

TẬN DỤNG LỚP NHỚT TRÁI CÀ PHÊ ĐỂ NUÔI CÂY VI SINH THU NHẬN ENZYME PECTINASE LÀM TRONG RƯỢU VANG

Trần Ngọc Hùng⁽¹⁾

(1) Trường Đại học Thủ Dầu Một

Ngày nhận bài 20/12/2019; Ngày gửi phản biện 05/01/2020; Chấp nhận đăng 30/01/2020

Liên hệ email: hungtn@tdmu.edu.vn

<https://doi.org/10.37550/tdmu.VJS/2020.01.011>

Tóm tắt

Enzyme pectinase được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực sản xuất khác nhau. Việc tận dụng thành phần pectin có trong trái cà phê để cảm ứng sinh pectinase không chỉ giúp tận dụng tốt nguồn phế liệu này mà còn giúp nâng cao hiệu quả quá trình chế biến cà phê theo phương pháp ướt. Trên môi trường bán rắn, hiệu quả sinh tổng hợp pectinase của chủng *Aspergillus niger* Đ3 không cao, hoạt độ tối ưu chỉ đạt 0,88 UI/g trên môi trường có chứa 20% vỏ cà phê sau 5 ngày nuôi cấy. Ngược lại, thành phần pectin trong lớp nhớt của trái cà phê có khả năng cảm ứng *Bacillus Ba 79* sinh pectinase với hiệu quả khá cao, hoạt độ enzyme tối đa đạt 2,33 UI/g sau 4 ngày nuôi cấy trên môi trường có chứa 60% dịch nhớt cà phê, 16% bắp xay và 24% bã đậu nành. Chế phẩm pectinase từ *Bacillus Ba 79* có khả năng làm tăng độ trong của rượu vang 41,8% khi bổ sung với tỷ lệ 7,5 UI/lít, trong thời gian 180 phút.

Từ khóa: *aspergillus niger*, chế biến cà phê, dung dịch lớp nhớt, enzyme pectinase

Abstract

USING THE VISCOUS LAYER OF COFFEE FRUIT TO CULTURE MICROORGANISM SO AS TO RECEIVE ENZYME PECTINASE FOR INCREASING TRANSPARENCE OF WINE

Enzyme pectinase are applied in many different production areas. Taking advantage of the pectin content in coffee fruit to induce microorganism biosynthesis pectinase does not only help to reuse of this waste, but also to improve the efficiency of the coffee processing by soaked method. On semi-solid medium, efficiency of pectinase biosynthesis of *Aspergillus niger* Đ3 strain was not high, the maximum activity was only 0.88 UI/gr on medium containing 20% coffee pulp after 5 days culture. Whereas, the pectin content in the viscous layer of coffee fruit is able to induce *Bacillus BS79* biosynthesis the pectinase effectively, with the enzyme maximum activity of 2.33 UI/gr after 4 days of culture on 60% of the viscous solution, 16% grinded corn and 24% soybean residue. The pectinase product from *Bacillus Ba 79* is capable of increasing transparence of wine 41.8% at the ratio of 7.5 UI/l for 180 minutes.

1. Đặt vấn đề

Pectinase là enzyme phân giải pectin, được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp chế biến thực phẩm, tách rời các sợi thực vật, xử lý nước thải, lọc dầu thực vật, lên men trà và cà phê, tẩy trắng giấy. Các enzyme pectinase thường giúp cho việc chiết xuất, lọc và tinh lọc nước quả và nước giải khát được dễ dàng cũng như làm tăng sản lượng trong sản xuất. Trong công nghệ sản xuất các loại nước trái cây và rượu vang. Người ta sử dụng enzyme pectinase để khử pectin, tránh hiện tượng bị đục và lắng cặn trong quá trình sản xuất và bảo quản. Những năm gần đây, enzyme pectinase còn được sử dụng để nâng cao khả năng bóc vỏ của tiêu; rút ngắn thời gian hoai mục của vỏ cà phê trong quá trình ủ; xử lý lớp nhót bám trên hạt cà phê, giúp rút ngắn thời gian chế biến cà phê (Trần Thị Thanh Thuần, 2009).

Với thành phần ước tính chiếm 40 – 45% trọng lượng hạt cà phê, hàng năm ngành chế biến cà phê thải ra khoảng 765 ngàn tấn vỏ. Con số không nhỏ này đòi hỏi phải có biện pháp xử lý thích hợp, đảm bảo vệ sinh môi trường. Trên thế giới, người ta cũng đã tiến hành nghiên cứu tận dụng và xử lý vỏ cà phê như tận dụng làm thức ăn gia súc và tách một số chất. Trong nước, vỏ cà phê chủ yếu được các hộ nông dân sử dụng để ủ hoai làm phân hữu cơ, bón trở lại cho vườn cà phê. Gần đây, một số đề tài nghiên cứu cũng thử nghiệm sử dụng nguồn phế thải này để làm rượu vang, làm phân vi sinh từ vỏ cà phê hoặc tách chiết pectin. Pectin là thành phần chủ yếu của lớp nhót, chiếm từ 20 - 23% tổng trọng lượng khô của trái cà phê. Trong lớp vỏ, hàm lượng pectin cũng lên đến 17% (Nguyễn Đức Lượng, 2010). Việc sử dụng nguồn pectin dồi dào trong vỏ trái cà phê để cảm ứng sinh enzyme pectinase từ các vi sinh vật không những giúp tận dụng tốt nguồn phế liệu nông nghiệp này mà còn nâng cao hiệu quả quá trình chế biến cà phê theo *phương pháp ướt*. Trên cơ sở đó chúng tôi thực hiện đề tài “Tận dụng lớp nhót trái cà phê để nuôi cấy vi sinh thu nhận enzyme pectinase nhằm làm trong rượu vang”.

2. Vật liệu và phương pháp

Vật liệu:

- Trái cà phê: thuộc giống cà phê vối (*Robusta*) lấy từ vườn của hộ dân thuộc xã Liên Đàm, huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng.
- Vỏ cà phê khô: trái cà phê tươi được xay xát để tách phần vỏ, sấy khô vỏ cho đến khi độ ẩm còn khoảng 10%.
- Dịch nhót: trái cà phê tươi sau khi xay xát tách phần vỏ được ngâm nước với tỷ lệ 1:1 (v/v), khuấy đều trong 24 giờ để tách hết lớp nhót bám trên hạt cà phê
- Rượu vang: được sản xuất từ giống nho *Sawignon blanc*. Rượu vang được giữ ở nhiệt độ phòng (~30°C), sau 2 năm kể từ ngày đóng chai được sử dụng để thử nghiệm

- Các chủng *Bacillus* sp.: Ba 01, Ba 02, Ba 03, Ba 04, Ba 05, Ba 41 và Ba 79 được phân lập từ môi trường đất, do phòng thí nghiệm vi sinh ứng dụng, trường đại học Thủ Dầu Một cung cấp.
- Các chủng *Aspergillus niger*: Asp T1, Asp T4, Asp Đ2 và Asp Đ3 được phân lập từ các loại vỏ cam, vỏ chanh, củi buri, do phòng thí nghiệm vi sinh ứng dụng, trường đại học Thủ Dầu Một cung cấp.
- Môi trường định tính khả năng sinh pectinase cho vi khuẩn (MT1): pectin 0,5g; glucose 0,05 g; pepton 0,2g; NaCl 3g; K₂HPO₄ 1,5g; KH₂PO₄ 1,5g; agar 20g; nước cất vừa đủ 1 lít.
- Môi trường định tính khả năng sinh pectinase cho nấm mốc (MT2): pectin 0,5 g; agar 20g; nước cất vừa đủ 1 lít.
- Môi trường tăng sinh vi khuẩn *Bacillus* sp. (MT3): glucose 20g; pepton 10 g; nước giá đậu 10% vừa đủ 1 lít
- Môi trường bán rắn nuôi cấy nấm mốc sinh pectinase: cám 75%; trấu 16%; chất cảm ứng 8%; (NH₄)₂SO₄ 1% (Ashfaq K., 2012; Tivkaa A., 2012).

Phương pháp nghiên cứu:

Định tính khả năng sinh enzyme pectinase trên môi trường thạch đĩa: Các chủng vi sinh vật từ các ống thạch nghiêng được cấy vào môi trường định tính tương ứng; các chủng *Bacillus* sp. cấy trên môi trường MT1; các chủng *Aspergillus niger* cấy trên môi trường MT2. Ủ ở nhiệt độ phòng (30°C), sau 3 ngày, xác định vòng phân giải pectin của các chủng với thuốc thử lugon (Lê thị Thu Trang, 2011).

Định lượng đường khử theo phương pháp Miller: Trộn đều 0,5ml dịch lọc với 0,5 mL thuốc thử DNS, đun sôi cách thủy trong 5 phút, thêm nước cất cho đủ 5ml và so màu ở bước sóng 540nm. Hàm lượng đường khử trong dung dịch được xác định thông qua đường chuẩn của đường glucose (Nguyễn Văn Mùi, 2007).

Xác định hoạt tính enzyme pectinase bằng phương pháp định lượng đường khử: Trộn đều 0,5ml dung dịch enzyme pectinase với 0,5ml 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 540nm (Lâm Thị Kim Châu, 2004). 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.

Tách chiết pectin: Vỏ trái cà phê và dịch nhớt được ngâm trong thời gian 1 giờ với dung dịch acid citric 5% ở nhiệt độ 85 °C, ly tâm tách dịch chiết, để nguội. Dùng cồn 96° để kết tủa pectin trong dịch chiết, tiến hành lọc và thu kết tủa pectin thô bằng giấy lọc sấy khô đã biết trước khối lượng không đổi. Cuối cùng, rửa kết tủa pectin thô bằng cồn lạnh nhiều lần và sấy khô ở 50°C đến trọng lượng không đổi. Kết tủa pectin thô sau khi sấy được để nguội và xác định khối lượng bằng cân phân tích (Ermias Grim, 2016).

Xử lý thống kê: Các thử nghiệm trong phòng thí nghiệm được tiến hành lặp lại ít nhất 3 lần và phân tích ANOVA bằng phần mềm Stagraphic Centurion XV.

Bố trí thí nghiệm:

Đánh giá một số thành phần sinh hóa của vỏ trái cà phê: Vỏ cà phê khô được xay nhuyễn được sử dụng để đánh giá một số thành phần sinh hóa như hàm lượng pectin, đường khử, đạm tổng số, pH 10% trong nước và độ ẩm. Kết quả đánh giá các chỉ tiêu này là cơ sở để nuôi cấy các chủng vi sinh vật sinh tổng hợp enzyme pectinase.

Định tính khả năng sinh pectinase của các chủng vi sinh trên môi trường thạch đĩa: Các chủng *Bacillus* và *Aspergillus niger* từ các ống thạch nghiêng được cấy lên các môi trường định tính, sau khoảng thời gian 3 ngày, xác định đường kính vòng phân giải pectin với thuốc thử lugon. Vòng có hoạt tính của enzyme pectinase sẽ trong suốt, không hiện màu nâu đỏ với thuốc thử lugon. $D (mm) = V - v$. Với V: đường kính vùng hoạt tính của enzyme pectinase; v: đường kính vòng tăng trưởng của chủng vi sinh vật.

Đánh giá hàm lượng một số thành phần sinh hóa của vỏ trái cà phê: Trái cà phê chín đỏ sau khi thu hái được rửa sạch, để khô tự nhiên; tách lớp vỏ ngoài và dịch nhót để xác định hàm lượng một số thành phần sinh hóa như: hàm lượng pectin; hàm lượng đạm tổng số, hàm lượng đường khử, pH, độ ẩm.

Khả năng cảm ứng Bacillus sinh pectinase của vỏ cà phê khô: Các chủng *Bacillus* sp. được tăng sinh trên môi trường MT3, sau 24 giờ, cấy 2 ml giống vào các bình tam giác chứa 75 g môi trường bán rắn có thành phần dịch nhót cà phê 60%; bắp xay và bã đậu nành 40% (bảng 1). Sau thời gian ủ 3 ngày ở nhiệt độ phòng (30°C), canh trường được sấy khô ở 45°C và xác định hoạt tính enzyme pectinase bằng phương pháp định lượng đường khử.

Bảng 1. Thành phần môi trường nuôi cấy *Bacillus* sp. thu nhận pectinase

Nghiệm thức	Dịch lớp nhót (%)	Bắp xay (%)	Bã đậu nành (%)
NT1	60	28	12
NT2	60	24	16
NT3	60	20	20
NT4	60	16	24
NT5	60	12	28

Đánh giá khả năng cảm ứng vi nấm sinh pectinase của lớp nhót trái cà phê: Các chủng *Aspergillus niger* từ môi trường thạch nghiêng được cấy vào các erlen chứa 25 g môi trường bán rắn có thành phần cơ chất như bảng 2, (NH₄)₂SO₄ 1%, độ ẩm 44%. Mật độ giống ban đầu khoảng 10⁷ bào tử/g canh trường. Ủ ở nhiệt độ phòng (30°C). Sau 5 ngày, thu nhận và sấy khô cho đến khi độ ẩm còn khoảng 10%. Xác định hoạt độ pectinase trong canh trường bằng phương pháp định lượng đường khử.

Bảng 2. Thành phần môi trường nuôi cấy *Aspergillus niger* thu nhận pectinase

Nghiệm thức	Cám gạo (%)	Vỏ cà phê (%)
NT1	50	5
NT2	45	10
NT3	40	15
NT4	35	20
NT5	30	25

Thử nghiệm làm trong rượu vang của chế phẩm pectinase: Rượu vang có dung tích 750ml được để yên cho lắng trong thời gian 2 năm. Gạn phần rượu trong phía trên cho, phần rượu có chứa cặn phía dưới còn lại khoảng 150ml. Lắc đều rượu rồi bổ sung dung dịch enzyme pectinase. Thí nghiệm bao gồm các nghiệm thức 2,5 UI/lít rượu; 5,0 UI/ lít rượu và 7,5 UI/lít rượu. Các dung dịch phản ứng được lắc đều với tốc độ 100 vòng/ phút, trong các khoảng thời gian 60, 120 và 180 phút. Rượu vang được thăm dò độ hấp thụ ánh sáng sau đó đo độ truyền suốt ở bước sóng 520nm. Các nghiệm thức đối chứng được thực hiện trong cùng điều kiện với chế phẩm pectinase đã bị bất hoạt bằng cách đun cách thủy 15 phút. Độ truyền suốt $T (\%) = 1/10^A$; với A là độ hấp thụ ánh sáng ở bước sóng 520nm. Độ truyền suốt gia tăng được tính bằng độ truyền suốt của các nghiệm thức trừ cho độ truyền suốt của nghiệm thức đối chứng tương ứng.

3. Kết quả

3.1. Đánh giá hàm lượng một số thành phần sinh hóa của vỏ trái cà phê

Lớp vỏ chiếm đến 41,6% trong trái cà phê chín. Đây là nguồn nguyên liệu giàu đường và các chất dinh dưỡng khác. Kết quả kiểm tra một số thành phần sinh hóa trong lớp vỏ và dịch nhót được thể hiện trong bảng 3.

Bảng 3. Một số chỉ tiêu sinh hóa trong lớp vỏ và lớp nhót của trái cà phê

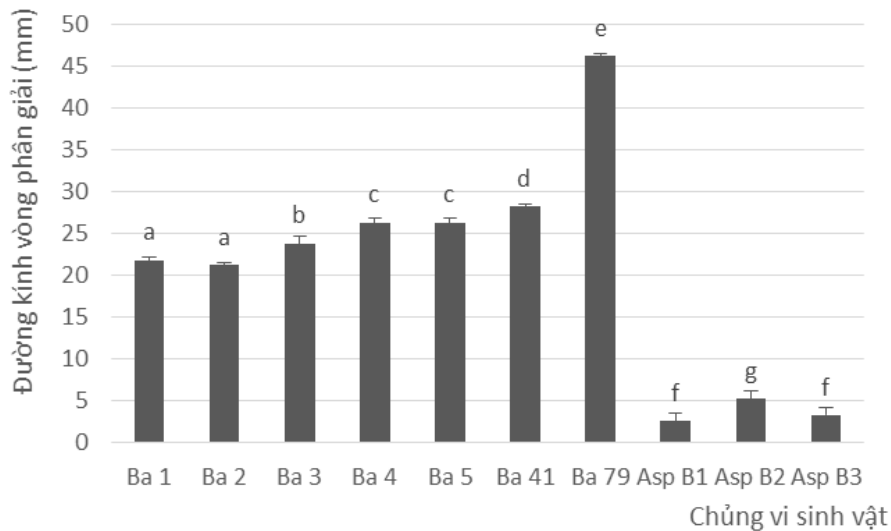
Thành phần sinh hóa	Lớp vỏ trái	Lớp nhót
Nitơ tổng số (g/kg)	13,50 ± 0,90	2,50 ± 0,20
Đường khử (%)	2,57 ± 0,17	0,41 ± 0,02
Pectin (%)	1,60 ± 2,10	7,94 ± 0,20
Độ ẩm (%)	76,00 ± 0,60	-
pH _{H2O}	5,2 ± 0	4,7 ± 0,1

Quá trình chế biến cà phê theo phương pháp ướt thải bỏ nhiều thành phần của trái như lớp vỏ và lớp nhót. Những phế liệu này có chứa một số chất dinh dưỡng như đạm,

đường khử, pectin với hàm lượng nhất định, trong đó, hàm lượng pectin trong lớp nhót lên đến 7,94%. Trong khi đó, dịch nhót từ quy trình chế biến cà phê theo phương pháp ướn đến nay vẫn chưa có biện pháp tận dụng, dung dịch pectin với độ nhót cao là thành phần khó phân hủy sẽ làm gia tăng chi phí xử lý môi trường của các nhà máy. Dịch thải giàu pectin này có thể được tận dụng để tách chiết pectin sử dụng trong lãnh vực thực phẩm hoặc cảm ứng các chủng vi sinh vật sản xuất enzyme pectinase. Lớp vỏ trái với hàm lượng đậm và đường khử cao sẽ thuận lợi cho việc nuôi cấy thu sinh khối các chủng vi sinh vật.

3.2. Định tính khả năng sinh pectinase của các chủng vi sinh

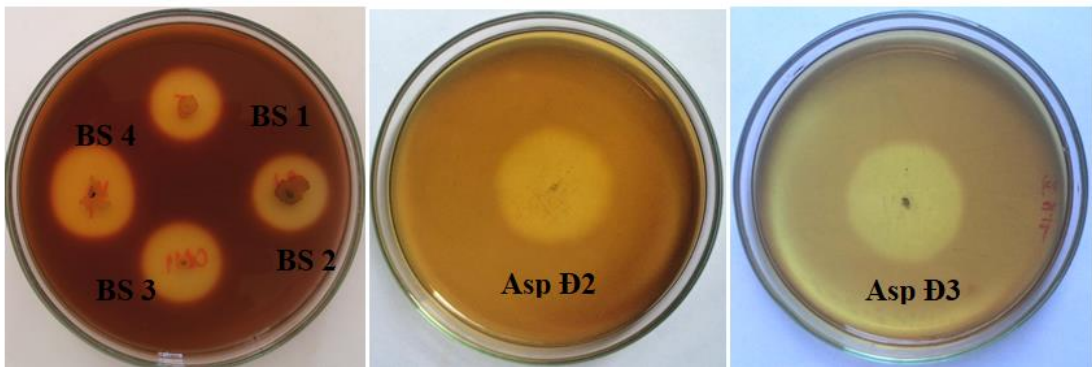
Các chủng *Bacillus* sp. và *Aspergillus niger* được cấy lên các môi trường định tính, sau khoảng thời gian 3 ngày, xác định đường kính vòng phân giải pectin với thuốc thử lugon. Kết quả được thể hiện trong hình 1:



Hình 1: biểu đồ thể hiện đường kính vòng phân giải pectin của các chủng vi sinh vật.

Các kí tự trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ($P < 0,05$).

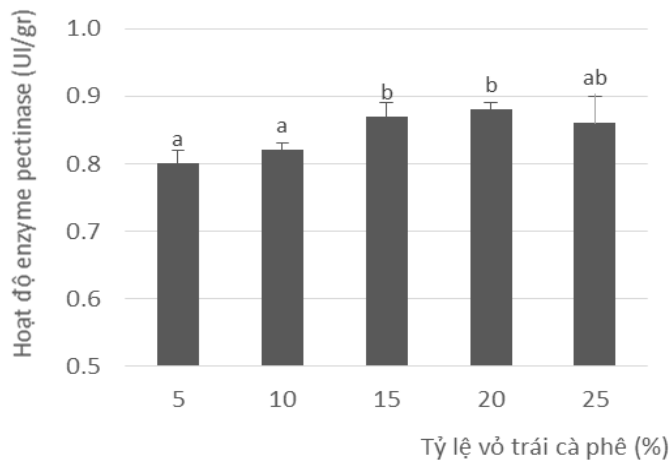
Hầu hết các chủng vi khuẩn và nấm sử dụng trong nghiên cứu đều có khả năng sinh enzyme pectinase. Pectinase từ *Bacillus* sp. có hoạt tính mạnh và khuếch tán tốt trong môi trường thạch. Sau 3 ngày, đường kính vòng phân giải pectin của các chủng đạt từ 21 – 46mm. Chủng *Bacillus* Ba 79 có vòng phân giải cao vượt trội so với các chủng còn lại, đạt 46mm. Trong khi đó, mặc dù các chủng *Aspergillus niger* có thể phát triển tốt trên môi trường định tính, nhưng lượng enzyme pectinase sinh ra không nhiều và không khuếch tán xa trong môi trường, vòng phân giải pectin gần sát mép với vòng tăng trưởng của nấm, đạt trung bình từ 1,3 – 1,7mm, riêng chủng Asp Đ3 có đường kính vòng phân giải lớn nhất, đạt trung bình 6,7mm sau 3 ngày ủ. Từ kết quả trên, chúng tôi chọn các chủng Ba 79 và chủng Asp Đ3 để thử nghiệm khả năng cảm ứng sinh pectinase trên môi trường bán rắn.



Hình 2. Đường kính vòng phân giải pectin của các chủng vi sinh trên môi trường thạch đĩa.

3.3. Khả năng cảm ứng nấm *Aspergillus niger* sinh pectinase của vỏ cà phê khô

Chủng Asp Đ3 được cấy vào các môi trường bán rắn có chứa vỏ cà phê với thành phần thay đổi từ 5 đến 25%. Sau 5 ngày ủ ở nhiệt độ phòng, xác định hoạt tính pectinase trong canh trường. Kết quả được thể hiện trong hình 3.



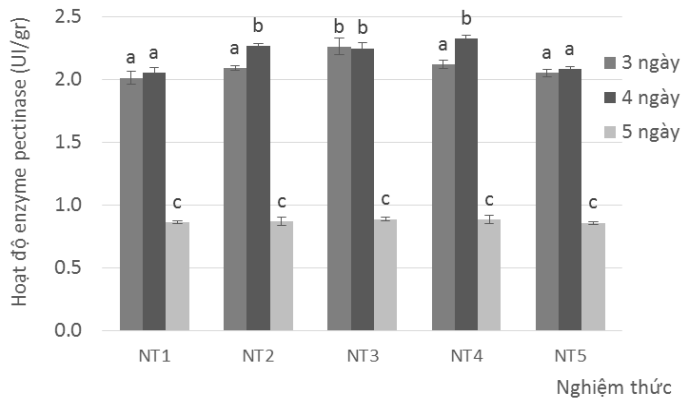
Hình 3: Ảnh hưởng của tỷ lệ vỏ cà phê đến khả năng cảm ứng sinh pectinase trên Asp Đ3.

Các kí tự trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ($P < 0,05$).

Hàm lượng pectin trong vỏ cà phê không ảnh hưởng nhiều đến khả năng sinh tổng hợp pectinase của chủng nghiên cứu, hoạt độ dao động trong khoảng 0,80 – 0,88 UI/g. Hiệu quả thu nhận enzyme pectinase tốt nhất khi nuôi cấy trên môi trường chứa 20% vỏ cà phê và 35% cám gạo. Tuy nhiên, phương án tận dụng thành phần pectin có trong vỏ cà phê để nuôi cấy nấm *Aspergillus niger* thu nhận pectinase không đem lại hiệu quả kinh tế cao, hoạt độ pectinase thu được trong canh trường thấp hơn khi so với nuôi cấy trên các loại cơ chất khác như bã cà rốt, củi bười... Trong quá trình nghiên cứu, chúng tôi cũng thử nghiệm nuôi cấy các chủng *Bacillus* Ba 79 trên các loại môi trường có chứa vỏ cà phê, mặc dù các chủng vi khuẩn này phát triển mạnh nhưng khả năng sinh pectinase rất yếu. Có thể do hàm lượng dinh dưỡng trong vỏ cà phê cao nên chúng không ưu tiên tổng hợp pectinase.

3.4. Khả năng cảm ứng *Bacillus Ba 79* sinh pectinase của lớp nhót trái cà phê

Chủng *Bacillus Ba 79* được cấy từ môi trường tăng sinh vào các môi trường bán rắn có chứa 60% dịch từ lớp nhót của trái cà phê. Sau 3; 4 và 5 ngày ủ ở nhiệt độ phòng, xác định hoạt tính pectinase trong canh trường. Kết quả được thể hiện trong bảng 4 và biểu đồ 3.



Hình 4. Khả năng cảm ứng sinh pectinase từ *Bacillus Ba 79* của lớp nhót trái cà phê trên các loại môi trường và thời gian nuôi cấy khác nhau.

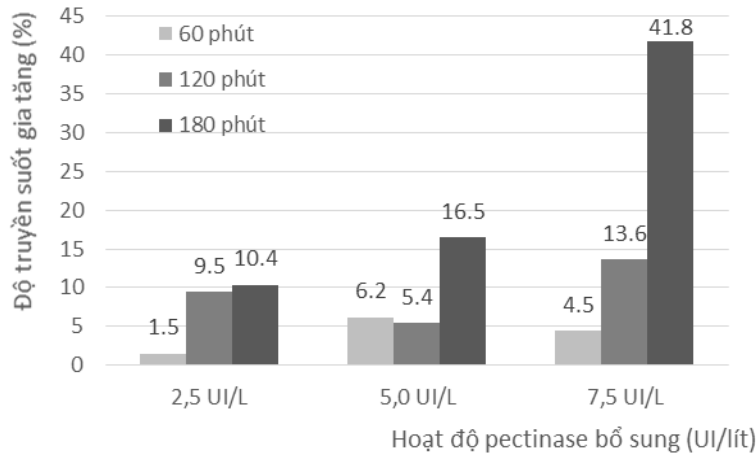
Các kí tự trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ($P < 0,05$).

Thành phần pectin trong lớp nhót của trái cà phê có khả năng cảm ứng chủng *Bacillus Ba 79* sinh pectinase tốt, hoạt độ enzyme dao động trong khoảng 2,01 – 2,26 UI/g sau 3 ngày nuôi cấy. Hoạt độ pectinase trong các canh trường đạt cực đại ở ngày thứ tư sau đó giảm mạnh, dao động trong khoảng 0,86 – 0,89 UI/g. Pectin trong lớp nhót của trái cà phê cảm ứng sinh enzyme pectinase tốt nhất khi nuôi cấy chủng *Ba 79* trên môi trường chứa cơ chất là 16% bắp và 24% bã đậu nành, hoạt độ pectinase sau 4 ngày nuôi cấy đạt 2,33 UI/g, khác biệt có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% so với các nghiệm thức và thời gian nuôi cấy khác.

Hầu hết các nghiên cứu nuôi về cấy thu nhận enzyme pectinase đều tập trung sử dụng các chủng *Aspergillus niger* trên các loại phế phụ liệu giàu pectin khác như cám mì, cùi bưởi, cùi vỏ cam, cùi vỏ chanh, vỏ xoài, vỏ chuối... hoạt độ enzyme tối ưu một số nghiên cứu công bố gần đây nằm trong khoảng 5,38 – 5,88 UI/ml (Trần Thị Thanh Thuần, 2009; Nguyễn Đức Lượng, 2010; Lê Thị Thu Trang, 2011). Rất ít có nghiên cứu sử dụng dịch lớp nhót từ trái cà phê để cảm ứng sinh pectinase trên *Bacillus*. Những kết quả nghiên cứu ban đầu của chúng tôi cho thấy tận dụng dịch nhót để nuôi cấy thu enzyme pectinase sẽ thu được chế phẩm có hoạt độ khá tốt. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu còn góp phần nâng cao giá trị quá trình biến cả phê theo phương pháp ướt.

3.5. Thử nghiệm làm trong rượu vang của chế phẩm pectinase

Chế phẩm enzyme pectinase được bổ sung vào rượu vang có cặn ở các tỷ lệ 2,5 ; 5,0 và 7,5 UI/lít. Tác dụng gia tăng độ truyền suốt của chế phẩm được thể hiện trong hình 5.



Hình 5. Khả năng làm tăng độ trong rượu vang của chế phẩm enzyme pectinase. Các kí tự trên các cột biểu thị mức độ sai khác ở độ tin cậy 95% ($P < 0,05$).

Rượu vang sau 2 năm bảo quản ở nhiệt độ phòng sẽ lắng một lượng cặn đáng kể dưới đáy chai. Việc bổ sung enzyme pectinase từ vi khuẩn *Bacillus* Ba 79 đã cho thấy hiệu quả gia tăng độ trong của rượu. Thời gian càng lâu, hiệu quả thủy phân lớp cặn càng rõ rệt. Ở nghiệm thức xử lý 180 phút, lượng pectinase bổ sung ở tỷ lệ 5 UI và 7,5 UI cho hiệu quả rõ rệt hơn so với tỷ lệ 2,5 UI/lít, độ trong của rượu gia tăng lần lượt 16,5 và 41,8% so với đối chứng. Lớp cặn lắng của rượu vang bao gồm nhiều thành phần khác nhau như pectin, protein dạng sợi và các yếu tố không tan khác, kết quả của thí nghiệm bước đầu cho thấy hiệu quả làm tăng độ trong của rượu, việc phối hợp sử dụng với các chế phẩm enzyme khác có thể sẽ giúp nâng cao chất lượng cảm quan của rượu trong quá trình bảo quản.

4. Kết luận

Trên môi trường thạch đĩa, chủng *Aspergillus* Đ3 và *Bacillus* Ba 79 có đường kính vòng phân giải pectin lớn nhất, lần lượt đạt trung bình 6,7mm và 46mm. Thành phần pectin trong vỏ cà phê có khả năng cảm ứng sinh *Aspergillus niger* Đ3 sinh enzyme pectinase, tuy nhiên, hiệu quả sinh tổng hợp của chủng không cao, hoạt độ chỉ đạt 0,88 UI/g trên môi trường có chứa 20% vỏ cà phê. Khả năng cảm ứng sinh pectinase ở *Bacillus* Ba 79 đem lại hiệu quả khá cao, hoạt độ enzyme đạt 2,33 UI/g sau 4 ngày nuôi cấy trên môi trường có chứa 60% dịch nhót cà phê, 16% bắp xay và 24% bã đậu nành. Ở tỷ lệ bổ sung 7,5 UI/lít, thời gian xử lý 180 phút, chế phẩm pectinase có khả năng làm tăng độ trong của rượu vang 41,8%.

Lời cảm ơn : Xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí của Chương trình Sinh viên Nghiên cứu Khoa học, Trường Đại học Thủ Dầu Một và sự giúp đỡ của Trung tâm Nghiên cứu và Thực nghiệm trường Đại học Thủ Dầu Một; xin cảm ơn sự hỗ trợ của sinh viên Nguyễn Trường Nam – Khoa Tài nguyên Môi trường đã hỗ trợ trong một số công việc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Lâm thị Kim Châu, Văn Đức Chín, Ngô Đại Nghiệp (2004). *Thực tập lớn sinh hóa*. NXB Đại học quốc gia TP Hồ Chí Minh.
- [2] Nguyễn Văn Mùi (2007). *Thực hành Hóa sinh học*. NXB Đại học Quốc gia Hà Nội.
- [3] 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 Kỹ thuật*, 12(3), tr. 50 – 56.
- [4] Nguyễn Đức Lượng, Bùi Anh Võ (2010). Nghiên cứu thu nhận pectin từ vỏ cà phê. *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ*, 13(K2), tr. 46 – 55.
- [5] Lê Thị Thu Trang (2011). Nghiên cứu khả năng tổng hợp pectiesterase và polygalacturonase của *Aspergillus niger*. Luận văn thạc sĩ kỹ thuật chuyên ngành công nghệ thực phẩm và đồ uống. Trường Đại học Đà Nẵng.
- [6] Ashfaq K., Saniay S. and Neha R. (2012). Production and optimization of pectinase enzyme using *Aspergillus niger* in solid state fermentation. *Research in Biotechnology*, 3, page. 19-25.
- [7] Tivkaa A., Bukola A. (2012). Screening of new isolates fungal strains for polygalacturolase production in submerged fermentation. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, 11, Issue September, page 15-22.
- [8] Ermias G., Teshome W. (2016). Extraction and characterization of pectin from selected fruit peel waste. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 6(2), p. 447-454.