

Số: 24 /QĐ/BVTV-KH&HTQT

Hà Nội, ngày 05 tháng 01 năm 2024

QUYẾT ĐỊNH

V/v Công nhận cấp cơ sở quy trình kỹ thuật thuộc đề tài
đề tài “Ứng dụng tiến bộ kỹ thuật sản xuất nấm Đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris*
trên giá thể nhộng tằm tại tỉnh Yên Bái”

VIỆN TRƯỞNG VIỆN BẢO VỆ THỰC VẬT

Căn cứ Quyết định số 34/2006 QĐ-BNN ngày 9/05/2006 của Bộ Nông nghiệp và PTNT quy định chức năng nhiệm vụ và tổ chức bộ máy của Viện Bảo vệ thực vật;

Căn cứ Thông tư số 04/2018/TT-BNNPTNT ngày 03 tháng 5 năm 2018 của Bộ Nông nghiệp và PTNT về việc hướng dẫn trình tự, thủ tục công nhận tiến bộ kỹ thuật và công nghệ mới của ngành Nông nghiệp và Phát triển nông thôn;

Căn cứ Biên bản của Hội đồng Khoa học Công nghệ Viện Bảo vệ thực vật ngày 12/8/2023 về việc đánh giá, nghiệm thu tổng kết cấp cơ sở của đề tài;

Theo đề nghị của Trưởng phòng Khoa học và Hợp tác quốc tế.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Công nhận cấp cơ sở quy trình kỹ thuật “Sản xuất nấm Đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris* trên giá thể nhộng tằm”

Điều 2. Nhóm tác giả và các đơn vị có liên quan hướng dẫn, phổ biến quy trình kỹ thuật trên để áp dụng vào sản xuất nấm Đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris* trên giá thể nhộng tằm.

Điều 3. Bộ môn Côn trùng và Tuyến trùng và các đơn vị có liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này. /.

Nơi nhận:

- Như điều 2,3
- Lưu VT, KH&HTQT.



Trịnh Xuân Hoạt



QUY TRÌNH KỸ THUẬT SẢN XUẤT NẤM ĐÔNG TRÙNG HẠ THẢO *Cordyceps militaris* TRÊN GIÁ THỂ NHỘNG TÂM

I. THÔNG TIN CHUNG

1.1. Tên quy trình: Quy trình kỹ thuật sản xuất nấm Đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris* trên giá thể nhộng tằm

1.2. Tác giả

ThS. Ngô Văn Dũng¹, ThS. Nguyễn Tiến Quân¹, ThS. Nguyễn Thị Như Quỳnh¹, TS. Nguyễn Văn Liêm¹, TS. Lê Mai Nhất¹, TS. Nguyễn Thị Thanh Hiền¹, ThS. Nguyễn Bá Huy¹, TS. Trịnh Duy Nam², ThS. Lê Hải Hà³, KS. Đặng Thị Hồng Hiệp³, KS. Trịnh Thị Hằng³.

¹Viện Bảo vệ thực vật - Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

Địa chỉ: Phường Đức Thắng, Quận Bắc Từ Liêm, Thành phố Hà Nội

Điện thoại: 02438389724 ; Fax: 02438363563

E-mail: ppri.vaas@mard.gov.vn

²Cục Bảo vệ thực vật; ³Trung tâm Ứng dụng, kỹ thuật, thông tin khoa học và công nghệ tỉnh Yên Bái

1.3. Cơ sở khoa học, pháp lý xây dựng quy trình và tài liệu viện dẫn

1.3.1. Cơ sở khoa học và pháp lý

Quy trình kỹ thuật được xây dựng dựa trên kết quả nghiên cứu của đề tài “Ứng dụng tiến bộ kỹ thuật sản xuất nấm Đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris* trên giá thể nhộng tằm tại tỉnh Yên Bái”.

Hợp đồng số 22/HĐKTKT - SKHCN ngày 02 tháng 8 năm 2021 giữa Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Yên Bái với Viện Bảo vệ thực vật và thuyết minh tổng thể đã được phê duyệt.

1.3.2. Tài liệu viện dẫn xây dựng quy trình

QCVN 8-1:2011/BYT Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với giới hạn ô nhiễm độc tố vi nấm trong thực phẩm.

QCVN 8-2:2011/BYT Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với giới hạn ô nhiễm kim loại nặng trong thực phẩm.

QCVN 8-3:2012/BYT Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với ô nhiễm vi sinh vật trong thực phẩm.

QCVN 12-1:2011/BYT Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về an toàn vệ sinh đối với bao bì, dụng cụ bằng nhựa tổng hợp tiếp xúc trực tiếp với thực phẩm.

Tiêu chuẩn TCVN 11888:2017 Gạo trắng.

Tiêu chuẩn nước sạch QCVN 02 2009/BYT.

1.4. Phạm vi, đối tượng và điều kiện áp dụng

- Quy trình kỹ thuật này áp dụng để sản xuất nấm Đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris* trên giá thể nhộng tằm.

- Trung tâm Ứng dụng, kỹ thuật, thông tin khoa học và công nghệ tỉnh Yên Bái.

- Các đơn vị, doanh nghiệp, cá nhân có điều kiện cơ sở vật chất tương tự Trung tâm Ứng dụng, kỹ thuật, thông tin khoa học và công nghệ tỉnh Yên Bái.

II. CƠ SỞ VẬT CHẤT, THIẾT BỊ, NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ NGUỒN GIỐNG

2.1. Thiết bị, máy móc, dụng cụ, nguyên liệu và hóa chất

2.1.1. Thiết bị, máy móc

- Tủ cấy vi sinh, nồi hấp khử trùng, máy lắc, máy sấy thăng hoa (đông khô), máy sấy nhiệt

- Tủ lạnh, tủ đông, máy lọc nước tinh khiết, máy chưng nước cất, kệ nuôi, hệ thống đèn tự động, hệ thống tạo ẩm tự động

2.1.2. Điều kiện nhà xưởng sản xuất

Phòng chuẩn bị, phòng cấy nhân giống, phòng nuôi, phòng sơ chế và đóng gói có diện tích tối thiểu là 15m², tùy vào điều kiện và qui mô sản xuất để bố trí phòng có diện tích phù hợp với từng cơ sở sản xuất.

2.1.3. Dụng cụ

- Ống nghiệm kích thước 20 × 2cm; đĩa petri; bông không thấm nước; chun buộc; bếp từ (bếp ga), nồi 2 lít và 10 lít; cốc đong thủy tinh thể tích 50 ml, 100 ml, 200 ml; ca đong bằng nhựa 1 và 2 lít; vợt rây lọc inox (7 × 20 cm); rổ nhựa đường kính 25 cm, 30 cm, xô nhựa, chậu nhựa; que cấy, đèn cồn, bình tam giác 500 ml, chai thủy tinh 500 ml, túi nilon chịu nhiệt, ...

2.1.4. Nguyên liệu và hóa chất

- Gạo lứt, khoai tây, nhộng tằm, kén tằm
- Đường glucose, Agar, K₂HPO₄, KH₂PO₄, MgSO₄.7H₂O, pepton, cao nấm men

- Cồn 70%, cồn 90% v.v...

2.1.5. Bảo hộ lao động

Áo blue, găng tay, khẩu trang v.v...

2.2. Nguồn giống

Chủng giống nấm Đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris*

III. NỘI DUNG CỦA QUY TRÌNH KỸ THUẬT

3.1. Nhân giống nấm Đông trùng hạ thảo

Bước 1: Nhân giống nấm đông trùng hạ thảo cấp I trên môi trường thạch nghiêng

- Chuẩn bị nguyên, vật liệu

Thành phần nguyên liệu cho 01 lít môi trường để nhân giống ĐTHT:
Khoai tây: 200g + Đường glucose: 20g + Cao nấm men: 10g + Pepton: 10g + K_2HPO_4 : 1g + KH_2PO_4 : 2g + $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 3g + Agar: 20g.

Vật liệu: Ống nghiệm (20 × 180 mm), nút cao su bọc vải màn, chun buộc, bếp ga (hoặc bếp từ), nồi nấu môi trường, cốc thủy tinh 1000ml, ống đong 1.000ml, rổ nhựa (đường kính 25 - 30 cm), vợt rây lọc inox (7 × 20 cm), que cấy, đèn cồn...

- Chuẩn bị môi trường nhân giống ĐTHT

+ Dịch chiết khoai tây: Khoai tây gọt sạch vỏ, cắt lát 1,0 - 2,0 mm. Cho khoai tây với 800ml nước đun sôi từ 10 - 15 phút, lọc bằng vợt rây lọc thu được dịch chiết.

+ Hòa tan các nguyên liệu: glucose; cao nấm men; pepton; K_2HPO_4 , KH_2PO_4 ; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; Agar vào 200ml nước cất và cho vào nồi đang nấu dung dịch môi trường, khuấy đều, đun sôi lại, pH 5,5 - 6. Sau đó chia môi trường nhân giống vào các ống nghiệm.

+ Lấy 10 ml môi trường nhân giống đưa vào ống nghiệm.

+ Cho ống nghiệm vào túi nilon chịu nhiệt và hấp khử trùng.

- Hấp khử trùng

+ Môi trường nhân giống ĐTHT được hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C, trong thời gian 30 phút

+ Sau khi hấp xong, đặt ống nghiệm nghiêng 1 góc 15°

- Cấy giống ĐTHT

+ Sử dụng nấm ĐTHT từ nguồn giống gốc hoặc giống được phân lập có hệ sợi sinh trưởng khỏe, không nhiễm vi sinh vật (nấm xanh, nấm trắng, vi khuẩn...) được viết tắt là VSV

+ Dùng que cấy gạt nhẹ một ít sợi nấm giống gốc trên mặt thạch. Mỗi 1 ống nghiệm được cấy 01 mẫu giống gốc theo đường ziczác từ đáy đến miệng.

+ Ghi kí hiệu, ngày cấy giống.

- Ươm sợi

+ Các ống nghiệm sau khi đã cấy giống ĐTHT được chuyển qua phòng ươm sợi, ở điều kiện nhiệt độ 20 – 22°C, độ ẩm 60 – 65%. Ánh sáng tối hoàn toàn.

+ Thời gian ươm sợi: từ 7 – 10 ngày

- Kiểm tra chất lượng giống ĐTHT

+ Giống ĐTHT cấp I sau khi cấy xong được kiểm tra định kỳ 2 ngày 1 lần.

+ Loại bỏ những ống nghiệm giống bị nhiễm VSV; hệ sợi phát triển bất thường (tốc độ lan tở chậm, sợi phân bố không đều trên bề mặt thạch nghiêng).

- Bảo quản lưu giữ nấm Đông trùng hạ thảo cấp I: ở nhiệt độ 4°C trong thời gian 3 tháng, nhiệt độ từ 18 - 20°C trong thời gian 1 tháng, ở điều kiện tối hoàn toàn

Bước 2: Nhân giống nấm Đông trùng hạ thảo cấp II dịch thể

Trên cơ sở từ giống cấp I trên môi trường thạch nghiêng ở Bước 1 tiếp tục nhân giống cấp II dịch thể

- Nguyên vật liệu và dụng cụ

Thành phần nguyên liệu cho 1 lít môi trường bao gồm: Khoai tây: 200g + Đường glucose: 20g + Cao nấm men: 10g + Pepton: 10g + K_2HPO_4 : 1g + KH_2PO_4 : 2g + $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 3g.

Vật liệu: chai thủy tinh 500 ml, nút bằng bông không thấm nước, chun buộc, bếp ga (hoặc bếp từ), nồi, cốc thủy tinh 1 lít, ống đong 1000ml, rổ nhựa (đường kính 25 - 30 cm), vợt rây lọc bằng inox (7 × 20 cm), que cấy, đèn cồn, giấy xi măng...

- Chuẩn bị môi trường nhân giống ĐTHT

+ Dịch chiết khoai tây: thực hiện như ở Bước 1

+ Hoà tan Đường glucose, Cao nấm men, Pepton, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ vào dịch chiết khoai tây vừa thu được, bổ sung nước cất cho đủ 1.000 ml, pH 5,5 – 6.

+ Chia 300 ml dung dịch môi trường vào các chai thủy tinh có dung tích 500 ml.

+ Làm nút bông, giấy xi măng và chun buộc kín miệng chai.

- *Hấp khử trùng môi trường nhân giống ĐTHT*

Môi trường nhân giống được hấp khử trùng ở nhiệt độ $121^\circ C$, thời gian 30 phút, sau đó được chuyển vào buồng cấy, để nguội và cấy giống

- *Cấy giống*

+ Sử dụng giống cấp I nấm ĐTHT từ 7 - 10 ngày tuổi, có hệ sợi sinh trưởng khỏe, không nhiễm VSV.

+ Cấy giống: sử dụng que cấy cắt $\frac{1}{2}$ phần thạch trong ống nghiệm chuyển vào chai dịch thể

- *Ươm sợi*

Sau khi cấy giống xong, các chai dịch thể được đặt lên máy lắc, tốc độ 150 vòng/phút, từ 5 - 7 ngày ở điều kiện tối hoàn toàn.

- *Kiểm tra chất lượng dịch giống ĐTHT*

Giống cấp II dịch thể nấm ĐTHT được kiểm tra hàng ngày để loại bỏ những chai dịch thể bị nhiễm tạp.

- *Bảo quản giống nấm ĐTHT cấp II dạng dịch thể*

Giống nấm ĐTHT cấp II dịch thể sau khi kết thúc giai đoạn nuôi, có thể được bảo quản ở nhiệt độ $< 25^\circ C$ trong thời gian 03 ngày và nhiệt độ $4^\circ C$ trong thời gian 7 ngày.

3.2. Nuôi cấy nấm Đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris* trên giá thể nhộng tằm

Trên cơ sở từ giống cấp I và cấp II dạng dịch thể ở Bước 2 và 3 tiếp tục nuôi cấy nấm ĐTHT *C. militaris* trên giá thể nhộng tằm

3.2.1. Chuẩn bị nguyên, vật liệu

- Thành phần nguyên liệu bao gồm: Gạo lứt (giống Bắc thơm số 7, gạo huyết rồng...): 35g/hộp + Nhộng tằm: 15g/hộp + thành phần tổng hợp (Cao

nấm men: 5g/lít + Pepton: 5g/lít + K_2HPO_4 : 0,5g/lít + KH_2PO_4 : 1g/lít + $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 1g/lít + Glucose: 20g/lít).

- Vật liệu: Hộp nhựa có thể tích 700ml có nắp đục lỗ, đèn cồn, xô nhựa, chậu nhựa, cốc đong 50ml, máy xay sinh tố, rây lọc ...

3.2.2. Chuẩn bị giá thể nuôi cấy nấm ĐTHT

- Dung dịch dinh dưỡng: Nhộng tằm, rửa sạch, xay nhuyễn, lọc bằng rây lọc thu được dung dịch, bổ sung thành phần tổng hợp và nước cất cho đủ 1 lít

- Lấy 35g gạo lứt cho vào hộp nhựa đổ thêm 45ml dung dịch dinh dưỡng, đập nắp cho vào nồi hấp khử trùng.

3.2.3. Hấp khử trùng

Giá thể nuôi trồng được hấp khử trùng ở nhiệt độ 115°C, thời gian 30 phút.

3.2.4. Cây giống ĐTHT

- Sử dụng giống ĐTHT cấp II dịch thể 5 - 7 ngày tuổi, có hệ sợi sinh trưởng tốt, không nhiễm VSV

- Cây giống: Lượng giống cấy 10 - 15 ml/hộp giá thể.

3.2.5. Ươm sợi

- Ươm sợi nấm ở nhiệt độ 20 - 22°C, độ ẩm 60 - 65%, tối hoàn toàn.

- Thời gian ươm sợi từ 5 - 6 ngày.

3.2.6. Hình thành và phát triển quả thể

Kết thúc quá trình ươm sợi, đưa hộp giá thể vào phòng nuôi cấy quả thể ở nhiệt độ $20 \pm 1^\circ C$, độ ẩm 90 - 95% và chiếu sáng với cường độ ánh sáng 800 lux, thời gian chiếu sáng 12 giờ/ngày bằng ánh sáng đèn led.

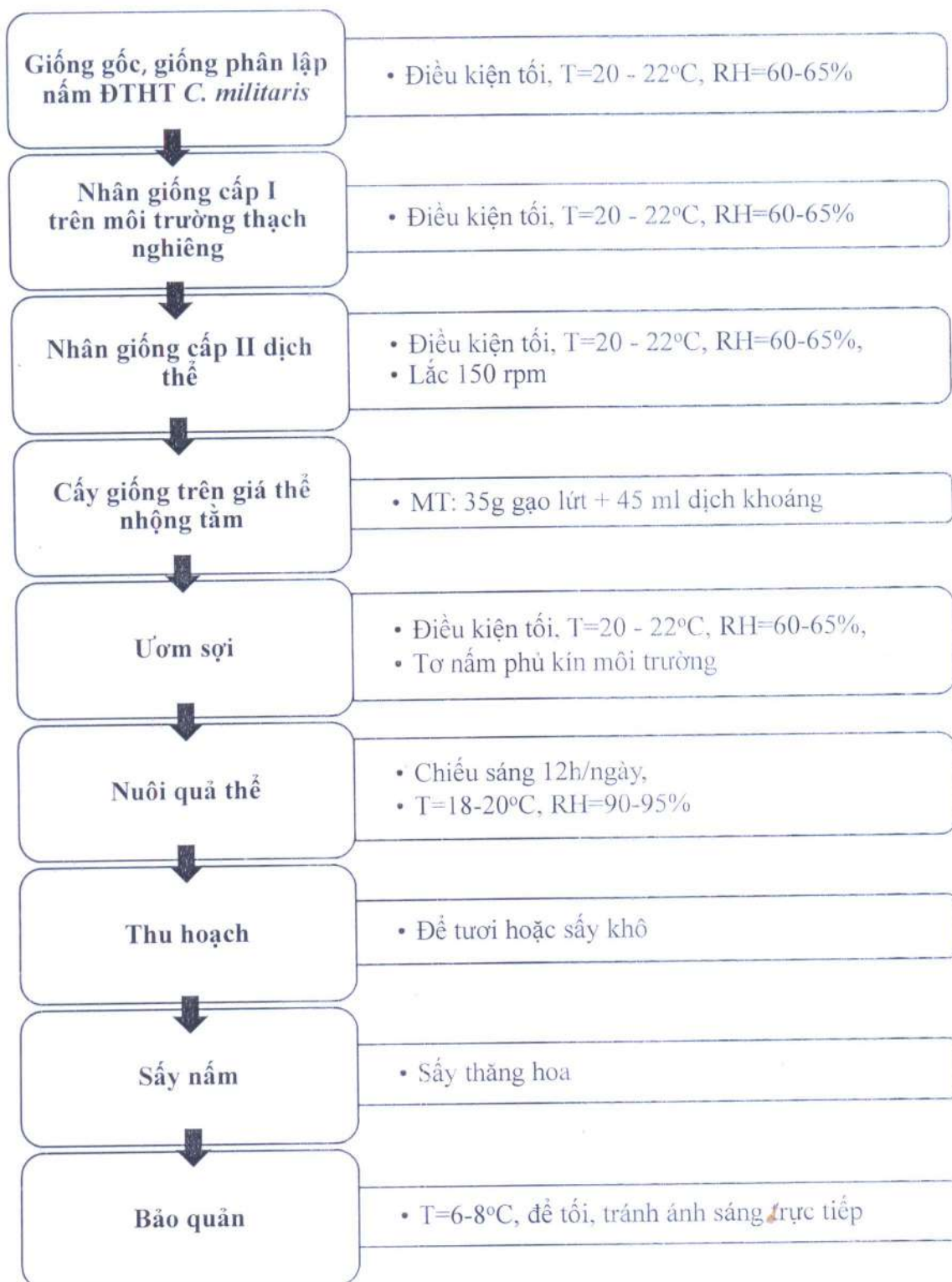
3.2.7. Thu hoạch và bảo quản sản phẩm

- Khi quả thể nấm ĐTHT phát triển dài khoảng 5 - 7cm, phần đỉnh sinh trưởng quả thể nấm xuất hiện chấm màu trắng là thời điểm thu hoạch thích hợp.

- Quả thể nấm ĐTHT sau khi thu hoạch được sấy bằng kỹ thuật sấy thăng hoa để tránh ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm.

SƠ ĐỒ TÓM TẮT
QUY TRÌNH KỸ THUẬT SẢN XUẤT NẤM ĐÔNG TRÙNG HẠ THẢO
***Cordyceps militaris* TRÊN GIÁ THỂ NHỌNG TÂM**

Quy trình kỹ thuật nhân giống và nuôi trồng nấm Đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris* trên giá thể nhộng tằm



3.2.8. Kỹ thuật sấy và sơ chế nấm Đông trùng hạ thảo thành phẩm

Kỹ thuật sấy thăng hoa nấm Đông trùng hạ thảo

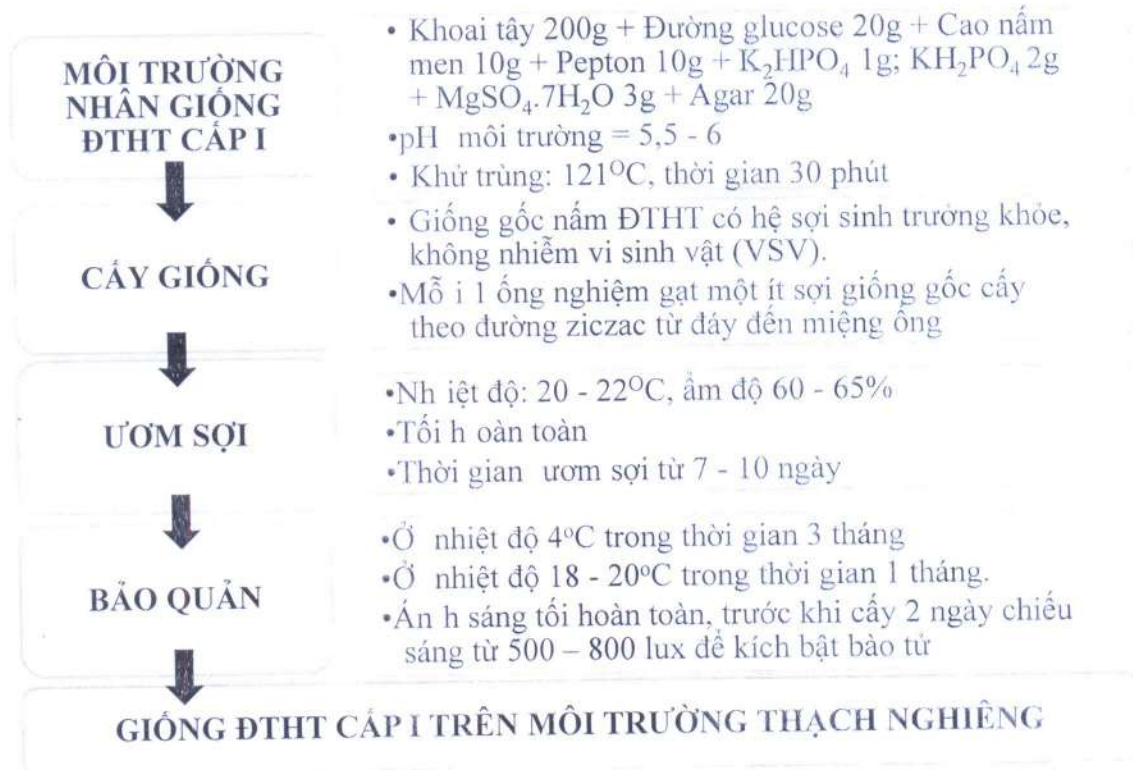
+ Chuẩn bị nấm nguyên liệu: Quả thể nấm Đông trùng hạ thảo sau khi thu hoạch và phân loại được trải đều trên các khay sấy (độ dày 2 - 5cm).

+ Kỹ thuật sấy: Máy sấy được thiết lập chế độ tự động theo chu trình hoạt động như sau: Làm lạnh nấm Đông trùng hạ thảo ở -25°C trong 60 phút, toàn bộ quả thể nấm được đông lạnh. Máy hạ nhiệt xuống nhiệt độ -45 đến -50°C . Hạ áp suất 1mbar và tăng nhiệt dần đến 0°C . Tiếp tục nâng nhiệt và giữ nguyên áp suất sấy chân không từ 0°C đến 60°C để tiếp tục tách nước ra khỏi quả thể nấm. Quá trình sấy nấm kéo dài đến khi sản phẩm sấy có độ ẩm từ 1 - 2%.

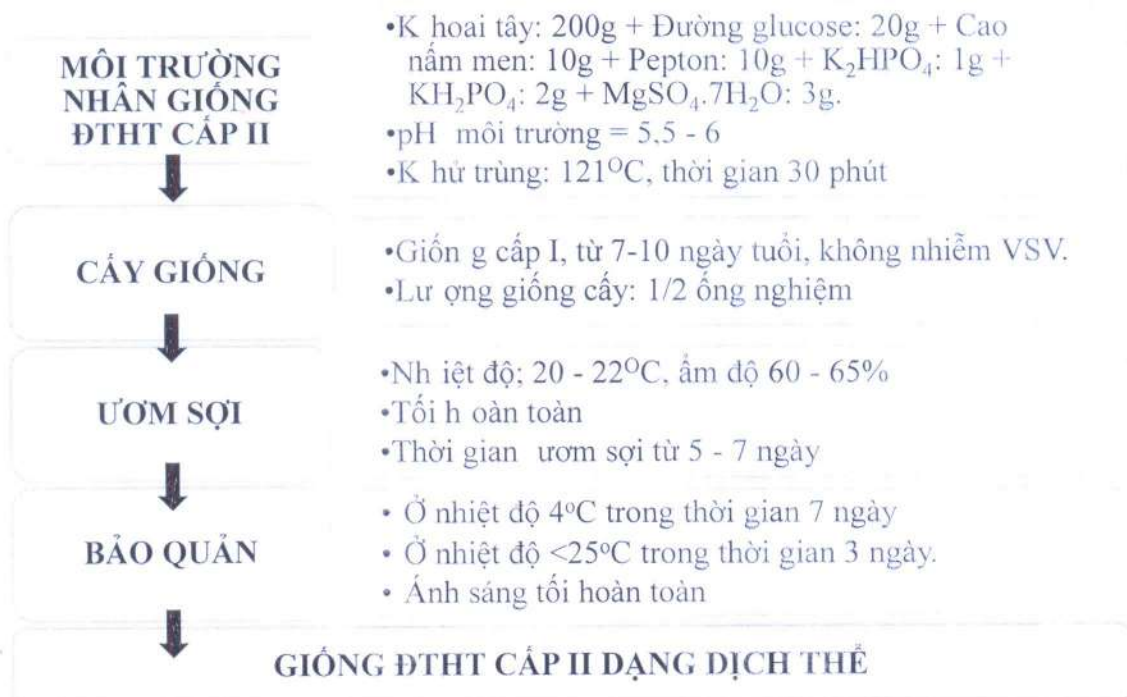
Sản phẩm sau khi sấy phải giữ được màu đặc trưng, quả thể đều, không bị biến dạng và được bảo quản đóng gói. Nấm Đông trùng hạ thảo sau khi sấy khô được đựng trong hộp kín, bảo quản ở nhiệt độ 6 - 8°C hoặc nhiệt độ phòng, thoáng mát, tránh ánh sáng trực tiếp. Thời gian bảo quản: 01 năm ở điều kiện nhiệt độ 6- 8°C và 02 năm trong điều kiện ngăn đông của tủ lạnh

**SƠ ĐỒ CÁC BƯỚC
NHÂN GIỐNG VÀ NUÔI TRỒNG NẤM
ĐÔNG TRÙNG HẠ THẢO *Cordyceps militaris* TRÊN GIÁ THỂ NHỘNG TÂM**

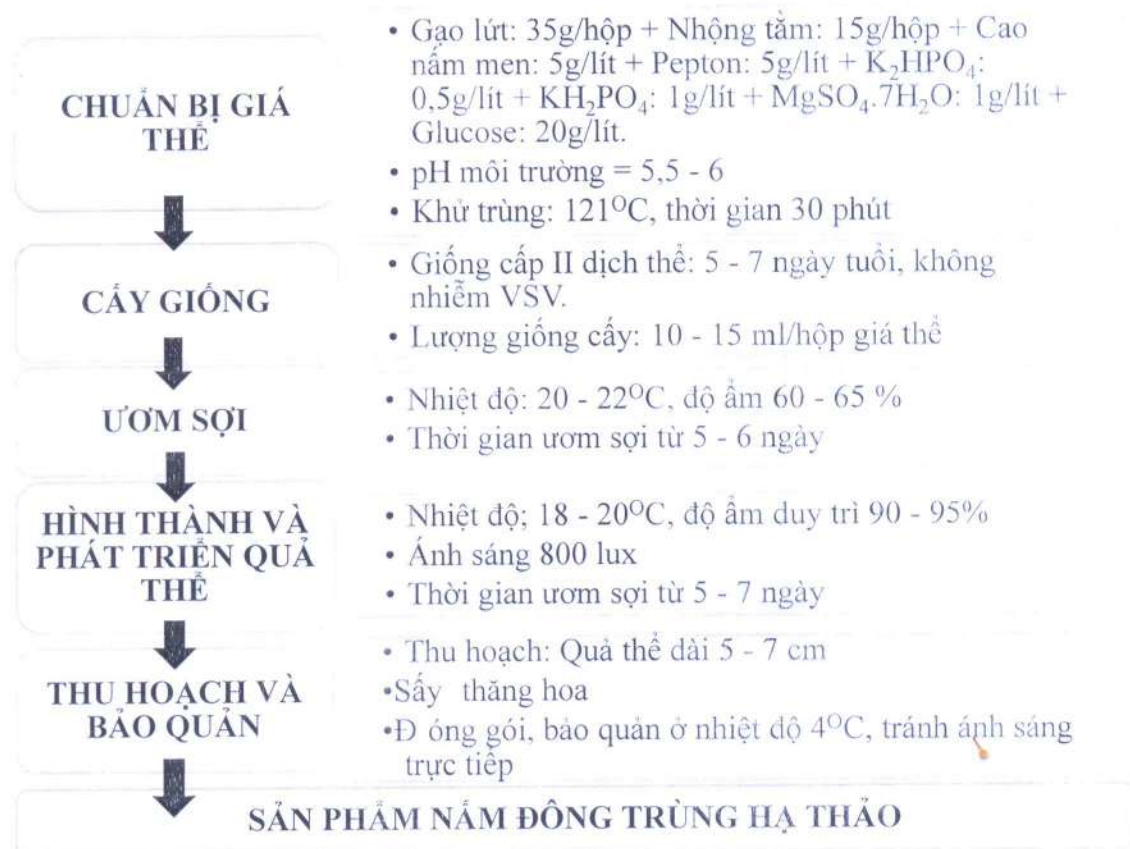
1. Sơ đồ nhân giống nấm Đông trùng hạ thảo cấp I trên môi trường thạch nghiêng



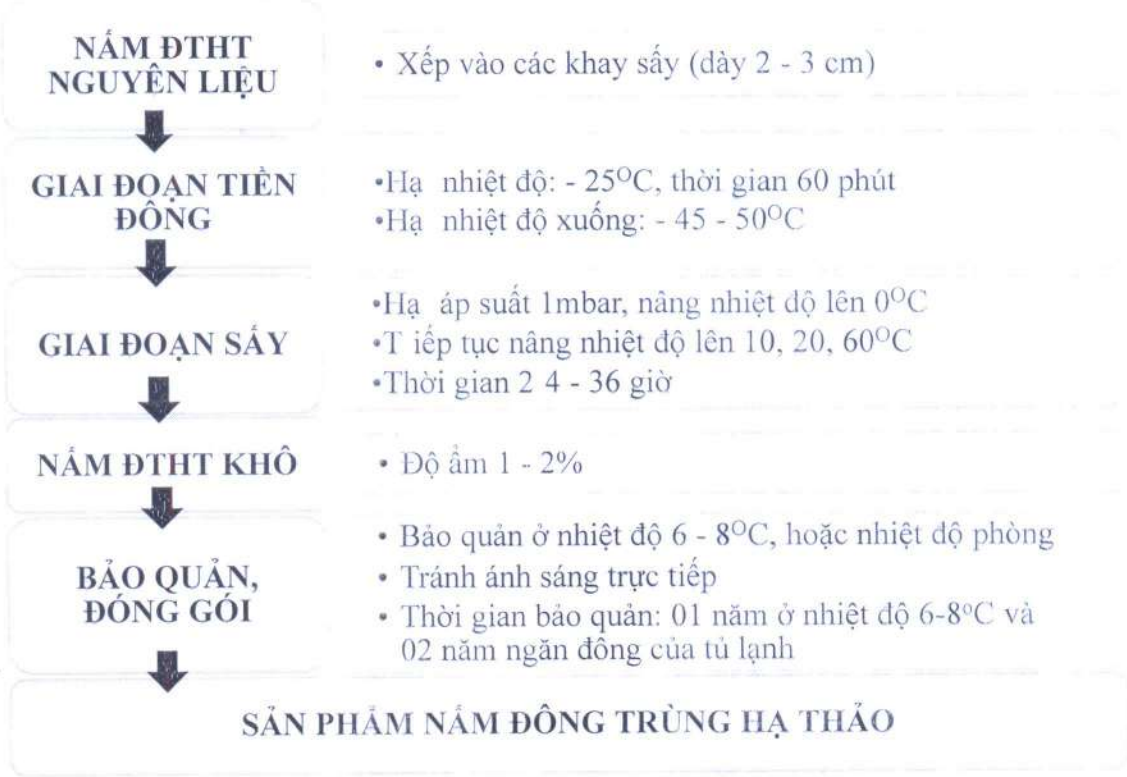
2. Sơ đồ nhân giống nấm Đông trùng hạ thảo cấp II dịch thể



3. Sơ đồ nuôi cấy nấm Đông trùng hạ thảo trên giá thể nhộng tằm



4. Sơ đồ kỹ thuật sấy thăng hoa (đông khô)



**NẤM ĐTHT
NGUYÊN LIỆU**

- Xếp vào các khay sấy (dày 2 - 3 cm)

**GIAI ĐOẠN TIỀN
ĐÔNG**

- Hạ nhiệt độ: - 25°C, thời gian 60 phút
- Hạ nhiệt độ xuống: - 45 - 50°C

GIAI ĐOẠN SẤY

- Hạ áp suất 1mbar, nâng nhiệt độ lên 0°C
- Tiếp tục nâng nhiệt độ lên 10, 20, 60°C
- Thời gian 2 4 - 36 giờ

NẤM ĐTHT KHÔ

- Độ ẩm 1 - 2%

**BẢO QUẢN,
ĐÓNG GÓI**

- Bảo quản ở nhiệt độ 6 - 8°C, hoặc nhiệt độ phòng
- Tránh ánh sáng trực tiếp
- Thời gian bảo quản: 01 năm ở nhiệt độ 6-8°C và 02 năm ngăn đông của tủ lạnh

SẢN PHẨM NẤM ĐÔNG TRỪNG HẠ THẢO