

ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ VÀ HOẠT ĐỘ NƯỚC LÊN SỰ HÔ HẤP VÀ TỔN THẤT CHẤT KHÔ (DRY MATTER LOSSES-DML) TRÊN GẠO BỊ NHIỄM ASPERGILLUS FLAVUS

● PHAN THỊ KIM LIÊN - TRỊNH ĐỨC TUẤN - BÙI DUY NINH

TÓM TẮT:

Mục đích của nghiên cứu này là đánh giá ảnh hưởng của các điều kiện nhiệt độ (27°C, 30°C, 33°C) và các hoạt độ nước (0.93, 0.96, 0.99aw) lên tốc độ hô hấp (R) và tổn thất chất khô (DML) trên gạo đã nhiễm *Aspergillus flavus* (*A. flavus*). Kết quả nghiên cứu cho thấy, tại 30°C-0.99aw có ảnh hưởng nhiều nhất đến tốc độ tăng trưởng trung bình (15.2%/ngày), lượng CO₂ sinh ra trong quá trình hô hấp (1728 gCO₂/kg tại ngày thứ 10) và sự tổn thất chất khô đạt 56.7%. Qua nghiên cứu này cũng cho thấy, người dân nên áp dụng bảo quản gạo ở nhiệt độ và hoạt độ nước thấp để hạn chế nấm mốc tăng trưởng và sinh độc tố, cũng như sự hao hụt chất khô trong suốt quá trình bảo quản.

Từ khóa: Nhiệt độ, hoạt độ nước, *Aspergillus flavus*, gạo, tốc độ tăng trưởng, hô hấp, tổn thất chất khô (DML).

1. Giới thiệu

Gạo là một trong những lương thực chính ở Việt Nam. Tuy nhiên, tổn thất sau thu hoạch là một trong những vấn đề rất được chú trọng, đặc biệt là trong quá trình bảo quản. Sự tổn thất có thể lên đến 50 - 60% ở giai đoạn sau thu hoạch vì các kỹ thuật bảo quản chưa đúng cách [1]. Theo thống kê của FAO (Food and Agriculture Organization) có tới 25% nông sản trên thế giới bị hư hỏng bởi các loại nấm mốc, làm giảm 5÷10% giá trị kinh tế (FAO,2016). Đặc biệt, nấm mốc nhiễm lên gạo

có khả năng sinh độc tố gây ra các vấn đề nghiêm trọng cho sức khỏe của con người và động vật. Gạo thường bị nhiễm *A. flavus*, loài nấm này thường sinh độc tố Aflatoxins (AFs) khi nhiệt độ và độ ẩm thích hợp trên gạo. Theo cơ quan nghiên cứu ung thư quốc tế (IARC), AFs được xếp vào độc tố nhóm 1, gây ung thư gan ở những người bị viêm gan B mãn tính [2]. Trong nghiên cứu của Williams và cộng sự (2004), có khoảng 4.5 tỷ người sống ở các nước đang phát triển trên thế giới bị phơi nhiễm mãn tính với AFs [3]. Để giảm

khả năng phơi nhiễm AFs, Liên minh Châu Âu (EU) đã đưa ra giới hạn tối đa trên các loại ngũ cốc với AFs là 4ppb và 2ppb đối với AFB1 (Commission regulation (EC) no. 1881/2006). Tuy nhiên, gạo là lương thực chính của Việt Nam, vì vậy, dù nhiễm độc tố ở hàm lượng thấp cũng có thể gây nguy hiểm cho người tiêu dùng [4]. Nấm mốc gây nhiễm trước và sau khi thu hoạch làm ảnh hưởng đến chất lượng đặc biệt là ở các nước nhiệt đới [5, 6]. Vì vậy, trong nghiên cứu này, tiến hành khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ và hoạt độ nước lên sự hô hấp và sự tổn thất chất khô (DML) trên gạo bị nhiễm *A. flavus*.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Chuẩn nấm mốc và chuẩn bị dịch huyền phù

A. flavus được phân lập từ lúa và được xác định khả năng sinh độc tố AFB1 bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC MS/MS. Nấm mốc được nuôi cấy trên môi trường Potatose dextrose agar (PDA, Himedia, Ấn Độ) và được bảo quản ở nhiệt độ 4°C tại phòng thí nghiệm, Trường Đại học Công nghiệp thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh. *A. flavus* được nuôi cấy trên môi trường PDA ở 30°C trong 7 ngày. Bào tử nấm được thu và pha loãng trong PBS (Mỹ, độ tinh khiết 98%) và xác định số bào tử bằng buồng đếm hồng và nồng độ cuối cùng là 10⁶ bào tử/ml.

2.2. Thu thập mẫu gạo và xây dựng đường cong hấp thụ độ ẩm.

Gạo được sử dụng trong nghiên cứu này được lấy trực tiếp từ Công ty TNHH Cờ Đỏ, tỉnh Cần Thơ, vụ Hè Thu năm 2019. Hoạt độ nước (aw) ban đầu của gạo dao động từ 0.68- 0.69_{aw}. Gạo được tiến hành chiếu xạ với liều lượng 11 kGy (Trung tâm công nghệ sinh học TP. Hồ Chí Minh) để tiêu diệt bào tử và các vi sinh vật trên gạo và bảo quản tại nhiệt độ từ 0-4°C trong quá trình thực hiện [7].

Cho 50 gam gạo chiếu xạ vào các hũ có thể tích 150ml và thêm vào chính xác 12ml dung dịch nước - glycerol (Trung Quốc) có các hoạt độ nước từ 0.9- 0.995 sau đó để ở nhiệt độ 4°C trong 72 giờ để ổn định hoạt độ nước trong gạo. Kiểm tra lại hoạt độ nước bằng thiết bị đo hoạt độ nước EX-200 (Freund - Nhật Bản) ở nhiệt độ từ 24-26°C. Phương trình liên hệ giữa hoạt độ nước (aw) và lượng glycerol là: $Y = -0.0015X + 0.9948$ (trong đó, X là khối lượng glycerol trong 100g nước) với hệ số $R^2 = 0.9773$.

2.2. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ và hoạt độ nước lên sự hô hấp và tổn thất chất khô (DML) trên gạo nhiễm *A. flavus*

80g gạo đã điều chỉnh hoạt độ nước và cho vào các hũ thủy tinh với thể tích 350ml có nút bông, sau đó cho 50μl dịch bào tử có nồng độ 10-6 bào tử/ml vào chính giữa, mặt trên của hũ gạo và ủ ở nhiệt độ (27, 30, 33°C) và hoạt độ nước (0.90 - 0.99_{aw}). Mỗi điều kiện thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát lên sự hô hấp, sự tổn thất chất khô và sự tăng trưởng của lên sự tăng trưởng của *A. flavus* bằng cách đo hàm lượng CO₂ được sinh ra hằng ngày bằng máy đo (6600 headspace oxygen/ carbon dioxide analyzer) tại Viện Cơ điện, công nghệ sau thu hoạch và tính sự tăng trưởng của nấm mốc và tổn thất cơ chất khô (DML) theo công thức sau:

$$\%DML = \frac{R \times T}{14.7 \times 1000}$$

Trong đó: T là tổng thời gian khảo sát (240 giờ), 14.7 là số gam CO₂ sinh ra trên mỗi kilogram hạt tương ứng với 1% DML [8], R là tốc độ hô hấp mỗi giờ (mg/kg/h), được xác định bởi công thức sau đây:

$$R = \frac{\left(\frac{\%CO_2}{100}\right) \times V \times d}{m \times t}$$

Với V là thể tích không khí trong bình, d là mật độ CO₂ (1.977mg/ml), m và t là khối lượng của mẫu (0.08kg) và thời gian khảo sát (1 giờ).

2.3. Xử lý số liệu

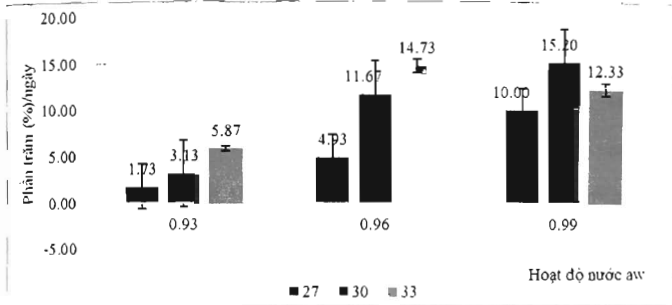
Số liệu được đánh giá bằng phần mềm excel 2019 và phân tích ANOVA 2 yếu tố.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Ảnh hưởng của hoạt độ nước và nhiệt độ lên tốc độ tăng trưởng trung bình của nấm mốc *A. flavus* trên gạo

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ và hoạt độ nước lên sự tăng trưởng của *A. flavus* được trình bày trong Hình 1. Kết quả thí nghiệm cho thấy, nhiệt độ và hoạt độ nước có ảnh hưởng lên tốc độ tăng trưởng trung bình của *A. flavus* sau 5 ngày ($p < 0.05$) (Hình 1). Nhìn chung, khi hoạt độ nước tăng từ 0.93 đến 0.99_{aw} thì tốc độ tăng trưởng trung bình ở tất cả các nhiệt độ đều tăng. Tại hoạt độ nước 0.93 và 0.96_{aw}, tốc độ tăng trưởng trung bình tăng khi nhiệt độ tăng từ 27 đến 33°C và nhiệt độ tối ưu cho sự tăng trưởng của *A. flavus* là 30°C tại hoạt độ nước 0.99_{aw} (15.2%/ngày).

Hình 1: Ảnh hưởng của nhiệt độ và hoạt độ nước lên tốc độ tăng trưởng của *A. flavus* sau 5 ngày bảo quản



3.2. Ảnh hưởng của hoạt độ nước và nhiệt độ lên sự hô hấp của gạo bị nhiễm *A. flavus*

Khi tiến hành lấy nhiễm nấm mốc *A. flavus* lên gạo thì tốc độ hô hấp tăng đáng kể qua các thời gian khảo sát ($p < 0.05$). Nhìn chung khi hoạt độ nước tăng từ 0.93-0.99 a_w , tổng lượng CO_2 sinh ra tăng theo thời gian ở tất cả các nhiệt độ khảo sát. Hoạt độ nước 0.93 a_w có tổng lượng khí CO_2 sinh ra thấp nhất ở tất cả các điều kiện nhiệt độ và hàm lượng khí này sinh ra nhiều nhất ở hoạt độ nước 0.99 a_w . Nhiệt độ 30°C, hoạt độ nước 0.99 a_w là điều kiện tối ưu nhất cho tốc độ hô hấp của nấm mốc trên gạo (1728 g CO_2 /kg tại ngày thứ 10) (Hình 2).

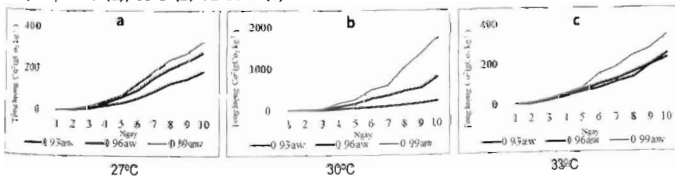
3.3. Ảnh hưởng của hoạt độ nước và nhiệt độ lên sự tổn thất chất khô (DML) của gạo bị nhiễm *A. flavus*

Sự tổn thất chất khô trong gạo khi tiến hành lấy nhiễm nấm mốc *A. flavus* tăng đáng kể so với

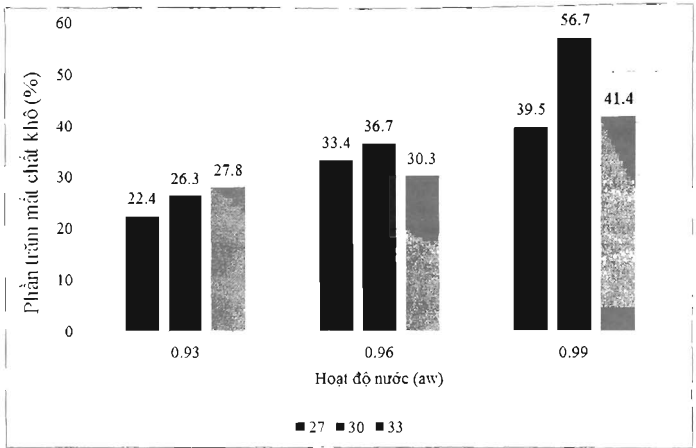
không lấy nhiễm mốc. Khi tăng hoạt độ nước thì sự tổn thất chất khô tăng dần là đạt giá trị cao nhất ở hoạt độ nước 0.99 a_w . Tại hoạt độ nước 0.93 a_w , sự tổn thất chất khô là thấp nhất và tăng dần khi tăng nhiệt độ từ 27-33°C. Nhìn chung, sự tổn thất chất khô cao nhất ở nhiệt độ 30°C và hoạt độ nước 0.99 a_w (56.7 %DML) sau đó giảm dần ở các nhiệt độ khảo sát khác (Hình 3).

Kết quả nghiên cứu này giống với các nghiên cứu trước đây. Các nghiên cứu trước đã báo cáo rằng, nhiệt độ ảnh hưởng lên sự tăng trưởng của nấm mốc [9-13]. Các nghiên cứu này cho rằng sự tăng trưởng của nấm mốc ở nhiệt độ 6-46°C và tối ưu nhất ở khoảng nhiệt độ 35-38°C. Đối với hoạt độ nước, hoạt độ nước ảnh hưởng rất lớn đến sự tăng trưởng của nấm mốc hơn so với nhiệt độ. Theo tác giả Niles và cộng sự (1985), *A. flavus* không tăng trưởng ở nhiệt độ 20°C ở 0.85 a_w trong suốt 30 ngày

Hình 2: Tổng lượng khí CO_2 được sinh ra trên gạo nhiễm nấm *A. flavus* ở nhiệt độ 27°C (a), 30°C (b) và 33°C (c)



Hình 3: Ảnh hưởng của nhiệt độ và hoạt độ nước lên sự tổn thất chất khô (DML) trong gạo có nhiễm mốc *A. flavus*



[14]. Tuy nhiên, tăng trưởng tốt trên gạo vì có nhiều tinh bột (Reddy và cộng sự, 2009) [15]. Trên môi trường này, chúng hình thành khuẩn lạc nhanh và gây ra tổn thất chất khô (DML) sẽ tăng cao đặc biệt trong điều kiện hoạt độ nước và nhiệt độ lý tưởng (ở 30°C và 0.95_{aw}). Theo Martin Castano (2017), nấm mốc tăng trưởng nhanh hay chậm phụ thuộc nhiều vào cơ chất và điều kiện môi trường tăng trưởng như ở nhiệt độ 25oC và 0.95_{aw} tăng trưởng nhanh hơn so với 30°C và 0.95_{aw} ở trên lúa vì nấm mốc là loài ưa nhiệt trung bình (Mesophilic fungal species)[16]. Hơn nữa, theo Martin Castano (2017), trên gạo nấm mốc tăng trưởng và hô hấp tăng gấp 2 lần ở nhiệt độ 30°C ở hoạt độ nước không được điều chỉnh[16]. Điều này có thể do cạnh tranh dinh dưỡng giữa các loài nấm mốc hiện diện trong gạo (Magan and Aldred, 2007)[17]. Trong thí nghiệm này, có mối tương quan lớn giữa sự sinh trưởng của nấm mốc trong quá trình bảo quản và tỉ lệ hao hụt chất khô. Sự hao hụt của chất khô sẽ ảnh hưởng tới chất lượng của gạo. Trong nghiên cứu này chỉ ra rằng, sự sinh trưởng của nấm mốc tăng sẽ dẫn đến tăng sự tổn thất chất khô càng

tăng DML. Theo Martin (2017), hàm lượng CO₂ được sinh ra tăng lên khi nhiệt độ ẩm và hoạt độ nước cao (trên gạo bị nhiễm nấm mốc). Khi hô hấp tăng lên thì sự tổn thất chất khô cũng tăng trên gạo là 21% và lúa là 3.5% [18]. Theo tác giả này, 85.3% loài *A. flavus* được phân lập trên lúa và gạo đều sinh ra độc tố AFB1 với hàm lượng 2.5-1979.6 µg/kg và sự tổn thất chất khô này tăng lên khi gạo và lúa bị nhiễm *A. flavus* ở nhiệt độ và độ ẩm cao. Tỉ lệ tổn thất chất khô (% DML) ở 30°C và 0.95_{aw} là 15-20%. Tác giả này cũng cho rằng, tất cả những mẫu gạo ủ với loài nấm mốc này có hàm lượng AFB1 cao hơn giới hạn cho phép của châu Âu ở các loại ngũ cốc khác và các sản phẩm có nguyên liệu từ ngũ cốc (=2 µg/kg), thậm chí khi tỉ lệ phần trăm sự tổn thất chất khô rất thấp 0.2% thì hàm lượng độc tố rất cao ở các loại ngũ cốc. Nguy cơ nhiễm độc tố nấm mốc trong gạo do quá trình sản xuất và chế biến và thông qua việc đo tỉ lệ hô hấp có thể được sử dụng để dự đoán nguy cơ nhiễm AFB1 trong các loại lương thực như gạo. Hàm lượng độc tố trên gạo cao hơn trên lúa vì hàm lượng dinh dưỡng cao [19]. Vì vậy, cần tăng cường

nguyên cứu để tăng độ an toàn cho gạo trong quá trình bảo quản. Qua nghiên cứu này cũng cho thấy, người dân nên áp dụng bảo quản lúa thay cho bảo quản gạo để hạn chế nấm mốc tăng trưởng và sinh độc tố trong suốt quá trình bảo quản.

4. Kết luận

Tốc độ tăng trưởng trung bình của *A. flavus* bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ và hoạt độ nước trong suốt quá trình ủ và ở 30°C-0.99_{a_w} là 15.2%/ngày. Nhiệt độ và hoạt độ nước đều ảnh hưởng lên quá trình

hỗ hấp, sự tổn thất chất khô (DML) trên gạo bị nhiễm *A. flavus* trong suốt quá trình bảo quản. Ở 30°C, 0.99_{a_w}, lượng CO₂ sinh ra tại ngày thứ 10 đạt 1728 gCO₂/kg; tổng sự tổn thất chất khô là 56.7%. Qua nghiên cứu này cũng cho thấy, người dân nên áp dụng bảo quản gạo ở nhiệt độ và hoạt độ nước thấp để hạn chế nấm mốc tăng trưởng và sinh độc tố cũng như sự hao hụt chất khô trong suốt quá trình bảo quản ■

Lời cảm ơn:

Trường Đại học Công nghiệp thực phẩm TP. Hồ Chí Minh đã hỗ trợ toàn bộ kinh phí cũng như các dụng cụ, thiết bị để nhóm hoàn thành đề tài nghiên cứu tốt nhất có thể.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. D. Künar and P. Kalita, "Reducing postharvest losses during storage of grain crops to strengthen food security in developing countries," *Foods*, vol. 6, p. 8, 2017.
2. J. D. Groopman, T. W. Kensler, and C. P. Wild, "Protective interventions to prevent aflatoxin-induced carcinogenesis in developing countries," *Annu. Rev. Public Health*, vol. 29, pp. 187-203, 2008.
3. I. Taylor and P. Williams, *Africa in International Politics: External involvement on the continent*: Routledge, 2004.
4. P. Paranagama, K. Abeysakera, K. Abeywickrama, and L. Nugalyadde, "Fungicidal and anti-aflatoxinogenic effects of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (lemongrass) against *Aspergillus flavus* Lmk. isolated from stored rice," *Letters in Applied Microbiology*, vol. 37, pp. 86-90, 2003.
5. N. Oliver, F. Flores-Mangas, D. Howard, E. Lang, R. Sanchez, M. Sinclair, et al., "Mobile, personal, and non-invasive health monitoring and analysis system," ed: Google Patents, 2007.
6. A. Medina and N. Magan, "Temperature and water activity effects on production of T-2 and HT-2 by *Fusarium langsethiae* strains from north European countries," *Food Microbiology*, vol. 28, pp. 392-398, 2011.
7. K. Mylona and N. Magan, "Fusarium langsethiae: Storage environment influences dry matter losses and T2 and HT-2 toxin contamination of oats," *Journal of stored products research*, vol. 47, pp. 321-327, 2011.
8. J. Steele, *An Essay Towards Establishing the Melody and Measure of Speech 1775: A Scolar Press Facsimile*: Scolar Press, 1969.
9. N. Davis, J. Searcy, and U. Diener, "Production of ochratoxin A by *Aspergillus ochraceus* in a semisynthetic medium," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 17, pp. 742-744, 1969.
10. M. Northolt, C. Verhulsdonk, P. S. S. SOENTORO, and W. Puulsch, "Effect of water activity and temperature on aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*," *Journal of milk and food technology*, vol. 39, pp. 170-174, 1976.
11. D. Schindler, "Evolution of phosphorus limitation in lakes," *Science*, vol. 195, pp. 260-262, 1977.
12. M. Grumet and S. Lin, "A platelet inhibitor protein with cytochalasin-like activity against actin polymerization in vitro," *Cell*, vol. 21, pp. 439-444, 1980.
13. M. Faraj, J. Smith, and G. Harran, "Interaction of water activity and temperature on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* in irradiated maize seeds," *Food Additives & Contaminants*, vol. 8, pp. 731-736, 1991.
14. S. J. McCorkell and N. L. Niles, "Fine-needle aspiration of catecholamine-producing adrenal masses: a possibly fatal mistake," *American Journal of Roentgenology*, vol. 145, pp. 113-114, 1985.

15. S. Girisham and S. Reddy, "Studies on microbial transformation of meloxicam by fungi," *Journal of microbiology and biotechnology*, vol. 19, pp. 922-931, 2009.
16. S. M. Castañó, A. Medina, and N. Magan, "Comparison of dry matter losses and aflatoxin B1 contamination of paddy and brown rice stored naturally or after inoculation with *Aspergillus flavus* at different environmental conditions," *Journal of Stored Products Research*, vol. 73, pp. 47-53, 2017.
17. N. Magan and D. Aldred, "Why do fungi produce mycotoxins?," in *Food Mycology*, ed: CRC Press, 2007, pp. 135-148.
18. F. M. Martin, S. Uroç, and D. G. Barker, "Ancestral alliances: plant mutualistic symbioses with fungi and bacteria," *Science*, vol. 356, p. eaad4501, 2017.
19. S. A. Ghabrial, J. R. Castón, D. Jiang, M. L. Niberti, and N. Suzuki, "50-plus years of fungal viruses," *Virology*, vol. 479, pp. 356-368, 2015.

Ngày nhận bài: 23/9/2019

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 3/10/2019

Ngày chấp nhận đăng bài: 13/10/2019

Thông tin tác giả:

ThS. PHAN THỊ KIM LIÊN

TRỊNH ĐỨC TUẤN

BUI DUY NINH

Trường Đại học Công nghiệp thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh

EFFECTS OF TEMPERATURE AND WATER ACTIVITIES ON RESPIRATORY AND DRY MATTER LOSSES (DML) ON ASPERGILLUS FLAVUS CONTAMINATED RICE

● Master. **PHAN THI KIM LIEN**

● **TRINH DUC TUAN**

● **BUI DUY NINH**

Ho Chi Minh City University of Food Industry

ABSTRACT:

This study is to evaluate effects of temperatures (27, 30, 33°C) and water activities (0.93, 0.96, 0.99aw) on the respiratory (R) and dry matter losses (DML) on *Aspergillus flavus* (*A. flavus*) contaminated rice. The result shows that at 30°C and 0.99aw there was significant effect on fungal growth rate and the maximum growth rate was 15.2%/day. In addition, the CO₂ level produced during respiratory was 1728 gCO₂/kg at 10th day and dry matter losses (DML) was 56.7%. This study also shows that rice should be stored in low temperatures and water activities to avoid fungal growth and mycotoxin production during the rice storage.

Từ khóa: Temperature, water activity, *Aspergillus flavus*, rice, growth rate, respiratory, dry matter losses (DML).