

TUYỂN CHỌN VÀ NGHIÊN CỨU ĐIỀU KIỆN LÊN MEN SINH TỔNG HỢP β -GALACTOSIDASE TỪ CHỦNG NẤM MỐC *ASPERGILLUS ORYZAE*

ĐẶNG THỊ THU, NGUYỄN VĂN CÁCH, BÙI THỊ HẢI HÒA

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

β -D-galactoside galactohydrolase (E.C. 3.2.1.23) còn gọi là lactase hay β -galactosidase [7]. β -galactosidase là enzym xúc tác cho phản ứng thủy phân lactose thành β -D-galactose và α -D-glucose và phản ứng galactosyl chuyển hóa các gốc β -D-galactosyl của lactose tạo ra galacto-oligosaccharides (GOS). GOS là một trong những loại oligosaccharides có tác dụng tốt cho sức khỏe của con người và hiện nay đang được sử dụng để chế biến các loại thực phẩm chức năng có lợi cho sức khỏe [1].

β -galactosidase được phân bố rất rộng rãi trong tự nhiên, chúng có mặt trong vi khuẩn, nấm mốc, nấm men, các hạt nảy mầm, thực vật và các cơ quan nội tạng động vật. β -galactosidase còn có khả năng chuyển hóa lactose thành GOS và đã được tìm thấy ở nhiều loài vi sinh vật khác nhau như *Bacillus cicurlans*, nấm men *Kluyveromyces fragilis*, *K. lactis* và gần đây là chủng nấm mốc *Aspergillus oryzae*... [2, 3, 6, 8]. Những nghiên cứu của các nhà khoa học Nhật Bản [5] cho thấy β -galactosidase từ *Aspergillus oryzae* có triển vọng để ứng dụng vào nhiều lĩnh vực như công nghiệp thực phẩm, công nghệ di truyền, y học... β -galactosidase đã và đang là một trong những mối quan tâm lớn của các nhà khoa học trên thế giới.

Bài báo này trình bày kết quả tuyển chọn và nghiên cứu thu nhận β -galactosidase từ chủng nấm mốc *Aspergillus oryzae*.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên vật liệu

Chủng vi sinh vật: 29 chủng nấm mốc thuộc loài *Aspergillus* của phòng thí nghiệm Hóa sinh - Viện CNSH - CNTP - ĐH Bách Khoa HN.

Hóa chất: Hóa chất xác định hoạt độ, sử dụng hóa chất tinh khiết: Cơ chất *o*-nitrophenol- β -D-galactosid (*o*NPG) của Sigma Aldrich - Germany, X-gal của hãng USB - Italy, SDS, Chloroform, dimethylformamide, dung dịch đệm Z, đệm phosphat... là các hóa chất tinh khiết của Trung Quốc.

Môi trường dinh dưỡng: Môi trường giữ giống PDA (g/l): glucose 20g, agar 20g, dịch chiết khoai tây 1000 ml, pH 7.

Môi trường hoạt hóa MT4 (g/l): lactose 20 g, pepton 3 g, KH_2PO_4 1 g, NaNO_3 3 g, MgSO_4 0,5 g, KCl 0,5 g, H_2O 1000 ml, pH.

Môi trường lên men (g/l) [3, 4]:

+ MT1: lactose 10 g, pepton 10 g, cao nấm men 10 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 5 g, KH_2PO_4 3 g, K_2HPO_4 1 g, MgSO_4 0,5 g, H_2O 1000 ml, pH 7.

+ MT2: lactose 40 g, cao nấm men 1 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 5 g, KH_2PO_4 3 g, K_2HPO_4 1 g, MgSO_4 0,5 g, CaCO_3 0,2 g, H_2O 1000 ml, pH 6.

+ MT3: lactose 5 g, cao nấm men 5 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3 g, KH_2PO_4 5 g, MgSO_4 0,4 g, H_2O 1000 ml, pH 7.

+MT4: môi trường lactose cơ bản.

2. Phương pháp nghiên cứu

Tuyển chọn xác định sơ bộ năng lực sinh tổng hợp β -galactosidase của các chủng nấm mốc bằng phương pháp nuôi cấy trên môi trường thạch lactose có bổ sung chỉ thị X - gal, sau thời gian nuôi cấy xác định chủng nấm mốc nào sinh β -galactosidase sẽ cho khuẩn lạc màu xanh, những chủng có khuẩn lạc bắt màu mạnh chứng tỏ có khả năng sinh tổng hợp β -galactosidase có hoạt tính cao.

Nuôi cấy nấm mốc sinh tổng hợp β -galactosidase theo phương pháp lên men chìm, máy lắc tròn với các chế độ lắc 200 v/ph.

Xác định định lượng hoạt độ β -galactosidase dựa trên phản ứng với cơ chất *o*-nitrophenyl- β -D-galactosid (*o*NP), khi cơ chất này bị β -galactosidase thủy phân sẽ tạo ra galactose và nitrophenol (màu vàng). Thành phần *o*NP hấp thụ bước sóng 420 nm. Hoạt độ β -galactosidase được xác định là lượng enzym giải phóng 1 micromol *o*NP trong 1 phút ở 55°C trong một đơn vị thể tích (hoặc 1 đơn vị khối lượng sinh khối).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Kết quả tuyển chọn chủng nấm mốc sinh tổng hợp β - galactosidase

a. Tuyển chọn bằng phương pháp nuôi cấy định tính trên đĩa thạch có bổ sung X - gal

Từ 29 chủng nấm mốc thuộc chủng *Aspergillus* thu thập từ phòng thí nghiệm Hóa sinh, Viện CNSH-CNTTP, ĐH Bách khoa Hà Nội, được khảo sát khả năng bắt màu chỉ thị X-gal, chọn được 03 chủng bắt màu chỉ thị X-gal mạnh nhất. Đó là các chủng có kí hiệu *Aspergillus oryzae* 1, *Aspergillus oryzae* 2, *Aspergillus oryzae* 3.

b. Khảo sát khả năng sinh tổng hợp β - galactosidase của các chủng *Aspergillus oryzae* bằng phương pháp xác định hoạt độ với cơ chất *o*NP

Bảng 1. Hoạt độ β -galactosidase của 3 chủng *A. oryzae* sau 48 giờ nuôi cấy

Chủng VSV	Hoạt độ β -galactosidase	
	Ngoại bào (mU/ml)	Nội bào (mU/g)
<i>A. oryzae</i> 1	8,96	70,3
<i>A. oryzae</i> 2	9,84	81,87
<i>A. oryzae</i> 3	21,24	307,5

Ba chủng *A. oryzae* 1, 2 và 3 được nuôi cấy trên môi trường lactose cơ bản với tốc độ lắc 200 vòng/phút, 30°C, pH 7. Sau 48 giờ nuôi cấy tiến hành xác định hoạt tính β - galactosidase nội bào và ngoại bào. Lấy kết quả trung bình sau ba lần xác định hoạt độ β - galactosidase (bảng 1).

Kết quả thu được cả ba chủng nấm mốc *A. oryzae* đều có hoạt tính β -galactosidase nội bào cao hơn so với ngoại bào rất nhiều và chủng *A. oryzae* 3 có hoạt tính β -galactosidase nội bào cao nhất (307,5 mU/g). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của các nhà khoa học Nhật Bản trên *A. oryzae* [4]. Trên cơ sở đó, chủng *A. oryzae* 3 được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo và tiến hành theo hướng thu nhận enzym nội bào.

2. Nghiên cứu điều kiện tối ưu nuôi cấy *A.oryzae* 3 để sinh tổng hợp β -galactosidase cao

a. Khảo sát khả năng sinh tổng hợp β -galactosidase của *A.oryzae* 3 trên các môi trường dinh dưỡng khác nhau

Chủng *A. oryzae* 3 được nuôi lắc trên các môi trường khác nhau: MT1. MT2. MT3 và MT4 ở nhiệt độ 30°C, tốc độ lắc 200 vòng/phút. Sau 12 giờ một lần, lấy 5 ml dịch nuôi được xác định pH và hoạt tính β -galactosidase nội bào. Kết quả thí nghiệm thu được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả đo pH dịch nuôi cấy và hoạt độ β -galactosidase của chủng *A.oryzae* 3 trên các môi trường dinh dưỡng khác nhau.

Thời gian (giờ) Môi trường	pH dịch nuôi cấy và hoạt độ β -galactosidase (mU/g)									
	24		36		48		60		72	
	pH	mU/g	pH	mU/g	pH	mU/g	pH	mU/g	pH	mU/g
MT1	6,76	0	7,62	111,61	8,22	367,01	8,20	529,47	8,45	128,58
MT2	6,15	0	6,01	120,88	6,17	194,44	5,72	285,34	5,98	169,02
MT3	6,79	0	6,88	45,32	7,05	165,00	6,76	180,01	6,88	277,4
MT4	6,20	43,57	6,53	264,13	6,79	398,61	6,78	507,00	6,78	738,80

Kết quả cho thấy so với pH đầu bằng 7 trên MT1 pH tăng lên tới 8,45; trên MT2 giảm pH tới 5,98; MT3 và MT4 có sự thay đổi pH song không nhiều, tuy giảm so với pH đầu nhưng trong quá trình nuôi cấy pH môi trường có xu hướng trở về 7. Do sau 72 giờ nuôi cấy, hoạt tính β -galactosidase trên MT1, MT2 và MT3 thấp còn trên MT4 cho hoạt tính β -galactosidase cao nhất (738,80 mU/g) nên môi trường MT4 được chọn làm môi trường nuôi cấy cho các thí nghiệm tiếp theo.

2. Khảo sát ảnh hưởng của nguồn cacbon khác nhau

Chủng *A. oryzae* 3 được nuôi lắc trên môi trường MT4 với nguồn cacbon khác nhau: lactose, saccharose, maltose, glucose, galactose với tốc độ lắc 200 v/phút, 30°C, pH 7. Kết quả thí nghiệm thu được trình bày tại bảng 3.

Với các nguồn cacbon trên *A.oryzae* 3 đều có khả năng sinh tổng hợp β -galactosidase nhưng với nguồn cacbon là saccharose, maltose và glucose hoạt tính không đáng kể. Nguồn cacbon là galactose hoạt tính β -galactosidase tương đối cao ở 48 giờ (254,69 mU/g) nhưng giảm mạnh ở các giờ sau. Với nguồn cacbon là lactose hoạt tính β -galactosidase cao hơn hẳn, đạt

406,41 mU/g ở 48 giờ và đến 72 giờ hoạt tính bằng 729,34 mU/g. Do vậy chọn lactose là nguồn cacbon thích hợp cho các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 3. Hoạt độ β -galactosidase khi nuôi cấy *A. oryzae* 3 trên môi trường có nguồn cacbon khác nhau

Thời gian (giờ) Nguồn C (g/l)	Hoạt độ β -galactosidase (mU/g)				
	24	36	48	60	72
Lactose	45,16	257,00	406,51	592,96	729,34
Saccharose	0	0	2,01	35,47	33,48
Maltose	0	34,26	37,45	22,59	23,19
Glucose	0	26,64	31,37	50,55	16,23
Galactose	16,87	136,69	254,69	36,84	10,52

3. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ đường lactose

Tiến hành nuôi cấy *A. oryzae* 3 trên môi trường với nồng độ đường lactose được thay đổi 5-10-15-20-25-30-35 g/l. Các điều kiện nuôi cấy khác duy trì như nêu trong mục 2.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ lactose đến khả năng sinh tổng hợp β -galactosidase của *A. oryzae* 3

Thời gian (giờ) Nồng độ lactose (g/l)	Hoạt độ β -galactosidase (mU/g)				
	24	36	48	60	72
5	27,32	108,64	189,96	223,65	254,41
10	41,76	172,73	232,8	451,19	562,35
15	44,36	248,52	398,35	456,34	612,54
20	56,72	210,57	379,24	558,41	797,07
25	96,14	293,19	411,39	686,04	829,43
30	89,71	354,89	517,13	691,05	976,74
35	77,00	226,31	417,88	518,16	787,75

Kết quả cho thấy với nồng độ đường tăng hoạt tính β -galactosidase của *A. oryzae* 3 cũng tăng. Tại nồng độ là 30 g/l β -galactosidase có hoạt tính cao nhất bằng 976,74 mU/g sau 72 giờ nuôi cấy, tuy nhiên nồng độ đường tăng đến 35 g/l hoạt tính enzym giảm (đạt 787,75 mU/g sau 72 giờ). Do vậy chọn nồng độ đường lactose bằng 30 g/l làm nồng độ thích hợp cho các nghiên cứu tiếp theo.

4. Khảo sát ảnh hưởng của nguồn nitơ

Chủng *A. oryzae* 3 được nuôi cấy trên môi trường MT4 có hàm lượng lactose là 30 g/l và thay đổi nguồn nitơ vô cơ và hữu cơ khác nhau. Kết quả trình bày tại bảng 5.

Bảng 5. Hoạt độ β -galactosidase khi nuôi cấy *A. oryzae* 3 trên môi trường bổ sung các nguồn nitơ khác nhau

Thời gian (giờ) Nguồn nitơ (g/l)	Hoạt độ β -galactosidase (mU/g)				
	24	36	48	60	72
3 g peptone	65,82	177,48	231,87	561,87	815,00
2 g peptone + 1 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	111,81	225,48	311,73	643,00	931,41
2 g peptone + 1 g NH_4NO_3	113,33	346,62	529,63	727,11	1017,60
2 g peptone + 1 g NaNO_3	90,62	314,94	526,39	629,45	975,00
3 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	27,39	137,91	261,08	323,66	446,97
3 g NH_4NO_3	34,02	61,53	82,50	108,75	165,82
3 g NaNO_3	5,03	12,77	51,46	105,01	151,13
3 g cao nấm men	56,28	175,84	220,81	351,33	537,00

Kết quả bảng 5 cho thấy sau 72 giờ nuôi cấy nguồn nitơ là pepton 3 g và các phương án pepton 2 g kết hợp với các muối vô cơ đều cho hoạt tính β -galactosidase cao hơn so với nguồn nitơ là các muối vô cơ hoặc cao nấm men. Trong đó nguồn nitơ là peptone và NH_4NO_3 cho hoạt độ enzym cao nhất là 1017,6 mU/g ở 72 giờ. Điều này hợp lý với kết quả khảo sát pH dịch nuôi cấy của môi trường MT4 (Mục 1, phần II) do trong quá trình sinh trưởng nấm mốc sử dụng nitơ là NO_3 và còn lại gốc Na^+ và NH_4^+ sẽ điều chỉnh duy trì pH gần 7 trong môi trường lên men, có thể đây là điều kiện thuận lợi để *A. oryzae* 3 sinh tổng hợp β -galactosidase. Trên cơ sở này nguồn nitơ là pepton và NH_4NO_3 đã được lựa chọn để tiếp tục nghiên cứu.

5. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ nitơ vô cơ và hữu cơ

Bảng 6. Ảnh hưởng của nồng độ nitơ đến khả năng sinh tổng hợp β -galactosidase của *A. oryzae* 3

Thời gian (giờ) Nồng độ nitơ (g/l)	Hoạt độ β -galactosidase (mU/g)				
	24	36	48	60	72
0,5 g peptone + 0 g NH_4NO_3	67,02	136,73	332,01	451,74	674,61
1 g peptone + 0,5 g NH_4NO_3	182,02	481,26	627,96	994,83	1311,80
2 g peptone + 1 g NH_4NO_3	119,22	328,70	548,10	781,26	1008,71
3 g peptone + 1,5 g NH_4NO_3	103,33	304,66	490,68	692,08	969,25
4 g peptone + 2 g NH_4NO_3	90,62	176,24	390,42	683,93	828,38
5 g peptone + 2,5 g NH_4NO_3	73,90	129,12	262,58	462,74	597,00

Nguồn nitơ lựa chọn trên được khảo sát với các nồng độ lần lượt là: pepton (0,5, 1, 2, 3, 5) g/l và NH_4NO_3 (0, 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5) g/l. Kết quả cho thấy *A. oryzae* 3 khi lên men trên môi trường có nồng độ pepton và NH_4NO_3 khác nhau đều sinh tổng hợp β -galactosidase có hoạt lực cao. Trong đó cao nhất là trên môi trường có nồng độ 1 g pepton và 0,5 g NH_4NO_3 hoạt β -galactosidase là 1311,8 mU/g sau 72 giờ nuôi cấy (bảng 6). Vì vậy, nồng độ nitơ thích hợp *A. oryzae* 3 lên men sinh tổng hợp β -galactosidase được đề xuất áp dụng trong nội dung tiếp theo là pepton 1 g/l, NH_4NO_3 0,5 g/l.

6. Khảo sát ảnh hưởng của pH đầu

Chủng nấm mốc *A. oryzae* 3 được nuôi trên môi trường có nguồn dinh dưỡng đã được chọn với các pH đầu: 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5 và 8,0. Kết quả trình bày tại bảng 7.

Bảng 7. Ảnh hưởng của pH đầu đến khả năng sinh tổng hợp β -galactosidase của *A. oryzae* 3

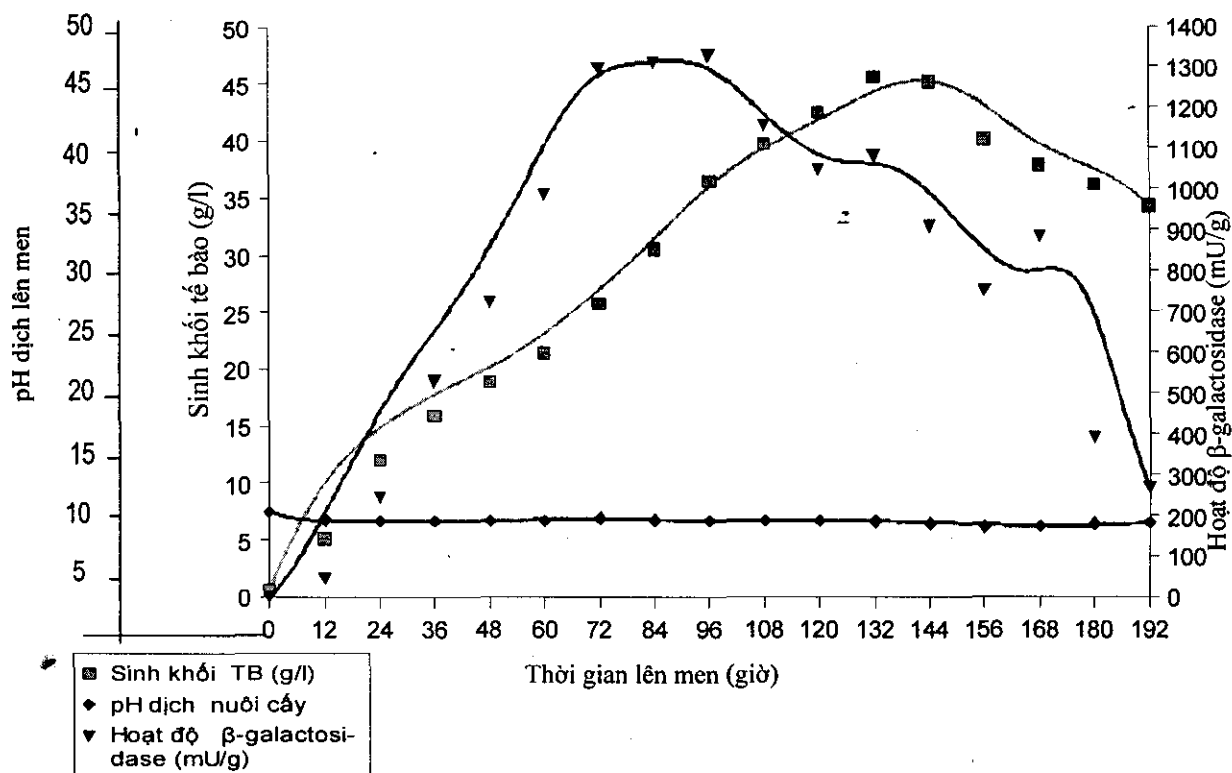
Thời gian (giờ) pH đầu	Hoạt độ β -galactosidase (mU/g)				
	24	36	48	60	72
5,0	42,26	138,75	424,38	381,84	254,48
5,5	68,86	131,49	252,58	450,88	538,53
6,0	89,80	261,57	404,65	589,71	695,52
6,5	79,99	253,72	415,4	643,13	781,41
7,0	206,71	438,36	786,33	958,38	1237,40
7,5	221,69	541,26	814,31	1011,45	1325,16
8,0	140,57	267,58	475,44	653,01	723,73

Kết quả thí nghiệm trên đã cho thấy pH đầu của môi trường có ảnh hưởng đáng kể tới hoạt độ enzym. Ở pH từ 5,0 đến 6,0 hoạt độ enzym đạt được thấp, với pH đầu là 6,5 hoạt tính enzym khá hơn và đạt tối đa ở giờ thứ 72 là 781.41 mU/g. Với pH đầu bằng 7,0 và 7,5 thì hoạt độ enzym cao, đạt tối đa ở giờ thứ 72, cao nhất là 1237.40 mU/g với pH đầu là 7 và 1325,16 mU/g với pH đầu bằng 7,5. pH đầu bằng 8,0 hoạt độ enzym giảm chỉ đạt cao nhất là 723,73 ở giờ 72. Từ kết quả này đã cho phép lựa chọn pH đầu từ 7 đến 7,5 làm pH thích hợp cho quá trình lên men sinh tổng hợp β -galactosidase từ nấm mốc *A. oryzae* 3 trên môi trường MT4. Với mục tiêu định hướng cho nội dung nghiên cứu ứng dụng sau này giá trị pH đầu được chọn là 7.

3. Kết quả khảo sát động thái của quá trình lên men sinh tổng hợp β -galactosidase từ chủng nấm mốc *A. oryzae* 3 trên môi trường nuôi cấy với điều kiện tối ưu

Chủng nấm mốc *A. oryzae* 3 được nuôi cấy trong môi trường MT4 với thành phần dinh dưỡng tối ưu như sau: lactose 30 g, pepton 1 g, NH_4NO_3 0,5 g, KH_2PO_4 1 g, MgSO_4 0,5 g, KCl 0,5 g, H_2O 1000 ml pH 7; chế độ nuôi là 30°C, lắc 200 vòng/phút. Tiến hành nuôi tại các thời điểm khác nhau, mỗi điểm thời gian cách nhau 12 giờ. Cứ sau 12 giờ một lần thu 100 ml dịch và sinh khối nấm mốc đem đo pH, xác định sinh khối và hoạt tính enzym. Kết quả trình bày ở đồ thị 1.

Kết quả cho thấy sinh khối tế bào phát triển mạnh từ 24 - 120 giờ (từ 12 g/l cho đến 42,4 g/l), sau đó tăng nhẹ và khá ổn định 120 - 144 giờ (42,4 g/l – 45,1 g/l) rồi giảm dần từ giờ 156. Như vậy từ 24 - 120 giờ là pha tăng trưởng của *A.oryzae* 3, từ 132 - 144 giờ là pha ổn định và bắt đầu bước vào pha suy vong từ giờ 156.



Đồ thị 1. Động thái của quá trình lên men sinh tổng hợp β -galactosidase từ chủng nấm mốc *A. oryzae* 3 trên môi trường nuôi cấy với điều kiện tối ưu

Hoạt độ β -galactosidase tăng mạnh từ 24 giờ cho đến giờ 72 (pha tăng trưởng), duy trì khá ổn định từ giờ 72 - giờ 96 và bắt đầu giảm dần từ khoảng sau 108 giờ lên men (kết quả thí nghiệm còn xuất hiện một khoảng tăng nhẹ hoạt tính enzym trong khoảng 168 - 180 giờ lên men, Tuy nhiên, vẫn chưa thể khẳng định được nguyên nhân và vấn đề trên cần phải được khảo nghiệm thêm. Như vậy, năng lực tổng hợp và tích tụ enzym tăng cùng với động thái phát triển của chủng *A. oryzae* 3 và thời điểm thu enzym thích hợp nhất là từ 72 - 96 giờ. Xét về góc độ kinh tế, thời gian lên men sinh tổng hợp β -galactosidase từ *A. oryzae* 3 được đề xuất lựa chọn là 72 giờ.

Sự biến thiên của pH cho thấy tại giờ 72 - 96, pH vẫn duy trì ở mức trung tính và tại thời điểm đó khả năng sinh tổng hợp β -galactosidase có hoạt độ cao nhất. Sau đó pH giảm dần và hoạt độ enzym cũng giảm dần, như vậy. Điều này cho phép rút ra việc duy trì ổn định pH dịch nuôi ở dải trung tính sẽ thuận lợi hơn cho quá trình sinh tổng hợp β -galactosidase từ *A. oryzae* 3.

IV. KẾT LUẬN

Với mục tiêu nghiên cứu sản xuất chế phẩm β -galactosidase ở Việt nam, bài báo này giải quyết được vấn đề sau:

*Đã khảo nghiệm năng lực sinh tổng hợp enzym beta-galactosidase của 29 chủng nấm m *Aspergillus*, thu thập từ phòng thí nghiệm Hóa sinh - Viện Công nghệ sinh học, Công nghệ th phẩm - ĐH Bách khoa Hà Nội và đã tuyển chọn được 3 chủng *A. oryzae* có khả năng sinh tổ hợp β -galactosidase cao hơn và cao nhất là chủng *A. oryzae* 3.

*Đã xác định được môi trường phù hợp cho lên men sinh tổng hợp β -galactosidase, dùng chủng *A. oryzae* 3 là MT4, với nguồn C thích hợp là lactose (30 g/l), nguồn nitơ là pept 1 g/l và NH_4NO_3 0,5 g/l, pH đầu 7, thời gian lên men 72 giờ. trong điều kiện trên đã thu đư dịch, sau 72 giờ lên men. Những kết quả ban đầu này sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho các nghi cứu về β -galactosidase tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. N. Albayrak and S. T. Yang - Production of galacto-oligosaccharides from lactose l *Aspergillus oryzae* β -galactosidase immobilized on cotton cloth, Biotechnology an Bioengineering 77 (2001) 8-19.
2. S. Agrawal, S. K. Garg, and S. M. Dutta - Microbial β -galactosidase: productic properties and industrial applications, Indian Journal of Dairy Science 42 (2) (1989) 25 262.
3. M. J. Bailaey and M. Linko - Production of β -galactosidase by *Aspergillus oryzae* submerged bioreactor cultivation, J Biotechnology 16 (1990) 57-66.
4. K. M. H. Nevalainen - Induction, isolation and characterization of *Aspergillus nigr* mutant strains producing elevated levels of 3-galactosidase, Appl. Environ. Microbiol (1989) 593-596.
5. Y. K. Park, M. S. S. DeSanti, G. M. Pastore - Production and characterization of galactosidase from *Aspergillus oryzae*, J. Food. Sci. 44 (1979) 100.
6. M. V. Rao and S. M. Dutta - Production of β -galactosidase from *Streptococ thermophilus* grown in whey, Appl Enviro Microbiol 34 (1977) 185-188.
7. N. Toru, A. Teruo - Beta galactosidase, enzymology, University Sendai and Kyoto, 199 pp. 1291-1305.
8. T. Vasilievic, P. Jelen - Production of beta galactosidase for lactase hydrolysis in mi and dairy products using thermophilic lactic acid bacteria, Innovative Food Science an Emerging Technologies 2 (2001) 75-85.

SUMMARY

SELECTION AND STUDY ON THE CONDITIONS OF FERMENTATION TO PRODUCE β -GALACTOSIDASE FROM ASPERGILLUS ORYZAE

β -D-galactosidase (β -D-galactohydrolase, EC 3.2.1.23), with high potension of applying t produce lactose-free milk products and funtional sugars galacto-oligosaccharides from lactos

by the transgalactosylation reaction. Among fungi excreting elevated quantities of β -galactosidase, some *Aspergillus oryzae* strains have been already used in industrial countries for commercial production. In the present work, certain factors that affect the β -galactosidase production by *Aspergillus oryzae* were studied for the purpose of production commercial β -galactosidase.

Three *Aspergillus oryzae* strains producing β -galactosidase were selected from 29 *Aspergillus* strains of laboratory. One of them, *A. oryzae* 3, has ability of producing highest activity of β -galactosidase and was chosen to study the conditions of fermentation to produce β -galactosidase.

The culture selected was MT4 with optimum cultural conditions for maximum enzyme production were lactose, supplementation with 1 g of pepton and 0.5 g of NH_4NO_3 and a cultivation time of 3 days at 200 rpm and 30°C. Further studies are required to definite characterization of β -galactosidase from *A. oryzae* 3.

Địa chỉ:

Nhận bài ngày 25 tháng 5 năm 2006

Viện CNSH - CNTP, Đại học Bách Khoa Hà Nội.