

NGHIÊN CỨU

CHUYỂN HÓA SINH HỌC BÃ SẴN TRONG QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT TINH BỘT BỞI NẤM MỐC

LÊ VĂN HOÀNG*, ĐẶNG VĂN LỢI**, LÊ THỊ LIÊN THANH***

Tóm tắt

Bã sắn chiếm 15 - 20% của nguyên liệu củ với tỷ-lệ 50 - 60% tinh bột tính theo trọng lượng khô [1]. Ở nước ta hiện nay, mỗi ngày ngành sản xuất tinh bột sắn đã thải ra hàng nghìn tấn bã. Dùng nấm mốc *Aspergillus niger* để chuyển hóa, tăng chất lượng làm thức ăn gia súc nhằm tăng cường sử dụng sắn trong công nghiệp thực phẩm và bảo vệ môi trường.

Từ khóa: bã sắn, lên men, thức ăn gia súc, *Aspergillus niger*

Abstract

*A fibrous residue (15 - 20% of the chips processed) contains 50 - 60% starch on a dry basis [1]. In Viet nam, everyday, starch processing from cassava discharge thousands of tone fibrous residue. Using *Aspergillus niger* to converse and make a good food for animal is to use increasely cassava in food industry and environmen-tal protection.*

Keywords: *Fibrous residue, fermentation, food for animal, Aspergillus niger*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sắn (*Manihot esculenta* Crantz) được trồng rộng rãi ở vùng nhiệt đới. Sắn và tinh bột sắn được dùng làm lương thực, thực phẩm và nguyên liệu cho nhiều ngành công nghiệp khác nhau như sản xuất glucose, Fructose,

Ethanol... Sản lượng sắn trên toàn thế giới năm 1984 là 120 triệu tấn. Ở Việt Nam, sắn được trồng hàng năm khoảng 300 ngàn hecta tương ứng với sản lượng là 2500 - 2900 ngàn tấn củ tươi - chiếm 25% diện tích và 35-40% sản lượng (quy thóc) các cây màu lương thực [4].

Hiện nay ở nước ta, công nghệ chế biến sắn công nghiệp chủ yếu là sản xuất tinh bột từ nguyên liệu củ, một số cơ sở sản xuất công nghiệp như VeThai tapioca Co,Ltd ở Gia Lai, Vedan Vietnam Enterpric corp.Ltd ở Đồng Nai, Formosa tapioca Co.Ltd ở Quảng Nam, 2 nhà máy sản xuất tinh bột sắn do Singapore

* Giáo sư, Tiến sĩ khoa học, Cố vấn Ban Giám Hiệu Trường Đại học Cửu Long

** Tiến sĩ, Tổng cục môi trường - Bộ Tài nguyên & Môi trường - Hà Nội

*** Phó giáo sư, Tiến sĩ, Viện trưởng Viện Công nghệ sinh học - Thực phẩm chất lượng cao Trường Đại học Cửu Long

và ThaiLand đầu tư ở Tây Ninh, 1 nhà máy sản xuất tinh bột sắn do Malaixia đầu tư ở Lâm Đồng. Các nhà máy này đều có công suất từ 200 đến 500 tấn củ/ngày.

Quá trình sản xuất tinh bột từ sắn tạo ra 3 loại chất thải từ sắn là: vỏ bên ngoài, nước thải và bã sắn. Bã sắn chiếm khoảng 15 - 20% trong sắn lát/củ sắn được chế biến. Ở trạng thái khô, bã sắn chứa 50 - 70% tinh bột và các hạt tinh bột có trong bã sắn nằm trong các tế bào củ không vỡ. Vì vậy, việc nghiên cứu xử lý sinh học bã sắn từ quá trình sản xuất tinh bột nhằm nâng cao chất lượng để làm thức ăn gia súc là phương án tăng cường hiệu quả sử dụng sắn trong công nghiệp thực phẩm, giảm giá thành sản xuất, khuyến khích trồng trọt, phát triển chăn nuôi và bảo vệ môi trường hiệu quả nhất.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU:

Ở đây chúng tôi tiến hành thí nghiệm theo hai giai đoạn:

- Giai đoạn I: phân lập và tuyển chọn nấm mốc *Aspergillus niger* có hoạt lực enzym cao.

- Giai đoạn II: cấy giống *A.niger* lên bã sắn và xác định sự chuyển đổi sinh học của nó.

2.1 Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu giai đoạn I:

- *Aspergillus niger* được phân lập từ bã sắn (được ký hiệu là BS) của nhà máy sản xuất tinh bột sắn VeThai Tapioca Co.Ltd, nuôi cấy trên môi trường Czapek-DOX thạch nghiêng.

- Sản xuất cellulase ngoại bào được thực hiện trên môi trường cám gạo, thu nhận enzym thô.

- Xem xét các ảnh hưởng của nguồn cacbon tự nhiên các cơ chất như cám gạo, bã

sắn, bột cellulose được nuôi riêng rẽ cũng như phối trộn theo các tỷ lệ khác nhau, ảnh hưởng của nguồn nitơ, ảnh hưởng của pH, ảnh hưởng của độ ẩm.

- Xác định đường khử bằng phương pháp micro-Bertrand (Hayashida & Yoshioka, 1980).

- Xác định hoạt tính CMC-ase bằng phương pháp khuếch tán phóng xạ trên thạch - cơ chất (Williams, 1983).

2.2 Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu giai đoạn II:

- Tác nhân vi sinh vật là nấm mốc *Aspergillus niger* BS được phân lập và tuyển chọn của giai đoạn I.

- Bã sắn của nhà máy sản xuất tinh bột sắn VeThai Tapioca Co,Ltd.

- Đạm vô cơ dùng để bổ sung là $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$,

- Xác định trọng lượng khô bằng cách sấy khô ở 105°C và cân đến khi trọng lượng không đổi,

- Hàm lượng ni tơ các dạng được xác định theo phương pháp Kjeldahl (Nguyễn Hoàng Tinh, 1988. Pleskob, 1968),

- Xác định đường tan và tinh bột theo phương pháp Anthron (Severina, 1979),

- Xác định hàm lượng Triptofan theo phương pháp phản ứng màu với dimethyl aminobenzolaldehyd và NaNO_2 (Pleskob, 1968),

- Phân tích Aflatoxin bằng sắc ký lớp mỏng (TLC - Thin layer chromatography).

- Xác định hàm lượng HCN bằng phương pháp đo màu với giấy tẩm axit picric,

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU:

3.1 Kết quả giai đoạn I

Bảng 1: Ảnh hưởng của nguồn cacbon lên sinh tổng hợp CMC-ase ở *A. niger* BS

Nguồn cacbon	Hoạt tính CMC-ase (đv.ml ⁻¹)		
	3 ngày	5 ngày	7 ngày
Cám	0,07	0,43	0,26
Bã sắn	0,03	0,16	0,05
Bột cellulose	0,05	0,23	0,14
Cám:bã sắn 1:1	0,05	0,19	0,07
4:1	0,04	0,26	0,10
9:1	0,04	0,26	0,10
Cám:bột cellulose 1:1	0,05	0,35	0,20
4:1	0,05	0,35	0,17
9:1	0,06	0,37	0,18

Bảng 2: Ảnh hưởng của nguồn ni tơ lên sinh tổng hợp CMC-ase ở *A. niger* BS

Nguồn Nito	Hoạt tính CMC-ase (đv.ml ⁻¹)		
	3 ngày	5 ngày	7 ngày
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,19	0,43	0,25
NaNO ₃	0,13	0,40	0,21
KNO ₃	0,10	0,34	0,20
Đối chứng	0,08	0,33	0,19

Bảng 3: Ảnh hưởng của độ ẩm lên sinh tổng hợp CMC-ase ở *A. niger* BS

Độ ẩm ban đầu %	Hoạt tính CMC-ase (đv.ml ⁻¹)		
	3 ngày	5 ngày	7 ngày
50	0,08	0,37	0,18
100	0,14	0,44	0,24
150	0,11	0,32	0,26
200	0,06	0,15	0,15

Bảng 4: Ảnh hưởng của pH ban đầu lên sinh tổng hợp CMC-ase ở *A. niger* BS

Thời gian pH ban đầu	3 ngày		5 ngày		7 ngày	
	pH	CMC-ase đv.ml ⁻¹	pH	CMC-ase đv.ml ⁻¹	pH	CMC-ase đv.ml ⁻¹
3,0	3,0	0,05	3,0	0,08	2,6	0,03
4,0	3,8	0,09	3,4	0,27	3,4	0,19
5,0	5,0	0,11	5,0	0,27	4,5	0,20
6,0	5,7	0,10	5,7	0,29	5,1	0,19
7,0	7,0	0,12	6,5	0,43	6,1	0,26

Qua kết quả của các thí nghiệm khảo sát ở trên, chúng ta thấy:

1. Khả năng sinh tổng hợp cellulase của *A. niger* cao nhất khi được nuôi cấy trên cám gạo vì có giá trị dinh dưỡng cao. Khi phối trộn tất cả hoạt tính đều thấp.

2. Nguồn nitơ vô cơ khác nhau được bổ sung vào môi trường cám gạo với nồng độ như nhau (0,1% theo nitơ) có ảnh hưởng đến khả năng sinh tổng hợp cellulase của *A. niger* nhưng không nhiều.

3. Độ ẩm ban đầu có ảnh hưởng khác

nau tới khả năng sinh tổng hợp cellulase của *A. niger* sau từng thời gian nuôi cấy. Độ ẩm ban đầu phù hợp nhất là 100%.

4. Ở pH = 3, hoạt tính enzym thấp do hậu quả của sinh trưởng chậm. Nếu hoạt tính ở pH=7 được coi là 100% thì hoạt tính enzym lần lượt là 18% (pH₃); 61%; 61%; 61% và 65%. pH = 7 là thích hợp nhất cho khả năng sinh tổng hợp enzym cellulase của *A. niger*.

3.2 Kết quả giai đoạn II:

a. Hàm lượng nước, đường, tinh bột và cellulose trong mẫu.

Bảng 5. Hàm lượng đường, tinh bột, cellulose trong mẫu (% chất khô).

MẪU	% CHẤT KHÔ	%ĐƯỜNG TAN	% TINH BỘT	% CELLULOSE
M ₀	28.23	2.12	69.07	16.92
M ₂	29.07	2.86	65.98	5.30
MD ₂	29.17	2.67	62.79	4.60

M₀: là mẫu bã sắn ban đầu,

M₂: bã sắn sau khi cấy giống mốc 6 ngày,

MD₂: bã sắn có bổ sung 1% (NH₄)₂SO₄ sau khi cấy giống mốc 6 ngày,

b. Thành phần nitơ và protein trong mẫu.

Bảng 6. Thành phần nitơ và protein trong mẫu (% khối lượng khô).

MẪU	NITƠ			PROTEIN
	N- phiprotein	N- protein	N- tổng số	(N x 6.25)
M ₀	0.588	0.532	1.120	7.000
M ₂	0.924	0.569	1.493	9.333
MD ₂	1.815	0.765	2.580	16.158

Kết quả nhận được trên bảng 5 cho thấy hàm lượng nước trong 3 mẫu là gần nhau (71 - 72%). Hàm lượng đường tan ở 2 mẫu M₂ và MD₂ lại thấp hơn mẫu M₀, điều này có thể giải thích là do vi sinh vật ở 2 mẫu M₂ và MD₂ được cấy vào đã tham gia vào quá trình phân giải tinh bột, cellulose thành đường. Kết quả trên bảng 6 cho thấy hàm lượng N - phiprotein,

protein và tổng số tăng lên từ M₀ đến MD₂, điều đáng chú ý là N protein trong mẫu M₂ và MD₂ tăng hơn mẫu M₀ có thể là do vi sinh vật đã tổng hợp protein trong mẫu và số liệu protein thô trong mẫu cũng chứng tỏ điều này (9.33 và 16,158% so với 7%).

c. Hàm lượng triptophan trong protein trong mẫu

Bảng 7. Hàm lượng triptophan trong protein

MẪU	TRIPTOPHAN (mg/g mẫu)
M ₀	0.397
M ₂	0.768
MD ₂	1.380

Một axit amin không thay thế là triptophan trong mẫu M₂ và MD₂ gấp 2 và 3 lần trong mẫu M₀.

Phân tích các thành phần khác:

- Kết quả phân tích cho thấy trong cả 3 mẫu đều không có Aflatoxin.

- Hàm lượng axit cyanhydric ở mẫu M₀ là 70 - 90 ppm, ở mẫu M₂ và MD₂ không phát hiện.

4. KẾT LUẬN:

Từ một số kết quả ban đầu ở trên chúng tôi có thể kết luận: việc sử dụng nấm mốc *Aspergillus niger* BS được phân lập ngay trên bã sắn trong điều kiện thực tế sẽ là chủng thích hợp cho việc sử dụng chúng cho quá trình chuyển hóa sinh học bã sắn nhằm tăng chất lượng đặc biệt là hàm lượng protein, không độc hại, dùng làm thức ăn gia súc. Đây là phương án tốt nhất cho việc xử lý chất thải, tăng cường hiệu quả sử dụng sắn trong công nghiệp thực phẩm và bảo vệ môi trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Đặng Thị Thu, Nguyễn Thị Xuân Sâm (2015), Xử lý bã sắn bằng phương pháp lên men trên môi trường rắn làm thức ăn cho gia súc, (Tuyển tập Hội thảo Quốc gia và khu vực nhân năm Louis Pasteur “Vi sinh vật học và

công nghệ sinh học”), Hà Nội, Tr.452-456.

[2] Ghildyal N. P. and Lonsane B. K (1990), Utilization of cassava fibrous residue for the manufacture of value - added product: an economic alternative to waste treatment. Process biochemistry, April, p. 35 - 39.

[3] Mehta A. & Mehta P (1985), Production of pecto - cellulolytic enzymes by *Fusarium oxysporum* & *F. moniliforme* under culturation conditions. Fol. Microbiol 1.42-49.

[4] Nguyễn Thị Xuân Sâm, Đặng Thị Thu, "Bã sắn lên men - nguồn thức ăn giàu dinh dưỡng cho chăn nuôi bò sữa và lợn", Tạp chí Khoa học và công nghệ. Tập XXXIV - 1996-5, Trung tâm Khoa học tự nhiên và công nghệ Quốc gia, Tr.8-12.

[5] Nguyễn Thiêm, Nguyễn Mạnh Hùng (1995), "Những dự án đầu tư ở Việt Nam đến năm 2000", Nhà xuất bản chính trị Quốc gia, Tạp chí Kinh tế và dự báo (UBKHNN).

[6] Severina C.E (1979), Thực hành sinh hóa. Trường tổng hợp Moskova. M., (Tiếng Nga).

Ngày nhận bài: 24/4/2020

Ngày gửi phản biện: 24/4/2020