

XÂY DỰNG QUY TRÌNH SẢN XUẤT GIỐNG KHỞI ĐỘNG CHO SẢN XUẤT CHAO TỪ NẤM MỐC *Mucor elegans*

Lê Minh Nguyệt*, Phan Thị Phương Thảo

Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

Email*: lmnguyet@hua.edu.vn

Ngày gửi bài: 29.05.2012

Ngày chấp nhận: 15.09.2012

TÓM TẮT

Giống khởi động là nguồn cung cấp vi sinh vật thuần chủng để lên men có kiểm soát nhằm sản xuất ra các sản phẩm lên men truyền thống có chất lượng ổn định và đảm bảo an toàn. Trong giống khởi động từ nấm mốc có chứa các bào tử nấm mốc và hệ các enzyme thủy phân được tạo thành trong quá trình nấm mốc sinh trưởng. Thí nghiệm này đã xác định được các điều kiện nuôi cấy thích hợp cho sự tạo thành thành bào tử và sinh tổng hợp enzym protease của nấm mốc *Mucor elegans* nhằm xây dựng quy trình sản xuất giống khởi động từ loại nấm mốc này phục vụ cho sản xuất chao (đậu phụ lên men). Cụ thể là đã xác định được loại nguyên liệu thích hợp cho sản xuất giống khởi động từ nấm mốc *Mucor elegans* là bột đậu tương; tỷ lệ phối trộn với bột gạo là 50/50.

Từ khoá: Giống khởi động, chao (đậu phụ lên men), *Mucor elegans*.

Manufacturing Protocol for the Starter Culture from Mold *Mucor elegans*

ABSTRACT

Starter culture is a source of pure microorganisms that are used for controlled fermentation to produce traditional fermented products with high quality, stability, and safety. The starter culture derived from mold contains spores and hydrolytic enzymes. This study was conducted to determine the optimal culture conditions for spore formation and the protease biosynthesis of mold *Mucor elegans*, to set up a manufacturing protocol for the starter culture that can be applied for producing the fermented soybean product "Chao". It was identified that the medium with soybean meal and rice flour in a 50/50 ratio was the best for start culture production.

Keywords: Chao (Fermented soybean product), *Mucor elegans*, starter culture.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Để sản xuất chao (đậu phụ lên men) thường sử dụng giống khởi động từ một số giống nấm mốc: *Mucor*, *Rhizopus*, *Actionomucor*... đây là các giống nấm mốc có màu trắng đục, trắng ngà không làm ảnh hưởng tới màu sắc của sản phẩm; hệ sợi nấm mảnh nhưng dài có khả năng tạo thành một lớp màng mỏng xung quanh miếng đậu chao, có tác dụng giữ hình dáng miếng chao tốt (Nguyễn Hữu Phúc, 1998); có khả năng sinh enzym protease; chỉ hình thành bào tử sau một khoảng thời gian nuôi cấy nhất định... Tuy nhiên, các loài nấm mốc thuộc giống *Actionomucor* thường chỉ thích hợp với nhiệt độ môi trường tương đối thấp (~ 18 - 20°C), do đó chỉ sử dụng được các loài nấm mốc này ở những

khoảng thời gian nhất định trong năm. Các loài *Rhizopus* rất nhanh hình thành bào tử, bào tử lại có màu đen đậm do đó ít nhiều ảnh hưởng tới màu sắc của sản phẩm, do nó có ngưỡng nhiệt độ thích hợp rất rộng (20 - 35°C) người ta chỉ sử dụng các loài nấm mốc *Rhizopus* vào mùa hè. Giống nấm mốc *Mucor* thường được lựa chọn hơn cả vì nó khắc phục được nhược điểm của cả 2 giống nấm mốc trên. Các loài nấm mốc *Mucor* thường sử dụng trong sản xuất chao là *Mucor elegans*, *Mucor sivatius*, *Mucor subtilis*, trong đó *Mucor elegans* thường được sử dụng nhất (Han & cs., 2001; Nout and Aidoo, 2002). Nghiên cứu này nhằm xác định các điều kiện nuôi cấy tối ưu để xây dựng quy trình sản xuất giống khởi động cho quá trình sản xuất chao (đậu phụ lên men) từ nấm mốc *Mucor elegans*.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Chủng nấm mốc *Mucor elegans* đã được phân lập từ bánh men rượu, sau đó được gửi định danh bằng phương pháp sinh học phân tử tại Phòng thí nghiệm về Nấm học, trường Đại học Catholique de Louvain, Vương quốc Bỉ (MUCL).

Điều kiện tiến hành thí nghiệm ban đầu

100g nguyên liệu được khử trùng và làm chín có độ ẩm 55% trải thành lớp mỏng 3cm trên khay inox, được làm nguội và tiếp giống bằng cách dùng xylanh hút 2ml hỗn dịch bào tử giống (3.10^6 bào tử/ml) phun lên lớp nguyên liệu rồi trộn đều, nhiệt độ nuôi cấy là 30°C , thời gian nuôi cấy là 48h, không đảo trộn. Các chỉ tiêu theo dõi là: Hoạt độ enzym protease, số lượng bào tử và trạng thái hệ sợi nấm mốc.

Phương pháp nghiên cứu

Để nghiên cứu ảnh hưởng của nguồn cơ chất đối với khả năng sinh tổng hợp enzym protease và khả năng sinh bào tử của nấm mốc *Mucor elegans* nhằm tìm ra nguồn cơ chất thích hợp nhất cho sản xuất giống khởi động, chúng tôi tiến hành thí nghiệm trên bốn loại môi trường khác nhau là bột gạo, bột sắn, bột đậu tương và bột ngô, các loại bột được bổ sung 15% trấu nhằm tạo độ thoáng khí.

Sử dụng phương pháp Anson cải tiến để xác định hoạt lực của enzyme protease trong chế phẩm enzyme thô (Lê Thanh Mai và cs., 2005). Xác định số lượng bào tử của nấm mốc bằng phương pháp trực tiếp sử dụng buồng đếm Gorjaev - Thom (Nguyễn Thành Đạt và cs., 1990). Xác định số lượng bào tử sống bằng phương pháp gián tiếp: nuôi và đếm số khuẩn lạc trên môi trường PDA (Nguyễn Thành Đạt và cs., 1990). Xử lý số liệu bằng phần mềm Excel.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nguồn cơ chất cảm ứng đến khả năng sinh tổng hợp enzyme protease và khả năng sinh bào tử của nấm mốc *Mucor elegans*

Khả năng sinh enzyme protease của nấm mốc *Mucor elegans* trên môi trường cơ chất khác nhau là khác nhau ở mức ý nghĩa $\alpha = 5\%$ (Bảng 1). Khả năng sinh enzyme protease của nấm mốc *Mucor elegans* đạt cao nhất khi nuôi cấy trên môi trường đậu tương (1,05 đv/g), tiếp theo là khi nuôi cấy trên môi trường ngô và gạo. Trên môi trường bột sắn khả năng sinh tổng hợp protease của nấm mốc *Mucor elegans* thấp nhất (0,53 đv/g). Cùng với sự tạo thành enzyme protease của nấm mốc thì khả năng sinh bào tử của chúng là điều rất quan trọng trong việc sản xuất giống. Qua bảng 1 chúng ta nhận thấy khả năng tạo bào tử của nấm mốc *Mucor elegans*

Bảng 1. Ảnh hưởng của nguồn cơ chất đến khả năng sinh tổng hợp enzyme protease và khả năng sinh bào tử của nấm mốc *Mucor elegans*

Công thức	Hoạt độ enzyme (đv/g)	Số lượng bào tử/g	Trạng thái hệ sợi nấm trên nguyên liệu
CT 1.1	0,88 ^b	$2,1.10^6$	Sợi nấm màu trắng, bông xốp, phát triển mạnh. Xuất hiện nhiều bào tử.
CT 1.2	0,53 ^d	$1,2.10^6$	Sợi nấm màu trắng, mọc thưa, phát triển kém. Trên bề mặt khối nguyên liệu bắt đầu xuất hiện bào tử.
CT 1.3	0,68 ^c	$1,8.10^6$	Sợi nấm màu trắng, phát triển kín bề mặt khối nguyên liệu. Xuất hiện bào tử.
CT 1.4	1,05 ^a	$2,8.10^6$	Sợi nấm màu trắng hơi ngả xám nhạt, bông xốp, phát triển mạnh kín bề mặt khối nguyên liệu. Xuất hiện nhiều bào tử.
LSD _{0,05}	0,016		

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ cái giống nhau thì không khác nhau có nghĩa ở mức ý nghĩa $\alpha = 5\%$.
CT1.1: Bột ngô; CT1.2: Bột sắn; CT1.3: Bột gạo; CT1.4: Bột đậu tương;

khi nuôi cấy trên môi trường bột đậu tương là cao nhất ($2,8.10^6$ bào tử/g) và thấp nhất là khi nuôi cấy trên môi trường bột sắn ($1,2.10^6$ bào tử/g). Quan sát trạng thái của nấm mốc đã cho thấy được sự phát triển hệ sợi bên ngoài của chúng tương đối tốt trên môi trường đậu tương cũng như. Trên các môi trường bột ngô, trên môi trường còn lại kém hơn.

Thí nghiệm trên cho thấy rằng môi trường đậu tương là môi trường thích hợp nhất cho sự tổng hợp enzyme protease và khả năng sinh bào tử của nấm mốc *Mucor elegans* và đậu tương đã được chọn làm nguồn cơ chất cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu

Khả năng tổng hợp sinh khối của vi sinh vật không những chỉ phụ thuộc vào mỗi nguồn nitơ mà còn phụ thuộc vào cả tỷ lệ cacbon và nitơ trong môi trường. Tỷ lệ này thích hợp sẽ tạo cho nấm mốc khả năng trao đổi chất, khả năng tích tụ cao các sản phẩm sinh tổng hợp và đặc biệt là sinh bào tử cao. Do đó, ở thí nghiệm này chúng tôi phối trộn bột gạo và bột đậu tương theo các tỷ lệ khác nhau.

Qua bảng 2 chúng ta thấy khả năng sinh bào tử của nấm mốc *Mucor elegans* khi nuôi cấy trên môi trường 50% bột gạo và 50% bột đậu tương là cao nhất ($3,3.10^6$ bt/g). Quan sát trạng thái của hệ sợi nấm thấy rằng hệ sợi nấm ở các công thức nuôi cấy có bổ sung bột gạo sinh khối của sợi nấm dài hơn, phát triển tốt hơn so với các công thức nuôi cấy ở thí nghiệm trước.

Từ kết quả thí nghiệm trên cho thấy môi trường nuôi cấy với tỷ lệ 50% bột gạo và 50% bột đậu tương là môi trường thích hợp cho sự sinh bào tử và khả năng tổng hợp enzyme protease của nấm mốc *Mucor elegans*.

3.3. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy

Để nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian đến khả năng tổng hợp enzyme protease và khả năng hình thành bào tử của nấm mốc *Mucor elegans* chúng tôi tiến hành nuôi cấy chủng này trong những khoảng thời gian khác nhau tương ứng là 36h, 42h, 48h, 54h, 60h.

Thời gian nuôi cấy khác nhau thì khả năng sinh tổng hợp enzyme protease của nấm mốc *Mucor elegans* cũng khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 5\%$ (Bảng 3). Khả năng sinh enzyme cao nhất khi nuôi cấy trong thời gian là 48h ($1,12$ đv/g). Khi thời gian nuôi cấy tăng từ 36h đến 48h hoạt lực enzyme tăng nhưng kéo dài thời gian nuôi cấy đến 60h thì hoạt lực protease lại giảm một cách đáng kể.

Cũng qua bảng 3 cho thấy, lượng bào tử sinh ra tăng dần theo thời gian từ 36h đến 60h. Lượng bào tử sinh ra từ 36h đến 48h tăng rất chậm và đến 54h thì đột nhiên tăng rất nhanh sau đó lại tăng chậm đến 60h. Điều này có thể được giải thích là từ 36h đến 48h nấm mốc phát triển sinh khối là chủ yếu, sinh bào tử ít, từ 48h đến 54h là thời gian mà nấm mốc phát triển sinh khối cực đại và chuyển sang giai đoạn phát triển bào tử là chủ yếu, vì vậy số lượng bào tử

Bảng 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu đến khả năng sinh bào tử và khả năng sinh tổng hợp enzyme protease của nấm mốc *Mucor elegans*

Công thức	Hoạt độ enzyme protease (đv/g)	Số lượng bào tử (bt/g)	Mô tả trạng thái mốc giống
CT2.1	0,51 ^a	$2,2.10^6$	Hệ sợi nấm dài, thưa, màu trắng Có bào tử
CT2.2	0,35 ^a	$3,3.10^6$	Hệ sợi nấm dài, rất dày, màu trắng bao phủ toàn bộ khối cơ chất Xuất hiện nhiều bào tử
CT2.3	0,99 ^b	$2,6.10^6$	Sợi nấm trắng, bao phủ kín khối cơ chất Có bào tử
LSD _{0,05}	0,85		

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có chữ cái giống nhau thì không khác nhau có ý nghĩa ở mức ý nghĩa $\alpha = 5\%$.
CT2.1: (40% bột gạo : 60% bột đậu tương); CT2.2: (50% bột gạo : 50% bột đậu tương); CT2.3: (60% bột gạo : 40% bột đậu tương).

Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến khả năng sinh tổng hợp enzyme protease và khả năng sinh bào tử của nấm mốc *Mucor elegans*

Thời gian (h)	Hoạt độ enzyme protease (đv/g)	Số lượng bào tử (bt/g)	Trạng thái hệ sợi nấm trên nguyên liệu
36	0,46 ^f	0,7.10 ⁶	Sợi nấm màu trắng, mọc rất thưa trên bề mặt cơ chất
42	0,62 ^d	1,3.10 ⁶	Sợi nấm màu trắng, mọc dày hơn, hệ sợi nấm bông hơn. Bắt đầu có bào tử.
48	1,12 ^a	3,3.10 ⁶	Sợi nấm màu trắng, phát triển mạnh phủ kín bề mặt khối cơ chất, hệ sợi nấm rất dày và bông xốp. Có nhiều bào tử.
54	0,94 ^b	3,8.10 ⁶	Sợi nấm màu trắng hơi ngả xám nhạt, bông xốp. Bào tử dày kín.
60	0,77 ^c	3,9.10 ⁶	Sợi nấm màu xám nhạt, sợi nấm bắt đầu xẹp xuống, không bông nữa. Bào tử dày kín.
LSD _{0,05}	0,025		

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ cái giống nhau thì không khác nhau có nghĩa ở mức ý nghĩa $\alpha = 5\%$.

tăng lên rất nhanh. Trong thời gian từ 54h đến 60h thì bào tử có tăng nhưng không nhiều. Quan sát trạng thái nấm mốc cho thấy rằng nấm mốc phát triển tốt bông xốp đến 54h còn thời gian lâu hơn thì đã có hiện tượng sợi nấm bắt đầu xẹp xuống và chuyển màu, đó như báo hiệu sự kết thúc của một chu trình sống.

Như vậy, khả năng sinh enzyme protease của nấm mốc khi nuôi cấy trong thời gian 48h là tốt nhất sau đó đến 54h nhưng do thí nghiệm nghiên cứu để sản xuất giống khởi động nên cần quan tâm hơn đến khả năng truyền lại giống sau này. Vì thế, cần đánh giá kĩ hơn về khả năng tạo bào tử của nấm mốc. Từ 54h đến 60h lượng bào tử tạo ra tương đối lớn và tăng rất

chậm nên để tiết kiệm thời gian và hiệu quả trong công việc, giống khởi động cần được sản xuất trong thời gian 54h.

3.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ giống cấy

Để nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ giống cấy vào đến khả năng sinh tổng hợp enzyme protease và khả năng tạo bào tử của nấm mốc của nấm mốc *Mucor elegans*, tiến hành cấy nấm mốc này với lượng giống mốc cấy vào khác nhau lần lượt là 1ml, 2ml, 3ml, 4ml hỗn dịch bào tử nấm mốc (3.10⁶ bào tử/ml)/100g cơ chất.

Với lượng giống cấy vào khác nhau thì khả năng sinh enzyme protease của nấm mốc *Mucor elegans* cũng khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 5\%$

Bảng 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ giống cấy đến khả năng sinh tổng hợp enzym protease và khả năng sinh bào tử của nấm mốc *Mucor elegans*

Lượng giống cấy (ml)	Hoạt độ enzyme protease (đv/g)	Số lượng bào tử/g	Trạng thái hệ sợi nấm trên nguyên liệu
1	0,76 ^d	1,7.10 ⁶	Sợi nấm màu trắng ngả xám nhạt, bông xốp. Nhiều bào tử đen.
2	1,13 ^b	3,8.10 ⁶	Sợi nấm màu trắng ngả xám nhạt, sợi nấm ngắn, phát triển kín cơ chất. Bào tử đen, dày kín
3	1,09 ^c	3,9.10 ⁶	Sợi nấm màu trắng ngả xám nhạt, sợi nấm ngắn, phát triển kín cơ chất. Bào tử đen, dày kín
4	1,21 ^a	4,1.10 ⁶	Sợi nấm màu trắng ngả xám nhạt, bông xốp, hệ sợi thưa. Nhiều bào tử đen.
LSD _{0,05}	0,009		

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ cái giống nhau thì không khác nhau có nghĩa ở mức ý nghĩa $\alpha = 5\%$.

(Bảng 4). Khả năng sinh enzyme protease cao nhất khi cấy lượng giống là 4ml hỗn dịch bào tử (1,21 U/g) và thấp nhất là khi cấy lượng giống mốc là 1ml hỗn dịch bào tử (0,76 U/g). Tỷ lệ giống cấy vào tăng thì hoạt độ protease cũng tăng. Điều này có thể được giải thích rằng nếu lượng giống cho vào càng nhiều thì số lượng bào tử sống càng lớn, hệ sợi nấm càng nhiều, lượng enzyme tổng hợp được càng nhiều. Mặt khác, số lượng mililit giống cấy vào càng nhiều làm tăng độ ẩm cho nguyên liệu vì thế sinh khối phát triển tốt hơn và tạo nhiều enzyme hơn.

Xét về khả năng tạo bào tử của nấm mốc *Mucor elegans*: Lượng bào tử sinh ra nhiều nhất là khi cấy lượng giống 4ml dung dịch bào tử vào ($4,1 \cdot 10^6$ bào tử/g) và thấp nhất là khi cấy lượng giống mốc là 1ml dung dịch bào tử nấm ($1,7 \cdot 10^6$ bào tử/g). Số lượng ml giống cấy vào tăng thì lượng bào tử tạo thành cũng tăng. Từ 1ml dịch bào tử tăng lên 2ml dịch bào tử thì lượng bào tử tăng lên rất nhiều nhưng khi tăng lên 3ml dịch bào tử thì lượng bào tử tạo thành tăng lên rất ít, tăng lên 4ml cũng vậy. Mức độ tăng bào tử sinh ra giảm như vậy có thể do lượng giống cấy vào tăng lên thì số cá thể nấm mốc nhiều hơn vì vậy lượng bào tử tạo ra lớn hơn và tăng rất nhanh. Nhưng tăng đến một mức độ nhất định thì khả năng tăng lại giảm dần do mật độ của chúng quá lớn gây hiệu ứng ức chế lẫn nhau.

Từ kết quả nghiên cứu về khả năng sinh enzyme protease và tạo bào tử của nấm mốc *Mucor elegans* để tiết kiệm lượng giống, đạt hiệu suất sản xuất và hiệu quả kinh tế chúng tôi đề xuất sử dụng lượng giống là 3ml dịch bào tử cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.5. Ảnh hưởng của độ dày môi trường nuôi cấy

Nấm mốc là loại vi sinh vật hô hấp hiếu khí, vì thế mức độ thoáng khí là một trong những ảnh hưởng quan trọng tới sự phát triển của chúng. Để nghiên cứu ảnh hưởng của mức độ thoáng khí trong môi trường nuôi cấy rắn đến khả năng sinh bào tử và tổng hợp enzym protease của nấm mốc *Mucor elegans*, chủng này được nuôi cấy trên các lớp môi trường có độ dày khác nhau lần lượt là 2cm, 3cm, 4cm và 5cm (Bảng 5).

Độ dày lớp nguyên liệu càng mỏng thì diện tích mặt thoáng càng lớn và ngược lại. Mặt thoáng rộng thì sự tiếp xúc của nấm mốc với môi trường không khí càng cao, sự hấp thụ oxy càng lớn, sự trao đổi chất diễn ra càng mạnh, sản phẩm tạo ra càng nhiều. Tuy nhiên, xét về hiệu quả kinh tế, chúng tôi chọn độ dày lớp nguyên liệu là 3cm cho các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 5. Ảnh hưởng của độ dày môi trường nuôi cấy đến khả năng sinh tổng hợp enzyme protease và khả năng sinh bào tử của nấm mốc *Mucor elegans*

Độ dày	Hoạt độ enzyme protease (đv/g)	Số lượng bào tử (bt/g)	Trạng thái hệ sợi nấm trên nguyên liệu
2cm	1,29 ^a	$4,1 \cdot 10^6$	Sợi nấm mọc dày nhất, bao phủ kín toàn bộ khối cơ chất Bào tử đen phủ kín bề mặt
3cm	1,31 ^a	$3,9 \cdot 10^6$	Sợi nấm mọc dày, bao phủ kín toàn bộ khối cơ chất Bào tử đen rất nhiều
4cm	0,96 ^c	$2,8 \cdot 10^6$	Sợi nấm ngắn, màu xám nhạt có xu hướng xẹp xuống Nhiều bào tử đen
5cm	0,71 ^d	$1,8 \cdot 10^6$	Sợi nấm màu xám nhạt, thưa thưa trên khối cơ chất Bào tử đen lốm đốm trên bề mặt khối cơ chất
LSD _{0,05}	0,027		

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có chữ cái giống nhau thì không khác nhau có ý nghĩa ở mức ý nghĩa $\alpha = 5\%$.

3.6. Ảnh hưởng của sự đảo trộn

Khi hệ sợi nấm phát triển rất mạnh trên bề mặt cơ chất rắn sẽ tạo thành bánh hoặc mảng khiến độ thoáng khí trong môi trường giảm, khi có tác động phá vỡ cấu trúc hệ sợi nấm dạng bánh hoặc mảng đó sẽ làm thay đổi trạng thái chung của khối nấm mốc. Chúng tôi tiến hành thí nghiệm theo dõi ảnh hưởng của sự đảo trộn môi trường trong quá trình nuôi cấy với 3 công thức, kết quả trình bày ở bảng 6.

Do cấu tạo hệ sợi nấm không phân nhánh, sợi nấm khí sinh phát triển dài, phát triển lan tràn, tạo bánh sau một thời gian phát triển sinh khối. Sau 24h nuôi cấy, hệ sợi nấm còn chưa phát triển chưa ổn định nên chưa tạo độ vững chắc vì vậy khi đảo trộn sẽ phá vỡ sự ổn định của cấu trúc hệ sợi, sau đó những sợi gãy đó tiếp tục phát triển một pha mới nên sẽ kéo dài thời gian sinh trưởng và phát triển, khả năng sinh tổng hợp enzyme có tăng lên so với khi không đảo trộn nhưng khả năng hình thành bào tử

giảm. Ở CT 6.3, lần đảo trộn thứ 2 sau 36h nuôi cấy và kết thúc thí nghiệm sau 54h, khi đó hệ sợi nấm bị phá vỡ cấu trúc lần thứ hai nên chưa đủ thời gian để nó phát triển ổn định sang một pha mới, vì vậy cả số lượng bào tử và khả năng hình thành enzyme đều giảm. Xét ở góc độ sản xuất giống khởi động, phương án không đảo trộn được lựa chọn để vừa thu được lượng bào tử lớn, vừa thu được chế phẩm có hoạt độ enzyme cao.

3.7. Ảnh hưởng của chế độ sấy

Giống khởi động thu được sau khi nuôi cấy có độ ẩm khoảng 55%, nếu chưa được sử dụng ngay, người ta thường đem sấy khô đến độ ẩm khoảng 8 - 10%, loại bỏ trấu rồi đựng trong các bao polyetylen hoặc giấy chống ẩm để dùng dần cho sản xuất. Thí nghiệm này được tiến hành với 4 công thức, một công thức ở chế độ sấy đông khô và 3 công thức ở tủ sấy thường với các mức nhiệt độ khác nhau, sấy đến khi mẫu đạt độ ẩm 10%. Mỗi lần sấy 2kg chế phẩm ướt.

Bảng 6. Ảnh hưởng của sự đảo trộn đến khả năng sinh tổng hợp enzyme protease và khả năng sinh bào tử của nấm mốc *Mucor elegans*

Công thức	Hoạt độ enzyme protease (đv/g)	Số lượng bào tử (bt/g)	Trạng thái hệ sợi nấm trên nguyên liệu
CT 6.1	1,15 ^a	4,0. 10 ⁶	Sợi nấm màu trắng bao phủ toàn bộ khối cơ chất Có nhiều bào tử đen
CT 6.2	1,57 ^b	2,7. 10 ⁶	Sợi nấm ngắn, màu trắng, mọc từng cụm Bào tử đen mọc dày đặc phủ kín bề mặt khối cơ chất
CT 6.3	0,86 ^c	1,6. 10 ⁶	Hệ sợi nấm màu trắng, ngắn, thưa thớt Bào tử đen lốm đốm
LSD _{0,05}	0,02		

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có chữ cái giống nhau thì không khác nhau có ý nghĩa ở mức ý nghĩa $\alpha = 5\%$
CT 6.1: Không đảo trộn; CT 6.2: Đảo trộn 1 lần sau 24h; CT 6.3: Đảo trộn 2 lần sau 24h và 36h

Bảng 7. Ảnh hưởng của chế độ sấy tới hoạt tính của enzyme protease và khả năng sống của bào tử nấm mốc *Mucor elegans*

Chế độ sấy (°C)	Hoạt độ enzyme protease (% hoạt độ so với trước khi sấy)	Số lượng bào tử (% số lượng bào tử sống so với trước khi sấy)
Đông khô (-45°C/15h)	95,79 ^a	37,46
35°C/31h	67,91 ^d	24,05
40°C/24h	72,12 ^b	22,78
45°C/20h	71,07 ^c	15,75
LSD _{0,05}	1,03	

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ cái giống nhau thì không khác nhau có nghĩa ở mức ý nghĩa $\alpha = 5\%$.

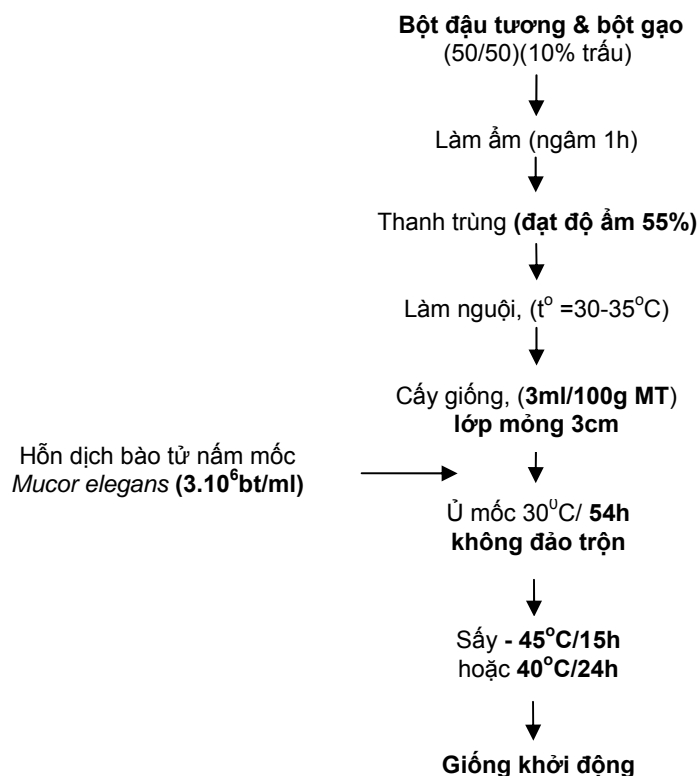
Nhiệt độ sấy khác nhau thì khả năng sống của bào tử cũng khác nhau. Lượng bào tử còn lại sau khi sấy nhiều nhất là ở chế độ sấy đông khô (37,46 %) và thấp nhất khi sấy ở nhiệt độ 45°C (15,75%) bằng tủ sấy thường. Khi sấy chế phẩm ở nhiệt độ 35 - 45°C bằng tủ sấy thường thì khi nhiệt độ càng tăng, khả năng sống của bào tử càng giảm mạnh (Bảng 7).

Do khi sấy đông khô, quá trình sấy được thực hiện ở nhiệt độ rất thấp (dưới -45°C) với áp suất chân không nên quá trình làm khô rất nhanh và hầu như không gây ảnh hưởng xấu đến hoạt tính của enzyme và sự sống của bào tử nấm mốc. Còn khi sấy ở tủ sấy thường, do nhiệt độ sấy cao, thời gian kéo dài, trong quá trình sấy enzyme vẫn tiếp tục hoạt động ở giai đoạn đầu của quá trình sấy nên ảnh hưởng đến hoạt tính của enzyme và đã làm giảm sự sống của bào tử, giảm khả năng nảy mầm của bào tử. Khi sấy ở nhiệt độ 35°C, nhiệt độ tương đối thấp và thời gian sấy lại kéo dài (31h), enzyme tiếp tục hoạt

động ở giai đoạn đầu của quá trình sấy nên nó ảnh hưởng đến hoạt tính enzyme nhưng ít ảnh hưởng đến sự sống của bào tử nấm mốc. Khi sấy ở nhiệt độ 45°C nhiệt độ cao hơn cùng với độ ẩm cao làm cho enzyme kém bền hơn, dễ bị mất hoạt tính hơn so với khi sấy ở nhiệt độ 40°C. Nhiệt độ cao cũng làm giảm khả năng nảy mầm của bào tử nấm mốc một cách đáng kể. Nhiệt độ 40°C không quá cao và thời gian sấy cũng không quá dài (24h) nên hoạt tính enzyme ít bị ảnh hưởng.

Từ kết quả phân tích ở bảng 7 chúng ta thấy rằng khi chế phẩm được sấy ở chế độ đông khô thì hoạt tính của enzyme protease và khả năng nảy mầm của bào tử là tốt nhất. Đối với tủ sấy thường thì sự nảy mầm của bào tử tốt nhất là khi sấy ở chế độ sấy 35°C, nhưng hoạt lực lại kém, tốn chi phí và thời gian, vì vậy nên sấy ở chế độ 40°C với tủ sấy thường.

Qua các kết quả thí nghiệm trên, chúng tôi đề xuất quy trình sản xuất giống khởi động từ nấm mốc *Mucor elegans* ở sơ đồ 1.



Sơ đồ 1. Quy trình sản xuất giống khởi động từ nấm mốc *Mucor elegans*

4. KẾT LUẬN

Trên cơ sở những kết quả nghiên cứu được, chúng tôi đưa ra các điều kiện nuôi cấy thích hợp cho quá trình sản xuất giống khởi động từ nấm mốc *Mucor elegans* như sau: Nguồn cơ chất thích hợp cho sản xuất giống khởi động từ nấm mốc *Mucor elegans* là bột đậu tương; tỷ lệ phối trộn với bột gạo là 50/50. Nguyên liệu được hấp khử trùng, làm nguội, trải thành lớp mỏng 3cm, tiếp giống bằng hỗn dịch bào tử có mật độ 3.10^6 bt/ml với tỷ lệ là 3ml dịch giống/100g môi trường nuôi cấy. Thời gian nuôi cấy là 54h không đảo trộn. Sau khi nuôi cấy thu được chế phẩm thô, nhằm bảo toàn hoạt lực enzym và bào tử sống của giống khởi động nên sấy đông khô (-45°C)/15h hoặc ở 40°C /24h bằng tủ sấy thường đến khi đạt độ ẩm là 10%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Thành Đạt, Nguyễn Duy Thảo, Vương Trọng Hào (1990). Thực hành vi sinh học. NXB Giáo Dục, Hà Nội.
- Lê Thanh Mai, Nguyễn Thị Hiền, Phạm Thu Thủy, Nguyễn Thanh Hằng, Lê Thị Lan Chi (2005). Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- Nguyễn Hữu Phúc (1998). Các phương pháp lên men thực phẩm truyền thống ở Việt Nam và các nước trong vùng. NXB Nông Nghiệp, Thành phố Hồ Chí Minh.
- Han B.-Z., Rombouts, F.M., Nout, M.J.R. (2001). A Chinese fermented soybean food. International Journal of Food Microbiology 65, p 1-10.
- Nout, M.J.R, & Aidoo, K.E (2002). Asian fungal fermented food. In H.D. Osiewacz (Ed.), The Mycota Vol. X. Industrial applications (p 23 - 47), Berlin: Springer-Verlag.