

ẢNH HƯỞNG CỦA KHÔ ĐẬU TƯƠNG LÊN MEN TRONG THỨC ĂN ĐẾN MỘT SỐ CHỈ TIÊU SINH LÝ TIÊU HÓA VÀ CẤU TRÚC MÔ RUỘT CỦA CÁ CHÉP (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)

Lê Thị Tuyết, Trần Thị Hữu Nghĩa, Nguyễn Thị Trung Thu,
Nguyễn Thị Hồng Hạnh, Đỗ Thị Như Trang, Nguyễn Thị Lan Hương, Nguyễn Phúc Hưng*

Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội

*Tác giả liên hệ: hungnp@hnue.edu.vn

Ngày nhận bài: 28.06.2024

Ngày nhận bài: 16.10.2024

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện để đánh giá ảnh hưởng của khô đậu tương lên men (KĐTLM 1 và KĐTLM 2) trong thức ăn đến một số chỉ tiêu sinh lý tiêu hóa và cấu trúc mô ruột của cá chép. Bốn khẩu phần được phối trộn và được kí hiệu là BCD (khẩu phần bột cá), KĐTĐ (khẩu phần khô đậu tương), KĐTLM1D (khẩu phần KĐTLM 1) và KĐTLM2D (khẩu phần KĐTLM 2). Cá chép có khối lượng cơ thể khoảng 17 g/con được bố trí ngẫu nhiên vào 8 bể (350 lít/bể) với mật độ 20 con/bể (lặp lại 2 lần). Cá được cho ăn thỏa mãn nhu cầu, 2 lần/ngày trong 4 tuần. Kết quả cho thấy, cá ăn KĐTĐ có hàm lượng cholesterol tổng số trong máu, hiệu quả tiết dịch mật, hoạt tính enzyme tiêu hóa và tỉ lệ tiêu hóa protein và lipid thấp hơn so với cá ăn BCD ($P < 0,05$). Ngược lại, các chỉ tiêu này tương đương giữa cá ăn KĐTLM1D, KĐTLM2D và BCD. Chiều dài nhung mao ruột và hình thái mô ruột của cá ăn KĐTLM1D và KĐTLM2D tương đương so với BCD và khác biệt rõ rệt so với cá ăn KĐTĐ. Kết quả của nghiên cứu này chỉ ra rằng, lên men khô đậu tương (KĐT) cải thiện rõ rệt các chỉ tiêu sinh lý tiêu hóa và cấu trúc mô ruột của cá chép, qua đó có thể giúp tăng sinh trưởng và hiệu quả chuyển hóa thức ăn.

Từ khóa: Cá chép, khô đậu tương, lên men, mô ruột, sinh lý tiêu hóa.

Effects of Dietary Fermented Soybean Meals on Some Digestive Physiological Indices and Intestinal Morphology in Common Carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the effects of two fermented soybean meals (KĐTLM 1 and KĐTLM 2) on some digestive physiological indices and intestinal morphology of the common carp. Four diets were formulated and denoted as BCD (fish meal diet), KĐTĐ (soybean meal diet), KĐTLM1D (KĐTLM 1 diet) and KĐTLM2D (KĐTLM 2 diet). Carp fingerlings (body weight 17g) were randomly arranged into 8 tanks (350 liters/tank) with a density of 20 fish/tank (duplication). Fish were fed *ad libitum*, twice a day for 4 weeks. Results showed that fish fed KĐTĐ had a significantly lower total plasma cholesterol level, intestinal digestive enzyme activities, bile acid secretion and inferior protein and lipid digestibilities than fish fed BCD ($P < 0.05$). In contrast, these parameters were similar among fish fed KĐTLM1D, KĐTLM2D and BCD. Intestinal villi length and morphology of fish fed KĐTLM1D and KĐTLM2D were similar to those of fish fed BCD and these two fish groups were markedly better than fish fed KĐTĐ. The present study indicates that KĐT fermentation improved digestive physiological indices and intestinal morphology of common carp and these improvements may promote growth performance and feed conversion ratio.

Keywords: Common carp, digestive physiology, fermentation, intestinal morphology, soybean meal.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khô đậu tương (KĐT) là loại phụ phẩm còn lại sau khi hạt đậu tương được tách chiết lipid để sản xuất dầu ăn. KĐT có hàm lượng protein

khá cao, nguồn cung dồi dào và giá thành rẻ, vì thế KĐT được xem là nguyên liệu tiềm năng để thay thế cho bột cá (BC) trong thức ăn thủy sản (Olsen & Hasan, 2012). Tuy nhiên, khi thay thế BC bằng KĐT trong thức ăn, nhiều loài cá thể

hiện sức sinh trưởng và hiệu quả chuyển hóa thức ăn kém, kèm theo nhiều thay đổi bất thường về sinh lý tiêu hóa và cấu trúc mô ruột như: giảm tiết dịch mật, giảm hoạt tính enzyme tiêu hóa, giảm chỉ số gan và túi mật, giảm tỉ lệ tiêu hóa chất dinh dưỡng, giảm chiều dài nhưng mao ruột, thay đổi cấu trúc lớp vi nhung mao và xuất hiện các không bào lớn trong biểu mô ruột (Refstie & cs., 2005; Choi & cs., 2020; Nguyen & cs., 2021a; b). Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, các yếu tố kháng dinh dưỡng trong KĐT là nguyên nhân gây ra những bất thường nêu trên ở động vật thủy sản (Storebakken & cs., 2000; Romarheim & cs., 2008). Do đó, để tăng tỉ lệ thay thế BC bằng KĐT trong thức ăn thủy sản, cần loại bỏ các yếu tố kháng dinh dưỡng trong KĐT.

Lên men bằng vi sinh vật được xem là phương pháp hiệu quả và có chi phí thấp để loại bỏ các yếu tố kháng dinh dưỡng trong KĐT. Một số nghiên cứu cho thấy, quá trình lên men làm giảm các yếu tố ức chế trypsin và oligosaccharides trong KĐT (Refstie & cs., 2005; Nguyen & cs., 2020). Các protein dạng kháng nguyên có thể bị phân giải thành các peptide có kích thước nhỏ hơn nhờ quá trình lên men, do đó cải thiện khả năng tiêu hóa và hấp thu dinh dưỡng của động vật (Hong & cs., 2004; Zhuo & cs., 2016). Ngoài ra, một số nghiên cứu cũng chỉ ra rằng sự cải thiện sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn, các chỉ tiêu sinh lý tiêu hóa và cấu trúc mô ruột ở một số loài cá ăn động vật như cá cam sọc (Nguyen & cs., 2013), cá hồi Đại Tây Dương (Refstie & cs., 2005), cá chim vây vàng (Nguyen & cs., 2021a) khi ăn KĐT lên men so với ăn KĐT. Tuy nhiên, hiệu quả cải thiện giá trị dinh dưỡng của KĐT thông qua lên men phụ thuộc vào chủng vi sinh vật sử dụng để lên men và điều kiện lên men (Nguyen & cs., 2013; Choi & cs., 2020). Điều này có nghĩa rằng, khi sử dụng các loại KĐTLM được tạo ra bởi các chủng vi sinh vật khác nhau và điều kiện lên men khác nhau thì sự cải thiện các chỉ tiêu sinh lý, sinh trưởng và hiệu quả chuyển hóa thức ăn ở động vật thủy sản có thể không giống nhau.

Cá chép (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)

là một trong những loài cá được nuôi phổ biến trên thế giới, trong đó có Việt Nam. Chúng có tốc độ sinh trưởng khá nhanh, thích ứng tốt với môi trường sống và có giá trị kinh tế cao (Cai & cs., 2019). Một số nghiên cứu chỉ ra rằng, khi thức ăn có tỉ lệ KĐT cao thì sinh trưởng, hiệu quả chuyển hóa thức ăn và tỉ lệ tiêu hóa chất dinh dưỡng của cá chép giảm, kèm theo các thay đổi bất thường về cấu trúc mô ruột (Kim & cs., 1984; Uran & cs., 2008). Nghiên cứu này được thực hiện nhằm tìm hiểu và so sánh ảnh hưởng của hai loại KĐTLM trong thức ăn đến một số chỉ tiêu sinh lý tiêu hóa và cấu trúc mô ruột của loài cá được nuôi phổ biến và có giá trị kinh tế này.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Khô đậu tương và khô đậu tương lên men

KĐT thương mại (protein thô (CP) 49%) và hai loại KĐTLM (KĐTLM 1 và KĐTLM 2) được sử dụng trong nghiên cứu này. KĐTLM 1 (CP 50%) được sản xuất theo phương pháp được mô tả bởi Nguyễn & cs. (2018). Quy trình được tóm tắt như sau: KĐT thương mại được thanh trùng ở 121°C trong 30 phút. Sau khi làm mát, nguyên liệu này được điều chỉnh pH = 6,5 bởi NaOH/HCl rồi được bổ sung vi khuẩn *Bacillus subtilis* B3 (10^5 [cfu/ml], cung cấp bởi Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II, Thành phố Hồ Chí Minh), sau đó nuôi tĩnh ở 37°C trong 72 giờ. Sau khi lên men, nguyên liệu KĐTLM 1 được sấy khô ở 60°C trong 15 giờ, rồi được nghiền nhỏ (kích thước < 400µm) và giữ ở nhiệt độ -20°C cho đến khi sử dụng. KĐTLM 2 là sản phẩm thương mại (ESP500, CP 50%) được sản xuất bởi Công ty Evershining Ingredient (Bangkhuntain, Bangkok, Thái Lan) sử dụng vi khuẩn *Lactobacillus* spp.

2.2. Khẩu phần thí nghiệm

Bốn khẩu phần thí nghiệm được phối trộn từ các nguyên liệu chính là BC (CP 67%), KĐT, KĐTLM 1, KĐTLM 2 (Bảng 1). Các khẩu phần được kí hiệu như sau: BCD (khẩu phần BC, đối chứng dương), KĐTĐ (khẩu phần KĐT, đối

Ảnh hưởng của khô đậu tương lên men trong thức ăn đến một số chỉ tiêu sinh lý tiêu hóa và cấu trúc mô ruột của cá chép (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)

chúng âm), KĐTLM1D (khẩu phần KĐTLM 1) và KĐTLM2D (khẩu phần KĐTLM 2). Tỷ lệ thay thế protein từ bột cá bằng protein từ KĐT/KĐTLM trong các khẩu phần là khoảng 75%. Do KĐT/KĐTLM thiếu hụt methionine, lysine, threonine và taurine nên các axit amin thiết yếu này được bổ sung vào khẩu phần KĐT, KĐTLM1D và KĐTLM2D, đảm bảo hàm lượng của chúng trong các khẩu phần này tương đương so với khẩu phần BCD. Tất cả các

khẩu phần thí nghiệm đều được bổ sung chất chỉ thị tiêu hóa là chromium oxide (Cr_2O_3 , 5 g/kg thức ăn) để xác định tỷ lệ tiêu hóa chất dinh dưỡng. Các nguyên liệu được phối trộn bằng máy trộn thức ăn trong 15 phút, sau đó nước được thêm vào hỗn hợp nguyên liệu để tạo thành dạng bột nhuyễn. Cuối cùng, thức ăn được ép viên ẩm bằng máy ép đùn trong phòng thí nghiệm và được bảo quản ở $-20^\circ C$ cho tới khi sử dụng.

Bảng 1. Công thức và thành phần dinh dưỡng của các loại thức ăn thí nghiệm

Nguyên liệu (%)	Khẩu phần			
	BCD	KĐT	KĐTLM1D	KĐTLM2D
Bột cá	40,0	10,0	10,0	10,0
Khô đậu tương	0,0	41,0	0,0	0,0
Khô đậu tương lên men 1	0,0	0,0	40,5	0,0
Khô đậu tương lên men 2	0,0	0,0	0,0	40,5
Bột mì	26,0	26,0	26,0	26,0
Tinh bột	10,0	10,0	10,5	10,5
Cellulose	15,0	0,0	0,0	0,0
Dầu cá	2,0	5,0	5,0	5,0
Hỗn hợp vitamin và khoáng	1,0	1,0	1,0	1,0
CaHPO ₄	1,0	1,0	1,0	1,0
Lysine	0,0	0,30	0,30	0,30
Methionine	0,0	0,40	0,40	0,40
Threonine	0,0	0,15	0,15	0,15
Taurine	0,0	0,15	0,15	0,15
<i>Thành phần dinh dưỡng (g/100g vật chất khô)</i>				
Protein thô	33,4	33,3	33,4	33,5
Lipid thô	7,5	7,4	7,4	7,5
Khoáng	11,3	11,0	11,2	11,1

Ghi chú: Bột cá: Minh Tâm Co. Ltd., Rạch Giá, Kiên Giang, Việt Nam; Khô đậu tương: Bresur S.A., Corrientes, Buenos Aires, Argentina; Khô đậu tương lên men 2: Evershining Ingredient Co., Ltd., Bangkokhuntain, Thailand; Bột mì: Global retail JSC., Ba Đình, Hà Nội, Việt Nam; Tinh bột và cellulose: Shanghai Richem International Co., Ltd., Shanghai, China; Dầu cá: Pesquera pacific star S.A., Calle Ruta, Puerto Montt, Chile; Hỗn hợp vitamin và khoáng: Hinter Biotechnology Group Co., Ltd., Zhuhai, Guangdong, China. Hỗn hợp vitamin và khoáng có thành phần như sau (IU hoặc mg/kg mixture): thiamine HNO₃, 1030; riboflavin, 3070; pyridoxine HCl, 1390; cyanocobalamin, 8,1; vitamin C (L-ascorbate-2-monophosphate), 18100; vitamin A acetate, 485000; vitamin D3 (cholecalciferol), 172000; vitamin E (DL- α -tocopherol acetate), 7010; vitamin K3 (menadione sodium bisulfite), 1850; folic acid, 550; nicotinamide, 5200; D-calcium pantothenate, 4250; D-biotin, 16,5; inositol, 15400; ZnSO₄, 2700; MnSO₄, 1730; CuSO₄, 1310; FeSO₄, 6250; CoSO₄, 156; potassium iodide, 175; sodium selenate, 38,1.; Lysine, methionine, threonine, taurine: TRInternational, Inc., Seattle, WA, USA.

2.3. Chế độ ăn và chăm sóc cá thí nghiệm

Cá thí nghiệm được nuôi tại Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội. Trước khi tiến hành thí nghiệm, cá chép giống được nuôi trong các bể thí nghiệm và cho ăn khẩu phần BCD trong 2 tuần. Sau đó, cá có khối lượng cơ thể trung bình $17 \pm 0,8$ g/con được phân bổ ngẫu nhiên vào 8 bể nuôi (350 lít/bể), với mật độ 20 con/bể (mỗi khẩu phần được lập lại 2 lần) và đảm bảo đồng đều về khối lượng cơ thể cá giữa các bể nuôi. Cá được cho ăn thỏa mãn nhu cầu, 2 lần/ngày (9 giờ sáng và 16 giờ chiều) trong 4 tuần. Nồng độ oxy hòa tan trong nước và nhiệt độ nước được đo hằng ngày bằng máy đo chất lượng nước đa chỉ tiêu HI98194 (Hana Instruments, Romania), lần lượt dao động từ 6,2 đến 7,5ppm và từ 24,7 đến 28,8°C.

2.4. Lấy mẫu thí nghiệm

Kết thúc thí nghiệm, cá được nhịn đói 48 giờ trước khi tiến hành thu mẫu. Năm cá ngẫu nhiên trong mỗi bể được chọn để cân và xác định khối lượng cơ thể sau khi được gây mê bằng 2-phenoxyethanol (nồng độ 400ppm). Sau đó, các cá thể cá này được lấy máu từ tĩnh mạch gốc đuôi bằng kim tiêm và xi lanh để phân tích thành phần huyết tương. Tiếp theo, cá được mổ và mẫu túi mật được thu để xác định chỉ số túi mật trước khi ăn (nhịn đói). Một đoạn ruột sau (dài khoảng 1cm), kế tiếp hậu môn cũng được thu từ mỗi cá thể để phân tích cấu trúc mô học. Sau khi thu các mẫu kể trên, số cá còn lại ở mỗi bể tiếp tục được cho ăn bằng thức ăn thí nghiệm, rồi được thu mẫu phân để phân tích tỉ lệ tiêu hóa chất dinh dưỡng. Để thu mẫu phân, mỗi bể được nối với một khoang thu phân dựa theo mô tả của Kaushik & cs. (2004). Mẫu phân được thu từ khoang thu phân cho đến khi đủ lượng mẫu sử dụng cho việc phân tích tỉ lệ tiêu hóa protein và lipid (kéo dài 7 ngày liên tục). Cuối cùng, cá thí nghiệm tiếp tục được cho ăn thức ăn thí nghiệm tương ứng. Tại thời điểm 4 giờ sau khi ăn, 6 cá trong mỗi bể được gây mê và mổ để thu mẫu túi mật nhằm xác định chỉ số túi mật sau ăn. Các cá thể cá này cũng được thu vật chất tiêu hóa ở ruột trước để phân tích hoạt tính

enzyme lipase và trypsin. Vật chất tiêu hóa từ 3 cá/bể được gộp lại để đảm bảo đủ lượng mẫu sử dụng cho phân tích hoạt tính enzyme. Quá trình thu mẫu máu, túi mật, vật chất tiêu hóa, mô ruột được mô tả chi tiết bởi Nguyen & cs. (2021b).

2.5. Phân tích mẫu và tính toán các chỉ tiêu thí nghiệm

Huyết tương được tách từ mẫu máu sau khi ly tâm ở tốc độ 15.000 vòng/phút trong 10 phút. Hàm lượng cholesterol, triglyceride, protein, glucose trong huyết tương được phân tích bằng máy xét nghiệm tự động Architect C16000 (Abbott, Illinois, Hoa Kỳ) tại Bệnh viện Medlatec, Hà Nội. Thành phần dinh dưỡng và chất chỉ thị tiêu hóa (Cr_2O_3) trong thức ăn và trong phân được phân tích theo phương pháp của AOAC (2005). Sau khi được tách từ ống tiêu hóa, mẫu mô ruột được ngâm trong dung dịch đệm phosphate-formalin 10% (pH = 7,4). Sau khi cố định trong dung dịch này khoảng 48 giờ, mẫu mô ruột được rửa bằng dung dịch ethanol, rồi tiếp tục được cố định bằng parafin. Mỗi mẫu ruột được cắt 3 lần bằng máy cắt để tạo các lát cắt có độ dày 5 μ m. Sau đó, các lát cắt này được nhuộm bằng heamatoxylin và eosin (HE) (Nguyen & cs., 2021b). Sau khi nhuộm màu, mẫu mô ruột được quan sát trên kính hiển vi (vật kính 10 và 40) để đánh giá hình thái mô ruột và đo độ dài nhung mao ruột. Độ dài nhung mao ruột ở mỗi cá thể được đo từ hai phía đối diện nhau trên cùng một lát cắt, sau đó kết quả trung bình từ 3 lát cắt được xác định. Các đặc điểm hình thái mô ruột được đánh giá bao gồm: sự xuất hiện các không bào lớn, hình dạng và sự sắp xếp nhân của các tế bào biểu mô, đặc điểm lớp mô liên kết và lớp vi nhung mao. Enzyme lipase và trypsin trong vật chất tiêu hóa đã được đông khô được tách bằng nước cất lạnh theo mô tả bởi Nguyen & cs. (2013). Sau đó, hỗn hợp dịch chiết và vật chất tiêu hóa được li tâm ở tốc độ 15.000 vòng/phút trong 15 phút, rồi dịch chiết chứa enzyme được tách riêng. Hoạt tính lipase và trypsin được xác định từ dịch chiết đã được pha loãng 10 lần theo mô tả bởi Murashita & cs. (2007) và được tính theo đơn vị U/g vật chất tiêu hóa (vật chất khô).

Ảnh hưởng của khô đậu tương lên men trong thức ăn đến một số chỉ tiêu sinh lí tiêu hóa và cấu trúc mô ruột của cá chép (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)

Bảng 2. Thành phần huyết tương của cá thí nghiệm

Thành phần huyết tương	Khẩu phần			
	BCD	KĐTĐ	KĐTLM1D	KĐTLM2D
Protein tổng số	4,5 ± 0,6	4,2 ± 0,7	4,6 ± 0,4	4,3 ± 0,8
Glucose	52,4 ± 6,7	55,2 ± 7,1	51,5 ± 6,3	56,8 ± 5,7
Cholesterol tổng số	134,8 ^b ± 12,5	100,5 ^a ± 10,7	125,6 ^{ab} ± 13,2	119,7 ^{ab} ± 14,2
Triglyceride	212,6 ± 22,3	192,8 ± 25,1	208,8 ± 18,8	197,5 ± 20,4

Ghi chú: Số liệu trong bảng được trình bày theo giá trị trung bình ± sai số chuẩn (n = 10); Các giá trị trong cùng một hàng với các chữ khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa (P < 0,05). Protein tổng số được tính theo đơn vị g/dl; glucose, cholesterol tổng số, triglyceride được tính theo đơn vị mg/dl.

Tỉ lệ tiêu hóa và chỉ số túi mật được tính theo công thức sau:

Tỉ lệ tiêu hoá (%) = $100 \times [100 - \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ trong khẩu phần (\%)/Cr}_2\text{O}_3 \text{ trong phân (\%)} \times \text{chất dinh dưỡng trong phân (\%)/chất dinh dưỡng trong khẩu phần (\%)]$.

Chỉ số túi mật (%) = $100 \times \text{khối lượng túi mật (g)/khối lượng cơ thể (g)}$.

2.6. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý thông qua phân tích phương sai một nhân tố (one-way ANOVA). Kiểm định Tukey-Kramer được sử dụng để đánh giá sự khác biệt thống kê giữa các giá trị trung bình về các chỉ tiêu thí nghiệm của cá ăn các khẩu phần khác nhau và mức sai khác có ý nghĩa được lựa chọn là 5%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần huyết tương

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, cá ăn KĐTĐ có hàm lượng cholesterol tổng số thấp hơn rõ rệt so với cá ăn BCD (P < 0,05). Trong khi đó, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về chỉ tiêu này giữa cá ăn khẩu phần có KĐTLM và cá ăn BCD. Hàm lượng protein tổng số, glucose và triglyceride tương đương giữa các nhóm cá thí nghiệm. Kết quả này tương đồng với một số nghiên cứu được tiến hành trên các loài cá khác khi KĐT được ghi nhận làm giảm hàm lượng cholesterol tổng số trong máu nhưng không ảnh hưởng đến các thành phần khác của huyết tương. Trong khi đó, KĐTLM cải thiện hàm lượng

cholesterol tổng số trong máu so với KĐT không lên men (Nguyen & cs., 2013; 2021a). Một số nghiên cứu chỉ ra rằng, kháng dinh dưỡng thuộc nhóm hòa tan trong ethanol như saponins, lectins và oligosaccharides trong KĐT làm giảm tiêu hóa và hấp thu lipid từ thức ăn (Refstie & cs., 2005; Nguyen & cs., 2021b). Đồng thời, protein dạng kháng nguyên (β -conglycinin, glycinin) trong KĐT làm giảm tái hấp thu muối mật từ ruột, qua đó làm tăng sử dụng cholesterol để tổng hợp bù muối mật và làm giảm hàm lượng cholesterol trong máu (Sugano & cs., 1990; Higaki & cs., 2006). Trong nghiên cứu này, việc giảm/loại bỏ kháng dinh dưỡng trong KĐT thông qua lên men có thể là nguyên nhân cải thiện hàm lượng cholesterol trong máu ghi nhận ở cá ăn KĐTLM1D và KĐTLM2D.

3.2. Chỉ số túi mật và hoạt tính enzyme tiêu hóa

Bảng 3 cho thấy, không có sự khác nhau đáng kể về chỉ số túi mật trước khi ăn giữa các nhóm cá thí nghiệm. Tuy nhiên, chỉ số túi mật sau khi ăn của cá ở nhóm ăn KĐTĐ cao hơn rõ rệt so với nhóm ăn BCD và KĐTLM (P < 0,05). Kết quả này cho thấy KĐT ngăn cản sự giảm khối lượng túi mật sau khi ăn. Vì khối lượng túi mật trước khi ăn tương đương giữa các nhóm cá, do đó KĐT đã làm giảm tiết dịch mật từ túi mật vào ruột. Ngược lại, cá ăn các khẩu phần có KĐTLM có khối lượng túi mật sau khi ăn tương đương so với cá ăn BCD. Điều này cho thấy, sự tiết dịch mật vào ruột non không bị ức chế khi ăn KĐTLM, đồng nghĩa với việc lên men KĐT

cải thiện hiệu quả tiết dịch mật vào ruột của thí nghiệm. Một số nghiên cứu cũng chỉ ra rằng, KĐT làm giảm tiết dịch mật vào ruột của cá (tăng chỉ số túi mật sau khi ăn) nhưng khi KĐT được lên men, hiệu quả tiết dịch mật đã được cải thiện, đặc biệt trên nhóm cá ăn động vật (Nguyen & cs., 2013; 2021b; Murashita & cs., 2018).

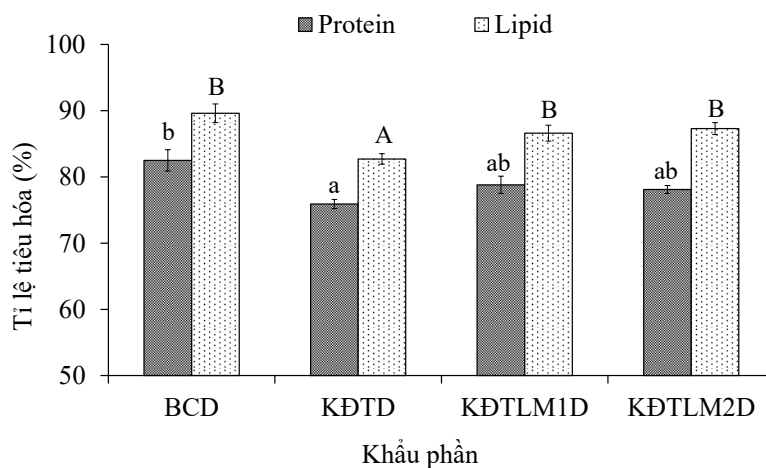
Cá ăn KĐTĐ có hoạt tính trypsin và lipase thấp hơn rõ rệt so với cá ăn BCD và sự khác nhau là có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) (Bảng 3). Ngược lại, hoạt tính 2 enzyme này của cá ăn KĐTLM1Đ và KĐTLM2Đ tương đương so với cá ăn BCD. Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng, KĐT làm giảm tiết enzyme tiêu hóa từ tuyến tụy,

qua đó làm giảm hoạt tính của enzyme tiêu hóa trong ruột non của cá. Đồng thời, sự thiếu hụt muối mật trong ống tiêu hóa gây ra bởi sự ức chế tiết dịch mật khi cá ăn KĐT cũng góp phần làm giảm hoạt tính của lipase (Murashita & cs., 2018; Nguyen & cs., 2021b). Trong nghiên cứu này, cá ăn KĐTĐ có hoạt tính enzyme tiêu hóa thấp, đồng thời sự tiết dịch mật bị ức chế. Ngược lại, cá ăn khẩu phần có KĐTLM cải thiện rõ rệt các chỉ tiêu này. Điều đó chứng tỏ, lên men KĐT làm giảm/loại bỏ kháng dinh dưỡng trong KĐT và điều này giúp cải thiện các chỉ tiêu sinh lý tiêu hóa của cá chép. Kết quả này cũng chỉ ra rằng, KĐTLM 1 cải thiện hoạt tính enzyme tiêu hóa rõ rệt hơn KĐTLM 2.

Bảng 3. Chỉ số túi mật và hoạt tính enzyme tiêu hóa của cá thí nghiệm

Chỉ tiêu	Khẩu phần			
	BCD	KĐTĐ	KĐTLM1Đ	KĐTLM2Đ
<i>Chỉ số túi mật (% khối lượng cơ thể)</i>				
Trước khi ăn	0,27 ± 0,01	0,23 ± 0,02	0,24 ± 0,04	0,26 ± 0,03
Sau khi ăn	0,06 ^a ± 0,02	0,15 ^b ± 0,01	0,09 ^a ± 0,02	0,08 ^a ± 0,01
<i>Hoạt tính enzyme tiêu hóa (U/g vật chất tiêu hóa)</i>				
Trypsin	12,5 ^b ± 0,9	7,6 ^a ± 1,1	11,7 ^b ± 0,7	10,1 ^{ab} ± 1,4
Lipase	4,4 ^b ± 0,5	2,3 ^a ± 0,2	3,8 ^b ± 0,4	4,2 ^b ± 0,2

Ghi chú: Số liệu trong bảng được trình bày theo giá trị trung bình ± sai số chuẩn (chỉ số túi mật, $n = 12$; hoạt tính enzyme, $n = 4$). Các giá trị trong cùng một hàng với các chữ khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ($P < 0,05$).



Ghi chú: Số liệu trong hình được trình bày theo giá trị trung bình ± sai số chuẩn ($n = 2$). Với mỗi chất dinh dưỡng, các cột với các chữ khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ($P < 0,05$).

Hình 1. Tỷ lệ tiêu hóa protein và lipid của cá thí nghiệm

Ảnh hưởng của khô đậu tương lên men trong thức ăn đến một số chỉ tiêu sinh lí tiêu hóa và cấu trúc mô ruột của cá chép (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)

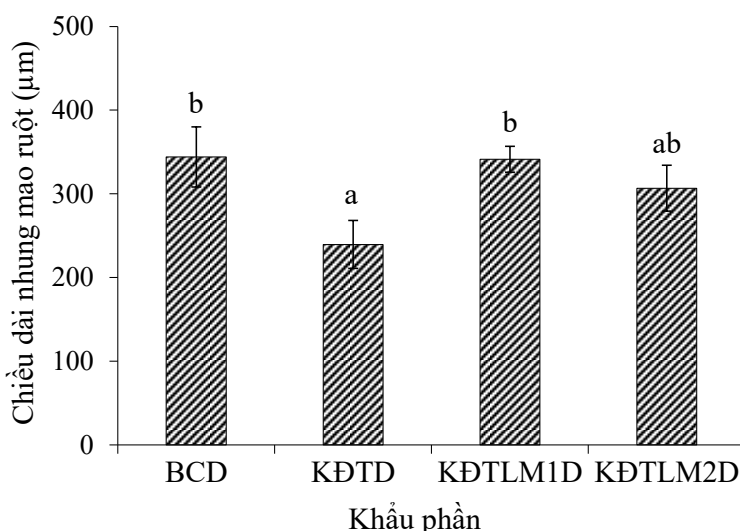
3.3. Tỷ lệ tiêu hóa protein và lipid

Hình 1 cho thấy, tỷ lệ tiêu hóa protein và lipid của cá ăn KĐTĐ thấp hơn đáng kể so với cá ăn BCD ($P < 0,05$). Trong khi đó, tỷ lệ tiêu hóa đạt cao hơn ở cá ăn KĐTLM1D và KĐTLM2D so với cá ăn KĐTĐ và sự sai khác là có ý nghĩa thống kê đối với tỷ lệ tiêu hóa lipid ($P < 0,05$). Tỷ lệ tiêu hóa chất dinh dưỡng thấp đã được ghi nhận ở cá cam sọc (Nguyen & cs., 2013), cá hồi Đại Tây Dương (Olli & cs., 1995) và cá hồi vân (Romarheim & cs., 2008) khi các loài cá này được nuôi bằng thức ăn có chứa KĐT. Trong nghiên cứu này, KĐT cũng làm giảm tiêu hóa và hấp thu chất dinh dưỡng từ thức ăn, đặc biệt là lipid. Ngược lại, cá ăn khẩu phần có chứa KĐTLM có tỷ lệ tiêu hóa chất dinh dưỡng, điển hình là lipid cao hơn đáng kể so với cá ăn KĐTĐ và tương đương so với cá ăn BCD. Những kết quả này chỉ ra rằng, lên men KĐT cải thiện quá trình tiêu hóa và hấp thu chất dinh dưỡng từ thức ăn, đặc biệt là lipid. Có thể, việc cải thiện hoạt tính enzyme tiêu hóa và sự tiết dịch mật sau khi ăn của cá ăn khẩu phần có chứa KĐTLM là nguyên nhân dẫn đến những thay đổi tích cực ở các nhóm cá này so với nhóm cá ăn KĐTĐ. Sự cải thiện hiệu quả tiêu hóa và hấp thu dinh dưỡng từ thức ăn có thể đóng góp tích

cực vào sự cải thiện sức sinh trưởng và hiệu quả chuyển hóa thức ăn của cơ thể.

3.4. Cấu trúc mô ruột

Hình 2 cho thấy cá ăn KĐTĐ có chiều dài nhung mao ruột thấp hơn rõ rệt so với cá ăn BCD ($P < 0,05$). Trong khi đó, cá ăn khẩu phần có chứa KĐTLM có chiều dài nhung mao ruột tăng lên đáng kể so với cá ăn KĐTĐ và không ghi nhận sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm cá này so với cá ăn BCD. Đặc biệt, chiều dài nhung mao ruột của cá ăn KĐTLM1D khác biệt có ý nghĩa với cá ăn KĐTĐ ($P < 0,05$). Hình 3 cho thấy, cá ăn BCD có lớp mô liên kết, nhân của các tế bào biểu mô và lớp vi nhung mao sắp xếp đồng đều, không xuất hiện các khoảng gian bào lớn và không xuất hiện các không bào lớn trong biểu mô của nhung mao ruột. Ngược lại, cá ăn KĐTĐ có lớp mô liên kết sắp xếp lỏng lẻo (xuất hiện các khoảng gian bào lớn), nhân tế bào biểu mô sắp xếp lộn xộn và không rõ nét, lớp vi nhung mao xuất hiện những đoạn không đồng đều (không tạo thành đường viền sắc nét và rõ ràng) và xuất hiện nhiều không bào lớn trong biểu mô nhung mao ruột. Những biến đổi bất thường quan sát thấy ở cá ăn KĐTĐ đã được cải thiện khá rõ rệt ở cá ăn khẩu phần chứa KĐTLM, đặc biệt hình thái mô ruột của cá ăn KĐTLM1D khá tương đồng với cá ăn BCD.



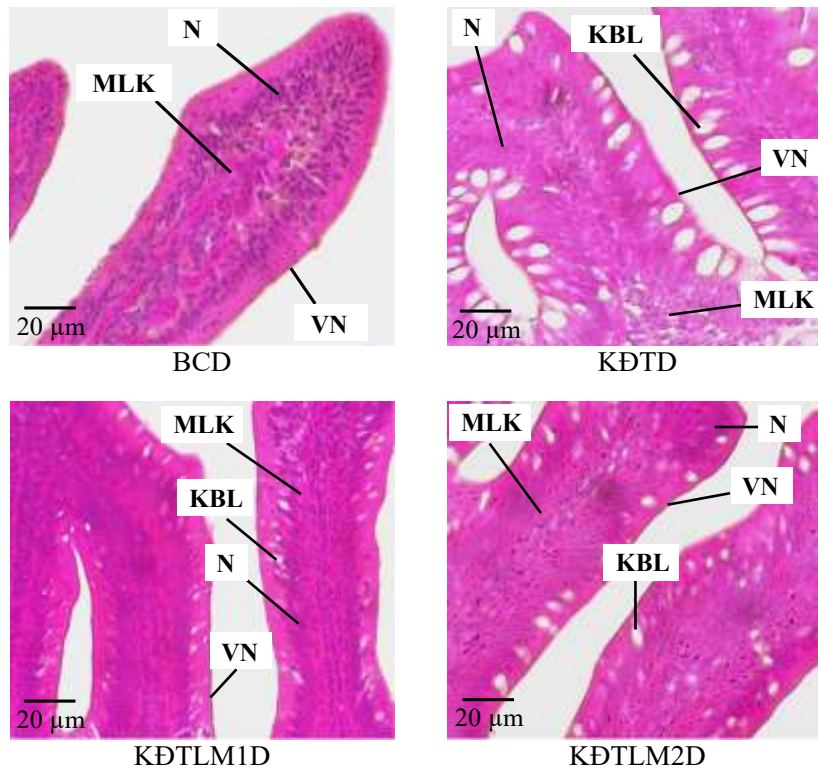
Ghi chú: Số liệu trong hình được trình bày dưới dạng giá trị trung bình \pm sai số chuẩn ($n = 10$). Các cột với các chữ khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ($P < 0,05$).

Hình 2. Chiều dài nhung mao ruột của cá thí nghiệm

Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng, cá ăn khẩu phần giàu KĐT xuất hiện hội chứng giống với viêm ruột, với các nhung mao ruột bị giảm chiều dài, lớp biểu mô lỏng lẻo, vi nhung mao sắp xếp không đồng đều và sắc nét, xuất hiện các không bào lớn trong lớp biểu mô, qua đó làm giảm diện tích bề mặt hấp thu và hiệu quả hấp thu chất dinh dưỡng ở ruột. Bất thường này quan sát thấy ở nhiều loài cá như cá hồi, cá tráp đỏ và cá chim vây vàng (Refstie & cs., 2005; Murashita & cs., 2018; Nguyen & cs., 2021b). Trong nghiên cứu này, các biểu hiện bất thường điển hình về cấu trúc mô ruột cũng được quan sát thấy ở cá chép ăn KĐT và đây có thể là một trong những nguyên nhân làm tỉ lệ tiêu hóa chất dinh dưỡng ở nhóm cá này. Ngược lại, hình thái mô ruột được cải thiện rõ rệt ở cá ăn KĐTLM1D và KĐTLM2D so với cá ăn KĐT. Nhiều nghiên cứu cho thấy, lên men KĐT giúp hình thái mô ruột trở lại bình thường, tương đương so với cá ăn BC, thể hiện ở sự tăng chiều dài vi nhung mao, sự sắp xếp đồng đều nhân tế bào biểu mô, vi nhung mao và mô liên kết và không xuất hiện/giảm số

lượng các không bào lớn (Wang & cs., 2019; Choi & cs., 2020; He & cs., 2020).

Lên men bằng vi sinh vật được xem là phương pháp hiệu quả để giảm/loại bỏ các yếu tố kháng dinh dưỡng và cải thiện giá trị dinh dưỡng của KĐT. Ngoài ra, các chất chuyển hóa thứ cấp được sinh ra trong quá trình lên men như các peptide kháng khuẩn, polyketide và isoflavone được cho là có khả năng cải thiện giá trị dinh dưỡng của KĐT và có lợi đối với sức khỏe của con người và động vật (Lee & cs., 2014). Do đó, sự cải thiện các chỉ tiêu sinh lí tiêu hóa và cấu trúc mô ruột ở cá chép trong nghiên cứu này có thể là do việc giảm/loại bỏ các yếu tố kháng dinh dưỡng và cải thiện giá trị dinh dưỡng của KĐT thông qua quá trình lên men, đặc biệt là KĐTLM 1. Kết quả của nghiên cứu này cũng cho thấy triển vọng thay thế BC bằng KĐTLM trong sản xuất thức ăn cho cá chép. Tuy nhiên, để khẳng định điều này, cần thiết phải tiến hành nghiên cứu dài ngày để đánh giá ảnh hưởng của KĐTLM 1 và 2 đến sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn, tỉ lệ nuôi sống và hệ vi sinh vật đường ruột của cá thí nghiệm.



Ghi chú: N: Nhân; MLK: Mô liên kết; VN: Vi nhung mao; KBL: Không bào lớn.

Hình 3. Hình thái mô ruột của cá thí nghiệm

Ảnh hưởng của khô đậu tương lên men trong thức ăn đến một số chỉ tiêu sinh lý tiêu hóa và cấu trúc mô ruột của cá chép (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)

4. KẾT LUẬN

KĐT làm giảm hàm lượng cholesterol trong máu, ức chế quá trình tiết dịch mật, giảm hoạt tính enzyme tiêu hóa, giảm tỉ lệ tiêu hóa chất dinh dưỡng, giảm chiều dài nhưng mao ruột và làm xuất hiện các bất thường trong cấu trúc mô ruột của cá chép. Lên men KĐT giúp cải thiện các chỉ tiêu sinh lý tiêu hóa và cấu trúc mô ruột. KĐTLM 1 thể hiện tác dụng cải thiện rõ rệt hơn KĐTLM 2. Các kết quả thu được từ nghiên cứu cho thấy, có thể thay thế BC bằng KĐTLM trong thức ăn cho cá chép mà không làm xuất hiện các bất thường điển hình giống như cá ăn KĐT, mở ra triển vọng sử dụng KĐTLM trong thức ăn để thay thế BC nhằm hạ giá thành thức ăn thủy sản.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện dưới sự tài trợ của Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED), mã số đề tài 106.05-2021.08. Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn ông Nguyễn Quang Huy, bà Nguyễn Thị Hồng Trang và bà Dương Nhật Vi, Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội đã hỗ trợ tận tình trong quá trình tiến hành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- AOAC (2005). Official methods of analysis (18th ed.). Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Gaithersburg, MD, USA.
- Cai J., Zhou X., Xue Y., Lucentea D. & Laganaa C. (2019). Top 10 species groups in global aquaculture 2017. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 12.
- Choi D.G, He M., Fang H., Wang X.L., Li X.Q. & Leng X.J. (2020). Replacement of fish meal with two fermented soybean meals in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Nutrition. 26: 37-46.
- He M., Li X., Poolsawat L., Guo Z., Yao W., Zhang C. & Leng X. (2020). Effects of fish meal replaced by fermented soybean meal on growth performance, intestinal histology and microbiota of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). Aquaculture Nutrition. 00: 1-14.
- Higaki N., Sato K., Suda H., Suzuka T., Komori T., Saeki T., Nakamura Y., Ohtsuki K., Iwami K. & Kanamoto R. (2006). Evidence for the existence of a soybean resistant protein that captures bile acid and stimulates its fecal excretion. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 70: 2844-2852.
- Hong K.J., Lee C.H. & Kim S.W. (2004). *Aspergillus oryzae* GB-107 fermentation improves nutritional quality of food soybeans and feed soybean meals. Journal of Medicinal Food. 7: 430-434.
- Kaushik S.J., Coves D., Dutto G. & Blanc D. (2004). Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. Aquaculture. 230: 391-404.
- Kim I.B., Lee S.H. & Kang S.J. (1984). On the efficiency of soybean meal as a protein source substitute in fish feed for common carp. Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 17: 55-60.
- Lee S.Y., Lee S., Lee S., Oh J.Y., Jeon E.J., Ryu H.S. & Lee C.H. (2014). Primary and secondary metabolite profiling of doenjang, a fermented soybean paste during industrial processing. Food Chemistry. 165: 157-166.
- Murashita K., Fukada H., Hosokawa H. & Masumoto T. (2007). Changes in cholecystokinin and peptide Y gene expression with feeding in yellowtail (*Seriola quinqueradiata*): Relation to pancreatic exocrine regulation. Comparative Biochemistry and Physiology Part B. 146: 318-325.
- Murashita K., Matsunari H., Furuita H., Ronnestad I., Oku H. & Yamamoto T. (2018). Effects of dietary soybean meal on the digestive physiology of red seabream *Pagrus major*. Aquaculture. 493: 219-228.
- Nguyen H.P., Khaoian P., Nagano J., Fukada H., Suzuki N. & Masumoto T. (2013). Feeding fermented soybean meal diet supplemented with taurine to yellowtail *Seriola quinqueradiata* affects growth performance and lipid digestion. Aquaculture Research. 46: 1101-1110.
- Nguyen T.T., Nguyen V.N., Tran V.K., Le H.D.T.M., Nguyen T.T.H, Tran T.H.N., Le T.N.B., Vo T.C.T. & Nguyen T.N.T. (2018). Tối ưu hóa điều kiện lên men khô đậu nành và đánh giá hình thái học mô ruột khi sử dụng khô đậu nành để thay thế bột cá ở thức ăn tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*). Tạp chí Nghề cá Sông Cửu Long. 11: 43-58.
- Nguyen H.P., Do T.V. & Tran H.D. (2020). Dietary replacement of fish meal by defatted and fermented soybean meals with taurine supplementation for pompano fish: effects on growth performance, nutrient digestibility, and biological parameters in a long-term feeding period. Journal of Animal Science. 98: 1-9.

- Nguyen H.P., Do T.V., Tran H.D. & Nguyen T.T. (2021a). Replacement of fish meal with defatted and fermented soybean meals in pompano *Trachinotus blochii* (Lacepède, 1801) diets. *Annals of Animal Science*. 21: 575-587.
- Nguyen H.P., Do T.V., Tran T.T.N.T. & Trieu T.A. (2021b). Ethanol-soluble components in soybean meal influence the digestive physiology, hepatic and intestinal morphologies, and growth performance of the marine fish pompano (*Trachinotus blochii*). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 105: 766-776.
- Olli J.J., Krogdahl A. & Vabeno A. (1995). Dehulled solvent-extracted soybean meal as a protein source in diets for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture Research*. 26: 167-174.
- Olsen R.L. & Hasan M.R. (2012). A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production. *Trends in Food Science and Technology*. 27: 120-128.
- Refstie S., Sahlstrom S., Brathen E., Baeverfjord G. & Krogdahl P. (2005). Lactic acid fermentation eliminates indigestible carbohydrates and antinutritional factors in soybean meal for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*. 246: 331-345.
- Romarheim O.H., Skrede A., Penn M., Mydland T.L., Krogdahl A. & Storebakken T. (2008). Lipid digestibility, bile drainage and development of morphological intestinal changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing defatted soybean meal. *Aquaculture*. 274: 329-338.
- Storebakken T., Refstie S. & Ruyter B. (2000). Soy products as fat and protein sources in fish feeds for intensive aquaculture. In: Drackley J.K. (ed.) *Soy in animal nutrition*, Federation of Animal Science Societies, Savoy, IL, USA: 127-170.
- Sugano M., Goto S., Yamada Y., Yoshida K., Hashimoto Y., Matsuo T. & Kimoto M. (1990). Cholesterol-lowering activity of various undigested fractions of soy protein in rats. *Journal of Nutrition*. 120: 977-985.
- Uran P.A., Goncalves A.A., Taverne-Thiele J.J., Schrama J.W., Verreth J.A.J. & Rombout J.H.W.M. (2008). Soybean meal induces intestinal inflammation in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Fish & Shellfish Immunology*. 25: 751-760.
- Wang L., Zhou H., He R., Xu W., Mai K. & He G. (2016). Effects of soybean meal fermentation by *Lactobacillus plantarum* P8 on growth, immune responses, and intestinal morphology in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*. 464: 87-94.
- Zhuo L.C., Liu K. & Lin Y.H. (2016). Apparent digestibility of soybean meal and *Lactobacillus* spp. fermented soybean meal in diets of grouper, *Epinephelus coioides*. *Aquaculture Research*. 47: 1009-1012.