

SÀNG LỌC VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH ENZYME THỦY PHÂN ACETYL ESTERASE VÀ FERULOYL ESTERASE TỪ MỘT SỐ CHỦNG NẤM PHÂN LẬP TẠI RỪNG MƯA NHIỆT ĐỚI PHÍA BẮC

SCREENING AND EVALUATION OF ACETYL ESTERASE AND FERULOYL ESTERASE HYDROLYTIC ACTIVITY FROM SOME FUNGAL STRAINS ISOLATED IN NORTHERN TROPICAL RAIN FOREST

Vũ Đình Giáp^{1,*}

DOI: <https://doi.org/10.57001/huih5804.2023.152>

TÓM TẮT

Lignocellulose là nguồn sinh khối có giá trị thương mại thấp nhưng có vai trò quan trọng về mặt kinh tế khi được sử dụng cho các ứng dụng trong công nghệ sinh học. Nấm được biết đến có khả năng sinh tổng hợp nhiều enzyme thủy phân khác nhau để tấn công hiệu quả các cấu trúc lignocellulose trong thành tế bào thực vật. Carbohydrate esterase (CE), đại diện cho một nhóm lớn các hydrolase xúc tác sự phân tách hoặc hình thành các ester no và ester thơm. Trong đó, hai enzyme acetyl esterase (AE) và feruloyl esterase (FAE) hoạt động trên các chuỗi nhánh của cấu trúc polysaccharide để phân cắt liên kết cầu nối giữa các chuỗi xylan và giữa xylan với lignin để tách riêng phần lignin ra khỏi cấu trúc lignocelluloses. Trong nghiên cứu này, 23 chủng nấm phân lập tại rừng mưa nhiệt đới phía Bắc (Vườn quốc gia Cúc Phương) được sàng lọc hoạt tính enzyme FAE và AE. Trong đó, đã xác định được 20/23 chủng biểu hiện hoạt tính từ 01 đến 02 enzyme. Chủng biểu hiện hoạt tính enzyme AE và FAE cao nhất tương ứng là *Lentinus brumalis* GNB10 ($\approx 2.353,8$ U/L), và *Xylaria* sp. GNB3 (D = 20mm).

Từ khóa: *Feruloyl esterase, acetyl esterase, hemicellulose, lignocellulose, enzyme phân hủy.*

ABSTRACT

Lignocellulose is the biomass source that has a low commercial value, but it is economically important when used as a raw material for applications in biotechnology. Fungi are known to be able to biosynthesize various hydrolytic enzymes to effectively attack lignocellulose structures. Carbohydrate esterase (CE) hydrolysis enzyme is of role importance in the hydrolysis of the lignocelluloses, which represents a group of hydrolases enzyme for the separation or formation of saturated and aromatic esters. In which, acetyl esterase (AE) and feruloyl esterase (FAE) break down branch chains of the cell wall polysaccharide structure to cut the interaction between xylan chains and xylan with lignin to separate lignin from the lignocellulosic structure. In this study, 23 fungal strains which isolated in the Northern Tropical Rain Forest (Cuc Phuong National Park) were screened for FAE and AE enzyme activity. In which, 20/23 fungal strains have been identified exhibit activity from 01 to 02 enzymes. The strains showed the highest AE and FAE activity were identified as *Lentinus brumalis* GNB10 (≈ 2353.8 U/L), and *Xylaria* sp. GNB3 (D = 20mm), respectively.

Keywords: *Carbohydrate esterase, polymer carbohydrate, hemicellulose, lignocellulose degrading enzymes*

¹Viện Công nghệ HaUI, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

*Email: giapvd@hau.edu.vn

Ngày nhận bài: 15/03/2023

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 05/5/2023

Ngày chấp nhận đăng: 25/8/2023

1. GIỚI THIỆU

Phụ phẩm công - nông nghiệp là một dạng sinh khối có thành phần lignocellulose phổ biến nhất trong số các phụ phẩm công - nông nghiệp ở Việt Nam như: rơm rạ, bã cà phê, mùn gỗ,... Đây là thành phần chính cấu tạo nên thành tế bào ở thực vật, bao gồm các polymer carbohydrate (cellulose, hemicellulose) và một polymer thơm (lignin) [1]. Nguồn sinh khối này có giá trị thương mại thấp nhưng ngày càng có vai trò quan trọng về mặt kinh tế khi được sử dụng như vật liệu thô cho các ứng dụng trong công nghệ sinh học và công nghiệp. Chuyển đổi chúng thành nhiên liệu sinh học mang lại những lợi thế rõ rệt về kinh tế, cũng như môi trường [2].

Sinh vật phân hủy lignocellulose đóng một vai trò quan trọng trong việc duy trì vòng tuần hoàn carbon nhờ khả năng chuyển hóa hiệu quả các vật liệu giàu lignocellulose bởi hệ enzyme thủy phân và oxi hóa. Chúng chịu trách nhiệm chính trong việc phá vỡ cấu trúc phức tạp của lignocellulose [3]. Trong số các sinh vật phân hủy lignocellulose, các loài nấm được biết là có hệ xúc tác sinh học hiệu quả nhất. Việt Nam là một trong những quốc gia có đa dạng sinh học cao trên thế giới với trên 60.000 loài thực vật bậc cao, trong đó có khoảng 2.100 loài nấm [4]. Nấm lớn được biết đến có khả năng sinh tổng hợp nhiều enzyme khác nhau như enzyme thủy phân ngoại bào (cellulase, xylanase,...) và enzyme oxi hóa (laccase, cellobiose dehydrogenase,...) để tấn công hiệu quả các

cấu trúc lignocellulose trong thành tế bào thực vật. Chúng hoạt động phối hợp với các enzyme tấn công mạch chính [cellulase/xylanase (cell/xyl)] và mạch nhánh [feruloyl esterase (FAE), acetyl esterase (AE)] của cấu trúc polymer này. Trong đó, hai enzyme AE và FAE hoạt động trên các chuỗi nhánh của cấu trúc polysaccharide thành tế bào để phân cắt liên kết cầu nối giữa các chuỗi xylan và giữa xylan với lignin để tách riêng phần lignin ra khỏi cấu trúc lignocelluloses. Chúng đóng một vai trò quan trọng ở giai đoạn đầu quá trình thủy phân lignocelluloses [5, 6]. Tuy nhiên, cấu trúc phức tạp của lignocellulose trong thành tế bào làm hạn chế hoạt động của nhiều loại enzyme thủy phân [7].

Trong nghiên cứu này, tác giả trình bày một số kết quả sàng lọc hoạt tính enzyme thủy phân feruloyl esterase và acetyl esterase liên quan đến chuyển hóa sinh khối giàu lignocellulose từ một số chủng nấm phân lập tại rừng mưa nhiệt đới phía Bắc Việt Nam.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Chủng nấm phân lập

23 chủng nấm nghiên cứu được phân lập, tinh sạch từ mẫu nấm thu thập tại rừng mưa nhiệt đới phía Bắc Việt Nam (Vườn quốc gia Cúc Phương). Trong đó, 15 chủng đã được định tên theo phương pháp hình thái giải phẫu so sánh và 8 chủng được định tên đến loài, danh sách chủng thể hiện ở bảng 1. Nấm được lưu giữ tại Phòng thí nghiệm, Viện Công nghệ HaUI, trường Đại học Công nghiệp Hà Nội.

Môi trường nhân giống

Nấm phát triển trên môi trường thạch PDA (khoai tây 200g/L, dextrose 20g/L, agar 17g/L, H₂O 1 lít), nuôi cấy ở 27°C và lưu giữ 4°C sau khi khuẩn ty phát triển đầy bề mặt thạch. Để nhân giống cho quá trình sinh tổng hợp enzyme, khuẩn ty nấm từ môi trường thạch được cấy chuyển sang các đĩa môi trường thạch mới, khoảng 1 tuần để nấm phát triển phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nuôi cấy nấm cho sàng lọc hoạt tính enzyme

Nấm được nuôi cấy trên môi trường cơ bản bao gồm các thành phần cần thiết cho sự phát triển (MgSO₄ 0,5g/L; KH₂PO₄ 1,5g/L; cao nấm men 2,0g/L; pH 7,0) và bổ sung 2% (w/v) cơ chất giàu lignocellulose (rơm). Sau đó được nuôi cấy trong các bình Erlenmeyer 250ml chứa 75ml môi trường trong điều kiện lắc liên tục 200v/ph, ở 25°C. Sau 10 ngày lên men, dịch lên men thô từ môi trường nuôi cấy lỏng được lấy 3 ngày/lần để đánh giá hoạt tính enzyme. Hoạt tính cao nhất trong suốt quá trình nuôi cấy được so sánh giữa các chủng nấm với nhau để lựa chọn chủng có hoạt tính enzyme cao.

Định danh nấm bằng phương pháp hình thái giải phẫu

Đối với các chủng nấm mới phân lập sẽ được định tên theo phương pháp hình thái giải phẫu so sánh theo tài liệu của Roberts [4]. Nấm được xác định tên phân loại dựa trên các đặc điểm hình thái như mũ, phiến và bào tử nấm sử dụng kính hiển vi ở độ phóng đại 100 lần (x10) và 400 lần (x40).

Định tên nấm bằng phương pháp sinh học phân tử

Tách chiết và tinh sạch ADN tổng số: ADN tổng số được tách chiết và điện di trên gel agarose 0,9% (80 - 100V) [8]. Kiểm tra độ sạch và hàm lượng ADN tổng số bằng thiết bị đo quang phổ ở bước sóng $\lambda = 260\text{nm}$ và 280nm . Tinh sạch ADN bằng bộ KIT Fermentas (Thermo Fisher, Waltham, USA) và tiến hành quy trình theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Nhân gen đích bằng kỹ thuật PCR: Nhân vùng gen nhân (ITS) bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi ITS1: TCCGTAGGTGAACCTGCGG; ITS4: TCCTCCGCTTATTGATATGC [9]. Thành phần mỗi phản ứng PCR có thể tích 25 μl gồm các thành phần: 13 μl d.H₂O; 2,5 μl buffer 10X; 1 μl MgCl₂ 25mM; 2,5 μl dNTP 2,5mM; 1,25 μl mỗi xuôi (10pmol/ μl); 1,25 μl mỗi ngược (10pmol/ μl); 0,5 μl Taq polymerase (5U/ μl); 3 μl ADN (10 - 20ng).

Chu trình nhiệt của phản ứng PCR gồm: 94°C trong 3 phút; tiếp sau là 35 chu kỳ nối tiếp nhau với các bước: 94°C trong 45 giây, 55°C trong 45 giây, 72°C trong 45 giây; kết thúc phản ứng nhân gen ở 72°C trong 10 phút, giữ sản phẩm ở 4°C.

Sản phẩm của PCR được kiểm tra bằng cách chạy điện di trên gel agarose 1,5% và tinh sạch bằng Qiaquick gel extraction kit (Qiagen, Đức). Sản phẩm này được sử dụng làm khuôn cho phản ứng giải trình tự trực tiếp hai chiều (mỗi xuôi và mỗi ngược) với mồi ITS1/ITS4, sử dụng BigDye terminator cyclor v3.1 và đọc kết quả trên hệ thống ABI 3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Mỹ).

Trình tự DNA sau khi đọc được hiệu chỉnh bằng mắt với sự trợ giúp của phần mềm ChromasPro1.7.6 (Technelysium Pty Ltd., Australia) để loại bỏ các vùng tín hiệu nhiễu. Trình tự nucleotide của các chủng nấm được so sánh với các trình tự đã có trên Genbank, sử dụng phần mềm BLAST trong NCBI [10]. Các trình tự phân tích được sắp xếp thẳng hàng bằng phần mềm Bioedit v7.0.5.2 [11], Clustal W, geneDoc 2.7 [12]. Các vùng không có khả năng sắp xếp bị loại bỏ trước khi phân tích.

Xác định hoạt độ acetyl esterase (EC 3.1.1.6)

Hoạt độ acetyl esterase được xác định bằng phương pháp đo quang ở $\lambda = 405\text{nm}$ dựa trên sự tạo thành *p*-nitrophenol từ *p*-nitrophenyl acetate. Nồng độ cuối của cơ chất là 1mM trong đệm phosphate (100mM). Phản ứng diễn ra ở 37°C trên phiến vi lượng 96 giếng trong 10 phút [13].

Xác định hoạt tính feruloyl esterase (EC 3.1.1.73)

Dưới các điều kiện vô trùng, khoanh thạch (\varnothing 1cm) được cắt từ môi trường nuôi cấy đã có sự phát triển của các sợi nấm và cấy chuyển lên đĩa thạch có môi trường Kirk [14] bổ sung cơ chất chỉ thị ethyl ferulate (0,1%; w/v) cho hoạt tính feruloyl esterase, thời gian nuôi cấy từ 3 - 7 ngày. Hoạt độ của esterase được xác định dựa trên vòng phân giải được tạo thành.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Sàng lọc hoạt tính esterase:

Khả năng sinh tổng hợp enzyme thủy phân acetyl esterase và feruloyl esterase của 23 chủng nấm phân lập được từ các

khu vực VQG Cúc Phương được đánh giá qua khả năng phân giải cơ chất ethyl ferulate (ethyl 4-hydroxy-3 methoxycinnamate) trên đĩa thạch đối với enzyme feruloyl esterase và dịch lên men của 23 chủng nấm sau khi ly tâm để loại bỏ sinh khối và các thành phần tạp cho xác định hoạt tính enzyme acetyl esterase qua khả năng thủy phân cơ chất *p*-nitrophenyl acetate. Bảng 1 thể hiện kết quả đánh giá hoạt tính enzyme của các chủng nấm nghiên cứu.

Bảng 1. Hoạt tính acetyl esterase và feruloyl esterase từ các chủng nấm

TT	Tên chủng/KH	Carbohydrate esterase	
		Acetyl esterase ⁽¹⁾ (U/L)	Feruloyl esterase ⁽²⁾ (mm)
1	<i>Trametes</i> sp. GNB1*	0	3,5 ± 0,13
2	<i>Coriolus</i> sp. GNB2*	146,6 ± 0,15	0
3	<i>Xylaria</i> sp. GNB3*	24,3 ± 0,15	20,0 ± 0,09
4	<i>Mycena fuhreri</i> GNB4*	132,5 ± 0,22	2,4 ± 0,12
5	<i>Tyromyces chioneus</i> GNB5**	0	16,1 ± 0,13
6	<i>Coprinus micaceus</i> GNB6*	17,2 ± 0,15	4,5 ± 0,11
7	<i>Xylaria gracillima</i> GNB7**	27,3 ± 0,18	5,2 ± 0,09
8	<i>Ganoderma</i> sp. GNB8*	0	2,1 ± 0,05
9	<i>Trametes</i> sp. GNB9*	269,2 ± 0,03	0
10	<i>Lentinus brumalis</i> GNB10**	2.353,8 ± 0,43	0
11	<i>Poria</i> sp. GNB11*	0	5,7 ± 0,07
12	<i>Hexagonia cucullata</i> GNB12**	0	0
13	<i>Hericium</i> sp. GNB13*	1.068,2 ± 0,15	1,4 ± 0,08
14	<i>Lecanicillium dimorphum</i> GNB14**	923,6 ± 0,16	0
15	<i>Schizophyllum</i> sp. GNB15*	2.213,6 ± 1,31	0
16	<i>Hexagonia</i> sp. GNB16*	0	0
17	<i>Campanella aeruginea</i> GNB17**	667,3 ± 0,43	2,3 ± 0,27
18	<i>Fomitopsis</i> sp. GNB18*	0	6,0 ± 0,21
19	<i>Nigrospora</i> sp. GNB19*	812,1 ± 0,32	0
20	<i>Deconica</i> sp. GNB20*	1.132,1 ± 0,26	5,6 ± 0,13
21	<i>Hexagonia</i> sp. GNB21*	0	0
22	<i>Bisporrella</i> sp. GNB22*	213,4 ± 0,2	0
23	<i>Nigrospora</i> sp. GNB23*	571,2 ± 0,19	2,0 ± 0,16

Ký hiệu:

*Nấm được định danh bằng phương pháp so sánh hình thái giải phẫu.

**Nấm được định tên bằng phương pháp sinh học phân tử.

⁽¹⁾Hoạt tính acetyl esterase (AE) được xác định bằng phương pháp quang phổ (λ=405 nm) qua khả năng thủy phân *p*-nitrophenyl acetate thành sản phẩm *p*-nitrophenol.

⁽²⁾Hoạt tính sinh feruloyl esterase được xác định thông qua đường kính vòng phân giải cơ chất ethyl ferulate của các chủng nấm sau 3-5 ngày phát triển trên đĩa thạch.

Hoạt tính acetyl esterase (AE):

Kết quả bảng 1 thể hiện, 15/23 chủng nấm biểu hiện hoạt tính sinh tổng hợp enzyme AE, tương ứng 65% với hoạt độ từ 17,2U/L đến 2.353,8U/L trên cơ chất *p*-nitrophenyl acetate. Trong đó, một số chủng biểu hiện hoạt tính cao như: *Lentinus brumalis* GNB10 (≈ 2.353,8U/L), *Schizophyllum* sp. GNB15 (2.213,6U/L) và *Deconica* sp. GNB20 (1.132,1U/L), các chủng còn lại hoạt tính yếu hoặc không có hoạt tính. Liên quan đến hướng này, nhóm nghiên cứu của Cao đánh giá

khả năng sinh tổng hợp hoạt tính AE trên một số chủng nấm và vi khuẩn, xác định chủng *Neocallimastix frontalis* sinh AE cao nhất đạt 0,165U/mL sau 6 ngày nuôi cấy, chủng *E. coli* phân lập từ chất lỏng dạ cỏ bò và *Neocallimastix* sp. YQ2 có hoạt tính cao nhất, tương ứng đạt 0,59U/mL và 0,027U/mL [15, 16]. Trong khi, chủng *Streptomyces* sp. PC22 biểu hiện hoạt tính cao ở ngày nuôi cấy thứ 3 với hoạt độ enzyme đạt 0,3U/mL [17]. Theo Aglaia, 16 chủng nấm được sàng lọc hoạt tính AE, hoạt độ enzyme thu được từ 0,29 đến 2,68U/mL trên môi trường bổ sung xylan và từ 0,33 đến 3,24U/mL trên môi trường bổ sung xylan & Tween 80, các chủng được chứng minh có hoạt tính cao như: *A. niger* UV10, *A. brasiliensis* UV 5, *A. brasiliensis* UV 7 và *P. Digitatum* UV 11. Trong đó, chủng *A. brasiliensis* UV 7 hoạt tính AE cao nhất đạt 2,68 và 3,24U/mL trên môi trường bổ sung xylan và Tween 80 [18].

Hoạt tính AE từ chủng *Fusarium oxysporum* F3 lên men trên môi trường bổ sung bắp ngô hoạt độ AE thu được cao nhất đạt 0,71U/mL, gấp 2 lần so với môi trường bổ sung rơm lúa mì (0,39U/mL) và cà chua (0,38U/mL) [19]. Khả năng sinh tổng hợp enzyme AE được kích thích bởi các nguồn carbon khác nhau. Tuy nhiên, chúng phụ thuộc nhiều vào nguồn cơ chất có trong môi trường cơ bản, ví dụ carbon từ các nguồn sinh khối xylan, cellulose, arabinogalactan làm tăng khả năng tổng hợp enzyme AE cao hơn so với nguồn carbon từ xylose, arabinose, arabinan. Nấm *T. clypeatus* được lên men trên môi trường bổ sung các nguồn cơ chất trên và hoạt tính enzyme AE cao nhất đạt 1,64U/mL trên môi trường bổ sung (1%) xylan và cellulose [20].

Như vậy, khi so sánh kết quả với một số nghiên cứu đã được công bố nhận thấy, chủng *Lentinus brumalis* GNB10, *Schizophyllum* sp. GNB15 và *Deconica* sp. GNB20 sinh tổng hợp enzyme hoạt tính AE tương đối cao, có ưu điểm phát triển nhanh trên môi trường lên men dịch thể và môi trường rắn. Do vậy, đây là chủng nấm tiềm năng để khai thác enzyme hoạt tính AE sử dụng trong chuyển hóa sinh khối lignocellulose.

Hoạt tính feruloyl esterase (FAE):

Enzyme FAE khá phổ biến ở nhiều loài nấm, đặc biệt là nấm túi Ascomycota và nấm đảm Basidiomycota, tỉ lệ nấm có hoạt tính FAE (13/23 chủng, tương đương ~ 57%). Đường kính vòng phân giải lớn nhất trên cơ chất ester được xác định được đối với các chủng *Xylaria* sp. GNB3 (D = 20mm), *Tyromyces chioneus* GNB5 (D = 16,1mm) và *Fomitopsis* sp. GNB18 (D = 6mm). Trong nghiên cứu của Kumar, 150 chủng nấm được phân lập từ mẫu đất đã sàng lọc đánh giá hoạt tính FAE trên đĩa thạch với cơ chất (ethyl ferulate 1%) ở 30°C. Sau 5 ngày nuôi cấy đã xác định được 42 chủng có hoạt tính với đường kính phân giải từ từ 6 đến 27mm. Đặc biệt, chủng *Aspergillus terreus* được chứng minh có hoạt độ enzyme cao nhất đạt 27mm [21].

Tác giả Donaghy nghiên cứu trên 130 chủng vi khuẩn được sàng lọc hoạt tính FAE dựa trên đường kính vòng tròn phân giải (d, mm) trên cơ chất ethyl ferulate 0,1% (w/v), xác định 11 chủng có biểu hiện hoạt tính. Trong đó, 3 chủng biểu hiện hoạt tính yếu (d < 10mm) là *B. subtilis* (FMCC 193),

L. leichmanni (NCIMB 7854) và *L. farciminis* (NCIMB 11717), hai chủng biểu hiện hoạt tính khá cao ($d = 10 - 20\text{mm}$) là *B. sphaericus* (ATCC 14577), *B. licheniformis* (ATCC 14580) và 6 chủng biểu hiện hoạt tính cao ($d > 20\text{ mm}$) như: *B. subtilis* (FMCC 267), *B. subtilis* (FMCC PL- 1), *B. subtilis* (FMCC 511) [22]. Kết quả trên tương đồng với nghiên cứu của Liu, đánh giá khả năng sinh tổng hợp enzyme FAE trên đĩa thạch của 33 chủng thuộc chi *Lactobacillus*. Chủng *L. fermentum* (NRRL B-1932) được chứng minh là có hoạt tính cao nhất với đường kính vòng phân giải đạt 38mm, tiếp theo là chủng *L. amylovorus* (NRRL B-4540) ($d = 22\text{mm}$) và chủng *L. fermentum* (NRRL B-1840) ($d = 21\text{mm}$) [23].

Như vậy, chủng *Xylaria* sp. GNB3 ($d = 23\text{mm}$) và *Tyromyces chioneus* GNB5 biểu hiện hoạt tính FAE cao so với một số kết quả đã được công bố. Do vậy, đây là chủng nấm tiềm năng để khai thác enzyme hoạt tính FAE.

4. KẾT LUẬN

Từ 23 chủng nấm nghiên cứu có 20 chủng biểu hiện hoạt tính từ 01 đến 02 enzyme acetyl esterase và feruloyl esterase. Trong đó, 15/23 chủng nấm biểu hiện hoạt tính acetyl esterase, tương ứng 65% với hoạt độ từ 17,2U/L đến 2.353,8U/L đối với cơ chất *p*- nitrophenyl acetate. Trong đó, một số chủng biểu hiện hoạt tính cao như: *Lentinus brumalis* GNB10, *Schizophyllum* sp. GNB15 và *Deconica* sp. GNB20.

Đối với hoạt tính feruloyl esterase, xác định được 13/23 chủng có hoạt tính feruloyl esterase, tương đương ~ 57%. Đường kính vòng phân giải lớn nhất trên cơ chất ester được xác định được đối với các chủng *Xylaria* sp. GNB3, *Tyromyces chioneus* GNB5 và *Fomitopsis* sp. GNB18. Các chủng nấm trên có tiềm năng cao trong việc thu nhận enzyme thủy phân hoạt tính AE, FAE để chuyển hóa các phụ phẩm công - nông nghiệp giàu lignocellulose thành các monosaccharide hay oligosaccharide có nhiều ứng dụng khác nhau trong các ngành công nghiệp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Jorgensen H., Kristensen B. J., Felby C., 2007. *Enzymatic conversion of lignocellulose into fermentable sugars: challenges and opportunities*. Biofuel. Bioprod Bior., 1, 119-134.
- [2]. Peters D., 2007. *Raw materials*. Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 105, 1-30.
- [3]. Palonen H., 2004. *Role of lignin in the enzymatic hydrolysis of lignocellulose* VTT. Biotechnol., 11-39.
- [4]. Roberts P., Evans S., 2011. *The Book of Fungi: A Life-Size Guide to Six Hundred Species from around the World*. University of Chicago Press, Chicago and London, UK.
- [5]. Wong D. W., 2006. *Feruloyl esterase: a key enzyme in biomass degradation*. Appl. Biochem. Biotechnol., 133, 87-112.
- [6]. Lilholt H., Lawther M. J., 2000. *Natural organic fibres. Comprehensive composite materials*. Elsevier Science. 1, 303-325.
- [7]. Van Dyk J. S., Pletschke B. I., 2012. *Lignocellulose bioconversion using enzymatic hydrolysis and synergistic cooperation between enzymes factors affecting enzymes, conversion and synergy*. Biotechnol., 30, 1458-1480.

[8]. Doyle J. J., 1987. *A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue*. Phytochemical Bulletin. 19, 11-15.

[9]. White T., Bruns T., Lee S., Taylor F., White T. J., Lee S. H., Taylor L., Taylor J. S., 1990. *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*. In: *PCR Protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, New York, USA. 315-322.

[10]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>.

[11]. Hall H. A., 1999. *BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT*. Nucl. Acids. Symp. Ser., 41, 95-98.

[12]. Nicholas K., Nicholas H. G., Nicholas K.B., Nicholas H. B., Nicolas H. J., 1997. *GeneDoc 2.7: a tool for editing and annotating multiple sequence alignments*.

[13]. Christakopoulos P., Mamma D., Kekos D., Macris B., 1999. *Enhanced acetyl esterase production by Fusarium oxysporum*. World J. Microbiol. Biotechnol., 15, 443-446.

[14]. Faulds C. B., Williamson G., 1994. *Purification and characterization of a ferulic acid esterase (FAE-111) from Aspergillus niger: specificity for the phenolic moiety and binding to microcrystalline cellulose*. Microbiol., 140, 779-787.

[15]. Kwon M., Song J., Park H. S., 2016. *Characterization of Heterologously Expressed Acetyl Xylan Esterase1 Isolated from the Anaerobic Rumen Fungus Neocallimastix frontalis PMA02*. Asian-Australas J. Anim Sci., 29(11), 1576-1584.

[16]. Yue Q., Yang H. J., Cao Y. C., Zhang D. F., Wang J. Q., 2009. *Feruloyl and acetyl esterase production of anaerobic rumen fungus Neocallimastix sp. YQ2 effected by glucose and soluble nitrogen supplementations and its potential in the hydrolysis of fibrous feedstuffs*. Anim Feed. Sci. Tech., 153(3e4), 263-77.

[17]. Chungool W., Thongkam W., Raweesri P., Thamchaipenet A., Pinphanichakarn P., 2008. *Production, purification, and characterization of acetyl esterase from Streptomyces sp. PC22 and its action in cooperation with xylanolytic enzymes on xylan degradation*. World J Microbiol. Biotechnol., 24(4), 549-56.

[18]. Bulacu A., 2018. *Calina Petrața cornea screening of microorganisms displaying acetyl xylan esterase activity*. Scientific Papers. Series B, Horticulture. Vol. LXII.

[19]. Christakopoulos P., Mamma D., Kekos D., 1999. *Enhanced acetyl esterase production by Fusarium oxysporum*. B.J. Macris., 15 (4), 443-446.

[20]. Mukhopadhyay A., Hazra P. P., Sengupta T., Ghosh A. K., Sengupta S., 1997. *Acetyl esterase production by Termitomyces clypeatus*. Biotechnol. Lett., 19(2), 159-161.

[21]. Mäkelä M. R., Dilokpimol A., Koskela S. M., Kuuskeri J., Vries R. P., Hildén H., 2018. *Characterization of a feruloyl esterase from Aspergillus terreus facilitates the division of fungal enzymes from Carbohydrate Esterase family 1 of the carbohydrate-active enzymes (CAZy) database*. Microb. Biotechnol., 11(5), 869-880.

[22]. Vinoth Kumar V., Dinesh Kirupha S., Periyaraman P., Sivanesan S., 2011. *Screening and induction of laccase activity in fungal species and its application in dye decolorization*. Afr. J. Microbiol. Res., 5(11), 1261-1267.

[23]. Donaghy J., Kelly P. E., McKay A. M., 1998. *Detection of ferulic acid esterase production by Bacillus spp. and lactobacilli*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 50(2), 257-60.

AUTHOR INFORMATION

Vu Dinh Giap

HaUI Institute of Technology, Hanoi University of Industry, Vietnam