

# NGHIÊN CỨU SINH TỔNG HỢP $\beta$ -MANNANASE TỪ CHỦNG NẤM MỐC *ASPERGILLUS NIGER* G5 TRÊN MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY GIÀU LIGNOCELLULOSE

STUDY ON THE BIOSYNTHESIS OF  $\beta$ -MANNANASE FROM THE MOLD STRAIN *ASPERGILLUS NIGER* G5  
ON A LIGNOCELLULOSE-RICH GROWTH MEDIUM

Vũ Đình Giáp<sup>1,\*</sup>, Đặng Nhật Minh<sup>2</sup>

DOI: <https://doi.org/10.57001/huih5804.2025.338>

## TÓM TẮT

$\beta$ -Mannanase đóng vai trò quan trọng trong hệ tiêu hóa (probiotics), chúng phân hủy và tiêu hóa mannans, một loại polysaccharide chủ yếu được tìm thấy trong thực vật, giúp phân hủy mannans thành các oligosaccharides và monosaccharides như mannose.  $\beta$ -Mannanase giúp cải thiện sự hấp thụ chất dinh dưỡng từ thức ăn, bao gồm các khoáng chất và protein.  $\beta$ -Mannanase cung cấp các monosaccharides cho vi khuẩn có lợi trong đường ruột, giúp cân bằng hệ vi sinh đường ruột và cải thiện sức khỏe tiêu hóa. Trong nghiên cứu này, chủng nấm *A. niger* G5 có khả năng sinh tổng hợp  $\beta$ -mannanase cho hoạt tính cao nhất trên môi trường thích hợp với nguồn cơ chất từ bột đậu tương (1%), nguồn nitơ  $\text{NaNO}_3$ , pH 5, thời gian lên men 7 ngày ở 28°C cho hoạt tính enzyme cao nhất đạt 987,8U/L. Enzyme được cô đặc và kết tủa theo phương pháp lọc sử dụng màng lọc có kích thước cắt 10kDa ở 11°C, hoạt tính riêng đạt 0,63U.mg<sup>-1</sup> protein. Enzyme sau quá trình cô đặc có pH và nhiệt độ tối ưu tương ứng là 5,5 và 45°C.

**Từ khóa:**  $\beta$ -mannanase, polymannan, *aspergillus niger*, probiotics, mannoooligosaccharide.

## ABSTRACT

In the digestive system (probiotics),  $\beta$ -mannanase is an essential enzyme that breaks down and digests mannans, a kind of polysaccharide that is mostly found in plants. It aids in the breakdown of mannans into mannose and other oligosaccharides and monosaccharides.  $\beta$ -mannanase improves nutritional absorption from diet, including minerals and proteins. It provides monosaccharides to beneficial bacteria in the gut, so balancing the gut microbiota and improving digestive health. In this study, the *A. niger* G5 fungal strain is capable of synthesizing the  $\beta$ -mannanase with the highest activity under the appropriate culture medium with substrate source from soybean meal (1%), nitrogen source  $\text{NaNO}_3$ , pH 5, fermentation time of 7 days, at 28°C gives the highest activity (987.8U/L). The enzyme was concentrated and precipitated by filtration using a filter membrane with a cut off size of 10kDa at 11°C, with specific activity was 0.63U.mg<sup>-1</sup> protein. Enzymes after the concentration process have optimal pH and temperature of 5.5 and 45°C, respectively.

**Keywords:**  $\beta$ -mannanase, polymannan, *Aspergillus niger*, probiotics, mannoooligosaccharide.

<sup>1</sup>Viện Công nghệ HaUI, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

<sup>2</sup>Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

\*Email: [giapvd@hauai.edu.vn](mailto:giapvd@hauai.edu.vn)

Ngày nhận bài: 29/3/2025

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 22/6/2025

Ngày chấp nhận đăng: 28/9/2025

## 1. GIỚI THIỆU

$\beta$ -mannanase còn được gọi là hydrolases glycoside, là một nhóm phổ biến của các enzyme thủy phân

polysaccharides. Điển hình như endo- $\beta$ -1,4-mannanase là một thành phần trong hệ mannase, enzyme này thủy phân đường glycosyl của mạch polymannan tạo ra các

manno-oligosaccharide nên có vai trò phân hủy hemicellulose trong sinh khối thực vật.  $\beta$ -mannanase là enzyme xúc tác cắt đặc hiệu liên kết  $\beta$ -1,4-mannose trong mạch của mannan cũng như liên kết  $\beta$ -1,4 giữa mannoe và glucose trong mạch glucomannan. Chúng thủy phân glycoside và polymannan tạo ra các mannooligosaccharide [1].

$\beta$ -Mannanase phân hủy polysaccharide mannan thành oligosaccharide và monosaccharide, tạo điều kiện thuận lợi cho vi khuẩn có thể tiêu hóa chúng. Trong môi trường ruột, vi khuẩn có thể sử dụng các sản phẩm này như là nguồn dinh dưỡng, cung cấp năng lượng cho vi khuẩn có lợi và cải thiện sức khỏe đường ruột. Trong hệ tiêu hóa,  $\beta$ -Mannanase giúp tăng cường khả năng tiêu hóa các polysaccharide mannan, cải thiện hấp thụ chất dinh dưỡng và tăng cường vi khuẩn có lợi trong đường ruột. Chúng hoạt động bằng cách phá vỡ liên kết glycosidic giữa các đơn vị monosaccharide trong cấu trúc mannan, làm cho mannan trở thành các oligosaccharide và monosaccharide dễ dàng hấp thụ [2]. Quá trình này cung cấp nguồn năng lượng và nguyên liệu cho vi sinh vật phân hủy lignocellulose, đồng thời giúp tăng cường khả năng phân hủy của hệ enzymatic. Việc sử dụng probiotics chứa  $\beta$ -Mannanase giúp cải thiện sức khỏe đường ruột bằng cách cân bằng hệ vi khuẩn đường ruột, tăng cường hấp thụ chất dinh dưỡng và giảm nguy cơ các vấn đề về tiêu hóa. Enzyme này được tìm thấy ở nhiều loài vi nấm và vi khuẩn và đã thu hút sự quan tâm của các nhà khoa học vì khả năng phân hủy hiệu quả và ứng dụng trong các lĩnh vực khác nhau [3].  $\beta$ -Mannanase được ứng dụng trong nhiều ngành công nghiệp như công nghiệp giấy, thực phẩm, chế biến thức ăn gia súc và dược phẩm.

Nấm *Aspergillus niger* là một trong những loài nấm phổ biến và được biết đến với khả năng sản xuất  $\beta$ -Mannanase. Loài nấm này có thể được tìm thấy ở nhiều môi trường khác nhau, bao gồm đất đai, thực phẩm và môi trường nước, điều này giúp nó trở thành một nguồn nguyên liệu phổ biến cho việc sản xuất  $\beta$ -Mannanase. Nấm *A. niger* có khả năng chịu được một loạt các điều kiện môi trường khác nhau, bao gồm nhiệt độ và độ pH biến đổi. Điều này làm cho nó trở thành một lựa chọn lý tưởng cho việc sản xuất ở quy mô công nghiệp [4, 5].

Trong công bố này, chúng tôi trình bày một số kết quả nghiên cứu điều kiện thích hợp để nấm *A. niger* G5 sinh tổng hợp  $\beta$ -Mannanase hiệu quả trên môi trường giàu sinh khối giàu lignocellulose.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Vật liệu:

Chủng nấm *A. niger* G5 được phân lập và lưu giữ tại Phòng thí nghiệm, Viện Công nghệ HaUI, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội.

### Môi trường nhân giống:

Nấm được nuôi cấy trên môi trường thạch PDA (potato dextrose agar) với thành phần gồm nước chiết dịch khoai tây 200g/L, dextrose 20g/L, pepton 5g/L, agar 17g/L và nước 1 lít. Việc nuôi cấy được thực hiện ở 30°C và sau khi nấm phát triển đầy bề mặt thạch, chúng được lưu giữ ở 4°C. Để nhân giống cho quá trình sinh tổng hợp enzyme, nấm được chuyển từ môi trường thạch ban đầu sang các đĩa môi trường thạch mới.

### Môi trường lên men

Nấm được nuôi cấy trên môi trường cơ bản bao gồm các thành phần cần thiết cho sự phát triển của nấm:  $MgSO_4$  (0,5g/l);  $KH_2PO_4$  (1,5g/l); glucose (5,0g/l); cao nấm men (2,0g/l); pH 6,5 và bổ sung 2 % (w/v) cơ chất (rơm). Sau đó mẫu được nuôi cấy trong các bình Erlenmeyer 250ml chứa 75ml môi trường (khử trùng ở nhiệt độ 121°C, 25 phút) trong điều kiện lắc liên tục 200 vòng/phút, ở 30°C.

### Phương pháp nghiên cứu:

#### Xác định hoạt tính $\beta$ -mannanase

Phương pháp quang phổ đã được sử dụng để xác định chính xác hoạt tính của  $\beta$ -mannanase. Trong phương pháp này, dung dịch chứa 0,5% Locust Bean Gum (LBG) trong đệm phosphate 20mM pH 7 được sử dụng. Đường khử được giải phóng trong dung dịch phản ứng ở 40°C trong 5 phút được đo bằng quang phổ ở bước sóng 540nm. Độ hấp phụ của sản phẩm phản ứng được đối chiếu với chuẩn nồng độ đường manose để tính hàm lượng đường giải phóng tương đương. Một đơn vị hoạt tính của mannanase được xác định là lượng enzyme cần thiết để thủy phân giải phóng 1  $\mu$ mol manose trong 1 phút ở điều kiện thích hợp [6].

#### Xác định ảnh hưởng của nguồn cơ chất và thời gian lên men thích hợp

Môi trường cơ bản ban đầu bao gồm các thành phần sau:  $MgSO_4$  (0,5g/l);  $KH_2PO_4$  (1,5g/l); glucose (5,0g/l); cao nấm men (2,0g/l); pH 6,5 và bổ sung (10g/l) các nguồn cơ chất khác nhau như: rơm, mùn cưa, bã mía, ngô, bột đậu tương. Các nguồn cơ chất trên được làm sạch, nghiền thành bột (kích thước 0,5 - 0,7cm) và sấy khô. Khử trùng môi trường (121°C trong 30 phút). Nấm được lên men ở

hiệt độ 30°C, trong vòng 7 - 9 ngày, lắc liên tục (200 vòng/phút). Hoạt độ enzyme được xác định 2 ngày/lần, thí nghiệm lặp lại 3 lần, kết quả thu được là giá trị hoạt tính trung bình của 3 lần.

**Xác định ảnh hưởng của nguồn nitơ**

Để xác định khả năng đồng hóa các nguồn nitơ khác nhau, cao nấm men cung cấp nitơ cho nấm sinh trưởng từ môi trường cơ bản được thay thế và thử nghiệm bằng các nguồn khác bao gồm (5g/l): NH<sub>4</sub>Cl, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pepton, NaNO<sub>3</sub> và urea. Nấm được lên men ở điều kiện thích hợp trong điều kiện nhiệt độ 30°C, lắc khuấy liên tục (200 vòng/phút). Sau 7 ngày lên men, thu dịch xác định hoạt độ enzyme.

**Xác định ảnh hưởng của nhiệt độ**

Chủng nấm nghiên cứu được lên men trên môi trường bổ sung chất cảm ứng, nguồn carbon và nitơ thích hợp. Quá trình lên men nấm được thực hiện ở các nhiệt độ khác nhau bao gồm 22, 24, 26, 28, 30 và 32°C. Dịch enzyme thu nhận sau quá trình lên men được ly tâm 5.000 vòng/phút trong 5 phút sau đó xác định hoạt độ β-mannanase. So sánh kết quả ở mỗi nhiệt độ, chọn ra nhiệt độ thích hợp cho quá trình sinh tổng hợp enzyme.

**Xác định ảnh hưởng của pH**

Để nghiên cứu ảnh hưởng của pH đến sự sinh tổng hợp β-mannanase, môi trường lên men được điều chỉnh pH từ 3,0 - 8,0 bằng dịch đệm acetate 100mM (pH 3,0 - 5,5) và đệm phosphate 100mM (pH 6 - 8). Nấm được lên men trong điều kiện lắc liên tục 200 vòng/phút, sau 7 ngày lên men, dịch enzyme thô thu nhận sau quá trình lên men được ly tâm 5.000 vòng/phút trong 5 phút sau đó xác định hoạt tính β-mannanase.

**Xác định nhiệt độ và pH tối ưu của enzyme thô sau cô đặc**

Nhiệt độ và pH tối ưu của β-mannanase được xác định bằng cách đo hoạt tính enzyme theo phương pháp đã mô tả sử dụng đệm acetate 100mM (pH 3,0 - 5,5) và đệm phosphate 100mM (pH 5,5 - 8,0), nhiệt độ thay đổi trong khoảng 30 - 50°C tại pH 5. pH tối ưu của β-mannanase được xác định trong bộ đệm MOPS (100 mM) ở pH từ 3,0 đến 8,0.

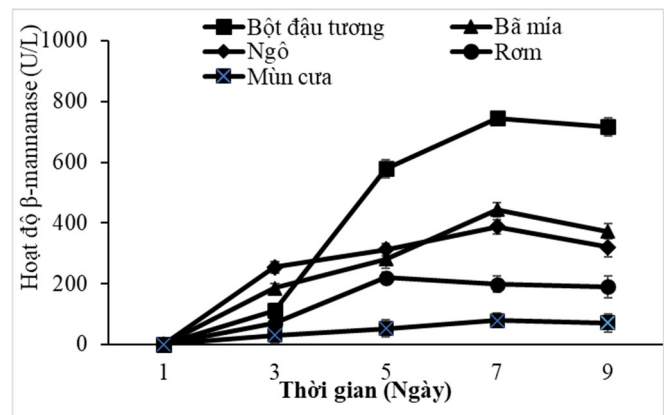
**3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN**

**Ảnh hưởng của nguồn cơ chất và thời gian**

Chủng *A. niger* G5 được lên men trong môi trường bổ sung 5 nguồn cơ chất khác nhau (rơm, bã mía, bột đậu tương, ngô, mùn cưa), pH 6 ở 30°C thời gian lên men trong vòng 7 - 9 ngày. Dịch enzyme được xác định hoạt

độ 2 ngày/lần. Kết quả nghiên cứu nhận thấy, khả năng sinh tổng hợp β-mannanase bị ảnh hưởng đáng kể bởi các nguồn cơ chất và thời gian khác nhau. Kết quả nghiên cứu cho thấy, ở ngày lên men thứ 3 hoạt độ đều tăng so với ngày đầu tiên và có chiều hướng tụt theo thời gian. Tại ngày thứ 5 lên men, hoạt độ β-mannanase thu được ở các mẫu hầu hết có xu hướng tăng và cao nhất ở mẫu bổ sung cơ chất bột đậu tương. Sau 7 ngày lên men các môi trường bổ sung nguồn cơ chất đều đạt hoạt độ cao nhất trong đó với nguồn cơ chất bột đậu tương, hoạt độ cao gấp 2 đến 3 lần so với các nguồn cơ chất khác (753,7U/L). Trong khi đó, nguồn cơ chất bã mía, rơm, ngô hoạt độ của enzyme tương ứng đạt 443,7U/L; 272,4U/L; 199,3U/L và thấp nhất là nguồn cơ chất từ mùn cưa đạt 77,1U/L (hình 1).

Theo nghiên cứu của Mohammad, việc sử dụng bã cơm dừa làm cơ chất trong quá trình sản xuất β-mannanase từ chủng *Bacillus* sp. KK01 đã cho hoạt độ enzyme đạt 400U/L [7]. Khi thêm bột đậu tương vào môi trường nuôi cấy, ngoài việc cung cấp các chất dinh dưỡng cần thiết, còn đáp ứng được các yếu tố tăng trưởng của nấm. Bên cạnh đó, thành tế bào từ bột đậu tương chứa hàm lượng cao β-mannan, một loại hemicellulose có thể gây hại cho sự phát triển của động vật và có thể bị thủy phân bởi β-mannanase, giải thích tại sao hoạt độ enzyme đạt mức cao nhất khi được nuôi cấy trong môi trường này [8]. Dựa trên kết quả này, việc lựa chọn thời gian lên men là 7 ngày và sử dụng nguồn cơ chất từ bột đậu tương (10g/L) được xác định là điều kiện thích hợp cho quá trình tổng hợp β-mannanase từ chủng *A. niger* G5.

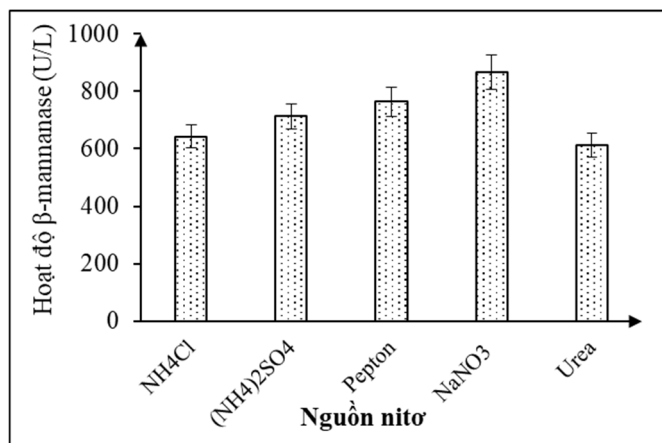


Hình 1. Ảnh hưởng của nguồn cơ chất đến khả năng sinh β-mannanase bởi *A. niger* G5

**Ảnh hưởng của nguồn nitơ**

Chủng nấm *A. niger* G5 được nuôi cấy trong môi trường lên men bổ sung nguồn cơ bột đậu tương (1% ~ 10g/L) và các nguồn nitơ khác nhau (5g/l), gồm: NH<sub>4</sub>Cl,

(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pepton, NaNO<sub>3</sub> và urea). Dịch sau 7 ngày được thu hồi và xác định hoạt độ enzyme bằng phương pháp so màu. Kết quả cho thấy, khả năng sinh enzyme β-mannanase từ chủng *A. niger* G5 bị ảnh hưởng đáng kể bởi các nguồn nitơ khác nhau. Tất cả môi trường được bổ sung nguồn nitơ hoạt độ enzyme đều cao hơn 2 đến 3 lần so với nguồn nitơ ban đầu (cao nấm men). Nguồn nitơ từ NaNO<sub>3</sub> nấm sinh tổng hợp enzyme cao nhất đạt 861,2U/L và thấp nhất là urea đạt 613,1U/L (hình 2). Theo Amany và cộng sự, chủng *Aspergillus niger* với nguồn cơ chất từ bã cơm dừa khi sử dụng nguồn nitơ NH<sub>4</sub>Cl hoạt tính tăng chậm chỉ đạt 631,5U/L. Tuy nhiên, nguồn nitơ NaNO<sub>3</sub> thu nhận hoạt tính enzyme β-mannanase cao nhất đạt 882,3U/L sau 13 ngày lên men [9]. Ngoài ra một số nghiên cứu đã công bố rằng NaNO<sub>3</sub> là nguồn nitơ tốt nhất để sản xuất β-mannanase từ *Aspergillus tamarii* NRC3 [10]. Như vậy, nguồn nitơ từ NaNO<sub>3</sub> thích hợp để sinh tổng hợp β-mannanase từ chủng *A. niger* G5.

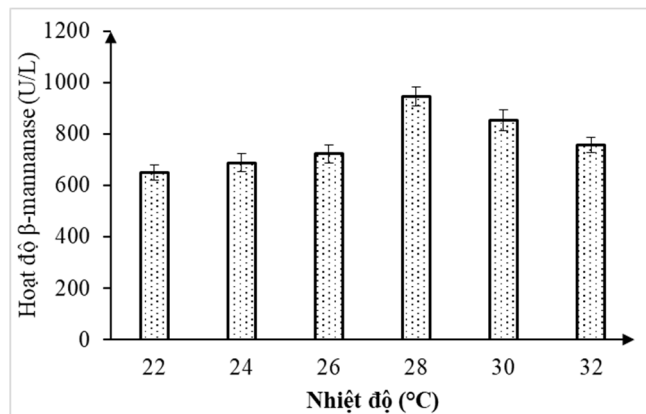


Hình 2. Ảnh hưởng của nguồn nitơ đến khả năng sinh β-mannanase bởi *A. niger* G5

**Ảnh hưởng của nhiệt độ**

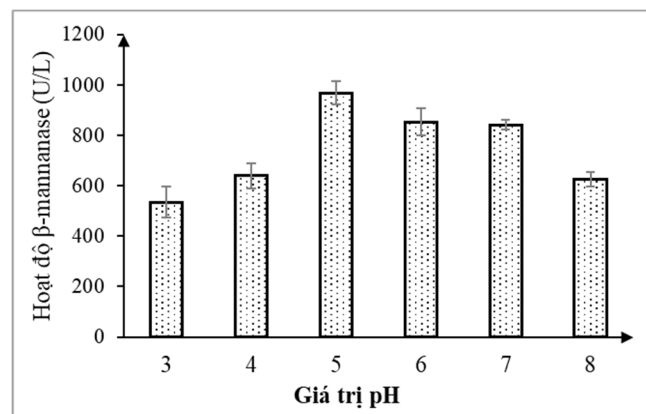
Nghiên cứu này tập trung vào việc lên men nấm trên môi trường lỏng có chứa các thành phần bổ sung. Môi trường này được tạo thành bằng cách sử dụng bột đậu tương (10g/L) và NaNO<sub>3</sub> (5g/L) như là nguồn cung cấp các chất cơ bản cho sự phát triển của nấm. Quá trình lên men diễn ra trong khoảng thời gian 7 ngày, với nhiệt độ duy trì trong khoảng từ 22 đến 32°C. Kết quả cho thấy, nấm sinh tổng hợp β-mannanase có hoạt độ cao nhất ở 28°C (942,1U/L) và thấp nhất ở 22°C (653,9U/L). Khi nhiệt độ tăng lên 28°C thì khả năng sinh enzyme của nấm cũng tăng. Khi nhiệt độ trên 30°C nấm phát triển kém hơn nên hoạt độ giảm khá rõ 756,8U/L ở 32°C (hình 3). Kết quả trên khá tương đồng đối với nấm *A. niger* hoạt độ β-mannanase cao nhất ở 28°C với nguồn cơ chất từ bã cơm dừa [9]. Tuy nhiên, một số nghiên cứu khác cho thấy

rằng enzyme β-mannanase được thu nhận từ chủng *P. citrinum* có hoạt độ cao nhất ở nhiệt độ 28 - 30°C [11]. Từ kết quả nghiên cứu trên, chủng nấm *A. niger* G5 tăng khả năng sinh tổng hợp β-mannanase khi lên men ở nhiệt độ 28°C.



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng sinh β-mannanase bởi *A. niger* G5

**Ảnh hưởng của pH**



Hình 4. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh β-mannanase bởi *A. niger* G5

Trong nghiên cứu này, chúng tôi xem xét sự phát triển và sản xuất β-mannanase bởi chủng nấm *A. niger* G5 trên một môi trường lỏng cơ bản được bổ sung bột đậu tương (1%) và NaNO<sub>3</sub> (5g/l). Quá trình lên men diễn ra trong 7 ngày ở nhiệt độ 28°C, với các mức độ pH khác nhau từ 3,0 đến 8,0 (hình 4). Chúng tôi thấy rằng, chủng nấm *A. niger* G5 có khả năng phát triển và tổng hợp enzyme β-mannanase trên môi trường với pH từ 3,0 đến 8,0. Tuy nhiên, khả năng sản xuất enzyme giảm khi pH của môi trường lên men tiến gần đến axit (pH ≤ 4) hoặc kiềm (pH ≥ 7). Điểm tối ưu của hoạt độ pH đạt 968,5U/L tại pH 5,0 và thấp nhất là 534,9U/L tại pH 3 sau 7 ngày lên men. Kết quả trên khá tương đồng với nghiên cứu của Youssef đối với nấm *A. niger* hoạt độ β-mannanase cao nhất ở 28°C với nguồn cơ chất từ bã cơm dừa [9]. Tuy nhiên, một

số nghiên cứu khác cho thấy rằng enzyme  $\beta$ -mannanase được thu nhận từ chủng *P. citrinum* có hoạt độ cao nhất ở nhiệt độ 28 - 30°C [11].

**Cô đặc, kết tủa enzyme protein LiP**

Sau quá trình lên men lỏng, enzyme thô được kết tủa bằng các dung môi khác nhau, bao gồm axeton, ethanol và sulfat amon với các nồng độ khác nhau (40, 50, 55, 60, 65 và 70%; v/v). Quá trình kết tủa protein được thực hiện ở 4°C, sau đó cặn protein được tách ra bằng ly tâm. Các phân đoạn sau ly tâm được hòa lại với đệm phosphate 10mM (pH 6,0) để đo hàm lượng protein và hoạt lực enzyme. Kết quả cho thấy, nồng độ protein tổng và hoạt lực enzyme ở các phân đoạn kết tủa bằng muối ammonium sulfate đều thấp. Các phân đoạn kết tủa bằng axeton có nồng độ protein cao hơn, nhưng hoạt lực enzyme không cao. Nồng độ protein và hoạt lực enzyme cao nhất đạt được ở phân đoạn kết tủa bằng sulfat amon với nồng độ dung môi 60% (v/v), với hoạt lực enzyme 0,49U.mg<sup>-1</sup>. Ngoài ra, phương pháp lọc sử dụng màng lọc có kích thước cắt 10kDa ở 11°C cũng được nghiên cứu và so sánh. Phương pháp này cho thấy lượng protein thu được tương đối thấp, nhưng hoạt lực enzyme còn lại cao hơn đáng kể so với các phương pháp kết tủa. Nồng độ protein thu được đạt 0,54mg.mL<sup>-1</sup> và hoạt lực riêng là 0,63U.mg<sup>-1</sup> (bảng 1). Phương pháp này hiệu quả hơn trong việc thu hồi enzyme vì ít ảnh hưởng đến hoạt lực enzyme so với việc sử dụng dung môi hữu cơ hoặc sulfat amon.

Bảng 1. Kết quả cô đặc và kết tủa protein enzyme từ dịch nuôi cấy nấm

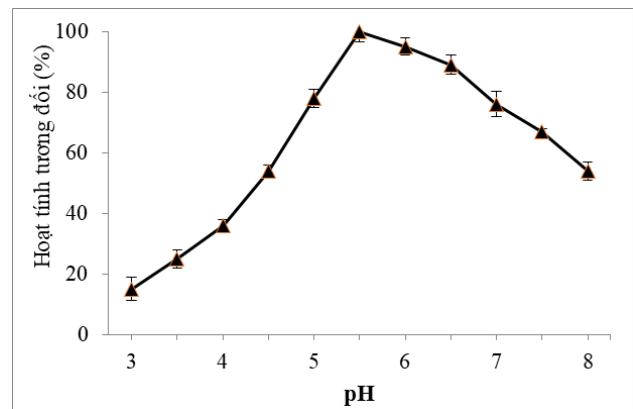
Phương pháp	Nồng độ (%; v/v)						Hoạt tính riêng (U.mg <sup>-1</sup> protein)
	40%	50%	55%	60%	65%	70%	
Tủa axeton	0,36	0,54	0,45	0,47	0,41	0,45	0,63U.mg <sup>-1</sup>
Tủa ethanol	0,25	0,49	0,57	0,56	0,52	0,41	
Tủa sulfat-amon	0,22	0,37	0,45	0,49	0,34	0,22	
Siêu lọc 10kDa cut-off							

**pH tối ưu của  $\beta$ -mannanase**

Sau khi enzyme thô đã được kết tủa và tách ra, nó được hòa tan trong đệm sodium acetate 100mM (pH 5) và sau đó được ủ với cơ chất ABTS 10mM ở 40°C trong 30 phút để xác định pH tối ưu. Kết quả của quá trình này được biểu diễn trong hình 5.

Kết quả nhận thấy, hoạt độ enzyme cao nhất thu được ở pH 5,6 (100%) và tại pH 3 enzyme laccase mất 79% hoạt tính so với pH 5,5. Ngoài ra, khi ở pH 4 và 7 hoạt tính

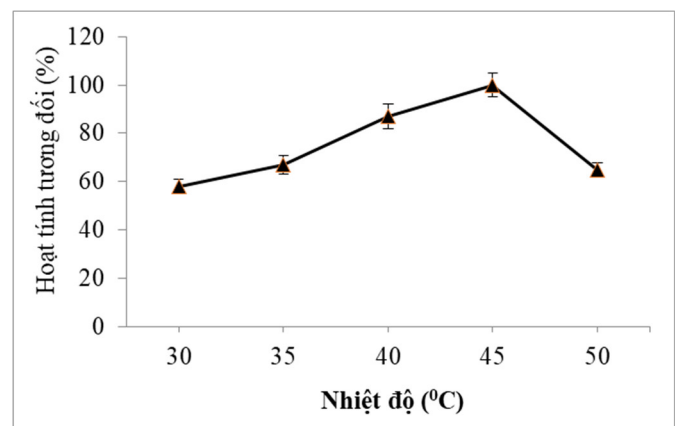
enzyme có sự thay đổi khá lớn (pH 4 đạt 32% và pH 7 đạt 76%). Tại pH 6 hoạt tính enzyme còn lại đạt 95%.



Hình 5. pH tối ưu của  $\beta$ -mannanase sau khi kết tủa

**Nhiệt độ tối ưu của  $\beta$ -mannanase**

Nhiệt độ tối ưu của enzyme tinh sạch được khảo sát trong dải từ 30 - 50°C với đệm sodium acetate 100mM và cơ chất LBG 10mM tại pH 5, ủ trong thời gian 30 phút. Kết quả được thể hiện ở hình 6.



Hình 6. Nhiệt độ tối ưu của  $\beta$ -mannanase sau khi kết tủa

Kết quả cho thấy, hoạt tính enzyme tăng dần từ 58% ở 30°C lên cực đại ở 45°C (100%). Sau khi nhiệt độ tăng lên thì hoạt tính giảm dần còn 46% (50°C) và 65% (50°C). Tại 35°C và 40°C hoạt tính enzyme có sự thay đổi khá rõ (67% so với 87%).

**4. KẾT LUẬN**

Chủng nấm *A. niger* G5 có khả năng sinh tổng hợp enzyme  $\beta$ -mannanase cho hoạt tính cao nhất dưới môi trường thích hợp: nguồn cơ chất là bột đậu tương (1%), nguồn nitơ NaNO<sub>3</sub>, pH 5, lên men trong 7 ngày ở 28°C cho hoạt độ enzyme cao nhất đạt 987,8U/L.

Enzyme được cô đặc và kết tủa theo phương pháp lọc sử dụng màng lọc có kích thước cắt 10kDa ở 11°C, hoạt tính riêng đạt 0,63U.mg<sup>-1</sup> protein. Enzyme thô có pH và nhiệt độ tối ưu tương ứng 5,5 và 45°C.

---

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- [1]. Jackson K., Geronian A., Knox J., McCart E., "Dose-response study with feed enzyme  $\beta$ -Mannanase in Broilers," *Poult. Sci.*, 83, 1992-1996, 2004.
- [2]. Kong C., Lee J. H., Adeola. O., "Supplementation of b-mannanase to starter and grower diets for broilers," *Can. J. Anim. Sci.*, 91, 389-397, 2010.
- [3]. Saeed M., Ayasan T., Alghawany M., "Research on the role of  $\beta$ -mannanase (Hemicel) in improving poultry performance, health and environment," *Braz. J. Poult. Sci.*, 21(3), 1-8, 2019.
- [4]. Ademark P., Varga A., Medve J., Harjunpaa V., Drakenberg T., Tjerneld F., Stalbrand H., "Softwood hemicellulose-degrading enzymes from *Aspergillus niger*: Purification and properties of a  $\beta$ -mannanase," *J. Biotechnol.*, 63(3), 199-210, 1998.
- [5]. Liao T., Zhai L., Gao C., Xue Y., Ma Y., "Purification and characterization of mannanase from an alkaliphilic mannanase producing bacterium HMTS15," *Wei Sheng Wu Xue Bao*, 51(11), 1520-6, 2011.
- [6]. Zhang M., Chen X. L., Zhang Z. H., Sun C. Y., Chen L. L., He H. L., Zhou B. C., Zhang Y. Z., "Purification and functional characterization of endo-beta-mannanase MAN5 and its application in oligosaccharide production from konjac flour," *Appl Microbiol Biotechnol.*, 83(5), 865-73, 2009.
- [7]. Mohammad Z., Hossain H., Abe J., Hizukuri S., "Multiple forms of beta-mannanase from *Bacillus* sp. KK01," *Enzyme Microb Technol.*, 18, 95-98, 1996.
- [8]. Lin J., Pantalone V. R., Li G. L., Chen F., "Molecular cloning and biochemical characterization of an endo- $\beta$ -mannanase gene from soybean for soybean meal improvement," *J Agric Food Chem.*, 59(9), 4622-8, 2011.
- [9]. Youssef A. S., Moustafa El-Naggar Y., Samy A., Ehab A., "Optimization of cultural conditions for  $\beta$ -mannanase production by a local aspergillus niger isolate," *Int. J. Agri. Biol.*, 8(4), 539-545, 2006.
- [10]. Saad M M., Ibrahim N. A., Hadedy D. E., Ibrahim E. I., Hassan H. M., "Evaluation of *Aspergillus tamarii* NRC 3 biomass as a biosorbent for removal and recovery of heavy metals from contaminated aqueous solutions," *Bull Natl Res Cent.*, 43,10, 2019.
- [11]. Anna C. L., Silva D., Silva V., Godoy M., Cammarota M., Gutarra M., " $\beta$ -Mannanase Production by *Penicillium citrinum* through Solid-State fermentation using residual biomass (*Euterpe oleracea*)," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 96(10), 2744-2754, 2021.

---

**AUTHORS INFORMATION****Vu Dinh Giap<sup>1</sup>, Dang Nhat Minh<sup>2</sup>**<sup>1</sup>HaUI Institute of Technology, Hanoi University of Industry, Vietnam<sup>2</sup>University of Science, Vietnam National University, Hanoi, Vietnam