

THỬ NGHIỆM SẢN XUẤT MEN TIÊU HÓA PHYTASE TỪ *TRICHODERMA ASPERELLUM* TRÊN QUY MÔ PILOT

Trần Ngọc Hùng⁽¹⁾

(1) Trường Đại học Thủ Dầu Một

Ngày nhận bài: 15/6/2021; Ngày gửi phản biện: 26/6/2021; Chấp nhận đăng: 30/7/2021

Liên hệ Email: hungtn@tdmu.edu.vn

<https://doi.org/10.37550/tdmu.VJS/2021.05.234>

Tóm tắt

Phosphor là thành phần khoáng chất có ảnh hưởng lớn đến sự sinh trưởng của vật nuôi. Các nguyên liệu sử dụng làm thức ăn viên có chứa một lượng lớn phosphor hữu cơ trong khi vật nuôi chủ yếu hấp thu nguồn phosphor vô cơ trong thức ăn. Bổ sung sản phẩm phytase vào khẩu phần ăn sẽ giúp vật nuôi sử dụng hiệu quả nguồn khoáng chất này. Kết quả nghiên cứu cho thấy chủng *Trichoderma asperellum* sinh tổng hợp phytase tốt nhất sau 4 ngày, thu sấy hiệu quả nhất ở 55°C với hoạt độ phytase đạt 4,45 UI/g. Hoạt độ phytase ổn định trong ít nhất 12 tháng khi bảo quản sản phẩm ở 5°C và ít nhất 6 tháng ở nhiệt độ phòng. Quy trình sản xuất thử nghiệm được thực hiện với quy mô 22,5kg/mẻ, tương ứng với khoảng 1 tấn sản phẩm mỗi tháng. Việc hấp thu tốt phosphor hữu cơ trong thức ăn không chỉ giúp nâng cao hiệu quả chăn nuôi mà còn hạn chế được nguy cơ ô nhiễm môi trường từ chất thải của vật nuôi.

Từ khóa: nuôi cấy bán rắn, men tiêu hóa phytase, quy mô pilot, *Trichoderma asperellum*

Abstract

TRIAL PROCESSING OF DIGESTIVE ENZYME PRODUCT OF PHYTASE FROM *TRICHODERMA ASPERELLUM* ON THE PILOT SCALE

Phosphor is mineral component that has a great effect to the growth of livestock. The raw materials for pellet feed contains a high content of organic phosphor. While, the livestock mainly absorb inorganic phosphor in feed. Adding phytase products to the ration of livestock will help them effectively use this mineral amount. The results show that *Trichoderma asperellum* strain biosynthesis phytase with the highest effectivity at 4 day culture. The most suitable temperature for drying the product was 55°C with the phytase activity got 4.45UI/g. This activity maintained at least for 12 months at 5°C and for 6 months at the room temperature. The trial processing was carried out at the scale of 22.5kg/batch be corresponding to one ton every month. A good absorption of organic phosphor in feed is not only helps improve the breeding productivity but also reduces the danger of polluted environment from the animal waste.

1. Đặt vấn đề

Phytate hoặc acid phytic là nguồn phosphor hữu cơ, có nhiều trong các loại ngũ cốc và trong hạt của các cây họ đậu. Các loại nguyên liệu này vốn là thành phần chủ yếu trong các loại thức ăn công nghiệp dành cho vật nuôi hiện nay. Trong thực vật, acid phytic thường liên kết với chặt với các ion kim loại, làm giảm khả năng hấp thu khoáng của vật nuôi và ảnh hưởng đến hoạt động của các enzyme tiêu hóa như trypsin, amylase vốn đòi hỏi các cofactor là các ion kim loại (Bujna và cs., 2016). Phytate chỉ có thể bị thủy phân dưới sự xúc tác của enzyme phytase và giải phóng ra các phân tử o-phosphate và myo-inositol-6-phosphate. Cơ thể vật nuôi và hầu hết các loại động vật không thể tổng hợp được phytase. Vì thế bổ sung phytase vào thức ăn được xem là giải pháp hiệu quả nhất để khắc phục vấn đề này. Sử dụng phytase thường xuyên không chỉ giúp vật nuôi hấp thu hiệu quả nguồn phosphor hữu cơ mà còn có tác dụng giảm lượng phosphor hữu cơ, các chất dinh dưỡng như tinh bột, protein thải ra trong phân, qua đó giúp hạn chế ô nhiễm môi trường chăn nuôi (Singh và cs., 2013).

Vì nấm được xem là nguồn quan trọng để thu nhận enzyme phytase thương mại. Nhiều chủng vi nấm có hoạt tính phytase cao đã được công bố như *Aspergillus ficuum*, *Rhizopus microspores* var. *oligosporus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus nidulans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Trichoderma reesei*, *Trichoderma viride*, *Thermomyces lanuginosus* và *Trichoderma asperellum* (Gull và cs., 2013; Zhao & Zhang, 2015; Jatuwong và cs., 2020). Phytase từ các vi nấm khác nhau luôn có những đặc tính riêng biệt. Các nghiên cứu ở Việt Nam hiện nay tập trung nhiều vào việc sàng lọc chủng vi sinh vật; nghiên cứu tạo chế phẩm phytase với hoạt độ cao và thử nghiệm trên một vài đối tượng như cá tra và cá rô phi vằn (Võ Đức Tuấn, 2012; Phạm Duy Hải và cs., 2013). Trong khi đó, thị trường men tiêu hóa cho vật nuôi hiện nay có nhiều sản phẩm chứa phytase như Dalecon Biostrong 510 (công ty Delacon, Austria), KEMZYME V Dry (công ty Nông Tiến), Phyzyme XP (công ty Provimi Việt Nam), Nova multizyme (Công ty Anova Việt Nam), All-zym (Công ty Greenvet, Probisol (Công ty Vemedim)... Tuy nhiên, hầu hết các sản phẩm này đều sử dụng nguồn nguyên liệu ngoại nhập, ít có nguồn nguyên liệu phytase được sản xuất trong nước. Trong nghiên cứu này, các chủng vi nấm chọn lọc được khảo sát khả năng sinh phytase theo thời gian nuôi cấy; ảnh hưởng của khối lượng môi trường nuôi; nhiệt độ sấy và các điều kiện bảo quản sản phẩm, từ đó thử nghiệm sản xuất sản phẩm phytase trên quy mô pilot trong phòng thí nghiệm.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Chủng *Trichoderma asperellum*: Được phân lập từ đất khu vực chăn nuôi gà tại thành phố Thuận An, tỉnh Bình Dương.

Chủng *Aspergillus* Lt 02: Được phân lập từ đất khu vực chăn nuôi gà tại thị xã Tân Uyên, tỉnh Bình Dương

Chủng *Aspergillus* Asp 02: Được phân lập từ đất khu vực chăn nuôi gà tại huyện Bắc Tân Uyên, tỉnh Bình Dương.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp xác định hoạt độ phytase: Phytase giải phóng phosphate ra khỏi cơ chất myo-inositol hexakisphosphate (phytate). Các phosphate vô cơ giải phóng được xác định bằng cách tạo phức chất màu vàng với thuốc thử vanadate/molypdate trong acid. Mật độ quang (OD) của phức chất màu vàng được đo ở bước sóng 415nm và phosphate vô cơ giải phóng được định lượng bằng đường chuẩn phosphate (TCVN 8678:2011). Một đơn vị hoạt độ phytase là lượng enzyme giải phóng 1 μ mol phosphat vô cơ từ phytate trong một phút dưới các điều kiện phản ứng trong tiêu chuẩn này.

Phương pháp nuôi cấy vi nấm thu sản phẩm phytase: Bào tử các chủng vi nấm từ các ống thạch nghiêng được huyền phù vào nước cất vô trùng; bổ sung vào 66g môi trường bán rắn với mật độ 10^6 bào tử/g môi trường. Môi trường nuôi cấy các chủng vi nấm thành phần cơ chất chứa 60% bột bắp và 40% bã đậu nành. Lượng dịch khoáng bổ sung chiếm 60%(w/w). Thành phần dịch khoáng bao gồm KCl (2,5g/L); peptone (0,9g/L); MgSO₄.7H₂O (7,5g/L); KH₂PO₄ (5,0g/L); CaCl₂ (10,0g/L) (Phạm Duy Hải và cs., 2013). Ủ các bình tam giác ở nhiệt độ phòng (~30°C) trong thời gian 4 ngày; thu nhận môi trường lên men; sấy khô ở nhiệt độ 45°C trong thời gian 72 giờ, xay nhuyễn và xác định hoạt độ phytase theo TCVN 8678:2011 (Cục chăn nuôi, 2011).

Xử lý thống kê: Các thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần. Phân tích ANOVA bằng phần mềm Stargraphic Centurion 15.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Sàng lọc chủng vi nấm sinh phytase mạnh trên môi trường bán rắn: Thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần. Bào tử các chủng vi nấm từ các ống thạch nghiêng được huyền phù vào nước cất vô trùng; bổ sung vào 66g môi trường bán rắn với mật độ 10^6 bào tử/g môi trường. Thành phần cơ chất bao gồm 60% bột bắp và 40% bã đậu nành. Lượng dịch khoáng bổ sung chiếm 60%(w/w). Ủ các bình tam giác ở nhiệt độ phòng (~30°C). Sau các khoảng thời gian 3; 4; 5; 6 và 7 ngày, thu nhận môi trường lên men; sấy khô ở nhiệt độ 45°C trong thời gian 72 giờ, xay nhuyễn và xác định hoạt độ phytase theo TCVN 8678:2011.

Thử nghiệm nâng cấp quy mô nuôi cấy tạo sản phẩm: Nuôi cấy bán rắn chủng vi nấm chọn lọc ở các điều kiện thích hợp đã lựa chọn từ các thí nghiệm trước. Thí nghiệm có sự thay đổi về khối lượng nuôi cấy trong các nghiệm thức: 75g; 375g; 750g; 1250g và 2500g. Tỷ lệ về thể tích giữa môi trường và dụng cụ nuôi cấy trong các nghiệm thức được đảm bảo như nhau. Nghiệm thức 2500g được nuôi trên các khay nhựa, độ dày lớp môi trường khoảng 2cm. Các nghiệm thức khác được nuôi trong các túi nylon. Giữ môi trường lên men ở nhiệt độ phòng trong thời gian thích hợp. Thu nhận và xác định hoạt độ enzyme phytase trong các nghiệm thức. Đánh giá sự ảnh hưởng của khối lượng môi trường nuôi đến hiệu quả thu nhận enzyme phytase trong chế phẩm.

Thử nghiệm ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến hoạt độ phytase trong sản phẩm: Sản phẩm phytase thu được khi nuôi trong các túi có khối lượng 750g được sấy khô thông gió ở các nhiệt độ khác nhau: 40°C; 45°C; 50°C; 55°C; 60°C và 65°C cho đến khi độ ẩm còn lại khoảng 10%. Ghi nhận thời gian sấy và xác định hoạt độ phytase trong các

nghiệm thức. Nhiệt độ sấy duy trì được hoạt độ phytase và có hiệu quả về kinh tế được lựa chọn cho thí nghiệm tiếp theo.

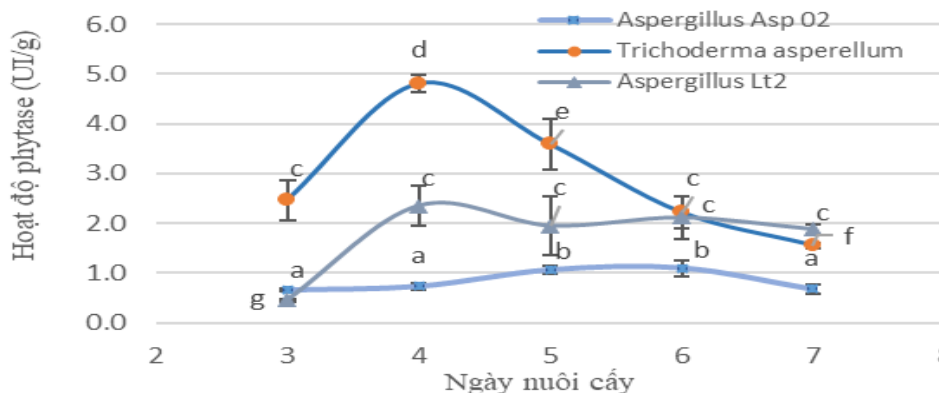
Ảnh hưởng của điều kiện bảo quản sản phẩm: Sản phẩm phytase thu được theo các quy trình sản xuất thử nghiệm trên được đóng gói trong các túi PE hút chân không và tiến hành bảo quản trong các điều kiện lạnh (5°C) hoặc điều kiện nhiệt độ phòng (~30°C). Sau các khoảng thời gian 3 tháng; 6 tháng; 9 tháng và 12 tháng, đánh giá hoạt độ phytase của sản phẩm.

Thử nghiệm sản xuất sản phẩm phytase trên quy mô pilot: Chủng *Trichoderma asperellum* được sử dụng để sản xuất sản phẩm phytase trên quy mô pilot với mỗi túi môi trường lên men chứa 750g. Mỗi mẻ nuôi cấy 30 túi; 3 mẻ/ ngày. Khối lượng sản xuất mỗi ngày khoảng 67kg. Các túi môi trường lên men được đặt trên các kệ, trong phòng sạch có quạt điều nhiệt. Hằng ngày kiểm tra sự phát triển của nấm. Sau 4 ngày, thu nhận môi trường lên men và sấy khô sản phẩm ở nhiệt độ thích hợp và xác định hoạt độ phytase trong sản phẩm.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Sàng lọc chủng vi nấm sinh phytase mạnh trên môi trường bán rắn

Bào tử các chủng vi nấm từ các ống thạch nghiêng được huyền phù vào nước cất vô trùng; bổ sung vào môi trường bán rắn chứa 60% bột bắp và 40% bã đậu nành. Lượng dịch khoáng bổ sung chiếm 60%(w/w). Ủ các bình tam giác ở nhiệt độ phòng trong các khoảng thời gian 3; 4; 5; 6 và 7 ngày. Kết quả thí nghiệm được thể hiện trong hình 1.



Hình 1. Khả năng sinh phytase của các chủng vi nấm theo thời gian nuôi cấy.

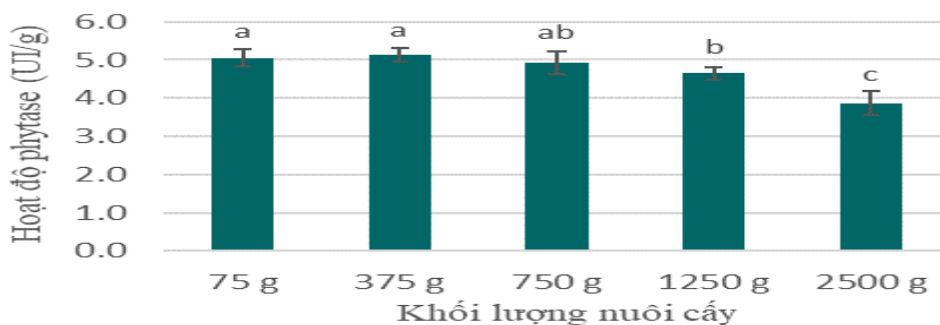
Các ký tự khác nhau trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ($P < 0,05$).

Thời gian nuôi cấy là yếu tố quan trọng để quá trình thu nhận sản phẩm phytase được hiệu quả. Chủng *Aspergillus Asp 02* tổng hợp phytase tốt nhất sau 5-6 ngày nuôi cấy, với hoạt độ đạt 1,06-1,10UI/g. Các chủng vi nấm còn lại có thời gian tổng hợp phytase nhanh hơn và hoạt độ cao hơn đáng kể. Trong đó, chủng *Trichoderma asperellum* sinh enzyme phytase cao nhất sau 4 ngày, đạt 4,81UI/g. Thời điểm này, lượng bào tử nấm *Trichoderma* sinh ra chưa nhiều và có kích thước nhỏ. Từ 5 ngày đến 7 ngày nuôi cấy, hoạt độ phytase trong môi trường giảm nhanh chóng và lượng bào tử

sinh ra nhiều, phủ kín khắp bề mặt môi trường. Sau 7 ngày, hoạt độ enzyme chỉ còn lại 1,55UI/g, tương ứng với 32,3% so với thời điểm 4 ngày. Đối với vi nấm, thời gian sinh tổng hợp enzyme nhanh không chỉ giúp rút ngắn quy trình sản xuất mà còn thuận lợi cho việc thu sấy và đóng gói sản phẩm, hạn chế được những ảnh hưởng bất lợi đối với sức khỏe người lao động. Các chủng nấm thuộc chi *Aspergillus* thường được dùng để sản xuất các sản phẩm phytase thương mại. Những nghiên cứu về phytase từ nấm *Trichoderma* chưa được đề cập nhiều. Phát hiện khả năng hòa tan phosphate của chủng *Trichoderma asperellum* từ trước tới nay chỉ có Zhao Lei đề cập (Zhao Lei và Zhang Ya-quing, 2015). Một số sản phẩm phytase thương mại cũng được sản xuất từ chủng *Trichoderma reesei* tái tổ hợp (Singh và Satyanarayana, 2014)

3.2. Thử nghiệm nâng cấp quy mô nuôi cấy tạo sản phẩm

Thí nghiệm có sự thay đổi về khối lượng môi trường nuôi cấy trong các nghiệm thức: 75g; 375g; 750g; 1250g và 2500g. Nghiệm thức 2500g được nuôi trên các khay nhựa, độ dày lớp môi trường khoảng 2cm. Các nghiệm thức khác được nuôi trong các túi nylon. Giữ môi trường lên men ở nhiệt độ phòng trong thời gian 4 ngày. Kết quả hoạt độ phytase trong các nghiệm thức được thể hiện trong hình 2.



Hình 2. Hàm lượng anthocyanin trong một số loại nguyên liệu.

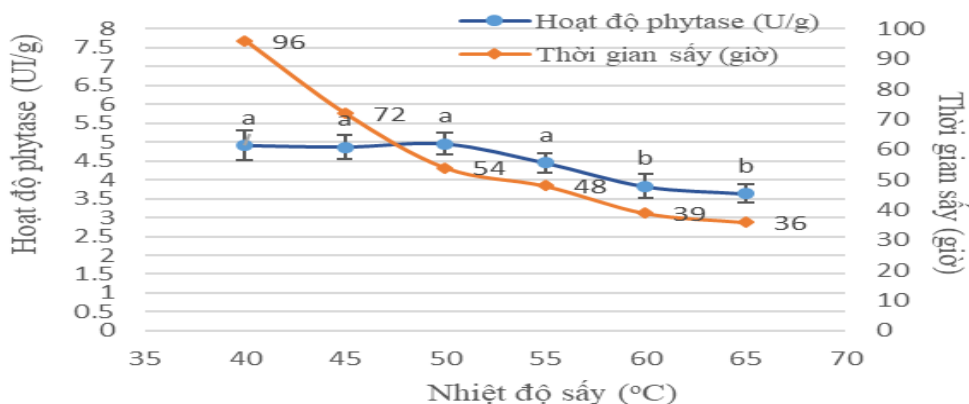
Các ký tự khác nhau trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ($P < 0,05$).

Khối lượng nuôi cấy có ảnh hưởng đến khả năng tổng hợp phytase của chủng *Trichoderma asperellum* và năng suất sản xuất sản phẩm. Khi nuôi cấy trong các túi nylon chịu nhiệt có khối lượng môi trường từ 75g đến 750g, hoạt độ phytase nằm trong khoảng 4,93-5,12UI/g, không khác biệt ở độ tin cậy 95% ($P < 0,05$). Nghiệm thức nuôi cấy trên các khay có khối lượng 2500g/khay có hoạt độ giảm đáng kể, đạt 3,87UI/g. Khi nuôi trên các khay, độ ẩm môi trường giảm nhanh và lượng bào tử *Trichoderma asperellum* sinh ra nhiều. Việc nuôi cấy trong các túi nylon giúp hạn chế tạp nhiễm và duy trì được độ ẩm cho quá trình sinh trưởng của nấm. Tuy nhiên, khối lượng nuôi cấy nhiều sẽ làm tăng độ dày của lớp môi trường, ảnh hưởng đến độ thoáng khí và có thể làm giảm khả năng sinh trưởng và khả năng tổng hợp phytase của chủng. Nghiệm thức nuôi cấy trong các túi nylon chịu nhiệt với khối lượng môi trường 750g/túi giúp đảm bảo hoạt độ phytase trong sản phẩm và nâng cao năng suất thu nhận sản phẩm.

3.3. Thử nghiệm ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến hoạt độ phytase trong sản phẩm

Sản phẩm phytase thu được khi nuôi trong các túi có khối lượng 750g được sấy

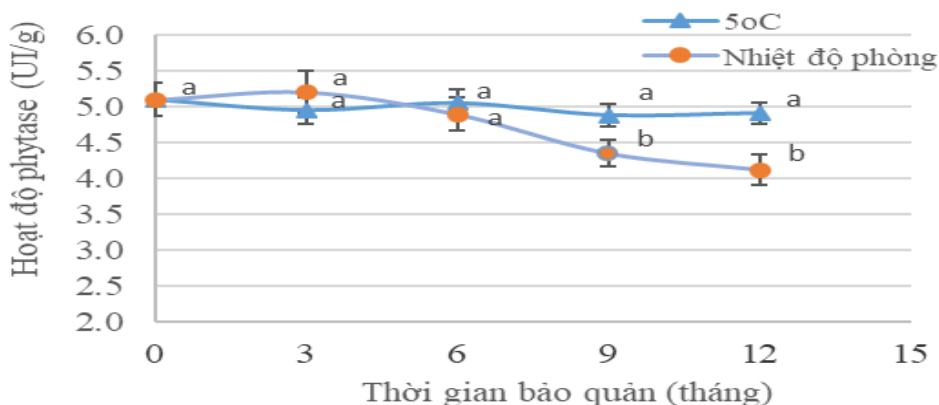
khô thông gió ở các nhiệt độ khác nhau từ 40°C đến 65°C cho đến khi độ ẩm còn lại khoảng 10%. Ghi nhận thời gian sấy và xác định hoạt độ phytase trong các nghiệm thức. Nhiệt độ sấy duy trì được hoạt độ phytase và có hiệu quả về kinh tế được lựa chọn cho thí nghiệm tiếp theo. Kết quả thí nghiệm được thể hiện trong hình 3.



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến hoạt độ phytase và thời gian thu sản phẩm. Các ký tự khác nhau trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ($P < 0,05$).

Nhiệt độ sấy có ảnh hưởng đến độ bền của enzyme phytase và giá thành của sản phẩm. Khi sấy thông gió sản phẩm trong khoảng nhiệt độ từ 40°C đến 55°C, hoạt độ phytase của sản phẩm không thay đổi nhiều. Sấy ở nhiệt độ 60°C và 65°C có thể tác động đến cấu trúc của enzyme, qua đó làm hoạt độ phytase giảm đáng kể, đạt lần lượt 3,83 và 3,64UI/g. Sấy ở nhiệt độ thấp (40-50°C) có thể giúp duy trì hoạt độ phytase. Tuy nhiên, thời gian sấy kéo dài (54-96 giờ) sẽ kéo dài thời gian sản xuất và tăng giá thành sản phẩm. Chính vì thế, sấy ở nhiệt độ 55°C là giải pháp phù hợp để thu nhận sản phẩm.

3.4. Ảnh hưởng của điều kiện bảo quản sản phẩm



Hình 4. Hoạt độ phytase của sản phẩm sau thời gian bảo quản.

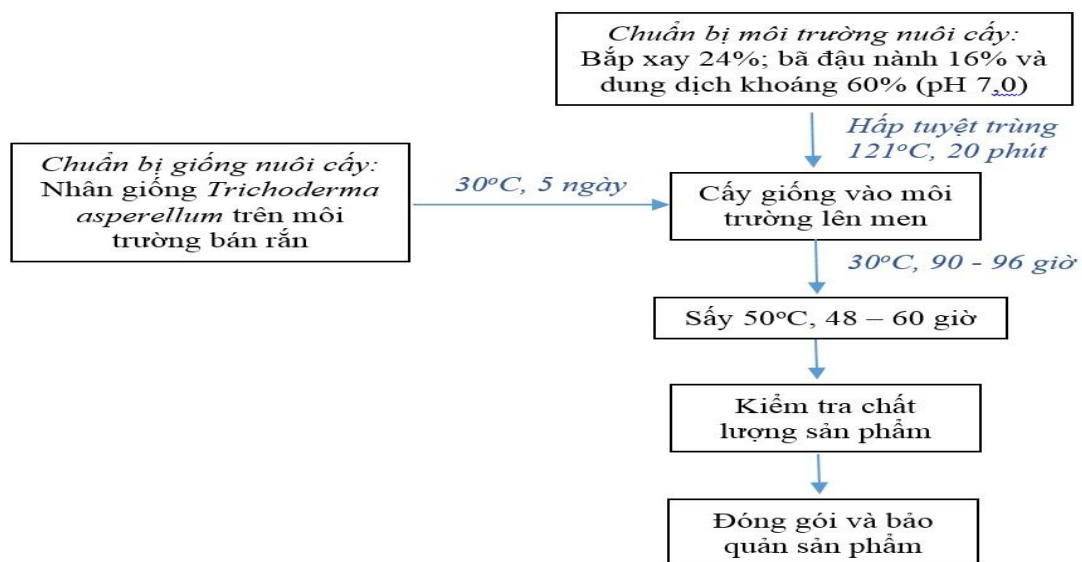
Các ký tự khác nhau trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ($P < 0,05$).

Sản phẩm phytase thu được theo các quy trình sản xuất thử nghiệm trên được đóng gói trong các túi PE hút chân không và tiến hành bảo quản trong các điều kiện lạnh (5°C) hoặc điều kiện nhiệt độ phòng (~30°C). Sau các khoảng thời gian từ 3 tháng đến 12 tháng, hoạt độ phytase của sản phẩm được ghi nhận và thể hiện trong hình 4.

Nhiệt độ bảo quản có ảnh hưởng nhiều đến hoạt độ phytase trong sản phẩm. Sau 12 tháng bảo quản ở nhiệt độ 5°C, hoạt độ phytase không khác biệt so với ban đầu. Trong khi đó, ở nhiệt độ phòng (nhiệt độ dao động từ 26°C-35°C), hoạt độ giảm dần sau 9 đến 12 tháng bảo quản, tương ứng với mức giảm 19,2% so với ban đầu. Để việc sử dụng sản phẩm và quá trình thương mại hóa sản phẩm được hiệu quả, sản phẩm men tiêu hóa giàu phytase cần phải được lưu trữ ở nhiệt độ lạnh hoặc giảm mức hoạt độ phytase trên bao bì so với hoạt độ kiểm tra thực tế khi xuất xưởng.

3.5. Thử nghiệm sản xuất sản phẩm phytase trên quy mô pilot

Chủng *Trichoderma asperellum* được sử dụng để thử nghiệm sản xuất sản phẩm phytase trên quy mô pilot với mỗi túi môi trường lên men chứa 750g. Quy trình sản xuất chi tiết được thể hiện trong hình 5.



Hình 5. Quy trình nuôi cấy *Trichoderma asperellum* sản xuất sản phẩm phytase

Diễn giải quy trình:

Chuẩn bị giống nuôi cấy: Bào tử *Trichoderma asperellum* từ các ống thạch nghiêng được huyền phù vào nước cất vô trùng; bổ sung vào 66g môi trường bán rắn với mật độ 10^6 bào tử/g môi trường. Thành phần cơ chất môi trường nhân giống chứa 20% bột bắp và 20% bã đậu nành. Lượng dịch khoáng bổ sung chiếm 60%(w/w). Thành phần dịch khoáng bao gồm KCl (2,5g/L); peptone (0,9g/L); $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (7,5g/L); KH_2PO_4 (5,0g/L); $CaCl_2$ (10,0g/L). Ủ các bình tam giác ở nhiệt độ phòng ($\sim 30^\circ C$) trong thời gian 5 ngày.

Chuẩn bị môi trường nuôi cấy: Trộn đều hỗn hợp môi trường bán rắn bao gồm 4,5kg bắp xay, 4,5kg bã đậu nành và 13,5 lít dung dịch khoáng. Thành phần dung dịch khoáng bao gồm 33,75g KCl, 12,15g peptone, 101,25g $MgSO_4$, 67,5g KH_2PO_4 và 135g $CaCl_2$, pH dung dịch khoáng được điều chỉnh về 7,0 bằng dung dịch NaOH 0,1N. Sau khi hỗn hợp cơ chất trương nở và ngấm nước, cân khoảng 750g hỗn hợp môi trường cho vào các túi nylon chịu nhiệt, kích thước 19×35cm; dùng nút bông đậy chặt miệng túi. Hấp tệt trùng các túi môi trường ở nhiệt độ 121°C trong thời gian 20 phút.

Lên men sinh tổng hợp phytase: Đảo trộn đều môi trường nhân giống *Trichoderma asperellum*; cân khoảng 3g môi trường giống cho vào các túi môi trường lên men đã hấp tiệt trùng để nguội; đảo trộn cho giống phân tán đều trong môi trường, tránh để môi trường lên men vón cục; dùng nút bông đậy chặt miệng túi; môi trường lên men được dàn đều trong túi với độ dày lớp môi trường khoảng 2cm; giữ các túi trong các phòng nuôi cấy sạch có quạt hút điều nhiệt; nhiệt độ phòng nuôi cấy duy trì khoảng $30 \pm 2^\circ\text{C}$; thời gian lên men khoảng 90-96 giờ. Hằng ngày, kiểm tra quá trình phát triển của chủng. Sau 48 giờ ủ, môi trường lên men ẩm, tơ trắng xuất hiện đều trên khắp bề mặt môi trường; sau 72 giờ ủ, tơ nấm phủ dày hơn, không xuất hiện tạp nhiễm; sau 90-96 giờ, bào tử xanh phủ khắp bề mặt môi trường.

Thu nhận sản phẩm phytase: Môi trường lên men sau thời gian ủ được trải đều ra các khay, độ dày lớp môi trường khoảng 2cm; sấy thông gió ở nhiệt độ $50 \pm 1^\circ\text{C}$ trong thời gian 48-60 giờ; thu nhận sản phẩm khi độ ẩm còn khoảng 10%; xay sản phẩm thành dạng bột mịn, khối lượng hạt qua rây kích thước lỗ 1mm đạt tối thiểu 99%; sản phẩm được kiểm tra các chỉ tiêu chất lượng như hoạt độ phytase, hàm lượng protein, độ ẩm, mật độ nấm mốc.

Đóng gói và bảo quản sản phẩm: Sản phẩm sau khi kiểm tra đạt các giá trị chất lượng theo công bố được đóng gói trong các túi PE hàn kín miệng; bảo quản sản phẩm trong kho lạnh có nhiệt độ 5°C ; kiểm tra chỉ tiêu hoạt độ phytase và độ ẩm của sản phẩm định kỳ 3 tháng, 6 tháng, 9 tháng và 12 tháng.

Quy trình sản xuất thử nghiệm sản phẩm phytase được thực hiện với mỗi túi môi trường lên men chứa 750g. Mỗi mẻ nuôi cấy 22,5kg, 3 mẻ/ngày. Tổng sản phẩm hoàn thiện mỗi tháng ước tính khoảng 1 tấn. Sản phẩm có hoạt độ phytase đạt 4,83UI/g và hàm lượng protein đạt 161mg/g. So với các sản phẩm men tiêu hóa chứa phytase có nguồn nguyên liệu ngoại nhập trên thị trường hiện nay, sản phẩm thử nghiệm này có hoạt độ phytase không cao bằng. Tuy nhiên, enzyme phytase từ nấm *Trichoderma asperellum* là một nguồn thu nhận mới mẻ và có nguồn gốc bản địa, có thể sẽ chứa đựng nhiều đặc tính phù hợp khi bổ sung vào khẩu phần ăn cho vật nuôi tại địa phương.

4. Kết luận

Trong các chủng vi nấm khảo sát, chủng *Trichoderma asperellum* sinh tổng hợp phytase tốt nhất sau thời gian 4 ngày, thu sấy hiệu quả nhất ở 55°C với hoạt độ phytase đạt 4,45UI/g. Hoạt độ phytase ổn định trong ít nhất 12 tháng khi bảo quản sản phẩm ở 5°C và ít nhất 6 tháng ở nhiệt độ phòng. Quy trình sản xuất thử nghiệm được thực hiện với quy mô 22,5 kg/mẻ, tương ứng với khoảng 1 tấn sản phẩm mỗi tháng.

Lời cảm ơn

Tác giả xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ thiết bị của Viện Phát triển Ứng dụng, trường Đại học Thủ Dầu Một; sự hỗ trợ kinh phí trong khuôn khổ đề tài cấp cơ sở với mã số DT.20-072.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Bujna E., Rezessy-Szabó J.M., Nguyen D.V. and Nguyen D.Q. (2016). Production and some properties of extracellular phytase from *Thermomyces lanuginosus* IMI 096218 on rice flour as substrate. *Mycosphere*, 7(10), 1576-1587.
- [2] Cục chăn nuôi (2011). Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8678:2011. Thức ăn chăn nuôi – Xác định hoạt độ phytase. <http://vanbanphapluat.co/tcvn-8678-2011-thuc-an-chan-nuoi-xac-dinh-hoat-do-phytaza>
- [3] Gull I., Hameed A., Aslam M.S. and Athar M.A. (2013). Optimization of phytase production in solid state fermentation by different fungi. *African Journal of Microbiology Research*, 7(46), 5207-5212.
- [4] Jatuwong K., Suwannarach N., Kumla J., Penkhrue W., Kakumyan P. and Lumyong S. (2020). Bioprocess for Production, Characteristics, and Biotechnological Applications of Fungal Phytases. *Front. Microbiol.* 11:188. <http://doi: 10.3389/fmicb.2020.00188>
- [5] Singh B. and Satyanarayana T. (2014). Fungal phytases: characteristics and amelioration of nutritional quality and growth of non-ruminants. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. <http://doi: 10.1111/jpn.12236>
- [6] Singh N.K., Joshi D.K. and Gupta R.K.. (2013). Isolation of phytase producing bacteria and optimization of phytase production parameters. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 6(5), <http://doi.org/10.5812/jjm.6419>.
- [7] Võ Đức Tuấn (2012). *Nghiên cứu thu nhận enzyme phytase từ Bacillus sp. và thử nghiệm ảnh hưởng của việc bổ sung phytase trong khẩu phần thức ăn đến khả năng tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn cho cá rô phi vằn (Oreochromis niloticus)* (Khóa luận tốt nghiệp ngành Công nghệ Sinh học). Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh.
- [8] Zhao L. and Zhang Y. (2015). Effects of phosphate solubilization and phytohormone production of *Trichoderma asperellum* Q1 on promoting cucumber growth under salt stress. *Journal of Integrative Agriculture*. [http://doi10.1016/S2095-3119\(14\)60966-7](http://doi10.1016/S2095-3119(14)60966-7)