

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN CHỦNG NẤM MỐC CÓ KHẢ NĂNG PHÂN GIẢI PECTIN

Phạm Thị Ngọc Lan, Ngô Thị Bảo Châu, Nguyễn Quỳnh Chi
Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

Pectinase là một nhóm enzyme thủy phân cơ chất pectin, với sản phẩm tạo thành là acid galacturonic, galactose, methanol,... Đây là nhóm enzyme được sử dụng nhiều trong kỹ thuật sau amylase và protease (Nguyễn Đức Lượng (2002)). Enzyme này được sử dụng nhiều trong công nghệ chế biến thực phẩm, công nghiệp dệt sợi, xử lý nước thải, y học, nông nghiệp... Các loài thuộc chi *Aspergillus* đặc biệt là *A. niger*, *A. awamori* hay chi *Penicillium* như *P. italicum*, *P. digitatum* đã được ứng dụng nhiều trong sản xuất pectinase (Kashap et al (2001)). Trong khuôn khổ bài báo này, chúng tôi đề cập đến các nghiên cứu phân lập và tuyển chọn chủng nấm mốc có khả năng phân giải pectin, với mục đích tìm ra được một số chủng có hoạt tính pectinase mạnh nhằm phát hiện nguồn gen để tạo cơ sở cho những nghiên cứu ứng dụng pectinase về sau.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Các chủng nấm mốc có khả năng phân giải pectin được phân lập từ nhiều loại trái cây như cam sành (*Citrus nobilis*), cam Vinh (*Citrus sinensis*), quýt đường (*Citrus reticulata Blanco*), bưởi da xanh (*Citrus maxima*), sung (*Ficus racemosa*),... thu thập tại tỉnh Thừa Thiên-Huế.

2. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp phân lập và đếm số lượng tế bào: sử dụng phương pháp Koch để phân lập nấm mốc trên môi trường Czapek có bổ sung cơ chất là pectin. Phân lập mỗi mẫu 3 nồng độ, mỗi nồng độ phân lập 3 đĩa. Tiếp đến các đĩa thạch đã phân lập được đặt trong tủ ẩm ở nhiệt độ 30°C trong 4 ngày. Sau đó, lấy các đĩa thạch đã phân lập ra đếm số lượng tế bào nấm mốc bằng phương pháp đếm gián tiếp thông qua số lượng khuẩn lạc mọc trên môi trường thạch đĩa (Phạm Thị Ngọc lan (2012)).

- Sơ tuyển trực tiếp các chủng nấm mốc có khả năng sinh pectinase: tiến hành cấy trực tiếp chủng trên môi trường thạch đĩa chỉ bổ sung nguồn carbon duy nhất là pectin. Cấy trực tiếp chủng nấm mốc lên đĩa thạch, mỗi đĩa mỗi chấm. Đặt các đĩa đã cấy vào tủ ẩm ở nhiệt độ 30°C. Sau 4 ngày lấy các đĩa thạch đã cấy nấm mốc ra nhuộm Lugol trong 1 - 2 phút, rồi loại bỏ phần thuốc nhuộm còn lại trong đĩa thạch. Khả năng sinh tổng hợp enzyme pectinase được đánh giá dựa vào hiệu số của đường kính vòng phân giải pectin với đường kính khuẩn lạc.

- Sơ tuyển gián tiếp các chủng nấm mốc có khả năng sinh pectinase: xác định đường kính vòng phân giải của enzyme pectinase trên môi trường thạch - cơ chất pectin. Cho enzyme tác dụng lên cơ chất trong môi trường agar, cơ chất bị phân giải, độ đục của môi trường giảm, môi trường trở nên trong suốt, độ lớn của phần môi trường trong suốt phản ánh hoạt tính của enzyme. Nuôi cấy các chủng nấm mốc trong môi trường Czapek - pectin dịch thể với lượng bào tử nấm mốc đưa vào mỗi bình thí nghiệm là đồng đều 5 ml dịch huyền phù/50 ml môi trường tốc độ lắc 120 rpm ở nhiệt độ phòng trong thời gian 4 ngày. Phần sinh khối nấm mốc được sấy khô tuyệt đối để đánh giá khả năng sinh trưởng phát triển. Phần dịch enzyme được sử dụng để xác định hoạt tính pectinase bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch.

- Xác định hoạt độ pectinase: để xác định hoạt độ chính xác hơn ta tiến hành xác định hoạt độ chung (HĐC) và hoạt độ riêng (HĐR) bằng cách đo lượng đường khử trong mẫu, bằng

phương pháp acid picric và định lượng protein theo phương pháp Bradford (Trần Thanh Phong và cộng sự (2013)). HĐC và HDR được tính theo công thức:

$$HĐC = \frac{X}{V.t} \quad HDR = \frac{HĐC}{P}$$

Trong đó: X: nồng độ đường khử trong dung dịch mẫu (mg/mL), V: thể tích mẫu thí nghiệm (1 mL); t: thời gian của phản ứng (30 phút), P: nồng độ enzyme trong mẫu (mg/mL)

- Xác định một số đặc điểm hình thái và phân loại chủng nấm mốc: quan sát khuẩn lạc nấm mốc trên môi trường Czapek thạch đĩa. Nuôi cấy trên lá kính để quan sát vi thể.

- Chẩn loại phân tử các chủng nấm mốc: các chủng nấm mốc có hoạt tính pectinase mạnh được gửi đi định danh bằng phương pháp sinh học phân tử tại phòng thí nghiệm sinh học phân tử, công ty TNHH Dịch vụ và Thương mại Nam Khoa, thành phố Hồ Chí Minh. Phương pháp này dựa trên việc giải trình tự gen vùng ITS (internal transcribed spacer) sau đó trình tự này được so sánh với cơ sở dữ liệu trên trang web NCBI bằng công cụ BLAST SEARCH (Sambrook J. and Russell D.W. (2001)).

- Xử lý số liệu: thí nghiệm lặp lại ba lần, được xử lý bằng thống kê mô tả (Microsoft Excel 2010) và phân tích ANOVA (Duncan's test $p < 0,05$) của chương trình SPSS 20.0.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Phân lập và xác định số lượng tế bào nấm mốc phân giải pectin

Số lượng nấm mốc có khả năng phân giải pectin trong các mẫu phân lập tương đối thấp và có mật độ phân bố không đồng đều. Số lượng nấm mốc cao nhất là ở Bưởi da xanh mẫu MA10, $19,08 \times 10^3$ CFU/g mẫu. Số lượng nấm mốc thấp nhất là ở chuối ba lùn mẫu MA6, $4,08 \times 10^3$ CFU/g mẫu. Nhìn chung, số lượng nấm mốc ở các mẫu bưởi, quýt, cam Vinh cao hơn so với các mẫu chuối, sung. Đặc biệt các mẫu cam sành số lượng nấm mốc phân giải pectin thấp hơn nhiều so với các mẫu cam, quýt khác. Nguyên nhân có thể là do các mẫu thu nhận không đồng đều về độ chín, độ hư hỏng và cũng có thể do hàm lượng cơ chất pectin ở các mẫu khác nhau hay có sự tham gia của hóa chất bảo quản ở các mẫu cam sành. Kết quả thể hiện qua bảng 1.

Bảng 1

Số lượng nấm mốc phân giải pectin trong các mẫu phân lập

STT	Đợt phân lập	Loại mẫu	Ký hiệu mẫu	pH mẫu	CFU/g mẫu ($\times 10^3$)
1	Đợt 1 05/01/2017	Cam sành	MA1	5,35	4,11
2		Cam sành	MA2	4,46	4,27
3		Cam sành	MA3	4,27	4,23
4	Đợt 2 13/02/2017	Cam Vinh	MA4	5,43	12,72
5		Quýt đường	MA5	3,70	10,58
6		Chuối ba lùn	MA6	5,97	4,08
7	Đợt 3 4/03/2017	Bưởi da xanh	MA7	6,86	14,25
8		Cam Vinh	MA8	4,23	16,23
9		Quýt đường	MA9	5,11	17,43
10	Đợt 4 21/03/2017	Bưởi da xanh	MA10	6,42	19,08
11		Quýt đường	MA11	4,64	11,06
12		Sung	MA12	6,87	5,34

13	Đợt 5	Bưởi da xanh	MA13	6,73	10,08
14	6/04/2017	Cam Vinh	MA14	4,52	7,62

Ghi chú CFU: Colony Forming Unit

2. Đánh giá khả năng sinh trưởng, phát triển và hoạt tính pectinase của các chủng nấm mốc

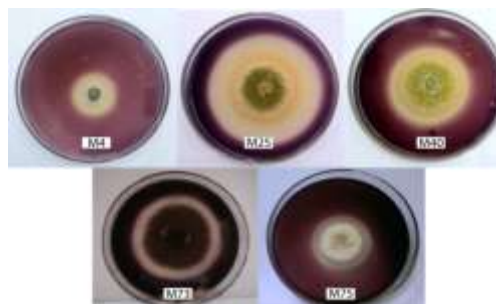
Khả năng phân giải pectin của các chủng nấm mốc phân lập được thể hiện trên môi trường thạch đĩa với nguồn cơ chất pectin. Thông qua kích thước và bề dày khuẩn lạc có thể đánh giá được mức độ sinh trưởng của các chủng nấm mốc. Trong cùng điều kiện nuôi cấy hoàn toàn giống nhau, các chủng nấm mốc muốn sinh trưởng và phát triển bắt buộc phải phân giải nguồn cơ chất pectin để sử dụng. Kích thước và bề dày khuẩn lạc phản ánh sơ bộ khả năng phân giải pectin của các chủng nấm mốc và được phân chia ở các mức độ yếu, trung bình, mạnh và rất mạnh. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2

Khả năng sinh trưởng, phát triển và hoạt tính pectinase của các chủng nấm mốc trên môi trường thạch đĩa pectin

Khả năng phân giải pectin	Kí hiệu	Số chủng	Tỷ lệ (%)
Yếu	+	39	50,65
Trung bình	++	10	12,99
Mạnh	+++	19	24,67
Rất mạnh	++++	9	11,69

Từ bảng 2 nhận thấy, các chủng nấm mốc phân lập được đều có khả năng phân giải pectin nhưng ở các mức độ khác nhau. Khi nhuộm với Lugol, một số chủng cho vùng phân giải rộng hơn diện tích khuẩn lạc, với đa số chủng nấm mốc thì phạm vi khuẩn lạc đến đâu sẽ thể hiện hoạt tính enzyme đến đó. Các chủng nấm mốc phân giải pectin yếu chiếm 50,65%, trong khi đó các chủng nấm mốc có khả năng phân giải pectin rất mạnh chiếm tỷ lệ thấp 11,69%.



Hình 1: Sơ tuyển trực tiếp các chủng nấm mốc có khả năng phân giải pectin

3. Xác định hoạt độ enzyme pectinase và tuyển chọn chủng nấm mốc

Dựa trên khả năng sinh trưởng, phát triển và hoạt tính pectinase của các chủng nấm mốc phân lập, chúng tôi chọn 5 chủng: M4, M25, M40, M73, M75 với các đặc điểm như kích thước vùng phân giải pectin lớn, khuẩn lạc dày, sinh trưởng phát triển mạnh để lựa chọn chủng có hoạt tính cao. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Qua bảng 3 thấy, sau quá trình nuôi cấy lắc, sinh khối các chủng nấm được lựa chọn không cao, tuy nhiên đường kính vòng phân giải pectin tương đối cao (đường kính vòng phân giải đạt 17,33 - 30,33 mm), xấp xỉ với một số công trình nghiên cứu cùng lĩnh vực. Nghiên cứu Nguyễn Thị Thúy Hà (2011) về tổng hợp pectinase của nấm mốc phân lập từ cơ chất giàu pectin, vòng phân giải của các chủng nấm mốc dao động từ 25,1 - 26,7 mm [Nguyễn Thúy Hà (2011)]. Về hoạt độ pectinase, 5 chủng nấm mốc có hoạt độ chung đạt 4,07 – 12,99 U/mL, hoạt độ riêng đạt 24,35 – 205,50 U/mg. Theo nghiên cứu của Trần Quốc Dung và cộng sự (2015), trong 50 chủng thuộc *Aspergillus niger* phân lập từ các mẫu vỏ xoài, thanh long, cà rốt, chuối, táo đã thu được

hai chủng X5 và X9 có khả năng sinh tổng hợp pectinase với hoạt độ chung là 10,54 – 10,70 U/mL sau 3 ngày nuôi cấy [Trần Quốc Dung và cộng sự (2015)]. Với nghiên cứu của Nazeen Akhter và cộng sự (2011), khả năng sản xuất pectinase trên 7 chủng *Aspergillus niger* phân lập từ nhiều nguồn khác nhau thì chủng *Aspergillus niger* IM6 là chủng sản xuất pectinase đạt hiệu quả nhất. Hoạt độ enzyme cao nhất là 142,44 U/g đạt được sau 7 ngày nuôi cấy ở nhiệt độ 40°C trong bình nuôi dung tích 750 mL (Nazeen Akhter và cộng sự (2011)).

Bảng 3

Sinh khối và hoạt độ enzyme pectinase của các chủng nấm mốc

STT	Chủng nấm mốc	Sinh khối (mg/mL)	Đường kính vòng phân giải (mm)	HĐC (U/mL)	HĐR (U/mg)
1	M4	0,21 ^d	27,67 ^b	12,99 ^a	205,50 ^a
2	M25	0,30 ^b	24,67 ^c	8,05 ^{bc}	24,35 ^c
3	M40	0,24 ^c	23,67 ^c	7,57 ^{bc}	53,44 ^c
4	M73	0,32 ^b	17,33 ^d	4,07 ^c	19,95 ^c
5	M75	0,52 ^a	30,33 ^a	8,69 ^b	133,96 ^b

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ sự sai khác trung bình mẫu có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (Duncan's test)

Hai chủng nấm mốc M4 và M75 có hoạt tính pectinase được thể hiện qua đường kính vòng phân giải và hoạt độ mạnh nhất trong các chủng được phân lập. Chủng nấm mốc M75 có đường kính vòng phân giải cao nhất đạt 30,33 mm trong khi đó chủng nấm mốc M4 lại có hoạt độ riêng cao nhất đạt 205,50 U/mg.

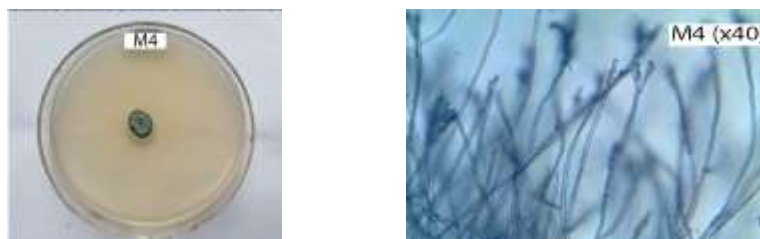


Hình 2: Vòng phân giải pectin của dịch enzyme tách từ hai chủng nấm mốc M4 và M75

4. Đặc điểm sinh học của các chủng nấm mốc

4.1. Chủng M4

Chủng nấm mốc M4 được nuôi cấy trên môi trường Czapeck thạch đĩa, hình thái khuẩn lạc có đặc điểm như sau: khuẩn lạc mọc gọn, màu xanh lục sẫm, rìa khuẩn lạc viền trắng, hệ sợi nấm mọc dày chắc, bề mặt có nếp nhăn, trên bề mặt không có giọt tiết và không tiết sắc tố ra môi trường. Khuẩn ti phân nhánh mạnh, cuống sinh bào tử trần phân hóa thứ cấp dạng bàn tay (hình 3).



Hình 3: Chủng nấm mốc M4 trên môi trường thạch đĩa và ảnh chụp tiêu bản

Chủng nấm mốc M4 được gửi định danh ở Phòng thí nghiệm Sinh học phân tử, Công ty Nam Khoa, thành phố Hồ Chí Minh. Vùng ITS của chủng nấm mốc M4 có tổng số nucleotide được giải trình tự là 796. Kết quả được so sánh với dữ liệu Genebank trên trang web NCBI bằng công cụ BLAST SEARCH. Trình tự này tương đồng với trình tự của loài nấm mốc *Penicillium citrinum* đã được đăng ký trong Genebank và với giá trị E - value bằng 0,0 (hình 4).

```

CCCCATCCCAGACGGGATTCTCACCCCTCTATGACGGCCCGTTCCAGAGGCCACTTAG
ATGGGGGGCCGTTCCCGAAGCATCCTCTGCAAATTACAATAGCGGACCCGAGGGG
GCCAGCTTTCAAATTTGAGCTCTTCGCCGCTTCACTCGCCGTTACTAGGGCAATCCC
GGTTGGTTTCTTTTCTCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATCCCTACCT
GATCCGAGGTCAACCTGAGATAATTAAGGTTGGGGGTCGGCTGGCCGCCGGCCGG
GCCTACTAGAGCGGGTGACGAAGCCCCATACGCTCGAGGACCCGGACGCGGTGCC
GCCGCTGCCTTTCGGGGCCCGTCCCCCGGGGGGGGGTTCGGGGGCCCAACACACA
AGCCGGGCTTGAGGGCAGCAATGACGCTCGGACAGGCATGCCCTCCGGGAATACCA
GAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATT
AGTTATCGCATTTTCGCTGCTTCTTCATCGATGCCGGAACCAAGAGATCCGTTGTTG
AAAGTTTTAACTAATTTTCGTTATAGGTTCTCAGACTGCAACTTCAGACAGCGTTTCAGG
GGGGCCGTCGGCGGGCGCGGGCCCGCCGAGGCAACATAGGTTCCGGGCAACACG
GGTGGGAAAGGTTGGGCCCGAGGGCCCGGCTCGGTAATGATCCTTCCGCAG
GTTACCTACGGAACCTTGTACGACTTTTACTTCTCTAAATGACCGAGTTTGACC
AACTTCCGGCGCT
    
```

Description	Max score	Total score	Query cover	E-value	Ident	Accession
Penicillium citrinum 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete se	1426	1426	100%	0.0	99%	KM491892.1
Penicillium sp. 19 ER0-2013 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, tot	1421	1421	100%	0.0	99%	KF387520.1
Penicillium citrinum strain 2.2.5.7 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2	1389	1389	97%	0.0	99%	K0674625.1
Penicillium citrinum genomic DNA sequence contains ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, strain D16-75	1362	1362	96%	0.0	99%	LT588897.1
Penicillium citrinum genomic DNA sequence contains ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, strain D16-67	1362	1362	96%	0.0	99%	LT588889.1
Penicillium citrinum genomic DNA sequence contains ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, strain D16-65	1362	1362	96%	0.0	99%	LT588887.1

Hình 4: Kết quả giải trình tự gen vùng ITS của chủng M4 và tra cứu trên Blast search

Kết quả giải trình tự gen vùng ITS chủng nấm mốc M4 và tra cứu trên Blast search tương đồng 99% với trình tự gen vùng ITS loài *Penicillium citrinum* 18S ribosomal RNA gen, mã số truy cập KM491892.1. Chủng nấm mốc M4 được xếp vào chi *Penicillium*, loài *Penicillium citrinum*.

4.2. Chủng M75

Chủng nấm mốc M75 được nuôi cấy trên môi trường Czapeck thạch đĩa, hình thái khuẩn lạc có đặc điểm như sau: khuẩn lạc phát triển theo kiểu phóng xạ mạnh, tơi, không chặt, màu sắc thay đổi trong quá trình sinh trưởng và phát triển, từ trắng đến vàng, tơi, trên bề mặt không có giọt tiết và không tiết sắc tố ra môi trường, bề mặt khuẩn lạc là những cụm nấm nhỏ dạng bông. Khuẩn ti đã phân hóa thành vách ngăn, phân nhánh, thể bình sơ cấp, bào tử trần có hình cầu, cuống bào tử hình hoa hướng dương



Hình 5: Chủng nấm mốc M75 trên môi trường thạch đĩa và ảnh chụp tiêu bản

Tương tự, chủng nấm mốc M75 được gửi định danh ở phòng thí nghiệm Sinh học phân tử, công ty Nam Khoa, thành phố Hồ Chí Minh. Vùng ITS của chủng nấm mốc M75 có tổng số nucleotide được giải trình tự là 935. Kết quả được so sánh với dữ liệu Genbank trên trang web NCBI bằng công cụ BLAST SEARCH. Trình tự này tương đồng với trình tự của loài nấm mốc *Aspergillus oryzae* đã được đăng ký trong Genbank và với giá trị E - value bằng 0,0 (hình 6).

```
GAAGGAGCTTCACACGGGCGCGGACACCCCCATCCCAGACGGGATTCTCACCCCTC
TCTGACGGCCCGTTCCAGGGCACTTAGACAGGGGCGCCGACCCCGAAGCTCCTCTG
CAAATTACAATGCGGACCCCGAAGGAGCCAGCTTTCAAATTTGAGCTCTTGCCGCTT
CACTCGCCGTTACTGAGGCAATCCCGGTTGGTTTCTTTTCTCCGCTTATTGATATG
CTTAAGTTCAGCGGGTATCCCTACCTGATCCGAGGTCAACCTGGAAAAAGATTGATT
TGCCTTCGGCAAGCGCCGGCCGGGCTACAGAGCGGGTGACAAAGCCCCATACGC
TCGAGGATCGGACCGGTTGCCGCGCTGCCTTTGGGGCCCGTCCCCCCCCGGAGA
GGGGACGACGACCCAACACACAAGCCGTGCTTGATGGGCAGCAATGACGCTCGGA
CAGGCATGCCCCCGGAATACCAGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGACTCGATGA
TTCACGGAATTCTGCAATTCACACTAGTTATCGCATTTGCTGCTTCTCATCGATG
CCGGAACCAAGAGATCCATTGTTGAAAGTTTTAACTGATTGCGATACAATCAACTCA
GACTTCACTAGATCAGACAGAGTTCTGTGGTGTCTCCGGCGGGCGCGGGCCCGGGG
CTGAGAGCCCCCGCGCCATGAATGGCCGGCCCGCCGAAGCAACTAAGGTACAG
TAAACACGGGTGGGAGGTTGGGCTCGCTAGGAACCCTACACTCGGTAATGATCCTT
CCGCAGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACTTTTACTTCTCTAAATGACCGGG
TTTGACCAACTTTCCGGCCCTGGGGGTCGTTGCCAACCCCTCTGGGCCAGTCCGA
AGGCCTCACCGAGCCATTCAATCGGTAGTAGCGACGGGCGG
```

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Identi	Accession
Aspergillus oryzae RIB40 DNA, rDNA te13	1720	1720	100%	0.0	99%	AP007173.1
Aspergillus oryzae RIB40 DNA, SC20E	1720	1720	100%	0.0	99%	AP007173.1
Aspergillus flavus strain 1761.B2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer	1700	1700	99%	0.0	99%	KF794374.1
Aspergillus flavus culture-collection MUM10.206 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1683	1683	97%	0.0	99%	HQ340106.1
Aspergillus flavus isolate F4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, co	1677	1677	97%	0.0	100%	JF951750.1
Aspergillus flavus culture-collection MUM10.204 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1677	1677	97%	0.0	99%	HQ340104.1
Aspergillus flavus culture-collection MUM10.202 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1676	1676	97%	0.0	99%	HQ340103.1

Hình 6: Kết quả giải trình tự gen vùng ITS của chủng M75 và tra cứu trên Blast search

Kết quả giải trình tự gen vùng ITS chủng nấm mốc M75 và tra cứu trên Blast search tương đồng 99% với trình tự gen vùng ITS loài *Aspergillus oryzae* RIB40 DNA, rDNA te13, mã số truy cập AP007173.1. Chủng nấm mốc M75 được xếp vào chi *Aspergillus*, loài *Aspergillus oryzae*.

III. KẾT LUẬN

- Đã phân lập được 77 chủng nấm mốc có khả năng phân giải pectin từ 14 mẫu vỏ quả khác nhau. Số lượng nấm mốc phân giải pectin trong mẫu dao động trong khoảng $4,08 \times 10^3$ - $19,08 \times 10^3$ CFU/g.

- Tuyển chọn được 2 chủng nấm mốc M4 và M75 có khả năng phân giải pectin mạnh: Chủng nấm mốc M4 có hoạt tính pectinase đạt 27,67 mm, hoạt độ chung là 12,99 U/mL, hoạt độ riêng là 205,50 U/mg, sinh khối khô đạt 0,21 mg/mL. Chủng nấm mốc M4 được định danh là

Penicillium citrinum. Chủng nấm mốc M75 có hoạt tính pectinase đạt 30,33 mm, hoạt độ chung 8,69 U/mL, hoạt độ riêng 133,96 U/mg, sinh khối khô đạt 0,52 mg/mL. Chủng nấm mốc M75 được định danh là *Aspergillus oryzae*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Phạm Thị Trân Châu, Nguyễn Thị Hiền, Phùng Gia Tường.**, 1997. *Thực hành Hóa sinh học*, Nhà xuất bản Giáo dục, Hà Nội, 132 trang.
2. **Trần Quốc Dung, Nguyễn Kim Cơ, Nguyễn Thị Sương, Nguyễn Thị Thu Chung, Phan Thị Thanh Diễm, Nguyễn Hoàng Lan Anh.**, 2015. Phân lập và sàng lọc một số chủng *Aspergillus niger* sinh pectinase từ một số vỏ củ, quả ở thành phố Huế. *Báo cáo Hội nghị khoa học toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật lần thứ 6*, trang 1073-1077.
3. **Nguyễn Thị Thúy Hà.**, 2011. Nghiên cứu khả năng tổng hợp pectinase của nấm mốc phân lập từ cơ chất giàu pectin và ứng dụng trong công nghệ thực phẩm, *Luận văn Thạc sĩ kỹ thuật*, Chuyên ngành Công nghệ thực phẩm và đồ uống, Đại học Đà Nẵng.
4. **Phạm Thị Ngọc lan.**, 2012. *Thực tập Vi sinh vật học*. NXB. Đại học Huế, 239 trang.
5. **Nguyễn Đức Lượng.**, 2002. *Công nghệ vi sinh*, Tập 2. NXB. Đại học Quốc gia, Thành phố Hồ Chí Minh, 371 trang.
6. **Trần Thanh Phong và cộng sự.**, 2013. *Thực hành Sinh lý thực vật-Hóa sinh và vi sinh vật học*, Nhà xuất bản Đại học Huế, 323 trang.
7. **Kashap D. R; Vohra S. P. K, Chopra., Tewari R.**, 2001. "Application of pectinase in the commercial sector: a review", *Bioresource Technology*, 77, pp 215-227.
8. **Nazeen Akhter, M. Alam Morshed, Azim Uddin, Feroza Begum, Tiphu Sultan, Abul Kalam Azad.**, 2011. "Production of pectinase by *Aspergillus niger* cultured in solid state media". *International Journal of Biosciences*, Vol. 1, No. 1, pp 33-42.
9. **Sambrook J. and Russell D.W.**, 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, New York, pp. 35-68.

ISOLATION AND SELECTION OF MOLD STRAINS CAPABLE OF PECTIN DECOMPOSITION

Pham Thi Ngoc Lan, Ngo Thi Bao Chau, Nguyen Quynh Chi

Pectinase showed its application in many fields: industry of fruit juice, paper and textile fibers, sewage treatment, tea and coffee fermentation,... For the purpose of generating genetic resources in pectinase studies, 77 mold strains isolated from 14 fruits peels samples. The number of molds resolving pectin in the samples were unstable, ranging from 4.08×10^3 to 19.08×10^3 CFU/g; among them, two mold strains M4 and M75 presented high pectinase activity. In more detail, the pectinase, total and specific activities of M4 were 27.67 mm, 12.99 U/mL and 205.50 U/mg, respectively. While for M75 the values were 30.33 mm, 8.69 U/mL and 133.96 U/mg respectively. The results of DNA sequencing indicated that M4 was *Penicillium citrinum* and M75 was *Aspergillus oryzae*.