

# ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ, HOẠT ĐỘ NƯỚC VÀ KHÍ CO<sub>2</sub> LÊN SỰ TĂNG TRƯỞNG CỦA *ASPERGILLUS FLAVUS* 01 VÀ *FUSARIUM PROLIFERATUM* 01 TRONG QUÁ TRÌNH BẢO QUẢN LÚA

● PHAN THỊ KIM LIÊN - PHẠM THỊ ANH THƯ - TRẦN HOÀNG DIỄM QUỲNH  
- BÙI MINH NHẬT - NGUYỄN THỊ KIM XUYẾN - NGUYỄN PHƯƠNG TÙNG  
- BÙI MINH NHẬT UYÊN - ĐINH THỊ HẢI THUẬN - NGUYỄN THỊ NGỌC THÚY

## TÓM TẮT:

*F. proliferatum* và *A. flavus* thường nhiễm vào lúa/gạo trong suốt quá trình sản xuất, đặc biệt là trong quá trình bảo quản. Sự sinh trưởng và sinh độc tố của các loài nấm mốc này chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố như nhiệt độ, hoạt độ nước và khí CO<sub>2</sub>. Vì vậy, nghiên cứu này đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ và hoạt độ nước lên sự sinh trưởng và phát triển *F. proliferatum* 01 (FP01). *A. flavus* 01 (AF01). Kết quả cho thấy, ở hoạt độ nước 0.80, 0.85, 0.90 a<sub>w</sub>, cả 2 chủng nấm mốc AF01 và FP01 đều không phát triển ở tất cả điều kiện nhiệt độ khảo sát. AF01 phát triển tối ưu ở hoạt độ nước 0.99 a<sub>w</sub> - 35°C với tốc độ tăng trưởng trung bình là 6.44 ± 0.02 cm<sup>3</sup>/ngày, trong khi đó FP01 tăng trưởng tối đa ở 0.99 a<sub>w</sub> - 30°C với tốc độ tăng trưởng trung bình 4.97 ± 0.03 cm<sup>3</sup>/ngày. Ngoài nhiệt độ và hoạt độ nước, khí CO<sub>2</sub> cũng kìm hãm sự tăng trưởng của nấm mốc. Ở nồng độ khí CO<sub>2</sub> 17%, khả năng kìm hãm AF01 diễn ra mạnh nhất ở hoạt độ nước 0.95 a<sub>w</sub> ở 2 nhiệt độ khảo sát 30°C và 35°C (76% và 80%), trong khi đó ở nồng độ khí CO<sub>2</sub> 19%, khả năng kìm hãm nấm mốc diễn ra mạnh ở nhiệt độ 25°C và 30°C - 0.99 a<sub>w</sub> (I= 44 % và I=81%). Kết quả nghiên cứu này cung cấp số liệu cho các nhà sản xuất lúa tham khảo để áp dụng trong quá trình bảo quản lúa.

**Từ khóa:** *F. proliferatum*, *A. flavus*, nhiệt độ, hoạt độ nước, khí CO<sub>2</sub>.

## 1. Đặt vấn đề

Lúa (*Oryza sativa*) là 1 trong 5 loại cây lương thực chính của thế giới, cùng với ngô (*Zea mays* L), lúa mì (*Triticum spp.*), sắn (*Manihot esculenta* Crantz) và khoai tây (*Solanum tuberosum* L.) là mặt hàng xuất khẩu chính của Việt Nam (Đ. H. Hồ, 2012). Hằng năm, khoảng 42 triệu tấn lúa được thu hoạch, trong đó Đồng bằng sông Cửu Long chiếm hơn 53%, nhiều nhất là 3 tỉnh: Cần Thơ, Đồng

Tháp, An Giang (GSOOV). Tuy nhiên, chất lượng và giá gạo Việt Nam vẫn thấp hơn so với Thái Lan,... trong đó, nguyên nhân chính là do sự tổn thất sau thu hoạch. Có tới 50 - 60% tổn thất sau thu hoạch do các kỹ thuật bảo quản chưa đúng cách. Đây là một trong những vấn đề nan giải của các nước nói chung và Việt Nam nói riêng (Kumar và Kalita, 2017). Ngoài côn trùng và sâu bệnh, nấm mốc cũng là tác nhân chính ảnh hưởng đến sự hư

hỏng nông sản. Sự nhiễm nấm mốc lên nông sản làm tiêu hao nguyên liệu, thay đổi chất lượng nông sản gây thối hỏng và giảm chất lượng sản phẩm. Theo thống kê của Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp Liên Hiệp quốc (FAO), 25% nông sản trên thế giới bị hư hỏng bởi các loại nấm mốc, làm giảm 5÷10% giá trị kinh tế toàn cầu (Bhat et al., 2010). Vì thế, hạn chế sự tổn thất sau thu hoạch đang là mối quan tâm hàng đầu hiện nay.

Việt Nam là một nước nhiệt đới nóng ẩm, nhiệt độ từ 25 - 35°C với lượng mưa và độ ẩm không khí cao 80 - 90% tạo điều kiện lý tưởng cho nấm mốc phát triển (GSOOV). Trong đó, *Aspergillus* là một trong những loại nấm chiếm ưu thế trên lúa, đặc biệt là *A. flavus*. Loài nấm mốc này, thường được phân lập trên lúa của Malaysia (Reddy et al., 2011), Ấn Độ (Reddy et al., 2009), và Việt Nam (Trung et al., 2001). Bên cạnh đó, *F. proliferatum* cũng được coi là tác nhân chính gây ra một số bệnh trên cây lúa, dẫn đến sự sụt giảm năng suất thu hoạch và tăng tích tụ Fumonisin trong gạo Nhật Bản (Kushiro, 2015) và Việt Nam. Đáng chú ý, 2 loại nấm này còn có thể tồn tại trên hạt gạo khỏe mạnh dưới nhiệt độ thấp trong thời gian dài (Gonçalves et al., 2019) và sinh độc tố Aflatoxin và Fumonisin, gây bệnh cho người và vật nuôi. Theo Cơ quan nghiên cứu Ung thư Quốc tế (IARC), Aflatoxin được xếp vào độc tố nhóm 1, chúng có khả năng liên kết với DNA của các tế bào, ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp protein, làm giảm khả năng miễn dịch tế bào (Castegnaro và Wild, 1995).

Sự phát triển của nấm mốc trong thực phẩm bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố, như: hoạt độ nước, nhiệt độ, thời gian bảo quản, thành phần của môi trường, N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> và CO<sub>2</sub>. Vì vậy, việc thay đổi thành phần khí quyển nhằm giảm tốc độ hô hấp và ngăn chặn sự phát triển của nấm mốc là một trong những phương pháp thích hợp được áp dụng để tăng thời gian bảo quản nông sản (Wolfe, 1980). Đặc biệt, thay đổi hàm lượng khí CO<sub>2</sub> trong quá trình bảo quản là một trong những giải pháp thường được nghiên cứu và áp dụng (Wolfe, 1980). Việc thay đổi nồng độ phần trăm CO<sub>2</sub> trong bảo quản nông sản mang lại hiệu quả đáng kể. Tuy nhiên, vẫn còn ít công trình nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của khí CO<sub>2</sub> lên tốc độ tăng trưởng của *Aspergillus flavus* và *Fusarium proliferatum* trên lúa ở các điều kiện nhiệt độ và hoạt độ nước khác nhau. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục đích khảo sát ảnh hưởng của khí CO<sub>2</sub> lên tốc độ tăng trưởng

*Aspergillus flavus*, *Fusarium proliferatum* ở các điều kiện nhiệt độ, hoạt độ nước khác nhau trong quá trình bảo quản lúa.

## 2. Vật liệu và phương pháp

### 2.1. Chủng nấm mốc *A. flavus* AF01 và *F. proliferatum* FP01

2 chủng nấm mốc thử nghiệm *A. flavus* 01 và *F. proliferatum* 01 sử dụng trong nghiên cứu này được phân lập từ các mẫu lúa thuộc 3 tỉnh: Đồng Tháp, An Giang, Cần Thơ. Nấm mốc được nuôi cấy trên môi trường thạch khoai tây PDA (Potatose Dextrose Agar, Himedia, Ấn Độ) và được giữ giống ở nhiệt độ 4°C tại phòng G201 thuộc Trung tâm Thực hành Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh (HUFI).

### 2.2. Ảnh hưởng nhiệt độ và hoạt độ nước lên sự sinh trưởng của *A. flavus* AF01 và *F. proliferatum* FP01 ở nhiệt độ và hoạt độ nước khác nhau

#### 2.2.1. Chuẩn bị bào tử nấm mốc

Dịch bào tử của mỗi loại nấm (10<sup>6</sup> bào tử/mL) được cấy giữa môi trường PDA (Merck, Đức) và ủ ở 30°C trong 7 ngày để thu được bào tử nấm. Cho 5 mL của dung dịch Tween 80 (0,1g/100 mL nước) lên các đĩa Petri có chứa nấm mà phát triển hoàn toàn sau 7 ngày ủ, sau đó chuyển phần dung dịch trên vào một ống vô trùng, có nút bông vô trùng ở trên để lọc ra các mảnh vụn sau khi loại bỏ bào tử. Quá trình chiết xuất này được thực hiện 2 lần trên cùng một đĩa để thu thập hầu hết các bào tử nấm. Các ống này được ly tâm 8.500 vòng/phút ở 4°C/15 phút, sau khi loại bỏ nút bông. Phần nổi phía trên được loại bỏ và 20 ml dung dịch muối đệm phosphat (PBS) (Medicago, Uppsala, Thụy Điển) + Dung dịch Tween 80 (Sigma, Aldrich, Hoa Kỳ) (0,1 g Tween 80 và 1 tablet PBS trên 100 mL nước) được thêm vào các ống chứa bào tử. Dung dịch bào tử được lắc bằng máy Vortex trong 30s và được ly tâm ở các nhiệt độ đã mô tả trước đó. Phần nổi phía trên được loại bỏ, còn 20 mL dung dịch PBS (1 tablet/100 mL nước) được thêm vào các ống chứa bào tử và lắc bằng máy Vortex. Các bào tử được đếm trong buồng Thoma 16 tế bào (Hirschmann Đức) bằng kính hiển vi (Optika, Ý). Pha loãng để thu được nồng độ 10<sup>6</sup> (bào tử/mL) trong PBS (Yogendrarajah et al., 2016), (Phan et al., 2022).

#### 2.2.2. Môi trường nuôi cấy

Sự phát triển của các chủng AF01 và FP01 được nghiên cứu trên lúa thu thập ở Đồng bằng sông Cửu Long, Việt Nam. Các mẫu thóc được chiếu xạ ở nhiệt độ 11 kGy tại Trung tâm Công nghệ Sinh học

Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam để đảm bảo không bị nhiễm nấm mốc. Hoạt độ nước ban đầu của thóc được đo bằng máy đo hoạt độ nước (EZ200, Freund, Nhật Bản). Môi trường lúa trong nghiên cứu này được điều chỉnh hoạt độ nước bằng glycerol. Phương trình hồi quy tuyến tính xác định sự hấp thụ độ ẩm của lúa có thể được viết như sau:

$$Y = -0.0022X + 1.0006 \quad (1)$$

Trong đó:

Y là hoạt độ nước cần khảo sát.

X là khối lượng glycerol hòa tan trong 100g nước.

Hoạt độ nước được điều chỉnh đến mức mong muốn bằng cách thêm một lượng thích hợp dung dịch glycerol (g) vào nước theo phương trình (1), hấp tiệt trùng ở 121°C/15 phút và làm lạnh xuống nhiệt độ phòng. Cho 18ml dung dịch glycerol - nước sau khi được hấp vào 100g lúa. Để đảm bảo nước hấp phụ đồng đều, lúa được ủ ở 4°C/48 giờ và các silo chứa lúa này được lắc thường xuyên. Hoạt độ nước thực tế của lúa cũng được xác định bằng máy đo hoạt độ nước (EZ200, Freund, Nhật Bản). Các mẫu thóc đã được khử nước được chuyển vào đĩa Petri 90 mm (90 x 1.5 mm) (Dinlab, Đức) và sắp xếp để tạo thành một lớp nén (20g) và thêm 10 $\mu$ L dung dịch bào tử đã chuẩn bị (106 bào tử/mL). Những mẫu lúa bị nhiễm nấm được bọc kỹ bằng parafilm và ủ trong hộp nhựa kín. Mỗi hộp được đặt trong cốc 250ml chứa 100ml glycerol - nước cùng  $a_w$  như của thóc để đảm bảo độ ẩm tương đối cân bằng cố định (ERH) trong giai đoạn xử lý (Yogendrarajah et al., 2016), (Phan et al., 2022)

### 2.3. Ảnh hưởng của nồng độ khí CO<sub>2</sub> lên sự tăng trưởng của *A. flavus* AF01 và *F. proliferatum* FP01 ở nhiệt độ và hoạt độ nước tối ưu

#### 2.3.1. Môi trường cấy

(Tương tự Môi trường cấy ở mục 2.2)

#### 2.3.2. Đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố lên sự tăng trưởng của nấm mốc

Thử nghiệm lần lượt ở 5 nhiệt độ (20, 25, 30, 35 và 40°C) trong 5 hoạt độ nước ( $a_w$ ) (0,80, 0,85, 0,90, 0,95 và 0,99  $a_w$ ) trên môi trường lúa để đánh giá sự ảnh hưởng của hoạt độ nước lên tốc độ tăng trưởng trung bình ( $\text{cm}^3 \cdot \text{ngày}^{-1}$ ) của 2 loài *A. flavus* (AF01) và *F. proliferatum* (FP01) và ở mỗi điều kiện được lặp lại 3 lần (Phan et al., 2022). Đánh giá tốc độ tăng trưởng trung bình ( $\text{cm}^3 \cdot \text{ngày}^{-1}$ ) của nấm mốc ở nhiệt độ (20, 25, 30, 35 và 40°C) và hoạt độ nước ( $a_w$ ) (0,80, 0,85, 0,90, 0,95 và 0,99  $a_w$ ); tỷ lệ kim hãm nấm mốc ở nồng độ khí CO<sub>2</sub> 17 và 19% (I%) trên lúa được chiếu xạ. Mỗi điều kiện được lặp lại 3

lần (L.Phan và cộng sự, 2022). Tốc độ tăng trưởng tối đa của *A. flavus* và *F. proliferatum* được tính theo công thức sau:

$$\mu_{max} = \frac{V_{max}}{n}$$

Với

$\mu_{max}$ : là tốc độ tăng trưởng tối đa ( $\text{cm}^3 \cdot \text{ngày}^{-1}$ );

$V_{max}$ : là thể tích tăng trưởng của nấm mốc ( $\text{cm}^3$ )

n: là số ngày nuôi cấy (ngày)

Khả năng ức chế của các nồng độ khí CO<sub>2</sub> lên sự tăng trưởng được tính với công thức như sau:

$$I(\%) = \frac{(V_c - V_{tb})}{V_c} \times 100$$

Với I là phần trăm ức chế (%),  $V_c$  là thể tích tăng trưởng trung bình của mẫu đối chứng (control) ( $\text{cm}^3$ ) và  $V_{tb}$  là thể tích tăng trưởng trung bình của mẫu có sử dụng khí CO<sub>2</sub> ( $\text{cm}^3$ ).

### 3. Kết quả và bàn luận

#### 3.1. Ảnh hưởng nhiệt độ và hoạt độ nước lên sự sinh trưởng của *A. flavus* AF01 và *F. proliferatum* FP01 ở nhiệt độ và hoạt độ nước khác nhau

Trong nghiên cứu này, sự ảnh hưởng của hoạt độ nước lên tốc độ tăng trưởng trung bình ( $\text{cm}^3/\text{ngày}$ ) của 2 loài *A. flavus* (AF01) và *F. proliferatum* (FP01) được khảo sát ở 5 điều kiện nhiệt độ (20, 25, 30, 35 và 40°C) và 5 mức hoạt độ nước ( $a_w$ ) (0,80, 0,85, 0,90, 0,95 và 0,99  $a_w$ ) trên hạt lúa đã được chiếu xạ. (Bảng 1)

Dữ liệu ở Bảng 1 cho thấy, ở 3 mức hoạt độ nước 0,80, 0,85, 0,90 hai chủng nấm mốc AF01 và FP01 đều không phát triển ở tất cả điều kiện nhiệt độ khảo sát (trừ AF01 ở hoạt độ nước 0,90  $a_w$  - 35°C với tốc độ tăng trưởng trung bình là  $1.25 \pm 0.02 \text{ cm}^3/\text{ngày}$ ). Ngoài ra, ở hoạt độ nước 0,95  $a_w$  - 20°C, AF01 không phát triển và ở nhiệt độ 40°C, FP01 không phát triển ở tất cả hoạt độ nước.

Nhìn chung, khi nhiệt độ tăng từ 25 - 35°C đối với AF01 và 25 - 30°C đối với FP01 ở hoạt độ nước 0,95 - 0,99  $a_w$  thì tốc độ tăng trưởng tăng. AF01 phát triển tối ưu ở hoạt độ nước 0,99  $a_w$  - 35°C với tốc độ tăng trưởng trung bình là  $6.44 \pm 0.02 \text{ cm}^3/\text{ngày}$ , trong khi đó FP01 tăng trưởng tối đa ở  $a_w$  0,99 - 30°C với tốc độ tăng trưởng trung bình  $4.97 \pm 0.03 \text{ cm}^3/\text{ngày}$ . Ở hoạt độ nước thấp (0,08  $a_w$  và 0,85  $a_w$ ) và nhiệt độ thấp (20°C), nấm mốc có thể bị ức chế (không phát triển). Hơn nữa, ở nhiệt độ cao hơn 40°C, AF01 phát triển chậm và FP01 không phát triển.

Kết quả nghiên cứu này giống với một số kết quả nghiên cứu của các tác giả trước đây. Theo

**Bảng 1. Tốc độ tăng trưởng tối đa ( $\mu_{max}$ ) (trung bình  $\pm$  SD,  $cm^3.ngày^{-1}$ ) và thời gian tiềm phát ( $\lambda$ ) (trung bình  $\pm$  SD, ngày) của AF01 và FP01 trên lúa**

T (°C)		$A_w$	0.80	0.85	0.90	0.95	0.99
20	AF01	$\mu_{max}$	No growth (NG)				2.77 $\pm$ 0.03
		$\lambda$					1.63 $\pm$ 0.02
	FP01	$\mu_{max}$	NG			1.35 $\pm$ 0.01	3.23 $\pm$ 0.05
		$\lambda$				2.03 $\pm$ 0.10	1.38 $\pm$ 0.14
25	AF01	$\mu_{max}$	NG			1.14 $\pm$ 0.02	4.88 $\pm$ 0.07
		$\lambda$				1.82 $\pm$ 0.03	1.07 $\pm$ 0.05
	FP01	$\mu_{max}$	NG			1.08 $\pm$ 0.02	4.33 $\pm$ 0.10
		$\lambda$				1.88 $\pm$ 0.08	0.32 $\pm$ 0.09
30	AF01	$\mu_{max}$	NG			2.58 $\pm$ 0.07	5.68 $\pm$ 0.01
		$\lambda$				2.58 $\pm$ 0.04	1.17 $\pm$ 0.04
	FP01	$\mu_{max}$	NG			2.19 $\pm$ 0.04	4.97 $\pm$ 0.03
		$\lambda$				1.52 $\pm$ 0.02	0.16 $\pm$ 0.06
35	AF01	$\mu_{max}$	NG		1.25 $\pm$ 0.02	3.88 $\pm$ 0.13	6.44 $\pm$ 0.02
		$\lambda$			0.38 $\pm$ 0.03	0.66 $\pm$ 0.05	0.15 $\pm$ 0.11
	FP01	$\mu_{max}$	NG			1.19 $\pm$ 0.01	1.81 $\pm$ 0.01
		$\lambda$				1.82 $\pm$ 0.06	0.27 $\pm$ 0.16
40	AF01	$\mu_{max}$	NG			2.05 $\pm$ 0.16	4.47 $\pm$ 0.09
		$\lambda$				0.91 $\pm$ 0.42	1.08 $\pm$ 0.07
	FP01	$\mu_{max}$	NG				
		$\lambda$					

No growth (NG);  $\mu_{max}$  (trung bình  $\pm$  SD,  $cm^3.ngày^{-1}$ ): Tốc độ tăng trưởng; thời gian tiềm phát ( $\lambda$ ) (trung bình  $\pm$  SD, ngày); AF01: *A. flavus* 01; FP01: *F. proliferatum* 01

Nguồn: Nhóm tác giả thực hiện

Phan và cộng sự, 2022, *A. flavus* và *F. proliferatum* tăng trưởng ở hoạt độ nước 0.95 - 0.99 ở tất cả nhiệt độ khảo sát 20 - 40°C. *A. flavus* không phát triển được ở  $a_w$  0.90 - 20°C (Gallo et al., 2016) và *F. proliferatum* không phát triển ở  $a_w$  0.85 (Samapundo et al., 2007). *A. flavus* phát triển ở khoảng nhiệt độ từ 12 - 48°C (Hien et al., 2006) phát triển mạnh ở khoảng nhiệt độ 25 - 42°C (Massey et al., 1995), (Stubblefield et al., 1968) phát triển tối ưu ở điều kiện khô nóng với nhiệt độ là 30°C, độ ẩm cao sẽ phát triển và sinh độc tố aflatoxins mạnh (Craufurd et al., 2006), (Abbas et al., 2012).

Nấm mốc *Fusarium proliferatum* phát triển thích hợp ở 25 - 30°C (Nelson et al., 1990). Mặt khác, chủng *F. proliferatum* đạt tốc độ tăng trưởng

tối đa ở  $a_w$  0.99 - 30°C trên hạt ngô (Marin et al., 1995). Tuy nhiên, một số nghiên cứu có kết quả khác, cụ thể, *F. proliferatum* đạt tốc độ tăng trưởng tối đa ở 25°C trên hạt lúa mì và trên PDA (Cendoya et al., 2018). Sự khác biệt này được giải thích ngoài nhiệt độ và hoạt độ nước ảnh hưởng đến sự phát triển của AF01 và FP01, thành phần dinh dưỡng của môi trường, chủng nấm mốc cũng ảnh hưởng mạnh đến tốc độ phát triển của các chủng nấm.

### 3.2. Ảnh hưởng của nồng độ khí CO<sub>2</sub> lên sự tăng trưởng của *A. flavus* AF01 và *F. proliferatum* FP01 ở nhiệt độ và hoạt độ nước tối ưu

Trong nghiên cứu này, tiến hành đánh giá khả năng kìm hãm sự sinh trưởng của khí CO<sub>2</sub> ở nồng độ 17% và 19% trên hạt lúa ở nhiệt độ 25°C, 30°C

đối với *F. proliferatum* 01 (FP01) (Bảng 2) và 30°C, 35°C đối với *A. flavus* 01 (AF01) (Bảng 3) ở hoạt độ nước 0.95, 0.99 a<sub>w</sub> sau 7 ngày nuôi cấy. (Bảng 2)

Đối với *A. flavus* AF01, khả năng kìm hãm của khí CO<sub>2</sub> giảm khi tăng nồng độ khí từ 17 - 19% và hoạt độ nước tăng (0.95 - 0.99 a<sub>w</sub>). Cụ thể, ở nồng độ khí CO<sub>2</sub> 17%, khả năng kìm hãm mạnh nhất diễn ra ở hoạt độ nước 0.95 a<sub>w</sub> ở 2 nhiệt độ khảo sát 30°C, 35°C (76% và 80%) với tốc độ tăng trưởng trung bình lần lượt là 4.44 ± 2.14 cm<sup>3</sup>/ngày và 0.98 ± 0.22 cm<sup>3</sup>/ngày. Khả năng kìm hãm của khí CO<sub>2</sub> giảm dần ở hoạt độ nước 0.99 a<sub>w</sub> (I = 3.4% và I = 64%). Ở nồng độ CO<sub>2</sub> 19% khả năng kìm hãm của khí CO<sub>2</sub> không cao bằng 17% (I=2.5% - 63%) và khả năng kìm hãm mạnh nhất ở hoạt độ nước 0.99 a<sub>w</sub> (I = 63%) với tốc độ tăng trưởng trung bình là

3.36 ± 0.42 - 16.77 ± 1.41 cm<sup>3</sup>/ngày. Nhìn chung, hoạt độ nước càng cao, khả năng tăng trưởng của nấm mốc mạnh và ít chịu ảnh hưởng của khí CO<sub>2</sub>. (Bảng 3)

Đối với *Fusarium proliferatum* 01, ở các hoạt độ nước khác nhau, nồng độ khí CO<sub>2</sub> từ 17 - 19% tốc độ tăng trưởng của *F. proliferatum* giảm dần ở các điều kiện khảo sát và phần trăm ức chế tốc độ tăng trưởng tăng. Cụ thể, ở nồng độ khí CO<sub>2</sub> 17% khả năng kìm hãm của CO<sub>2</sub> diễn ra mạnh nhất ở hoạt độ nước 0.99 a<sub>w</sub> (I = 39%) với tốc độ tăng trưởng trung bình 8.49 ± 7.73 cm<sup>3</sup>/ngày, và khả năng kìm hãm giảm khi hoạt độ nước giảm 0.95 a<sub>w</sub> (I = 21%) với tốc độ tăng trưởng trung bình là 0.61 ± 0.81 cm<sup>3</sup>/ngày. Nhìn chung, khả năng kìm hãm của khí CO<sub>2</sub> đối với chủng nấm mốc này không cao bằng đối với AF01. Hơn nữa, khả năng kìm hãm mạnh

**Bảng 2. Tốc độ tăng trưởng μ<sub>max</sub> (trung bình ± SD, cm<sup>3</sup>.ngày<sup>-1</sup> của *Aspergillus flavus* AF01 và khả năng ức chế của khí CO<sub>2</sub> (I%)**

I%: Tỷ lệ kìm hãm, a<sub>w</sub>: Hoạt độ nước; *Aspergillus flavus* 01: AF01; μ<sub>max</sub> (trung bình ± SD, cm<sup>3</sup>.ngày<sup>-1</sup>): Tốc độ tăng trưởng

T(°C)	a <sub>w</sub>	AF 01				
		Control (cm <sup>3</sup> /ngày)	17% CO <sub>2</sub>		19% CO <sub>2</sub>	
			μ max (cm <sup>3</sup> /ngày)	I%	μ max (cm <sup>3</sup> /ngày)	I%
30	0.95	18.82 <sup>aa</sup> ± 0.11	4.44 <sup>ab</sup> ± 2.14	76.4	16.77 <sup>ab</sup> ± 1.41	10.9
	0.99	15.69 <sup>ba</sup> ± 0.65	15.36 <sup>bb</sup> ± 6.34	3.4	15.5 <sup>bb</sup> ± 1.25	2.5
35	0.95	4.51 <sup>ba</sup> ± 1.26	0.98 <sup>ab</sup> ± 0.22	79.7	3.72 <sup>bb</sup> ± 0.15	18.2
	0.99	9.18 <sup>aa</sup> ± 1.6	3.32 <sup>bb</sup> ± 2.13	64.0	3.36 <sup>abb</sup> ± 0.42	63.4

Nguồn: Nhóm tác giả thực hiện

**Bảng 3. Tốc độ tăng trưởng μ<sub>max</sub> (trung bình ± SD, cm<sup>3</sup>.ngày<sup>-1</sup> của *Fusarium proliferatum* FP01 và khả năng ức chế của khí CO<sub>2</sub> (I%)**

I%: Tỷ lệ kìm hãm, a<sub>w</sub>: Hoạt độ nước; *Aspergillus flavus* 01: AF01; μ<sub>max</sub> (trung bình ± SD, cm<sup>3</sup>.ngày<sup>-1</sup>): Tốc độ tăng trưởng

T(°C)	a <sub>w</sub>	AF 01				
		Control (cm <sup>3</sup> /ngày)	17% CO <sub>2</sub>		19% CO <sub>2</sub>	
			μ max (cm <sup>3</sup> /ngày)	I%	μ max (cm <sup>3</sup> /ngày)	I%
25	0.95	3.32 <sup>aa</sup> ± 0.2	2.21 <sup>abB</sup> ± 0.18	33.4	1.915 <sup>abA</sup> ± 0.53	32.7
	0.99	2.94 <sup>abA</sup> ± 1.47	2.32 <sup>abB</sup> ± 0.07	21.0	0.72 <sup>aA</sup> ± 0.02	43.9
30	0.95	2.569 <sup>4abA</sup> ± 0.2187	0.61 <sup>abB</sup> ± 0.81	21.0	2.01 <sup>aA</sup> ± 0.24	20.5
	0.99	3.42 <sup>ba</sup> ± 0.26	8.49 <sup>ab</sup> ± 7.73	38.7	2.63 <sup>ba</sup> ± 0.33	81.0

Nguồn: Nhóm tác giả thực hiện

nhất ở hoạt độ nước cao 0.99 a<sub>w</sub> chứ không phải ở hoạt độ nước 0.95 a<sub>w</sub> như đối với AF01.

Ở nồng độ khí CO<sub>2</sub> 19%, khả năng kìm hãm nấm mốc diễn ra mạnh hơn so với 17%, và khả năng kìm hãm này cũng diễn ra mạnh nhất ở hoạt độ nước 0.99 a<sub>w</sub> (I = 44 % và I = 81%) ở nhiệt độ 25°C và 30°C với tốc độ tăng trưởng lần lượt là 0.72 ± 0.02 cm<sup>3</sup>/ngày và 2.63 ± 0.33 cm<sup>3</sup>/ngày. Kết quả nghiên cứu này tương tự như báo cáo của Dixon và Kell (Dixon và Kell, 1989). Các tác giả cho biết, CO<sub>2</sub> có khả năng ức chế vi sinh vật nhưng cơ chế tác động thì chưa rõ ràng. Hơn nữa, (Magan và Lacey, 1984), (Samapundo et al., 2007) cũng cho thấy, nồng độ khí CO<sub>2</sub> có ảnh hưởng đáng kể đến sự phát triển nấm mốc, nồng độ CO<sub>2</sub> tăng sẽ làm ức chế sự phát triển của nấm mốc. Điều này được lý giải như sau: nấm mốc là vi sinh vật sinh trưởng và phát triển trong điều kiện hiếu khí. Vì vậy, khi tăng khí CO<sub>2</sub> lên 17% - 19% sẽ ức chế sự sinh trưởng và phát triển của chúng.

#### **4. Kết luận**

Nhiệt độ và hoạt độ nước ảnh hưởng lên sự sinh trưởng và phát triển *F. proliferatum* 01 (FP01), *A. flavus* 01 (AF01). Ở hoạt độ nước 0.80, 0.85, 0.90 a<sub>w</sub> hai chủng nấm mốc AF01 và FP01 đều không phát triển ở tất cả điều kiện nhiệt độ khảo sát. AF01 phát triển tối ưu ở hoạt độ nước 0.99 a<sub>w</sub> - 35°C với tốc độ tăng trưởng trung bình là 6.44 ± 0.02 cm<sup>3</sup>/ngày, trong khi đó FP01 tăng trưởng tối đa ở aw 0.99 - 30°C với tốc độ tăng trưởng trung bình 4.97 ± 0.03 cm<sup>3</sup>/ngày. Ngoài nhiệt độ và hoạt độ nước, khí CO<sub>2</sub> cũng kìm hãm sự tăng trưởng của nấm mốc. Ở nồng độ khí CO<sub>2</sub> 17%, khả năng kìm hãm AF01 diễn ra mạnh nhất ở hoạt độ nước 0.95 a<sub>w</sub> ở 2 nhiệt độ khảo sát 30°C và 35°C (76% và 80%), trong khi đó ở nồng độ khí CO<sub>2</sub> 19%, khả năng kìm hãm nấm mốc diễn ra mạnh ở nhiệt độ 25°C và 30°C - 0.99 a<sub>w</sub> (I = 44 % và I = 81%). Kết quả nghiên cứu này cung cấp số liệu cho các nhà sản xuất lúa tham khảo để áp dụng trong quá trình bảo quản lúa ■

#### **Lời cảm ơn:**

**Cảm ơn Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh và Khoa Công nghệ Thực phẩm đã hỗ trợ kinh phí, trang thiết bị và tạo các điều kiện thuận lợi để nhóm hoàn thành đề tài theo đúng tiến độ và tốt nhất.**

#### **TÀI LIỆU THAM KHẢO:**

1. Bhat, R., Rai, R. V., Karim, A. A. (2010). Mycotoxins in food and feed: present status and future concerns. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9(1), 57-81.
2. Castegnaro, M., Wild, C. P. (1995). IARC activities in mycotoxin research. *Natural Toxins*, 3(4), 327-331.
3. Cendoya, E., del Pilar Monge, M., Chiacchiera, S. M., Farnochi, M. C., Ramirez, M. L. (2018). Influence of water activity and temperature on growth and fumonisin production by *Fusarium proliferatum* strains on irradiated wheat grains. *International Journal of Food Microbiology*, 266, 158-166.
4. Craufurd, P., Prasad, P., Waliyar, F., Taheri, A. (2006). Drought, pod yield, pre-harvest *Aspergillus* infection and aflatoxin contamination on peanut in Niger. *Field Crops Research*, 98(1), 20-29.
5. Dixon, N. M., Kell, D. B. (1989). A review—the inhibition by CO<sub>2</sub> of the growth and metabolism of microorganisms. *Journal of Applied Bacteriology*, 67, 109-136.
6. Hồ, Đ.H. (2012). Cây lúa trong hệ thống phân loại thực vật. Truy cập tại: <http://worldrices.blogspot.com/2012/03/cay-lua-trong-he-thong-phan-loai-thuc.html>.
7. Gallo, A., Solfrizzo, M., Epifani, F., Panzarini, G., Perrone, G. (2016). Effect of temperature and water activity on gene expression and aflatoxin biosynthesis in *Aspergillus flavus* on almond medium. *International Journal of Food Microbiology*, 217, 162-169.
8. Gonçalves, A., Gkrillas, A., Dorne, J., Dall' Asta, C., Palumbo, R., Lima, N., . . . Giorni, P. (2019). Pre-and postharvest strategies to minimize mycotoxin contamination in the rice food chain. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 18(2), 441-454.

9. General Statistics Office Of Vietnam (2021). Agriculture Forestry and Fishing. Retrieved from: <https://www.gso.gov.vn/>
10. Hiền, G., KIM, G., Hòa, T. T., Chi, L. T. L. (2006). *Vi sinh vật nhiễm tạp trong lương thực - thực phẩm*. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
11. Kebede, H., Abbas, H. K., Fisher, D. K., Bellaloui, N. (2012). Relationship between aflatoxin contamination and physiological responses of corn plants under drought and heat stress. *Toxins*, 4(11), 1385-1403.
12. Kumar, D., Kalita, P. (2017). Reducing postharvest losses during storage of grain crops to strengthen food security in developing countries. *Foods*, 6(1), 8.
13. Kushiro, M. (2015). Historical review of researches on yellow rice and mycotoxigenic fungi adherent to rice in Japan. *JSM Mycotoxins*, 65(1), 19-23.
14. Magan, N., Lacey, J. (1984). Effect of temperature and pH on water relations of field and storage fungi. *Transactions of the British Mycological Society*, 82(1), 71-81.
15. Marin, S., Sanchis, V., Magan, N. (1995). Water activity, temperature, and pH effects on growth of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates from maize. *Canadian journal of microbiology*, 41(12), 1063-1070.
16. Massey, T. E., Stewart, R. K., Daniels, J. M., Liu, L. (1995). Biochemical and molecular aspects of mammalian susceptibility to aflatoxin B1 carcinogenicity. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 208(3), 213-227.
17. Nelson, P. E., Burgess, L., Summerell, B. (1990). Some morphological and physiological characters of *Fusarium* species in sections *Liseola* and *Elegans* and similar species. *Mycologia*, 82(1), 99-106.
18. Phan, L. T. K., Nguyen, H. X., De Saeger, S., Jacxsens, L., Eeckhout, M., Devlieghere, F. (2022). Predictive modelling of the radial growth of *Aspergillus flavus* and *Fusarium proliferatum* on paddy and white rice (*Oryza sativa*). *International Journal of Food Microbiology*, 109743.
19. Reddy, K., Reddy, C., Muralidharan, K. (2009). Detection of *Aspergillus* spp. and aflatoxin B1 in rice in India. *Food Microbiology*, 26(1), 27-31.
20. Reddy, K. R., Farhana, N. I., Salleh, B. (2011). Occurrence of *Aspergillus* spp. and aflatoxin B1 in Malaysian foods used for human consumption. *Journal of Food Science*, 76(4), T99-T104.
21. Samapundo, S., De Meulenaer, B., Atukwase, A., Debevere, J., Devlieghere, F. (2007). The influence of modified atmospheres and their interaction with water activity on the radial growth and fumonisin B1 production of *Fusarium verticillioides* and *F. proliferatum* on corn. Part I: The effect of initial headspace carbon dioxide concentration. *International Journal of Food Microbiology*, 114(2), 160-167.
22. Stubblefield, R., Shotwell, O., Shannon, G. (1968). Aflatoxins B1, B2, G1, and G2: Separation and purification. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 45(10), 686-688.
23. Trung, T. S., Bailly, J., Querin, A., Le Bars, P., Guerre, P. (2001). Fungal contamination of rice from south Vietnam, mycotoxinogenesis of selected strains and residues in rice. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 152(7), 555-560.
24. Wolfe, S. (1980). Use of CO<sub>2</sub>-and CO<sub>2</sub>-enriched atmospheres for meats, fish, and produce. *Food Technology*, 34, 55-58.
25. Yogendrarajah, P., Vermeulen, A., Jacxsens, L., Mavromichali, E., De Saeger, S., De Meulenaer, B., Devlieghere, F. (2016). Mycotoxin production and predictive modelling kinetics on the growth of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* isolates in whole black peppercorns (*Piper nigrum* L.). *International Journal of Food Microbiology*, 228, 44-57.

**Ngày nhận bài: 5/7/2022**

**Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 24/7/2022**

**Ngày chấp nhận đăng bài: 16/8/2022**

Thông tin tác giả:

1. PHAN THỊ KIM LIÊN<sup>1</sup>

2. PHẠM THỊ ANH THU<sup>1</sup>

3. TRẦN HOÀNG ĐIỂM QUỲNH<sup>1</sup>

4. BÙI MINH NHẬT<sup>1</sup>

5. NGUYỄN THỊ KIM XUYẾN<sup>1</sup>

6. NGUYỄN PHƯƠNG TÙNG<sup>1</sup>

7. BÙI MINH NHẬT UYÊN<sup>1</sup>

8. ĐINH THỊ HẢI THUẬN<sup>1</sup>

9. NGUYỄN THỊ NGỌC THÚY<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh (HUFI)

## IMPACTS OF TEMPERATURE, WATER ACTIVITY AND CO<sub>2</sub> ON THE GROWTH OF *F. PROLIFERATUM* AND *A. FLAVUS* DURING THE RICE STORAGE PROCESS

- PHAN THI KIM LIEN<sup>1</sup>
- PHAM THI ANH THU<sup>1</sup>
- TRAN HOANG DIEM QUYNH<sup>1</sup>
- BUI MINH NHAT<sup>1</sup>
- NGUYEN THI KIM XUYEN<sup>1</sup>
- NGUYEN PHUONG TUNG<sup>1</sup>
- BUI MINH NHAT UYEN<sup>1</sup>
- DINH THI HAI THUAN<sup>1</sup>
- NGUYEN THI NGOC THUY<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ho Chi Minh City University of Food Industry

### ABSTRACT:

*F. proliferatum* and *A. flavus* usually occurred during rice production, especially during rice storage. This fungal infection was impacted by several factors such as temperature, water activity and CO<sub>2</sub>. This study assessed the impacts of temperature, water activity and CO<sub>2</sub> on the growth of *F. proliferatum* 01 (FP01) and *A. flavus* 01 (AF01). The study showed that at 0.80, 0.85 and 0.90 a<sub>w</sub>, both these fungal strains were not able to grow at all surveyed temperature levels. AF01 grew optimum at 0.99 a<sub>w</sub> - 35°C with average growth rate of 6.44 ± 0.02 cm<sup>3</sup>/day, while the optimal growing conditions of FP01 were 0.99 a<sub>w</sub> and 30°C with average growth rate of 4.97 ± 0.03 cm<sup>3</sup>/day. At CO<sub>2</sub> 17%, the maximum inhibition of AF01's growth rate at 0.95 a<sub>w</sub> - 30°C and 35°C was 76% and 80%, respectively. Meanwhile, at CO<sub>2</sub> 19%, the maximum inhibition of FP 01 growth rate at 25°C and 30°C - 0.99 a<sub>w</sub> were 44 and 81%, respectively. This study supplied valuable information for rice companies during rice storage.

**Keywords:** *F. proliferatum*, *A. flavus*, temperature, water activity, CO<sub>2</sub>.