Nghiên cứu gốc

# HOÀN THIỆN CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT, ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA SẢN PHẨM NANO ĐÔNG TRÙNG HẠ THẢO TAM ĐẢO

**Nguyễn Quốc Huy[1], Lê Nguyên Đương[2], Bá Thị Châm[3], Nguyễn Văn Tuấn[2,✉], Nguyễn Văn Sơn[2], Trần Vân Anh[4]**

[1] *Hợp tác xã Nấm Tam Đảo*
[2] *Viện tư vấn phát triển và chuyển giao công nghệ sinh học*
[3] *Viện hóa học, Viện hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*
[4] *Trường Cao đẳng y tế Thanh Hóa*

## TÓM TẮT

**Mục tiêu**: Hoàn thiện công nghệ sản xuất sản phẩm Nano Đông trùng hạ thảo Tam Đảo, công suất 3–5 kg/mẻ, đánh giá hoạt tính sinh học và xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của sản phẩm.

**Phương pháp**: Nấm Đông trùng hạ thảo Tam Đảo sau thu hoạch được sấy thăng hoa, nghiền thành bột mịn có kích thước từ 1–2 mm và được chiết trong hỗn hợp dịch chiết (hỗn hợp cồn/nước ở các tỷ lệ v/v: 1/1, 1/2 và 2/1) ở nhiệt độ 50$^{o}$C trong thời gian 2h. Thu dịch chiết và lọc. Lựa chọn công thức tạo chất mang Chitosan-PEG (tỉ lệ Chitosan/PEG (v/v): 5/5, 6/4, 7/3, 8/2, 9/1). Chất lượng Nano Đông trùng hạ thảo Tam Đảo được xác định các chỉ tiêu: kích thước hạt, hàm lượng adenosine, hàm lượng cordycepin và đánh giá một số hoạt tính sinh học.

**Kết quả**: Hoàn thiện công nghệ sản xuất sản phẩm Nano Đông trùng hạ thảo Tam Đảo, công suất 3–5 kg/mẻ: bột Đông trùng hạ thảo 1–2 mm chiết trong dịch chiết cồn/nước: 1/1 (v/v) ở 50 $^{o}$C trong 2h. Hệ chất mang chitosan/PEG: 7/3 (v/v). Sản phẩm Nano Đông trùng hạ thảo Tam Đảo có kích thước < 100 nm, đạt TCCS số 01:2024/HTX đảm bảo các quy định về vệ sinh an toàn thực phẩm (QCVN 8-3:2012/BYT và QCVN 8-2:2012/BYT).

**Kết luận**: Đã hoàn thiện công nghệ sản xuất sản phẩm Nano Đông trùng hạ thảo Tam Đảo, công suất 3–5 kg/mẻ, xác định được hoạt tính sinh học và xây dựng tiêu chuẩn cơ sở TCCS số 01:2024/HTX của sản phẩm.

***Từ khóa:*** *đông trùng hạ thảo, nano, công nghệ sản xuất, chống ô xy hóa, kháng viêm, hỗ trợ tim mạch, huyết áp.*

# PERFECTING THE PRODUCTION TECHNOLOGY AND EVALUATING THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF TAM DAO NANO CORDYCEPS

## ABSTRACT

**Aims**: The study objectives were to perfect the production technology of Tam Dao Nano Cordyceps products, with a capacity of 3-5 kg per batchand and to evaluate the biological activity and basic product standards.

**Methods**: Tam Dao Cordyceps after harvest, were freeze-dried and ground into fine powder with a particle size of 1-2 mm, then extracted in an mixture (a mixture of alcohol/water at v/v ratios of 1/1, 1/2, and 2/1) at 50°C for 2 hours. The extract was collected and filtered. The formula was used for creating the Chitosan-PEG carrier (Chitosan/PEG ratio (v/v): 5/5, 6/4, 7/3, 8/2, 9/1).

✉Tác giả liên hệ: Nguyễn Văn Tuấn
Email: tuancnsh7905@gmail.com
Doi: 10.56283/1859-0381/852
Nhận bài: 24/11/2024 Chỉnh sửa: 14/2/2025
Chấp nhận đăng: 24/2/2025
Công bố online: 28/2/2025

The quality of the Tam Dao Nano Cordyceps was determined by indices such as particle size, adenosine content, cordycepin content, and evaluation of certain biological activities.

**Results**: The technology to produce Tam Dao Nano Cordyceps products with a capacity of 3–5 kg per batch was perfected: Cordyceps powder with a particle size of 1–2 mm was extracted in an alcohol/water mixture at a 1/1 ratio (v/v) at 50°C for 2 hours. The chitosan/PEG carrier system was in a 7/3 (v/v) ratio. The Tam Dao Nano Cordyceps product meets the standard TCCS No. 01:2024/HTX, ensuring compliance with food safety regulations (QCVN 8-3:2012/BYT and QCVN 8-2:2012/BYT).

**Conclusion**: The production technology for Tam Dao Nano Cordyceps products with a capacity of 3–5 kg per batch was perfected; identify biological activity and basic product standards TCCS No. 01:2024/HTX.

***Keywords****: Cordyceps, nano, production technology, antioxidant, anti-inflammatory, cardiovascular support, blood pressure.*

---

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, nhu cầu sử dụng các loại thảo dược có nguồn gốc thiên nhiên để phòng và trị bệnh ngày càng trở nên phổ biến, trong đó phải kể đến Đông trùng hạ thảo (ĐTHT), một loại thảo dược mang những giá trị dược liệu thần kỳ. Trong y học cổ truyền Trung Quốc, nấm ĐTHT có tác dụng bổ thận, bổ khí điều trị các trường hợp mệt mỏi, đổ mồ hôi về đêm, tăng đường huyết, tăng mỡ máu, bệnh phổi, bệnh thận, suy thận, loạn nhịp tim và bệnh gan. Hoạt chất chính có trong ĐTHT được kể đến là cordycepin và adenosine, có nhiều tác dụng trong dược phẩm, đặc biệt hoạt chất adenosine chống viêm, ung thư, duy trì quá trình tuần hoàn, cải thiện sức khỏe, cải thiện khả năng sinh lý, ổn định thần kinh, tác dụng tốt trên phổi, hệ tim mạch, và thần kinh trung ương [1, 2].

Hợp tác xã nấm Tam Đảo (HTX) là đơn vị có trên 15 năm kinh nghiệm trong nghiên cứu, chuyển giao công nghệ, sản xuất kinh doanh các sản phẩm từ nấm ĐTHT, linh chi... mang tên Nấm Tam Đảo nhằm phát huy thế mạnh về điều kiện tự nhiên về khí hậu cũng như lợi thế về địa danh là khu du lịch tâm linh, nghỉ dưỡng trọng điểm của tỉnh Vĩnh Phúc nói riêng và của cả nước nói chung. Năm 2017 đội ngũ chuyên môn của HTX đã phát hiện và sưu tầm nấm ĐTHT mọc ở tự nhiên tại núi Tam Đảo. Đây là loại nấm ĐTHT có hàm lượng dinh dưỡng cao, chứa đủ các thành phần dược chất như nấm ĐTHT xuất hiện ở tự nhiên. Sau gần 2 năm nghiên cứu chọn tạo giống và đưa vào nuôi cấy thử nghiệm thành công HTX Nấm Tam Đảo đã quyết định nhân rộng quy mô sản xuất đạt 10 tấn/năm.

Trên cơ sở kế thừa các kết quả của Công trình Nghiên cứu bào chế hệ chất mang nano chitosan-PEG chứa các hoạt chất từ nấm ĐTHT (*Cordyceps militaris* Link) của nhóm tác giả Đỗ Thị Gấm và công sự.

Để đáp ứng nhu cầu của người tiêu dùng trong cuộc sống hiện đại, ưu tiên sử dụng các sản phẩm thảo dược tiện lợi dễ dùng, hàm lượng hoạt chất sinh học cao, HTX nấm Tam Đảo đã kết hợp với các nhà khoa học đầu ngành để hoàn thiện công nghệ sản xuất sản phẩm Nano ĐTHT Tam Đảo tại HTX. Trong nghiên

cứu này, chúng tôi đã hoàn thiện công nghệ sản xuất sản phẩm Nano ĐTHT Tam Đảo phù hợp với điều kiện, quy mô sản xuất của HTX để tạo ra sản phẩm có chất lượng đáp ứng nhu cầu của người tiêu dùng.

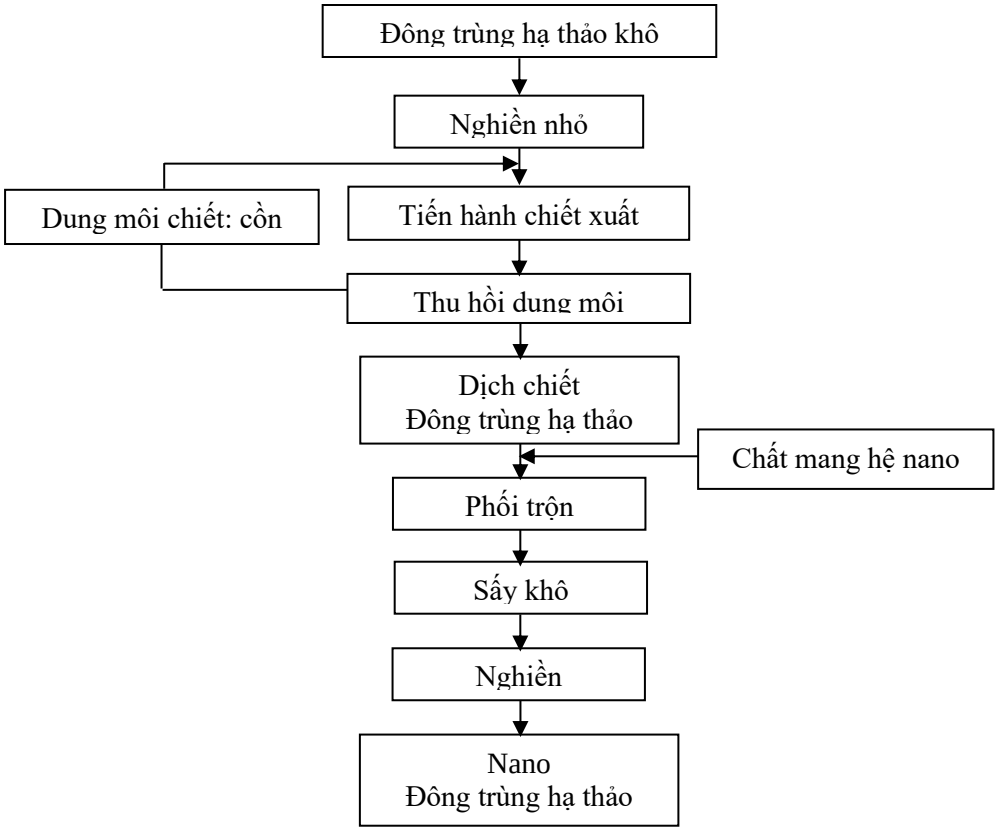
## II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1.Nguyên vật liệu

Mẫu nguyên liệu Đông trùng hạ thảo sấy thăng hoa được lấy tại HTX Nấm Tam Đảo. Các loại hoá chất khác gồm: cồn tuyệt đối (Việt Nam), Chitosan có độ deacetyl hóa > 75% (Việt Nam), Polyethylene glycol (PEG) (Merck) và dung dịch Lecithin (Đài Loan). Các thiết bị cho nghiên cứu gồm kính hiển vi điện tử quét phát xạ trường (FESEM), tên thiết bị Hitachi S-4800.

### 2.2. Phương pháp công nghệ

#### *2.3.1.Quy trình sản xuất sản phẩm*




**Hình 1.** *Sơ đồ công nghệ sản xuất Nano đông trùng hạ thảo Tam Đảo*

Nguyên liệu nấm ĐTHT Tam Đảo có chất lượng đồng đều, đảm bảo các tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm theo quy định, được sấy thăng hoa và nghiền mịn đạt kích thước từ 1-2 mm. Bột nấm ĐTHT Tam Đảo được chiết trong hỗn hợp dịch (cồn/nước ở các tỷ lệ khác nhau) ở nhiệt độ 50$^{o}$C trong thời gian 2h. Thu dịch chiết và lọc. Sau đó tiến hành gắn lên hệ chất mang Chitosan-PEG với tỉ lệ Chitosan/PEG (v/v): 5/5; 6/4; 7/3; 8/2; 9/1. Tiến hành sấy và nghiền mịn thu được sản phẩm Nano ĐTHT Tam Đảo.

***2.3.2.Khảo sát ảnh hưởng của dung môi đến chất lượng dịch chiết***

Nấm ĐTHTTam Đảo được sấy thăng hoa, nghiền thành bột có kích thước từ 1–2 mm. Ngâm trong dịch chiết (hỗn hợp cồn/nước ở các tỷ lệ: 1/1; 1/2; 2/1 về thể tích) ở nhiệt độ 50$^{o}$C trong thời gian 2h. Thu dịch chiết và lọc. Lặp lại thêm 2 lần ở cùng điều kiện, gom dịch chiết 3 lần và đuổi dung môi dưới điều kiện áp suất giảm ở 50$^{o}$C, thu cặn chiếtxác định hàm lượng hoạt chất chính adenosin và cordycepin trong các mẫu dịch chiết.

***2.3.3.Khảo sát hệ hạt nano chưa mang hoạt chất***

Các polymer được sử dụng ở các thí nghiệm này là chitosan, polyethylene glycol (PEG). Chuẩn bị dung dịch chitosan có độ deacetyl hóa 85% với nồng độ 0,35% w/v trong dung dịch acit acetic 1%. Dung dịch PEG 0,5 % trong nước cất nóng. Dung dịch lecithin 1% trong nước cất nóng. Tỉ lệ Chitosan/PEG lần lượt là 50/50, 60/40, 70/30, 80/20 và 90/10 về thể tích; khuấy 900 vòng phút ở nhiệt độ 70$^{o}$C 30 phút, nhỏ từ từ 10 ml dung dịch lecithin khuấy đều 15 phút. Hạ nhiệt độ xuống 15$^{o}$C (trong nước đá) tạo hạt nano khuấy trong 30 phút. Để về nhiệt độ phòng, ly tâm 16.000 vòng/phút trong 15 phút thu hạt nano, sấy khô và xác định kích thước hạt bằng phương pháp đo hiển vi điện tử quét phát xạ trường (FESEM), tên thiết bị Hitachi S-4800.

***2.3.4. Khảo sát ảnh hưởng của tốc độ khuấy và nhiệt độ khuất tới kích thước của hệ hạt nano chưa mang hoạt chất***

Hỗn hợp Chitosan/PEG tỉ lệ 70/30 về thể tích; khuấy lần lượt ở các tốc độ 300, 500, 700 vòng phút ở nhiệt độ 70$^{o}$C 30 phút; nhỏ từ từ 10 ml dung dịch lecithin khuấy đều 15 phút. Hạ nhiệt độ tới 15$^{o}$C (trong nước đá) tạo hạt nano khuấy trong 30 phút. Để về nhiệt độ phòng, ly tâm 16.000 vòng/phút trong 15 phút thu hạt nano, sấy khô và xác định kích thước hạt.

Hỗn hợp Chitosan/PEG tỉ lệ 70/30 về thể tích, khuấy ở 700 vòng phút ở các dải nhiệt độ 40, 50, 60, 70$^{o}$C 30 phút, nhỏ từ từ 10 ml dung dịch lecithin khuấy đều 15 phút. Hạ nhiệt độ xuống 15$^{o}$C (trong nước đá) tạo hạt nano khuấy trong 30 phút. Để về nhiệt độ phòng, ly tâm 16.000 vòng/phút trong 15 phút thu hạt nano, sấy khô và xác định kích thước hạt.

**2.4. Phương pháp phân tích hóa, lý, hoạt chất sinh học và vi sinh vật**

Kích thước hạt nano được xác định bằng Kính hiển vi điện tử quét phát xạ trường (FESEM), tên thiết bị Hitachi S-4800. Hàm lượng các kim loại nặng As, Cd, Pb và Hg phương pháp xác định được thực hiện lần lượt theo VNT.H.03.Fo.98 (2022), TCVN 8126:2009 và TCVN 7604:2007. Hàm lượng các hoạt chất sinh học adenosine và cordycepin phương pháp xác định được thực hiện theo VNT.H.03.Fo.261. Mật độ các vi sinh vật *E. coli* và *Salmonella* phương pháp xác định được thực hiện theo TCVN 7924-2:2008 và TCVN 10780-1:2017. Các phương pháp được thực hiện tại Viện kiểm nghiệm và kiểm định chất lượng VNTEST (VILAS 1296).

**2.5. Phương pháp xử lý số liệu**

Các kết quả thí nghiệm là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại, lấy thông số tối ưu của thí nghiệm trước làm cơ sở cho thí nghiệm sau. Kết quả thí nghiệm được tính toán giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, phân tích thống kế ở mức ý nghĩa 95% bằng phần mềm Microsoft Excel.

# III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

## 3.1. Ảnh hưởng của dung môi đến chất lượng dịch chiết nấm đông trùng hạ thảo Tam Đảo

Cân chính xác khoảng 50 g bột ĐTHT đã nghiền mịn vào bình nón chiết xuất với dung dịch chiết (cồn/nước theo tỉ lệ 1/1, 1/2, 2/1 về thể tích) chiết siêu âm trong khoảng thời gian 30 phút, mỗi mẫu nghiên cứu được chiết 3 lần. Sau mỗi lần chiết, tiến hành lọc và thu các dịch chiết. Từ các dịch chiết thu được, tiến hành cô quay giảm ápsuất để thu hồi cao chiết, tiến hành xác định hàm lượng hoạt chất chính adenosin và cordycepin trong các mẫu dịch chiết nấm ĐTHT Tam Đảo, thu được các kết quả như Bảng 1và Hình 1.

**Bảng 1.** *Kết quả ảnh hưởng của dung môi đến chất lượng dịch chiết nấm đông trùng hạ thảo Tam Đảo*

| Tên mẫu dịch chiết | Hàm hượng cordycepin (mg/kg) | Hàm hượng adenosine (mg/kg) |
|---|---|---|
| ĐT1 | 1.944,58±68,12 | 1.377,23±91,53 |
| ĐT2 | 2.459,48±48,23 | 1.597,56±56,58 |
| ĐT3 | 1.417,08±87,38 | 1.056,78±109,56 |

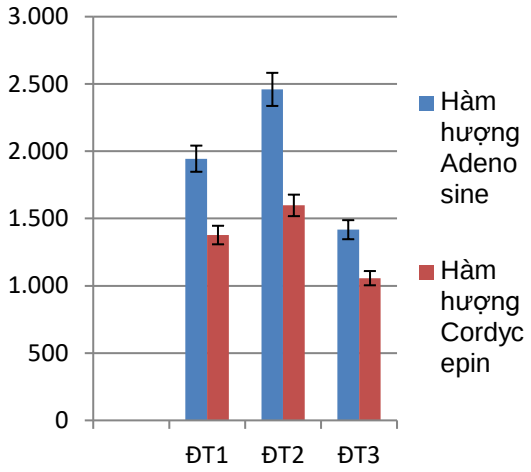
Từ kết quả thu được ở Bảng 1 và Hình 1 cho ta thấy rõ là khi chiết bằng dịch chiết ĐT3 (ở tỉ lệ cồn/nước: 2/1 v/v) hàm lượng 2 hoạt chất cordycepin và adenosine nhỏ nhất 1.417,08 mg/kg và 1.056,78 mg/kg. Khi thay đổi tỉ lệ cồn/nước trong dịch chiết, hàm lượng 2 hoạt chất cordycepin và adenosine cũng có sự thay đổi đáng kể. Hoạt chất cordycepin và adenosine đạt cao nhất khi sử dụng dịch chiết ĐT2 (có tỉ lệ cồn/nước: 1/2 v/v), hàm lượng 2 hoạt chất lần lượt là 2.459,48 mg/kg và 1.597,56 mg/kg. Dịch chiết ĐT1 (có tỉ lệ cồn/nước: 1/1 v/v), hàm lượng 2 hoạt chất cordycepin và adenosine thấp hơn lần lượt là 1.944,58 mg/kg và 1.377,23 mg/kg.Với tỷ lệ hỗn hợp cồn/nước có tỷ lệ 1:1 hàm lượng của 2 hoạt chất cordycepin và adenosine là cao nhất 2.459,48 mg/kg và 1.597,56 mg/kg Vì vậy, chúng tôi lựa chọn dung dịch chiết có tỷ lệ cồn/nước 1:1cho các nghiên cứu tiếp theo.

## 3.2. Kết quả tạo hệ hạt nano chưa mang hoạt chất

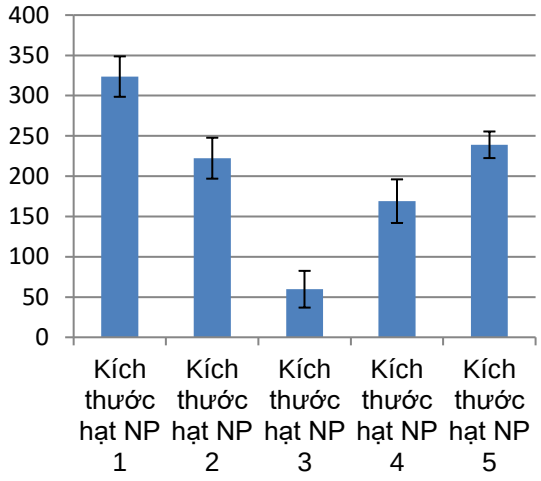
**Bảng 2.** *Ảnh hưởng của tỷ lệ các polymer đến kích thước hệ hạt nano chưa mang hoạt chất*

| Tên mẫu | Kích thước hạt (nm) |
|---|---|
| NP1 | 323,67±25,11 |
| NP2 | 222,33±25,42 |
| NP3 | 59,67±22,81 |
| NP4 | 169,00±27,07 |
| NP5 | 239,00±16,52 |

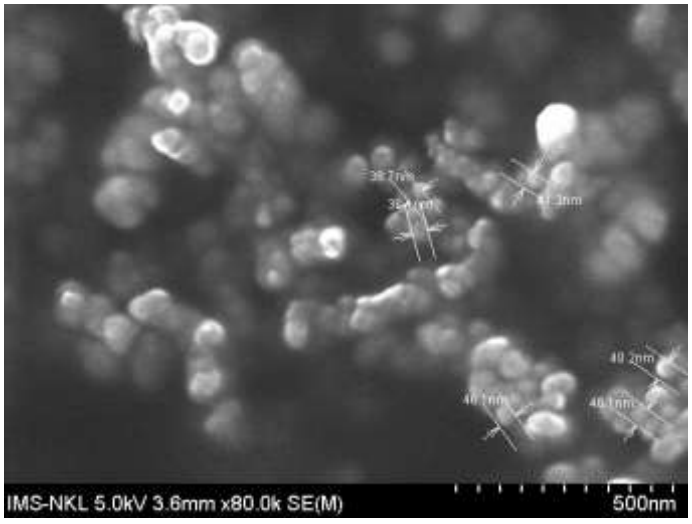
Trong thí nghiệm này, chúng tôi thực hiện theo phương pháp mô tả mục 2.3.3. Kết quả nghiên cứu thu được trình bày trong Bảng 2, Hình 2 và Hình 3.




***Hình 1***. *Kết quả định lượng các hoạt chất trong dung môi chiết nấm đông trùng hạ thảo Tam Đảo*




**Hình 2.** *Xác định ảnh hưởng của tỷ lệ các polymer đến kích thước hạt nano*




**Hình 3.** *Hình ảnh kích thước hạt nano của mẫu NP3*

Từ kết quả thu được ở Bảng 2 và Hình 2 cho ta thấy rõ là khi thay đổi tỉ lệ chitosan/PEG, kích thước hệ hạt nano cũng có sự thay đổi đáng kể, trong đó ở mẫu NP1 thì kích thước hạt là to nhất 323,67 nm, rồi lần lượt tiếp theo là các mẫu NP5, NP2 và NP4 tương ứng với kích thước hạt giảm dần lần lượt là 239,00; 222,33 và 169,00 nm. Mẫu NP3 có tỉ lệ chitosan/PEG là 70/30 cho kích thước hệ hạt nano chưa mang hoạt chất nhỏ nhất, kích thước hạt 59,67 nm. Với tỷ lệ hỗn hợp chitosan/PEG là 70/30 cho kích thước hệ hạt nano chưa mang hoạt chất nhỏ nhất, kích thước hạt 59,67nm. Vì vậy, chúng tôi đã lựa chọn sử dụngtỷ lệ này cho các nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của tốc độ và nhiệt độ khuấy đến kích thước hệ hạt nano tiếp theo.

### 3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của tốc độ khuấy và nhiệt độ khuấy tới kích thước của hệ hạt nano chưa mang hoạt chất

#### *3.3.1. Ảnh hưởng của tốc độ khuấy tới kích thước của hệ hạt nano chưa mang hoạt chất*

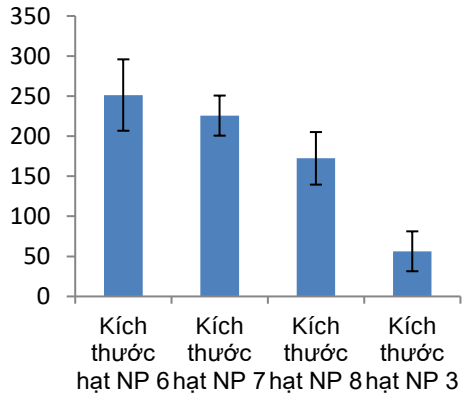
Sau khi đã lựa chọn được tỉ lệ phối trộn polymer tạo hệ hạt nano chưa mang hoạt chất, tỉ lệ chitosan/PEG sử dụng 70/30 v/v, hỗn hợp được khuấy lần lượt ở các tốc độ 300; 500; 700 và 900 vòng/phút với nhiệt độ 70$^{o}$C trong 30 phút, nhỏ từ từ 10 ml dung dịch lecithin khuấy đều 15 phút. Hạ nhiệt độ xuống 15$^{o}$C (trong nước đá) tạo hạt nano khuấy trong 30 phút. Để về nhiệt độ phòng, ly tâm 16.000 vòng/phút trong 15 phút thu hạt nano, sấy khô và xác định kích thước hạt đánh giá ảnh hưởng của tốc độ và nhiệt độ khuấy tới kích thước hệ hạt nano. Các kết quả thí nghiệm được trình bày trong Bảng 3 và Hình 4.

**Bảng 3**. *Ảnh hưởng của tốc độ khuấy đến kích thước hệ hạt nano chưa mang hoạt chất*

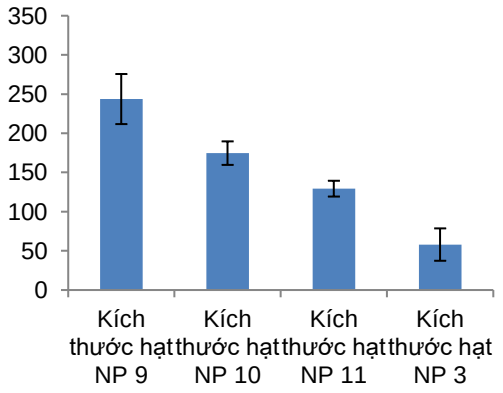
| Tên mẫu | Kích thước (nm) |
|---|---|
| NP6 | 251,33±44,56 |
| NP7 | 225,67±25,03 |
| NP8 | 172,33±32,81 |
| NP3 | 56,33±24,91 |

**Bảng 4.** *Ảnh hưởng của nhiệt độ khuấy đến kích thước hệ hạt nano chưa mang hoạt chất*

| Tên mẫu | Kích thước (nm) |
|---|---|
| NP9 | 243,67±21,94 |
| NP10 | 174,67±15,01 |
| NP11 | 129,33±10,07 |
| NP3 | 58,00±20,66 |




**Hình 4.** *Xác định ảnh hưởng của tốc độ khuấy đến kích thước hệ hạt nano*




**Hình 5.** *Xác định ảnh hưởng của nhiệt độ khuấy đến kích thước hệ hạt nano*

Từ kết quả thu được ở Bảng 3 và Hình 4 cho ta thấy rõ là tốc độ khuấy hỗn hợp polymer có ảnh hương rất lớn tới kích thước hệ hạt nano, tốc độ khuấy càng lớn thì kích thước hạt càng nhỏ, tốc độ khuấy 900 vòng/phút cho kích thước hệ hạt nano chưa mang hoạt chất là nhỏ nhất 56,33 nm.Với tốc độ khuấy 900 vòng/phút cho kích thước hệ hạt nano chưa mang hoạt chất nhỏ nhất, kích thước hạt 56,33 nm.Vì vậy, chúng tôi sử dụng tốc độ này cho nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ khuấy đến kích thước hệ hạt nano tiếp theo.

### *3.3.2.Ảnh hưởng của nhiệt độ khuấy tới kích thước của hệ hạt nano chưa mang hoạt chất*

Hỗn hợp Chitosan/PEG tỉ lệ 70/30 về thể tích, được khuấy với tốc độ 900 vòng/phút ở các dải nhiệt độ 40, 50, 60, 70$^{o}$C trong 30 phút, nhỏ từ từ 10 ml dung dịch lecithin khuấy đều 15 phút. Hạ nhiệt độ xuống 15$^{o}$C (trong nước đá) tạo hạt nano khuấy trong 30 phút. Để về nhiệt độ phòng, ly tâm 16.000 vòng/phút trong 15 phút thu hạt nano, sấy khô và xác định kích thước hạt. Các kết quả thí nghiệm được trình bày trong Bảng 4 và Hình 5.

Từ kết quả thu được ở Bảng 4 và Hình 5 cho ta thấy rõ là nhiệt độ khuấy có tác động rất lớn tới kích thước hệ hạt nano chưa mang hoạt chất, nhiệt độ khuấy càng cao thì kích thước hạt càng nhỏ, tại mức nhiệt độ khuấy 70$^{o}$C cho kích thước hệ hạt nano chưa mang hoạt chất là nhỏ nhất 58,00 nm.Vì vậy, chúng tôi sử dụng mức nhiệt độ 70$^{o}$C để cho kích thước hệ hạt nano chưa mang hoạt chất nhỏ nhất đạt 58,00 nm cho nghiên cứu tạo sản phẩm Nano Đông trùng hạ thảo Tam Đảo.

### 3.4. Tạo sản phẩm Nano đông trùng hạ thảo Tam Đảo

Bột nano chưa mang hoạt chất ĐTHT Tam Đảo phân tán trong nước cất nóng 80$^{o}$C tỷ lệ 10% m/v. Thêm dịch chiếtĐTHTTam Đảo mẫu ĐT2 đã chuẩn bị sao cho tỷ lệ dịch chiết / hệ hạt nanochuwa mang hoạt chất là 30% (w/w). Khuấy gia nhiệt 60–80$^{o}$C và siêu âm cao tần cho đến khi hoạt chất được mang hoàn toàn trong hạt nano. Chuyển sang thiết bị cô quay chân không loại cồn và nước sau đó sấy hút chân không ở nhiệt độ 60$^{o}$C cho đến khô. Thu được sản phẩm Nano ĐTHT Tam Đảo. Sản phẩm được xay nhỏ đạt độ mịn như mong muốn. Kiểm tra kích thước hạt bằng máy kính hiển vi điện tử quét trường phát xạ (FE-SEM) Hitachi S-4800. Kết quả sản phẩm Nano ĐTHT Tam Đảo được trình bày trong Bảng 5.

**Bảng 5.** *Kích thước hạt các mẫu sản phẩm Nano đông trùng hạ thảo Tam Đảo*

| Tên mẫu | Kích thước (nm) |
|---|---|
| NĐT1 | 59,00±25,60 |
| NĐT2 | 55,67±29,94 |
| NĐT3 | 64,00±22,65 |

Từ kết quả thu được ở Bảng 5 cho thấy cả 3 mẫu sản phẩm được sản xuất đều cho kích thước đạt yêu cầu < 100 nm, kích thước hạt dao đọng trong khoảng 55,67–64,00 nm. Đây là cơ sở để chúng tôi hoàn thiện quy trình sản xuất sản phẩm Nano ĐTHT Tam Đảo, công suất 3–5 kg/mẻ.

### 3.5. Hoàn thiện quy trình sản xuất sản phẩm Nano ĐTHT, công suất 3 - 5kg/mẻ

#### *3.5.1. Hoàn thiện quy trình sản xuất*

Quy trình hoàn thiện đưa ra ở Hình 6 gồm các bước sau:

***- Bước 1: Chuẩn bị nguyên liệu, thiết bị:*** Nguyên liệu nấm ĐTHTTam Đảo sấy thăng hoa. Nguyên liệu có chất lượng đồng đều, đảm bảo các tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm theo quy định. Cồn thực phẩm, nước sạch: đảm bảo các tiêu chuẩn an toàn thực phẩm. Thiết bị gồm máy nghiền, thiết bị cô chiết chân không, máy sấy.

***- Bước 2: Sơ chế nguyên liệu:*** Nguyên liệu được cho vào máy xay mịn đạt kích thước 1 - 2mm.

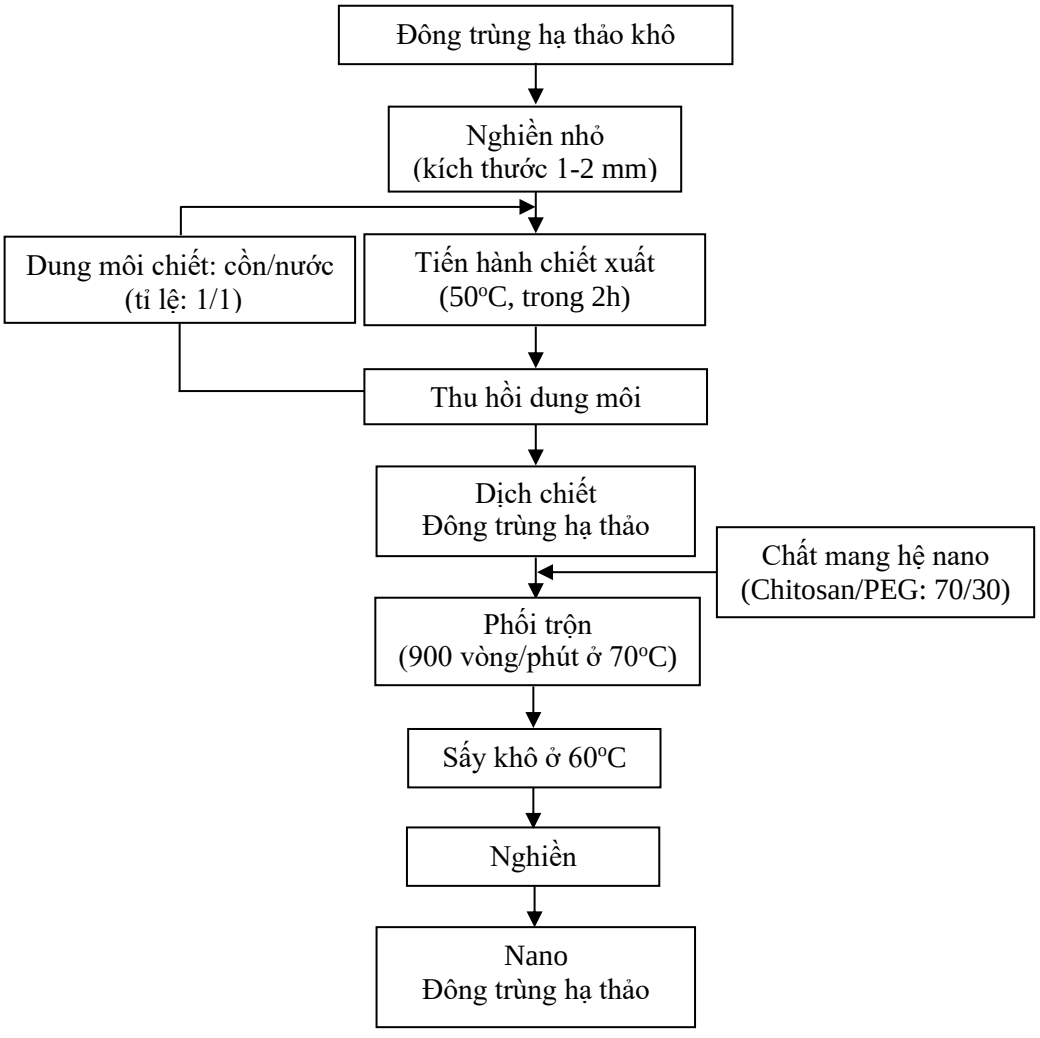
***- Bước 3: Chiết xuất:*** Nguyên liệu sau khi xay mịn được ngâm trong Dung môi chiết: cồn/nước (tỷ lệ 1:1, v/v), ở nhiệt độ 50$^{o}$C trong 2 giờ.

***- Bước 4: Thu dịch chiết và lọc***

***- Bước 5: Gắn lên hệ chất mang nano:*** Chuẩn bị hệ chất mang nano Chitosan/PEG chưa mang hoạt chất ĐTHT: tỉ lệ 70/30. Bột nano chưa mang hoạt chất ĐTHT phân tán trong nước cất nóng 80$^{o}$C tỷ lệ 10% m/v. Thêm dịch chiết xuất nấm ĐTHT Tam Đảo thảo theo tỷ lệ dịch chiết/hệ hạt nano chưa mang hoạt chất 30% (w/w). Khuấy gia nhiệt với tốc độ 900 vòng/phút ở 70$^{o}$C và siêu âm cao tần cho đến khi hoạt chất được mang hoàn toàn trong hạt nano.

***- Bước 6: Sấy khô:*** Chuyển sang thiết bị cô quay chân không loại cồn và nước sau đó sấy hút chân không ở nhiệt độ 60$^{o}$C cho đến khô.

***- Bước 7: Nghiền mịn:*** Thành phẩm sau sấy khô được nghiền đạt độ mịn như mong muốn. Thu được sản phẩm Nano ĐTHT Tam Đảo.




**Hình 6.** *Sơ đồ công nghệ sản xuất Nano đông trùng hạ thảo Tam Đảo quy mô 3–5 kg/mẻ.*

### *3.5.2. Đánh giá chất lượng sản phẩm Nano đông trùng hạ thảo Tam Đảo.*

**Bảng 6.** *Đánh giá chất lượng sản phẩm Nano đông trùng hạ thảo Tam Đảo*

| Chỉ tiêu | Kết quả | Chỉ tiêu | Kết quả |
|---|---|---|---|
| Hàm lượng adenosine,mg/kg | 2.045,84±509,03 | Kim loại nặng, mg/kg | |
| Hàm lượng cordycepin, mg/kg | 1.558,34±88,70 | Asen (As) | KPH |
| Vi sinh vật | | Cadimi (Cd) | KPH |
| *E. coli*, CFU/g | KPH | Chì (Pb) | KPH |
| *Salmonella*, CFU /25g | KPH | Thủy ngân (Hg) | KPH |

*KPH-không phát hiện*

### *3.5.3. Thử nghiệm các tác dụng sinh học của sản phẩm nano đông trùng hạ thảo*

Sản phẩm Nano ĐTHT Tam Đảo trong nghiên cứu thử nghiệm cho thấy có biểu hiện sau: chống ôxy hóa, kháng viêm, hỗ trợ điều trị bệnh huyết áp và tim mạch. Kết quả thể hiện như sau:

**Bảng 7.** *Đánh giá hoạt tính sinh học của sản phẩm nano đông trùng hạ thảo*

| Chỉ tiêu | Kết quả |
|---|---|
| Thử nghiệm hoạt tính chống ô xy hóa DPPH | + |
| Thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào | -* |
| Tế bào ung thư vú MCF-7 TB | |
| Tế bào ung thư tiền liệt tuyến PC-3 | |
| Thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm | -** |
| Kháng vi khuẩn Gr(-): *E.coli* ATCC 8739 | |
| Kháng vi khuẩn Gr(-): *P.aeruginosa* ATCC 9027 | |
| Kháng vi khuẩn Gr(+): *B.subtillis* ATCC 6633 | |
| Kháng vi khuẩn Gr(+): *S.aureus* ATCC 6538 | |
| Kháng nấm sợi (mốc): *A.niger* ATCC 9763 | |
| Kháng nấm sợi (mốc): *F.oxysporum* ATCC 48112 | |
| Kháng nấm men: *C.albicans* ATCC 10231 | |
| Kháng nấm men: *S.cerevisiae* ATCC 16404 | |
| Thử nghiệm hoạt tính kháng viêm | +*** |
| Ức chế sản sinh NO trên dòng đại thực bào RAW 264.7 | |
| Thử nghiệm hoạt tính ức chế α-glucosidase gây bệnh đát tháo đường týp 2 | -** |
| Thử nghiệm hoạt tính ức chế ACE gây bệnh huyết áp và tim mạch | +**** |

*(Ghi chú: +: có hoạt tính; -: không biểu hiện hoạt tính; *: nồng độ mẫu thử 128µg/mL; **: nồng độ mẫu thử 256µg/mL; ***: Giá trị $IC_{50}$ = 2,0mg/mL; ****: Giá trị $IC_{50}$ = 731,06mg/mL)*

### 3.6. Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cho chế phẩm nano đông trùng hạ thảo

***Bảng 8.*** *Tiêu chuẩn chất lượng cảm quan của sản phẩm Nano ĐTHT Tam Đảo*

| Chỉ tiêu | Yêu cầu |
|---|---|
| Hình dạng bên ngoài | Dạng bột mịn |
| Màu sắc | Màu vàng nhạt |
| Mùi vị | Mùi thơm đặc trưng của đông trùng hạ thảo |

Căn cứ đặc điểm của sản phẩm Nano ĐTHT Tam Đảo sau khi sản xuất, các quy định về vệ sinh an toàn thực phẩm (QCVN 8-3:2012/BYT và QCVN 8-2:2012/BYT) và yêu cầu của người tiêu dùng, đề tài đã xây dựng tiêu chuẩn cơ sở số TCCS 01:2024 công bố theo Quyết định số 01/2021/QĐ-HTX ngày 20/04/2024 của HTX nấm Tam Đảo cho chất lượng nano đông trùng hạ thảo, với các yêu cầu ở Bảng 8.

**Bảng 9**. *Tiêu chuẩn đặc điểm hóa lý của sản phẩm Nano đông trùng hạ thảo Tam Đảo*

| Chỉ tiêu | ĐVT | Tiêu chuẩn | Phương pháp thử |
|---|---|---|---|
| Kích thước hạt nano | nm | ≤ 100 | Hiển vi điện tử quét phát xạ trường (FESEM) |
| Hàm lượng adenosine | mg/kg | > 2.300 | VNT.H.03.Fo.261 |
| Hàm lượng cordycepin | mg/kg | > 1.400 | VNT.H.03.Fo.261 |

**Bảng 10.** *Tiêu chuẩn giới hạn kim loại trong sản phẩm Nano đông trùng hạ thảo Tam Đảo*

| Chỉ tiêu | ĐVT | Tiêu chuẩn | Phương pháp thử |
|---|---|---|---|
| Hàm lượng Asen (As) | mg/kg | < 0,05 | VNT.H.03.Fo.98 (2021) |
| Hàm lượng Cadimi (Cd) | mg/kg | < 0,01 | TCVN 8126:2009 |
| Hàm lượng chì (Pb) | mg/kg | < 0,025 | TCVN 8126:2009 |
| Hàm lượng thủy ngân (Hg) | mg/kg | < 0,01 | TCVN 7604:2007 |

*Tiêu chuẩn cơ sở được xây dựng theo kết quả phân tích chất lượng mầm lúa mạch và quy chuẩn QCVN 8-2:2011/BYT về quy định giới hạn kim loại năng trong thực phẩm*

**Bảng 11.** *Giới hạn vi sinh vật trong sản phẩm Nano ĐTHT Tam Đảo*

| Loại vi khuẩn | Đơn vị tính | Tiêu chuẩn | Phương pháp thử |
|---|---|---|---|
| *E. coli* (max) | CFU/g | KPH | TCVN 7924-2:2008 |
| *Salmonella* * (max) | CFU/25g | KPH | TCVN 10780-1:2017 |

*(KPH: không phát hiện; *: không có trong 25g mẫu)*

## IV. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã hoàn thiện công nghệ sản xuất sản phẩm Nano Đông trùng hạ thảo Tam Đảo, công suất 3–5 kg/mẻ: bột nấm đông trùng hạ thảo Tam Đảo có kích thước 1–2 mm được chiết trong hỗn hợp cồn/ nước tỷ lệ 1:1 (v/v), ở nhiệt độ 50$^{o}$C trong 2 giờ. Tạo ra hạt nano chưa mang hoạt chất, kích thước hạt trung bình là 35 - 80 nm, tỷ lệ chitosan/PEG (v/v): 7/3. Sản phẩm Nano đông trùng hạ thảo Tam Đảo có chất lượng đảm bảo các quy định về vệ sinh an toàn thực phẩm (QCVN 8-3:2012/BYT và QCVN 8-2:2012/BYT) có thể dùng để làm thực phẩm bổ sung. Đồng thời qua thử nghiệm cho thấy sản phẩm có biểu hiện sau: chống ôxy hóa, kháng viêm, hỗ trợ điều trị bệnh huyết áp và tim mạch.

## Tài liệu tham khảo

1. Nguyễn Thị Liên Thương, Trịnh Diệp Phương Danh và Nguyễn Văn Hiệp.Nấm đông trùng hạ thảo Cordyceps militaris: Đặc điểm sinh học, giá trị dược liệu và các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình nuôi trồng nấm. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 25/7/2016;44b:9-22. Available from https://ctujsvn.ctu.edu.vn/index.php/ctujsvn/article/view/2391
2. Nguyễn Ngọc Trai. Bước đầu nghiên cứu quy trình nuôi nấm đông trùng hạ thảo (Cordyceps militaris) có nguồn gốc từ Nhật Bản tại Trà Vinh.Báo cáo tổng kết đề tài nghiên cứu khoa học cấp trường, Trường Đại học Trà Vinh, QT6.2/KHCN 1 - BM3. 2017.
3. Nguyễn Thị Thúy Ngân. Nghiên cứu, thử nghiệm tách chiết sản phẩm dạng nano từ nấm đông trùng hạ thảo và trà hoa vàng Tam Đảo trên địa bàn tỉnh Vĩnh Phúc. Báo cáo tổng kết đề tài nghiên cứu khoa học cấp tỉnh, Trung tâm ứng dụng tiến bộ khoa học công nghệ tỉnh Vĩnh Phúc, 84/ĐTKHVP-2019. 2019.
4. Đỗ Thị Gấm, Bá Thị Châm, Nguyễn Tiến Mạnh, Nguyễn Khắc Hưng và Phan Thị Lan Anh. Nghiên cứu bào chế hệ chất mang nano chitosan-PEG chứa các hoạt chất từ nấm Đông trùng hạ thảo. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Trường Đại học tự nhiên. 11/6/2020;225(08):126-33. Available from https://jst.tnu.edu.vn/jst/article/view/2382.