

## Optimization of autolysis conditions for waste brewer's yeast

Nguyen Thi Thanh Thuy, Ho Tuan Anh

### Abstract

Treated brewers' yeast is optimized for the autolysis conditions followed the Box-Behnken design. Derringer's desirability function is used for optimization of output factors. The results showed that the autolysis ability of waste beer yeast depended on various factors, but the most important ones were temperature, composting time and pH. The combined factors had very little or insignificant impact on the result, except the interaction between pH and composting time caused reducing the dissolved substances. Under the optimum condition the ratio of yeast: water at 1: 3, stirring speed at 30 rpm, temperature at 52°C, pH at 5.8 and composting time in 22h, the percentage of protein converted to free amino nitrogen, of the protein transformed to dissolved form, and of the dry matter transformed into extract were 41.3; 73.6 and 52.1%, respectively. The desirability value for all three target function was 94.3%.

**Keywords:** Waste beer yeast, optimization, autolysis, mathematical model, experimental design

Ngày nhận bài: 5/7/2017

Người phản biện: TS. Nguyễn Xuân Cảnh

Ngày phản biện: 10/7/2017

Ngày duyệt đăng: 27/7/2017

## TUYỂN CHỌN CHỦNG VI KHUẨN LACTIC CÓ KHẢ NĂNG SINH ENZYME $\beta$ - GALACTOSIDASE CHỊU AXIT (pH 2 - 3)

Nguyễn Hoàng Anh<sup>1</sup>, Hồ Tuấn Anh<sup>2</sup>

### TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, 82/265 chủng vi khuẩn lactic được xác định là sinh enzyme  $\beta$  -galactosidase bằng phương pháp nuôi cấy trên môi trường thạch có bổ sung X-gal. Trong đó, chủng RGH7.1, RGH6.1, RGH8.8 sinh enzyme  $\beta$ -galactosidase ngoại bào có hoạt độ cao nhất tương ứng là 685,95 U/L, 498,92 U/L và 492,23 U/L.  $\beta$ -galactosidase của ba chủng này đều có hoạt độ cao ở pH 2 và 3 với hoạt độ tương đối tương ứng dao động từ 74,32 - 83,16%, 86,49 - 93,24%. Hoạt độ của  $\beta$ -galactosidase của ba chủng này còn trên 50% sau 4 giờ ủ ở pH 2 và 3, trong đó chủng RGH 7.1 có độ bền với pH 2 và pH 3 tốt nhất, hoạt độ còn lại sau 4 giờ ủ tương ứng là 50,01% và 65,14%. Kết quả của nghiên cứu này chỉ ra rằng enzyme  $\beta$ -galactosidase ngoại bào từ chủng RGH 7.1 có tiềm năng lớn ứng dụng trong công nghiệp chế biến sữa không lactose, cũng như viên nang uống chứa enzyme  $\beta$ -galactosidase bền ở pH 2 và 3 cho người không dung nạp lactose

**Từ khóa:** Vi khuẩn lactic,  $\beta$ -galactosidase, bền pH

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Enzyme  $\beta$ -galactosidase còn được gọi là lactase, là enzyme xúc tác cho quá trình thủy phân lactose thành glucose và galactose (Davail *et al.*, 1994). Nhờ khả năng phân giải lactose mà  $\beta$ -galactosidase được sử dụng nhiều trong công nghiệp sản xuất các sản phẩm từ sữa để giảm hàm lượng lactose, một thành phần chính trong sữa mà phần lớn người trưởng thành dung nạp rất kém và đặc biệt một số ít người lớn kể cả trẻ sơ sinh có dị ứng mạnh với đường lactose (Järvelä *et al.*, 2009).  $\beta$ -galactosidase được bổ sung vào quá trình sản xuất bơ sữa để tránh sự kết tinh lactose và tăng độ ngọt của sản phẩm, cải thiện các chức năng của các sản phẩm từ sữa. Ngoài ra, trong y dược chúng được sử dụng hỗ trợ tiêu hóa cho những người có khả năng hấp thụ lactose kém

(Nakayama and Amachi, 1999). Khả năng chịu pH acid đóng vai trò quan trọng trong quá trình thủy phân lactose ở các sản phẩm chế biến và sản phẩm sữa lên men.  $\beta$ -galactosidase có khả năng hoạt động ở pH acid trong sản xuất sữa chua và phomat sẽ làm tăng quá trình acid hóa, làm giảm khả năng đông đặc của sữa chua và tăng tốc độ phát triển cấu trúc và hương vị cho phomat (Parmjit S Panesar *et al.*, 2010).  $\beta$ -galactosidase có thể tìm thấy ở động vật, thực vật, nấm men, nấm mốc và vi khuẩn (Lê Xuân Phương, 2001). Trong đó, enzyme thu nhận từ vi khuẩn ưu việt hơn cả vì vi khuẩn có sinh khối nhỏ, sinh sản nhanh, nhưng tỉ lệ enzyme trong tế bào lớn. Mặt khác, môi trường dinh dưỡng để nuôi cấy vi khuẩn lại rẻ tiền, dễ kiếm nên quy trình sản xuất chế phẩm enzyme khá dễ dàng, hiệu suất thu hồi cao và ít tổn

<sup>1</sup> Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

<sup>2</sup> Trường Đại học Kinh tế Kỹ thuật Công nghiệp

kém (Ngô Xuân Mạnh và *ctv.*, 2005). Trong các loài vi khuẩn được nghiên cứu và sản xuất  $\beta$ -galactosidase, vi khuẩn lactic đang rất được quan tâm vì ngoài các ưu điểm trên vi khuẩn lactic còn có những đặc tính rất cần thiết như: Là vi khuẩn rất an toàn trong thực phẩm; được sử dụng thường xuyên trong thực phẩm của con người (sữa chua, dưa muối,...); dễ tìm kiếm hơn so với nhiều loài vi khuẩn khác; dễ dàng tìm được  $\beta$ -galactosidase. Cho đến nay, đã có một số nghiên cứu về enzyme  $\beta$ -galactosidase từ một số vi khuẩn lactic (Splechtna *et al.*, 2006; Hsu *et al.*, 2005). Tuy nhiên, các nghiên cứu về enzyme  $\beta$ -galactosidase từ vi khuẩn lactic có hoạt tính cao và bền ở pH axit thấp vẫn còn rất hạn chế.

Từ những cơ sở trên, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu tuyển chọn được chủng lactic sinh enzyme  $\beta$ -galactosidase bền acid (pH 2 và 3), làm cơ sở cho ứng dụng vào việc chế biến các sản phẩm từ sữa, các viên nang enzyme uống cho người không dung nạp được lactose.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Bộ sưu tập 265 chủng vi khuẩn lactic đã được phân lập có trong ngân hàng chủng giống của Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam được sử dụng để tuyển chọn chủng sinh enzyme  $\beta$ -galactosidase có hoạt độ cao và bền ở pH 2 và pH 3. Các chủng có nguồn gốc từ sữa bò tại các nhà máy sữa, sữa nguyên chất lên men, bắp cải muối chua, cải bẹ muối chua, ruột gà hồ, ruột gà ri, nước thải chuồng bò, ống nước thải nhà máy sữa, đất xung quanh chuồng bò ở các vùng khác nhau.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1 Phương pháp tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic sinh enzyme $\beta$ -galactosidase

- Chủng vi khuẩn lactic sinh enzyme  $\beta$ -galactosidase được tuyển chọn bằng phương pháp nuôi cấy trên môi trường thạch MRS có bổ sung X-gal theo Toru Nakayama và Teruo Amachi (1996) được tóm tắt như sau:

Nguyên tắc:  $\beta$ -galactosidase thuỷ phân X-gal hình thành sản phẩm kết tủa màu xanh da trời kiểu indigo. Vì vậy, vi khuẩn dương tính với enzyme này sẽ tạo khuẩn lạc màu xanh khi nuôi cấy trên môi trường đĩa thạch bổ sung chỉ thị X-gal và lactose.

- Xác định khả năng sinh enzyme  $\beta$ -galactosidase bằng phương pháp cấy chấm điểm trên đĩa thạch. Môi trường MRS được hấp vô trùng và làm nguội, sau đó bổ sung 60  $\mu$ l X-gal nồng độ 20 mg/ml và 10  $\mu$ l IPTG 0,1M trên mỗi đĩa, chang đều. Đĩa cấy vi sinh

vật được đưa vào tủ nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C, trong điều kiện tối. Kiểm tra kết quả sau 24 h, 48 h và 72 h.

#### 2.2.2. Phương pháp nuôi cấy chủng vi khuẩn lactic để thu enzyme $\beta$ -galactosidase

Chủng vi khuẩn lactic được nuôi cấy trong môi trường MRS lỏng có bổ sung lactose được tiến hành theo phương pháp của Nguyễn Lâm Dũng và cộng tác viên (1978) và được tóm tắt như sau: Tiếp giống 1% từ ống nghiệm đã hoạt hóa vào bình tam giác chứa môi trường MRS có bổ sung 1% đường lactose đã hấp khử trùng ở 121°C trong 15 phút và nuôi cấy ở 37°C, lắc 200 vòng/phút trong 24h. Tiến hành li tâm 6000 vòng/phút ở 4°C trong 20 phút, gạn lấy phần dịch nổi, cô đặc 10 lần bằng màng cô đặc có kích thước 10 kDa được sử dụng như là dịch enzyme ngoại bào, phần sinh khối được sử dụng để phá vỡ tế bào thu dịch enzyme nội bào như mô tả bởi Nguyen và cộng tác viên (2012). Dịch enzyme nội bào và ngoại bào được bảo quản ở 4°C để xác định hoạt độ, ảnh hưởng của pH đến hoạt độ và độ bền của enzyme.

#### 2.2.3. Xác định hoạt độ của $\beta$ -galactosidase ngoại bào và nội bào

Hoạt độ của  $\beta$ -galactosidase xác định bằng cách sử dụng o-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactopyranoside (oNPG) làm cơ chất như mô tả bởi Nguyen và cộng tác viên (2006), mô tả như sau: phản ứng enzyme - cơ chất được bắt đầu bằng cách thêm 20  $\mu$ l mẫu enzyme được chuẩn bị như ở mục 2.2.2 vào 480  $\mu$ l 22 mM oNPG pha trong đệm 50 mM phosphate pH 6,5, sau đó ủ trong 10 phút ở 30°C, tốc độ lắc 600 vòng/phút. Phản ứng được dừng bằng cách cho thêm 750  $\mu$ l 0,4 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , o-nitrophenol (oNP) tạo ra được xác định bằng cách đo độ hấp thụ ở 420 nm. Một đơn vị hoạt độ của  $\beta$ -galactosidase được định nghĩa là lượng enzyme giải phóng 1  $\mu$ mol oNP / 1phút trong các điều kiện phản ứng như trên.

#### 2.2.4. Ảnh hưởng của pH 2, pH 3 đến hoạt độ và độ bền của enzyme $\beta$ -galactosidase

Ảnh hưởng của pH 2, pH 3 đến độ bền của enzyme  $\beta$ -galactosidase được xác định theo phương pháp của Nguyen và cộng tác viên (2012), như sau: dịch enzyme  $\beta$ -galactosidase thô được ủ trong đệm Britton robinson ở pH 2 và pH 3, nhiệt độ 30°C. Tại các thời gian ủ khác nhau, enzyme lấy ra để xác định hoạt độ còn lại (theo phương pháp mô tả ở mục 2.2.3). Độ bền pH của enzyme được xác định bằng cách so sánh % hoạt độ còn lại của enzyme tại thời điểm đo với thời điểm bắt đầu ủ.

### 2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Các thí nghiệm được tiến hành từ tháng 1/2017 -

tháng 5/2017 tại phòng thí nghiệm Trung tâm Khoa học và công nghệ thực phẩm, Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Kết quả sàng lọc các chủng lactic có khả năng sinh enzyme $\beta$ -galactosidase

Thực hiện theo 2.2.1, các chủng vi khuẩn lactic được sử dụng để tuyển chọn chủng sinh enzyme  $\beta$ -galactosidase bằng phương pháp nuôi cấy trên đĩa thạch có bổ sung X-gal. Kết quả thể hiện màu xanh trên đĩa thạch (minh họa ở hình 1) chỉ ra rằng 82/265 chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh enzyme  $\beta$ -galactosidase (Bảng 1).

**Bảng 1.** Kết quả xác định khả năng sinh  $\beta$ -galactosidase của các chủng vi khuẩn lactic trên môi trường thạch bổ sung X-gal

STT	Nguồn phân lập	Kí hiệu mẫu	Tổng số chủng vi khuẩn lactic	Tổng số chủng có khả năng sinh $\beta$ -galactosidase
1	Sữa bò tại nhà máy sữa	ST	26	9
2	Sữa nguyên chất lên men	SB	33	9
3	Bắp cải muối chua	BA	33	16
4	Cải bẹ muối chua	BE	23	15
5	Ruột gà hồ	RGH	29	9
6	Ruột gà ri	RGD	20	3
7	Nước thải chuồng bò	NT	39	9
8	Ống nước thải nhà máy sữa	ON	29	9
9	Đất xung quanh chuồng bò	Đ	33	3



**Hình 1.** Kết quả kiểm tra khả năng sinh enzyme  $\beta$ -galactosidase của chủng vi khuẩn lactic RGH 7.1 trên môi trường có chứa X-gal

Các chủng RGH 6.11, RGH7.1, RGH8.8, BE1.9, BE3.2, BA3.2, ON3 xuất hiện màu xanh đậm và sớm nhất sau 24 giờ nuôi cấy được sử dụng để xác định hoạt tính enzyme  $\beta$ -galactosidase nội bào và ngoại bào.

#### 3.2. Xác định hoạt độ của enzyme $\beta$ -galactosidase của vi khuẩn lactic

Kết quả xác định hoạt độ  $\beta$ -galactosidase của 7 chủng vi khuẩn lactic xuất hiện màu xanh đậm sau 24 giờ nuôi cấy được thể hiện ở bảng 2.

**Bảng 2.** Hoạt độ  $\beta$ -galactosidase ngoại bào của 7 chủng vi khuẩn lactic

STT	Tên chủng	Hoạt độ của enzyme ngoại bào (U/L)	Hoạt độ của enzyme nội bào (U/L)	Tổng hoạt độ (U/L)
1	BE1,9	121,3	46,32	167,62
2	BE3.2	75,9	18,69	94,59
3	BA3.2	170,7	36,42	207,12
4	RGH6.11	498,92	23,56	522,48
5	RGH7.1	685,95	34,85	720,80
6	RGH8.8	492,23	45,89	538,12
7	ON3	50,43	17,06	67,49

Kết quả bảng 2 cho thấy: Cả 7 chủng đều có hoạt tính enzyme nội bào và ngoại bào. Tuy nhiên, hoạt tính của enzyme ngoại bào cao hơn nhiều lần so với nội bào, trong đó hoạt độ enzyme ngoại bào của chủng RGH7.1, RGH6.11, RGH8.8 cao nhất tương ứng là 685,95 U/L, 498,92 U/L và 492,23 U/L. Kết quả này tương đồng với kết quả của Maurya và Padalia., 2016, khi nghiên cứu sản xuất  $\beta$ -galactosidase ngoại bào từ vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus*, hoạt độ của enzyme là 671 U/L. Các chủng còn lại có hoạt độ enzyme ngoại bào dao động trong khoảng từ 50,43 U/L - 170,7 U/L. Hoạt độ của enzyme nội bào thấp, chỉ từ 17,06 U/L - 46,32 U/L.

Các chủng RGH7.1, RGH6.11, RGH8.8 được tuyển chọn để sử dụng cho những nghiên cứu tiếp theo.

#### 3.3. Xác định ảnh hưởng của pH 2 và 3 tới hoạt độ, độ bền của $\beta$ -galactosidase từ chủng vi khuẩn lactic

##### 3.3.1. Xác định ảnh hưởng của pH 2, pH 3 đến hoạt độ của enzyme

Các chủng RGH7.1, RGH6.11, RGH8.83 có hoạt độ enzyme cao được dùng để xác định ảnh hưởng của pH 2 và pH 3 đến hoạt độ của enzyme. Kết quả thể hiện ở bảng 3.

**Bảng 3.** Kết quả xác định ảnh hưởng của pH 2, pH 3 đến hoạt độ của enzyme

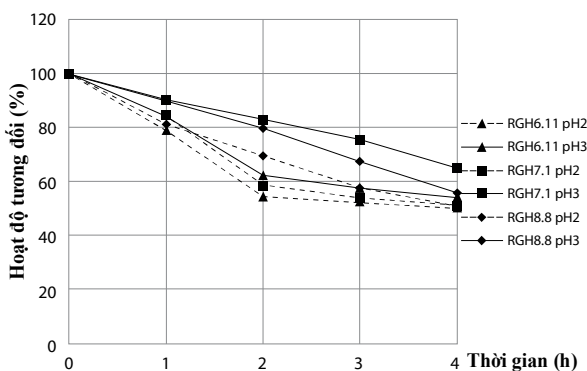
Tên chủng	Hoạt độ/ Hoạt độ tương đối	pH		
		pH=6,5	pH=2	pH=3
RGH6.11	Hoạt độ (U/L)	498,92	376,7	431,5
	Hoạt độ tương đối (%)	100	75,5	86,49
RGH7.1	Hoạt độ (U/L)	685,95	509,80	626,34
	Hoạt độ tương đối (%)	100	74,32	91,31
RGH8.8	Hoạt độ (U/L)	492,23	409,3	459
	Hoạt độ tương đối (%)	100	83,16	93,24

Kết quả thể hiện cho thấy cả ba chủng RGH6.1, RGH8.8, RGH7.1 đều có hoạt tính cao ở pH 2, pH 3 với hoạt độ enzyme tương đối tương ứng dao động từ 74,32 - 83,16%, 86,49 - 93,24%. Trong đó, chủng RGH8.8 có hoạt độ tương đối cao nhất ở pH 2 và pH 3 tương ứng là 83,16% và 93,24%.

**3.3.2. Xác định độ bền của  $\beta$ -galactosidase tại pH 2, pH 3**

Các kết quả nghiên cứu độ bền ở pH 2 và pH 3 của enzyme  $\beta$ -galactosidase được thể hiện ở hình 2. Phân tích các giá trị đạt được cho thấy, enzyme  $\beta$ -galactosidase của chủng RGH6.11, RGH7.1, RGH.8.8 đều bền sau 4 giờ ở pH 2 và pH 3. Sau 1 giờ đầu thì hoạt độ của enzyme  $\beta$ -galactosidase ở pH 2 và pH 3 vẫn còn khá cao tương ứng là 78,84 - 84,21% và 81,20 - 90,02%. Sau 2 giờ thì hoạt độ tương đối của enzyme ở pH 2 và pH 3 còn lại tương ứng là 52,32 - 62,26% và 69,57 - 82,68%. Sau 3 giờ hoạt độ tương đối của enzyme ở pH 2 và pH 3 giảm không nhiều so với ở thời điểm 2 giờ, tương ứng là 52,45 - 57,74%. Sau 4 giờ thì hoạt độ tương đối của enzyme ở pH 2 và pH 3 còn lại tương ứng là 50,12 - 54,16% và 51,05 - 65,14%.

Theo công bố khoa học của Bộ Y tế, khả năng tiêu hóa thức ăn trong dạ dày từ 3 đến 4 giờ. Sau khoảng thời gian 4 giờ enzyme  $\beta$ -galactosidase của chủng RGH7.1 vẫn duy trì hoạt độ 65,14%, ở pH 3 và 50,01% ở pH 2 so với ban đầu. Kết quả của nghiên cứu này chỉ ra rằng có thể sử dụng chủng vi khuẩn lactic RGH7.1 để nghiên cứu, sản xuất enzyme  $\beta$ -galactosidase, ứng dụng enzyme trong sản xuất thực phẩm không lactose.



**Hình 2.** Độ bền của enzyme  $\beta$ -galactosidase ở pH 2 và pH 3

**IV. KẾT LUẬN**

Đã tuyển chọn được chủng vi khuẩn lactic RGH7.1 phân lập từ ruột gà hồ sinh enzyme  $\beta$ -galactosidase ngoại bào cao (685,95 U/L). Enzyme này có hoạt độ cao và bền ở pH 2 và pH 3, sau 4 giờ ủ ở pH 2 và pH 3 hoạt độ tương đối của enzyme còn lại tương ứng là 50,01% và 65,14%. Kết quả này chỉ ra rằng enzyme beta-galactosidase từ chủng vi khuẩn Lactic RGH7.1 có tiềm năng ứng dụng trong chế biến sữa và các sản phẩm từ sữa, các viên nang enzyme uống cho người không dung nạp được lactose.

**LỜI CẢM ƠN**

Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn Dự án Việt Bỉ, Học viện Nông nghiệp Việt Nam đã tài trợ kinh phí để thực hiện nghiên cứu này.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

Nguyễn Lâm Dũng, Đoàn Xuân Mượng, Nguyễn Phùng Tiến, Đặng Đức Trạch, Phạm Văn Ty, 1978. *Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học*, Tập 3. NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.

Ngô Xuân Mạnh, Võ Nhân Hậu, Nguyễn Thị Tú, 2005. Nghiên cứu các điều kiện tối ưu cho việc thu nhận  $\alpha$ -amylase chịu nhiệt từ vi khuẩn *Bacillus licheniformis*. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật nông nghiệp*, 5(1): 412-416.

Lê Xuân Phương, 2001. *Vi sinh công nghiệp*. Nhà xuất bản Xây dựng.

Nakayama, T. and T. Amachi, 1999. Beta-galactosidase, Enzymology. In *Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis, and Bioseparation*; Flickinger, M. C., Drew, S. W., Eds.; John Willey: New York: 1291-1305.

Davail, S., Feller, G., Narinx, E., Gerday, C., 1994, Cold adaptation of proteins. Purification, characterization, and sequence of the heat-labile subtilisin from the antarctic psychrophile *Bacillus TA41*. *Biol Chem*, 269 (26): 17448-17453.

- Hsu C., Davoodi-Semiromi Y., Colee J.C., Culpepper T., Dahl W.J., Mai V., Christman M.C., Langkamp-Henken B., 2005. Galactooligosaccharide supplementation reduces stress-induced gastrointestinal dysfunction and days of cold or flu: a randomized, double-blind, controlled trial in healthy university students. *Am J Clin Nutr*, 93 (6): 1305-1311.
- Järvelä, I., Torniaainen, S., Kolho, K.L., 2009. Molecular genetics of human lactase deficiencies. *Annals of Medicine*, 41 (8): 568-575.
- Maurya, K and Padalia, U., 2016, Production of Beta-Galactosidase from Lactic Acid Bacteria. *International Journal of Engineering Science and Computing*, 6 (10): 2674-2676.
- Nguyen, H A., Nguyen, T H., Kren, V., Eijsink, V G H., Haltrich, D., Peterbauer, C K., 2012. Heterologous Expression and Characterization of an N-Acetyl- $\beta$ -D-hexosaminidase from *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* IL1403. *J. Agricultural and food chemistry*, 60 (12): 3275-3281.
- Nguyen, TH., Splechtna, B., Steinböck, M., Kneifel, W., Lettner, H.P., Kulbe, K.D., Haltrich, D., 2006. Purification and Characterization of Two Novel  $\beta$ -Galactosidases from *Lactobacillus reuteri*. *J. Agricultural and food chemistry*, 54: 4989-4998.
- Parmjit S, P., Shweta, K., Reeba, P., 2010. Potential Applications of Immobilized  $\beta$ -galactosidase in Food Processing Industries. *Enzyme Research*: 1-16.
- Splechtna B, Nguyen T, Zehetner R, Lettner HP, Lorenz W, Haltrich D., 2007. Process development for the production of prebiotic galactooligosaccharides from lactose using  $\beta$ -galactosidase from *Lactobacillus* sp.. *Biotechnol J*, 2: 480-485.
- Toru Nakayama, Teruo Amachi, 1996. Beta-galactosidase enzymology Encyclopaedia of Food science, food technology and nutrition, 3: 1291-1305.

### Selection of lactic acid bacteria producing acidic tolerant enzyme $\beta$ -galactosidase (pH 2 - 3)

Nguyen Hoang Anh, Ho Tuan Anh

#### Abstract

In this study, 82/265 strains of lactic acid bacteria were determined to produce  $\beta$ -galactosidase by using agar plate supplemented with X-gal. Of which, strains RGH7.1, RGH6.1, RGH8.8 produced extracellular  $\beta$ -galactosidase with the highest enzyme activity, 685.95 U/L, 498.92 U/L and 492.23 U/L, respectively.  $\beta$ -galactosidase of these three strains had high activity at pH 2 and 3 with their relative activity was from 74.32 - 83.16%, 86.49 - 93.24%. In addition, residual enzyme activity was still remained over 50% after 4 hours of incubation at pH 2 and 3. Among them,  $\beta$ -galactosidase from strain RGH7.1 was the best in terms of stability at pH 2 and 3 after 4 hours of incubation; residual enzyme activity was remained 50.01% and 65.14%, respectively. Results of this research indicated that extracellular  $\beta$ -galactosidase of strain RGH7.1 was promising one which could be applied in free lactose milk production and capsules containing of  $\beta$ -galactosidase with stability at with pH 2 and 3 for intolerant lactose people.

**Key words:** Lactic acid bacteria,  $\beta$ -galactosidase, pH stability

Ngày nhận bài: 29/6/2017

Ngày phản biện: 5/7/2017

Người phản biện: TS. Nguyễn Xuân Cảnh

Ngày duyệt đăng: 27/7/2017

### CẢI TIẾN CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT CHẾ PHẨM NẤM XANH *Metarhizium anisopliae* ĐỂ PHÒNG TRỪ RẦY NẤU HẠI LÚA

Trần Văn Huy<sup>1</sup>, Phạm Văn Nhạ<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Nga<sup>1</sup>,  
Nguyễn Mạnh Cường<sup>2</sup>, Vũ Xuân Trung<sup>2</sup>, Phạm Việt Hồng<sup>3</sup>,  
Lê Thị Thu Hiền<sup>3</sup>, Nguyễn Trường Phi<sup>3</sup>

#### TÓM TẮT

Chế phẩm sinh học có nguồn gốc từ nấm xanh *Metarhizium anisopliae* có nhiều tiềm năng trong phòng trừ rầy nâu hại lúa. Tuy nhiên, để phát triển thương mại hóa trên thị trường, sản phẩm cần phải cải tiến về tạo dạng sử dụng. Trên cơ sở nghiên cứu kỹ thuật tách bào tử tinh bằng hộp rây với mắt rây 200  $\mu$ m, bổ sung bi sắt kích thước 10 mm, đã thu được lượng bào tử tinh lớn và ít tạp chất và đã phối trộn bào tử tinh với chất phụ gia PG1 tạo dạng bột thấm nước. Chế phẩm dạng mới bao gồm bào tử tinh khiết cộng chất phụ gia PG1, có hàm lượng bào tử cao trên 10<sup>10</sup>bt/g,

<sup>1</sup> Viện Bảo vệ thực vật; <sup>2</sup> Trung tâm Ứng dụng Khoa học và Công nghệ Nam Định

<sup>3</sup> Cục Ứng dụng và Phát triển Công nghệ