DOI: 10.15625/vap.2022.0063

ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH PREBIOTICS CỦA POLYSACCHARIDE TÁCH CHIẾT TỪ SỢI NẤM LINH CHI (*Ganoderma lucidum*)

Nguyễn Thị Bích Hằng[1,*], Đặng Minh Nhật[2], Chu Thị Kiều Oanh[1], Nguyễn Thùy Linh[1], Đoạn Chí Cường[1], Bùi Đức Thắng[1], Bùi Thái Hằng[3]

Tóm tắt. Polysaccharide (PS) là thành phần chính có hoạt tính sinh học cao trong nấm Linh chi. Nghiên cứu này đánh giá hoạt tính prebiotics của sinh khối hệ sợi nấm Linh chi (*Ganoderma lucidum*) trong môi trường nuôi cấy dịch thể. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng, PS chiết xuất từ hệ sợi nấm Linh chi có khả năng thúc đẩy sự sinh trưởng của chủng vi sinh vật đường ruột *Lactobacillus plantarum*. Dịch chiết từ môi trường nuôi cấy *L. plantarum* có khả năng ức chế sự sinh trưởng của *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus* với vùng ức chế lần lượt là 25,667±0,577 mm, và 25,667±1,443 mm. Quá trình lên men *L. plantarum* có bổ sung hệ sợi nấm Linh chi làm giảm pH môi trường và sản xuất ra các acid béo mạch ngắn (SCFAs) với hàm lượng acid butyric thu được là cao nhất với 8096,06 mg/L, acid axetic và acid propionic lần lượt là 1374,45 mg/L và 760,69 mg/L. Kết quả cho thấy tiềm năng sử dụng sợi nấm Linh chi làm nguồn nguyên liệu sản xuất prebiotics bên cạnh các nguồn prebiotics thương mại khác trên thị trường.

Từ khóa: Acid béo mạch ngắn, *Lactobacillus plantarum*, nấm Linh chi, polysaccharide, prebiotics.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm Linh chi (*Ganoderma lucidum*) là một loại dược liệu quý trong y học cổ truyền. Với thành phần hóa học có chứa PS (giàu β-glucan), triterpenoid, steroid, saponin, nấm Linh chi được ghi nhận có tác dụng phòng chống ung thư, tăng cường hệ miễn dịch, giải độc gan, hỗ trợ điều trị tiểu đường, giảm cholesterol trong máu. (Wachtel và cs., 2011). Ngày nay, việc hoàn thiện quy trình tách chiết cũng như cơ chế tác dụng của các hợp chất có hoạt tính sinh học trong nấm Linh chi đối với cơ thể con người cũng đang diễn ra mạnh mẽ. Các phân đoạn PS tách chiết từ sợi nấm, quả thể *G. lucidum* có cấu trúc đa dạng và có liên quan đến cơ chế chống oxi hóa, hạ đường huyết, chống khối u và giảm lipid, natri trong máu (Liu và cs., 2010).

Các PS không tiêu hóa được có nguồn gốc từ nấm là nguồn prebiotics tiềm năng vì chúng có thể ngăn ngừa nhiễm virus hoặc vi khuẩn bằng cách tăng cường sự phát triển của vi khuẩn probiotic trong ruột già (Russo và cs., 2012). Khi có sự lên men của hệ vi sinh đường ruột, polysaccharide tạo thành các acid mạch ngắn (SCFAs) có tác động tích cực trong sức khỏe đường ruột, bao gồm tác dụng làm tăng sinh các tế bào biểu mô và làm

[1] Trường Đại học Sư phạm, Đại học Đà Nẵng
[2] Trường Đại học Bách khoa, Đại học Đà Nẵng
[3] Trường Cao đẳng Lương thực - Thực phẩm
* *Email: ntbhang@ued.udn.vn*

giảm pH đại tràng. Những chuyển hóa của SCFAs tác động tích cực đến sức khỏe như là yếu tố thiết yếu trong việc duy trì tính toàn vẹn đường ruột, giảm độ pH, ức chế khả năng gây bệnh của vi khuẩn, bảo vệ tính toàn vẹn của tế bào biểu mô ruột khỏi tác động cơ học hoặc tổn thương do hóa chất và vi sinh vật. Bên cạnh đó SCFAs còn giúp tăng cường việc hấp thụ các khoáng chất, kích thích hệ thống miễn dịch của vật chủ, có khả năng chống viêm và có vai trò quan trọng trong chống ung thư (Buse Usta-Gorgun và cs., 2020).

Cùng với việc nghiên cứu và phát triển công nghệ nuôi trồng nấm ăn và nấm dược liệu thì việc lên men dịch thể thu sinh khối sợi nấm mở ra triển vọng phát triển với ưu điểm rút ngắn chu kỳ nuôi trồng, dễ dàng kiểm soát các điều kiện nuôi cấy trên quy mô công nghiệp thu được lượng lớn sinh khối hữu cơ đáp ứng nhu cầu thực phẩm và dược phẩm ngày càng tăng, đặc biệt tận dụng sinh khối sợi nấm giàu PS để sản xuất prebiotics là vấn đề cần được quan tâm hiện nay nhằm đa dạng nguồn cơ chất sản xuất prebiotics. Vì vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành đánh giá hoạt tính prebiotics của sinh khối hệ sợi nấm Linh chi (*Ganoderma lucidum*) bằng phương pháp nuôi cấy dịch thể.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Giống nấm Linh chi (*Ganoderma lucidum*) được cung cấp bởi Khoa Sinh - Môi trường, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Đà Nẵng. Chủng vi sinh vật *Lactobacillus plantarum* được cung cấp tại công ty Cổ phần Công nghệ Biotech Việt Nam. Chủng *Escherichia coli* cung cấp bởi Phòng thí nghiệm Vi sinh của Khoa Sinh - Môi trường, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng. Chủng *Staphylococcus aureus* được cung cấp bởi Bệnh viện C Đà Nẵng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nuôi sinh khối hệ sợi nấm

Nấm Linh chi được nhân giống cấp 1 trong ống nghiệm thuỷ tinh (Φ1,8 cm, 180 mm) với thành phần môi trường gồm khoai tây (200 g/L), glucose (20 g/L) và agar (15 g/L), ủ ở 25 ^{o}C trong 10 ngày. Sau đó, từ ống nghiệm tiến hành nuôi cấy hệ sợi nấm. Cho 150 mL môi trường PD^{+} (gồm khoai tây: 200 g; glucose: 20 g; cao nấm men: 2 g; peptone: 2 g; H_2O: 1 L) vào các bình tam giác 500 mL. Hấp khử trùng bằng hơi nước nóng ở 121 ℃ trong 30 phút. Để nguội, cấy lượng tơ nấm như nhau vào mỗi bình từ ống giống cấp 1. Đặt các bình nuôi cấy vào máy lắc có tốc độ 150 vòng/phút ở nhiệt độ từ 18 ℃ đến 22 ℃. Sau 7 ngày tiến hành thu hệ sợi nấm.

Thu sinh khối hệ sợi nấm: lấy giấy lọc (11 μm, Φ150 mm) tiến hành sấy ở nhiệt độ 50 °C đến khối lượng không đổi. Cân các giấy lọc để biết khối lượng ban đầu của chúng, sau đó đặt giấy lọc vào các phễu thủy tinh. Tiến hành đổ dung dịch nuôi cấy trong bình tam giác qua phễu lọc, sau khi tất cả dung dịch nuôi cấy chảy qua giấy lọc sẽ đem sấy sinh khối cùng giấy lọc. Sấy ở nhiệt độ 50 °C đến khối lượng không đổi, để nguội rồi tiến hành cân khối lượng (Choong và cs., 2018).

Tách chiết và xác định hàm lượng PS nội bào

Sợi nấm được sấy ở nhiệt độ 50 ^{o}C để tách chiết. Polysaccharid thô từ sợi nấm linh chi được phân lập bằng cách chiết xuất trong nước nóng và kết tủa bằng etanol theo

phương pháp của Sun (2005) và có một số cải biến. Tơ nấm đã sấy khô đem nghiền và ngâm với nước 70 ^{o}C với tỉ lệ 1:20 trong 3 giờ. Sau đó, lọc hỗn hợp thu dịch lọc và tủa với cồn 96 % theo tỉ lệ 1:5 trong 12 giờ tại 4 ^{o}C. Tiến hành lọc hỗn hợp thu tủa và rửa tủa 2 lần với cồn 96 %, sấy ở 60 ^{o}C trong 2 giờ thu được PS thô. Loại protein bằng phương pháp Sevag. Hàm lượng đường PS được xác định bằng phương pháp Phenol-sulfuric acid (Dubois và cs., 1956). Dựa vào phản ứng thủy phân PS thành các monosaccharide, chúng sẽ tạo màu với phenol, dung dịch tạo thành có độ hấp thụ cực đại tại bước sóng λ = 490nm. Xây dựng đường chuẩn D–glucose sau đó đo mẫu thực và tính toán lượng PS.

Đánh giá khả năng kháng oxy hóa

Khả năng loại bỏ gốc tự do ABTS•+ được định lượng thông qua độ giảm sự hấp thụ bước sóng đặc trưng của hợp chất (Nenadis và cs., 2004). Dung dịch $ABTS^{+}$ được chuẩn bị bằng cách cho 2 mL dung dịch ABTS 7 mM và 2 mL dung dịch $K_2S_2O_8$ 2.45 mM. Để dung dịch trong bóng tối 16 giờ, sau đó pha loãng 50 lần bằng ethanol. Tiến hành khảo sát hoạt động trung hòa gốc tự do $ABTS^{+}$ bằng cách cho 990 µL dung dịch $ABTS^{+}$ vào 10 µL cao chiết PS từ nấm Linh chi, trong nghiên cứu này sử dụng PS với nồng độ 1 mg/ml để đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa. Hỗn hợp phản ứng được ủ trong thời gian 6 phút. Sau đó, đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 734 nm. Chất đối chứng dương được sử dụng là vitamin C với nồng độ 1 mg/mL.

Khả năng bắt gốc tự do $ABTS^{+}$ (I %) được tính theo công thức (1).

$$I(\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\ \% \quad (1)$$

Trong đó: A_0: giá trị mật độ quang của mẫu đối chứng âm, và A_1: giá trị mật độ quang của mẫu thử.

Đánh giá sự kích thích sinh trưởng của Lactobacillus plantarum.

Chủng vi sinh vật *L. plantarum* được nhân giống trên môi trường MRS (glucose: 20 g, pepton: 10 g, cao nấm men: 5 g, K_2HPO_4: 2 g, CH_3COONa: 5 g, $MgSO_4.7H_2O$: 0,58 g, H_2O: 1 L), pH = 7 ở 37 ºC trong 24 giờ nuôi cấy trong điều kiện kị khí (mẫu đối chứng) với môi trường MRS có bổ sung 10 mg/mL nồng độ dịch chiết xuất hệ sợi nấm Linh chi. Mật độ quang học hoặc mật độ tế bào của vi khuẩn được xác định ở bước sóng 620 nm (OD 620) bằng máy quang phổ UV-VIS trong quá trình lên men (Siragusa và cs., 2009). Sử dụng môi trường MRS có bổ sung 10 mg/mL FOS (Fructo-oligosaccaride) và inulin làm đối chứng dương.

Sau khi xác định mật độ quang tiến hành cấy trải đĩa và đếm khuẩn lạc để xác định mật độ tế bào. Mật độ tế bào được tính theo công thức (2).

$$M_i(CFU/mL) = \frac{A_i \times D_i}{V} \quad (2)$$

Trong đó: A_i là số khuẩn lạc trung bình/đĩa; D_i là độ pha loãng; V là dung tích huyền phù tế bào cho vào mỗi đĩa (mL).

Các công thức thí nghiệm: CT1: Môi trường MRS; CT2: Môi trường MRS bổ sung 10 mg/mL FOS; CT3: Môi trường MRS bổ sung 10 mg/mL inulin; CT4: Môi trường MRS bổ sung 10 mg/mL chiết xuất PS từ nấm Linh chi.

Đánh giá ức chế sinh trưởng đối với E. coli và *S. aureus*

Chủng vi sinh vật *L. plantarum* được nuôi ở 37 ºC trong 48 giờ ở các công thức CT1, CT2, CT3, CT4 ở thí nghiệm trên được ly tâm ở điều kiện 5000 vòng/phút ở 4 ºC trong 20 phút. Sau khi ly tâm, tiến hành thu dịch trong để xác định sự ức chế sinh trưởng đối với hai chủng *E. coli* và *S. aureus*. Sau đó, lấy 50 µl cấy vào các đĩa môi trường NA (gồm dịch chiết nấm men: 3 g/L, peptone: 5 g/L, và agar: 15 g/L) bằng kỹ thuật cấy trang. Tiến hành đục lỗ thạch có đường kính 9 mm trên các đĩa vi khuẩn gây bệnh. Tiếp theo, phần dịch trong thu từ quá trình ly tâm của các công thức được cho vào các lỗ thạch và ủ ở 37 ºC trong 24 giờ. Khả năng ức chế được xác định bằng cách đo và so sánh đường kính vòng vô khuẩn trên đĩa có bổ sung PS và các đối chứng (Rousseau và cs., 2005).

Định lượng SCFAs

Sau 36 giờ nuôi cấy *L. plantarum* ở các CT1, CT2, CT3, CT4 các mẫu được ly tâm 5000 vòng/phút ở 4 ºC trong 10 phút và được lọc bằng màng lọc 0,44 µm. Các acid lactic, acetic, propionic và butyric được định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Môi trường lên men được ly tâm và phần dịch nổi phía trên được thu hoạch để phân tích acid hữu cơ bằng HPLC sau khi lọc sử dụng màng acetate cellulose 0,20 µm. Hệ thống HPLC dòng Agilent 1200 với máy dò RI (Agilent, Đức) và cột Aminex HPX87H (BioRad, Hercules, CA, Mỹ) được sử dụng để thực hiện phân tích SCFAs với pha động là 3 mM H_2SO_4 ở 0,6 mL.min^{-1}, 50 °C (Gullón và cs., 2016).

Tất cả thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Các phân tích thống kê được thực hiện với phần mềm thống kê Minitab và phần mềm Microsoft Excel.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

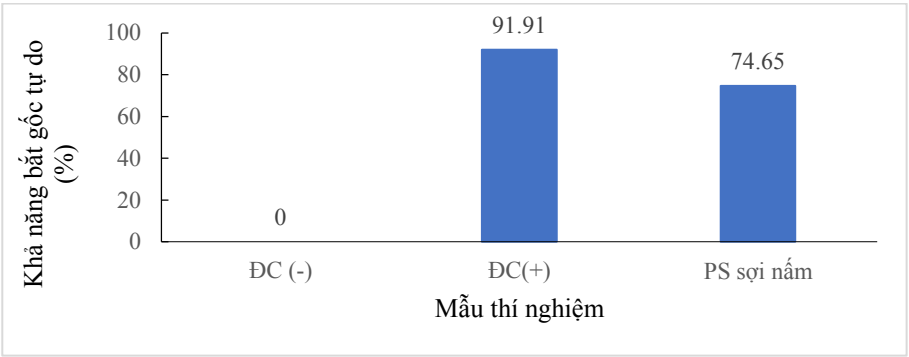
3.1. Hàm lượng PS tổng số trong sinh khối sợi nấm Linh chi

Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi được nuôi trên môi trường dịch thể nấm Linh chi có hàm lượng PS đạt 0,88 ± 0,02 g/L. Điều này chứng tỏ khi được nuôi trong môi trường tối ưu về dinh dưỡng, nấm Linh chi sinh trưởng tốt, và tích lũy các hoạt chất có hoạt tính sinh học cao. Tuy nhiên, kết quả của nghiên cứu này thấp hơn so với nghiên cứu của Supramani về sản xuất IPS (intracellular polysaccharide) tối đa thu được 1,57 ± 0,3 g/L trong các điều kiện tối ưu hóa pH ban đầu bằng 4, nồng độ glucose 40,45 g/L và tốc độ lắc 103 vòng/phút (Supramani và cs., 2019). Trong nghiên cứu của Wang, PS tách chiết từ hệ sợi nấm Vân chi chỉ đạt 0,0390 ± 0,022 g/L (Wang và cs., 2017) ít hơn khoảng 22 lần so với kết quả trong nghiên cứu này.

3.2. Khả năng kháng oxy hóa của PS chiết xuất từ hệ sợi nấm Linh chi

Hoạt động chống oxy hóa của một sản phẩm bất kỳ phụ thuộc vào khá nhiều yếu tố như hàm lượng lipid, nồng độ chất chống oxy hóa, nhiệt độ, oxy, sự có mặt của các chất

chống oxy hóa và các thành phần khác trong thực phẩm như nước và protein. Kết quả kháng oxy hóa của PS được trình bày trong Hình 1.



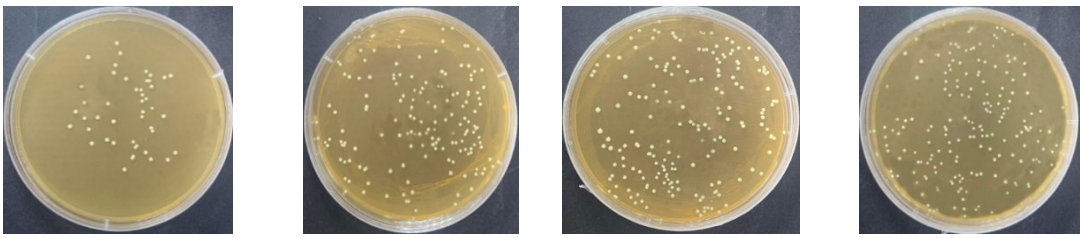
Hình 1. Hoạt tính kháng oxi hóa của PS chiết xuất từ hệ sợi nấm Linh chi

Kết quả cho thấy, hoạt động chống oxi hóa của PS tương đối cao 77,66 %, tuy nhiên khả năng bắt gốc tự do của PS sợi nấm Linh chi thấp hơn so với vitamin C ở cùng nồng độ (91,91 %), kết quả này cao hơn so với nghiên cứu của Kalyoncu (2010) với hiệu suất bắt gốc tự do của sợi nấm Linh chi đạt 70,71 %.

Khả năng chống oxy hóa của các PS có thể liên quan trực tiếp đến mối liên kết trong phân tử PS với các ion có gốc oxi hóa tạo nên các gốc ổn định, chính vì thế mà nó ngăn chặn được chuỗi tác nhân phản ứng. Thêm vào đó, sự có mặt của một lượng lớn các nhóm hydroxyl trong phân tử PS cũng có thể tạo ra những phản ứng mà chính sự kết hợp của chúng với nhau để tạo thành những sản phẩm vô hại (Wang và cs., 2014).

3.3. Ảnh hưởng của PS đến sự phát triển của vi sinh vật có lợi

L. plantarum là một vi sinh vật có lợi trong hệ đường ruột. Chủng *L. plantarum* được nuôi cấy trong môi trường MRS có và không có bổ sung PS chiết xuất từ sợi nấm Linh chi, chúng được so sánh với môi trường MRS bổ sung FOS và inulin. Kết quả được thể hiện ở hình 2 và bảng 1.



(A) (B) (C) (D)

Ghi chú: A: L. plantarum nuôi cấy trong CT1, B: L. plantarum nuôi cấy trong CT2, C: L. plantarum nuôi cấy trong CT3, D: L. plantarum nuôi cấy trong CT4

Hình 2. Số lượng khuẩn lạc *L. plantarum* trên các môi trường

Bảng 1. Sự tăng trưởng của *L. plantarum* nuôi ở các nghiệm thức nghiên cứu, ở 37 ºC trong 24 giờ

Công thức thí nghiệm	OD (nm)	Mật độ tế bào (CFU/mL)
CT1 *(n=3)*	$2,8782 \pm 0,0163^{a}$	$6,3 \times 10^{11}$
CT2 *(n=3)*	$2,8891 \pm 0,0066^{a}$	$18,2 \times 10^{11}$
CT3 *(n=3)*	$2,8894 \pm 0,0152^{a}$	$17,3 \times 10^{11}$
CT4 *(n=3)*	$2,9354 \pm 0,0029^{b}$	$19,5 \times 10^{11}$

Ghi chú: Các chữ cái a, b thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa (P < 0,05).

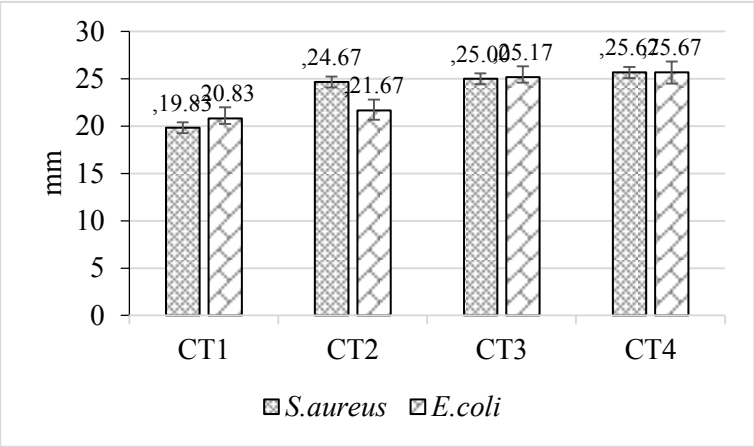
Kết quả cho thấy môi trường dinh dưỡng MRS bổ sung PS sợi nấm (CT1) có khả năng kích thích sự sinh trưởng của *L. plantarum* tốt nhất so với các công thức còn lại (CT2, CT3, CT4). Điều này chứng tỏ PS sợi nấm là nguồn cơ chất phù hợp cho lợi khuẩn đường ruột. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Sawangwan (2018), kết quả khảo sát hoạt tính kích thích sinh trưởng của vi sinh vật có lợi từ dịch chiết 7 loại nấm, tất cả môi trường bổ sung chiết xuất nấm đều cho giá trị OD cao hơn so với mẫu không bổ sung chiết xuất nấm (Sawangwan và cs., 2018).

Sau khi xác định mật độ quang của *L. plantarum* tiến hành cấy trải đĩa để xác định mật độ tế bào nhằm xác định số lượng khuẩn lạc trong mẫu sau 24 giờ nuôi cấy. Kết quả cho thấy, số lượng đơn vị hình thành khuẩn lạc của môi trường có bổ sung chiết xuất PS là $19,5 \times 10^{11}$ (CFU/mL), tương ứng OD = 2,9354 ± 0,0029 là cao nhất, lớn hơn các công thức còn lại. Cho thấy PS chiết xuất từ nấm không chỉ kích thích sự sinh trưởng của lợi khuẩn mà còn làm tăng thời gian sinh trưởng của chúng. Như vậy, PS sợi nấm có thể kích thích mạnh mẽ sự sinh trưởng của vi khuẩn *L. plantarum,* tốt hơn các nguồn prebiotics thương mại trên thị trường.

3.4. Khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh

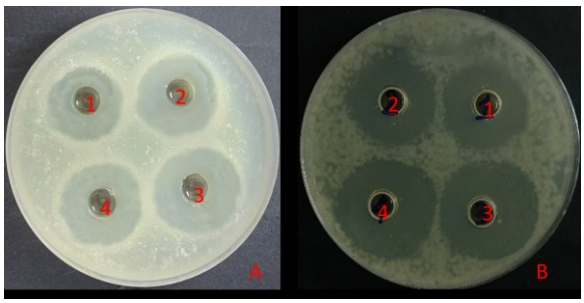
Vi khuẩn *E. coli* và *S. aureus* là những chủng vi sinh vật gây bệnh đường ruột, chúng thường gây ngộ độc, đau bụng, nôn mửa, tiêu chảy. Sự phát triển của *L. plantarum* sẽ tạo ra các chất ức chế các vi sinh vật gây bệnh này. Dịch nuôi cấy trong các môi trường MRS theo các nghiệm thức thí nghiệm sau 48 giờ được ly tâm lấy phần dịch nổi và bổ sung vào môi trường nuôi các vi sinh vật gây bệnh theo phương pháp đục lỗ thạch để đánh giá khả năng ức chế vi sinh vật gây bệnh.

Tất cả các dịch nuôi cấy của *L. plantarum* từ các môi trường nuôi cấy đều có khả năng ức chế mầm bệnh (*E. coli*, *S. aureus*) tốt. Dịch nuôi cấy *L. plantarum* trong môi trường bổ sung chiết xuất PS từ nấm Linh chi (CT4) tạo ra vùng ức chế *E. coli*, *S. aureus* đều là 25,667 mm, cao hơn so với CT1 lần lượt là 1,84 mm và 2,84 mm. Đặc biệt là hiệu quả vòng ức chế của *S. aureus* ở CT4 cao hơn so với CT đối chứng CT1 không bổ sung nấm Linh chi. Điều này cho việc bổ sung PS nấm Linh chi vào môi trường nuôi cấy *L. plantarum* đã tạo ra các nhiều nhiều hợp chất có khả năng ức chế *S. aureus* hơn so với môi trường không bổ sung CT1. Vùng ức chế *E. coli* từ dịch chiết môi trường nuôi cấy *L. plantarum* của CT4 là (25,667 ± 0,577) gần tương đương với CT3 (25,167 ± 0,763) và lớn hơn so với CT2 (21,667 ± 0,288) và CT1 (20,83 ± 0,558).



Hình 3. Đường kính vùng ức chế vi sinh vật gây bệnh *S. aureus, E. coli* từ dịch nuôi cấy *L. plantarum* trong các nghiệm thức

Ghi chú: CT1: môi trường MRS, CT2: môi trường MRS bổ sung FOS, CT3: môi trường MRS bổ sung inulin, CT4: môi trường MRS bổ sung chiết xuất PS Linh chi



Hình 4. Vòng vô khuẩn *S. aureus* (A) và *E. coli* (B) từ dịch nuôi cấy *L. plantarum* ở các nghiệm thức

Ghi chú: 1: CT1, 2: CT2, 3: CT3, 4: CT4.

FOS và inulin bổ sung vào môi trường nuôi cấy cho hiệu quả vòng ức chế *E. coli* khác nhau. Điều này chứng tỏ mỗi loại prebiotics có cấu trúc khác nhau các vi sinh vật có lợi sẽ chuyển hóa và tiết ra môi trường những chất ức chế đối với những chủng vi sinh vật gây bệnh khác nhau. Điều này phù hợp với nghiên cứu của Sawangwan, trong nghiên cứu này chiết xuất từ nấm cho hiệu suất vùng ức chế cao (Sawangwan và cs., 2018). Vì vậy, việc bổ sung PS nấm vào môi trường nuôi cấy *L. plantarum* giúp tăng sản xuất các chất giúp ức chế sinh trưởng vi sinh vật có hại.

3.5. Khả năng sản xuất SCFAs trong quá trình lên men *Lactobacillus plantarum*

Phân tích sắc ký lỏng hiệu năng cao chỉ ra rằng PS từ nấm Linh chi thúc đẩy sản xuất acetate, propionate và butyrate. Do đó, PS từ nấm Linh chi có thể được sử dụng để thay đổi cộng đồng vi sinh vật và chức năng trao đổi chất và có thể đóng vai trò là prebiotics mới để mang lại lợi ích sức khỏe cho con người.

Quá trình nuôi cấy *L. plantarum* ở tất cả nghiệm thức đều có khả năng sản xuất SCFAs. Trong đó, hàm lượng acid acetic cao nhất thu được là ở CT1 chỉ có môi trường MRS với hàm lượng là 686,84 ± 3,8875 mg/L. Mặt khác, ở CT4 môi trường MRS bổ sung PS cho ra hàm lượng acid propionic cao nhất đạt 706,12 ± 4,1515 mg/L và với môi trường chỉ có MRS (CT1) cho hàm lượng acid propionic là 317,14 ± 4,643 mg/L thấp hơn nhiều so với môi trường có bổ sung FOS, inulin và PS sợi nấm Linh chi. Đặc biệt, trong quá trình nuôi cấy *L. plantarum* các công thức đều sản xuất ra hàm lượng acid butyric cao hơn

rất nhiều so với hai acid còn lại. Sự gia tăng sản xuất acid butyric có thể dẫn đến tác dụng bảo vệ ở đại tràng, vì nó đóng một vai trò quan trọng trong tham gia vào quá trình chuyển hóa dinh dưỡng, cung cấp năng lượng và có khả năng ngăn ngừa quá trình ung thư đại tràng (Roberfroid, 2007).

Bảng 2. Nồng độ SCFAS trong môi trường nuôi cấy *L. plantarum* ở các nghiệm thức trong 48 giờ

Công thức	Acid acetic (mg/L)	Acid propionic (mg/L)	Acid butyric (mg/L)
CT1	502,09	688,95	7158,41
CT2	618,41	760,69	7749,33
CT3	1374,45	721,86	7610,32
CT4	573,06	706,12	8096,06

Theo Wang (2022), nghiên cứu về khả năng sản xuất SCFAs của tinh bột kháng tiêu ở 48 giờ cho ra hàm lượng acid acetic, propionic và butyric lần lượt là 758 mg/L, 615 mg/L và 360 mg/L. Kết quả này thấp hơn so với việc bổ sung hệ sợi nấm sấy khô Linh chi (Wang và cs., 2022). Điều này chứng tỏ việc bổ sung PS sợi nấm làm tăng khả năng tổng hợp acid hữu cơ đặc biệt là acid butyric của *L. plantarum* nhiều hơn so với các công thức nghiên cứu khác.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy tổng lượng PS chiết xuất từ hệ sợi nấm đạt được là 0,88 ± 0,02 g/L. Khả năng kháng oxi hóa của PS chiết xuất từ sợi nấm Linh chi ở nồng độ 1 mg/mL đạt 74,65 %. Các đặc tính prebiotics của PS chiết xuất từ sợi nấm Linh chi đã được nghiên cứu và chứng minh có khả năng kích thích sự tăng trưởng của chủng vi sinh vật *L. plantarum* cao hơn so với mẫu đối chứng và cả prebiotic thương mại (FOS và Inulin). Việc nuôi cấy *L. plantarum* trong môi trường MRS có bổ sung PS chiết xuất từ nấm Linh chi tạo ra dịch nuôi cấy có hiệu quả ức chế sự sinh trưởng của các vi sinh vật *E. coli* và *S. aureus* cao nhất trong các công thức nghiên cứu. Đáng chú ý, nuôi cấy *L. plantarum* trong môi trường bổ sung chiết xuất PS sợi nấm Linh chi cho thấy có sự thúc đẩy tăng cường sản sinh các SCFAs đặc biệt là acid butyric. Vì vậy, hệ sợi nấm Linh chi có tiềm năng như một nguồn prebiotics mới trong tương lai góp phần làm đa dạng nguồn prebiotics trên thị trường và tăng giá trị cho các sản phẩm nông nghiệp.

Lời cám ơn: Cảm ơn Hội Động vật Frankfurt đã hỗ trợ kinh phí thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Buse U. G., Lutfiye, Y. E., 2020. Short-chain fatty acids production by Bifidobacterium species in the presence of salep. *Electronic Journal of Biotechnology*, 47(2020): 29-35.

Choong Y., Ellan K., Mohamad X. C. A. A., 2018. Extraction and fractionation of polysaccharides from a selected mushroom species, *Ganoderma lucidum*: A Critical Review. In (Ed.), Fractionation. *IntechOpen*, Chapter 3: 39-60.

Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A., Smith F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28: 350-356.

Gullón P., Tavariac F. K., Yáñez R., 2016. Assessment of the Prebiotics effect of quinoa and amaranth in the human intestinal ecosystem. *Food Funct*, 7: 3782-3788.

Kalyoncu F., Mustafa O., Hüsniye K., 2010. Antioxidant activity of the mycelium of 21 wild mushroom species, *Mycology*, 1(3): 195-199.

Liu W., Wang H., Pang X., Yao W., Gao X., 2010. Characterization and antioxidant activity of two low-molecular-weight polysaccharides purified from the fruiting bodies of Ganoderma lucidum. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46(4): 451-457.

Nenadis N., Wang L. F., Tsimidou M., Zhang H., 2004. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the $ABTS^{+}$ assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (52): 4669-4467.

Roberfroid M., 2007. Prebioticss: the concept revisited. *The Journal of Nutrition*, 137(32): 830-837S.

Rousseau V., Lepargneur J. P., Roques C., Remaud S. M., Paul F., 2005. Prebiotics effects of oligosaccharides on selected vaginal lactobacilli and pathogenic microorganisms. *Anaerobe*, 11(3): 145-153.

Russo P., López P., Capozzi V., de Palencia P. F., Dueñas M. T., Spano G., Fiocco D., 2012. Beta-glucans improve growth, viability, and colonization of probiotic microorganisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(5): 6026-6039.

Sawangwan T., Wansanit W., Pattani L., Noysang C., 2018. Study of prebiotics properties from edible mushroom extraction. *Agriculture and Natural Resources*, 52(6): 519-524.

Siragusa S., Di-Cagno R., Ercolini D., Minervini F., Gobbetti M., de Angelis M., 2009. Taxonomic structure and monitoring of the dominant population of lactic acid bacteria during wheat flour sourdough type I propagation using *Lactobacillus sanfranciscensis* starters. *Applied And Environmental Microbiology*, 75(4), 1099–1109.

Sun Y., Tang J., Gu X., Li D., 2005. Water-soluble polysaccharides from *Angelica Sinensis* (Oliv) Diels: Preparation, characterization, and bioactivity. *Int. J. Biol. Macromol*, 36: 283-289.

Supramani S., Ahmad R., Ilham Z., Annuar M., Klaus A., Wan-Mohtar W., 2019. Optimisation of biomass, exopolysaccharide, and intracellular polysaccharide production from the mycelium of an identified Ganoderma lucidum strain QRS 5120 using response surface methodology. *Aims Microbiology*, 5(1): 19-38.

Wachtel G. S., Yuen J., Buswell J. A., 2011. *Ganoderma lucidum* (Lingzhi or Reishi): A medicinal mushroom. In: Benzie IFF, Wachtel-Galor S, editors. Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects, 2nd editon, Chapter 9. CRC Press.

Wang K. F., Sui K. Y., Guo C., Liu C. Z., 2017. Improved production and antitumor activity of intracellular protein-polysaccharide from *Trametes versicolor* by the quorum sensing molecule-tyrosol. *Journal of Functional Foods*, 37: 90-96.

Wang K., Li W., Rui X., Chen X., Jiang M., Dong M., 2014. Structural characterization and bioactivity of released exopolysaccharides from *Lactobacillus plantarum* 70810. *International Journal of Biological Macromolecules*, 67: 71-78.

Wang M., Chen X., Zhou L., Li Y., Yang J., Ji N., Xiong L., Sun Q., 2022. Prebiotics effects of resistant starch nanoparticles on growth and proliferation of the probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. plantarum. *LWT*, 154: 112572.

Yihuai G., Shufeng Z., Jianbo W., Min H., Anlong X., 2002. Mechanism of the antiulcerogenic effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on indomethacin-induced lesions in the rat. *Life Sciences*, 72(6): 731-745.

PREBIOTIC PROPERTIES OF POLYSACCHARIDES ISOLATED FROM *Ganoderma lucidum* MYCELIA

Nguyen Thi Bich Hang[1,*], Dang Minh Nhat[2], Chu Thi Kieu Oanh[1], Nguyen Thuy Linh[1], Doan Chi Cuong[1], Bui Duc Thang[1], Bui Thai Hang [3]

Abstract. Polysaccharide (PS) is the main component having high biological activities in *Ganoderma lucidum*. This study evaluated the prebiotic properties of polysaccharides from *G. lucidum*'s mycelia cultured in liquid medium. Results showed PS extracted from *G. lucidum*'s mycelium had the ability to promote the growth of *Lactobacillus plantarum*, a representative of the microflora in the intestine. The extract from culture medium of *L. plantarum* was able to inhibit the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* with the inhibition zone of 25,667 ± 0,577 mm, and 25,667 ± 1,443 mm, respectively. In addition, the fermentation of *L. plantarum* with the addition of *G. lucidum* polysaccharides reduced the culture medium's pH and produced short-chain fatty acids (SCFAs) with the highest butyric acid content of 8096,06 mg/L, acetic acid and propionic acid content of 1374,45 mg/L and 760,69 mg/L, respectively. The findings showed the potential to use *G. lucidum* as raw materials for prebiotics production in addition to other commercial prebiotics sources.

Keywords: *Ganoderma lucidum*, *Lactobacillus plantarum*, polysaccharide, prebiotics, SCFAs.

[1] University Science and Education, The University of Da Nang
[2] University of Science and Technology, The University of Da Nang
[3] College of Food Industry
* *Email: ntbhang@ued.udn.vn*