

TUYỂN CHỌN CHỦNG NẤM MỐC CÓ KHẢ NĂNG SINH TỔNG HỢP AMYLASE CAO TRÊN MÔI TRƯỜNG HẠT SEN TỪ CÁC CHẾ PHẨM MỐC TƯƠNG TRÊN THỊ TRƯỜNG

Phan Thị Hồng Liên *, Nguyễn Hoàng Lan, Lê Thị Hồng Ánh

Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

*Email: lienpth@huit.edu.vn

Ngày nhận bài: 16/7/2025; Ngày nhận bài sửa: 11/9/2025; Ngày chấp nhận đăng: 24/9/2025

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm tuyển chọn chủng nấm mốc có khả năng sinh amylase cao trên môi trường cơ chất hạt sen từ các loại chế phẩm mốc tương trên thị trường. Từ các loại chế phẩm mốc tương thu thập được, tiến hành phân lập được 6 chủng nấm mốc và tuyển chọn được 3 chủng có khả năng sinh enzyme amylase cao qua phương pháp đục lỗ thạch. Bằng phương pháp xác định hoạt độ enzyme α -amylase và hoạt độ enzyme glucoamylase xác định được chủng MM6 có khả năng sinh α -amylase và glucoamylase cao nhất (81,49 UI/g và 58,08 UI/g). Qua định danh bằng hình thái học và sinh học phân tử, chủng MM6 được xác định là loài *Aspergillus oryzae*. Đây là bước đầu trong quá trình nghiên cứu sử dụng cơ chất hạt sen và chủng nấm mốc MM6 để sản xuất nước chấm lên men.

Từ khóa: Tuyển chọn, hoạt độ amylase, *Aspergillus oryzae*, hạt sen.

1. MỞ ĐẦU

Amylase thuộc loại enzyme thủy phân, xúc tác sự phân giải các liên kết glucoside nội phân tử trong các polysaccharide với sự có mặt của nước. Amylase có thể thủy phân tinh bột, glycogen và dextrin thành glucose, maltose và dextrin. Trong đó, α -amylase (1,4 α -glucan-glucanohydrolase) thuộc nhóm endoamylase thủy phân liên kết α - 1,4 glucosid, sản phẩm cuối cùng của quá trình thủy phân là oligosaccharit với độ dài khác nhau tạo thành một hỗn hợp bao gồm maltotriose, maltose và các nhánh oligosaccharide. Glucoamylase hay γ -amylase (α -1,4 glucan-glucohydrolase) thuộc nhóm exoamylase thủy phân tinh bột bằng cách cắt các đơn vị glucose từ các đầu không bị khử của các phân tử tinh bột. Sản phẩm cuối cùng của glucoamylase là D-glucose [1]. Hai loại enzyme amylase này được ứng dụng rộng và phổ biến ở khá nhiều lĩnh vực trong đời sống, đặc biệt trong ngành thực phẩm để sản xuất một số sản phẩm như bánh mì, bia rượu, bánh kẹo, làm tương, nước tương...

Amylase có thể được thu nhận từ các nguồn động vật, thực vật và vi sinh vật. Trong đó, việc sử dụng amylase được sinh tổng hợp từ vi sinh vật đem lại hiệu quả cao, đây là nguồn enzyme duy nhất có thể đưa vào sản xuất theo quy mô công nghiệp do khả năng tổng hợp và hoạt tính của enzyme từ nguồn này cao hơn hẳn enzyme thu được các nguồn động vật và thực vật khác [1], [2]. Đối với nấm mốc, người ta thường thu nhận enzyme amylase từ các giống nấm sợi *Aspergillus*, *Rhizopus*. Nhiều loại thuộc các giống này (*A. oryzae*, *A. niger*, *A. usamii*, *A. Awamori*, *A. Batatae*, *Rhizopus* . . .) có khả năng sinh tổng hợp rất mạnh, không chỉ với enzyme α -amylase mà còn có glucoamylase [1].

Hiện nay, nguồn nấm mốc này đa số đến từ các loại chế phẩm mốc thương mại trên thị trường, chủ yếu là chế phẩm mốc *A. oryzae*. Mốc này có màu vàng hoa cau, khi già bào tử mang màu vàng nâu. Trong chế phẩm mốc tương thu được có chứa enzyme protease và amylase, vì vậy chế phẩm nấm mốc *A. oryzae* được sử dụng nhiều trong các quy trình sản xuất tương, nước tương [3].

Cây sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) thuộc chi *Nelumbo*, họ sen - Nelumbonaceae, bộ sen - Nelumbonales, là một loại thực vật có tiềm năng kinh tế, có thể được sử dụng với nhiều mục đích đa dạng và linh hoạt trong trang trí, chế biến thực phẩm và dược phẩm. Cụ thể, hoa sen dùng để trang trí, làm trà sen; lá sen tạo vật liệu thay thế túi nilon hay làm dược liệu cho y học; các bộ phận của cây sen

được tận dụng tối đa để sản xuất thực phẩm thông dụng, thực phẩm chức năng và dược liệu bao gồm củ sen, ngó sen, tâm sen và hạt sen. Mặc dù các sản phẩm từ các bộ phận của sen được đánh giá cao về chất lượng, được tiêu thụ cả trong và ngoài nước nhưng hoạt động trồng và thu hoạch các bộ phận từ cây sen vẫn chưa phát triển mạnh mẽ, chưa tương thích với khả năng mà nó đem lại. Hạt sen lưa (sen đã bóc vỏ lưa và tim sen) là sản phẩm chủ đạo được phân phối đến người tiêu dùng và các doanh nghiệp để sản xuất các sản phẩm đặc thù như sữa sen, hạt sen sấy, rượu sen [4]. Ngoài ra, hạt sen còn chứa nhiều chất dinh dưỡng quý giá và mang hương vị đặc biệt cũng được xem là một nguyên liệu tiềm năng để sản xuất thực phẩm lên men như tempeh sen và natto sen [5]. Việc phát triển nguyên liệu hạt sen tạo thành các sản phẩm lên men vẫn còn rất mới mẻ và cần nhiều khai phá.

Trong nghiên cứu ở đây các chế phẩm mốc tương thương mại được sưu tầm trên thị trường trong và ngoài nước, chúng được tiến hành phân lập lại sau đó sẽ tuyển chọn và định danh tên chủng nấm mốc có khả năng sinh tổng hợp α -amylase và glucoamylase cao trên môi trường hạt sen từ đó nhằm ứng dụng kết quả nghiên cứu này trong quá trình lên men sản xuất nước chấm.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Hạt sen khô có nguồn gốc từ Đồng Tháp, mua từ cơ sở Dũng Diệp, Ấp 1, xã Mỹ Hòa, Tháp Mười, Đồng Tháp, được gửi mẫu đi phân tích, từ đó thu được thành phần dinh dưỡng cơ bản có trong hạt sen gồm carbohydrate 63,4%; protein 20,9%; lipid 1,16%.

Các loại chế phẩm mốc tương thương mại khác nhau thu thập trên thị trường, được ký hiệu từ MM1 đến MM6 từ cơ sở thực dưỡng Ngọc Trâm, địa chỉ: số 103, Ngách 2, Ngõ Thái Thịnh 1, Đống Đa, Hà Nội, Công ty TNHH CNSH Đức Bình, địa chỉ: 57, ngõ 64 Kim Giang, Thanh Xuân, Hà Nội, công ty cổ phần vi sinh ứng dụng, địa chỉ: P111, D6 Trung Tự, Đống Đa, Hà Nội, bột Hwanggukgyun, Hàn Quốc và chế phẩm mốc sản xuất nước tương, Trung Quốc.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phân lập nấm mốc từ các chế phẩm mốc thương mại

Mẫu phân lập được lấy từ 6 loại chế phẩm mốc tương trên thị trường đã nêu, ký hiệu lần lượt là MM1 đến MM6.

Phân lập nấm mốc: Cân 1 g mẫu chế phẩm cho vào ống nghiệm chứa 9 mL nước cất vô trùng, dùng vortex để trộn đều hỗn hợp và pha loãng đến nồng độ 10^{-4} để tách rời các khuẩn lạc. Hút 0,1 mL dung dịch đã pha loãng vào đĩa Petri chứa môi trường PDA (Potato Dextrose Agar), trang thật đều và đem ủ trong tủ ẩm ở 30 °C trong 3 ngày sau đó lấy ra quan sát. Cây truyền các khuẩn lạc riêng lẻ khác nhau về hình thái ra các đĩa môi trường mới để quan sát hình thái của khuẩn lạc [6].

2.2.2. Tuyển chọn chủng nấm mốc sinh amylase cao

Trích ly enzyme

Chuẩn bị 20 g hạt sen đã xay nhỏ vào bình tam giác 250 mL, hấp tiệt trùng môi trường và điều chỉnh độ ẩm môi trường về 50%. Mốc được cấy vào môi trường với mật độ 10^6 CFU/g. Sau 72 giờ nuôi cấy, tiến hành cân 5 g mẫu môi trường đã lên mốc, nghiền nhỏ và chuyển toàn bộ vào bình tam giác 250 mL, bổ sung 90 mL nước cất và 10 mL dung dịch đệm pH = 4,7, giữ hỗn hợp ở 30 °C trong một giờ, lọc và thu dịch chiết enzyme thô.

Phương pháp đục lỗ thạch

Chuẩn bị môi trường thạch - tinh bột gồm KH_2PO_4 0,5 g; K_2HPO_4 0,5 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2 g; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,2 g; tinh bột 10 g; agar 20 g, nước cất 1000 mL. Môi trường đã vô trùng được đổ vào đĩa Petri với độ dày khoảng 7 mm, đục lỗ có đường kính 8 mm, nhỏ 0,5 ml dịch chiết enzyme thô vào lỗ thạch, ủ đĩa trong 30 °C trong 24 giờ để phản ứng xảy ra. Sau 24 giờ, nhỏ Lugol lên trên mặt thạch, quan sát và tiến hành đo đặc đường kính vòng phân giải của enzyme [6], [7].

Xác định hoạt độ α -amylase bằng phương pháp Rulkiadeva

Dựa trên cơ sở enzyme sinh ra trong quá trình nghiên cứu có trong dịch chế phẩm thủy phân tinh bột thành các dextrin có phân tử lượng khác nhau. Màu sắc tạo thành giữa tinh bột và sản phẩm thủy phân với iod được đo cường độ bằng máy đo quang phổ UV-Vis ở bước sóng 656 nm. Đơn vị hoạt độ amylase được tính bằng lượng enzyme chuyển hóa một gam tinh bột tan thành các dextrin có phân tử lượng khác nhau ở 30 °C trong thời gian một giờ [8].

Xác định hoạt độ glucoamylase bằng phương pháp vi lượng V. Y. Rodzevich

Dựa trên cơ sở enzyme glucoamylase sinh ra trong quá trình nghiên cứu có trong dịch chế phẩm thủy phân tinh bột thành sản phẩm cuối cùng là D-glucose. Xác định lượng glucose tạo thành bằng phương pháp hóa học sẽ tính được hoạt độ enzyme. Đơn vị hoạt độ glucoamylase là lượng enzyme tác dụng lên dung dịch tinh bột tan pH = 4,7 ở nhiệt độ 30 °C trong thời gian 1 giờ giải phóng được 1mg glucose [8].

2.2.3. Định danh chủng nấm mốc tuyển chọn

Định danh bằng quan sát hình thái: chủng nấm mốc tuyển chọn được nuôi cấy trên môi trường PDA. Sau 4 - 7 ngày, tiến hành quan sát các đặc điểm đại thể (kích thước, hình dạng bề mặt, dạng mếp khuẩn lạc...) bằng mắt thường và đặc điểm vi thể (hình dạng cuống, bông, bào tử...) bằng kính hiển vi với vật kính 40X và 100X.

Định danh bằng định danh bằng phương pháp sinh học phân tử: Chủng nấm mốc được tuyển chọn và định danh dựa trên đặc điểm hình thái được gửi mẫu định danh tại công ty TNHH Apollo Biotek (Thủ Đức, TP. Hồ Chí Minh). Vùng ITS trong DNA của chủng nấm sẽ được khuếch đại bằng phương pháp PCR (Polymerase chain reaction), sau đó được tinh sạch và giải trình tự tự động. Phân tích kết quả và cuối cùng trình tự này được so sánh với các trình tự tương ứng trên dữ liệu ngân hàng gene NCBI bằng công cụ BLAST. Phương pháp được thực hiện như sau: đầu tiên tách chiết DNA tổng số của nấm mốc, sau đó khuếch đại trình tự vùng ITS bằng kỹ thuật PCR với các cặp mồi được sử dụng là ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3' và ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'. Vùng ITS sau khuếch đại được giải trình tự bằng bộ hóa chất BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit và đọc bằng máy đọc trình tự tự động ABI 3500 (Applied Biosystems, Mỹ). Kết quả sau đó sẽ được tra cứu bằng công cụ BLAST trên ngân hàng gene NCBI [9].

2.3. Phân tích dữ liệu

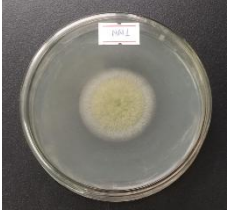
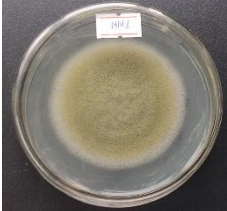
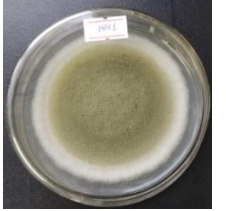
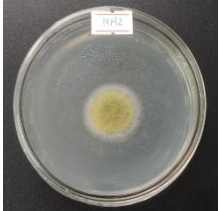
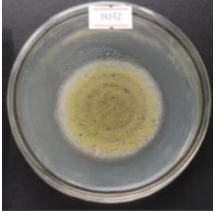
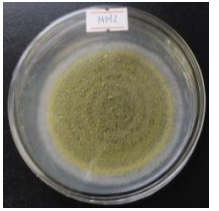
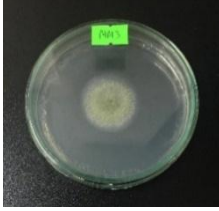
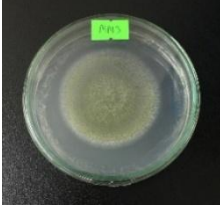
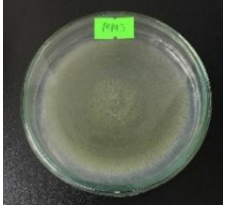
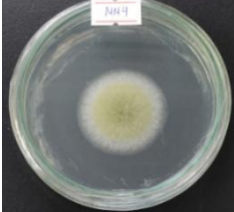
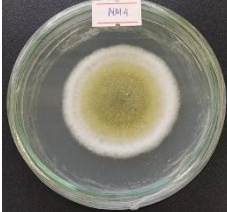
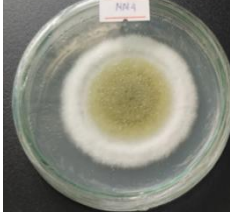
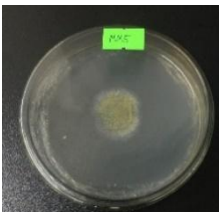
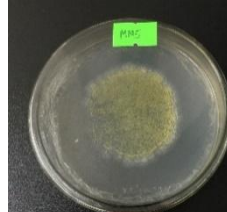
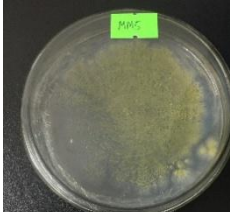
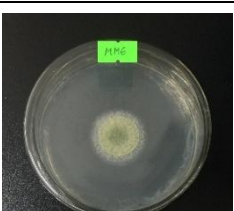
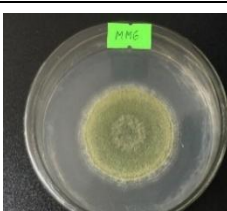
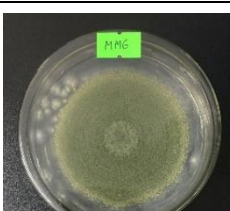
Mỗi thí nghiệm trong nghiên cứu được tiến hành lặp lại ba lần, kết quả được xử lý thống kê bằng phần mềm phân mềm Minitab 21. Kết quả được phân tích bằng ANOVA với độ tin cậy 95% và được trình bày ở dạng giá trị trung bình, so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức qua phép thử LSD. Biểu đồ được vẽ bằng phần mềm Microsoft Excel 2021.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập nấm mốc từ các chế phẩm mốc thương mại

Qua cấy chuyển bằng phương pháp cấy chấm điểm từ các khuẩn lạc rời, phân lập được 6 chủng nấm mốc có hình ảnh như trong Bảng 1.

Bảng 1. Hình ảnh cung cấp sự phát triển khuẩn lạc các chủng nấm mốc từ chế phẩm mốc thương mại

Chủng nấm mốc	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 7
MM1			
MM2			
MM3			
MM4			
MM5			
MM6			

Bảng 2. Bảng mô tả màu sắc và đặc điểm khuẩn lạc của các chủng nấm mốc

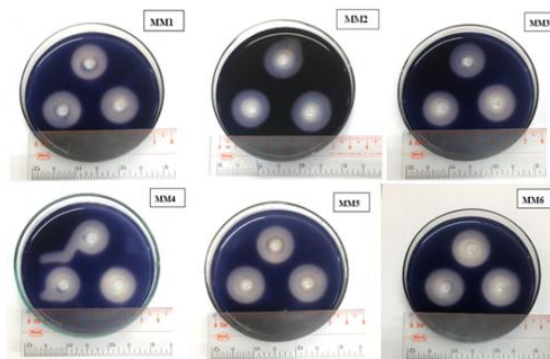
Tên chủng nấm mốc	Màu sắc khuẩn lạc	Đặc điểm khuẩn lạc
MM1	Khi non có màu vàng lục, chuyển dần sang lục nâu khi già.	Tâm lồi, dạng xóp bông, có viền trắng dày. Tốc độ mọc nhanh (1,1 – 7,7 cm/7 ngày ở 30 °C)
MM2	Khi non có màu vàng nhạt, chuyển dần sang lục vàng khi già.	Khuẩn lạc tạo thành các vòng tròn có cùng tâm, len xốp. Có viền trắng rất mỏng. Tốc độ mọc nhanh (1,0 – 7,1 cm/7 ngày ở 30 °C).
MM3	Khi non có màu lục vàng, chuyển dần sang lục xám khi già.	Tâm lồi, dạng bông sợi, không có viền. Tốc độ mọc nhanh (1,0 – 7,5 cm/7 ngày ở 30 °C).
MM4	Khi non có màu lục nhạt, chuyển dần sang vàng lục khi già.	Dạng bông mịn, có viền trắng xốp dày. Tốc độ mọc nhanh (1,1 – 6,3 cm /7 ngày ở 30 °C).
MM5	Khi non có màu lục vàng, chuyển dần sang lục nâu khi già.	Tâm phẳng, dạng bông sợi, không có viền. Tốc độ mọc nhanh (1,1 - 7,1 cm/7 ngày ở 30 °C).
MM6	Khi non có màu vàng sáng, chuyển dần sang màu lục vàng khi già.	Tâm lồi, dạng len sợi, có viền mỏng màu vàng nhạt. Tốc độ mọc nhanh (1,1 - 6,9 cm/7 ngày ở 30 °C).

Từ các chế phẩm mốc tương thu thập được trên thị trường, kết quả pha loãng và cấy trang cho thấy mỗi chế phẩm được làm từ một loại mốc duy nhất. Qua cấy chuyên bằng phương pháp cấy chấm điếm từ các khuẩn lạc rời, đã phân lập được 6 chủng nấm mốc. Các chủng nấm mốc này có khuẩn lạc màu vàng lục nhạt khi mới mọc, dần chuyển sang vàng lục nâu khi bào tử hình thành. Tốc độ mọc của khuẩn lạc nhanh khi ngày thứ nhất có đường kính đo được từ 1,0 đến 1,1 cm, đến ngày thứ bảy đường kính đo được từ 6,3 đến 7,7 cm. Dựa vào các mô tả ở Bảng 2, nghi ngờ các chủng nấm mốc trên thuộc loài *Aspergillus* có các đặc điểm tương tự theo các mô tả về chủng *A. oryzae* (Ahlb.) Cohn của tác giả Đặng Vũ Hồng Miên (Hình 1.16) [10] nên có thể dự đoán rằng các chủng từ MM1 đến MM6 thuộc chi *Aspergillus*, loài *A. oryzae* (Ahlb.) Cohn.

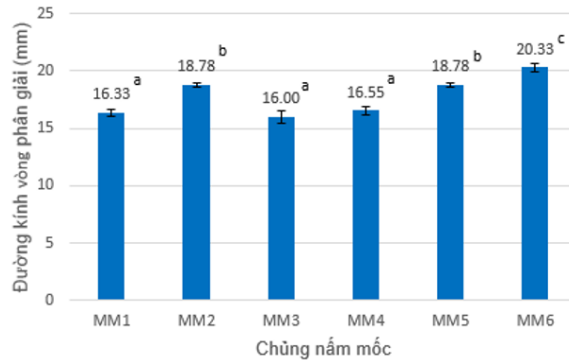
3.2. Tuyển chọn chủng nấm mốc sinh amylase cao

Tuyển chọn sơ bộ

Nhỏ thuốc thử Lugol lên các đĩa petri sau 24 giờ bổ sung dịch chiết enzyme cho kết quả như sau (Hình 1).



Hình 1. Hình ảnh vòng thủy phân khi phản ứng với thuốc thử Lugol

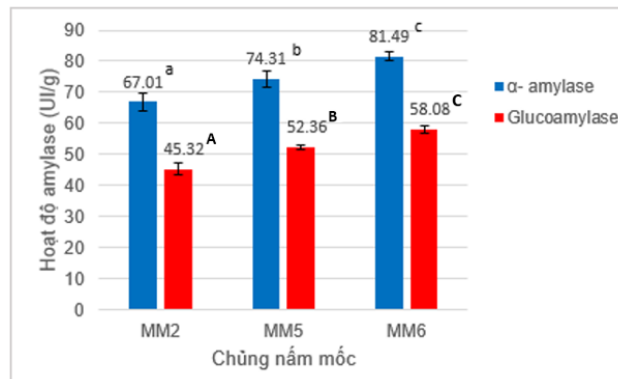


Hình 2. Biểu đồ mô tả kích thước vòng phân giải của các chủng nấm mốc (Các chữ cái a, b, c...trên mỗi cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa các mẫu ($p < 0,05$))

Qua quan sát sau khi cho thuốc thử Lugol, cho thấy trong 6 chủng phân lập thì 3 chủng MM2, MM5, MM6 cho đường kính vòng phân giải lớn nhất (Hình 1). Kích thước cụ thể của đường kính vòng phân giải được thể hiện trong biểu đồ Hình 2. Vòng phân giải của các chủng nấm mốc có đường kính biến thiên dao động với khoảng 16,33 mm đến 20,33 mm. Đường kính lớn nhất đo được đến từ 3 chủng MM2, MM5, MM6 với kích thước lần lượt là 18,78 mm; 18,78 mm và 20,33 mm. Trong khi đó, các chủng MM1, MM3 và MM4 cho kích thước vòng phân giải nhỏ nhất và không có sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$. Amylase của nấm mốc sẽ phân giải tinh bột có trong môi trường thạch tạo vùng không phản ứng màu với thuốc thử Lugol. Vùng phân giải cơ chất phản ánh hoạt lực của enzyme nếu càng lớn có nghĩa là hoạt lực của amylase càng cao. Trong nghiên cứu của Phạm Thị Ngọc Lan và cộng sự, đường kính vòng phân giải tinh bột của các dịch chiết enzyme từ nấm mốc dao động trong khoảng 6,00 – 14,50 mm [11]. Một nghiên cứu khác sản xuất chế phẩm vi sinh vật của Nguyễn Thị Việt Anh cũng cho khoảng biến thiên đường kính thủy phân tinh bột của các chủng nấm mốc *Aspergillus* dao động từ 18 mm đến 21 mm [12]. Còn nhóm nấm mốc *Aspergillus* spp. do Võ Phương Mai và cộng sự phân lập từ cơm rượu thu thập tại Long Xuyên, An Giang cho kết quả đường kính vùng phân giải tinh bột từ 1,33 mm đến 39,00 mm. Chỉ số phân giải tinh bột thể hiện hiệu suất sản xuất enzyme amylase ngoại bào của nấm mốc khi nuôi trên môi trường rắn có cơ chất là tinh bột. Chỉ số phân giải tinh bột càng cao cho thấy vùng phân giải lớn hơn so với kích thước khuẩn lạc đo được, có nghĩa là chủng nấm mốc này sinh ra nhiều enzyme amylase khi nuôi trên môi trường tinh bột và có khả năng thủy phân tinh bột rất hiệu quả [13].

Định lượng hoạt độ amylase

Sau quá trình tuyển chọn sơ bộ, các chủng nấm mốc MM2, MM5, MM6 cho đường kính vòng thủy phân tinh bột lớn được lựa chọn để nuôi cấy trên môi trường hạt sen nhằm xác định hoạt độ α -amylase và glucoamylase, kết quả được thể hiện ở biểu đồ Hình 3.



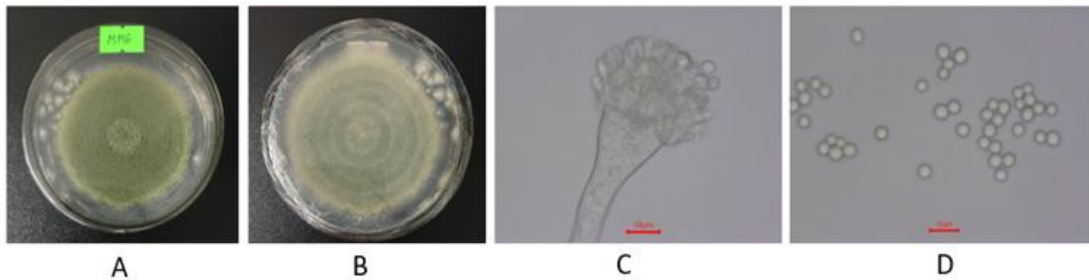
Hình 3. Biểu đồ thể hiện hoạt độ enzyme amylase của 3 chủng nấm mốc (Các chữ cái a, b, c và A, B, C trên mỗi đầu cột biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa các mẫu ($p < 0,05$))

Hoạt độ amylase thu được của ba chủng nấm mốc MM2, MM5, MM6 có sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$. Hoạt độ α - amylase và glucoamylase cao nhất đến từ chủng MM6, lần lượt là 81,49 UI/g và 58,08 UI/g, thấp nhất là chủng MM2 (67,01 UI/g và 45,32 UI/g). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Fadel và cộng sự, với hoạt độ α - amylase của một số chủng *Aspergillus* trên môi trường cám lúa mì sau 96 giờ nuôi cấy như *A. oryzae* F-936 (107,86 UI/g), *A. oryzae* 425 (62,00 UI/g) và *A. niger* F-21 (86,46 UI/g). Hoạt độ glucoamylase của một số chủng *Aspergillus* cũng được thể hiện trong cùng nghiên cứu như *A. oryzae* F-923 (56,62 UI/g), *A. niger* F-958 (55,90 UI/g) và *A. awamori* F-426 (49,65 UI/g) [14]. Một nghiên cứu khác của Ellaiah và cộng sự cũng cho hoạt độ glucoamylase của chủng *Aspergillus* sp. A3 khi nuôi cấy ở độ ẩm 60% ở 30 °C trên môi trường cám đậu xanh đạt 64,0 (UI/g) và môi trường bột ngô đạt 52,0 (UI/g) [15]. Từ các kết quả khảo sát, chủng MM6 được chọn để tiến hành kháng định tên loài và tiếp tục ứng dụng chủng MM6 vào các nghiên cứu sau này.

3.3. Định danh tên loài nấm mốc tuyển chọn

Định danh bằng quan sát hình thái

Nuôi cấy trên môi trường PDA đối với chủng nấm mốc MM6 đã tuyển chọn được. Sau 4 - 7 ngày quan sát các đặc điểm đại thể bằng mắt thường nhận thấy khuẩn lạc phát triển nhanh ở 30 °C tâm lồi, dạng len sợi, có viền mỏng màu vàng nhạt. Lúc đầu khuẩn lạc có màu vàng sáng chuyển dần qua màu lục nhạt khi trưởng thành, mặt sau hình thành các vòng tròn có cùng tâm. Dùng kính hiển vi quan sát nhận thấy bào tử hình thành có hình cầu, gân hình cầu hoặc hình trứng, bề mặt nhẵn hoặc ráp nhẹ, thể bình thường là một tầng, hình chài. Qua định danh bằng quan sát hình thái thấy rằng các đặc điểm mô tả của chủng MM6 ở Bảng 3 phù hợp với nội dung khóa phân loại của Đặng Vũ Hồng Miên về chi *Aspergillus*, loài *A. oryzae*, nên có cơ sở để xác định chủng MM6 thuộc loài này [10].



Hình 4. Hình ảnh đại thể, vi thể của chủng nấm mốc MM6

A. Mặt trước khuẩn lạc B. Mặt sau khuẩn lạc C. Cuống và bông D. Bào tử

Bảng 3. Bảng mô tả đặc điểm đại thể và vi thể của chủng nấm mốc MM6

Điều kiện nuôi cấy	
Nhiệt độ	30 °C
Ánh sáng	Bình thường
Môi trường	PDA
Tuổi nấm khi phân loại	7 ngày
Hình thái đại thể	
Tốc độ mọc	Khuẩn lạc trên môi trường PDA phát triển nhanh
Kích thước	1,1 - 6,9 cm/7 ngày ở 30 °C
Dạng khuẩn lạc	Mặt trước: tâm lồi, dạng len sợi, có viền mỏng màu vàng nhạt. Mặt sau: vòng tròn đồng tâm.
Màu sắc	Khi non có màu vàng sáng, chuyển dần sang màu lục vàng khi già.

Hình thái vi thể		
Đầu	Cách sắp xếp	Mọc từ môi trường
	Hình dạng	Đầu sinh bào tử trần hình tia hoặc hình cột lỏng
	Kích thước	150 – 170 mm
Cuống	Hình dạng	Cuống bào tử trần sinh ra từ sợi nền, không màu, dạng nhẵn đến gai ráp
	Kích thước	8,3 – 15 µm
Bọng	Hình dạng	Hình gần cầu đến cầu, có gai mịn trên bề mặt
	Vùng sinh sản	¼ đến hầu hết bề mặt bọng
	Kích thước	15 – 40 µm
Thẻ bình	Cách sắp xếp	Thẻ bình thường là một tầng, hình chai, hiếm khi có 2 tầng.
	Kích thước	(6 – 9 µm) x (3,5 – 7 µm)
Bào tử	Hình dạng	Bào tử hình cầu, gần cầu hoặc hình trứng. Bề mặt nhẵn hoặc ráp nhẹ.
	Kích thước	2 - 4 µm

Sử dụng phương pháp sinh học phân tử để định danh

Kết quả gửi mẫu đi định danh tại công ty TNHH Apollo Biotek để giải trình tự 18S rRNA và định danh thể hiện ở Hình 5. Trình tự nucleotide của gen 18S rRNA của chủng MM6 được so sánh với trình tự nucleotide 18S rRNA của các chủng nấm mốc đã được công bố trên ngân hàng gene NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>). Kết quả ở Hình 5 cho thấy chủng nấm mốc MM6 có mức độ tương đồng 100% với chủng *Aspergillus oryzae* với mã truy cập MK163533.1. Kết luận chủng MM6 thuộc chi *Aspergillus*, loài *A. oryzae*.



Hình 5. Kết quả giải trình tự gen vùng ITS và phân tích BLAST trên NCBI của chủng MM6

4. KẾT LUẬN

Từ các loại chế phẩm mốc thương mại trên thị trường được sử dụng để sản xuất tương, nước tương, đã phân lập được 6 chủng nấm mốc có khả năng sinh ra amylase. Qua phương pháp đục lỗ thạch, xác định được 3 chủng cho hoạt độ amylase cao, trong đó chủng MM6 cho kết quả hoạt độ amylase cao nhất, lần lượt là α -amylase (81,49 UI/g) và glucoamylase (58,08 UI/g) trên môi trường hạt sen. Kết quả định danh qua phương pháp quan sát hình thái bên ngoài và phân tích sâu bằng sinh học phân tử khẳng định chủng MM6 thuộc chi *Aspergillus*, loài *A. oryzae*. Kết quả nghiên cứu là bước đi đầu tiên cung cấp một số thông tin cơ bản về các chế phẩm mốc tương thương mại hiện có trên thị trường và khả năng tạo

ra amylase của các chủng mốc từ đó là cơ sở, tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo sử dụng các chế phẩm này trong sản xuất nước chấm lên men từ hạt sen.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được thực hiện và hoàn thành với sự tài trợ kinh phí của Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh, đề tài mã số 17/HĐ-DCT ngày 09 tháng 01 năm 2024.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] N.Đ. Lương, C. Cường, N.Á. Tuyết, L.T.T. Tiên, T.T. Hằng, và H.N. Oanh, *Công nghệ enzyme*. NXB Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh, 2012.
- [2] T.L. Hà, N.V. Cách, V.T. Đoàn, and Đ.Đ. Luân, “Phân lập và tuyển chọn chủng nấm mốc có khả năng sinh α -amylaza cao”, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 2013.
- [3] L.Đ. Phạm, *Công nghệ vi sinh*. NXB Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, 2015.
- [4] N.V. Chung, N.V. Huế, H.D. Hà, L.C.H. Cường, T.C. Úy, N.T. Dũng, N.T. Phong, “Tổng quan hoạt động trồng sen và tiềm năng đa dạng hóa sản phẩm sen của nông hộ”, *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*, vol. 20, no. 9, pp. 1272–1280, 2022.
- [5] S. Ridhowati, S. Lestari, M. Rendi, and S.H. Rachmawati, “Characterization of physicochemical properties and enzymatic digestibility of lotus (*Nelumbo nucifera*) tempeh through different methods”, *Food Research*, vol. 7, no. 5, pp. 42-52, 2023, doi: [http://dx.doi.org/10.26656/fr.2017.7\(5\).903](http://dx.doi.org/10.26656/fr.2017.7(5).903)
- [6] M.C. Ominyi, J.C. Ogbonna, E.G. Nwoba, K.E. Nwagu and R. Ukachi, “Isolation and screening of α -amylase and glucoamylase producing fungi and their application in bioethanol production”, *International Journal of Science and Nature*, vol. 4, no. 1, pp. 44-50, 2013.
- [7] N. L. Dũng, P.V. Ty, P.T.T. Châu, N.T. Hiền, L.Đ. Lương, Đ.X. Mượn, *Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học - Tập 2*. NXB Khoa học và Kỹ thuật, 1978.
- [8] L. T. Mai, N. T. Hiền, P. T. Thúy, N. T. Hằng, và L.T.L Chi, *Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men*. NXB Khoa học và Kỹ thuật, 2009.
- [9] Đ. T. M. Linh, N. T. Q. Mai, P. T. P. Thùy, H. T. Mai, và P. T. K. Ngân, “Tuyển chọn nấm mốc sinh enzyme chitosanase phân lập từ đất một số vùng thuộc Nam Bộ”, *Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm*, tập 19, số 1, 2019, trang 38-49.
- [10] Đ. V. H. Miên, *Hệ nấm mốc ở Việt Nam (phân loại, tác hại, độc tố, cách phòng chống)*. NXB Khoa học và Kỹ thuật, 2015.
- [11] P. T. N. Lan và H. N. Thành, “Nghiên cứu nấm mốc có khả năng phân giải tinh bột phân lập từ ao nuôi tôm ở Đầm Sam- Chuồn, Thừa Thiên Huế”, *Tạp chí Khoa học Đại Học Huế* tập 73, số 4, tr.147-156, 2012.
- [12] N. T. V. Anh, *Nghiên cứu công nghệ và thiết bị sản xuất chế phẩm vi sinh vật ứng dụng trong sản xuất thực phẩm lên men truyền thống kiểu công nghiệp*. Viện Công nghệ Thực phẩm Hà Nội, 2010.
- [13] V. P. Mai, N. D. Tân, N. H. Thanh và N. P. Thọ, “Tuyển chọn chủng nấm mốc có khả năng sinh tổng hợp enzyme amylase cao nhất từ cơm rượu và là một tiềm năng cho công nghiệp enzyme”, *Tạp chí Dinh dưỡng và Thực phẩm*, tập 21, số 3, tr.45-55, 2025. <https://doi.org/10.56283/1859-0381/885>
- [14] Fadel M., AbdEl-Halim S., Sharada H., Yehia A., and Ammar M., “Production of glucoamylase, α -amylase and cellulase by *Aspergillus oryzae* F-923 cultivated on wheat bran under solid state fermentation”, *J. Adv. Biol. Biotechnol.*, vol. 23, no. 4, pp.8-22, 2020. <http://dx.doi.org/10.9734/jabb/2020/v23i430149>
- [15] Ellaiah P., Adinarayana K., Bhavani Y., Padmaja P., and Srinivasulu B., “Optimization of process parameters for glucoamylase production under solid state fermentation by a newly isolated *Aspergillus* species”, *Process Biochem.* vol. 38, no. 4, pp. 615-620, Dec 2002. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(02\)00188-7](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(02)00188-7)

ABSTRACT

SELECTION OF MOLD STRAINS CAPABLE OF SYNTHESIZING HIGH AMYLASE PRODUCTION ON LOTUS SEED MEDIUM FROM COMMONLY AVAILABLE MOLD PRODUCTS

Phan Thi Hong Lien*, Nguyen Hoang Lan, Le Thi Hong Anh

Ho Chi Minh City University of Industry and Trade

*Email: lienpth@huit.edu.vn

This study aimed to select mold strains with high amylase production capacity on lotus seed substrate from commercially available mold preparations. From the collected mold preparations, six mold strains were isolated, and three strains with high amylase production capacity were selected by the agar hole punching method. By determining α -amylase and glucoamylase activity, strain MM6 was identified as having the highest α -amylase and glucoamylase production capacity (81.49 UI/g and 58.08 UI/g, respectively). Morphological and molecular biological identification confirmed that strain MM6 is *Aspergillus oryzae*. This is the first step in the research process of using lotus seed substrate and mold strain MM6 to produce fermented dipping sauce.

Keywords: Selection, amylase activity, *Aspergillus oryzae*, lotus seed.