

OPTIMIZATION OF THE FERMENTATION AND PRODUCT COLLECTION CONDITIONS FROM THE INDIGENOUS YUNZHI MUSHROOM (*Trametes versicolor*) STRAINS ISOLATED IN THE NORTHERN MOUNTAINOUS AREAS OF VIETNAM

Hoang Thi Yen Dung, Vu Hoai Nam, Nguyen Thanh Hang, Pham Le Giang, Duong Van Cuong*

TNU - University of Agriculture and Forestry

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 17/02/2023	Yunzhi mushroom is a precious medicinal mushroom that contains numerous health-promoting compounds, including α -D-glucan, β -D-glucan, and polysaccharides... This study aims to design a fermentation process to produce Yunzhi mycelial biomass. Two strains of Yunzhi mushrooms were collected from the northern mountainous areas of Vietnam, and cultured with a liquid fermentation system and optimal fermentation conditions, which are appropriate for the growth of mycelial biomass. The results showed that the suitable conditions for the growth of these two strains were similar. The optimal fermentation method is at aeration, pH=6, 25°C. The nutritional composition was determined by the supplement with the optimal sources of carbon, nitrogen, and mineral salts, as follows: fructose 30 g/L, yeast extract 4 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1g/L. The freeze-drying method was selected to dry the raw materials for the production of mycelial biomass. The process has obtained the quality of mycelium and could be applied to develop a nutraceutical product.
Revised: 04/8/2023	
Published: 04/8/2023	
KEYWORDS	
Yunzhi mushroom	
Filamentous biomass	
Fermentation process	
Health care products	
<i>Trametes versicolor</i>	

TỐI ƯU ĐIỀU KIỆN LÊN MEN VÀ THU HỒI SẢN PHẨM TỪ CHỦNG NẤM VÂN CHI BẢN ĐỊA (*Trametes versicolor*) PHÂN LẬP TẠI MIỀN NÚI PHÍA BẮC VIỆT NAM

Hoàng Thị Yến Dung, Vũ Hoài Nam, Nguyễn Thanh Hằng, Phạm Lê Giang, Dương Văn Cường*

Trường Đại học Nông Lâm - ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 17/02/2023	Nấm Vân chi là một loại nấm dược liệu quý, chứa nhiều hoạt chất có lợi cho sức khỏe như: α -D-glucan, β -D-glucan, polysaccharide... Nghiên cứu nhằm mục đích xây dựng quy trình lên men thu sinh khối hệ sợi nấm để phát triển sản phẩm bảo vệ sức khỏe. Hai chủng nấm thu thập tại miền núi phía Bắc Việt Nam đã được nuôi cấy lên men dịch thể, khảo sát phương pháp lên men: lắc, sục khí, khuấy từ, và nguồn dinh dưỡng gồm cacbon, nitơ, muối khoáng tối ưu phù hợp cho sự sinh trưởng của sinh khối hệ sợi nấm. Kết quả đã khảo sát được điều kiện nuôi cấy thích hợp đối với hai chủng nấm có sự tương đồng nhau. Phương pháp lên men tối ưu là sục khí, pH 6, nhiệt độ 25°C. Thành phần môi trường được xác định có bổ sung nguồn carbon, nitơ, muối khoáng tối ưu lần lượt là: fructose (30 g/L), cao nấm men (4 g/L), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (1 g/L). Phương pháp sấy thăng hoa được lựa chọn để sấy nguyên liệu cho quy trình sản xuất sinh khối. Quy trình đạt được sinh khối hệ sợi nấm Vân chi có chất lượng tốt và được ứng dụng để phát triển một sản phẩm bảo vệ sức khỏe.
Ngày hoàn thiện: 04/8/2023	
Ngày đăng: 04/8/2023	
TỪ KHÓA	
Nấm Vân chi	
Sinh khối hệ sợi	
Quy trình lên men	
Sản phẩm bảo vệ sức khỏe	
<i>Trametes versicolor</i>	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.7272>

* Corresponding author. Email: duongvancuong@tuaf.edu.vn

1. Giới thiệu

Nấm được biết đến như là một nguồn thực phẩm và nguồn dược liệu giàu dinh dưỡng, nhiều đạm, axit amin, chất xơ và vitamin... [1]. Nấm Vân chi, một loại nấm dược liệu có tên khoa học là *Trametes versicolor*, thuộc họ *Polyporaceae* [2], có hoạt tính kháng viêm, chống oxy hoá. Đặc biệt, nấm Vân chi còn có khả năng hỗ trợ phòng ngừa và điều trị nhiều loại ung thư như ung thư dạ dày, ung thư đại tràng, ung thư phổi,...[3] nhờ 2 nhóm chất có liên kết với protein là Polysaccharopeptide krestin (PSK) và Polysaccharopeptit (PSP) [4]. Do đó, nấm Vân chi được sử dụng ở nhiều quốc gia có nền y học hiện đại như Nhật Bản, Trung Quốc, Mỹ... [5].

Hiện nay, có nhiều nghiên cứu về các loài nấm dược liệu. Tuy nhiên, việc nuôi trồng chủ yếu dùng giá thể rắn tổng hợp để thu quả thể nên còn tồn tại một số nhược điểm như: phụ thuộc chủ yếu vào điều kiện thời tiết, thời gian nuôi trồng thường kéo dài. Bên cạnh đó, việc áp dụng quy mô công nghiệp để tăng sản lượng cũng gặp nhiều khó khăn về diện tích nhà xưởng, chi phí vận hành, kiểm soát dịch bệnh cũng như chất lượng quả thể thu hoạch. Nhằm giải quyết bài toán này, các hướng nghiên cứu gần đây tập trung vào phương án lên men thu sinh khối hệ sợi đối với một số dạng nấm quả thể lớn hóa gỗ như Linh chi, Vân chi...[6].

Một số nghiên cứu điển hình đã chỉ ra việc sử dụng phương pháp lên men chìm để sản xuất giống dịch thể đã đạt được hiệu quả rõ rệt như: Adebayo và Ugwu (2011) đã nghiên cứu ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng bổ sung tới sinh khối sợi nấm Vân chi. Kết quả cho thấy, nguồn dinh dưỡng carbon và nitơ có ảnh hưởng lớn đến sinh khối sợi nấm [7]. Trần Thị Hương (2020) đã thử nghiệm nuôi cấy trên chủng *Trametes versicolor* BRG04 trên môi trường lỏng, kết quả khảo sát chỉ ra nguồn cacbon là (69 g/L) dextrin, nguồn nitơ là (6 g/L) peptone là hai nguồn cơ chất tốt nhất cùng với điều kiện nhiệt độ lên men 25°C, pH đầu bằng 7 và tỷ lệ cấp giống 0,1% (w/v), giống được xay trước khi cấp vào lên men là các điều kiện phù hợp cho sự phát triển của chủng BRG 04 và tích lũy sản phẩm PSP, PSK. [8]. Kết quả nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thị Bích Thùy (2014) khảo sát trên môi trường PDA cải tiến; nhiệt độ 30°C; pH 6,5 và tốc độ lắc 140 vòng/phút trong khoảng thời gian 5 ngày sẽ thu được sinh khối sợi nấm Vân chi cao nhất [6]. Diamantopoulou cùng cộng sự đã chỉ ra rằng, công nghệ lên men để thu dịch thể đã được nhiều quốc gia trên thế giới nghiên cứu và áp dụng trong công nghệ nhân giống nấm ăn và nấm dược liệu, với mục tiêu là rút ngắn thời gian, tiết kiệm diện tích và kinh phí trong sản xuất nấm [9]. Do đó, với mục tiêu làm rõ điều kiện thành phần môi trường dinh dưỡng và lựa chọn phương pháp sấy sản phẩm lên men thích hợp đối với 2 chủng nấm Vân chi bản địa thu thập tại khu vực miền núi phía Bắc Việt Nam giúp giải quyết được bài toán nguồn nguyên liệu sản xuất so với phương pháp nuôi trồng truyền thống trong sản xuất nấm.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Hai chủng nấm Vân chi thu thập tại khu vực miền núi phía Bắc Việt Nam đã được định danh có tên khoa học là *Trametes versicolor* và đăng ký trên ngân hàng GenBank NCBI, lần lượt được ký hiệu như sau: chủng VC - Vườn Quốc gia Xuân Sơn - Phú Thọ (genbank: OK036446), chủng Tra - Vườn Quốc gia Ba Bể - Bắc Kạn (genbank: OK036445). Chủng giống được phân lập và lưu giữ tại Viện Khoa học Sự sống - Trường Đại học Nông lâm Thái Nguyên [10].

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của phương pháp lên men

Ba phương pháp lên men (Bảng 1) được khảo sát để xác định phương pháp tối ưu cho sự sinh trưởng và năng suất hệ sợi nấm. Sử dụng môi trường PDB (Potato Dextrose Broth) làm môi trường cơ bản để khảo sát. Tiến hành khử trùng môi trường ở điều kiện 121°C, trong 30 phút, để nguội ở nhiệt độ phòng. Chủng giống 10 ngày tuổi đã được lưu trữ trên môi trường PDA được sử

dụng để cấy vào môi trường lên men bằng phương pháp dùng dao mổ cắt thạch có chứa hệ sợi với kích thước 0,5 x 0,5 cm và đưa vào môi trường dịch thể để nhân giống cấp 2. Sau 5 ngày, tiến hành cấy chuyển giống cấp 2 sang bình lên men dung tích 2 lít có chứa 1 lít môi trường, nuôi ở điều kiện 25°C trong 14 ngày. Tiến hành quan sát và đánh giá theo các chỉ tiêu. Các phương pháp lên men được khảo sát dưới đây.

Bảng 1. Các phương pháp lên men

Chỉ tiêu	Phương pháp		
	Lắc	Sục khí	Khuấy từ
Tốc độ lắc	140 vòng/phút [6]	-	-
Chế độ sục	-	0,6 v/v/m [6]	-
Chế độ khuấy	-	-	140 vòng/phút

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của pH

Môi trường PDB được sử dụng để làm môi trường nhân giống cơ bản. Đánh giá sự sinh trưởng hệ sợi giống nấm Vân chi tại các ngưỡng pH môi trường là 4, 5, 6, 7 và 8. NaOH 1M và HCl 1M được sử dụng để điều chỉnh pH môi trường trước khi hấp khử trùng. Chủng giống được nuôi trong môi trường dịch thể có các điều kiện pH khác nhau và được nuôi ở điều kiện 25°C, chế độ sục 0,6 v/v/m, trong 14 ngày.

2.2.3. Khảo sát ảnh hưởng của nguồn carbon

Môi trường nhân giống dịch thể nấm Vân chi gồm: Dịch chiết khoai tây 200 g/L, carbon 20 g/L. Các nguồn dinh dưỡng carbon được sử dụng là Glucose, Fructose, Lactose, Maltose, Saccarose. Chủng giống được nuôi trong môi trường dịch thể có thay đổi nguồn carbon và được nuôi ở điều kiện 25°C, chế độ sục 0,6 v/v/m, trong 14 ngày.

2.2.4. Khảo sát ảnh hưởng nồng độ carbon

Các nồng độ carbon được khảo sát gồm 0 g/L, 10 g/L, 20 g/L, 30 g/L, 40 g/L. Chủng giống được nuôi trong môi trường dịch thể có nồng độ carbon khác nhau và được nuôi ở điều kiện 25°C, chế độ sục 0,6 v/v/m, trong 14 ngày.

2.2.5. Khảo sát ảnh hưởng của nguồn nitơ

Các nguồn nitơ được khảo sát gồm Casein, cao nấm men, pepton, NaNO₃, (NH₄)₂SO₄ với nồng độ 2 g/L. Chủng giống được nuôi trong môi trường dịch thể có thay đổi các nguồn nitơ khác nhau và được nuôi ở điều kiện 25°C, chế độ sục 0,6 v/v/m, trong 14 ngày.

2.2.6. Khảo sát ảnh hưởng nồng độ nitơ

Các nồng độ nitơ được khảo sát gồm 1 g/L, 2 g/L, 3 g/L, 4 g/L, 5 g/L, 6 g/L. Chủng giống được nuôi trong môi trường dịch thể có nồng độ nitơ khác nhau và được nuôi ở điều kiện 25°C, chế độ sục 0,6 v/v/m, trong 14 ngày.

2.2.7. Khảo sát ảnh hưởng của nguồn muối khoáng

Các nguồn muối khoáng được khảo sát gồm KH₂PO₄, MgSO₄.7H₂O, K₂HPO₄ với nồng độ 1 g/L. Chủng giống được nuôi trong môi trường dịch thể có thay đổi các nguồn muối khoáng khác nhau và được nuôi ở điều kiện ở 25°C, chế độ sục 0,6 v/v/m, trong 14 ngày.

2.2.8. Khảo sát ảnh hưởng nồng độ muối khoáng

Các nồng độ muối khoáng được khảo sát gồm 0,5 g/L; 1 g/L; 1,5 g/L; 2 g/L. Chủng giống được nuôi trong môi trường dịch thể có sự thay đổi nồng độ muối khoáng và được nuôi ở điều kiện 25°C, chế độ sục 0,6 v/v/m, trong 14 ngày.

2.2.9. Phương pháp sấy và bảo quản hệ sợi nấm lên men

Sau khi thu hồi sản phẩm hệ sợi lên men, tiến hành sấy theo hai phương pháp (Bảng 2) để đưa độ ẩm của sản phẩm về khối lượng không đổi. Kết thúc quá trình sấy, thực hiện đánh giá chất lượng sản phẩm bằng cảm quan (màu sắc, mùi vị).

Bảng 2. Các phương pháp và điều kiện sấy

CT	Phương pháp sấy	Đặc điểm	Điều kiện sấy
CT1	Sấy thăng hoa	Quá trình làm khô sản phẩm đã được cấp đông trong điều kiện chân không, khi gia nhiệt thì phần nước từ nguyên liệu sẽ thăng hoa trực tiếp từ dạng rắn sang dạng khí	-80°C, áp suất 300 mmTorr
CT2	Sấy nhiệt	Sử dụng nhiệt độ cao để làm bay hơi nước trong nguyên liệu	80°C

2.3. Xác định số lượng, kích thước thể lạc cầu trong môi trường dịch thể nuôi nấm

Chủng giống được nuôi trong môi trường dịch thể, ban đầu sẽ xuất hiện các mảnh sợi nấm nhỏ li ti. Sau đó, sợi nấm lớn dần lên và liên kết với nhau để tạo thành các viên có dạng hình cầu, kích thước khác nhau được gọi là thể lạc cầu (TLC) hay pellet. Sau 14 ngày nuôi, sử dụng kính hiển vi tiến hành quan sát, đánh giá mật độ và đo kích thước TLC theo các tiêu chí như sau. Các thí nghiệm được thực hiện với 3 lần lặp lại.

*Các chỉ tiêu theo dõi:

- Mật độ TLC được biểu thị như sau [6]:

(+): Số lượng TLC từ 10-30 TLC/1ml (+++): Số lượng TLC từ 61-90 TLC/1ml

(++): Số lượng TLC từ 31-60 TLC/1ml (++++): Số lượng TLC từ 91-120 TLC/1ml

- Kích thước TLC: Dùng thước có chia vạch mm, đơn vị tính là (mm)

- Sinh khối sợi: Được thực hiện theo phương pháp của Park và cộng sự (2001) [11], đơn vị tính là (g/L) bằng cách ly tâm để thu sinh khối sợi.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả nghiên cứu được xử lý theo phương pháp thống kê sinh học bằng phần mềm Excel và IRRISTAT.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Khảo sát ảnh hưởng của phương pháp lên men

Bảng 3. Ảnh hưởng của phương pháp lên men đến hệ sợi nấm *Van chi* trong môi trường dịch thể

Phương pháp	VC		Tra		Đặc điểm hệ sợi lên men
	Mật độ TLC	Sinh khối sợi (g/L)	Mật độ TLC	Sinh khối sợi (g/L)	
Lắc	+++	0,87	+++	0,76	Hệ sợi tạo viên hình tròn, có tua, đường kính các thể lạc cầu đồng đều từ 5 - 8 mm
Sục khí	++++	4,65	++++	4,62	Hệ sợi phát triển nhanh, tạo viên hình tròn, có tua, đường kính thể lạc cầu từ 4 – 7 mm
Khuấy từ	+	0,40	+	0,39	Hệ sợi nhuyễn dạng huyền phù tan đều trong dịch lên men
CV(%)		2,07		2,56	
LSD		0,58		0,74	

Kết quả khảo sát cho thấy, phương pháp sục khí có tác động tích cực đến hệ sợi nấm, hệ sợi sinh trưởng phát triển mạnh, mật độ TLC dày đặc. Ngược lại, hệ sợi nấm *Van chi* phát triển kém nhất ở phương pháp khuấy từ và ít phát triển hơn ở phương pháp lắc. Lượng sinh khối khô thu

được ở cả 2 chủng trong phương pháp sục khí gấp khoảng 11 lần so với phương pháp khuấy từ và gấp khoảng 3 lần so với phương pháp lắc (Bảng 3). Kết quả trên cho thấy, phương pháp lên men sục khí là phương pháp tối ưu nhất cho sự sinh trưởng và phát triển của hệ sợi nấm Vân chi.

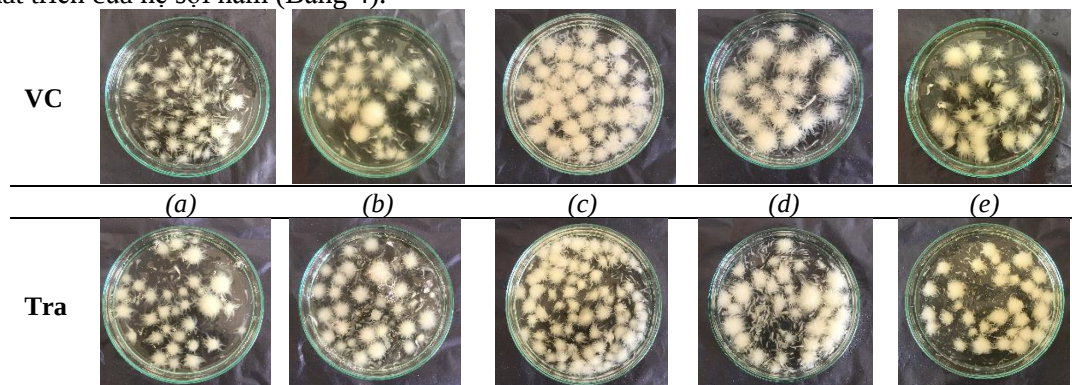
Chủng	Phương pháp		
	Lắc	Sục khí	Khuấy từ
VC			
Tra			

Hình 1. Ảnh hưởng của phương pháp lên men đến hình thái và mật độ TLC 2 chủng nấm Vân chi trong môi trường lên men dịch thể

Kết quả thí nghiệm (hình 1) đã chỉ ra sự khác biệt giữa hình dạng và mật độ TLC khi nuôi trên bình lắc, bình sục khí và bình khuấy từ. TLC nuôi trong điều kiện sục khí có tua sợi dài hơn nhiều và lượng sinh khối cao hơn so với hai phương pháp lên men còn lại.

3.2. Khảo sát ảnh hưởng của pH

pH môi trường có ảnh hưởng đến hình thái, cấu trúc tế bào. Các mức pH khác nhau có ảnh hưởng khác nhau tới sự sinh trưởng và phát triển hệ sợi nấm Vân chi (Hình 2). Kết quả cho thấy, tại giá trị pH = 6, sinh khối sợi nấm và mật độ TLC đạt cao nhất, phù hợp nhất với sự sinh trưởng và phát triển của hệ sợi nấm (Bảng 4).



Hình 2. Ảnh hưởng của pH môi trường đến hình thái và mật độ TLC 2 chủng nấm Vân chi trong môi trường lên men dịch thể

(a) pH = 4 (b) pH = 5 (c) pH = 6 (d) pH = 7 (e) pH = 8

Bảng 4. Ảnh hưởng của pH môi trường tới sinh trưởng hệ sợi Vân chi trong môi trường dịch thể

pH môi trường ban đầu	VC			Tra		
	Mật độ TLC	Đường kính TLC (mm)	Sinh khối sợi (g/L)	Mật độ TLC	Đường kính TLC (mm)	Sinh khối sợi (g/L)
4	+	3,90	3,38	+	4,03	3,22
5	++	6,47	3,51	++	6,43	3,49
6	++++	7,37	4,76	++++	6,73	4,73
7	+++	7,83	3,95	+++	7,90	2,04
8	++	5,23	2,86	++	5,17	2,81
CV (%)		5,51	2,89		5,27	2,96
LSD		2,49	1,01		2,36	1,03

3.3. Khảo sát ảnh hưởng của nguồn carbon

Nguồn carbon được nấm sử dụng để tổng hợp các vật chất cho sự sinh trưởng phát triển và là nguồn cung cấp năng lượng cho quá trình trao đổi chất. Kết quả nghiên cứu ở cả 2 chủng có sự tương đồng nhau, hệ sợi phát triển tốt nhất ở môi trường sử dụng Fructose, sinh khối sợi tăng nhanh, mật độ TLC dày. Ngược lại, môi trường sử dụng nguồn carbon là Lactose, hệ sợi nấm Vân chi phát triển kém, lượng sinh khối thu được thấp hơn, mật độ TLC giảm (Bảng 5). Điều này cho thấy, sinh khối hệ sợi tỉ lệ thuận với mật độ TLC. So sánh với kết quả của Wo-Sik Jo và cộng sự (2010) cho thấy hệ sợi nấm Vân chi chủng ASI 16002 phù hợp với nguồn carbon là Fructose, Manmitol và Glucose [12].

Bảng 5. Ảnh hưởng của nguồn cacbon tới sinh trưởng hệ sợi nấm Vân chi trong môi trường dịch thể

Nguồn cacbon (20 g/L)	VC			Tra		
	Mật độ TLC	Đường kính TLC (mm)	Sinh khối sợi (g/L)	Mật độ TLC	Đường kính TLC (mm)	Sinh khối sợi (g/L)
Lactose	++	8,77	3,79	++	8,29	3,22
Maltose	+++	6,71	4,53	+++	6,74	4,30
Fructose	++++	8,34	5,34	++++	8,33	5,41
Glucose	+++	6,41	4,64	+++	7,19	4,70
Saccharose	++	7,16	3,55	++	8,74	3,40
CV(%)		11,79	5,89		10,58	7,43
LSD		5,87	2,24		8,59	2,77

3.4. Khảo sát ảnh hưởng nồng độ carbon

Trong quá trình sinh trưởng, với mỗi loại nấm khác nhau thì có nhu cầu về hàm lượng carbon khác nhau. Kết quả khảo sát cho thấy ở cả 2 chủng, hàm lượng carbon sử dụng là 30 g/L cho lượng sinh khối hệ sợi cao nhất và có xu hướng giảm dần khi tăng hàm lượng carbon lên 40 g/L, sinh khối sợi đạt ít nhất ở hàm lượng 0 g/L (Bảng 6). Trong khuôn khổ thí nghiệm, chúng tôi lựa chọn hàm lượng cacbon là 30 g/L cho các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 6. Ảnh hưởng của hàm lượng cacbon tới sinh trưởng hệ sợi nấm Vân chi trong môi trường dịch thể

Hàm lượng cacbon (g/L)	VC			Tra		
	Mật độ TLC	Đường kính TLC (mm)	Sinh khối sợi (g/L)	Mật độ TLC	Đường kính TLC (mm)	Sinh khối sợi (g/L)
0	+	9,59	1,42	+	8,48	1,20
10	+++	7,80	3,77	+++	6,29	3,14
20	+++	8,56	5,09	+++	9,81	4,44
30	++++	8,63	5,86	++++	9,07	5,78
40	++	8,54	3,32	++	9,49	3,90
CV(%)		6,63	7,76		5,89	4,71
LSD		3,54	3,67		3,14	1,64

3.5. Khảo sát ảnh hưởng của nguồn nitơ

Nguồn nitơ cũng là một trong những yếu tố chính ảnh hưởng tới khả năng sinh trưởng và phát triển của hệ sợi nấm. Kết quả thu được cho thấy nhóm nitơ hữu cơ (Cao nấm men, pepton, casein) cho hệ sợi nấm sinh trưởng tốt hơn so với nhóm nitơ vô cơ (NaNO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$). Trong khảo sát này, cao nấm men (yeast extract) là nguồn nitơ làm cho hệ sợi nấm sinh trưởng phát triển tốt nhất, phù hợp nhất để phát triển sinh khối (Bảng 7). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Woo-Sik (2010) và nghiên cứu của F. Wang (2012) khi các tác giả cùng chỉ ra rằng cao nấm men là nguồn nitơ hiệu quả nhất để thúc đẩy tăng năng suất sinh khối hệ sợi nấm *Vân chi* [12], [13].

Bảng 7. Ảnh hưởng của nguồn nitơ tới sinh trưởng hệ sợi nấm *Vân chi* trong môi trường dịch thể

Nguồn nitơ (2 g/L)	VC			Tra		
	Mật độ TLC	Đường kính TLC (mm)	Sinh khối sợi (g/L)	Mật độ TLC	Đường kính TLC (mm)	Sinh khối sợi (g/L)
Casein	++	6,60	5,37	++	7,11	5,69
YE	++++	7,40	6,31	++++	8,92	6,33
Pepton	++++	5,93	5,51	++++	7,45	5,71
NaNO_3	++	6,57	4,97	++	8,67	3,42
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	++	7,70	3,72	++	7,86	3,96
CV (%)		6,18	3,08		6,16	3,14
LSD		2,94	1,27		3,17	1,28

3.6. Khảo sát ảnh hưởng nồng độ nitơ

Kết quả khảo sát cả 2 chủng cho thấy ở hàm lượng 3 g/L, 4 g/L và 5 g/L sinh khối hệ sợi phát triển tốt, sinh khối có xu hướng giảm dần khi khảo sát ở mức 6 g/L, và thấp ở hàm lượng 1 g/L. Kết quả thí nghiệm được thể hiện trong Bảng 8, hàm lượng nguồn nitơ 4 g/L là phù hợp nhất với sự sinh trưởng và phát triển của hệ sợi nấm. Trong khuôn khổ thí nghiệm, chúng tôi lựa chọn hàm lượng nitơ 4 g/L cho các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 8. Ảnh hưởng của hàm lượng nitơ tới sinh trưởng hệ sợi nấm *Vân chi* trong môi trường dịch thể

Hàm lượng nitơ (g/L)	VC			Tra		
	Mật độ TLC	Đường kính TLC (mm)	Sinh khối sợi (g/L)	Mật độ TLC	Đường kính TLC (mm)	Sinh khối sợi (g/L)
1	+	7,66	4,76	+	7,18	4,44
2	++	6,93	6,03	++	6,72	6,17
3	+++	7,50	6,44	+++	7,08	6,40
4	++++	7,58	6,56	++++	6,74	6,61
5	+++	7,17	6,16	+++	7,31	6,23
6	+	6,87	4,69	+	7,41	4,97
CV (%)		10,89	2,03		13,25	3,59
LSD		5,23	0,87		6,27	1,54

3.7. Khảo sát ảnh hưởng của nguồn muối khoáng

Bảng 9. Ảnh hưởng của muối khoáng tới sinh trưởng hệ sợi nấm *Vân chi* trong môi trường dịch thể

Nguồn muối khoáng (g/L)	VC			Tra		
	Mật độ TLC	Đường kính TLC (mm)	Sinh khối sợi (g/L)	Mật độ TLC	Đường kính TLC (mm)	Sinh khối sợi (g/L)
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	++++	6,04	6,98	++++	7,11	6,75
K_2HPO_4	++++	6,02	4,93	++++	8,92	5,01
KH_2PO_4	+++	5,97	6,66	+++	7,45	6,25
CV (%)		7,32	3,00		6,11	2,74
LSD		3,59	1,49		3,41	1,36

Muối khoáng là thành phần quan trọng, giúp cân bằng áp suất thẩm thấu của tế bào. Kết quả khảo sát cho thấy, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ có ảnh hưởng tốt nhất đến sự sinh trưởng phát triển hệ sợi nấm.

Ngược lại, hệ sợi nấm kém phát triển nhất khi sử dụng K_2HPO_4 (Bảng 9). Kết quả trên là căn cứ cho sự phối hợp sử dụng các loại muối khoáng khác nhau để bổ sung cho nhau.

3.8. Khảo sát ảnh hưởng nồng độ muối khoáng

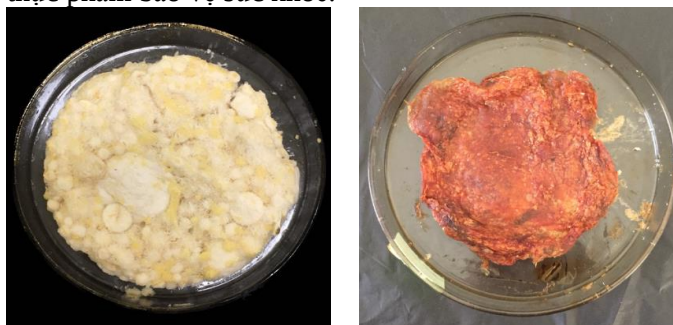
Kết quả khảo sát hàm lượng tối ưu của nguồn muối khoáng (Bảng 10) cho thấy, sử dụng $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ở hàm lượng 1 g/L có ảnh hưởng tích cực nhất đến sinh trưởng và phát triển hệ sợi nấm. Khi tăng hàm lượng lên 2 g/L, hệ sợi phát triển kém hơn, lượng sinh khối thu được có xu hướng giảm rõ rệt.

Bảng 10. Ảnh hưởng của hàm lượng muối khoáng tới sự sinh trưởng hệ sợi nấm Vân chi trong môi trường dịch thể

Hàm lượng muối (g/L)	VC			Tra		
	Mật độ TLC	Đường kính TLC (mm)	Sinh khối sợi (g/l)	Mật độ TLC	Đường kính TLC (mm)	Sinh khối sợi (g/l)
0,5	+++	6,38	5,93	+++	7,13	5,88
1	++++	5,99	7,35	++++	8,25	7,37
1,5	+++	5,97	5,65	+++	7,54	6,05
2	++	5,33	4,84	++	5,85	4,96
CV (%)		5,38	5,47		4,82	4,39
LSD		2,46	2,51		2,43	2,04

3.9. Kết quả phương pháp sấy và bảo quản hệ sợi nấm lên men

Phương pháp sấy có ảnh hưởng đến chất lượng cảm quan sản phẩm. Kết quả ở hình 3 cho thấy, khi sấy thăng hoa, hệ sợi nấm mềm xốp, màu sắc tươi, có mùi thơm đặc trưng do ở điều kiện này, nước thăng hoa trực tiếp sẽ chuyển từ dạng rắn sang khí. Do đó, giữ được hình dạng, mùi vị, màu sắc ban đầu. Đối với phương pháp sấy nhiệt, hệ sợi nấm bị quắt lại hoàn toàn, cho màu sậm, mùi của sản phẩm có lẫn mùi của nguyên liệu bị biến tính. Chính vì vậy, sấy thăng hoa là phương pháp được sử dụng để sấy nguyên liệu cho quy trình sản xuất sinh khối hệ sợi nấm, phát triển sản phẩm thực phẩm bảo vệ sức khỏe.



(a)

(b)

Hình 3. Ảnh hưởng của điều kiện sấy đến chất lượng nguyên liệu hệ sợi nấm Vân chi lên men: (a) sấy thăng hoa (b) sấy nhiệt

4. Kết luận

Môi trường gồm: đường fructose 30 g/L, cao nấm men 4 g/L và $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1 g/L, lên men bằng phương pháp sục khí ở 25°C trong 14 ngày, pH môi trường trước khi hấp khử trùng là 6 là điều kiện phù hợp cho quá trình lên men thu sinh khối của hai chủng nấm Vân chi thu thập tại khu vực miền núi phía Bắc Việt Nam. Kết quả khảo sát tương đối đồng đều giữa chủng VC và Tra. Sấy thăng hoa là phương pháp được lựa chọn để sấy bảo quản hệ sợi lên men. Kết quả này là tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo bao gồm hoàn thiện quy trình nuôi trồng lên men sinh khối hệ sợi, nâng cấp quy mô lên men và được ứng dụng để phát triển một sản phẩm thực phẩm bảo vệ sức khỏe.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Trường Đại học Nông lâm, Đại học Thái Nguyên, mã số đề tài T2022-05. ĐH.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] W. A. Elkhateeba, G. M. Dabaa, P. W. Thomasb, and T.-C. Wen, "Medicinal mushrooms as a new source of natural therapeutic bioactive compounds," *Egyptian Pharmaceutical Journal*, vol. 18, no. 2, pp. 343-349, 2019.
- [2] M. P. Raluca, C. P. Ion, A. Puia, V. S. Chedea, N. Leopold, L. C. Bocsan, and A. D. Buzoianu, "Characterization of *Trametes versicolor*: Medicinal Mushroom with Important," *Health Benefits Not Bot Horti Agrobo*, vol. 46, no. 2, pp. 343-349, 2018.
- [3] P. M. Kidd, "The use of mushroom glucans and proteoglycans in cancer treatment," *Alternative medicine review*, vol. 5, no. 1, pp. 4-27, 2000.
- [4] T. B. Ng and W. Y. Chan, "Polysaccharopeptide from the mushroom *Coriolus versicolor* possesses analgesic activity but does not produce adverse effects on female reproductive or embryonic development in mice," *Gen Pharmacol*, vol. 29, no. 2, pp. 269-273, Aug. 1997.
- [5] S. Habtemariam, "*Trametes versicolor* (Synn. *Coriolus versicolor*) polysaccharides in cancer therapy: Targets and efficacy," *Biomedicines*, vol. 8, no. 5, 2020, Art. no. 135.
- [6] T. B. T. Nguyen, "Research on biological characteristics and propagation technology, cultivation of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) and Van chi mushroom (*Trametes versicolor*) in Vietnam," Doctoral thesis in agriculture, Institute of Public Science Vietnamese technology, 2014.
- [7] B. C. Adebayo-Tayo and E. E. Ugwu, "Influence of different nutrient sources on exopolysaccharide production and biomass yield by submerged culture of *Trametes versicolor* and *Coprinus* sp.," *AU Journal of Technology*, vol. 15, no. 2, pp. 63-69, 2011.
- [8] H. T. Tran, "Research on submerged fermentation to obtain Polysaccharopeptides from *Trametes versicolor* (Van chi mushroom)", Master's Thesis - Hanoi University of Science and Technology, 2020.
- [9] P. Diamantopoulou, S. Papanikolaou, E. Katsarou, M. Komaitis, G. Aggelis, and A. Philippoussis, "Mushroom polysaccharides and lipids synthesized in liquid agitated and static cultures. Part II: Study of *Volvariella volvacea*," *Applied biochemistry and biotechnology*, vol. 167, pp. 1890-1906, 2012.
- [10] H. N. Vu, L. G. Pham, L. O. Tran, T. H. Nguyen, H. T. Nguyen, and V. C. Duong, "Optimization of the conditions for mycelial growth of the two indigenous yunzhi mushroom strains collected in the northern mountainous region of Viet Nam," *Proceedings of 2021 Vietnam national conference on biotechnology*, 2021, pp. 941-949.
- [11] J. P. Park, S. W. Kim, H. J. Hwang, and J. W. Yun, "Optimization of submerged culture conditions for the mycelial growth and exo-biopolymer production by *Cordyceps militaris*," *Letters in Applied Microbiology*, vol. 33, no. 1, pp. 76-81, 2001.
- [12] W.-S. Jo, M.-J. Kang, S.-Y. Choi, Y.-B. Yoo, S.-J. Seok, and H.-Y. Jung, "Culture Conditions for Mycelial Growth of *Coriolus versicolor*," *Mycobiology*, vol. 38, no. 3, pp. 195-202, 2010.
- [13] F. Wang, J. Zhang, L. Hao, S. Jia, J. Ba, et al., "Optimization of Submerged Culture Conditions for Mycelial Growth and Extracellular Polysaccharide Production by *Coriolus versicolor*," *Journal of Bioprocessing & Biotech*, vol. 2, no. 124, 2012, doi: 10.4172/2155-9821.1000124.