

DOI:10.22144/ctu.jvn.2021.118

KHẢO SÁT MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN KHẢ NĂNG SINH PHYTASE CỦA *Trichoderma asperellum* VÀ ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ TĂNG HẤP THU PHOSPHOR TRÊN GÀ THẢ VƯỜN

Trần Ngọc Hùng*

Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Thủ Dầu Một

*Người chịu trách nhiệm bài viết: Trần Ngọc Hùng (email: hungngoc@tdmu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 15/03/2021

Ngày nhận bài sửa: 29/05/2021

Ngày duyệt đăng: 20/08/2021

Title:

Studying some factors affects the phytase synthesis of *Trichoderma asperellum* and assessing the increase of phosphor absorption on free-range chicken

Từ khóa:

Phosphor vô cơ, phytase, phương pháp đáp ứng bề mặt, *Trichoderma asperellum*

Keywords:

Inorganic phosphor, response surface methodology, phytase, *Trichoderma asperellum*

ABSTRACT

Phytase is widely used in animal raising to help controlling anti-nutritional factors and absorbing effectively phosphor. Among four studied fungi, *Trichoderma asperellum* showed that the highest phytase productivity in the semi-solid medium that contain 60% of corn powder and 40% of soya meal. The effect of the added mineral solution ratio and the cultured time was optimized by Response Surface Methodology (RSM). At 40% of added mineral solution and in 3.75 days of cultured time, the phytase activity of product get 5.31 UI/g. The highest phytate hydrolysis productivity of product in chicken feed pellets was determined at pH 5.0 with the inorganic phosphor content increase 25.6% for 2 hours. Adding 1% (w/w) of rich-phytase product to the portion showed the inorganic phosphor content in the free-range chicken dung decreased from 14.5% to 39.1% while the weight of chicken was not different as compared with the control treatment.

TÓM TẮT

Enzyme phytase được sử dụng phổ biến trong chăn nuôi nhằm giúp vật nuôi hấp thu tốt phosphor và kiểm soát các yếu tố kháng dưỡng. Trong số 4 chủng vi nấm khảo sát, *Trichoderma asperellum* cho thấy việc thu nhận phytase hiệu quả nhất trên môi trường bán rắn chứa 60% bột bắp và 40% bã đậu nành. Ảnh hưởng của tỷ lệ dịch khoáng bổ sung và thời gian nuôi được tối ưu theo phương pháp đáp ứng bề mặt (Response surface methodology, RSM). Ở tỷ lệ dịch khoáng bổ sung 60,4%, thời gian nuôi cấy 3,75 ngày, chế phẩm có hoạt độ phytase đạt 5,31±0,65 UI/g. Chế phẩm thủy phân phytate trong thức ăn viên tốt nhất ở pH 5,0 với hàm lượng phosphor vô cơ tăng 25,6% sau 2 giờ. Thử nghiệm bổ sung 1% (w/w) chế phẩm giàu phytase vào khẩu phần ăn gà thả vườn cho thấy hàm lượng phosphor vô cơ trong phân giảm từ 14,5% đến 39,1% so với đối chứng, trong khi khối lượng gà không khác biệt, đạt 791,5 g/con sau 7 tuần.

1. GIỚI THIỆU

Trong chăn nuôi, acid phytic được xem là nguồn phosphor hữu cơ, có nhiều trong các loại ngũ cốc, các loại hạt chứa dầu và đặc biệt trong hạt của các

loài cây họ đậu. Tuy nhiên, acid phytic thường liên kết với các ion kim loại như Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺; ảnh hưởng đến hoạt động của các enzyme tiêu hóa như trypsin, amylase; ngăn cản quá

trình tiêu hóa và hấp thu các chất dinh dưỡng của vật nuôi (Bujna et al., 2016). Bổ sung phytase vào thức ăn được xem là giải pháp hiệu quả nhất để khắc phục vấn đề này. Phytase có khả năng xúc tác thủy phân các muối của phytic acid, giải phóng ra các phân tử o-phosphate và myo-inositol-6-phosphate. Sử dụng phytase giúp vật nuôi hấp thu hiệu quả nguồn phosphor hữu cơ, giảm lượng phosphor thải ra trong phân, qua đó giúp hạn chế ô nhiễm môi trường chăn nuôi (Fredrikson et al., 2002; Nguyễn Thị Hà & Nguyễn Văn Tính, 2015; Singh et al., 2013).

Vi 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* (Bujna et al., 2016; Fredrikson et al., 2002; Gull et al., 2013; Zhao & Zhang, 2015). 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 tạo chế phẩm phytase với hoạt độ cao và thử nghiệm trên một vài đối tượng như cá tra (Phạm Duy Hải và ctv., 2013). Các thí nghiệm đánh giá hiệu quả của chế phẩm phytase trên gia cầm hoặc thức ăn viên vẫn chưa được thực hiện nhiều, đặc biệt là xác định hàm lượng phosphor trong phân gà. Trong nghiên cứu này, các chủng vi nấm chọn lọc được khảo sát khả năng sinh phytase trên các loại môi trường bán rắn khác nhau; tối ưu hóa một số yếu tố có tác động đến quá trình sinh tổng hợp phytase như lượng dịch khoáng bổ sung và thời gian nuôi cấy; sản phẩm phytase được thử nghiệm trên gà thả vườn ở giai đoạn nuôi tập trung để đánh giá hiệu quả tăng trọng và hàm lượng phosphor còn lại trong phân.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu

Chủng *Trichoderma asperellum* và *Aspergillus* Lt1: được phân lập từ đất khu vực chăn nuôi gà tại Thuận An, Bình Dương.

Chủng *Aspergillus niger* và *Aspergillus* B2: được phân lập từ đất khu vực chăn nuôi gà tại Bắc Tân Uyên, Bình Dương.

Gà thử nghiệm: thuộc giống gà Lương Phượng, ấp nở nhân tạo tại thị xã Tân Uyên, tỉnh Bình Dương.

Thức ăn viên cho gà: thức ăn viên hỗn hợp cho gà ta C225 của công ty cám Con Cò.

2.2. Phương pháp tiến hành

2.2.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ cơ chất lên khả năng sinh phytase của các chủng vi nấm

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 66 g môi trường bán rắn với mật độ 10^6 bào tử/ g môi trường. Môi trường nuôi cấy các chủng vi nấm có sự thay đổi về tỷ lệ khối lượng bột bắp và bã đậu nành: 3:7; 4:6; 5:5; 6:4 và 7:3. Lượng dịch khoáng bổ sung chiếm 55% (w/w). Thành phần dịch khoáng bao gồm KCl (2,5 g); peptone (0,9 g); MgSO₄.7H₂O (7,5 g); KH₂PO₄ (5,0 g); CaCl₂ (10,0 g) (Phạm Duy Hải và ctv., 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 48 giờ, xay nhuyễn và xác định hoạt độ phytase theo TCVN 8678:2011 (Tiêu chuẩn Việt Nam, 2011); chọn chủng vi nấm tương ứng với tỷ lệ môi trường có hoạt độ phytase cao nhất để thực hiện thí nghiệm tiếp theo.

2.2.2. Tối ưu ảnh hưởng của tỷ lệ dịch khoáng và thời gian nuôi cấy

Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp trực giao hai yếu tố theo mô hình CCF-design. Phần mềm Modde 5.0 được sử dụng để thiết kế và xử lý số liệu thực nghiệm.

Mô hình phương trình hồi quy đa thức bậc 2 được lựa chọn để mô tả ảnh hưởng của các nhân tố lựa chọn đến hoạt độ enzyme phytase:

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_{12}X_1X_2 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2$$

Với: X_1 , X_2 là các biến độc lập; a_0 là hệ số phương trình hồi quy; a_{12} là hệ số tương tác; a_{11} , a_{22} là hệ số bậc 2; Y là hoạt độ enzyme phytase

Biến số	Ký hiệu	Ký hiệu giá trị mã hóa		
		-1	0	1
Tỷ lệ dịch khoáng (%)	X1	55	60	65
Thời gian lên men (ngày)	X2	3	4	5

2.2.3. Ảnh hưởng của pH lên khả năng thủy phân của phytase trên thức ăn cho gà

Thí nghiệm được tiến hành ở các điều kiện thời gian, pH và nhiệt độ mô phỏng với điều gà có thể sẽ giúp đánh giá được hiệu quả xúc tác của chế phẩm giàu phytase. Bổ sung chế phẩm giàu phytase vào thức ăn viên với tỷ lệ 2% (w/w); lượng nước chiếm 80% so với hỗn hợp; điều chỉnh pH của hỗn hợp bằng các dung dịch NaOH 0,1N và HCl 0,1N; thí nghiệm được thực hiện ở các giá trị pH 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0 và 7,5. Giữ các bình tam giác ở nhiệt độ 38°C. Sau các khoảng thời gian 2 giờ, 3 giờ và 4 giờ, ly tâm thu dịch với tốc độ 6.000 vòng/phút trong thời gian 5 phút; xác định hàm lượng phosphor vô cơ trong dung dịch theo TCVN 8678:2011. Lượng phosphor vô cơ gia tăng được đánh giá theo công thức: $([P_{TN}] - [P_{ĐC}]) / [P_{ĐC}] \times 100$; với: $[P_{TN}]$ là lượng phosphor trong mẫu thí nghiệm ở các giá trị pH thử nghiệm ($\mu\text{mol/g}$); $[P_{ĐC}]$ là hàm lượng phosphor trong mẫu đối chứng ở giá trị pH tương ứng.

2.2.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ phytase bổ sung lên khả năng thủy phân thức ăn

Thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần trên thức ăn viên cho gà; khối lượng chế phẩm bổ sung thay đổi giữa các nghiệm thức: 0,5%; 1%; 2% và 3%; tương ứng với hoạt độ phytase 26,5 UI, 53 UI, 106 UI, 139 UI/ kg thức ăn; lượng nước bổ sung chiếm 80% hỗn hợp; điều chỉnh pH hỗn hợp bằng dung dịch HCl 0,1N đến 5,0; các nghiệm thức đối chứng được tiến hành trong cùng điều kiện với chế phẩm phytase bị bất hoạt bằng cách đun sôi cách thủy trong 10 phút; giữ hỗn hợp thức ăn ở 38°C trong thời gian 2 giờ; ly tâm thu dịch với tốc độ 6.000 vòng/phút trong thời gian 5 phút; xác định hàm lượng phosphor vô cơ trong dung dịch theo TCVN 8678:2011 và đánh giá lượng phosphor vô cơ gia tăng so với đối chứng.

2.2.5. Đánh giá hiệu quả của chế phẩm giàu phytase khi bổ sung vào thức ăn cho gà

Gà ta thả được áp nở nhân tạo; nuôi tập trung trong 14 ngày; gà được chia đều vào các lô với khối lượng các cá thể gà ban đầu không khác biệt. Thí nghiệm tiến hành trên 2 lô, mỗi lô 35 cá thể gà được đánh số thứ tự, nuôi nhốt trong chuồng có diện tích 2 m x 3 m; thức ăn và nước uống cung cấp như nhau giữa 2 lô, khối lượng thức ăn trung bình 30 g/ con ở giai đoạn 0 đến 3 tuần tuổi và 40 g/con ở giai đoạn 4 đến 5 tuần tuổi.

Lô đối chứng: sử dụng cám viên 225

Lô thí nghiệm: sử dụng cám viên 225 trộn đều 1% (w/w) chế phẩm phytase

Ảnh hưởng của chế phẩm phytase lên sự tăng trọng của gà được xác định bằng cách cân khối lượng các cá thể hàng tuần.

Ảnh hưởng của chế phẩm phytase lên khả năng hấp thu phosphor trong thức ăn được xác định bằng cách thu nhận phân các cá thể gà ở 2 lô, mỗi lô chọn 10 con gà; phơi khô và xác định hàm lượng phosphor trong phân theo TCVN 8678:2011. Các thể gà ở 2 lô ở giai đoạn 5 tuần tuổi được nuôi nhốt riêng trong thời gian 6 ngày; từ ngày 1 đến ngày 5, cho ăn như bố trí thí nghiệm trước.

2.3. Xử lý thống kê

Đánh giá sự khác biệt có ý nghĩa bằng phương pháp ANOVA với độ tin cậy 95% bằng phần mềm Stargraphics Centurion XV; sử dụng phần mềm Modde 5.0 để bố trí ma trận tối ưu và xử lý kết quả.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

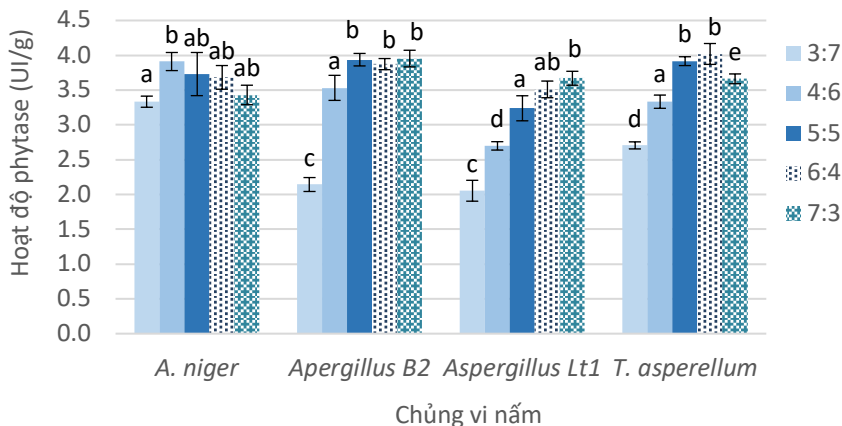
3.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ cơ chất lên khả năng sinh phytase của các chủng vi nấm

Hàm lượng phytate trong cơ chất là yếu tố quyết định đến khả năng sinh phytase của vi nấm. Thí nghiệm đánh giá tác động của tỷ lệ các loại nguyên liệu trong môi trường bán rắn lên hoạt độ phytase của các chủng nấm khác nhau. Kết quả được thể hiện trong Hình 1.

Bột bắp và bã đậu nành ép dầu là những nguyên liệu có chứa nhiều phytate. Các nghiên cứu trước đây đã cho thấy sự phối hợp hai loại nguyên liệu này rất thích hợp cho việc nuôi cấy vi nấm, thu nhận chế phẩm phytase (Phạm Duy Hải và ctv., 2013). Thực tế nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ hai loại cơ chất này trong môi trường nuôi bán rắn ảnh hưởng rất khác nhau đến khả năng tăng sinh tổng hợp phytase của các chủng. Tỷ lệ cơ chất không ảnh hưởng nhiều đối với chủng *Aspergillus niger* và *Aspergillus B2* trong khi lại có tác động đáng kể lên hoạt độ phytase của các chủng *Aspergillus Lt1* và *Trichoderma asperellum*. Chủng *Aspergillus niger* tổng hợp phytase tốt nhất trong môi trường có tỷ lệ 4 bột bắp : 6 bã đậu nành, trong khi chủng *Aspergillus B2* và *Trichoderma asperellum* lại cho hiệu quả thu nhận enzyme cao ở các tỷ lệ môi trường 5 bột bắp : 5 bã đậu nành hoặc 6 bột bắp : 4 bã đậu nành, đạt khoảng 3,94 – 4,02 UI/g. Nghiên cứu của Zhao (2015) cũng cho thấy nấm *Trichoderma asperellum* sinh tổng hợp enzyme phytase đáng kể (Zhao et al., 2015). Trong khi đó, quá trình thu nhận chế phẩm phytase từ *Aspergillus* thường gặp nhiều khó khăn do bào tử nấm nhẹ hơn

và phát tán ra môi trường sản xuất nhiều hơn so với bào tử nấm *Trichoderma*. Chính vì thế, chủng *Trichoderma asperellum* được sử dụng để tiến hành

các khảo sát tiếp theo nhằm thu nhận chế phẩm giàu phytase.



Hình 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ cơ chất lên khả năng sinh phytase của các chủng vi nấm

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

3.2. Tối ưu ảnh hưởng của tỷ lệ dịch khoáng bổ sung và thời gian nuôi cấy

Nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm hiểu tác động đồng thời của lượng dung dịch khoáng bổ sung

trong khoảng 55-65% và thời gian nuôi cấy trong khoảng 3-5 ngày. Kết quả thực nghiệm thu được theo quy hoạch thực nghiệm bậc 2 được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Tối ưu ảnh hưởng của lượng dịch khoáng bổ sung và thời gian lên men

Thí nghiệm	Các biến		Lượng dịch khoáng bổ sung (%)	Thời gian lên men (ngày)	Hoạt độ phytase (UI/g)
	X1	X2			
N 1	-1	-1	55	3	2,92
N 2	1	-1	65	3	2,89
N 3	-1	1	55	5	3,39
N 4	1	1	65	5	2,94
N 5	-1	0	55	4	4,75
N 6	1	0	65	4	4,38
N 7	0	-1	60	3	3,04
N 8	0	1	60	5	4,62
N 9	0	0	60	4	5,28
N 10	0	0	60	4	5,37
N 11	0	0	60	4	5,64

Bảng 2. Ảnh hưởng của các biến đến hoạt độ phytase của chủng *Trichoderma asperellum*

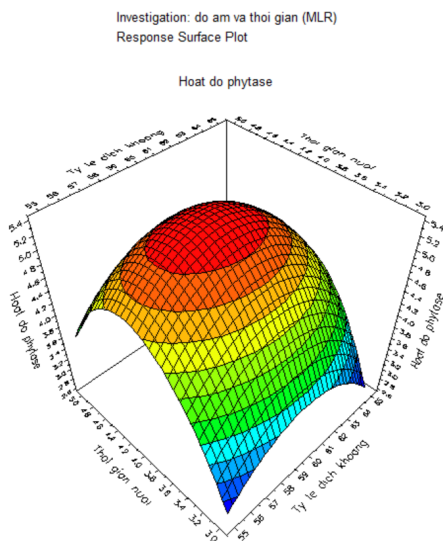
Phytase activity	Coeff. SC	Std. Err.	P	Conf. int(±)
Constant	5,41526	0,18634	9,04152e-007	0,479003
X1	-0,141667	0,148293	0,383292	0,381201
X2	0,35	0,148293	0,0647361	0,381201
X1*X1	-0,828158	0,228219	0,0150797	0,586656
X2*X2	-1,56316	0,228219	0,00101309	0,586656
X1*X2	-0,105	0,181622	0,588239	0,466874
N = 11	Q ² = 0,468	Cond. no. = 3,0822		
	DF = 5	R ² = 0,945	Y-miss = 0	
	R ² Adj. = 0,890	RSD = 0,3632		
		Conf. lev. = 0,95		

Ảnh hưởng của mỗi biến số trong mô hình hồi quy được thể hiện ở bảng 2 với mức ý nghĩa 95%. Kết quả cho thấy lượng dịch khoáng bổ sung và thời gian nuôi cấy ít có ảnh hưởng đến hoạt độ phytase thu được. Trong khi đó, các biến số bậc 2 có tác động đến hàm mục tiêu. Kết quả xử lý số liệu cho thấy tính hồi quy của phương trình tốt với p value = 0,004 (<0,05) và R² = 0,945 (>0,8). Dựa trên kết quả

xử lý số liệu, các tham số không có ý nghĩa (P>0,05) được loại bỏ, phương trình hồi quy thu được như sau:

$$Y = 5,41526 - 0,828158X_1^2 - 1,56316X_2^2$$

Trong đó, Y là hoạt độ enzyme phytase (UI/g); X₁ là tỷ lệ dịch khoáng bổ sung (%); X₂ là thời gian nuôi cấy (ngày).

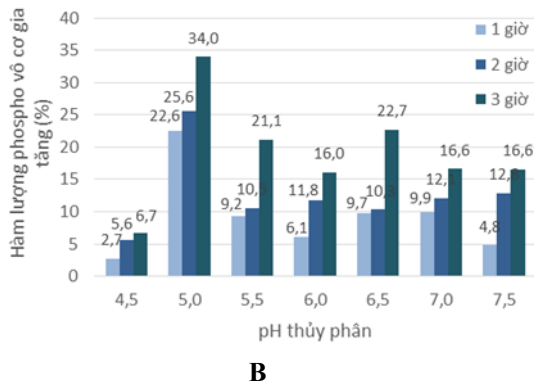
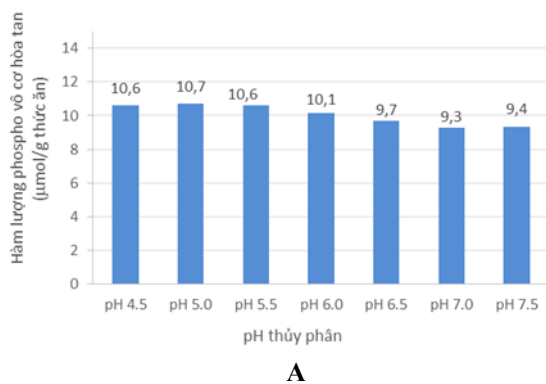


Hình 2. Bề mặt đáp ứng thể hiện ảnh hưởng của lượng dịch khoáng bổ sung và thời gian nuôi cấy đến hoạt độ phytase của chủng *Trichoderma asperellum*

Hiệu quả thu nhận chế phẩm có hoạt tính phytase cao nhất được xác định thông qua tối ưu bằng phần mềm Modde 5.0. Ở tỷ lệ dịch khoáng bổ sung 60,4%, thời gian nuôi cấy 3,75 ngày, chế phẩm có hoạt độ phytase dự đoán đạt 5,21 UI/g. Tiến hành kiểm tra thực nghiệm với các thông số nuôi cấy tối ưu cho thấy chế phẩm có hoạt độ đạt 5,31±0,65 UI/g.

3.3. Ảnh hưởng của pH lên khả năng thủy phân của phytase trên thức ăn gà

Chế phẩm phytase được trộn đều với thức ăn; các nghiệm thức có giá trị pH thay đổi từ 4,5 đến 7,5. Hàm lượng phosphor vô cơ trong hỗn hợp phản ứng được thể hiện trong Hình 3.



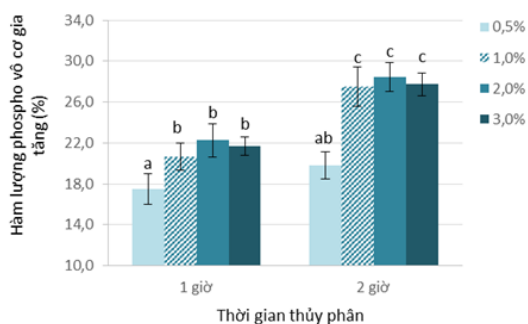
Hình 3. Ảnh hưởng của pH lên khả năng thủy phân của phytase trên thức ăn cho gà

3A) Ảnh hưởng của pH đến khả năng hòa tan phosphor vô cơ trong thức ăn; 3B) ảnh hưởng của pH đến hiệu quả làm gia tăng phosphor vô cơ của phytase

Kết quả xác định hàm lượng phosphor cho thấy chế phẩm phytase có khả năng làm gia tăng hàm lượng phosphor vô cơ trong hỗn hợp ủ. Thời gian ủ càng lâu, lượng phosphor vô cơ sinh ra càng nhiều. Enzyme phytase từ *Trichoderma asperellum* thủy phân thức ăn tốt nhất ở pH 5,0, với lượng phosphor vô cơ tăng 22,6% sau 1 giờ, tăng 25,6% sau 2 giờ và tăng 34% sau 3 giờ ủ (hình 3B). Ở pH 5,5 đến 7,5, hoạt động của phytase trên thức ăn viên giảm đáng kể. Trong khi đó, pH cũng ảnh hưởng nhiều đến khả năng hòa tan của phosphor vô cơ trong thức ăn viên. Kết quả cho thấy phosphor vô cơ hòa tan tốt ở pH 4,5 đến 5,5, đạt hàm lượng khoảng 10,6 ~ 10,7 $\mu\text{mol/g}$ thức ăn và giảm dần ở các giá trị pH cao hơn (hình 3A). Việc đánh giá hiệu quả thủy phân của phytase trực tiếp trên thức ăn viên cho gà tại các giá trị pH khác nhau trong thí nghiệm này cũng là một điểm khác biệt so với các nghiên cứu được công bố trước đây. Ở gia cầm, trước khi đi vào dạ dày, thức ăn được giữ trong điều kiện với thời gian từ 1 đến 3 giờ, pH tại cơ quan tiêu hóa này dao động trong khoảng 4,5 đến 5,8 (Bartosz et al., 2016). Điều này rất thuận lợi cho hoạt động của enzyme phytase trong chế phẩm cũng như việc bổ sung nhiều loại enzyme hỗ trợ tiêu hóa khác vào thức ăn cho gia cầm.

3.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ phytase bổ sung lên khả năng thủy phân thức ăn

Liều lượng sử dụng thích hợp được xác định bằng cách bổ sung chế phẩm phytase vào thức ăn với các mức 0,5%; 1%; 2% và 3%. Sau 1 và 2 giờ ủ, hàm lượng phosphor vô cơ gia tăng được thể hiện trong Hình 4.



Hình 4. Ảnh hưởng của lượng chế phẩm phytase bổ sung lên sự gia tăng hàm lượng phosphor vô cơ

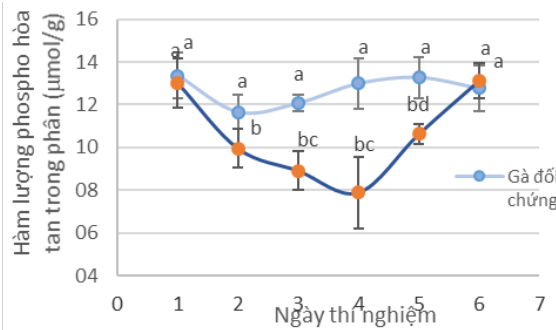
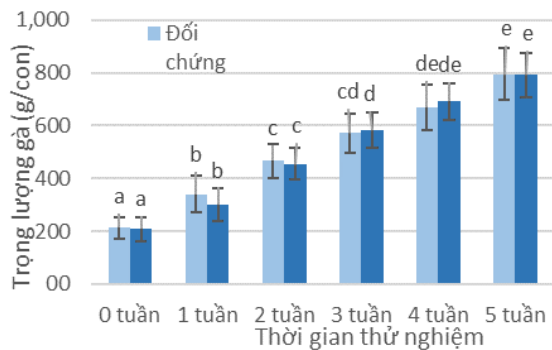
Các ký tự khác nhau trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ($p < 0,05$)

Hàm lượng phosphor vô cơ đo được ở các nghiệm thức bổ sung chế phẩm phytase với mức 1% cao hơn đáng kể so với mức bổ sung 0,5%, tăng 20,67% sau 1 giờ ủ và 27,5% sau 2 giờ ủ. Việc sử dụng chế phẩm phytase ở các mức cao hơn (2% và 3%) không đem lại hiệu quả khác biệt so với khi phối trộn với tỷ lệ 1%. Mặc dù hoạt độ phytase trong chế phẩm không cao như công bố của Phạm Duy Hải nhưng những đặc tính thủy phân của phytase thu nhận từ *Trichoderma asperellum* hoàn toàn phù hợp cho việc sử dụng trên cơ chất là thức ăn viên cho gà (Phạm Duy Hải và ctv., 2013). Kết quả này cũng thuận lợi cho việc thương mại hóa sản phẩm, khi phần lớn các sản phẩm men tiêu hóa cho gia cầm hiện nay đều phối trộn vào thức ăn với tỷ lệ 0,5 đến 1%. Do đó, tỷ lệ bổ sung 1% được sử dụng cho thử nghiệm thực tế trên gà.

3.5. Đánh giá hiệu quả của chế phẩm giàu phytase khi bổ sung vào thức ăn cho gà

Gà thả vườn được nuôi tập trung trong thời gian từ 0 đến 7 tuần; lô thí nghiệm sử dụng thức ăn có bổ sung 1% chế phẩm phytase; khối lượng gà và hàm lượng phosphor vô cơ trong phân ở các lô thí nghiệm được thể hiện trong Hình 5.

Khối lượng của gà tăng đều theo thời gian ở cả hai nghiệm thức. Khối lượng gà ở nghiệm thức bổ sung chế phẩm giàu phytase không khác biệt so với nghiệm thức đối chứng sử dụng thức ăn viên công nghiệp, khối lượng trung bình của gà ở 2 nghiệm thức lần lượt đạt 791,7 và 795,4 g/con (hình 5A). Trong khi đó, hàm lượng phosphor vô cơ trong phân gà ở các cá thể sử dụng chế phẩm phytase giảm đáng kể so với đối chứng trong thời gian thử nghiệm, thấp hơn từ 14,5% đến 39,1% trong khoảng thời gian từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 5 của quá trình thử nghiệm (hình 5B). Hàm lượng phosphor vô cơ trong phân ở ngày thứ sáu không khác biệt so với đối chứng là do chế phẩm phytase bổ sung trong các ngày trước đó đã được đào thải ra ngoài, nên hàm lượng phosphor vô cơ trong phân gà sẽ trở về như thời điểm không sử dụng chế phẩm. Các kết quả thí nghiệm này cho thấy chế phẩm phytase có thể giúp tăng khả năng hấp thu phosphor của gia cầm, làm giảm lượng phosphor vô cơ trong phân thải ra môi trường mà không ảnh hưởng đến tốc độ tăng trọng của gà, qua đó, giúp hạn chế được vấn đề ô nhiễm môi trường trong chăn nuôi gia cầm.



Hình 5. Ảnh hưởng của chế phẩm giàu phytase trên khối lượng gà thả vườn (A) và hàm lượng phosphor vô cơ trong phân (B)

Các kí tự khác nhau trên các cột và biểu tượng thể hiện sự sai khác ở độ tin cậy 95% ($p < 0,05$)

4. KẾT LUẬN

Quá trình chọn lọc cho thấy chủng *Trichoderma asperellum* có hiệu quả thu nhận phytase cao nhất trên môi trường bán rắn chứa 60% bột bắp và 40% bã đậu nành. Tối ưu hóa theo phương pháp đáp ứng bề mặt cho thấy tỷ lệ dịch chiết khoảng 80% dung thích hợp nhất là 60,4%, thời gian nuôi cấy 3,75 ngày, chế phẩm sản xuất thử có hoạt độ phytase đạt 5,31 UI/g. Phytase thủy phân thức ăn viên tốt nhất tại pH 5,0 với hàm lượng phosphor vô cơ tăng 25,6% sau 2 giờ. Bổ sung 1% (w/w) chế phẩm giàu phytase vào khẩu phần ăn của gà cho thấy hàm lượng phosphor vô cơ trong phân giảm từ 14,5% đến 39,1% so với đối chứng, trong khi khối lượng gà không khác biệt, đạt 791,5 g/con sau 5 tuần.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí của trường đại học Thủ Dầu Một trong khuôn khổ đề tài nghiên cứu khoa học cấp cơ sở với mã số ĐT.20-072.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bartosz, K., Mateusz, R., Jakub, D., Sylwester, S. & Damian, J. (2016). Avian crop function – A review. *Ann. Anim. Sci.*, 3, 1-26.

Bujna, E., Rezessy-Szabó, J. M., Nguyen, D. V. & 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.

Gull, I., Hameed, A., Aslam, M. S. & Athar, M. A. (2013). Optimization of phytase production in solid state fermentation by different fungi. *African Journal of Microbiology Research*, 7(46), 5207-5212.

Nguyễn Thị Hà & Nguyễn Văn Tính. (2015). Phân lập nấm *Aspergillus fumigatus* với khả năng sinh tổng hợp phytase cao. *Tạp chí Trường đại học Cần Thơ*, 37(1), 42-48.

Phạm Duy Hải, Nguyễn Văn Nguyễn & Trần Văn Khanh. (2013). Study on media composition and conditions of solid state fermentation synthesise high activity phytase from *Aspergillus niger* YD. *Scientific report. Research Institute for Aquaculture*, 2, 50-57.

Fredrikson, M., Andlid, T., Haikara, A. & Sandberg, A. S. (2002). Phytate degradation by micro-organisms in synthetic media and pea flour. *Journal of Applied Microbiology*, 93, 197-204.

Singh, N. K., Joshi, D. K. & Gupta, R. K. (2013). Isolation of phytase producing bacteria and optimization of phytase production parameters. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 6(5), 1J. <http://doi.org/10.5812/jjm.6419>.

Cục Chăn nuôi. (2011). Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8678:2011. Thức ăn chăn nuôi – Xác định hoạt độ phytase. <https://vanbanphapluat.co/tcvn-8678-2011-thuc-an-chan-nuoi-xac-dinh-hoat-do-phytaza>

Zhao, L. & 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*, 14(8), 1588-1597. [http://doi10.1016/S2095-3119\(14\)60966-7](http://doi10.1016/S2095-3119(14)60966-7).