

LÀM GIÀU PROTEIN CỦA BÃ SẴN BẰNG ĐƯỜNG HÓA VÀ LÊN MEN ĐỒNG THỜI

Dương Thu Hương^{1*}, Phạm Kim Đăng¹, Trần Hiệp¹, Ngô Thị Huyền Trang²,
Nguyễn Thị Nguyệt², Vũ Văn Hạnh²

¹Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Viện công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học Việt Nam

Email*: duongthuhuong@vnua.edu.vn

Ngày gửi bài: 06.03.2018

Ngày chấp nhận: 08.05.2018

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm cải thiện chất lượng dinh dưỡng của bã sắn bằng đường hóa và lên men đồng thời. Bã sắn tươi sau khi hòa vào nước với tỷ lệ 30% được đường hóa bằng chế phẩm đa enzyme thô (α -amylase, glucoamylase, cellulase) ở các nồng độ khác nhau (0, 2, 4, 6, 8 và 10%). Kết quả phân tích cho thấy sau 24 giờ bã sắn tươi được đường hóa bằng chế phẩm đa enzyme thô ở nồng độ 8% và 10% có lượng đường khử cao nhất trong khi hàm lượng tinh bột và xơ thô thấp nhất. Quá trình đường hóa và lên men lỏng bã sắn xảy ra đồng thời trong các bình lên men dung tích 3 lít có bổ sung 8% enzyme, 1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ và *S. cerevisiae*, *Lactobacillus* sp. và *Bacillus* sp. (10^7 cfu/ml mỗi chủng) ở nhiệt độ phòng. Sau 48 giờ lên men, phân tích thành phần dinh dưỡng cho thấy protein thô tăng 7,3 lần, protein thực tăng 5,5 lần so với bã sắn tươi không lên men, đồng thời HCN giảm còn 20,54 mg/kg VCK, lượng axit hữu cơ tăng 5,9 lần, pH 3,7, mùi thơm, chua dịu, không có độc tố aflatoxin.

Từ khóa: Đường hóa, enzyme, làm giàu protein, lên men.

Protein Enrichment of Cassava Residues by Simultaneous Saccharification and Fermentation

ABSTRACT

The aim of study was to improve the nutritional quality of cassava residues by simultaneous saccharification and fermentation. Cassava residues were mixed with water at the rate of 30% and saccharification was carried out with crude enzymes (α -amylase, glucoamylase, cellulase) at different concentrations (0, 2, 4, 6, 8, 10%). After 24 hours, at 8 and 10% crude enzymes, the reducing sugar was highest while the starch and crude fiber content were lowest. Simultaneous saccharification and liquid fermentation of cassava residues were conducted in 3L fermenters supplemented with 8% enzyme, 1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and *S. cerevisiae*, *Lactobacillus* sp., and *Bacillus* sp. (10^7 cfu/ml of each) at room temperature. After 48 hours fermentation the crude protein increased by 7.3 times and real protein increased by 5.5 times compared with unfermented cassava residues, while HCN decreased to 20.54 mg/kg, organic acid increased by 5.9 times, pH value was 3.7. The fermented product had good flavor, slight acidity and no aflatoxin.

Keywords: Cassava residues, saccharification, enzyme, protein enrichment, fermentation.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ.

Sắn (*Manihot esculenta* Crantz) là loại cây lấy củ được trồng chủ yếu ở các nước nhiệt đới và cận nhiệt đới (Wanapat, 2003). Tại Việt Nam, trong khoảng 10 năm trở lại đây, cây sắn đã từ một cây lương thực phụ trở thành cây công nghiệp quan trọng, do đó diện tích, năng suất và sản lượng tăng nhanh. Vỏ sắn, lá và bã thải tinh

bột chiếm 25% của cây sắn thường bị loại bỏ như nguồn phế thải sau thu hoạch và chế biến. Lượng bã sắn được thải ra hàng năm từ các cơ sở sản xuất tinh bột tương đối lớn. Theo tính toán, 1 tấn sắn tươi có thể chế biến tối đa được 0,275 tấn tinh bột, tổng lượng bã thải sắn phát sinh là 1,75 tấn, gây phát thải 0,17 tấn đất, bùn, cát; 0,18 tấn vỏ, rễ; 1,40 tấn bã sắn (Tổng cục thống kê Việt Nam, 2016). Phần lớn lượng

bã sắn này được thải ra ngoài môi trường gây lãng phí và ô nhiễm nghiêm trọng. Cũng như nhiều phụ phẩm nông nghiệp khác, bã sắn thường có một số hạn chế như hàm lượng protein thấp, hàm lượng carbohydrate như polysaccharide không phải tinh bột (cellulose, hemicellulose, pectin và lignin) không tiêu hóa được và các chất kháng dinh dưỡng như cyanua, tannin và phytate tương đối cao (Aro, 2008). Khi sử dụng làm thức ăn chăn nuôi, khả năng tiêu hóa thấp, lượng thức ăn ăn vào ít và giảm khả năng sản xuất của động vật là một thực tế, do đó chỉ một lượng rất ít bã sắn được sử dụng làm thức ăn chăn nuôi.

Lên men là một phương pháp vừa khử được các chất kháng dinh dưỡng, vừa có khả năng cải thiện chất lượng protein nên đã được một số nước sử dụng để tăng cường giá trị sử dụng của sắn và phụ phẩm sắn cho cả con người và gia súc (Ubalua, 2007; Aro, 2008). Đối với bã sắn, hàm lượng xơ và tinh bột cao, các vi sinh vật không thể sử dụng trực tiếp để sinh trưởng và phát triển, chỉ một số ít vi sinh vật như nấm sợi (*Aspergillus*, *Penicillium*), nấm men *Saccharomyces* và vi khuẩn *Bacillus* có khả năng sinh ra một số enzyme ngoại bào như amylase, cellulase để thủy phân tinh bột và xơ thành đường đơn, song hoạt tính của chúng tương đối thấp (Pandey *et al.*, 2000; Cherry and Fidantsef, 2003; Singh *et al.*, 2011). Đề tài tiến hành đường hóa và lên men đồng thời bã sắn bằng việc bổ sung chế phẩm đa enzyme (α -amylase, gluco-amylase, cellulase), nấm men và vi khuẩn probiotic (*Lactobacillus*, *Bacillus*) để đường hóa tinh bột, xơ thành các đường đơn tạo cơ chất thích hợp cho sự sinh trưởng, phát triển của các vi sinh vật nhằm tạo ra sản phẩm lên men giàu protein, nhiều vi khuẩn có lợi có thể sử dụng làm thức ăn chất lượng cao cho các động vật dạ dày đơn.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Bã sắn tươi từ các cơ sở chế biến tinh bột thuộc xã Cát Quế, huyện Hoài Đức, Hà Nội được thu gom vào các túi nilon và bảo quản trong tủ lạnh (4°C) cho đến khi sử dụng trong một tuần.

Chế phẩm đa enzyme thô chứa α -amylase, gluco-amylase và cellulase thu được từ quá trình lên men xộp chủng nấm mốc *Aspergillus niger* dòng đột biến GA15 sản xuất tại Phòng Các chất chức năng sinh học, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm khoa học Việt Nam.

Nấm men *Saccharomyces cerevisiae*, vi khuẩn *Lactobacillus* sp. và *Bacillus* sp. được tuyển chọn từ bộ giống của Phòng Các chất chức năng sinh học, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học Việt Nam.

Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* được giữ ở các đĩa petri chứa môi trường Yeast Peptone Dextrose (YPD) gồm cao nấm men (5 g/L), peptone (10 g/L), glucose (20 g/L) và agar (20 g/L) ở pH 5,5 và giữ ở nhiệt độ 4°C, cấy chuyển hàng tháng. Nhân giống cấp 1, cấp 2 trong môi trường YPD lỏng, ở pH 5,5, nuôi lắc 150 vòng/phút ở 30°C trong 48 giờ. Mật độ sau lên men đạt 10^9 - 10^{11} cfu/ml.

Vi khuẩn *Lactobacillus* sp. và *Bacillus* sp. sử dụng trong đề tài được đóng gói dưới dạng bột, mật độ vi khuẩn đạt 10^7 cfu/g mỗi loại.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đường hóa bã sắn bằng enzyme

Để lựa chọn nồng độ enzyme thích hợp trong việc đường hóa, bã sắn sau khi hòa vào nước với tỷ lệ 30% (w/v) được bổ sung chế phẩm đa enzyme ở các nồng độ khác nhau (0, 2, 4, 6, 8, 10%) (tính theo khối lượng cơ chất). Ủ hỗn hợp trong bình kín ở nhiệt độ phòng, sau 24 giờ tiến hành lấy mẫu xác định hàm lượng tinh bột, xơ thô và hàm lượng đường khử. Thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần.

Thời gian đường hóa bã sắn thích hợp được xác định thông qua việc tiến hành ủ dung dịch bã sắn với enzyme ở nồng độ thích hợp ở điều kiện như mô tả ở trên trong 60 giờ. Cứ sau 12 giờ ủ, mẫu được lấy để xác định lượng đường khử. Thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần.

2.2.2. Đường hóa và lên men bã sắn đồng thời tạo sản phẩm giàu protein

Bã sắn tươi hòa vào nước với tỷ lệ 30% (w/v), bổ sung chế phẩm enzyme thô ở hàm lượng thích

hợp. Nấm men *S. cerevisiae*, vi khuẩn *Lactobacillus* sp. và *Bacillus* sp. được bổ sung vào hỗn hợp với hàm lượng 10^7 cfu/ml mỗi loại. Bổ sung nguồn ni tơ với hàm lượng thích hợp.

Để xác định lượng ni tơ bổ sung thích hợp: tiến hành thử bổ sung $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ vào hỗn hợp lên men ở các nồng độ 0; 0,5; 1; 1,5% (w/w). Mỗi công thức lặp lại 3 lần. Tiến hành lên men ở nhiệt độ phòng. Sau 48 giờ xác định hàm lượng protein thô, protein thực. Lượng protein tăng (protein gain - PG, % VCK) được xác định bằng công thức: $\text{PG} = \text{P}_f - \text{P}_o$.

Trong đó: P_o : Hàm lượng protein ở thời điểm bắt đầu (0 giờ) (% VCK); P_f : Hàm lượng protein sau khi lên men (48 giờ) (% VCK).

Xác định thời gian tối ưu cho đường hóa và lên men bã sắn đồng thời thông qua việc thử lên men lỏng bã sắn có bổ sung vi sinh vật (như mô tả ở trên) cùng enzyme và ni tơ ở nồng độ thích hợp. Lên men trong 96 giờ ở nhiệt độ phòng, sau mỗi 24 giờ lấy mẫu phân tích hàm lượng protein thực. Thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần.

2.2.3. Lên men bã sắn ở điều kiện tối ưu

Bã sắn được lên men lỏng có bổ sung vi sinh vật, enzyme và $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ với hàm lượng thích hợp ở nhiệt độ phòng. Sau khoảng thời gian tối ưu lấy mẫu xác định thành phần dinh dưỡng (protein thô, protein thực, tinh bột, xơ thô, lipit thô, khoáng tổng số, axit hữu cơ tổng số, HCN) và đánh giá chất lượng cảm quan của sản phẩm và so sánh với bã sắn trước khi lên men.

2.3. Phương pháp phân tích

- Lấy mẫu phân tích theo TCVN 4325:2007
- Xác định hàm lượng vật chất khô theo TCVN 4326:2007.
- Định lượng khoáng tổng số (tro thô) theo TCVN 4327:2007.
- Định lượng xơ thô bằng phương pháp có chọn lọc trung gian theo TCVN 4329: 2007.
- Xác định hàm lượng lipit thô theo TCVN 4321:2007.
- Định lượng protein thô được tính toán trên cơ sở xác định hàm lượng ni tơ tổng số bằng phương pháp Kjeldahl theo TCVN 4328:2007.

- Phương pháp xác định hàm lượng protein thực: Nghiền nhỏ mẫu, hòa với nước cất trong bình tam giác, đun cách thủy trong 30 phút; để nguội, kết tủa protein bằng axit tricloaxetic; tách kết tủa, rửa sạch và định lượng ni tơ theo phương pháp của Kjeldahl.

- Xác định hàm lượng tinh bột: Tinh bột được thủy phân thành đường trong dung dịch HCl 10% ở điều kiện đun sôi trong bình cách thủy trong 90 phút. Dung dịch thủy phân được làm nguội và trung hòa bằng NaOH với chỉ thị methyl da cam. Hàm lượng đường sau khi thủy phân được xác định bằng phương pháp DNS theo mô tả của Miller (1959).

- Đường khử được xác định theo phương pháp DNS được đề xuất bởi Miller (1959).

- pH được đo bằng máy đo pH để bàn của hãng Mettler Toledo, Trung Quốc.

- HCN và aflatoxin được gửi phân tích tại viện Vệ sinh và an toàn thực phẩm Quốc gia.

2.4. Xử lý số liệu

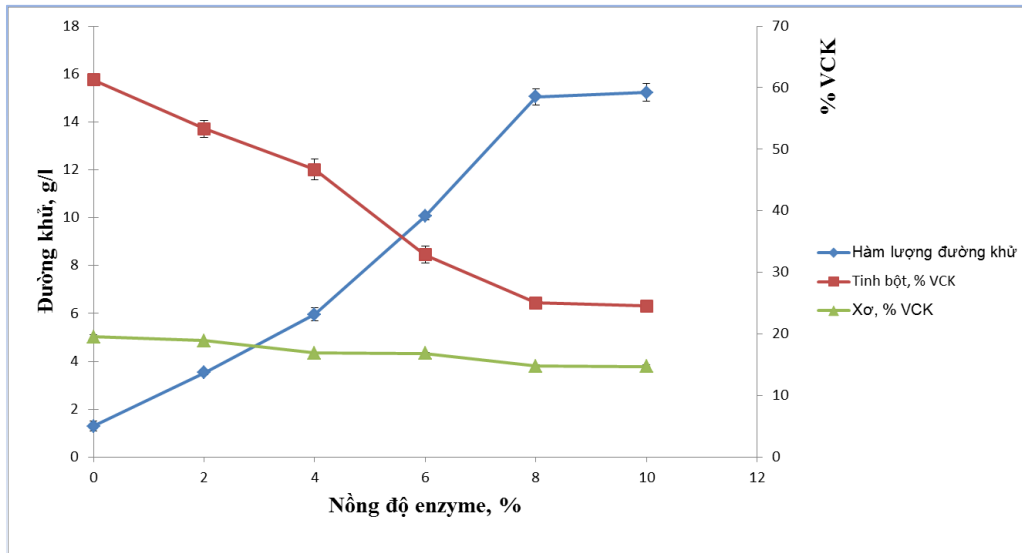
Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và SAS 9.0, phân tích phương sai (ANOVA) với phép thử DUCAN ở mức ý nghĩa $P < 0,05$

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đường hóa bã sắn bằng enzyme

Quá trình đường hóa là quá trình chuyển hóa hoàn toàn dextrin thành đường khử. Chế phẩm đa enzyme sử dụng trong nghiên cứu gồm 3 loại enzyme là cellulase phân hủy cellulose thành glucose và dextrin, α -amylase thủy phân tinh bột thành dextrin ở trạng thái hòa tan, sau đó glucoamylase sẽ chuyển hóa hoàn toàn các dextrin thành đường khử. Mức độ đường hóa bã sắn phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau như: nồng độ enzyme, thời gian ủ và nồng độ cơ chất. Để xác định nồng độ enzyme thích hợp cho đường hóa bã sắn, các nồng độ khác nhau của enzyme (từ 0 đến 10%) được thêm vào bã sắn và ủ ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ.

Trong điều kiện thí nghiệm cơ chất không đổi, khi tăng nồng độ enzyme thì tốc độ phản ứng sẽ tăng, khi nồng độ enzyme và nồng độ cơ chất ở mức bão hòa, nếu tăng nồng độ enzyme



Hình 1. Hàm lượng đường khử, tinh bột và xơ của bã sắn ở các nồng độ enzyme khác nhau

thì tốc độ phản ứng không thay đổi. Kết quả hình 1 cho thấy khi tăng nồng độ enzyme từ 0 đến 8% thì hàm lượng đường khử tăng có ý nghĩa ($P < 0,001$), tăng tương ứng từ 1,29 (g/l) đến 15,05 (g/l). Tuy nhiên, khi nồng độ enzyme tăng lên tới 10% thì hàm lượng đường khử không có sự khác biệt so với ở nồng độ enzyme 8%. Khi hàm lượng đường khử tăng thì hàm lượng tinh bột và xơ (cơ chất cho sự xúc tác của enzyme) giảm. Hàm lượng tinh bột còn lại trong bã sắn cao nhất trong các mẫu không có sự bổ sung enzyme với 61,31% (VCK) và giảm dần khi tăng lượng enzyme bổ sung, giảm thấp nhất là khi bổ sung tương ứng 8 và 10% enzyme vào bã sắn, mức độ giảm so với không bổ sung tương ứng 59,11% và 60%. Hàm lượng xơ thô cũng giảm rõ rệt ở các mức bổ sung enzyme khác nhau ($P < 0,001$), giảm thấp nhất khi bổ sung 8 và 10% enzyme, tương ứng với 14,79 và 14,69% (VCK), tuy nhiên mức độ giảm cao nhất chỉ khoảng 24% so với không bổ sung enzyme. Như vậy, có thể nói enzyme bị bão hòa ở nồng độ 8% hay nói cách khác đây là nồng độ tối ưu cho hoạt động đường hóa bã sắn của enzyme.

3.2. Thời gian tối ưu cho đường hóa bã sắn bằng enzyme

Tối ưu thời gian đường hóa bã sắn được tiến hành với việc sử dụng nồng độ enzyme tối ưu

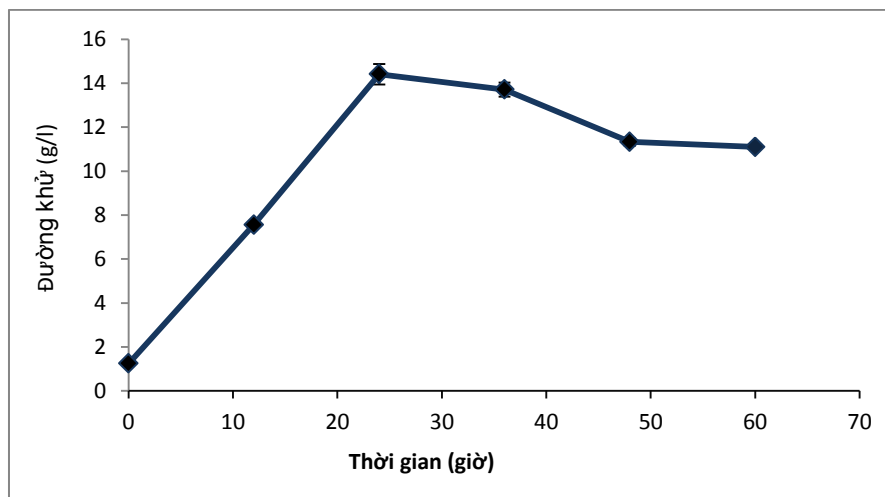
(8%) (Hình 2). Tốc độ phản ứng của enzyme tăng theo thời gian phản ứng do enzyme có thời gian tiếp xúc và gắn với cơ chất. Thời gian kết thúc phản ứng được xác định khi tốc độ phản ứng xảy ra chậm hoặc dừng lại hay nồng độ sản phẩm tăng ít hoặc không tăng nữa.

Khi tăng thời gian thủy phân từ 0 đến 24 giờ, kết quả cho thấy hàm lượng đường khử tăng lên đáng kể do enzyme dễ dàng tiếp xúc với cơ chất, hàm lượng đường khử cao nhất đạt được ở 24 giờ là 14,4 g/l. Nếu tiếp tục tăng thời gian thủy phân từ 24 đến 60 giờ thì hàm lượng đường khử tạo thành không những không tăng lên mà còn giảm đi, hàm lượng đường khử ở 36, 48 và 60 giờ tương ứng lần lượt là 13,71; 11,33 và 11,11 (g/l), sự giảm sút này có thể do sự sử dụng đường của các vi sinh vật có mặt trong bã sắn. Như vậy có thể chọn 24 giờ là thời gian tối ưu cho đường hóa bã sắn.

3.3. Đường hóa và lên men đồng thời bã sắn bằng enzyme và vi sinh vật

3.3.1. Xác định mức bổ sung bổ sung ni tơ thích hợp đến làm giàu protein từ bã sắn

Ni tơ là nguồn thức ăn không thể thiếu được của vi sinh vật, nguồn ni tơ dễ hấp thụ nhất đối với vi sinh vật là NH_3 và NH_4^+ . Chúng sẽ sử dụng ni tơ cho sự sinh trưởng của mình, từ đó



Hình 2. Hàm lượng đường khử theo thời gian đường hóa bã sắn bằng enzyme

Bảng 1. Hàm lượng protein của bã sắn trước và sau lên men khi bổ sung $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ở các nồng độ khác nhau

Hàm lượng protein (%VCK)	Nồng độ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (n = 3)			
	0%	0,5%	1%	1,5%
Protein thô sau lên men	5,82 ± 0,11 ^d	11,79 ± 0,15 ^c	15,81 ± 0,11 ^b	20,83 ± 0,10 ^a
Protein thực trước lên men	1,37 ± 0,87	1,41 ± 0,96	1,47 ± 0,09	1,36 ± 0,5
Protein thực sau lên men	3,71 ± 0,08 ^c	6,21 ± 0,11 ^b	6,73 ± 0,03 ^a	6,61 ± 0,01 ^a
Protein thực/Protein thô sau lên men (%)	63,9 ± 2,09 ^a	52,62 ± 0,32 ^b	42,55 ± 0,28 ^c	31,2 ± 0,09 ^d
Tăng protein thực (PG)	2,34 ± 0,13 ^c	4,79 ± 0,07 ^b	5,25 ± 0,13 ^a	5,27 ± 0,06 ^a

Chú thích: Trong cùng một hàng ngang, những giá trị trung bình không mang cùng chữ cái thì sai số có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

làm tăng hàm lượng protein trong sản phẩm lên men (Noomhorm *et al.*, 1992).

Bã sắn được lên men lỏng với sự bổ sung ni tơ bởi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ở các nồng độ khác nhau. Sau 48 giờ lên men, hàm lượng protein thô, protein thực và sự tăng protein thực trước và sau lên men có sự khác nhau đáng kể giữa các quan sát ($P < 0,0001$) (Bảng 1).

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ được bổ sung vào dịch lên men đóng vai trò là nguồn ni tơ cho sự sinh trưởng của các vi sinh vật có mặt trong dung dịch lên men. Kết quả cho thấy việc bổ sung 1% và 1,5% của $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ là tốt nhất để làm giàu protein của bã sắn trong lên men lỏng với nấm men *S. cerevisiae*, *Lacobacillus* sp. và *Bacillus* sp.. Lượng protein thực sau lên men tăng 5,25 lần ở cả hai mức bổ sung $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Khi bổ sung

1,5% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ hàm lượng protein thô cao nhất, với 20,83% (VCK), song hàm lượng protein thực chỉ đạt 6,61% (VCK), tương đương với mức bổ sung 1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Như vậy, có thể chọn mức bổ sung 1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ là mức bổ sung thích hợp trong lên men làm giàu protein của bã sắn.

Nhiều nghiên cứu cũng đã chỉ ra vai trò của ni tơ trong quá trình lên men làm giàu protein. Haddadin *et al.* (1999) cho biết, khi lên men SSB bã ô liu, mức protein tăng khi cơ chất được bổ sung 0,5% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Oboh & Akindahunsi (2003) cũng quan sát thấy khi lên men SSB các thành phần của sắn với *S.cerevisiae* trong môi trường có bổ sung ure, MgSO_4 và axit citric thì lượng protein cuối cùng trong sản phẩm tăng gấp đôi ở gari và bột sắn. Yang (1988) chỉ ra rằng *S.cerevisiae* làm tăng lượng protein của bã

khoai lang từ 6,01% đến 14,04% sau 72 giờ lên men khi bổ sung $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4/\text{ure}$ (1:1 w/w).

3.3.2. Tối ưu thời gian đường hóa và lên men bã sắn

Bã sắn được lên men lỏng ở điều kiện tối ưu với sự bổ sung 1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ trong 96 giờ, sau mỗi 24 giờ tiến hành lấy mẫu phân tích hàm lượng protein thực. Kết quả được chỉ ra ở hình 3.

Lượng protein tăng tuyến tính trong suốt 48 giờ đầu, sau 48 giờ lên men, lượng protein thực tăng từ 1,37 đến 6,7 % (VCK), sau đó giảm dần do quá trình phân hủy protein xảy ra sau đó. Lượng protein cao ở 48 giờ chỉ ra khả năng sinh trưởng của các vi sinh vật trên cơ chất này. Trong 24 giờ đầu của quá trình lên men, lượng đường khử giải phóng ra nhiều, chúng được sử dụng nhanh chóng như cơ chất thích hợp cho sự nhân lên bởi nấm men và vi khuẩn. Đặc tính này của chúng cho thấy *S. cerevisiae*, *Lactobacillus* và *Bacillus* có khả năng chuyển hóa một cách có hiệu quả đường như là nguồn carbon của nó để làm giàu protein của bã sắn.

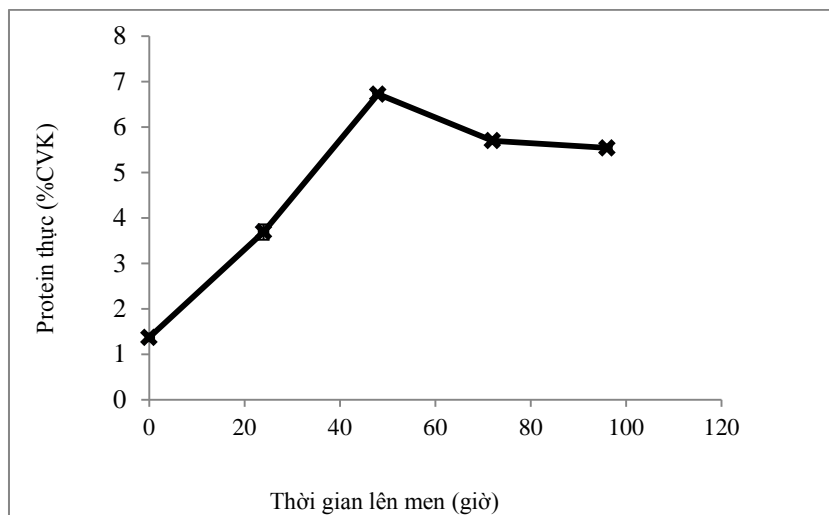
3.4. Thành phần dinh dưỡng của bã sắn trước và sau lên men ở điều kiện tối ưu

Kết quả phân tích thành phần dinh dưỡng của bã sắn trước và sau lên men (Bảng 2) cho thấy bã sắn trước khi lên men có thành phần dinh dưỡng rất thấp, trong khi đó hàm lượng xơ và HCN còn lại tương đối cao nên không thể sử dụng trực tiếp làm thức ăn cho gia súc. Sau lên men ở điều kiện tối ưu có bổ sung chế phẩm đa enzyme, nấm men *S.cerevisiae*, vi khuẩn *Lactobacillus* sp. và *Bacillus* sp. thành phần dinh dưỡng cải thiện rõ rệt ($P < 0,05$) (ngoại trừ hàm lượng lipit thô). Hàm lượng protein thô tăng 7,3 lần, protein thực tăng 5,5 lần do sự tăng trưởng và tăng sinh của nấm men và vi khuẩn trong việc tạo thành protein đơn bào và một phần do protein của enzyme bổ sung vào mẫu lên men.

Sau lên men, tinh bột và xơ trong bã sắn đều giảm đáng kể, tinh bột giảm từ 60,37% (VCK) xuống còn 25,15% (VCK), xơ thô giảm từ 21,01 xuống 15,01% (VCK), sự giảm này là do

sự thủy phân của enzyme trong chế phẩm đa enzyme được bổ sung vào và có thể do hoạt động của các vi sinh vật có khả năng tiết ra một số enzyme ngoại bào, chúng sẽ thủy phân tinh bột và xơ thành các đường đơn làm cơ chất cho sự sinh trưởng và phát triển của mình. Sự gia tăng lượng khoáng tổng số trong bã sắn sau lên men có thể do sự có mặt của các khoáng chất trong dung dịch lên men nấm men *S.cerevisiae*. Hàm lượng axit hữu cơ của bã sắn sau lên men tăng 5,9 lần do hoạt động của các vi sinh vật có mặt trong dung dịch lên men đã sinh ra axit lactic, acetic và ethanol làm giảm pH của hỗn hợp, đồng thời làm cho sản phẩm có mùi thơm, chua. Việc giảm pH sẽ ức chế vi sinh vật gây bệnh phát triển trong sản phẩm lên men. Hơn thế, khi hỗn hợp có pH thấp này nếu sử dụng làm thức ăn cho gia súc sẽ làm giảm pH trong dạ dày của lợn và ngăn cản sự phát triển của các tác nhân gây bệnh như *Coliforms* and *Salmonella* trong đường tiêu hóa (Missotten *et al.*, 2015). Trong bã sắn, thường có chứa nồng độ cyanogenic glucosides cao nên ko phù hợp làm thức ăn cho gia súc. Bã sắn sau lên men vi sinh, hàm lượng cyanide đã giảm đáng kể, chỉ còn 20,54 mg/kg VCK, do các vi sinh vật trong dung dịch lên men có khả năng phân hủy từng phần cyanogenic glucosides và phá vỡ sản phẩm. Như vậy, sản phẩm lên men cùng các vi sinh vật có khả năng giải độc cyanide, sản phẩm được coi là an toàn trong các điều khoản về ngộ độc cyanide theo quan điểm thực tế là cyanide thấp hơn mức nguy hại 30 mg/kgVCK (Tweyongyere & Katongole, 2002). Nguyễn Hữu Văn và cs. (2008) cũng cho biết bã sắn sau 21 ngày ủ chua, hàm lượng HCN cũng giảm rõ rệt từ 192 - 209 mg/kg xuống còn 77 - 81 mg/kg VCK.

Nhiều phân tích khác trong phòng thí nghiệm và các thử nghiệm trên động vật đã cho thấy giá trị dinh dưỡng của bã sắn sau lên men vi sinh. Aro (2008) đã cho rằng sự lên men vi sinh vật với bã thải tinh bột sắn có thể cải thiện chất lượng dinh dưỡng bằng việc tăng protein thô, khoáng tổng số và giảm cyanide, CF, NDF và ADF.



Hình 3. Hàm lượng protein thực ở các thời điểm lên men khác nhau

Bảng 2. Thành phần dinh dưỡng và cảm quan của bã sắn trước và sau khi lên men

Thành phần	Trước lên men	Sau lên men
Protein thô (%VCK)	2,19 ± 0,23	16,02 ± 0,45
Protein thực (%VCK)	1,23 ± 0,15	6,79 ± 0,31
Tinh bột (%VCK)	60,37 ± 3,45	25,15 ± 2,24
Xơ thô (%VCK)	21,01 ± 1,23	15,01 ± 2,05
Lipit thô (%VCK)	0,52 ± 0,24	0,61 ± 0,43
Khoáng tổng số (%VCK)	2,01 ± 0,32	7,38 ± 0,67
AXHC tổng số (g/kg tươi)	2,02 ± 0,14	11,86 ± 1,01
HCN (mg/kg VCK)	59,7 ± 0,56	20,54 ± 0,65
pH	4,5 ± 0,34	3,7 ± 0,56
Aflatoxin	-	-
Cảm quan	Màu vàng nhạt, mùi hắc	Màu vàng nâu, thơm, chua

Chú thích: - Các kết quả được tính theo vật chất khô, riêng axit hữu cơ tổng số tính theo mẫu tươi; Dấu "-": không phát hiện; Trong cùng một hàng ngang, những giá trị trung bình không mang cùng chữ cái thì sai số có ý nghĩa thống kê; AXHC: axit hữu cơ

4. KẾT LUẬN

Giá trị của bã sắn sau khi đường hóa và lên men đồng thời bằng lên men lỏng với tỷ lệ 30% bằng 8% chế phẩm đa enzyme, nấm men *S. cerevisiae*, vi khuẩn *Lactobacillus* sp. và *Bacillus* sp. đồng thời bổ sung 1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ trong thời gian 48 giờ được cải thiện rõ rệt. Cụ thể so với bã sắn tươi sau khi đường hóa và lên men protein thô tăng 7,3 lần và protein thực tăng 5,5 lần, đồng thời HCN giảm còn 20,54 mg/kg, lượng axit hữu cơ tăng 5,9 lần, pH 3,7. Đặc biệt màu sắc bắt mắt,

mùi thơm, chua và không phát hiện độc tố nấm mốc. Vì vậy, có thể tiếp tục nghiên cứu sử dụng bã sắn sau đường hóa và lên men làm thức ăn cho gia súc.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Sở KH-CN Hà Nội đã tài trợ kinh phí nghiên cứu trong khuôn khổ đề tài cấp thành phố do phòng các chất chức năng sinh học, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học Việt Nam chủ trì.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Aro S. (2008). Improvement in the nutritive quality of cassava and its by-products through microbial fermentation, *African Journal of Biotechnology*, 7(25).
- Cherry J. R. and Fidantsef, A. L. (2003). Directed evolution of industrial enzymes: an update, *Current opinion in biotechnology*, 14(4): 438-443.
- Haddadin M. S., Abdulrahim, S. M., Al-Khawaldeh, G. Y., and Robinson, R. K. (1999). Solid state fermentation of waste pomace from olive processing, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 74(7): 613-618.
- Miller G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar, *Analytical chemistry*, 31(3): 426-428.
- Missotten J. A., Michiels, J., Degroote, J., and De Smet, S. (2015). Fermented liquid feed for pigs: an ancient technique for the future, *Journal of animal science and biotechnology*, 6(1): 4.
- Nguyễn Hữu Văn, Nguyễn Xuân Bá, Bùi Văn Lợi (2008). Đánh giá giá trị dinh dưỡng của bã sắn công nghiệp ủ chua với các phụ gia để làm thức ăn cho gia súc nhai lại, *Tạp chí Khoa học, Đại học Huế*, 46: 129-135.
- Noomhorm A., Ilangantileke, S., and Bautista, M. (1992). Factors in the protein enrichment of cassava by solid state fermentation, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 58(1): 117-123.
- Oboh G. and Akindahunsi, A. (2003). Biochemical changes in cassava products (flour & gari) subjected to *Saccharomyces cerevisiae* solid media fermentation, *Food Chemistry*, 82(4): 599-602.
- Pandey A., Soccol, C. R., and Mitchell, D. (2000). New developments in solid state fermentation: I-bioprocesses and products, *Process biochemistry*, 35(10): 1153-1169.
- Singh S., Sharma, V., Soni, M., and Das, S. (2011). Biotechnological applications of industrially important amylase enzyme, *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2: 486-496.
- Tổng cục thống kê (2016). Niên giám thống kê 2016. Nhà xuất bản thống kê, Hà Nội.
- Tweyongyere R. and Katongole, I. (2002). Cyanogenic potential of cassava peels and their detoxification for utilization as livestock feed, *Veterinary and human toxicology*, 44(6): 366-369.
- Ubalua A. (2007). Cassava wastes: treatment options and value addition alternatives, *African Journal of Biotechnology*, 6(18): 2065-2073.
- Wanapat M. (2003). Manipulation of cassava cultivation and utilization to improve protein to energy biomass for livestock feeding in the tropics, *Asian australasian journal of animal sciences*, 16(3): 463-472.
- Yang S. S. (1988). Protein enrichment of sweet potato residue with amylolytic yeasts by solid-state fermentation, *Biotechnology and bioengineering*, 32(7): 886-890.