

NGHIÊN CỨU THU NHẬN PECTINASE TỪ ASPERGILLUS NIGER NUÔI CẤY TRÊN MÔI TRƯỜNG BÁN RẮN CHỨA CÙI BƯỞI ĐỂ NÂNG CAO HIỆU QUẢ BÓC VỎ TIÊU

Trần Ngọc Hùng, Nguyễn Anh Dũng, Mai Thị Ngọc Lan Thanh,

Trần Thị Ngọc Như

Trường Đại học Thủ Dầu Một

TÓM TẮT

Trong quy trình sản xuất tiêu sọ, việc bổ sung enzyme pectinase có thể giúp nâng cao hiệu quả bóc vỏ tiêu. Trong số 9 chủng *Aspergillus niger* nghiên cứu, chủng *A. niger* B2 sinh tổng hợp enzyme pectinase tốt nhất trên môi trường chứa 12% bột cùi bưởi, lượng nước bổ sung vào môi trường 40%, thời gian thích hợp để thu nhận enzyme là 5 ngày, hoạt độ pectinase đạt 4,82 UI/g. Chế phẩm pectinase giúp rút ngắn thời gian bóc vỏ tiêu. Hiệu suất bóc vỏ đạt 93% sau 28 giờ đối với tiêu đen và 76 giờ đối với tiêu xanh. Kết quả cho thấy tiềm năng sử dụng pectinase được sản xuất từ phế liệu nông nghiệp để nâng cao hiệu quả sản xuất tiêu sọ.

Từ khóa: nuôi cấy, môi trường, bán rắn, cùi bưởi, thu nhận pectinase, vỏ tiêu

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Pectinase là nhóm enzyme xúc tác phản ứng thủy phân pectin, giải phóng các đơn phân là acid galacturonic[4]. Trong lĩnh vực công nghệ thực phẩm, enzyme pectinase được sử dụng để làm mềm vách tế bào, tăng quá trình ly trích các loại nước ép trái cây; hỗ trợ quá trình lọc và làm trong các loại nước ép trái cây, rượu vang. Những năm gần đây, enzyme pectinase còn được sử dụng để nâng cao khả năng bóc vỏ tiêu; rút ngắn thời gian hoai mục của vỏ cà phê trong quá trình ủ; xử lý lớp nhớt bám trên hạt cà phê[3,6,7]. Mặc dù enzyme pectinase có mặt ở nhiều thực vật và vi sinh vật, nhưng trong sản xuất công nghiệp, vi khuẩn *Bacillus* và nấm mốc *Aspergillus* luôn là lựa chọn hàng đầu[4]. Với khả năng phát triển nhanh trên nhiều loại cơ chất khác nhau, đặc biệt là trên các phế liệu nông nghiệp giàu pectin, nấm mốc *Aspergillus niger* luôn thu hút được nhiều sự quan tâm của các nhà nghiên cứu. Ở Việt Nam, có thể kể đến một loạt các nghiên cứu liên quan đến enzyme pectinase từ *Aspergillus* trong những năm gần đây: năm 2008, Huỳnh Ngọc Oanh nghiên cứu tinh sạch enzyme pectinase bằng phương pháp lọc gel và lọc màng[5]; năm 2009, Trần Thị Thanh Thuần sử dụng chế phẩm có chứa pectinase để xử lý nhanh vỏ cà phê trong quá trình ủ hoai[3]; năm 2011, Lê Thị Thu Trang nghiên cứu khả năng tổng hợp pectinesterase và polygalacturonic của *Aspergillus niger* [8], năm 2012, Dương Văn Tuấn sử dụng pectinase để xử lý lớp nhớt của vỏ cà phê sau khi bóc vỏ[7]; năm 2013, Trần Thanh Trúc đã phân lập và tuyển chọn dòng *Aspergillus niger* sinh pectin methylesterase cao[9].

Trong khi đó, hàng năm, ngành công nghệ chế biến thực phẩm thải ra một lượng lớn các loại phế phụ liệu giàu pectin như: cùi vỏ các loại trái cây có múi, bã táo, vỏ cà rốt, cùi mít... tận dụng nguồn phế phụ liệu này để bổ sung vào môi trường nuôi cấy bán rắn sẽ cảm ứng quá trình sinh tổng hợp pectinase và giảm thiểu lượng xác bã thực vật thải ra môi trường. Chế phẩm pectinase sau đó sẽ được thử nghiệm khả năng bóc vỏ tiêu nhằm nâng cao hiệu quả của quy trình sản xuất tiêu trắng, một sản phẩm có giá trị cao và được thị trường các nước phát triển ưa chuộng. Từ định hướng trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu: Nghiên cứu thu nhận pectinase từ *Aspergillus niger* nuôi cấy trên môi trường bán rắn chứa cùi bưởi để nâng cao hiệu quả bóc vỏ tiêu (*Piper nigrum* L.).

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Các phế liệu giàu pectin như cùi mít, cùi bưởi, vỏ cam, vỏ cà rốt được thu gom tại các chợ, các quầy nước ép trái cây trên địa bàn thành phố Thủ Dầu Một, tỉnh Bình Dương. Cùi mít: gọt bỏ phần vỏ cứng và phần xơ, xay nhuyễn và sấy khô cho đến khi độ ẩm còn khoảng 10%. Vỏ cam, cùi bưởi: gọt bỏ phần vỏ xanh chứa tinh dầu phía ngoài. Xay nhuyễn và sấy khô cho đến khi độ ẩm còn khoảng 10%. Vỏ cà rốt: xay nhuyễn và sấy khô cho đến khi độ ẩm còn khoảng 10%.

Chín (9) chủng *Aspergillus niger* được phân lập trên các cơ chất giàu pectin do phòng thí nghiệm Sinh học, Trường Đại học Thủ Dầu Một cung cấp. Bao gồm các chủng *Asp. niger* B1, B2, B3 và B4 phân lập trên vỏ bưởi; các chủng *Asp. niger* C1, C2 và C3 phân lập trên vỏ cam; chủng *Asp. niger* C4 và C5 phân lập trên vỏ chanh.

Tiêu xanh: giống tiêu trung có dung trọng khoảng 570g/lít, do nhà vườn tại huyện Phú Giáo tỉnh Bình Dương cung cấp. Tiêu đen: tiêu xanh được phơi nắng cho đến khi độ ẩm còn khoảng 20%.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp nuôi cấy bán rắn thu nhận enzyme pectinase[5]: Các chủng *Aspergillus niger* từ môi trường thạch nghiêng được cấy vào các erlen chứa 25 g môi trường bán rắn có thành phần: cám gạo 30%; trấu 16%; bột cà rốt 8%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1%, độ ẩm 45%. Mật độ giống ban đầu khoảng 10^7 bào tử/g canh trường. Ủ ở nhiệt độ phòng (30°C). Sau 5 ngày, thu nhận và sấy khô canh trường ở 45°C cho đến khi độ ẩm còn khoảng 10%. Xác định hoạt độ enzyme pectinase trong canh trường bằng phương pháp định lượng đường khử.

Xác định hoạt độ pectinase bằng phương pháp định lượng đường khử[1]: Trộn đều 0,5 ml dung dịch enzyme pectinase với 0,5 ml dung dịch pectin 0,5% pha trong đệm acetate pH 5.0, ủ ở 40°C trong 60 phút. Thêm 1 ml thuốc thử DNS, đun sôi cách thủy trong 5 phút và so màu ở bước sóng 540 nm. Một đơn vị hoạt độ (UI) enzyme pectinase là lượng enzyme tối thiểu trong điều kiện chuẩn (40°C , pH 5...) thủy phân pectin trong 1 phút tạo ra 1 μmol D-galacturonic acid.

Phương pháp xử lý số liệu: Mỗi nghiệm thức được tiến hành lặp lại 5 lần. Đánh giá sai số chuẩn bằng chương trình phân tích phương sai của phần mềm Statgraphic Centurion 15.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Chọn lọc chủng Aspergillus niger có hoạt tính sinh tổng hợp enzyme pectinase cao: 09 chủng *Aspergillus niger* trên môi trường thạch nghiêng được cấy vào các môi trường bán rắn. Sau 5 ngày nuôi cấy, xác định hoạt tính pectinase trong canh trường nuôi cấy và chọn chủng sinh tổng hợp pectinase cao nhất.

Ảnh hưởng của thành phần cơ chất giàu pectin đến khả năng sinh tổng hợp enzyme pectinase: Chủng *Aspergillus niger* chọn lọc từ thí nghiệm trước được nuôi cấy trên môi trường bán rắn có bổ sung 8% các cơ chất giàu pectin khác nhau (cùi mít, vỏ cam, cùi bưởi và vỏ cà rốt). Sau 5 ngày nuôi cấy, xác định hoạt tính pectinase trong canh trường nuôi cấy và chọn thành phần cơ chất thích hợp sinh tổng hợp pectinase cao nhất.

Ảnh hưởng của tỷ lệ cơ chất giàu pectin đến khả năng sinh tổng hợp enzyme pectinase: Chủng *Aspergillus niger* chọn lọc từ thí nghiệm trước được nuôi cấy trên môi trường bán rắn có bổ sung cơ chất giàu pectin đã chọn từ thí nghiệm trước. Tỷ lệ cơ chất trong các nghiệm thức thay đổi: 4; 8; 12; 16 và 20%. Sau 5 ngày nuôi cấy, xác định hoạt tính pectinase trong canh trường nuôi cấy và chọn tỷ lệ cơ chất thích hợp sinh tổng hợp pectinase cao nhất.

Ảnh hưởng của lượng nước bổ sung đến khả năng sinh tổng hợp enzyme pectinase: Chủng *Aspergillus niger* chọn lọc từ thí nghiệm trước được nuôi cấy trên môi trường bán rắn có bổ sung thành phần và tỷ lệ cơ chất giàu pectin đã chọn từ thí nghiệm trước. Lượng nước bổ sung vào môi trường bán rắn trong các nghiệm thức thay đổi: 35; 40; 45; 50 và 55%. Sau 5 ngày nuôi cấy, xác định hoạt tính pectinase trong canh trường nuôi cấy và chọn lượng nước bổ sung vào môi trường bán rắn thích hợp sinh tổng hợp pectinase cao nhất.

Xác định thời gian thu nhận enzyme pectinase thích hợp nhất: Chủng *Aspergillus niger* chọn lọc từ thí nghiệm trước được nuôi cấy trên môi trường bán rắn có bổ sung thành phần và tỷ lệ cơ chất giàu pectin, lượng nước bổ sung đã chọn từ thí nghiệm trước. Xác định hoạt tính pectinase trong canh trường nuôi cấy sau các khoảng thời gian khác nhau: 3; 4; 5; 6 và 7 ngày. Chọn thời gian thu nhận pectinase có hoạt độ cao nhất.

Đánh giá khả năng bóc vỏ tiêu của chế phẩm enzyme pectinase: 50 g tiêu xanh hoặc tiêu đen (độ ẩm 20%) được ngâm với 50 g nước, giữ ở nhiệt độ phòng (30°C). Sau 24 giờ; 48 giờ; 72 giờ hoặc 96 giờ, bổ sung 10 ml dung dịch enzyme pectinase có tổng hoạt độ 4 UI và giữ ở 40°C. Sau 4 giờ xử lý pectinase, tiêu được chà xát để tách vỏ. Sấy khô tiêu đến khi độ ẩm còn khoảng 10%. Các lô đối chứng được tiến hành với chế phẩm pectinase đã bất hoạt bằng cách đun sôi 15 phút.

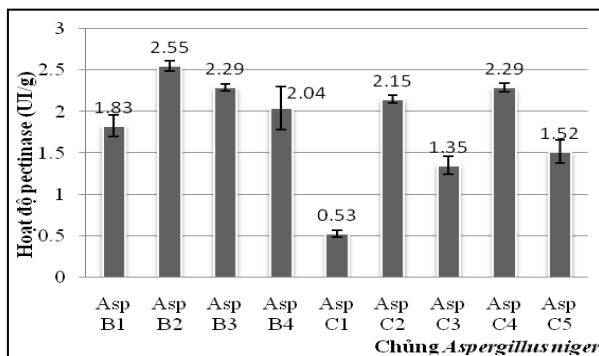
Hiệu suất bóc vỏ tính theo công thức: $H (\%) = \frac{\text{Khối lượng tiêu sọ}}{\text{Khối lượng (tiêu sọ + tiêu còn dính vỏ)}}$

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Chọn lọc chủng *Aspergillus niger* sinh tổng hợp enzyme pectinase cao

Chín (9) chủng *Aspergillus niger* trên môi trường thạch nghiêng được cấy vào các môi trường bán rắn. Sau 5 ngày nuôi cấy, hoạt tính pectinase của các chủng được xác định và thể hiện trong biểu đồ 1.

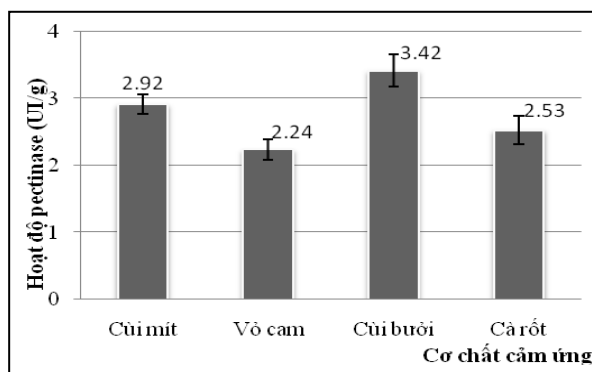
Trên môi trường chứa cơ chất cảm ứng là bột vỏ cà rốt, các chủng *Aspergillus niger* thể hiện những khả năng sinh tổng hợp pectinase rất khác nhau. Chủng Asp B2 có hoạt độ cao nhất, đạt 2,55 UI/g canh trường, khác biệt về mặt thống kê so với các chủng còn lại. Chủng Asp B2 được phân lập trên cùi trái bưởi, do đó có khả năng sinh tổng hợp enzyme pectinase cao.



Biểu đồ 1. Hoạt độ pectinase của các chủng *Aspergillus niger*

3.2. Ảnh hưởng của thành phần cơ chất giàu pectin đến khả năng sinh tổng hợp enzyme pectinase của chủng *Aspergillus niger* B2

Chủng *Aspergillus niger* B2 được nuôi cấy trên môi trường bán rắn có bổ sung các cơ chất giàu pectin khác nhau. Sau 5 ngày nuôi cấy, hoạt tính pectinase trong các canh trường được xác định và thể hiện trong biểu đồ 2. Kết quả thí nghiệm cho thấy nguồn gốc pectin có ảnh hưởng nhiều đến khả năng cảm ứng sinh enzyme pectinase. Vỏ cam chứa hàm lượng pectin cao nhất (3,5 – 5,5%) nhưng khả năng cảm ứng sinh pectinase lại thấp hơn so với các cơ chất khác.

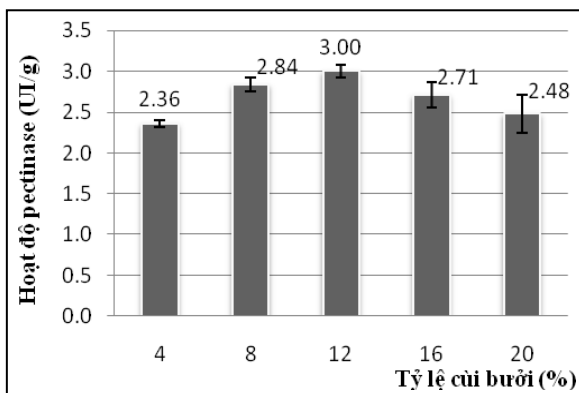


Biểu đồ 2. Ảnh hưởng của cơ chất đến khả năng sinh tổng hợp pectinase

Cùi bưởi chứa 3,1% pectin thích hợp nhất cho việc cảm ứng sinh enzyme pectinase, hoạt độ pectinase đạt 3,42 UI/g canh trường. Kết quả thí nghiệm cho thấy có thể sử dụng nấm mốc *Aspergillus niger* B2 để sản xuất chế phẩm giàu pectinase trên cơ chất là cùi bưởi.

3.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ cơ chất giàu pectin đến khả năng sinh tổng hợp enzyme pectinase của chủng *Aspergillus niger* B2

Chủng *Aspergillus niger* B2 được nuôi cấy trên môi trường bán rắn có bổ sung cùi bưởi với các tỷ lệ khác nhau. Sau 5 ngày nuôi cấy, hoạt tính pectinase trong các canh trường được xác định và thể hiện trong biểu đồ 3. Tỷ lệ bột cùi bưởi trong các nghiệm thức có ảnh hưởng đáng kể tới khả năng sinh tổng hợp pectinase của chủng *Aspergillus niger* B2. Hàm lượng bột bưởi bổ sung vào môi trường tốt nhất là 12%, hoạt độ enzyme trong canh trường đạt 3 UI/g.

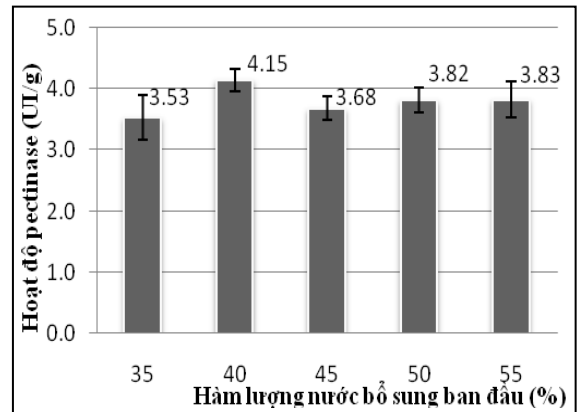


Biểu đồ 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ cơ chất đến khả năng sinh tổng hợp pectinase

Việc gia tăng tỷ lệ bột cùi bưởi trong canh trường sẽ kích thích quá trình sinh pectinase, tuy nhiên, hàm lượng bột cùi bưởi tăng quá cao lại làm giảm khả năng sinh tổng hợp enzyme pectinase. Có thể hàm lượng pectin trong môi trường cao sẽ làm gia tăng độ nhớt của canh trường, tác động đến khả năng sinh trưởng của chủng nấm *Aspergillus niger* B2[1].

3.4. Ảnh hưởng của lượng nước bổ sung đến khả năng sinh tổng hợp enzyme pectinase của chủng *Aspergillus niger* chọn lọc

Chủng *Aspergillus niger* B2 được nuôi cấy trên môi trường bán rắn có bổ sung cùi bưởi với tỷ lệ 12%. Lượng nước bổ sung vào môi trường thay đổi từ 35 đến 55%. Sau 5 ngày nuôi cấy, hoạt tính pectinase trong các canh trường được xác định và thể hiện trong biểu đồ 4. Trong quá trình nuôi cấy bán rắn, độ ẩm là yếu tố rất quan trọng cho sự sinh trưởng của nấm mốc. Việc thay đổi lượng nước bổ sung ban đầu sẽ làm thay đổi độ ẩm của canh trường. Trong phạm vi của thí nghiệm, lượng nước bổ sung ban đầu thay đổi 35 - 55% không ảnh hưởng nhiều đến khả năng sinh tổng hợp enzyme pectinase.

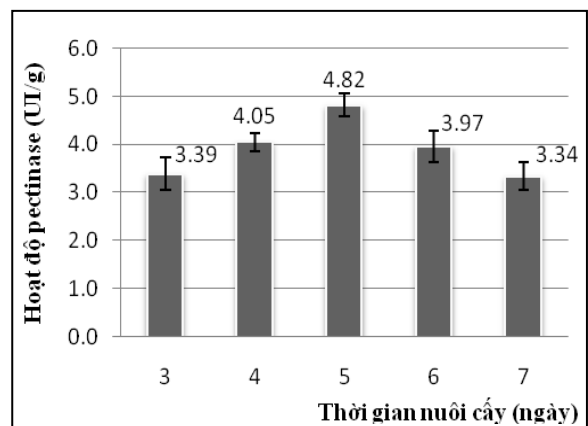


Biểu đồ 4. Ảnh hưởng của lượng nước bổ sung đến khả năng sinh tổng hợp pectinase

Hoạt tính pectinase cao nhất đạt 4,15 UI/g khi lượng nước bổ sung vào canh trường chiếm 40%. Kết quả này không khác biệt so với các nghiệm thức được bổ sung nước nhiều hơn. Tuy nhiên, trong sản xuất, việc giảm lượng nước trong canh trường sẽ giúp tiết kiệm chi phí sấy sản phẩm. Do đó, chúng tôi chọn lượng nước bổ sung ban đầu là 40% để tiến hành thí nghiệm tiếp theo.

3.5. Xác định thời gian thu nhận enzyme pectinase thích hợp nhất

Chủng *Aspergillus niger* B2 được nuôi cấy trên môi trường bán rắn có bổ sung cùi bưởi với tỷ lệ 12%. Lượng nước bổ sung vào môi trường 40%. Sau khoảng thời gian nuôi cấy từ 3 đến 7 ngày, hoạt tính pectinase trong các canh trường được xác định và thể hiện trong biểu đồ 5. Thời điểm thu nhận enzyme pectinase thích hợp là sau 5 ngày nuôi cấy, hoạt độ pectinase trong canh trường đạt 4,82 UI/g. Thời gian nuôi cấy càng dài, hoạt độ enzyme pectinase càng giảm. Sau thời gian 5 ngày, khả năng sinh trưởng của nấm *Aspergillus niger* B2 đã đạt cực đại nên chúng không tiết thêm pectinase vào môi trường.

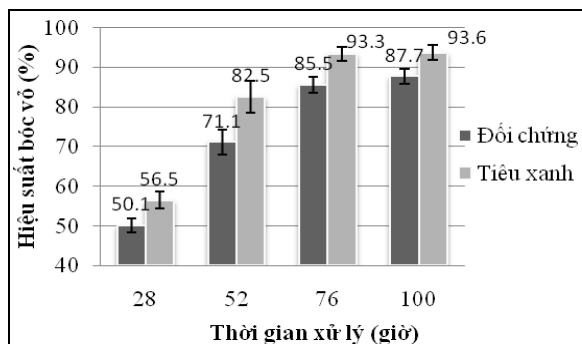


Biểu đồ 5. Ảnh hưởng của thời gian đến hoạt độ pectinase trong canh trường

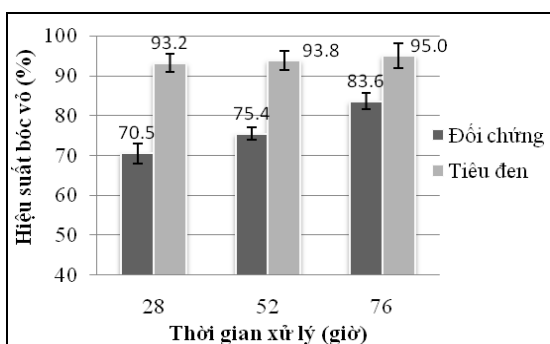
Trong khi đó, lượng enzyme được tiết ra trước đó đã mất dần hoạt tính nên hoạt độ pectinase trong canh trường giảm dần. So với kết quả nghiên cứu của Huỳnh Ngọc Oanh (2008), chế phẩm của chúng tôi có hoạt độ thấp hơn. Tuy nhiên, những thí nghiệm sàng lọc trước đó cho thấy enzyme pectinase thu được giúp nâng cao hiệu quả bóc vỏ tiêu, nên chúng tôi tiếp tục thử nghiệm hướng ứng dụng này.

3.6. Đánh giá khả năng bóc vỏ tiêu của chế phẩm enzyme pectinase

Tiêu xanh và tiêu đen sau khi ngâm trong nước được xử lý enzyme pectinase với hoạt độ 4 UI. Ủ ở 40°C, sau 4 giờ, hiệu quả bóc vỏ được thể hiện trong biểu đồ 6 và biểu đồ 7.



Biểu đồ 6. Ảnh hưởng của pectinase đến hiệu quả bóc vỏ tiêu xanh.



Biểu đồ 7. Ảnh hưởng của pectinase đến hiệu quả bóc vỏ tiêu đen.

Cùng với cellulose, pectin là thành phần chính cấu trúc nên vỏ tiêu. Cho nên khi bổ sung enzyme pectinase, quá trình bóc vỏ tiêu diễn ra dễ dàng hơn. Tiêu xanh có lớp vỏ chưa bị hư hại nên enzyme pectinase khó xâm nhập vào bên trong, dẫn đến hiệu quả bóc vỏ gia tăng không nhiều. Sau khi tiêu ngâm trong nước 72 giờ, vỏ tiêu mềm và thấm nước tốt, việc bổ sung enzyme pectinase sẽ đem lại hiệu quả cao nhất, hiệu suất bóc vỏ đạt 93.3% sau tổng thời gian 76 giờ xử lý. Khi ngâm tiêu trong nước lâu hơn, hiệu quả bóc vỏ trong trường hợp có bổ sung pectinase không có sự gia tăng đáng kể. Trong khi đó, đối với tiêu đen, enzyme pectinase giúp gia tăng rõ rệt hiệu quả bóc vỏ. Sau khi ngâm 24 giờ, tiêu đen tiếp tục được xử lý với enzyme pectinase trong 4 giờ, hiệu suất bóc vỏ tiêu đen đạt 93,2% sau tổng thời gian 28 giờ xử lý, cao hơn 22,7% so với đối chứng. Có thể việc tiêu xanh được phơi nắng đã làm cho lớp vỏ tiêu hư hại, tạo điều kiện cho enzyme pectinase dễ dàng thấm vào bên trong, thủy phân thành phần pectin và làm cho vỏ tiêu dễ bóc tách ra khỏi phần sọ. Ở các nghiệm xử lý tiêu 52 và 76 giờ, hiệu suất bóc vỏ không có sự khác biệt so với khi xử lý pectinase sau khi ngâm 28 giờ.

Kết quả của thí nghiệm đã cho thấy triển vọng của việc sử dụng chế phẩm pectinase để nâng cao hiệu quả trong quá trình sản xuất tiêu sọ. So với kết quả nghiên cứu của một số tác giả như Bùi Văn Miên (2004)[3], thời gian ngâm tiêu 6 – 7 ngày, lượng nước sử dụng gấp 30 lần, cho hiệu suất bóc vỏ đạt 95% hay Nguyễn Thị Mỹ Hiền (2010)[2], sử dụng chế phẩm có chứa nấm *Aspergillus* sp. để thúc đẩy quá trình bóc vỏ của tiêu, hiệu suất bóc vỏ đạt 93% trong thời gian 3 ngày, kết quả của chúng tôi đã rút ngắn đáng kể về mặt thời gian và giảm bớt được lượng nước sử dụng. Theo đó, thời gian ngâm tiêu chỉ kéo dài từ 1 đến 2 ngày và lượng nước sử dụng giảm được 30 lần.

4. KẾT LUẬN

Từ 9 chủng *Aspergillus niger* phân lập trên các phế liệu giàu pectin, chúng tôi chọn lọc được chủng *Aspergillus niger* B2 sinh tổng hợp enzyme pectinase tốt nhất trên môi trường bán rắn chứa bột củi bưởi với tỷ lệ 12%, lượng nước bổ sung vào môi trường 40%, thời gian nuôi cấy thích hợp là 5 ngày, hoạt độ enzyme pectinase trong canh trường đạt 4,82 UI/g. Xử lý enzyme pectinase ở 40°C trong thời gian 4 giờ giúp gia tăng hiệu quả bóc vỏ tiêu đen. Tỷ lệ bóc vỏ tiêu đạt 93,2% sau 28 giờ ngâm. Việc xử lý enzyme pectinase trên tiêu xanh không đem lại nhiều hiệu quả. Sau 76 giờ xử lý, tỷ lệ bóc vỏ chỉ cao hơn 7,8% so với đối chứng.

RESEARCH ON PRODUCING PECTINASE FROM ASPERGILLUS NIGER ON SOLID STATE MEDIUM CONTAINING GRAPE FRUIT PULP FOR IMPROVING PEPPER PEELING

Tran Ngoc Hung, Nguyen Anh Dung, Tran Thi Ngoc Nhu, Mai Thi Ngoc Lan Thanh

ABSTRACT

In white pepper processing, adding the pectinase is able to help improve pepper peeling. Among 9 Aspergillus niger strains, A. niger B2 strain biosynthesize the pectinase have a highest activity on the medium that contains the powder of pomelo with the ratio of 12 percent; a amount of water is 40 percent (w/w). The best suitable time to receive pectinase is 5 days, with the activity pectinase reaches 4.82 UI/gr. The pectinase preparation help shorten the time of remove the husk of pepper. The productivity of taking off the husk gets 93 percent after 28 hours to the black pepper and after 76 hours to green pepper. This result shows potential of applying pectinase that produce from agricultural residues to improve effect of white pepper processing.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Văn Bá, Cao Ngọc Diệp, Nguyễn Văn Thành (2005), *Giáo trình môn nấm học*, Trường Đại học Cần Thơ.
- [2] Lâm thị Kim Châu, Văn Đức Chín, Ngô Đại Nghiệp (2004), *Thực tập lớn sinh hóa*, NXB Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.
- [3] Nguyễn Thị Mỹ Hiền, Nguyễn Văn Hoàng (2010), *Sử dụng chế phẩm sinh học lên men sản xuất tiêu trắng*, luận văn thạc sĩ, Trường Đại học Lạc Hồng.
- [4] Bùi Văn Miên, Nguyễn Đình Kim Lân (2004), *Bước đầu nghiên cứu quy trình công nghệ và thử nghiệm chế biến tiêu đen thành tiêu trắng phù hợp với quy mô vừa và nhỏ ở Việt Nam*, Tạp chí Khoa học Kỹ thuật, Trường Đại học Nông Lâm, số 1.
- [5] Nguyễn Đức Lượng (2004), *Công nghệ vi sinh, Tập 2: Vi sinh vật học công nghiệp*, NXB Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.
- [6] Huỳnh Ngọc Oanh, Trần Ngọc Hùng (2008), *Thu nhận enzyme pectinase từ Aspergillus niger bằng phương pháp lọc gel và lọc màng*, Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ, tập 11, số 8.
- [7] Trần Thị Thanh Thuần, Nguyễn Đức Lượng (2009), *Nghiên cứu enzyme cellulase và pectinase từ chủng Trichoderma viride và Aspergillus niger nhằm xử lý nhanh vỏ cà phê*, Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ, tập 12, số 3.

- [8] Dương Văn Tuấn, Lê Thị Hoàng Linh, Trần Thị Xô (2012), *Nghiên cứu sử dụng hệ enzyme pectinase, cellulase của vi khuẩn Bacillus subtilis, Lactobacillus plantarum, nấm mốc Aspergillus niger, Phanerochaete chrysosporium để xử lý lớp nhót của vỏ cà phê*, Tuyển tập báo cáo Hội nghị sinh viên nghiên cứu khoa học lần thứ 8, Đại học Đà Nẵng.
- [9] Lê Thị Thu Trang (2011), *Nghiên cứu khả năng tổng hợp pectinesterase và polygalacturonase của A. niger*, luận văn thạc sĩ, Đại học Đà Nẵng.
- [10] Trần Thanh Trúc (2013), *Phân lập và tuyển chọn dòng Aspergillus niger sinh pectin methylesterase hoạt tính cao*, luận án tiến sĩ, Trường Đại học Cần Thơ.

- Ngày nhận bài: 11/9/2016
- Chấp nhận đăng: 11/10/2016

Liên hệ: **Trần Ngọc Hùng**

Trường Đại học Thủ Dầu Một

Email: gnuh1423@yahoo.com