

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NAM CẦN THƠ

BÁO CÁO TỔNG KẾT  
ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU KHOA HỌC CẤP CƠ SỞ

NGHIÊN CỨU CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN KHẢ  
NĂNG SINH ENZYME PECTIN METHYLESTERASE  
TỪ ASPERGILLUS NIGER TRÊN MÔI TRƯỜNG  
VỎ BƯỞI KẾT HỢP VỎ ĐU ĐỦ

Mã số: C23.14

**Chủ nhiệm đề tài:** Thạc sĩ Trần Duy Khang

**Thành viên:** 1. Thạc sĩ Nguyễn Hoàng Sinh  
2. Thạc sĩ Phan Thuý Oanh  
3. Kỹ sư Nguyễn Châu Hoàng Nam

Cần Thơ - 10/2023

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NAM CẦN THƠ

BÁO CÁO TỔNG KẾT  
ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU KHOA HỌC CẤP CƠ SỞ

NGHIÊN CỨU CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN KHẢ  
NĂNG SINH ENZYME PECTIN METHYLESTERASE  
TỪ ASPERGILLUS NIGER TRÊN MÔI TRƯỜNG  
VỎ BƯỞI KẾT HỢP VỎ ĐU ĐỦ

Mã số: C23.14

**Chủ nhiệm đề tài:** Thạc sĩ Trần Duy Khang

**Thành viên:** 1. Thạc sĩ Nguyễn Hoàng Sinh  
2. Thạc sĩ Phan Thuý Oanh  
3. Kỹ sư Nguyễn Châu Hoàng Nam

Cần Thơ - 10/2023

## DANH SÁCH THÀNH VIÊN THAM GIA NGHIÊN CỨU

Đề tài nghiên cứu khoa học cấp cơ sở “*Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng sinh enzyme pectin methylesterase từ Aspergillus Niger trên môi trường vỏ bưởi kết hợp vỏ đu đủ*” được thực hiện từ tháng 04/2023 đến tháng 10/2023, tại phòng thí nghiệm Công nghệ thực phẩm (Khu E), Trường Đại học Nam Cần Thơ (Đ/C: 168 Nguyễn Văn Cừ nối dài, P. An Bình, Q. Ninh Kiều, TP. Cần Thơ), với sự tham gia của các thành viên sau:

- Thạc sĩ Trần Duy Khang                      Chủ nhiệm đề tài
- Thạc sĩ Nguyễn Hoàng Sinh
- Thạc sĩ Phan Thuý Oanh
- Kỹ sư Nguyễn Châu Hoàng Nam
- Tiến sĩ Trần Thị Thùy                      Cố vấn khoa học

## MỤC LỤC

DANH SÁCH THÀNH VIÊN THAM GIA NGHIÊN CỨU.....	iii
MỤC LỤC.....	iv
DANH MỤC BẢNG .....	vii
DANH MỤC HÌNH ẢNH.....	viii
DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT .....	ix
TÓM TẮT .....	x
ABSTRACT .....	xi
<b>CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN CHUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 ĐẶT VẤN ĐỀ.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>2</b>
1.2.1 Mục tiêu chung .....	2
1.2.2 Mục tiêu cụ thể .....	2
<b>CHƯƠNG 2: SƠ LƯỢC TÀI LIỆU .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 HỆ ENZYME PECTINASE .....</b>	<b>3</b>
2.1.1 Giới thiệu chung .....	3
2.1.2 Polygalacturonase (PG).....	3
2.1.3 Lyase .....	3
2.1.4 Pectin methyl- và acetyl esterase.....	4
<b>2.2 PECTIN METHYLESTERASE (PME).....</b>	<b>4</b>
2.2.1 Giới thiệu chung .....	4
2.2.2 Cấu trúc của PME .....	5
2.2.3 Đặc điểm cơ bản của PME .....	6
2.2.4 Kiểu phản ứng .....	7
2.2.5 Nguồn gốc tổng hợp PME.....	8
2.2.6 Các yếu tố ảnh hưởng đến hoạt tính xúc tác của enzyme PME .....	10
<b>2.3 ĐỘNG HỌC ENZYME .....</b>	<b>16</b>
2.3.1 Khái niệm enzyme và cấu tạo hóa học .....	16
2.3.2 Giới thiệu về phản ứng enzyme.....	17

2.3.3 Động học phản ứng enzyme .....	17
2.3.4 Động học sự vô hoạt enzyme .....	19
<b>2.4 NẤM MỐC <i>ASPERGILLUS NIGER</i>.....</b>	<b>20</b>
2.4.1 Lược khảo chung về nấm mốc .....	20
2.4.2 Nấm mốc <i>Aspergillus niger</i> .....	20
2.4.3 Định danh <i>Aspergillus niger</i> .....	22
2.4.4 Thu nhận enzyme PME từ <i>A. niger</i> .....	22
2.4.5 Vai trò của cơ chất trong quá trình sinh tổng hợp enzyme PME ...	24
2.4.6 Ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy đến hiệu quả sinh tổng hợp PME .....	25
2.4.7 Tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước .....	26
<b>CHƯƠNG 3: PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>29</b>
<b>3.1 PHƯƠNG TIỆN NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>29</b>
3.1.1 Địa điểm và thời gian nghiên cứu.....	29
3.1.2 Đối tượng nghiên cứu: .....	29
3.1.3 Thiết bị và hóa chất.....	29
<b>3.2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>30</b>
3.2.1 Môi trường nuôi cấy .....	30
3.2.2 Các phương pháp phân tích và đo đạc chỉ tiêu hóa lý .....	32
3.2.3 Phương pháp xử lý số liệu.....	33
<b>3.3 PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH .....</b>	<b>33</b>
3.3.1 Phương pháp xác định độ ẩm .....	33
3.3.2 Phương pháp phân tích pectin .....	34
3.3.4 Phương pháp xác định hoạt tính của enzyme PME.....	35
3.3.5 Cách chuẩn bị dung dịch đệm citrate/phosphate (pH 2,2 – 8,0) ....	36
<b>3.4 PHƯƠNG PHÁP BỐ TRÍ THÍ NGHIỆM.....</b>	<b>37</b>
3.4.1 Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của tỉ lệ phối trộn cơ chất vỏ đu đủ: vỏ bưởi và tỉ lệ pha loãng cơ chất đến khả năng sinh PME từ <i>A. niger</i> .....	38
3.4.2 Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của việc điều chỉnh pH đến khả năng trích ly PME từ <i>A.niger</i> .....	39

3.4.3 Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng nhiệt độ và thời gian ủ đến khả năng sinh tổng hợp PME từ <i>A. niger</i> .....	40
<b>CHƯƠNG 4: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....</b>	<b>42</b>
4.1 XÁC ĐỊNH ĐỘ ẨM VÀ HÀM LƯỢNG PECTIN TRONG CƠ CHẤT LÊN MEN.....	42
4.2 ẢNH HƯỞNG TỈ LỆ PHỐI TRỘN CƠ CHẤT VỎ ĐU ĐỦ: VỎ BƯỞI VỚI TỶ LỆ PHA LOÃNG ĐẾN KHẢ NĂNG SINH PME TỪ <i>A. NIGER</i> .....	42
4.3 ẢNH HƯỞNG CỦA VIỆC ĐIỀU KHIỂN pH ĐẾN KHẢ NĂNG TRÍCH LY PME TỪ <i>A.NIGER</i> .....	45
4.4 ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ VÀ THỜI GIAN LÊN MEN ĐẾN KHẢ NĂNG SINH TỔNG HỢP PME TỪ <i>A. NIGER</i> .....	46
<b>CHƯƠNG 5: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ .....</b>	<b>50</b>
5.1 KẾT LUẬN.....	50
5.2 KIẾN NGHỊ.....	51
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO .....</b>	<b>viii</b>
<b>PHỤ LỤC.....</b>	<b>xii</b>

## DANH MỤC BẢNG

Bảng 2.1 Đặc tính sinh hóa của một số PME tinh khiết từ thực vật.....	9
Bảng 2.2 Hiệu quả xử lý nước táo và vải bằng chế phẩm enzyme pectinase .....	14
Bảng 2.3 Thông số động học Km của một số enzyme.....	18
Bảng 3.1 Kết quả trung bình sau khi đo màu sắc của 3 mẫu đu đủ.....	31
Bảng 3.1 Chuẩn bị dung dịch đệm citrate - phosphate (pH 2.2 - 8.0) .....	36
Bảng 4.1 Hàm lượng ẩm và pectin trong cơ chất lên men .....	42
Bảng 4.2 Sự ảnh hưởng của tỷ lệ cơ chất với mức độ pha loãng đến khả năng sinh enzyme PME có hoạt tính cao .....	43
Bảng 4.3 Ảnh hưởng của pH môi trường lên men đến hoạt tính PME.....	46
Bảng 4.4 Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian lên men đến hoạt tính PME.....	48

## DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 2.1 Phản ứng thủy phân liên kết methyl ester của pectin với xúc tác PME .....	4
Hình 2.2 Cấu trúc của PME từ cà rốt .....	5
Hình 2.3 Cấu trúc bậc II của PME từ cà chua, cà rốt và <i>E. chrysanthemi</i> .....	6
Hình 2.4 Ảnh hưởng của nhiệt độ đến tốc độ phản ứng của enzyme .....	10
Hình 2.5 Ảnh hưởng của nồng độ cơ chất đến hoạt tính của enzyme .....	12
Hình 2.6 Ảnh hưởng của pH đến hoạt động của enzyme.....	12
Hình 2.7 Tác dụng của PME trong quá trình làm trong nước quả.....	15
Hình 2.8 Pectate calcium .....	15
Hình 2.9 <i>Aspergillus niger</i> .....	21
Hình 3.1 Mẫu nguyên liệu .....	30
Hình 3.2 Phân lập <i>A. niger</i> .....	32
Hình 3.3 Sơ đồ bố trí thí nghiệm tổng quát .....	38
Hình 4.1 Khả năng sinh tổng hợp PME từ hỗn hợp vỏ đu đủ và vỏ bưởi ở các mức độ pha loãng khác nhau .....	44
Hình 4.2 Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian lên men đến hoạt tính PME .....	47
Hình 4.3 Enzyme PME dạng thô được thu trong dung dịch đệm citrate phosphate	49
Hình 5.1 Quy trình nuôi cấy và trích ly enzyme PME thô.....	50



## DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

***A. niger***: *Aspergillus niger*

**ES**: Enzyme - substrat

**EDTA**: Ethylene Diamine Tetraacetic Acid

**FDA**: Food and Drug Administration

**GRAS**: Generally Recognized As Safe

**HPAEC**: High Performance Anion Exchange Chromatography

**MALDI-MS**: Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass spectrometry

**PME**: Pectin Methylesterase

**PG**: Polygalacturonase

**PL**: Pectate Lyase

**SSF**: Solid Surface Fermentation

**SmF**: Submerged Fermentation

## TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng sinh pectin methylesterase từ *Aspergillus niger*. Các yếu tố khảo sát bao gồm: (i) tỷ lệ phối trộn giữa cơ chất vỏ đu đủ và vỏ bưởi (Nhân tố A - %,w/w) với nước (Nhân tố B - %,w/w): A1 - 100 : 0; A2 - 90 : 10; A3 - 80 : 20; A4 - 70 : 30; A5 - 60 : 40; A6 - 50 : 50; A7 - 0 : 10; B1 - 1 : 1; B2 - 1 : 1,5; B3 - 1 : 2; (ii) điều chỉnh pH trong môi trường nuôi cấy (Nhân tố C): C0 (nước cất) - pH = 6.7 - 6.8; C1 - pH = 3.0; C2 - pH = 3.5; C3 - pH = 4.0; C4 - pH = 4.5; C5 - pH = 5.0; C6 - pH = 5.5; (iii) nhiệt độ (Nhân tố D) và thời gian ủ (Nhân tố E): D0 (đối chứng) -  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  (Nhiệt độ phòng); D1 -  $32 \pm 1^\circ\text{C}$ ; D2 -  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ ; D3 -  $42 \pm 1^\circ\text{C}$ ; E1 - 24 giờ; E2 - 48 giờ; E3 - 72 giờ; E4 - 96 giờ; E5 - 120 giờ. Kết quả nghiên cứu cho thấy khả năng sinh enzyme pectin methylesterase hoạt tính cao tốt nhất (36,8 U/mL) ở tỷ lệ vỏ đu đủ và vỏ bưởi là (70/30) với tỷ lệ pha loãng là 1:1,5, pH 4.0 và ở nhiệt độ  $32^\circ\text{C}$  trong thời gian 96 giờ.

**Từ khóa:** Vỏ đu đủ, vỏ bưởi, enzyme PME, *Aspergillus Niger*.

## ABSTRACT

*The study was conducted to determine the factors affecting the ability to produce pectin methylesterase from *Aspergillus niger*. Surveyed factors include: (i) mixing ratio between papaya and grapefruit peel substrates (Factor A - %,w/w) with water (Factor B - %,w/w): A1 - 100 : 0; A2 - 90 : 10; A3 - 80 : 20; A4 - 70 : 30; A5 - 60 : 40; A6 - 50 : 50; A7 - 0 : 10; B1 - 1 : 1; B2 - 1 : 1,5; B3 - 1 : 2;; (ii) pH adjustment in the culture medium (Factor C): C0 (distilled water) - pH = 6.7 - 6.8; C1 - pH = 3.0; C2 - pH = 3.5; C3 - pH - 4.0; C4 - pH - 4.5; C5 - pH = 5.0; C6 - pH = 5.5; (iii) tempering temperature (Factor D) and time (Factor E): D0 (control) -  $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$  (Room temperature); D1 -  $32 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ; D2 -  $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ; D3 -  $42 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ; E1 - 24 hours; E2 - 48 hours; E3 - 72 hours; E4 - 96 hours; E5 - 120 hours. The results showed that the highest activity of pectin methylesterase enzyme production (36,8 U/mL) was found in the ratio of papaya skin and pomelo peel (70/30) with a dilution ratio of 1:1,5, pH 4,0 and at high temperature.  $32^{\circ}\text{C}$  for 96 hours.*

**Keywords:** *Papaya peel, grapefruit peel, PME enzyme, Aspergillus Niger.*