

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

ĐÀO THÙY DƯƠNG

*Nghiên cứu thực trạng nhiễm độc tố
aflatoxin trong một số loại nông sản thực
phẩm tại khu vực miền núi phía Bắc và biện
pháp xử lý*

Chuyên ngành: Công nghệ sinh học

Mã số: 60.42.02.01

LUẬN VĂN THẠC SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. LƯƠNG THỊ HỒNG VÂN

2. TS. NGUYỄN THỊ HẢI

THÁI NGUYÊN - NĂM 2014

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan bản luận văn là công trình nghiên cứu của tôi dưới sự hướng dẫn của PGS.TS Lương Thị Hồng Vân và TS. Nguyễn Thị Hải. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực. Một số kết quả đã được tôi công bố đồng tác giả và chưa từng được công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

Tác giả luận văn

Đào Thùy Dương

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới cô giáo **NGUYỄN - PGS.TS Lương Thị Hồng Vân** - Phó viện trưởng Viện Khoa học Sự sống - Đại học Thái Nguyên và **TS. Nguyễn Thị Hải** trưởng bộ môn hóa sinh - Viện khoa học sự sống - Đại học Thái Nguyên đã tận tình chỉ bảo và hướng dẫn tôi trong suốt quá trình tôi học tập và nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn tập thể cán bộ phòng phân tích hóa học - Viện Khoa học sự sống - Đại học Thái Nguyên. Đặc biệt là **ThS. Nguyễn Thế Cường** trưởng phòng phân tích hóa học, cùng các kỹ thuật viên **Vũ Thị Ánh, Bé Văn Thịnh, Nguyễn Thị Duyên, Dương Thị Khuyên, Nguyễn Thương Tuấn, Thái Thị Ngọc Trâm** đã tận tình giúp đỡ, hướng dẫn và tạo điều kiện tốt nhất để tôi hoàn thành luận văn này, cho tôi những lời khuyên quý báu. Tôi luôn trân trọng và biết ơn sự giúp đỡ hết mình đó.

Tôi xin chân thành cảm ơn các thầy cô và các cán bộ của cơ sở đào tạo thuộc Trường Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên. Cuối cùng, tôi xin cảm ơn gia đình và bạn bè đã luôn động viên, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Tác giả luận văn

Đào Thùy Dương

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN.....	iii
MỤC LỤC	iv
DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT.....	vi
DANH MỤC CÁC BẢNG.....	vii
MỞ ĐẦU	1
1. Lý do chọn đề tài	1
2. Mục tiêu nghiên cứu	2
3. Nội dung nghiên cứu	2
4. Ý nghĩa của đề tài	2
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Đặc điểm sinh học chính của nấm mốc	3
1.2. Đặc điểm của độc tố nấm mốc và chất aflatoxin.....	5
1.2.1. Độc tố nấm mốc.....	5
1.2.2. Đặc điểm của chất aflatoxin	6
1.2.3. Điều kiện sản sinh độc tố aflatoxin	8
1.2.4. Ảnh hưởng của aflatoxin đến nông sản thực phẩm.....	10
1.2.5. Aflatoxin và ảnh hưởng của nó tới con người và vật nuôi.....	11
1.2.6. Quy định hàm lượng aflatoxin trong thực phẩm và thức ăn gia súc	15
1.3. Các phương pháp phân tích hàm lượng aflatoxin	18
1.3.1. Phương pháp lý hóa.....	18
1.3.2. Phương pháp hóa sinh	20
1.4. Xử lý aflatoxin trong nông sản và phụ phẩm chế biến hiện nay.....	21
1.4.1. Phương pháp vật lý.....	21
1.4.2. Phương pháp hóa học	23
1.4.3. Phương pháp sinh học	24
1.5. Tình hình nghiên cứu aflatoxin trên thế giới và trong nước.....	25
1.5.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới	25
1.5.2. Tình hình nghiên cứu trong nước	27

Chương 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	29
2.1. Vật liệu nghiên cứu.....	29
2.2. Địa điểm, thời gian nghiên cứu	29
2.3. Hóa chất và thiết bị nghiên cứu	30
2.3.1. Hóa chất.....	30
2.3.2. Thiết bị.....	30
2.4. Phương pháp nghiên cứu	30
2.4.1. Phương pháp lấy mẫu	30
2.4.2. Phương pháp xử lý mẫu.....	30
2.4.3. Phương pháp xử lý hàm lượng aflatoxin trong một số loại nông sản thực phẩm.....	31
2.4.4. Phương pháp phân tích hàm lượng aflatoxin	32
Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN	37
3.1. Kết quả khảo sát thực trạng nhiễm aflatoxin trong một số loại nông sản thực phẩm.....	37
3.1.1. Tỷ lệ nhiễm aflatoxin trong các mẫu phân tích	37
3.1.2. Hàm lượng nhiễm aflatoxin trong các mẫu phân tích	39
3.2. Kết quả phân tích hàm lượng aflatoxin sau khi xử lý bằng phương pháp vật lý và hóa học.....	41
3.2.1. Hàm lượng aflatoxin sau khi xử lý bằng phương pháp vật lý	41
3.2.2. Hàm lượng aflatoxin sau khi xử lý bằng phương pháp hóa học	45
3.3. So sánh hiệu quả của hai phương pháp xử lý hàm lượng aflatoxin trong nông sản thực phẩm	48
3.3.1. So sánh hiệu quả xử lý hàm lượng aflatoxin B ₁ sau khi xử lý bằng hai phương pháp vật lý và hóa học	48
3.3.2. So sánh hiệu quả xử lý hàm lượng aflatoxin B ₂ sau khi xử lý bằng hai phương pháp vật lý và hóa học	50
3.3.3. So sánh hiệu quả xử lý hàm lượng aflatoxin G ₁ sau khi xử lý bằng hai phương pháp vật lý và hóa học	51
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ	54
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN...55	
TÀI LIỆU THAM KHẢO	56

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

ADN	: Acid Deoxyribo nucleic
ARN	: Acid ribonucleic
cs	: Cộng sự
FDA	: Cục quản lý thực phẩm và dược phẩm Hoa Kỳ
HPLC	: High performance liquid chromatography
HPTLC	: High performance thin layer chromatography
ML	: Maximum limit
ppb	: Parts per billion
PTN	: Phòng thí nghiệm
QĐ-BYT	: Quyết định Bộ Y tế
QĐ/BNN	: Quyết định Bộ nông nghiệp
rADTZ	: Recombinant aflatoxin detoxifizym enzyme
RIA	: Radio Immuno Assay
TCVN	: Tiêu chuẩn Việt Nam
TLC	: Thin layer chromatography
VKHSS	: Viện Khoa học sự sống
WHO	: Tổ chức Y tế thế giới

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1. Tích chất hóa lý của một số aflatoxin	8
Bảng 1.2. Khả năng gây ung thư do aflatoxin trên động vật thí nghiệm	13
Bảng 1.3. Qui định hàm lượng tối đa độc tố nấm mốc aflatoxin B ₁ và tổng hàm lượng các aflatoxin (B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂) được tính bằng mg trong 1 kg thức ăn hỗn hợp hoàn chỉnh cho gia súc gia cầm (ppb):	16
Bảng 1.4. Tiêu chuẩn cho phép hàm lượng aflatoxin trong thực phẩm.....	16
Bảng 1.5. Giới hạn aflatoxin ở một số nước theo tiêu chuẩn của FDA	17
Bảng 1.6. Các giới hạn tối đa (ML) theo quy định của FDA.....	17
Bảng 1.7. Hàm lượng aflatoxin trong một số nguyên liệu làm thức ăn.....	28
Bảng 3.1. Tỷ lệ mẫu nhiễm độc tố aflatoxin trong các mẫu phân tích.....	37
Bảng 3.2. Hàm lượng aflatoxin trong các mẫu phân tích.....	39
Bảng 3.3. Hàm lượng aflatoxin trong các mẫu trước và sau khi xử lý bằng hương pháp vật lý.....	41
Bảng 3.4. Hiệu quả xử lý aflatoxin trên các mẫu phân tích bằng phương pháp vật lý.....	43
Bảng 3.5. Hàm lượng aflatoxin trên các mẫu trước và sau khi xử lý bằng phương pháp hóa học.....	45
Bảng 3.6. Hiệu quả xử lý aflatoxin trên các mẫu phân tích bằng phương pháp hóa học.....	47
Bảng 3.7. So sánh hiệu quả xử lý hàm lượng aflatoxin B ₁ sau khi xử lý bằng hai phương pháp vật lý và hóa học.....	48
Bảng 3.8. So sánh hiệu quả xử lý hàm lượng aflatoxin B ₂ sau khi xử lý bằng hai phương pháp vật lý và hóa học.....	50
Bảng 3.9. So sánh hiệu quả xử lý hàm lượng aflatoxin G ₁ sau khi xử lý bằng hai phương pháp vật lý và hóa học.....	51

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Hình ảnh nấm <i>Aspergillus flavus</i> và <i>Aspergillus parasiticus</i> [42], [43]	4
Hình 1.2. Các kiểu cuống bào tử đính của <i>Aspergillus</i> [41]	5
Hình 1.3. Cấu trúc phân tử của Aflatoxin	7
Hình 2.1. Mẫu cám gạo	29
Hình 2.2. Mẫu khô đỗ tương	29
Hình 2.3. Mẫu ngô.....	29
Hình 2.4. Sắc đồ aflatoxin của mẫu chuẩn	35
Hình 2.5. Sắc đồ aflatoxin chuẩn ở các nồng độ 5; 10; 20 ppb.....	35
Hình 2.6. Đường tuyến tính của các aflatoxin chuẩn	36
Hình 3.1. Biểu đồ tỷ lệ mẫu nhiễm độc tố aflatoxin trong các mẫu phân tích	38
Hình 3.2. Biểu đồ về hàm lượng aflatoxin trong các mẫu phân tích.....	40
Hình 3.3. Biểu đồ thể hiện hàm lượng aflatoxin trong các mẫu phân tích sau khi xử lý bằng phương pháp vật lý	42
Hình 3.4. Biểu đồ tỷ lệ giảm của hàm lượng aflatoxin trên các mẫu phân tích bằng phương pháp vật lý	44
Hình 3.5. Biểu đồ thể hiện hàm lượng aflatoxin trong các mẫu phân tích sau khi xử lý bằng phương pháp hóa học.....	46
Hình 3.6. Biểu đồ tỷ lệ giảm của hàm lượng aflatoxin trên các mẫu phân tích bằng phương pháp hoá học.....	47
Hình 3.7. Biểu đồ hiệu quả xử lý hàm lượng aflatoxin B ₁ sau khi xử lý bằng hai phương pháp vật lý và hóa học.....	49
Hình 3.8. Biểu đồ hiệu quả xử lý hàm lượng aflatoxin B ₂ sau khi xử lý bằng hai phương pháp vật lý và hóa học.....	50

Hình 3.9. Biểu đồ hiệu quả xử lý hàm lượng aflatoxin G₁ sau khi xử lý bằng hai phương pháp vật lý và hóa học.....52

MỞ ĐẦU

1. Lý do chọn đề tài

Nông sản thực phẩm có chất lượng cao là những sản phẩm có hàm lượng, thành phần các chất dinh dưỡng nhiều và cân đối bên cạnh các tiêu chuẩn về màu sắc, mùi vị, hình thức... Người tiêu dùng ngày nay càng chú ý hơn đến việc liệu các sản phẩm đó có bị nhiễm nấm và độc tố của nấm mốc hay không vì chúng đã được chứng minh là có thể gây hại cho người và gia súc. Trên thế giới hiện nay, việc nghiên cứu mức độ nhiễm nấm mốc và độc tố nấm trên lương thực, thực phẩm là vấn đề quan trọng nhằm bảo vệ sức khỏe con người và vật nuôi. Có rất nhiều loại độc tố nấm mốc được phát hiện. Trong đó, aflatoxin là độc tố được quan tâm nghiên cứu nhiều nhất.

Aflatoxin là tên gọi một nhóm chất độc, sản phẩm của quá trình trao đổi chất của một số loài nấm mà chủ yếu là loài *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*... Trong đó, phổ biến nhất và độc nhất là aflatoxin B₁, G₁, B₂ và G₂, có thể gây bệnh ở mức vi lượng. Aflatoxin có khả năng gây độc cấp tính và mãn tính ở người và động vật. Nghiêm trọng và nguy hiểm nhất là khả năng gây xơ gan và ung thư gan. Ngoài ra aflatoxin còn có khả năng phá hủy tế bào thận và các bộ phận khác, ức chế hệ miễn dịch, gây suy dinh dưỡng, chậm lớn [37]. Đã có rất nhiều công trình nghiên cứu về mức độ nhiễm nấm mốc và các độc tố nấm mốc, các biện pháp phòng trừ độc tố nấm mốc trên lương thực, thực phẩm. Sự nghiên cứu về aflatoxin được bắt đầu khi ở Anh nghề nuôi gia cầm bị tổn thất nặng nề và năm 1960, lúc đầu hơn 10000 gà tây chết vì một bệnh mới gọi là “bệnh gà tây X” (Turkey X disease). Đến năm 1961 người ta đã tìm ra bản chất hoá học của độc chất này là Aflatoxin [14].

Ở nước ta, với đặc điểm khí hậu nhiệt đới nóng ẩm, độ ẩm trong không khí thường cao, các phương tiện thu hoạch, phơi sấy nông sản kém, kho chứa không đảm bảo khô ráo thoáng mát là điều kiện rất thuận lợi cho nấm mốc phát triển gây nhiễm độc tố cho nông sản thực phẩm, do vậy công tác vệ sinh an toàn lương thực, thực phẩm đã có những tiến bộ rõ rệt và ngày càng được chú ý.

Theo Lê Anh Phụng và cộng sự (cs) (2001) [13] thì từ những năm 1970 Nguyễn Phùng Tiên và cs đã nghiên cứu mức nhiễm nấm mốc ở một số lương thực như: Đậu,