

## ỨNG DỤNG CỦA VI NẤM TRONG THỰC PHẨM

Lê Minh Nguyệt

Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Với nhiều khả năng như sinh tổng hợp enzym, các axit béo, tạo ra các axit hữu cơ..., vi nấm có vai trò ngày càng quan trọng trong công nghiệp thực phẩm nói riêng, trong chuyển hoá tự nhiên nói chung. Với sự phát triển của khoa học và công nghệ, ngày càng có nhiều ứng dụng của vi nấm được đưa vào sử dụng trong thực tiễn.

### Mở đầu

Vi nấm (hay còn gọi là nấm sợi) rất phổ biến trong tự nhiên, tồn tại trên nhiều loại cơ chất như thực phẩm, quần áo, dụng cụ và đặc biệt có nhiều trong đất. Vi nấm thuộc nhóm vi sinh vật nhân thật, sinh trưởng và phát triển thành hệ sợi, từng sợi gọi là khuẩn ty nấm (hay sợi nấm); khuẩn ty có 2 loại: khuẩn ty khí sinh mọc tự do ngoài không khí để hút oxy và sinh bào tử; khuẩn ty cơ chất cắm sâu vào cơ chất để hút các chất dinh dưỡng. Vi nấm hô hấp hiếu khí bắt buộc, thường mọc trên bề mặt thoáng, chúng phát triển nhanh khi gặp khí hậu nóng ẩm.

Trong tự nhiên, vi nấm tham gia tích cực vào các vòng tuần hoàn vật chất, nhiều loài vi nấm được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp thực phẩm, y học, nông nghiệp... Trong công nghiệp thực phẩm, vi nấm được coi như tác nhân chính để sản xuất các sản phẩm thực phẩm lên men, axit hữu cơ, các loại enzym ở quy mô công nghiệp; một số vi nấm còn được sử dụng như nguồn protein thứ 3 (2 nguồn truyền thống là protein động vật và protein thực vật).

### Ứng dụng của vi nấm trong thực phẩm

#### Sản xuất các thực phẩm lên men

Lên men là một trong những kỹ

thuật lâu đời nhất của chế biến thực phẩm và có ý nghĩa quan trọng trong phát triển ngành công nghiệp thực phẩm. Trong các thực phẩm lên men bởi vi nấm có thể kể đến nhiều loại với các nền tảng cơ chất rất khác nhau như tương, chao, temph, rượu trắng, phomai... (bảng 1).

*Tương*: là sản phẩm truyền thống của Việt Nam. Nguyên liệu để sản xuất tương gồm có tinh bột (gạo nếp, gạo tẻ), đậu nành, muối, nước và vi nấm. Vi nấm sử dụng trong sản xuất tương là loài *Aspergillus oryzae*. Để tương được rang lên cho thơm rồi xay nhỏ, ngâm nước muối, có thể bổ sung thêm một lượng mốc tương để quá trình thủy

phân protein đậu tương nhanh và tốt hơn. Gạo nấu chín rồi đem ủ lên mốc vàng hoa cau, vi nấm sẽ sinh tổng hợp các enzym amylase (chủ yếu) và protease. Khi gạo đã lên mốc và thành phẩm có mùi thơm ngọt thì cho mốc ngâm cùng nước đổ, sau đó hỗn hợp được cho vào chum (hũ) kín để ủ. Trong thời gian ủ, enzym amylase sẽ thủy phân tinh bột thành đường và enzym protease thủy phân protein đậu tương thành axit amin. Một số nước ở châu Á khác cũng có thực phẩm tương tự như tương: Nhật Bản có miso, Trung Quốc có huáng jiàng, Thái Lan có tao chiew...

Đã có nhiều nghiên cứu về

**Bảng 1. Một số ứng dụng của vi nấm để sản xuất các thực phẩm lên men.**

Loại vi nấm sử dụng	Cơ chất	Sản phẩm	Nguồn gốc
<i>Actinomucor elegans</i>	Protein đậu nành	Chao (đậu phụ lên men)	Trung Quốc, Việt Nam
<i>Amylomyces rouxii</i>	Tinh bột gạo	Ragi (bánh men rượu)	Indonesia
<i>Aspergillus oryzae</i>	Tinh bột gạo	Koji/sakê/sochu/rượu đế	Nhiều nước ở châu Á
<i>Aspergillus oryzae</i>	Tinh bột gạo	Tương/miso/tao chiew/huáng jiàng	Việt Nam, Nhật Bản, Thái Lan, Trung Quốc
<i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus soyae</i>	Protein đậu nành	Nước tương (xì dầu), miso, natto	Nhiều nước ở châu Á
<i>Monascus purpureus</i> <i>Monascus ruber</i> <i>Monascus pilosius</i>	Tinh bột gạo	Ang-kak (gạo lên men với mốc đỏ)	Trung Quốc, Nhật Bản
<i>Penicillium roqueforti</i>	Protein của sữa	Phomai kiểu Roquefort	Pháp
<i>Penicillium camemberti</i>	Protein của sữa	Phomai kiểu Camembert	Pháp
<i>Rhizopus oligosporus</i> <i>Rhizopus chinensis</i> <i>Rhizopus oryzae</i> <i>Mucor indicus</i>	Protein đậu nành	Tempeh	Indonesia

các điều kiện nuôi cấy tối ưu để *Aspergillus oryzae* phát triển và cho sản phẩm thuộc nhóm này có chất lượng cao, an toàn như tạo koji (lượng enzym nhiều nhất trong koji là khi nuôi ở 48h) [1]; các peptide hạ huyết áp trong miso paste bằng cách thêm casein trong quá trình lên men bởi *Aspergillus oryzae*...

**Phomai:** là sản phẩm chế biến từ sữa bằng cách thu khối casein đông tụ rồi ủ chín (lên men). Tùy vào mỗi loại phomai, hệ vi sinh vật được sử dụng trong quá trình sản xuất là khác nhau. Phomai Camembert sử dụng vi nấm *Penicillium camemberti*, bào tử của vi nấm phun như sương mù trên bề mặt khối sữa đông, chúng phát triển trên bề mặt bánh phomai trong suốt giai đoạn ủ, tạo thành lớp vỏ cứng mỏng và trắng; trong quá trình chín, các enzym protease, lipase của *Penicillium camemberti* khuếch tán vào trong bánh phomai để thủy phân đạm và chất béo. Phomai Roquefort (còn gọi là phomai xanh) sử dụng vi nấm *Penicillium roqueforti*, bào tử của vi nấm được trộn lẫn với khối sữa đông phát triển thành đốm màu xanh lẫn trong khối phomai. Hoạt độ nước của khối sữa đông và nhiệt độ ủ chín là 2 yếu tố ảnh hưởng chính đến sự phát triển sinh khối và sinh tổng hợp enzym của vi nấm [2]. Điều kiện môi trường của kho chứa phô mai tối ưu cho sự phát triển và sinh enzym của các loài *Penicillium* khi ủ chín phomai là ở 20-25°C và hoạt độ nước 0,83-0,87 [3].

**Chao (sufu):** để sản xuất chao, đậu nành được chế biến thành đậu phụ, cắt nhỏ, ủ cho lên mốc, sau đó thêm muối, gia vị vào. Vi sinh vật sử dụng trong sản xuất chao thường là vi nấm thuộc các giống *Actinomucor*, *Mucor*, *Rhizopus*, ở một vài địa phương có thể dùng vi khuẩn thuộc giống *Bacillus*. Trong quá trình nuôi vi nấm trên bánh đậu, vi nấm sinh tổng hợp enzym



Phomai Bleu de Gex (trái) và phomai Camembert.

protease. Ở công đoạn lên men, khi ủ các miếng mốc đậu trong dung dịch nước muối loãng, các enzym trích ly ra khỏi hệ sợi và thủy phân một phần protein của miếng đậu thành axit amin. Những nhà máy sản xuất lớn thường sử dụng giống thuần chủng (như *Actinomucor elegans*), ngược lại tại các cơ sở sản xuất nhỏ sử dụng hệ vi sinh vật tự nhiên hỗn hợp của vi nấm và vi khuẩn. *Actinomucor elegans* phát triển tốt ở nhiệt độ nhỏ hơn 25°C, độ ẩm không khí 95-97%, sau 48h nuôi đạt lượng enzym protease, lipase cao nhất. Các vi nấm khác như *Mucor hiemalis* hoặc *Rhizopus chinensis*, *Rhizopus oligosporus* được sử dụng ở nhiệt độ cao hơn. Các nhà khoa học cho rằng, *Rhizopus oligosporus* là một thay thế tiềm năng cho *Actinomucor elegans* để sản xuất chao trong mùa nóng.

**Tempeh:** sản phẩm có nguồn gốc từ Java (Indonesia) nhưng phổ biến ở Hà Lan và được tiêu thụ đáng kể ở Mỹ, châu Âu và Úc. Tempeh là một bánh có thể thái (cắt), thu được bởi phương pháp lên men bề mặt với vi nấm của những hạt đậu, ngũ cốc hoặc vật liệu phù hợp khác sau khi đã ngâm rồi nấu. Cơ chất được dùng nhiều và phổ biến nhất là đậu nành. Tempeh cung cấp một nguồn đạm thực vật rẻ tiền giàu dinh dưỡng, dễ tiêu hoá và an toàn. Đậu nành được ngâm và tách vỏ, hoặc tách vỏ khô trước rồi ngâm. Trong quá trình ngâm, sự

lên men lactic diễn ra tự nhiên làm hạ thấp pH của đậu, làm cho chúng phù hợp hơn đối với sự phát triển của vi nấm và chống lại vi khuẩn gây hư hỏng và các mầm bệnh. Vi nấm chính yếu là *Rhizopus oligosporus* và *Rhizopus oryzae*, chúng nảy mầm nhanh ở 37°C và sự phát triển nhanh sợi nấm của chúng đảm bảo sự chiếm ưu thế và lấn át các dòng tạm nhiễm khác. Trong vòng 30h, các hạt đậu rời rạc đã được kết chặt lại với nhau tạo thành khối rắn (*Rhizopus oligosporus* được xác định thâm nhập khoảng 2 mm vào sâu bên trong hạt đậu). Hoạt động enzym của *Rhizopus* spp. bao gồm protease, lipase, amylase và phosphatase. Nhờ hoạt động của các enzym này, một phần các cơ chất mạch dài bị thủy phân thành mạch ngắn, tạo điều kiện cho tiêu hoá dễ dàng [4].

**Xi dầu:** xi dầu lên men có nguồn gốc từ Trung Quốc. Ở Nhật Bản có khoảng 3.600 công ty, trong đó có 5 công ty lớn nhất sản xuất 1,2 triệu tấn xi dầu, chiếm khoảng 1/2 sản lượng hàng năm. Về cơ bản, quá trình chế biến xi dầu lên men bao gồm 3 giai đoạn: làm koji (đậu nành lên mốc), lên men trong nước muối và lọc trong. Làm koji là quá trình lên men bề mặt của hỗn hợp đậu nành hấp chín và bột mì rang. Nó được làm từ chủng giống với bào tử *Aspergillus oryzae* hoặc *Aspergillus sojae* và được ủ ở 25°C trong 2-3 ngày. Những enzym này bao gồm peptidases,

proteinases, glutaminase, amylase, pectinases và cellulases cần thiết cho sự thủy phân từng phần của đạm và các hợp chất carbon của nguyên liệu. Theo Nguyễn Hiền Trang và cộng sự (2018) [5], có thể sử dụng hỗn hợp *Aspergillus oryzae* và *Aspergillus awamori* để sản xuất xi dầu từ khô dầu lạc. Giai đoạn 2 lên men trong nước muối diễn ra trong môi trường nước muối 22-25% NaCl để vi sinh vật gây hư hỏng không thể phát triển nhưng hoạt động của enzym vẫn diễn ra.

#### **Sản xuất các axit béo**

Hàm lượng chất béo của vi nấm đôi khi có thể đạt 60-80% sinh khối khô. Tuy nhiên, chất béo động và thực vật rẻ tiền hơn, vì thế chỉ những trường hợp đặc biệt thì người ta mới sản xuất axit béo bằng việc lên men. Ví dụ để sản xuất axit béo không no từ vi nấm, người ta sử dụng *Mucor javanicus* hoặc *Mucor rouxii* để tạo ra axit *trans*-linoleic trên nguồn đạm và carbon rẻ tiền như bã nhỏ, tinh bột, mật rỉ đường. Sản phẩm tạo ra có hàm lượng lipid đạt 7-11% sinh khối khô và axit *trans*-linoleic chiếm 17-37% trọng lượng lipid.

#### **Sản xuất các axit hữu cơ**

Axit hữu cơ được tạo ra bởi sự lên men của vi nấm có thể phân thành hai nhóm: axit hữu cơ được tạo ra thông qua lộ trình axit carboxylic hoặc được tạo ra trực tiếp từ đường glucose. Ở nhóm thứ nhất, axit citric là axit hữu cơ quan trọng nhất được tạo ra bởi sự lên men. Sản lượng hàng năm ước tính khoảng 400.000 tấn được sản xuất chủ yếu bởi vi nấm *Aspergillus niger* nhưng cũng có thể sử dụng nấm men *Yarrowia lipolytica* để sản xuất. Axit citric được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp thực phẩm, làm chất tạo hương vị...

Trong nhóm thứ hai, axit gluconic (sản lượng 50.000 tấn/năm) được

sản xuất chủ yếu bởi vi khuẩn, nhưng cũng có thể sử dụng vi nấm *Aspergillus niger* và *Aspergillus foetidus* trong các quy trình nuôi cấy bề mặt hoặc nuôi cấy chìm [6]. Axit lactic (30.000 tấn/năm) được sản xuất chủ yếu bởi vi khuẩn lactic, nhưng cũng có thể sử dụng vi nấm *Rhizopus oryzae* để sản xuất [4].

#### **Sản xuất enzym công nghiệp**

Trong số những enzym sản xuất bởi vi nấm, chiếm đa số là enzym protease và nhóm enzym amylase. Enzym protease thu được từ các vi nấm *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Penicillium roquefortii* và *Mucor* spp. được ứng dụng trong sản xuất chất tẩy rửa và trong chế biến thực phẩm như làm nhanh chín phomat, làm bánh mì, làm mềm thịt. Nhóm enzym amylase ( $\alpha$ -amylase, glucoamylase) được tạo ra bởi *Aspergillus oryzae* và *Aspergillus niger* được ứng dụng trong làm bánh mì, ủ bia rượu và bánh kẹo. Susu Han và cộng sự (2019) [7] đã xác định được các đặc tính tinh sạch và sinh hóa của một fructosyltransferase mới với hoạt tính chuyển hóa FOS cao từ *Aspergillus oryzae* S719.

Ngoài ra còn có các enzym khác được sản xuất bởi vi nấm, như enzym cellulase được tiết ra bởi *Aspergillus niger*, *Penicillium* spp. và *Trichoderma reesei*; enzym pectinases được tạo ra bởi *Aspergillus* spp.;  $\beta$ -glucanase được tạo ra bởi *Aspergillus niger*, *Penicillium* spp. Những enzym này được ứng dụng để thúc đẩy sự tiêu hoá của thực phẩm có sợi, sự tinh lọc nước trái cây và bia... Enzym lipases được tạo ra bởi *Mucor* spp. và *Aspergillus niger* ứng dụng cho sự phát triển hương vị các sản phẩm từ sữa. Glucose oxidase được tạo ra bởi *Aspergillus niger* đã có nhiều ứng dụng trong thực phẩm và y

học...

#### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- [1] M. Uchida, et al. (2019), "Development of koji by culturing *Aspergillus oryzae* on nori (*Pyropia yezoensis*)", *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **127**, pp.183-189.
- [2] Nguyen Van Long, et al. (2017), "Temperature, water activity and pH during conidia production affect the physiological state and germination time of *Penicillium* species", *Journal of Food Microbiology*, **241**, pp.151-160.
- [3] M. Leggeri, et al. (2018), "Modelling the sporulation of some fungi associated with cheese, at different temperature and water activity regimes", *Journal of Microbiology*, **278**, pp.52-60.
- [4] Yong Qian Fu, et al. (2016), "High-efficiency L-lactic acid production by *Rhizopus oryzae* using a novel modified one-step fermentation strategy", *Journal of Bioresource Technology*, **218**, pp.410-417.
- [5] Nguyễn Hiền Trang, Dương Thị Hương (2018), "Ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng thủy phân khô dầu lạc trong sản xuất nước tương bởi chế phẩm hỗn hợp *Aspergillus oryzae* KZ3 và *Aspergillus awamori* HK1", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp*, **2**, tr.977-986.
- [6] Hongsen Zhang, et al. (2016), "High titer gluconic acid fermentation by *Aspergillus niger* from dry dilute acid pretreated corn stover without detoxification", *Journal of Bioresource Technology*, **203**, pp.211-219.
- [7] Susu Han, et al. (2019), "Purification and biochemical characteristics of a novel fructosyltransferase with a high FOS transfructosylation activity from *Aspergillus oryzae* S719", *Journal of Protein Expression and Purification*, **167**, DOI: 10.1016/j.pep.2019.105549.