

ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ ĐẾN HIỆU QUẢ THU DỊCH PROTEIN TỪ ĐẾ NẤM NHỘNG TRÙNG THẢO (*Cordyceps militaris*) SỬ DỤNG PAPAİN

Trần Ngọc Hùng⁽¹⁾

(1) Viện Công nghệ Xanh và Bền vững, trường Đại học Thủ Dầu Một

Email tác giả: hungtn@tdmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 19/01/2026; Chấp nhận đăng: 25/3/2026

Tóm tắt

Đế nấm nhộng trùng thảo (*Cordyceps militaris*) sau giai đoạn thu nhận quả thể là nguồn phụ phẩm giàu chất dinh dưỡng nhưng vẫn chưa được tận dụng hiệu quả. Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của một số yếu tố đến hiệu quả thu nhận dịch protein từ đế nấm nhộng trùng thảo đã được khảo sát và tối ưu hóa. Từ đó, hoạt độ papain và thời gian thủy phân được khảo sát để nâng cao hiệu quả thu dịch protein. Với tỷ lệ sử dụng đế nấm 7,5%, kết quả tối ưu bằng phương pháp đáp ứng bề mặt cho thấy dịch trích ly có hàm lượng protein cao nhất đạt $20,3 \pm 1,2$ mg/mL ở 54 °C trong 20 giờ. Việc tiếp tục thủy phân hỗn hợp bằng papain trong 3 giờ với hoạt độ 0,3 U/g nguyên liệu giúp nâng cao hàm lượng protein trong dịch trích ly, đạt $24,4 \pm 0,6$ mg/mL. Kết quả nghiên cứu đã cho thấy tiềm năng thu nhận dịch protein từ đế nấm nhộng trùng thảo, để tạo ra các loại thức uống giàu dinh dưỡng

Từ khóa: *Cordyceps militaris*, dịch protein, đáp ứng bề mặt, đế nấm nhộng trùng thảo, papain.

Abstract

EFFECT OF SOME FACTORS TO PROTEIN SOLUTION YIELD FROM THE *Cordyceps militaris* SPENT USING PAPAİN

The *Cordyceps militaris* spent after receiving fruit body processing is a source of high nutrient by-product that has not been effectively reused. In this study, the effect of some factors on the protein solution yield was determined and optimized. From that, the papain activity and hydrolytic time were determined to enhance the protein solution yield. At the mushroom spent ratio of 7.5%, the optimized result by response surface methodology showed the highest protein content of 20.3 ± 1.2 mg/mL at 54 oC for 20 hours. Adding papain activity of 0.3 U/g mushroom spent for 3 hours helps enhance the protein content in the extract solution, reaching 24.4 ± 0.6 mg/mL. The result showed the potential extraction protein from *C. militaris* spent to produce rich nutrient food drinks.

1. Đặt vấn đề

Chi nấm *Cordyceps* chứa một số lượng lớn các hợp chất và các dẫn xuất thứ cấp có hoạt tính sinh học và tác dụng dược tính như kháng ung thư, kháng tăng sinh tế bào, ngăn chặn sự hình thành mạch, kích hoạt apoptosis, kháng viêm, kháng oxy hóa, ngăn ngừa xơ cứng động mạch, ngăn ngừa cao huyết áp, ngăn ngừa nghẽn mạch, chống sốt

rét, kháng nấm, ngăn ngừa lão hóa (Liu và *nnk.*, 2015; Jedrejko và *nnk.* 2022). Do những tác dụng dược tính kỳ diệu này mà nấm nhộng trùng thảo tự nhiên bị khai thác quá mức nên ngày càng trở khan hiếm và đắt đỏ. Trong khoảng mười năm trở lại đây, nấm nhộng trùng thảo đã được nghiên cứu và nuôi cấy thành công trong điều kiện nhân tạo. Các trang trại nuôi trồng nấm nhộng trùng thảo hiện nay đã xuất hiện ở hầu hết các tỉnh thành trong cả nước, cung cấp nguồn nguyên liệu nấm dồi dào cho ngành dược phẩm và sản xuất các loại thực phẩm chức năng. Bên cạnh các chất có hoạt tính sinh học, nấm *Cordyceps militaris* còn chứa protein với hàm lượng lên đến 29,7 %. Phổ biến, nấm được sử dụng ở dạng quả thể nguyên vẹn sấy khô. Trong quá trình chế biến, phần đế nấm nhộng trùng thảo bao gồm hệ sợi nấm, phần gốc quả thể và môi trường nuôi cấy chưa sử dụng hết hiện vẫn chưa được tận dụng hiệu quả.

Một số nghiên cứu sử dụng đế nấm nhộng trùng thảo để bổ sung vào trong khẩu phần hằng ngày của vật nuôi nhằm tăng cường sức đề kháng và chất lượng thịt (Loan và Phương, 2024; Vui và *nnk.*, 2025). Sự thay đổi các tính chất kỹ thuật và hàm lượng cordycepin của bột đế nấm xay mịn cũng đề cập trong nghiên cứu của Shi và *nnk.* (2019). Bên cạnh đó, đế nấm nhộng trùng thảo còn được sử dụng để chiết xuất các chất có hoạt tính sinh học cao như adenosin và cordycepin (Nguyen và *nnk.*, 2018); β -glucan (Vũ Thị Lan Anh và *nnk.*, 2024). Nghiên cứu của Chanjula và Cherdthong (2018) cho thấy hàm lượng protein thô trong đế nấm đạt khoảng 11,62 %. Việc thu nhận dịch protein sẽ là một giải pháp giúp tận dụng hiệu quả nguồn đế nấm nhộng trùng thảo. Trong nghiên cứu này, các yếu tố ảnh hưởng đến hàm lượng protein trong dịch trích ly ở giai đoạn tiền xử lý như tỷ lệ đế nấm, nhiệt độ trích ly và thời gian trích ly được đánh giá và tối ưu. Tiếp đó, hỗn hợp được khảo sát một số điều kiện bổ sung papain để nâng cao hàm lượng protein. Dịch trích ly từ đế nấm nhộng trùng thảo với hàm lượng cao protein có thể là nguyên liệu để tạo ra các sản phẩm nước uống giàu dinh dưỡng, giúp tận dụng hiệu quả nguồn phụ phẩm từ quá trình chế biến nấm.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Đế nấm nhộng trùng thảo: do phòng thí nghiệm Viện Dược và Thực phẩm Sức khỏe, trường Đại học Thủ Dầu Một cung cấp, được sấy khô để độ ẩm còn khoảng 10% rồi nghiền thành bột.

Enzyme papain: do phòng thí nghiệm Sinh học đại cương, trường Đại học Thủ Dầu Một cung cấp, được điều chế bằng cách ly trích từ nhựa trái đu đủ xanh, kết tủa với ethanol, sấy đông khô rồi nghiền mịn thành bột.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp thu nhận dịch protein từ đế nấm nhộng trùng thảo có hỗ trợ enzyme

Giai đoạn tiền xử lý: Ngâm bột giá thể trồng nấm nhộng trùng thảo trong nước cất với hàm lượng thích hợp (5%, 7,5%, 10% và 12,5%). Giữ các bình tam giác chứa 100 mL hỗn hợp đế nấm nhộng trùng thảo ở nhiệt độ và thời gian thí nghiệm.

Giai đoạn thủy phân: Bổ sung 10 mL dung dịch enzyme papain thô đã được điều chỉnh hoạt độ (0,1; 0,2; 0,3 và 0,4 U/g đế nấm) vào hỗn hợp thủy phân rồi lắc trên máy lắc với tốc độ 120 vòng/ phút ở nhiệt độ đã chọn từ thí nghiệm trước trong khoảng thời gian khảo sát (0 – 5 giờ). Ly tâm thu dịch ở tốc độ 5000 vòng/ phút trong thời gian 10

phút sau rồi xác định hàm lượng protein theo phương pháp Lowry.

Xác định hàm lượng protein

Hàm lượng protein trong dịch trích ly được xác định dựa trên phương pháp Lowry với một số điều chỉnh nhỏ. Dịch trích ly được loại phần không tan bằng cách ly tâm với tốc độ 5500 vòng/ phút trong 5 phút. 2 mL dung dịch C được trộn đều với 0,4 mL dịch trích ly, lắc đều rồi giữ trong 5 phút; thêm 0,2 mL thuốc thử Folin (pha loãng trong nước cất với tỷ lệ 1:4) rồi trộn đều; nước cất được bổ sung cho đủ 5 mL rồi đo mật độ quang ở bước sóng 750 nm. Tyrosine được sử dụng để xây dựng đường chuẩn với các nồng độ khác nhau.

Xác định mức độ thủy phân

Được xác định theo Ekun (2023) với một số điều chỉnh. 1 mL dung dịch thủy phân protein được trộn đều với 1 mL dung dịch TCA 20% rồi để kết tủa trong 30 phút. Dịch nổi được thu nhận bằng cách ly tâm với tốc độ 4000 g trong 20 phút rồi xác định hàm lượng protein bằng phương pháp Lowry. Mức độ thủy phân (%) được xác định bằng cách chia hàm lượng peptide hòa tan trong TCA 10% cho hàm lượng protein tổng trước khi kết tủa.

Xử lý thống kê

Các thí nghiệm đều được tiến hành lặp lại ít nhất 3 lần. Phân tích ANOVA bằng cách sử dụng phần mềm Stargraphic Centurion 15. Phần mềm Modde 5.0 được sử dụng cho thí nghiệm tối ưu hóa.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Ảnh hưởng của tỷ lệ đế nấm nhộng trùng thảo

Tỷ lệ nguyên liệu có ảnh hưởng đến khả năng hòa tan của các hoạt chất vào dung dịch. Thí nghiệm được tiến hành với các tỷ lệ nguyên liệu khác nhau: 5,0%; 7,5%; 10,0% và 12,5% (w/v). Các nghiệm thức được lắc đều với tốc độ 120 vòng/phút ở nhiệt độ 50 °C. Sau 4 giờ, ly tâm thu dịch ở tốc độ 5000 vòng/ phút trong 10 phút rồi xác định hàm lượng protein. Hiệu suất trích ly được thể hiện thông qua hàm lượng protein thu được trong dịch trên lượng nguyên liệu ban đầu (mg/ g). Các nghiệm thức được lặp lại 3 lần.

Ảnh hưởng của nhiệt độ tiền xử lý

Thí nghiệm được tiến hành nhằm đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu quả trích ly protein từ đế nấm. Bột đế nấm nhộng trùng thảo được trộn đều trong nước cất với tỷ lệ 7,5% (w/v) trong 4 giờ với các mức nhiệt khác nhau: 30 °C, 40 °C, 50 °C và 60 °C. Các nghiệm thức được lắc đều với tốc độ 120 vòng/phút. Thu dịch bằng cách lọc qua giấy lọc rồi xác định hàm lượng protein theo phương pháp Lowry.

Ảnh hưởng của thời gian tiền xử lý

Thí nghiệm được tiến hành nhằm đánh giá ảnh hưởng của thời gian đến hiệu quả trích ly protein từ đế nấm. Bột đế nấm nhộng trùng thảo được trộn đều trong nước cất với tỷ lệ 7,5% (w/v) ở 50 °C trong các khoảng thời gian 6, 12, 18, 24 và 30 giờ. Các nghiệm thức được lắc với tốc độ 120 vòng/phút. Thu dịch bằng cách lọc qua giấy lọc rồi xác định hàm lượng protein.

Tối ưu hóa ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian tiền xử lý

Phương pháp trực giao hai yếu tố theo mô hình CCF-design được sử dụng cho khảo sát. Thiết kế thí nghiệm và xử lý số liệu được thực hiện trên phần mềm Modde 5.0. Theo đó, nội dung và giá trị mã hóa của các nghiệm thức được mô tả trong bảng 1. Trong đó X1 là nhiệt độ tiền xử lý và X2 là thời gian tiền xử lý.

Bảng 1. Thiết kế thí nghiệm tối ưu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian tiền xử lý

Nghiệm thức	Các biến		Nhiệt độ tiền xử lý (°C)	Thời gian tiền xử lý (giờ)
	X1	X2		
N 1	-1	-1	40	12
N 2	1	-1	60	12
N 3	-1	1	40	20
N 4	1	1	60	20
N 5	-1	0	40	16
N 6	1	0	60	16
N 7	0	-1	50	12
N 8	0	1	50	20
N 9	0	0	50	16
N 10	0	0	50	16
N 11	0	0	50	16

Nguồn: Tác giả, 2025.

Mô hình phương trình hồi quy đa thức bậc 2 được lựa chọn để mô tả ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian xử lý đến hàm lượng protein:

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_{12}X_1X_2 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2$$

Với: X₁ và X₂ là các biến độc lập; a₀ là hệ số phương trình hồi quy; a₁₂ là hệ số tương tác; a₁₁, a₂₂ là hệ số bậc 2; Y là hàm lượng protein

Ảnh hưởng của hoạt độ papain

Để nắm được tiền xử lý trong nước cất với tỷ lệ 7,5% ở điều kiện tối ưu đã chọn từ thí nghiệm trước (nhiệt độ 54 °C trong 20 giờ) rồi bổ sung enzyme papain với các hoạt độ khác nhau: 0,1; 0,2; 0,3 và 0,4 U/g để nắm. Thủy phân trên máy lắc với tốc độ 120 vòng/ phút ở nhiệt độ chọn từ thí nghiệm trước. Sau 4 giờ, thu nhận dịch bằng cách ly tâm 10 phút ở tốc độ 5000 vòng/ phút rồi xác định hàm lượng protein theo phương pháp Lowry. Các nghiệm thức đối chứng cũng được thực hiện đồng thời bằng cách bổ sung papain ở các nồng độ và thời gian tương tự mà không trải qua quá trình tiền xử lý.

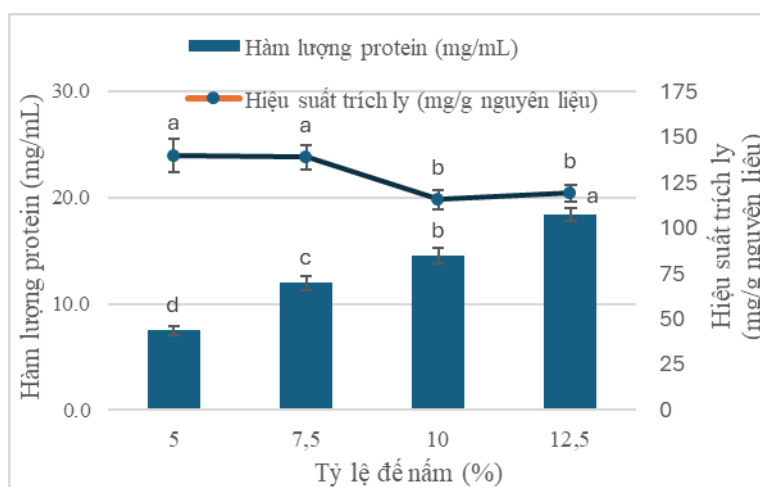
Ảnh hưởng của thời gian thủy phân

Để nắm được tiền xử lý trong nước cất với tỷ lệ 7,5% ở điều kiện tối ưu đã chọn từ thí nghiệm trước (nhiệt độ 54 °C trong 20 giờ) rồi bổ sung enzyme papain với các hoạt độ chọn từ thí nghiệm trước. Thủy phân trong điều kiện tương tự như thí nghiệm trước rồi thu nhận dịch trích ly sau các khoảng thời gian 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ và 5 giờ. Các nghiệm thức được lặp lại 3 lần.

3. Kết quả, thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ để nấm nhộng trùng thảo

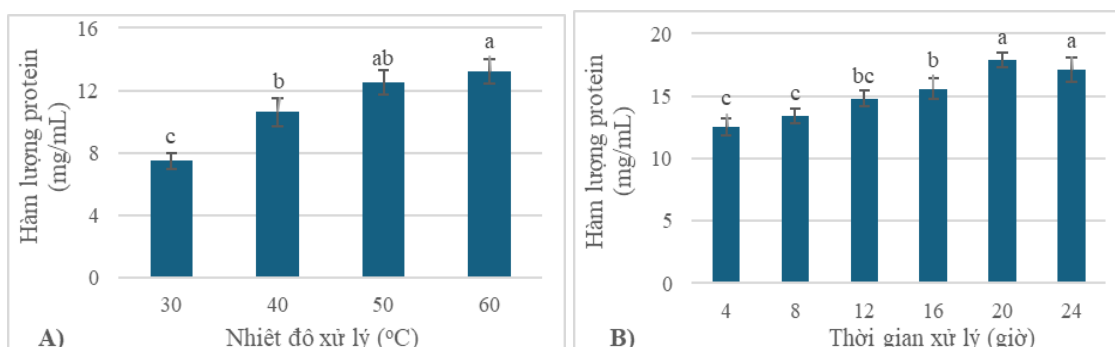
Tỷ lệ nguyên liệu có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả trích ly protein. Nhìn chung, khi tăng nguyên liệu, hàm lượng protein thu được sẽ cao. Tuy nhiên, tỷ lệ nguyên liệu cũng ảnh hưởng đến độ nhớt, đến một tỷ lệ nhất định, độ nhớt của dung dịch sẽ cản trở sự hòa tan protein vào dung môi. Theo đó, hiệu suất trích ly sẽ giảm. Ở tỷ lệ 12,5% để nấm, hàm lượng protein đạt 18,5 mg/mL, nhưng hiệu suất trích ly chỉ đạt 119,2 mg/g nguyên liệu. Trong khi đó, ở tỷ lệ 7,5% để nấm, hàm lượng protein trong dịch trích ly chỉ đạt 12 mg/g nguyên liệu, nhưng lại cho hiệu suất trích ly cao hơn đáng kể, đạt 138,8 mg/g. Nghiệm thức 5% để nấm cũng cho hiệu quả trích ly tương tự nhưng hàm lượng protein trong dịch trích không cao, chỉ đạt 7,6 mg/mL. Sử dụng tỷ lệ 7,5% để nấm cho hiệu quả thu nhận protein cao, lượng dịch thải ra sau công đoạn tinh sạch về sau thấp. Do đó, tỷ lệ 7,5% đến nấm được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu đến hiệu quả ly trích protein. Các ký tự khác nhau đối với từng tiêu chí đánh giá biểu thị sự sai khác ở độ tin cậy 95% ($P \leq 0,05$).

Nguồn: Tác giả, 2025.

3.2. Khảo sát sơ bộ ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian tiền xử lý để nấm



Hình 2. Ảnh hưởng của một số yếu tố đến hiệu quả ly trích protein từ bã nấm đông trùng hạ thảo. A) Nhiệt độ. B) Thời gian. Các ký tự khác nhau ở các nghiệm thức thể hiện mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ($P \leq 0,05$).

Nguồn: Tác giả, 2025.

Nhiệt độ làm giảm độ nhớt của dung dịch và tăng tốc độ khuếch tán của các phân tử trong dung dịch, qua đó ảnh hưởng đến hiệu quả thu nhận protein. Khi tăng nhiệt độ trích ly từ 40 đến 60 °C, hàm lượng protein trong dịch trích ly cũng tăng dần, đạt lần lượt $10,6 \pm 0,9$ và $13,2 \pm 0,8$ mg/mL (hình 2A). Hàm lượng protein khi trích ly ở 60 °C không có sự khác biệt so với trích ly ở 50 °C. Trong khi đó, hàm lượng protein trong dịch tăng dần theo thời gian trích ly từ 8 đến 20 giờ (hình 2B), đạt lần lượt $13,4 \pm 0,6$ và $17,9 \pm 0,6$ mg/mL. Hàm lượng protein không có sự khác biệt đáng kể khi thu nhận dịch trích sau 20 và 24 giờ. Khả năng hòa tan của các chất vào dung dịch chỉ đạt tối đa sau một khoảng thời gian nhất định. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy nhiệt độ và thời gian là các nhân tố liên tục, có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả trích ly protein từ bột đế nấm nhộng trùng thảo. Các khoảng thông số có ảnh hưởng nhiều đến hàm lượng protein trong dịch (nhiệt độ từ 40 đến 60 °C và thời gian từ 12 đến 20 giờ) được sử dụng để xây dựng phương trình hồi quy.

3.3. Tối ưu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian tiền xử lý để nấm

Nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm hiểu tác động đồng thời của nhiệt độ trong khoảng 40 – 60 °C và thời gian xử lý trong khoảng 12 – 20 giờ. Kết quả thực nghiệm theo quy hoạch thực nghiệm bậc 2 được trình bày trong bảng 1.

Bảng 2. Tối ưu ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian xử lý để nấm nhộng trùng thảo

Thí nghiệm	Các biến		Nhiệt độ xử lý (°C)	Thời gian xử lý (giờ)	Hàm lượng protein (mg/mL)
	X1	X2			
N 1	-1	-1	40	12	12,04
N 2	1	-1	60	12	13,43
N 3	-1	1	40	20	15,23
N 4	1	1	60	20	18,64
N 5	-1	0	40	16	12,38
N 6	1	0	60	16	16,77
N 7	0	-1	50	12	14,68
N 8	0	1	50	20	18,73
N 9	0	0	50	16	16,48
N 10	0	0	50	16	17,29
N 11	0	0	50	16	16,62

Nguồn: Tác giả, 2025

Bảng 3. Ảnh hưởng của các biến đến hàm lượng protein trong dịch trích ly

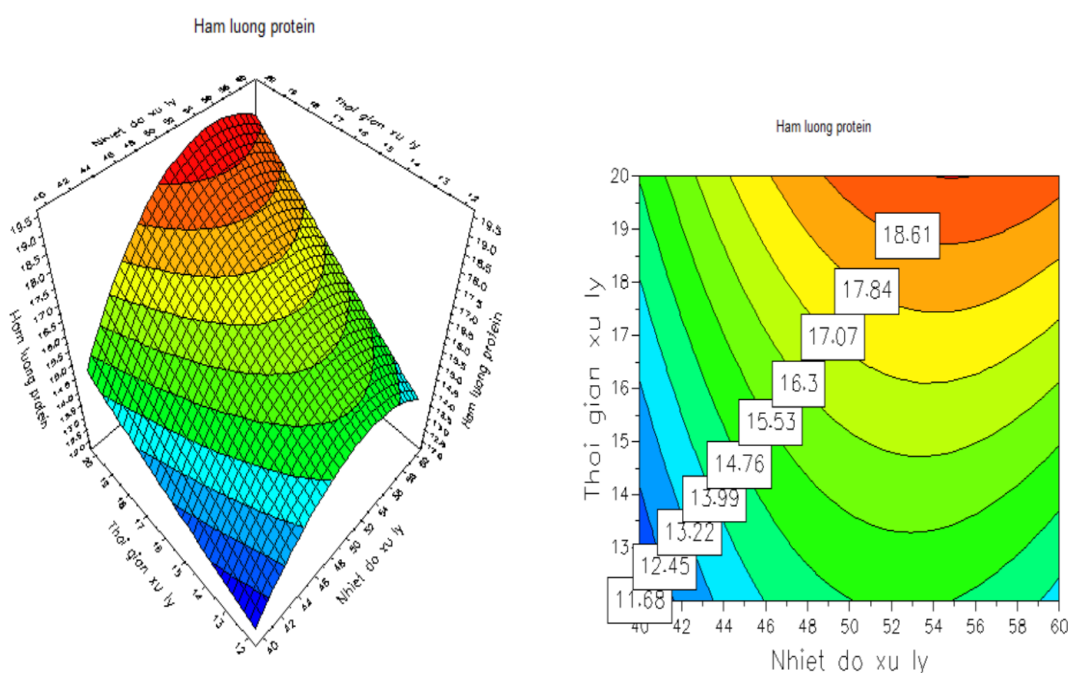
Hàm lượng protein	Coeff. SC	Std. Err.	P	Conf. int(±)
Constant	16,7226	0,306123	3,88777e-008	0,786915
X1	1,53167	0,243619	0,00149618	0,626245
X2	2,075	0,243619	0,000367011	0,626245
X1*X1	-2,03658	0,374922	0,00286722	0,96377
X2*X2	0,0934203	0,374922	0,813139	0,96377
X1*X2	0,504999	0,298371	0,151329	0,76699
N = 11	Q ² = 0,716 DF = 5 R ² Adj. = 0,934	Cond. no. = 3,0822 R ² = 0,967 RSD = 0,5967 Conf. lev. = 0,95	Y-miss = 0	

Nguồn: Tác giả, 2025

Tác động của các biến số theo mô hình hồi quy được thể hiện ở bảng 2 với mức ý nghĩa 95%. Kết quả cho thấy lượng nhiệt độ và thời gian trích ly có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng protein trong dịch trích. Tuy nhiên, hai nhân tố này ít thể hiện ảnh hưởng đồng thời lên hàm mục tiêu ($P > 0,05$). Trong khi đó, biến số X_1^2 có ảnh hưởng âm tính đến hàm lượng protein. Theo kết quả xử lý thống kê, tính hồi quy của phương trình tốt với $R^2 = 0,967 (> 0,8)$ và hệ số biến thiên ảo $Q^2 = 0,716 (> 0,5)$. Theo đó, các tham số không có ý nghĩa ($P > 0,05$) được loại bỏ, phương trình hồi quy thu được như sau:

$$Y = 16,7226 + 1,53167X_1 + 2,075X_2 - 2,03658X_1^2$$

Trong đó, Y là hàm lượng protein (mg/mL); X_1 là nhiệt độ xử lý ($^{\circ}C$); X_2 là thời gian xử lý (giờ).

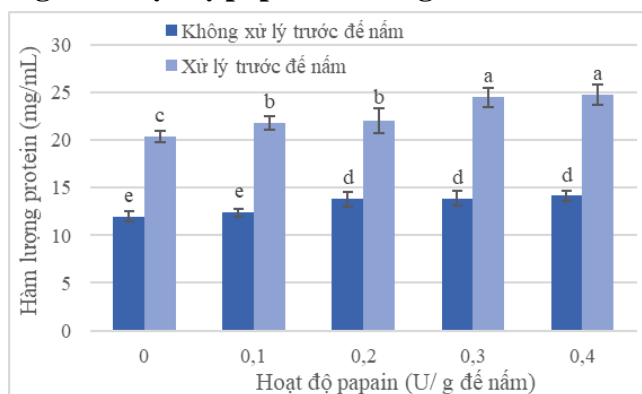


Hình 3. Đồ thị bề mặt đáp ứng thể hiện ảnh hưởng của nhiệt độ xử lý và thời gian xử lý đến hàm lượng protein trong dịch trích ly.

Nguồn: Tác giả, 2025

Hiệu quả xử lý để nắm thu hàm lượng protein cao nhất được xác định thông qua phương trình tối ưu bằng phần mềm Modde 5.0. Ở nhiệt độ xử lý $54^{\circ}C$, thời gian xử lý 20 giờ, dịch trích ly có hàm lượng protein dự đoán đạt $19,38 \text{ mg/mL}$. Tiến hành thực nghiệm với nhiệt độ và thời gian xử lý tối ưu cho thấy dịch trích có hàm lượng protein đạt $20,32 \pm 1,16 \text{ mg/mL}$, khác biệt 4,85% so với dự đoán. Do đó, giá trị thực nghiệm thu được gần với giá trị tính toán từ phương trình hồi quy. Cho đến nay, các nghiên cứu trích ly protein trên để nắm nhộng trùng thảo vẫn chưa được công bố. Trong một sáng chế do Công ty Phát triển Công nghiệp Huizhou Xinfulai (Trung Quốc) công bố, trích ly protein từ quả thể nấm *C. militaris* đạt hiệu quả cao nhất khi tiến hành trong môi trường kiềm, ở $80^{\circ}C$ trong thời gian 30 phút, hiệu suất trích ly đạt 31,2% (CN102690321A, 2012). Nghiên cứu của Xu và nnk. (2023) cho thấy, trong điều kiện pH 8,5, tỷ lệ nguyên liệu: dịch trích 1:28, hiệu suất thu nhận protein cao nhất đạt 45,06% sau 3,5 giờ.

3.4. Ảnh hưởng của hoạt độ papain bổ sung

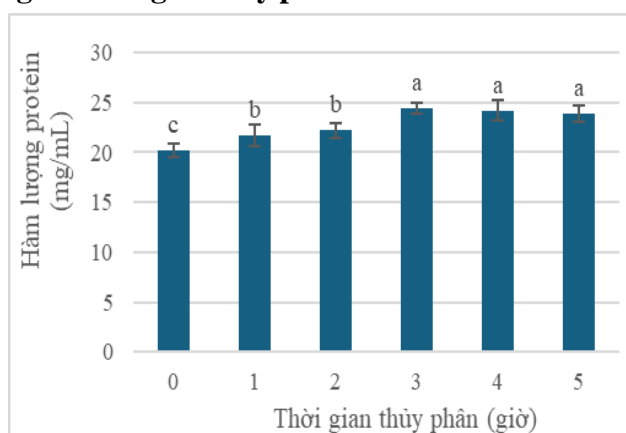


Hình 4. Đồ thị thể hiện tác động của hoạt độ papain đến hàm lượng protein trong dịch trích ly. Các ký tự khác nhau thể hiện sự sai khác ở độ tin cậy 95% ($P \leq 0,05$).

Nguồn: Tác giả, 2025.

Enzyme papain giúp nâng cao hiệu quả thu nhận protein từ để nấm nhộng trùng thảo. Sự gia tăng nồng độ papain có tác động đáng kể đến hiệu quả thu nhận protein. Ở mức bổ sung 0,1 – 0,2 U/ g để nấm, hàm lượng protein không có sự sai khác đáng kể. Hàm lượng protein trong dịch trích ly tăng đáng kể khi sử dụng papain với hoạt độ cao hơn, đạt lần lượt $24,5 \pm 1,0$ mg/mL và $24,8 \pm 1,1$ mg/mL khi xử lý ở hoạt độ 0,3 và 0,4 U/g để nấm (hình 4). Sử dụng papain để thủy phân protein trong nấm hoặc để nấm nhộng trùng thảo hiện vẫn chưa có công bố nào đề cập đến. Bên cạnh việc thủy phân protein trong hệ sợi nấm *Cordyceps militaris*, papain cũng đã cho thấy hiệu quả thủy phân protein cám gạo (Sigh và *mk.*, 2019), một thành phần chiếm hàm lượng đáng kể trong môi trường nuôi cấy nấm, điều này có thể góp phần gia tăng hàm lượng protein trong dịch trích ly. Trong khi đó, các nghiệm thức không qua giai đoạn tiền xử lý để nấm có hàm lượng protein không cao, dao động trong khoảng 12,0 đến 14,5 mg/mL, mặc dù sử dụng papain cũng cho thấy sự gia tăng hàm lượng protein khi thủy phân ở các hoạt độ 0,2 – 0,4 U/g để nấm (hình 4). Điều này đã nhấn mạnh đến vai trò của bước tiền xử lý trong việc thu nhận protein từ để nấm nhộng trùng thảo. Bổ sung papain với hoạt độ 0,4 U/g để nấm không mang lại hiệu quả khác biệt so với khi sử dụng 0,3 U/g. Trong điều kiện dư thừa cơ chất, việc tăng hàm lượng enzyme chỉ làm tăng tốc độ thủy phân đến một mức độ nhất định. Do đó, hoạt độ papain ở mức 0,3 U/g để nấm được sử dụng trong thí nghiệm tiếp theo.

3.5. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân



Hình 5. Đồ thị thể hiện tác động của thời gian thủy phân đến hàm lượng protein trong dịch trích ly. Các ký tự khác nhau thể hiện sự khác biệt ở độ tin cậy 95% ($P \leq 0,05$).

Nguồn: Tác giả, 2025.

Bảng 4. Hàm lượng các amino acid trong dịch thủy phân protein để nấm nhộng trùng thảo

Amino acid	Hàm lượng (mg/ 100 mL)	Amino acid	Hàm lượng (mg/ 100 mL)
Alanine	107,52	Lysine	90,22
Arginine	82,96	Methionine	14,68
Aspartic acid	174,26	Phenylalanine	49,24
Glutamic acid	149,19	Proline	21,90
Glycine	64,28	Serine	103,08
Histidine	28,44	Threonine	89,95
Isoleucine	53,53	Tyrosine	105,94
Leucine	83,61	Valine	77,46

Nguồn: Tác giả, 2025.

Nhìn chung, việc kéo dài thời gian thủy phân giúp tăng hàm lượng protein trong dịch trích. Thu nhận dịch sau các thời điểm 1 và 2 giờ, hàm lượng protein trong dịch trích ly không có sự khác biệt. Sau 3 giờ, hàm lượng protein có sự gia tăng đáng kể, đạt $24,4 \pm 0,6$ mg/mL. Tuy nhiên, khi kéo dài thời gian thủy phân lên 4 và 5 giờ, hàm lượng protein thu được không khác biệt so với ở thời gian 3 giờ. Điều kiện hoạt động ở nhiệt độ cao (54 °C) có thể đã ảnh hưởng đến độ bền hoạt tính của papain. Nghiên cứu của Xu và nnk. (2023) cũng cho thấy, hỗn hợp protease kiềm: papain (tỷ lệ 4:3) cho hiệu quả thủy phân protein nấm *C. militaris* cao nhất ở nhiệt độ 55 °C trong thời gian 3,5 giờ. Sau 3 giờ xử lý với hoạt độ papain bổ sung ở mức 0,3 U/g để nấm, hiệu suất thủy phân của dịch để nấm đạt 53,1%. Nghiên cứu cũng ghi nhận sự hiện diện của 16 loại amino acid khác nhau trong dịch thủy phân. Trong đó, aspartic acid, glutamic acid và alanin là các amino acid chiếm hàm lượng cao nhất, đạt lần lượt 174,26; 149,19 và 107,52 mg/ 100 mL dung dịch (bảng 3). Ngoài ra, hàm lượng các amino acid có vai trò phục hồi cơ bắp và tăng cường khả năng bảo vệ cơ thể như leucine, isoleucine, valine và lysine ở mức khá cao (53,53 – 90,22 mg/100 mL) sẽ là cơ sở để phát triển các dòng sản phẩm thức uống dinh dưỡng cho người vận động nhiều, tập luyện thể thao và các bệnh nhân cần phục hồi sau quá trình điều trị bệnh. Bên cạnh đó, dịch thủy phân có thể chứa các peptide có lợi ích cho sức khỏe. Các nghiên cứu tiếp theo có thể nhận diện sự có mặt của các peptide này và khảo sát các hoạt tính sinh học liên quan như khả năng kháng oxy hóa, khả năng kháng tiểu đường, khả năng kháng tăng huyết áp...

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy tiềm năng tận dụng để nấm nhộng trùng thảo để thu nhận dịch protein thủy phân, giúp tận dụng hiệu quả nguồn phụ phẩm và phát triển nền kinh tế tuần hoàn. Sử dụng 7,5% để nấm cho hiệu suất trích ly cao nhất trong các tỷ lệ khảo sát, đạt 138,8 mg protein/ g nguyên liệu. Trên cơ sở khảo sát sơ bộ các khoảng nhiệt độ và thời gian trích ly có ảnh hưởng đến hiệu quả thu nhận protein, kết quả tối ưu hóa cho thấy hàm lượng protein trong dịch trích ly cao nhất thu được khi xử lý ở 54 °C trong 20 giờ, đạt 19,38 mg/mL. Việc tiếp tục thủy phân hỗn hợp bằng papain trong 3 giờ với hoạt độ 0,3 U/g nguyên liệu giúp nâng cao hàm lượng protein trong dịch trích ly, đạt $24,4 \pm 0,6$ mg/mL. Dịch protein từ để nấm có thể được phối trộn với các loại thực liệu khác để tạo thành các loại thức uống dinh dưỡng. Đặc biệt, hàm lượng cao các

amino acid có giá trị như leucine, isoleucine, valine và lysine trong dịch thủy phân là điều kiện cần thiết để phát triển các sản phẩm đặc thù cho người chơi thể thao và bệnh nhân cần hồi phục sức khỏe.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Vũ Thị Lan Anh, Võ Thị Kiều Thanh & Nguyễn Thị Lan Thanh (2024). Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng tới quá trình chiết β -glucan từ nấm *Cordyceps militaris*. Hội nghị Khoa học toàn quốc về Công nghệ Sinh học 2024. 223-228.
- [2] Chanjula, P. & Cherdthong, A. (2018). Effects of spent mushroom *Cordyceps militaris* supplementation on apparent digestibility, rumen fermentation, and blood metabolite parameters of goats. *J. Anim. Sci.* 96:1150–1158 doi: 10.1093/jas/skx079.
- [3] CN102690321A. (2012). Process for extracting protein of *cordyceps militaris*, and optimization method for optimal extraction conditions of process. <https://patents.google.com/patent/CN102690321A/en>
- [4] Ekun, O.E., Olusola, A.O., Iyalla, C.J., Ekun, R.G., Sanni, J.A., Bakare, O.S. & Ishola, F. (2023). Peptide fractions of Papain-hydrolyzed *Moringa oleifera* seed protein demonstrate inhibition of carbohydrate-hydrolyzing enzymes in vitro. *Biomed. J. Sci. & Tech. Res.* 53(3). BJSTR. MS.ID.008408.
- [5] Jedrejko, K., Kała, K., Sułkowska-Ziaja, K., Krakowska, A., Zieba, P., Marzec, K., Szewczyk, A., Sekara, A., Pytko-Polonczyk, J. & Muszynska, B. (2022). *Cordyceps militaris*—Fruiting Bodies, Mycelium, and Supplements: Valuable Component of Daily Diet. *Antioxidants*, 11, 1861. <https://doi.org/10.3390/antiox11101861>.
- [6] Liu, Y., Wang, J., Wang, W., Zhang, H., Zhang, X., & Han, C. (2015). The chemical constituents and pharmacological actions of *Cordyceps sinensis*. *Evid Based Complement Alternat. Med.* 2015, 575063. doi:10.1155/2015/575063.
- [7] Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. & Randall R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry.* 193(1): 265-75. doi:10.1016/S0021-9258(19)52451-6. PMID 14907713.
- [8] Nguyen, T.T., Le, T.L.C., Do, T.T.H., La, T.Q.N., Tran, T.P.T, Truong Q.P & Khuat H.T (2018). Extraction of adenosine and cordycepin from spent solid medium of *Cordyceps militaris* culture. *Vietnam J. Sci. Technol.*, 56(4A): 221-228.
- [9] Tajendra Pal Singh, Raashid Ahmad Siddiqi, Dalbir Singh Sogi, Statistical optimization of enzymatic hydrolysis of rice bran protein concentrate for enhanced hydrolysate production by papain. *Food Science and Technology.* 99. 77-83.
- [10] Shi, H., Zhang, M., Bhandari, B., Wang, Y. & Yi, S. (2019). Effects of superfine grinding on the properties and qualities of *Cordyceps militaris* and its spent substrate. *Journal of Food Processing and Preservation.* <https://doi.org/10.1111/jfpp.14169>.
- [11] Vui N.V., Quoc N.Q.A. & Trai N.N. (2025). Effects of *Cordyceps militaris* roots supplementation in diet on laying hen performance, egg quality, and yolk lipid oxidation. *J. Anim. Health Prod.* 13(4): 918-927.
- [12] Xu, L., Guo, S., Li, Y., Guo, W., Guo, X. & Hong, S. (2023). Ultrasound-Assisted Enzymatic Extraction and Bioactivity Analysis of Polypeptides from *Cordyceps militaris*. *Journal of Chemistry.* 1233867, <https://doi.org/10.1155/2023/1233867>.