

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ

BÁO CÁO NGHIỆM THU

ĐỀ TÀI

**SẢN XUẤT PROTEIN NẤM SỢI
LÀM THỨC ĂN GIA SÚC, TÔM, CÁ**

Cán bộ thực hiện:

- Nguyễn văn Bá
- Trần văn Sanh
- Lưu hữu Mạnh
- Trần phước Đường

- 1995 -

04/9/95

TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ
1809
THƯ VIỆN
CÁN BỘ QUẢN LÝ

MỤC LỤC

	trang
TÓM TẮT KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	2
ABSTRACT	3
BÁO CÁO TỔNG QUAN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	4
I. Đặt vấn đề	4
II. Nội dung nghiên cứu	5
II.1. Phương pháp nghiên cứu & kết quả sản xuất bột bào tử giống	5
II.2. Phương pháp nghiên cứu & kết quả sản xuất chế phẩm protein nấm sợi	6
II.3. Phương pháp nghiên cứu & kết quả bước đầu sử dụng chế phẩm protein nấm sợi làm thức ăn viên cho heo con và tôm con	9
III. Kết luận và đề nghị	12
TÀI LIỆU THAM KHẢO	13
PHỤ LỤC	15

TÓM TẮT KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Đề tài: Sản xuất protein nấm sợi làm thức ăn gia súc, tôm, cá.

Sử dụng nấm sợi *Cephalosporium eichhorniae* (C152) nuôi cấy bề mặt để sản xuất chế phẩm protein nấm sợi dùng làm thức ăn cho heo con, tôm con.

Nuôi C152 5 ngày với cơm tấm có hàm lượng nước khoảng 45% trong túi polypropylen (PP) có bổ sung khoáng 0,005g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ /g tấm và chủng giống ở mức 3×10^4 bào tử /g tấm, kết quả cho sản lượng bào tử khoảng 8×10^8 bào tử/g sản phẩm. Sấy khối ú ở nhiệt độ 50°C và bảo quản khô để làm giống trong vòng 1 tháng. Liều lượng sử dụng = 0,3 - 0,5%.

Ép nóng khoai mì và phân gà ở dạng bột ẩm thành sợi bún rồi chùng bột bào tử giống, ú 2 ngày để sản xuất giống cấp 1. Giống cấp 1 được sử dụng để chùng lên môi trường ép sợi như trên, ú 3 ngày để sản xuất protein nấm sợi. Bột khoai mì được bổ sung khoáng 25% phân gà cho hàm lượng protein thô khoảng 12-13% CP/ sản phẩm khô. Khối ú rất dễ phơi hoặc sấy khô. Sản phẩm khô có mùi nấm thơm sấy.

Chế phẩm protein nấm sợi có thể thay thế một phần bột cá và bổ sung enzym trong khẩu phần heo theo mẹ, heo sau cai sữa, đồng thời cũng là nguồn bổ sung chitin, enzym cho thức ăn tôm. Bước đầu thử nghiệm trên vật nuôi cho thấy có triển vọng.

Heo sau cai sữa ở 52 ngày tuổi sau 4 tuần nuôi ăn thức ăn bột có nấm sợi tăng trọng nhanh hơn heo ăn thức ăn không có nấm sợi 19,19% , khác biệt rất có ý nghĩa ở mức 1%, tiêu tốn thức ăn ít hơn (19,98Kg < 21,7Kg), hệ số chuyển hóa thức ăn nhỏ hơn (2,39 < 3,29 / 1Kg tăng trọng), và lời hơn (36%).

Hậu ấu trùng tôm sú ở 15 ngày tuổi ăn thức ăn viên có nấm sợi tăng trọng không khác biệt có ý nghĩa ở mức 5% so với tôm ăn thức ăn CP Thái lan, chi phí thức ăn có nấm sợi là 13-14 ngàn cho 1 kg tăng trọng, so với thức ăn CP Thái là 18 ngàn đồng.

Từ khóa: nuôi cấy bề mặt, sản xuất bào tử, lên men khoai mì, sản xuất protein nấm sợi.

ABSTRACT

Ba, N. V., T.V. Sanh, L.H. Manh, T.P. Duong (1995). Protein enrichment of cassava for animal and shrimp feeds, Cantho University, Vietnam.

The aim of the study was to find a low-cost process on cassava into a microbiological safe and protein rich product for animal and shrimp feeds.

The use of *Cephalosporium eichhorniae* 152,(ATCC 38255), symbol as C.152, a thermophilic, acidophilic, amylolytic fungus, for protein enrichment of cassava by solid - substrate cultivation (S S C) was investigated.

Firstly, optimization of production C.152 spores in simple technique using as inoculant was carried out. Effects of inoculum sizes, ammonium sulfate doses, and moisture contents of the sterilized broken rice on sporulation of C. 152 in polypropylene bags was described. A study of 3^3 factorial experimental design allowed the optimum log number of spore yields = $8.815 = \log 8.8 \times 10^8$ spores/g dried spore mass , and the following parameters were also determined:

- 3.375×10^4 C.152 spores/g broken rice as inoculum size.
- 5×10^{-3} g/g broken rice as supplemented ammonium sulfate dose.
- 43.5% moisture content of the medium.

Secondly, a simple, nonaseptic, low-cost process for protein rich product on cassava in farm conditions was optimized. Effects of broiler manure doses, duration of cultivation and pH levels of the moistened spaghetti media in plastic bags were carried out. The medium was prepared by pelleting technique at 90°C for gelatinizing the starch and could be carried out in SSC without sterilization of the substrate and without the use of aseptic conditions. The product containing 13.64% crude protein was produced in the following parameters:

- 28% of the medium as broiler manure dose.
- 5.76 as pH.
- 120 hours as duration cultivation.

For developing of process in farm conditions, the primary fresh product at 48 hour cultivation was reused as inoculant and mixed by hand in the second step. The results shown that the duration cultivation was decreased from 120 hours to 72 hours.

Finally, application the C.152 fermented cassava for mixing the compound feeds for post - larvae (*Penaeus monodon*) and pigs (Yorshire) was carried out. The results showed that part of fish meal or part of soybean meal may be replaced by this product.

Keywords: solid - substrate cultivation, sporulation, protein enrichment, low - cost process.

BÁO CÁO TỔNG QUAN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Đề tài: " Sản xuất protein nấm sợi làm thức ăn cho gia súc, tôm, cá "

I. Đặt vấn đề:

Khoai mì (*Manihot esculenta*, Crantz) là một trong mười nông sản có triển vọng, vừa không kén đất, vừa trồng được khắp nơi, nhiều loại lại cho năng suất rất cao (năm, bảy chục tấn/ha/năm [16]).

Củ khoai mì là đặc sản của vùng nhiệt đới và bán nhiệt đới. Số di sản lượng khoai mì ở Việt nam hàng năm không tăng mấy là vì công nghệ chế biến bảo quản còn nghèo. Gần đây, công nghệ sản xuất bột ngọt, sử dụng khoai mì làm nguồn nguyên liệu là một hướng phát triển tốt. Khoai mì được sử dụng rộng rãi ở các nước nhiệt đới để nuôi heo, bò, cừu và gà. Tuy nhiên khoai mì không thể dùng như một nguồn thức ăn duy nhất vì thiếu protein và vitamin, hàm lượng protein trong khoai mì không đáng kể (2%). Nhiều công trình nghiên cứu trong và ngoài nước nhằm làm gia tăng hàm lượng protein của khoai mì bằng cách nuôi cấy nấm sợi có hàm lượng đạm cao [2, 3, 4].

Giáo sư Nguyễn Lâm Dũng đã nghiên cứu thành công việc sử dụng nấm sợi và nấm men nuôi cấy trên bột khoai mì có bổ sung N, P, K , sử dụng trực tiếp phục vụ chăn nuôi heo, bò ở gia đình.

Trung Tâm Nghiên Cứu và Phát Triển Công Nghệ Sinh Học, Đại Học Cần Thơ đã tiến hành nghiên cứu để phát triển việc nuôi cấy nấm sợi từ năm 1988 [1].

Giống nấm sợi *Cephalosporium eichhorniae*, Padwick , (ATCC 38255), gọi tắt là C152, (phân loại lại là *Acremonium alabamense*, trong: Addendum in Proof), được thân tặng bởi Giáo sư Gregory, Đại học Guelph, Canada, được tiến hành nghiên cứu sản xuất chế phẩm protein nấm sợi làm thức ăn cho gia súc, tôm, cá.

Nội dung nghiên cứu gồm ba bước:

1. Sản xuất bột bào tử giống.
2. Sản xuất chế phẩm protein nấm sợi.
3. Bước đầu sử dụng chế phẩm protein nấm sợi làm thức ăn cho heo con và tôm con.

II. Nội dung nghiên cứu:

II.1. Phương pháp nghiên cứu và kết quả sản xuất bột bào tử giống:

Hiện nay, thực tế sản xuất thực phẩm lên men và các sản phẩm lên men khác ở Việt nam vẫn còn sử dụng các giống nấm sợi từ tự nhiên. Nấm sợi làm tương được giữ giống trên các nia dùng để ủ mốc tương. Nấm sợi lên men rượu và cơm rượu được giữ giống trong các viên men lẫn với bột gạo và một số vị thuốc. Phương pháp truyền giống nấm sợi cổ truyền này có nhược điểm là dễ bị tạp nhiễm trong quá trình nhân giống và lên men đơn giản làm cho sản lượng và chất lượng của sản phẩm không ổn định.

C152 là giống nấm sợi đã được xác định là không sinh ra độc tố, không sinh chất kháng sinh. Nấm sản sinh enzym α -amylase và glucoamylase để sử dụng tinh bột làm nguồn carbon và năng lượng. C152 ưa nhiệt và chịu được pH thấp, rất thuận lợi trong sản xuất, không cần phải khử trùng nghiêm ngặt [11].

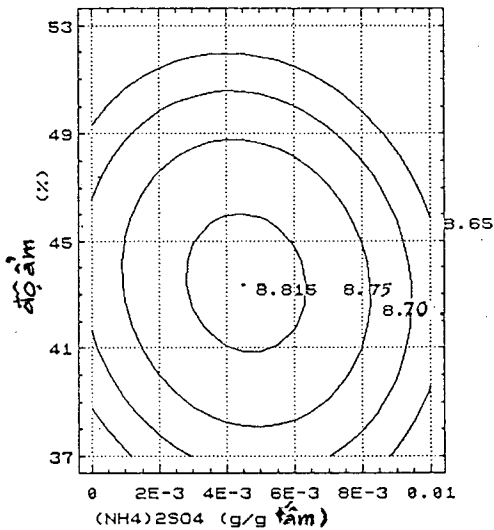
Để giải quyết khâu giống cho sản xuất chế phẩm protein nấm sợi, chúng tôi đã sử dụng tấm hấp chín trong túi polypropylene (PP) làm môi trường nuôi cấy nấm C152, tìm điều kiện thích hợp cho việc sản xuất bột bào tử giống. Thí nghiệm được bố trí theo phương pháp thừa số gồm ba nhân tố (mức giống, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bổ sung và hàm lượng nước của cơm tấm), mỗi nhân tố có ba mức độ. Chỉ tiêu theo dõi là sản lượng bào tử/g sản phẩm được đếm qua kính hiển vi và tính kết quả. Dữ liệu thí nghiệm được phân tích thống kê theo chương trình Statgraphics, kiểm định F, kiểm định LSD 5%, tính phương trình hồi qui và vẽ biểu đồ [5, và phụ lục trang 15, 16, 17, 18].

Đồ thị đường mức (contour) ở hình 1 cho thấy với mức giống $3,375 \times 10^4$ bào tử/g tấm đạt sản lượng $8,8 \times 10^8$ bào tử /g sản phẩm thì cần phải bổ sung $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ là 0,0045 g/g tấm và hàm lượng nước của môi trường phải chính là 43,5% nước.

Qua tính toán tối ưu hóa dựa theo phương trình hồi qui (phụ lục trang 18) thì tổ hợp các nhân tố thích hợp nhất như sau:

- Mức giống = $17,767 \times 10^4$ bào tử/g tấm
- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bổ sung = 0,0049g/g tấm
- Hàm lượng nước của môi trường = 44,45% nước

Với tổ hợp này, sản lượng bào tử dự đoán của mô hình cao nhất là $8,4 \times 10^8$ bào tử/g sản phẩm.



$$Y_{x11} = 4,248 + 72,0756 X_2 + 0,2027 X_3 - 4895,7777 X_2^2 - 0,0023 X_3^2 - 0,628 X_2 X_3$$

H.1: Đồ thị đường mức của mật số bào tử theo các mức của $(NH_4)_2SO_4$ và độ ẩm khi mức giống $= 3,375 \times 10^4$ bào tử/g nấm

Sau khi ủ 5 ngày để đạt sản lượng bào tử như trên, khối ủ được đem đi sấy khô ở nhiệt độ 45 - 50°C và tồn trữ khô trong vòng 1 tháng. Liều lượng sử dụng = 0,3 - 0,5%.

Việc sản xuất bột bào tử giống đã được giải quyết bằng phương pháp nuôi cấy ít tốn kém, điểm quan trọng là bảo đảm chất lượng, dễ sử dụng, dễ bảo quản, kết hợp giữa phương pháp cổ truyền và công nghệ sinh học. Phương pháp này đem áp dụng để sản xuất bột bào tử giống *Rhizopus oligosporus*, *Aspergillus oryzae* đạt kết quả tốt [10, và phụ lục trang 19].

II.2. Phương pháp nghiên cứu và kết quả sản xuất chế phẩm protein nấm sợi:

Trước đây, chúng tôi đã so sánh năng suất protein sinh ra giữa hai phương pháp nuôi cấy bề mặt (surface culture) và phương pháp nuôi cấy chìm (deep culture). Ở phương pháp nuôi cấy chìm, năng suất protein không cao so với phương pháp nuôi cấy bề mặt nếu tính trên đơn vị tinh bột được sử dụng [1]. Chúng tôi quyết định chọn phương pháp nuôi cấy bề mặt để sản xuất protein nấm sợi C152 vì đây là điều kiện tự nhiên thích hợp cho sự phát triển của nấm mốc, và cũng là phương pháp thường sử dụng trong dân gian, ít tốn kém.

Khoai mì, nguồn tinh bột rẻ tiền nhưng lại khó xử lý nếu được dùng làm môi trường nuôi cấy nấm sợi. Phân gà là chất thải được nghiên cứu để tái sử dụng trong thời gian gần đây và là nguồn cung cấp N, P, K cho nấm sợi.

Đầu tiên, chúng tôi dùng phương pháp ép sợi, phơi khô [12], rồi khử trùng và nuôi cấy trên khay [7] nhưng đã không thành công, hậu quả là bào tử mọc chậm và thường bị nhiễm.

Thay vì ủ trên khay, chúng tôi chuyển sang ủ trong túi PP giống như ủ meo nấm rơm, nấm mèo, năng suất protein không cao, cao nhất chỉ đạt 6% protein thô (CP)[13, 14, và phụ lục trang 20].

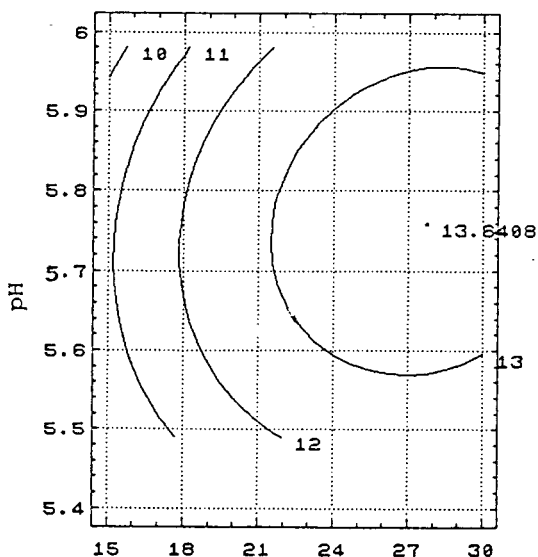
Cuối cùng, áp dụng phương pháp ép nóng nguyên liệu (khoai mì và phân gà) dưới dạng bột ẩm bằng thiết bị tự chế do Giáo sư Trần Phước Đường thiết kế, chúng tôi đã thành công. Qua ép nóng, nguyên liệu được thanh trùng đồng thời tinh bột cũng được hồ hoá. Phương pháp này tiện dụng, đơn giản và an toàn không cần phải khử trùng tốn kém [8].

Thí nghiệm cũng được bố trí theo phương pháp thừa số để tìm tổ hợp các nhân tố thích hợp (hàm lượng phân gà bổ sung, pH và thời gian ủ) cho năng suất protein cao nhất.. Chỉ tiêu theo dõi là hàm lượng protein thô của sản phẩm và hàm lượng protein gia tăng. Dữ liệu được phân tích thống kê theo chương trình Statgraphics và vẽ biểu đồ (phụ lục trang 21-26)

Đồ thị đường mức về hàm lượng protein thô trong sản phẩm theo các mức phân gà bổ sung và pH thu hoạch ở 120 giờ cho thấy:

- Hàm lượng phân gà bổ sung = 28%
- pH = 5,76

Hàm lượng protein thô cao nhất đạt trên 13,6% sản phẩm khô (Hình 2)



$$Y_{X22} = -555,4566 + 0,1739X_1 + 196,6785X_3 - 0,0174X_1^2 - 17,3922X_3^2 + 0,1366X_1X_3$$

(X₂₂ = 120 giờ)

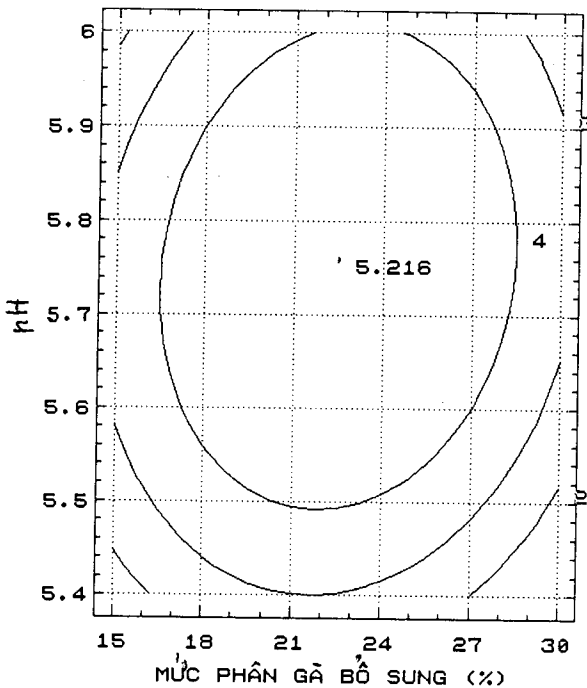
mức phân gà bổ sung (%)

H.2: Hàm lượng protein thô thay đổi theo mức phân gà và pH

Về hàm lượng protein gia tăng, đồ thị đường mức theo mức phân gà bổ sung, pH khi thu hoạch ở 120 giờ cho thấy:

- Hàm lượng phân gà bổ sung = 22,50%
- pH = 5,76

Hàm lượng protein gia tăng cao nhất là 5,2% của sản phẩm khô (hình 3).



$$Y_{X_{23}} = -599.126 + 0.576X_1 + 207.97X_3 - 0.034X_1^2 - 18.41X_3^2 + 0.1658X_1X_3$$

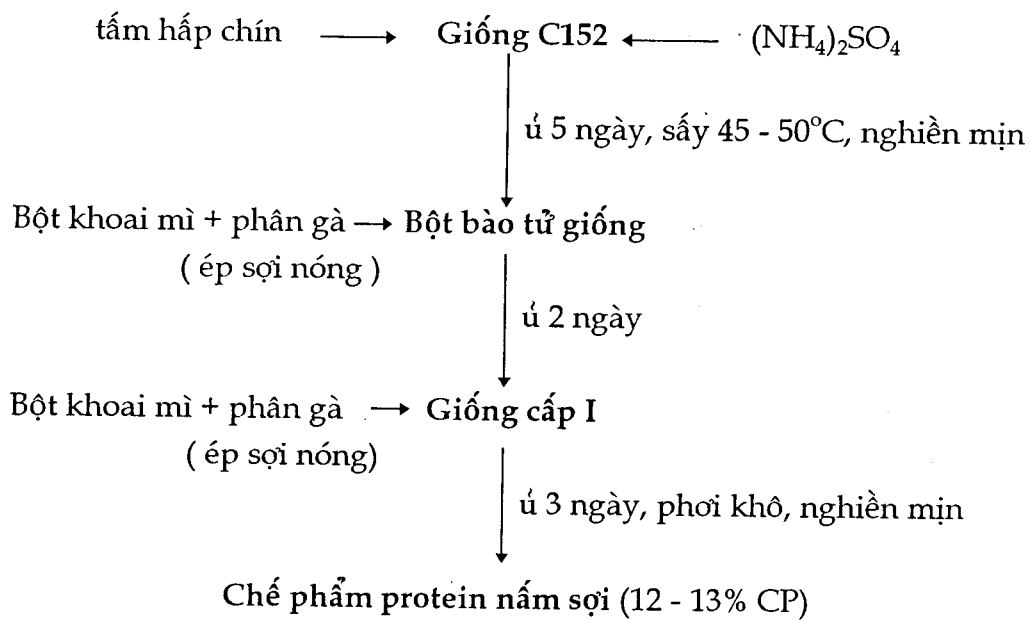
(X_{23} = thu hoạch ở 120 giờ)

H.3: Protein gia tăng theo các mức phân gà bổ sung và pH

Do thời gian ủ (120 giờ) còn tương đối dài, chúng tôi tìm biện pháp rút ngắn thời gian ủ lại bằng cách nhân giống thêm một cấp, từ bột bào tử giống ủ 2 ngày với nguyên liệu ép nóng để làm bước chuyển tiếp, giống ở môi trường sợi này khi chúng để sản xuất đã phát triển nhanh, ở 72 giờ đã đạt năng suất protein thô tương đương so với cách dùng bột bào tử giống ở 120 giờ. Biện pháp này rất thuận lợi trong việc phát triển sản xuất. Sản phẩm được phơi khô hoặc sấy ở 50°C để bảo quản. Sản phẩm khô có mùi nấm rơm sấy.

Sản phẩm tuy có hàm lượng protein thô chưa cao (12-13%CP), nhưng lại có một lượng enzym α -amylase, glucoamylase đáng kể (177 đơn vị α -amylase theo phương pháp Wothgemuth và 154 đơn vị glucoamylase theo phương pháp Bertrand).

Quy trình sản xuất chế phẩm protein nấm sợi được tóm tắt như sau:



III.3. Phương pháp nghiên cứu và kết quả sử dụng chế phẩm protein nấm sợi làm thức ăn cho heo con và tôm con:

Chế phẩm protein nấm sợi có khả năng thay thế một phần bột cá và bổ sung enzym trong khẩu phần heo theo mẹ, heo sau cai sữa, đồng thời cũng là nguồn bổ sung chitin, enzym v.v... cho thức ăn tôm, do đó cần biểu hiện cụ thể qua tác động lên vật nuôi.

Thử nghiệm thức ăn bột cho heo sau cai sữa Yorkshire và thức ăn viên cho hậu ấu trùng (post-larvae) tôm sú (*Penaeus monodon*) được bố trí thí nghiệm tại Trại chăn nuôi 19/8, Công ty chăn nuôi Cần Thơ và Khoa Thủy sản, Trường Đại Học Cần Thơ. Khẩu phần heo con có bổ sung 10% chế phẩm nấm sợi và khẩu phần tôm con có bổ sung 20% chế phẩm nấm sợi.

II.3.1. **Thí nghiệm 1:** 69 heo ở 50 ngày tuổi được cho ăn khẩu phần không bổ sung và có bổ sung chế phẩm nấm sợi trong 4 tuần, lập lại 4 lần. Phân tích giá trị dinh dưỡng của khẩu phần cho kết quả như sau:

		có nấm sợi	không nấm sợi
protein thô	(%)	16.2	15.56
Ca	(%)	1.67	1.74
P	(%)	0.27	0.41
ME	(Kcal/kg)	2888	3167