

## MÔ HÌNH HÓA VỚI CÁC LOẠI NẤM MỐC

Đào Thiện<sup>1\*</sup>, Trần Thanh Hòa<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Bích Thủy<sup>1</sup>, Trần Thị Lan Hương<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội*

<sup>2</sup>*Viện Công nghệ sinh học - Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội*

Email\*: dao.thien@hua.edu.vn; daothien1980@yahoo.com

Ngày gửi bài : 29.05.2012

Ngày chấp nhận : 12.08.2012

### TÓM TẮT

Mô hình hóa và dự đoán quá trình phát triển của nấm mốc nhằm mục đích đánh giá khả năng phát triển của các loại nấm mốc trên thực phẩm. Trong nhiều năm, các nghiên cứu đều tập trung vào mô hình hóa quá trình phát triển của các loại vi khuẩn gây bệnh trên thực phẩm. Nhưng gần đây vấn đề thực phẩm ô nhiễm bởi các loại nấm mốc đã rất được quan tâm, đặc biệt là một số loại nấm mốc có khả năng tổng hợp mycotoxin, chất độc đối với sức khỏe con người. Bài viết có mong muốn nêu lên khả năng sử dụng các mô hình nhằm dự đoán sự phát triển và nảy mầm của một số loại nấm mốc.

Từ khóa: Dự đoán, độc tố mycotoxin, nấm mốc, mô hình hóa, thực phẩm.

### Modelling for Growth of Mould

#### ABSTRACT

Predictive mycology aims at predicting fungal development in foods and raw products. For many years, most of the studies concerned food pathogenic bacteria. Recently, there is a growing concern about food contamination by moulds, especially strains responsible for mycotoxins production. This paper advocates the use of specific models for describing germination and growth of mould.

Keywords: Food, mycotoxin, modelling, mould, prediction.

#### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thống kê cho thấy thực phẩm có thể bị ô nhiễm trong nhiều công đoạn trước thu hoạch, sau thu hoạch và trước quá trình chế biến bởi các vi sinh vật gây bệnh như: *Salmonella serovas*, *Escherichia coli*, *Listeria spp*, *Bacillus cereus*... (Sakaridis và cs., 2011; Franz và van Bruggen, 2008; Leifert và cs., 2008; Harris và cs., 2006; Ingham và cs., 2006). Đặc biệt là các loại độc tố như: aflatoxins, ochratoxins, zearaleon, fumonisins, trichothecens, luteoskyrin, patulin... đây là những độc tố rất bền nhiệt không bị phân hủy sau quá trình chế biến, có nguồn gốc từ các loại nấm mốc *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*... gây bệnh ung thư cho người và có thể dẫn tới tử

vong (Frisvad và Thrane, 2004; Sweeney và Dobson, 1998). Độc tố mycotoxin gây ảnh hưởng tới sức khỏe con người như các vấn đề về dị tật bẩm sinh, não, gan và thận. Một số độc tố mycotoxin gây ảnh hưởng lên hệ thần kinh (Sweeney và Dobson, 1998). Năm 2010 hơn 50% các sản phẩm nông sản xuất khẩu bị loại bỏ bởi nguyên nhân độc tố mycotoxin vượt ngưỡng quy định tại châu Âu. Ngoài ra, nấm mốc còn làm thay đổi chất lượng nông sản, gây thối hỏng, theo thông 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. Riêng tại Việt Nam một nước có khí hậu nhiệt đới thiệt hại lên đến 15%-20% thu nhập của hộ nông dân hàng năm.

Trong ngành rau quả, thiệt hại do vi sinh vật gây ra chủ yếu bắt nguồn từ các loại nấm mốc. Hiện nay các loại nấm mốc gây hại rất đa dạng, trong đó phải kể đến *Penicillium* là một trong những loài nấm mốc phổ biến gây hỏng trên các loại trái cây (Alferez và cs., 2012). Các chủng nấm mốc thuộc họ *Penicillium* có khả năng phát triển ở nhiệt độ thấp vì vậy chúng thường được tìm thấy trên thực phẩm, trái cây bảo quản dưới điều kiện lạnh (Morales và cs., 2010). Các chủng *P. digitatum* và *P. italicum* xuất hiện trên các loại quả thuộc họ citrus (cam, quýt...) gây bệnh mốc xanh chiếm hơn 65% các hư hỏng trên quả và là bệnh sau thu hoạch gây hại nghiêm trọng trên các loại quả thuộc họ cam quýt (Alferez, và cs 2012). Các chủng nấm *Aspergillus flavus* và *Aspergillus parasiticus* thường lây nhiễm trên các loại ngũ cốc, lạc, hạt bông, cây đậu và đậu nành, và chúng bị nhiễm ngay cả trước khi thu hoạch, trong thu hoạch và sau thu hoạch nếu những loại nông sản thực phẩm không được bảo quản đúng cách. Các loại nấm từ đất cũng ảnh hưởng rất lớn đến chất lượng của các sản phẩm nông nghiệp như nấm thuộc họ *Botrytis cinerea*, *Trichoderma* spp, *mycorrhizal* và *mucor*, thường lây nhiễm trong quá trình thu hoạch quả và phát triển mạnh mẽ trong quá trình bảo quản trên một số loại quả như quả vải, quả thanh long...(Jiang và cs., 2002; Kinay và cs., 2005). Vì vậy, nghiên cứu về các loại nấm mốc gây hại là một vấn đề cấp thiết đối với ngành công nghiệp thực phẩm.

Mục đích của bài viết này nhằm nêu lên một hướng nghiên cứu đang được thực hiện trên thế giới và cũng hi vọng sẽ được phát triển tại Việt Nam trong thời gian tới. Cần nhấn mạnh rằng, độc tố mycotoxin là các hợp chất rất bền với nhiệt độ (chỉ bị phân hủy bởi nhiệt độ trên 250°C) nên một khi chúng được sản sinh thì rất khó để loại bỏ. Vì vậy, vấn đề đặt ra cần phải kiểm soát sự tạo thành của độc tố mycotoxin trước chế biến cũng như trong chuỗi sản xuất tiêu thụ nông sản-thực phẩm, thông qua việc dự đoán sự phát triển của các chủng nấm mốc, và cần xem xét như đây là một mối nguy hại sinh học.

## 2. DỰ ĐOÁN SỰ PHÁT TRIỂN CỦA VI SINH VẬT

Trong điều kiện nhất định của môi trường sống các loại vi sinh vật sẽ có những phản ứng đáp trả thể hiện bởi tốc độ phát triển của chúng và kết quả này được miêu tả dưới dạng các mô hình toán học đơn giản. Dựa vào các mô hình toán học này, chúng ta có thể ngoại suy ra phản ứng của vi sinh vật trong những điều kiện khác mà không cần tiến hành các nghiên cứu thực nghiệm (Ross và McMeekin, 1994).

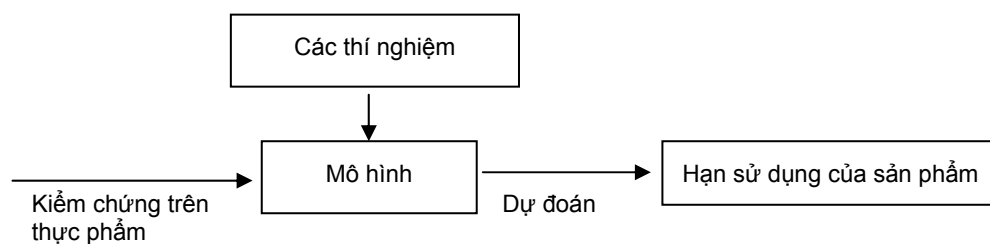
(1) Dự đoán những khả năng có thể xảy ra, cho biết độ an toàn và thời gian bảo quản của một sản phẩm cũng như xây dựng những sản phẩm mới đáp ứng yêu cầu về an toàn thực phẩm.

(2) Đánh giá một quá trình chế biến và là một cách tiếp cận với điểm phân tích và kiểm soát ngưỡng gây hại (HACCP).

(3) Nhận định khách quan về các sai sót trong quá trình kiểm soát và lưu trữ.

Các bước cần có để có thể nhận định được sự phát triển của một chủng vi sinh vật, thường bắt nguồn từ việc xác định các sinh vật nhiễm tạp và gây nên các hư hỏng trên thực phẩm. Tiếp theo, các vi sinh vật trên được nghiên cứu độc lập và cách tiếp cận được thể hiện theo hình 1. Trong miền thí nghiệm, giới hạn các thực nghiệm được tiến hành và đề xuất mô hình toán học thích hợp với chủng vi sinh vật nghiên cứu cho sự phát triển của chúng và được thể hiện bởi số lượng vi sinh vật ( $N$ ) trên một đơn vị khối lượng hoặc thể tích. Các mô hình này được phân chia gồm có các mô hình bậc một, hay chính là mô hình miêu tả động học của quá trình phát triển của vi sinh vật theo thời gian  $N=f(t)$  và mô hình bậc 2 mô tả ảnh hưởng của các yếu tố môi trường đến các thông số của mô hình bậc 1.

Sau khi các mô hình được thiết lập, bước quan trọng tiếp theo của phương pháp là đánh giá mô hình trên sản phẩm thực phẩm, bao gồm so sánh kết quả thử nghiệm được tìm thấy trong thực phẩm với những dự đoán của mô hình. Các dự đoán của mô hình có thể được sử dụng nhằm tránh sử lãng phí về thời gian và chi phí thí nghiệm.



**Hình 1. Quy trình thực hiện mô hình hóa sản phẩm**

### 3. MÔ HÌNH HÓA VỚI CÁC CHỦNG NẤM MỐC

Do khả năng phân chia, vi khuẩn hình thành các tế bào độc lập và có thể dễ dàng xác định, đặc biệt là trong môi trường lỏng. Trong trường hợp như vậy, sự phát triển của vi khuẩn có thể được ước tính, như sử dụng bioScreen - thiết bị dựa trên phép đo độ đục hay sử dụng các phương pháp cổ điển như CFU/g hoặc CFU/ml để xác định. Ngược lại, với các chủng nấm mốc quá trình sinh trưởng và phát triển bắt đầu từ bào tử nảy mầm và hình thành sợi nấm và không tách rời nhau, không thể phân chia hệ sợi nấm thành các tế bào riêng lẻ, sự phát triển này cũng không tuân theo cấp số nhân (Koch, 1975). Vì vậy không thể xác định được số lượng hệ sợi nấm và đưa ra một tham số tăng trưởng. Với các phương pháp CFU chỉ có thể sử dụng để đếm số lượng bào tử nấm mốc (Vindeløv và Arneborg, 2002). Vì vậy, vấn đề đặt ra đối với việc ứng dụng mô hình trên các loại nấm mốc cần được khắc phục.

Một xu hướng mà các nhà khoa học thường áp dụng là sử dụng các mô hình có sẵn đã được phát triển cho các loại vi khuẩn và có những thay đổi để phù hợp với các chủng nấm mốc. Bài viết này sẽ có những đánh giá về sử dụng các

mô hình đối với các loại nấm mốc. Một số điểm khác biệt giữa các mô hình đối với các chủng vi khuẩn và chủng nấm mốc cũng sẽ được đề cập. Sau đó, chúng tôi sẽ cung cấp một vài ví dụ về các mô hình được áp dụng với các loại nấm mốc.

#### 3.1. Khác biệt giữa nấm mốc và vi khuẩn

Yếu tố môi trường chính kiểm soát sự phát triển của vi khuẩn là nhiệt độ (T), nhưng với các chủng nấm mốc thì hoạt độ nước ( $a_w$ ) hay độ ẩm đóng vai trò quan trọng hơn so với nhiệt độ (Holmquist và cs., 1983). Ngoài ra, yếu tố nồng độ oxy cũng cần thiết cho sự phát triển của nấm mốc, vì vậy có thể sử dụng phương pháp khí quyển thay đổi nhằm ngăn chặn sự phát triển của các loại nấm mốc và ngăn chặn sản sinh độc tố mycotoxin, kéo dài thời gian bảo quản sản phẩm thực phẩm (El Halouat và Debevere, 1997; Taniwaki và cs., 2001). Sự khác nhau cần xem xét khi xây dựng mô hình với các chủng nấm mốc và vi khuẩn cần phải tính tới được thể hiện trong bảng 1.

Nấm mốc bắt đầu quá trình phát triển với sự nảy mầm của bào tử và tiếp đến là sự phát triển của hệ sợi nấm. Sự mở rộng hệ sợi nấm đến mức có thể quan sát được gây nên sự hư hỏng của sản phẩm. Chính vì vậy, quá trình nảy mầm cần phải được tập trung nghiên cứu

**Bảng 1. Những yếu tố khác nhau với mô hình phát triển của nấm mốc và vi khuẩn**

Vi sinh vật	Nấm mốc	Vi khuẩn
Môi trường mô hình hóa	Rắn	Lỏng
Tế bào	Hệ sợi với các tế bào liên kết với nhau	Các tế bào độc lập
Yếu tố ảnh hưởng	Hoạt độ nước, nồng độ oxy	Nhiệt độ
Quá trình phát triển	Nảy mầm và sinh trưởng	Sinh trưởng

qua các quan sát bằng kính hiển vi để đánh giá chiều dài của mầm bào tử. Các quan sát sự nảy mầm đã được thực hiện (Magan và Lacey, 1984) và các thiết bị thử nghiệm cũng đã được phát triển cho mục đích này (Sautour và cs., 2001a, 2001b).

### 3.2. Nảy mầm của bào tử (quá trình phá vỡ sự ngủ nghỉ)

Quá trình này được thể hiện bởi ba giai đoạn (kích hoạt, trương nở bào tử, xuất hiện mầm). Định nghĩa về một bào tử được coi là đã nảy mầm khi chiều dài ống mầm lớn hơn một phần hai đường kính của bào tử và nhỏ hơn hai lần đường kính bào tử (Hình 2). Các bào tử không nảy mầm cùng một thời gian. Vì vậy, thời gian nảy mầm sẽ phụ thuộc vào thời gian bào tử được coi là nảy mầm và tỷ lệ phần trăm của các bào tử đã nảy mầm. Do đó, trong mô hình miêu tả sự nảy mầm cần thể hiện được thời gian trễ (thời gian tiềm ẩn: Lag) và thời gian nảy mầm. Lag có thể coi là điểm thời gian mà quá trình nảy mầm bắt đầu (ví dụ: thời gian mà  $P\% = 0$ ). Các nhà khoa học đã phát triển một số mô hình sử dụng để miêu tả quá trình nảy mầm:

Mô hình Gompertz

$$P = A \exp(-\exp[\mu_m e/A(\lambda - t) + 1]) \quad (1)$$

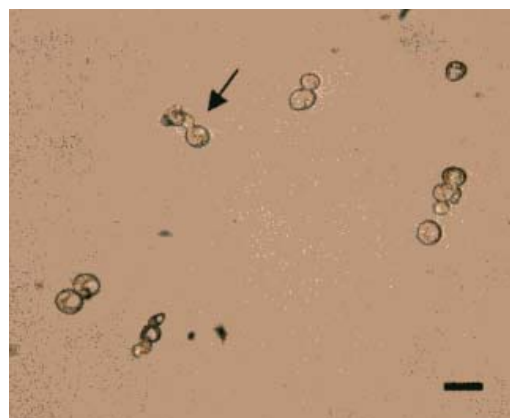
Mô hình Logistic

$$P = P_{\max} / (1 + \exp(k(\tau - t))) \quad (2)$$

Ứng dụng các mô hình trên, có thể ước lượng được thời gian cần thiết để đạt được tỷ lệ (%) nảy mầm nhất định. Ví dụ, thời gian cần có để tại đó có 50% số bào tử nảy mầm được định nghĩa là:

$t_i = \lambda + A/(\mu_m e(1))$  và  $t_i = \tau$  lần lượt cho các phương trình (1) và (2).

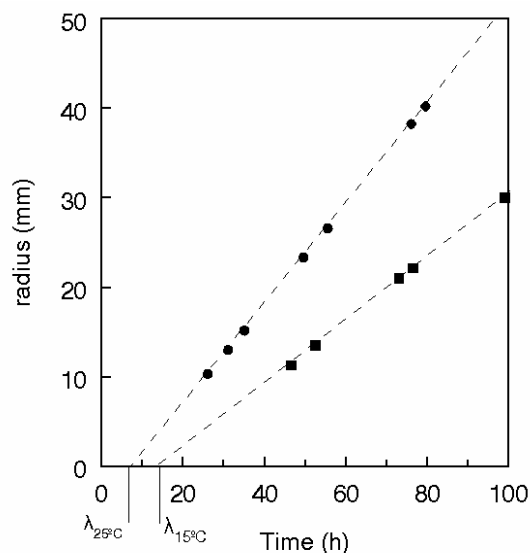
Thời gian nảy mầm là một tiêu chí đầu tiên và cần thiết để xác định tuổi thọ và hạn sử dụng của một sản phẩm thực phẩm. Sự nảy mầm đánh dấu sự bắt đầu xuất hiện hệ sợi nấm trên các sản phẩm thực phẩm (Dantigny và cs., 2005). Tuy nhiên, các bào tử nảy mầm cần phải được quan sát dưới kính hiển vi.



Hình 2. Bào tử chủng nấm mốc *P. chrysogenum* nảy mầm, (— = 10µm)

### 3.3. Sự phát triển của hệ sợi nấm

Với khó khăn gặp phải khi sợi nấm không là các cá thể riêng biệt như trường hợp thường gặp với vi khuẩn, vì vậy cần xây dựng một phương pháp đánh giá khả năng phát triển của các loại nấm mốc. Trên môi trường rắn, phương pháp thường được sử dụng là xác định sự phát triển của đường kính khuẩn lạc của một bào tử (hoặc một số lượng bào tử nhất định) theo thời gian ( $\text{mm.d}^{-1}$ ). Phương pháp này được thể hiện



Hình 3. Đường kính tăng trưởng và thời gian trễ của chủng nấm mốc *Mucor racemosus* trên môi trường PDA tại 25°C (●) và 15°C (■) theo thời gian (Sai số rất nhỏ)

cụ thể theo hình 3 với hệ số hồi quy xấp xỉ 1. Với phương pháp này, chúng ta cũng xác định được thời gian trễ hay thời gian bắt đầu có sự nảy mầm của các chủng nấm mốc. Nhưng cần lưu ý thời gian trễ cũng sẽ phụ thuộc vào số lượng bào tử ban đầu.

#### 4. KẾT LUẬN

Bên cạnh những thiệt hại về kinh tế, mối nguy hại cần được quan tâm hơn là khả năng sản sinh độc tố mycotoxin bởi các loại nấm mốc có thể gây ra các vấn đề về sức khỏe người tiêu dùng. Vì vậy cần phải có các biện pháp để dự đoán và kiểm soát sự phát triển nấm mốc trên nông sản nhằm hạn chế sự sản sinh các loại độc tố mycotoxin. Thông qua các mô hình nhằm dự đoán khả năng phát triển và tạo thành các độc tố nấm mốc là rất cần thiết nhằm hạn chế những mối nguy cơ nêu trên.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Alferez, F., H-L Liao, J. K. Burns (2012). Blue light alters infection by *Penicillium digitatum* in tangerines. *Postharvest Biology and Technology*. 63(1) 11-15
- Alber, S.A., and D.W. Schaffner (1992). Evaluation of data transformations used with the square root and Schoolfield models for predicting bacterial growth rate. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:3337-3342.
- Betts, G.D., Linton, P. & Betteridge, R.J. (2000). Synergistic effects of sodium chloride, temperature and pH on growth of a cocktail of spoilage yeasts. *Food Microbiol.* 17, 47-52.
- Cuppers, H.G.A.M., Oomes, S. and S. Brul. (1997). A model combined effects of temperature and salt concentration on growth rate of food spoilage molds. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:3764-3769
- Dantigny, P., Guilmar, A. & Bensoussan, M. (2005a) Basis of predictive mycology. *Int. J. Food. Microbiol.* 100(1-3), 187-96.
- Dantigny, P., Tchobanov, I., Bensoussan, M. & Zwietering, M.H. (2005b) Modeling the effect of ethanol vapor on the germination time of *Penicillium chrysogenum*. *J. Food. Prot.* 68(6), 1203-7.
- Dantigny, P. & Nanguy, S.P.-M. (2009) Significance of the physiological state of fungal spores. *Int. J. Food Microbiol.* in press.
- Franz, E., and van Bruggen, A.H. (2008). Ecology of *E. coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* in the primary vegetable production chain. *Crit Rev Microbiol.* 34 (3-4) 143-161
- Frisvad, J. C and Thrane, U. (2004) Mycotoxin production by common filamentous fungi. *Introduction to food- and airborne fungi.* pp 321-331
- Harris, K., Miller, M.F., Longergan, G.H. and Brashears, M.M. (2006). Validation of organic acids and acidified sodium chlorite to reduce *Escherichia coli* O157 and *Salmonella Typhimurium* in beef trim and ground beef in a simulated processing environment. *J. Food Prot.* 69, 1802-1807
- Ingham, S.C., Searls, G. and Buege, D.R. (2006). Inhibition of *Salmonella serovars*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* during dry-curing and drying of meat: A case study with basturma. *J. Food Safety* 26, 160-172.
- Jiang, Y., Zhang, Z., Joyce, C. D., Ketsa, S. (2002). Postharvest biology and handling of longan fruit (*Dimocarpus longan* Lour). *Postharvest Biology and Technology.* 26(3) 241-252.
- Kinay, P., Yildiz, F., Sen, F., Yildiz, M., Karacali, I. (2005). Intergration of pre and postharvest treatment to minimize *Penicillium* decay of Satsuma mandarins. *Postharvest Biology and Technology.* 37(1) 31-36.
- Leifert, C., Ball, K., Volakakis, N., Cooper, J. M. (2008). Control of enteric pathogens in ready-to-eat vegetable crops in organic and 'low input' production systems: a HACCP-based approach. *J Appl Microbiol* 105 (4) 931-950
- Morales, H., S. Marin, A. Ramos, V. Sanchis (2010). Influence of post-harvest technologies applied during cold storage of apples in *Penicillium expansum* growth and patulin accumulation: A review. *Food Control.* 21(7) 953-962
- Sakaridis, I., Soutos, N., Iossifidou, E., Koidis, P., Ambrosiadis, I. (2011). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* serovars from chicken carcasses. *Journal of Food Safety.* 31 (2) 203-210
- Sweeney, M. J and Dobson, A. D. W. (1998). Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *International Journal of Food Microbiology* 43 (3) 141-158
- Sautour, M., Dantigny, P., Divies, C. & Bensoussan, M. (2001). A temperature-type model for describing the relationship between fungal growth and water activity. *Int. J. Food Microbiol.* 67, 63-69.

- Sautour, M., Rouget, A., Dantigny, P., Divies, C. & Bensoussan, M. (2001). Prediction of conidial germination of *Penicillium chrysogenum* as influenced by temperature, water activity and pH. Lett. Appl. Microbiol. 32, 131-134.
- Sautour, M., Dantigny, P., Divies, C. & Bensoussan, M. (2001a) A temperature-type model for describing the relationship between fungal growth and water activity. Int. J. Food. Microbiol. 67(1-2), 63-69.
- Sautour, M., Rouget, A., Dantigny, P., Divies, C. & Bensoussan, M. (2001b) Application of Doehlert design to determine the combined effects of temperature, water activity and pH on conidial germination of *Penicillium chrysogenum*. J. Appl. Microbiol. 91(5), 900-906.
- Sautour, M., Rouget, A., Dantigny, P., Divies, C. & Bensoussan, M. (2001c) Prediction of conidial germination of *Penicillium chrysogenum* as influenced by temperature, water activity and pH. Lett. Appl. Microbiol. 32(3), 131-104.