



ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ LÊN HOẠT ĐỘ CELLULASE NGOẠI BÀO CỦA CHỦNG NẤM MỐC *Aspergillus niger* T2 VÀ BƯỚC ĐẦU ỨNG DỤNG TRONG CHẾ BIẾN TIÊU SỌ

Nguyễn Hiền Trang^{1,*}, Lê Thanh Long¹, Trương Thị Bích Phượng²

¹Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

²Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

Tóm tắt. Nghiên cứu này nhằm xác định ảnh hưởng của một số yếu tố (nhiệt độ, pH ban đầu, thời gian nuôi cấy, nồng độ CMC, nồng độ NaNO₃) đến khả năng sinh tổng hợp cellulose của chủng nấm mốc *A. niger* T2 và ứng dụng trong quá trình chế biến tiêu sọ. Kết quả cho thấy, điều kiện thích hợp để chủng nấm *A. niger* T2 sinh tổng hợp cellulase cao nhất là ở nhiệt độ 30°C, pH ban đầu là 4,5, nồng độ cơ chất CMC:1,5% và nồng độ NaNO₃: 0,3% sau 144 giờ nuôi cấy với các giá trị hoạt độ enzyme thu được lần lượt là 328,649 IU/ml; 459,323 UI/ml; 466,447 UI/ml; 466,762 UI/ml và 287,594 UI/ml. Sinh khối nấm mốc *A. niger* T2 được ủ với tiêu nguyên liệu có tác dụng đáng kể đến khả năng bóc vỏ trong sản xuất tiêu sọ. Hiệu suất bóc vỏ tiêu của chủng nấm *A. niger* T2 cao nhất đạt 99,977% sau 4 ngày xử lý với hàm lượng chủng bổ sung là 4%.

Từ khóa: *Aspergillus niger*, bóc vỏ tiêu, cellulase, enzyme, tiêu sọ

1 Đặt vấn đề

Hiện nay, cellulase là một trong những enzyme được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực khác nhau như nông nghiệp, công nghiệp thực phẩm, công nghệ sinh học, dược phẩm, bảo vệ môi trường, ... Cellulase có thể được thu nhận từ nhiều nguồn khác nhau như động vật, thực vật hay vi sinh vật, trong đó vi sinh vật là nguồn mang lại nhiều giá trị. Việc tận dụng phế liệu công nông nghiệp làm nguồn cacbon để sản xuất cellulase bởi các chủng nấm mốc như *A. niger*, *A. oryzae*, *Trichoderma reesei*, *Trichoderma koningii*, *Penicilium pinophilentu*,... rất được quan tâm ở nhiều nước trên thế giới. Trong đó, nấm mốc *A. niger* được xem là an toàn khi ứng dụng trong thực phẩm do không chứa độc tố aflatoxin và có tiềm năng lớn trong sản xuất enzyme cellulase (Acharya et al., 2008; Omojasola et al., 2008).

Việt Nam là một nước nông nghiệp, các loại nông sản khá đa dạng, trong đó hồ tiêu là một trong những mặt hàng nông sản xuất khẩu chủ lực, đã mang lại giá trị kinh tế cao. Sản phẩm tiêu

*Liên hệ: n_htrang@yahoo.com

trắng là mặt hàng có giá khá cao, thường gấp 1,5 - 2 lần tiêu đen nên việc chế biến tiêu trắng đã và đang phát triển nhanh chóng. Để sản xuất tiêu trắng, người ta có thể dùng phương pháp thủ công hay phương pháp vi sinh vật. Phương pháp thủ công có nhược điểm là thời gian ngâm quá dài nên làm giảm chất lượng hạt tiêu, trong khi đó việc sử dụng enzym phân giải cellulose không những làm tăng chất lượng và giá trị hạt tiêu mà quy trình chế biến tương đối đơn giản và rút ngắn được thời gian chế biến (Nguyễn Đức Lượng et al., 2003; Tôn Nữ Tuấn Nam, 2008). Đây đang là biện pháp được ngành hồ tiêu Việt Nam hướng đến để phát triển hiệu quả và bền vững. Tuy nhiên, những enzyme và chế phẩm vi sinh vật có liên quan sử dụng trong ngành công nông nghiệp ở Việt Nam hiện nay chủ yếu được nhập khẩu từ nước ngoài với giá thành cao. Vì thế, việc nghiên cứu và sản xuất ra các chế phẩm sinh học có nguồn gốc tự nhiên là một yêu cầu cấp thiết.

Để góp phần nghiên cứu đa dạng thêm các chế phẩm vi sinh vật và nâng cao hiệu quả ứng dụng của cellulase sinh tổng hợp từ chủng *A. niger* T2 vào quá trình chế biến tiêu sọ, chúng tôi nghiên cứu các điều kiện tối ưu đến khả năng sinh tổng hợp cellulase ngoại bào của chủng nấm mốc *A. niger* T2 và bước đầu ứng dụng trong chế biến tiêu sọ.

2 Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1 Đối tượng nghiên cứu

- Chủng nấm mốc *A. niger* T2 được cung cấp bởi phòng thí nghiệm vi sinh, Khoa Cơ khí – Công nghệ, Trường đại học Nông Lâm, Đại học Huế.

- Tiêu hạt được thu hoạch vào tháng 7 năm 2012 tại làng Cù, xã Cam Nghĩa, huyện Cam Lộ, tỉnh Quảng Trị.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến khả năng sinh tổng hợp cellulase của chủng nấm *A. niger* T2

A. niger T2 được nuôi cấy lắc trên môi trường Czapeck lỏng với tốc độ 180 vòng/phút trong môi trường có pH = 6,5 ở nhiệt độ $29 \pm 1^\circ\text{C}$, thời gian khảo sát là 168 giờ để khảo sát khả năng sinh tổng hợp cellulase. Tại các thời điểm nuôi cấy 12 giờ, 24 giờ, 36 giờ, 48 giờ, 60 giờ, 72 giờ, 84 giờ,... và 168 giờ (cách nhau 12 giờ), tiến hành thu dịch enzyme thô để đo hoạt độ cellulase và xác định sự biến thiên của hoạt độ.

Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến khả năng sinh tổng hợp cellulase từ chủng nấm *A. niger* T2

Chuẩn bị môi trường Czapeck sinh tổng hợp cellulase để nuôi cấy chủng *A. niger* T2. Tiến hành nuôi cấy lắc theo thời gian tối ưu xác định ở trên với tốc độ 180 vòng/phút trong môi trường có pH = 6,5 ở các nhiệt độ 24, 26, 28, 30, 32, 34 và 36°C. Tại mỗi nhiệt độ nghiên cứu thu lấy dịch enzyme thô để xác định hoạt độ cellulose.

Khảo sát ảnh hưởng của pH môi trường nuôi cấy đến khả năng sinh tổng hợp cellulase của chủng nấm *A. niger* T2

Chủng *A. niger* T2 được nuôi cấy lắc với tốc độ 180 vòng/phút trong môi trường Czapeck có pH thay đổi tương ứng là 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6 và 6,5 ở nhiệt độ tối ưu và thời gian nuôi cấy thích hợp đã xác định ở trên. Tại mỗi giá trị pH thu lấy dịch enzyme thô để xác định hoạt tính cellulase.

Khảo sát ảnh hưởng của nguồn carbon và nitrogen nuôi cấy đến khả năng sinh tổng hợp cellulase từ chủng nấm *A. niger* T2

Chủng *A. niger* T2 được nuôi cấy trong môi trường với pH, nhiệt độ nuôi cấy và thời gian nuôi cấy tối ưu đã xác định ở trên. Thành phần CMC với nồng độ (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 và 2,5 %) và NaNO₃ với nồng độ (0,1; 0,2; 0,3; 0,4 và 0,5 %) thay đổi trong môi trường nuôi cấy. Tại mỗi nồng độ, dịch enzyme thô thu được dùng để xác định hoạt tính.

Phương pháp thu nhận enzyme thô dạng dịch lỏng từ môi trường nuôi cấy chủng nấm mốc.

Chủng nấm mốc *A. niger* T2 được nuôi cấy lắc trong môi trường Czapek-dox lỏng (thay đường glucose bằng CMC làm cơ chất). Dịch lỏng được lọc qua giấy lọc, phần dịch thu được chứa enzyme sẽ được xác định hoạt tính.

Phương pháp xác định hàm lượng đường khử bằng axit dinitro salixylic (DNS).

Phương pháp này dựa trên cơ sở phản ứng tạo màu giữa đường khử với thuốc thử axit dinitrosalicylic (DNS). Cường độ màu của hỗn hợp phản ứng tỷ lệ thuận với nồng độ đường khử trong một phạm vi nhất định. Tiến hành so màu ở bước sóng 540 nm. Dựa theo đồ thị đường chuẩn của glucose tinh khiết với thuốc thử DNS sẽ tính được hàm lượng đường khử của mẫu nghiên cứu (Miller, 1959).

Phương pháp xác định hoạt độ cellulase bằng phương pháp so màu với thuốc thử DNS.

Cho 200 µl dịch enzyme thu được vào các ống nghiệm, sau đó bổ sung 400 µl thuốc thử DNS vào mẫu blank (mẫu trắng), nhưng không cho vào mẫu thí nghiệm và thêm 200 µl CMC trong đệm vào tất cả các mẫu. Lắc đều các ống nghiệm trên rồi ủ ở 50°C trong 30 phút. Cho tiếp 400 µl thuốc thử DNS vào các mẫu thí nghiệm. Tiếp tục đun sôi cách thủy các mẫu trong 5 phút,

sau đó làm lạnh nhanh trong bồn nước lạnh. Tiến hành đo mật độ quang các mẫu ở bước sóng 540 nm (Ghose, 1987).

Ứng dụng cellulase của chủng *A. niger* T2 trong chế biến tiêu sọ

Nấm *A. niger* T2 được nuôi cấy trong môi trường Czapek với các điều kiện tối ưu là nhiệt độ 30°C, điều kiện pH ban đầu 4,5, nồng độ cơ chất CMC: 1,5% và nồng độ NaNO₃: 0,3% với thời gian nuôi cấy 144 giờ để thu sinh khối. Tiêu được làm sạch và lựa chọn hạt đạt tiêu chuẩn về trọng lượng, kích thước, độ chín, bề mặt trơn nhẵn.

Phương pháp bố trí thí nghiệm theo Nguyễn Đức Lượng và cộng sự (2003); Thankamani và Giridhar (2004), Tôn Nữ Tuấn Nam (2008). Thí nghiệm được thiết kế có cải tiến bổ sung hàm lượng sinh khối khác nhau 2%, 4% và 6% so với khối lượng nguyên liệu tiêu hạt. Tiêu hạt và sinh khối nấm *A. niger* T2 được ủ với lượng 100 g tiêu cho một mẫu thí nghiệm rồi cho vào tấm vải màn mỏng (có phun nước vô trùng làm ẩm), đặt vào trong rổ. Ủ ở nhiệt độ phòng (28 - 32°C). Tiến hành xác định tỷ lệ bóc vỏ tiêu sau thời gian 1 ngày, 2 ngày, 3 ngày và 4 ngày.

Sử dụng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) để xác định sự sai khác giữa các trung bình bằng phần mềm SAS 9.1.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Kết quả khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng sinh tổng hợp cellulase từ chủng nấm mốc *A. niger* T2

Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy

Khả năng sinh enzyme phụ thuộc nhiều vào thời gian nuôi cấy (Hình 1). Trong ba ngày đầu nuôi cấy, hoạt độ enzyme rất nhỏ và tăng không đáng kể, cụ thể là 43,843 UI/ml ở 12 giờ đến 68,692 UI/ml ở 72 giờ. Từ sau 72 giờ nuôi cấy hoạt độ cellulase tăng rõ rệt và tương đối đều đặn (từ 68,692 UI/ml tại 72 giờ tăng đến giá trị cực đại là 287,594 UI/ml tại 144 giờ). Sau 144 giờ, tuy trong một khoảng gian ngắn nhưng hoạt độ enzyme giảm mạnh, cụ thể là từ 287,594 UI/ml ở 144 giờ xuống còn 168,092 UI/ml ở 168 giờ.

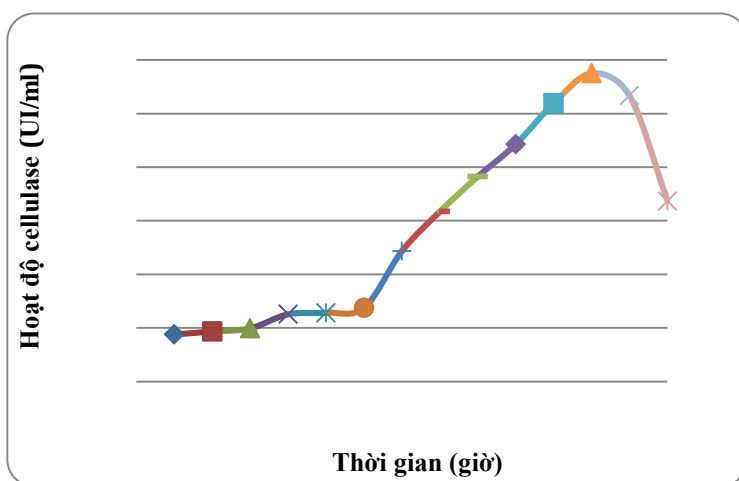
Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả nghiên cứu của Kang và cộng sự (2004) với chủng *A. niger* KK2 có thời gian sinh tổng hợp CMC-ase và β -glucosidase cao nhất là 144 giờ tương ứng giá trị hoạt độ lần lượt là 129 UI/g và 100 UI/g.

Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy

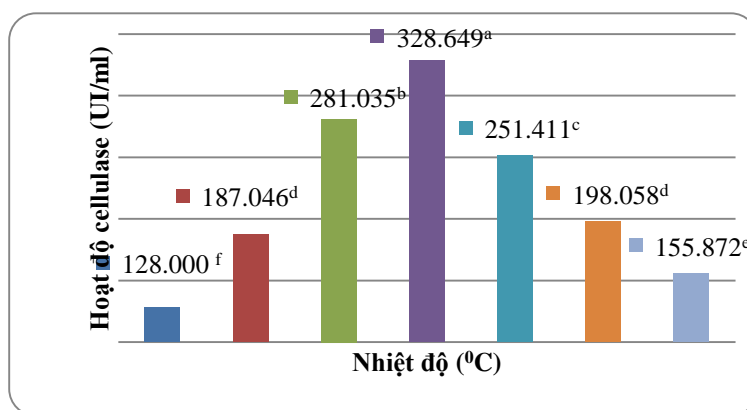
Từ kết quả ở (Hình 2) cho thấy sự biến thiên hoạt độ enzyme theo nhiệt độ khá rộng (tăng, giảm rất rõ rệt). Diễn hình là hoạt độ enzyme tăng từ 128 UI/ml ở 24°C đến 328,649 UI/ml ở 30°C

và sau đó giảm mạnh xuống còn 155,872 UI/ml ở 36°C. Khoảng nhiệt độ thích hợp cho chủng *A. niger* T2 sinh tổng hợp cellulase là 28-32°C và cho giá trị hoạt độ cực đại là 328,649 UI/ml ở 30°C. Nhiệt độ là một yếu tố ảnh hưởng lớn đến quá trình sinh trưởng và phát triển của nấm mốc và mỗi loài nấm lại thích nghi với vùng nhiệt độ khác nhau. Chủng *A. niger* thuộc nhóm nấm mốc ưa ấm nên sinh trưởng và phát triển tốt ở 28-32°C.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả của Aguiar (2001), khi khảo sát khả năng sinh tổng hợp cellulase của chủng *A. niger* IZ9, nhiệt độ cho hoạt độ cellulase cao nhất của chủng này là 30°C với giá trị 0,33 UI/ml.



Hình 1. Sự biến thiên hoạt độ cellulase của chủng *A. niger* T2 theo thời gian nuôi cấy

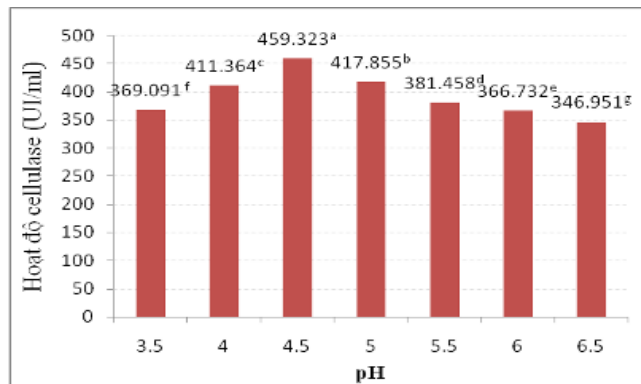


Hình 2. Sự biến thiên hoạt độ cellulase của chủng *A. niger* T2 theo nhiệt độ

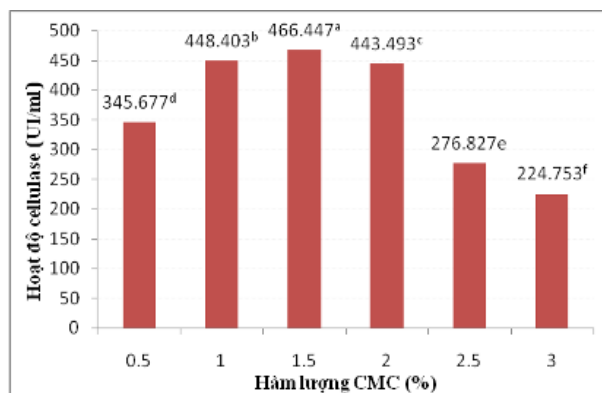
Ảnh hưởng của pH môi trường nuôi cấy

Có sự biến thiên hoạt độ enzyme theo giá trị pH và ứng với các giá trị pH khác nhau sẽ cho các hoạt độ enzyme khác nhau (Hình 3). Kết quả thu được cho thấy hoạt độ cellulase cao trong vùng pH từ 4,0 đến 5,0 và hoạt động sinh tổng hợp cellulase của *A. niger* T2 đạt cực đại khi pH ban đầu bằng 4,5 với hoạt độ enzyme là 459,323 UI/ml.

pH môi trường ảnh hưởng mạnh mẽ đến sinh trưởng, phát triển và các quá trình trao đổi chất của vi sinh vật. Bên cạnh đó, sự thay đổi pH tác động trực tiếp đến quá trình trao đổi chất qua màng tế bào vì vậy ảnh hưởng đến khả năng sinh tổng hợp cellulase ngoại bào của nấm mốc. Nghiên cứu của một số tác giả cũng cho kết quả tương tự, theo Acharya và cộng sự (2008) thì chủng *A. niger* tổng hợp cellulase mạnh nhất trong điều kiện pH=4,5 với hoạt độ là 0,1813 UI/ml; kết quả của Omojasola và cộng sự (2008) cũng cho rằng ở giá trị pH=4,5 hoạt độ enzyme thu được là cao nhất (1,18 UI/ml) khi khảo sát hoạt độ cellulase của chủng nấm mốc này.



Hình 3. Sự biến thiên hoạt độ cellulase của chủng *A. niger* T2 theo pH



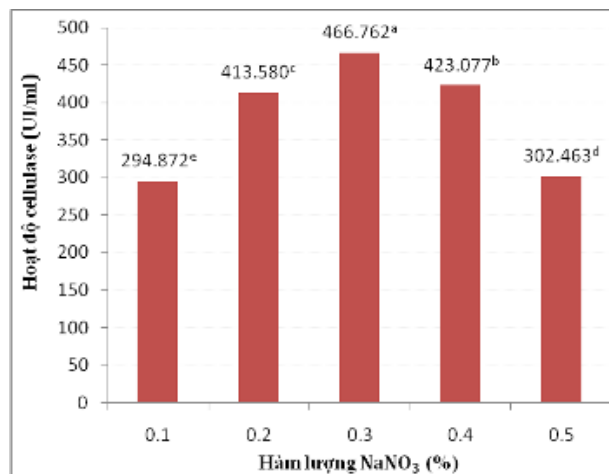
Hình 4. Sự biến thiên hoạt độ cellulase của chủng *A. niger* T2 theo nồng độ

Ảnh hưởng của hàm lượng cacbon trong môi trường nuôi cấy .

Cơ chất CMC ảnh hưởng rất lớn đến quá trình sinh cellulase của chủng *A. niger* T2. Sự thay đổi hàm lượng CMC làm hoạt độ cellulase thay đổi rõ rệt (Hình 4). Khi tăng nồng độ CMC từ 0,5% đến 1,5% thì hoạt độ enzyme tăng mạnh và đạt giá trị cao nhất (466,447 UI/ml ở 1,5%). Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng hàm lượng CMC thì hoạt độ enzyme giảm mạnh từ 466,447 UI/ml ở 1,5% xuống còn 224,753 UI/ml ở 2,5%.

CMC là một dung dịch có độ nhớt, khi tăng nồng độ CMC thì độ nhớt cũng tăng theo, do đó làm ảnh hưởng đến hoạt động của chủng nấm cũng như hoạt độ của enzyme vì chúng làm giảm sự linh động kết hợp giữa phức chất enzyme - cơ chất, dẫn đến hoạt độ enzyme giảm. Khi nồng độ CMC thấp thì hàm lượng cacbon ít, tức là môi trường nuôi cấy nấm nghèo chất dinh dưỡng nên làm cho sự sinh trưởng, phát triển cũng như khả năng sinh enzyme của nấm giảm, do đó lượng enzyme sinh ra hạn chế (Selman, 1924).

Ảnh hưởng của hàm lượng nitrogen trong môi trường nuôi cấy



Hình 5. Sự biến thiên hoạt độ cellulase của chủng *A. niger* T2 theo nồng độ NaNO₃

Từ đồ thị (Hình 5) cho thấy sự biến thiên hoạt độ enzyme theo nồng độ NaNO₃ rất lớn. Từ nồng độ 0,1 đến 0,3% hoạt độ cellulase tăng mạnh và đạt giá trị cực đại với hoạt độ 466,762 UI/ml. Sau đó, hoạt độ enzyme giảm mạnh xuống còn 302,463 UI/ml ở nồng độ 0,5%.

Nguồn nitrogen rất cần cho sự sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật mặc dù việc bổ sung vào môi trường nuôi cấy với hàm lượng nhỏ trong đó muối nitrat là nguồn thức ăn nitrogen thích hợp đối với nhiều loại nấm mốc (Ghose, 1987). Với nồng độ NaNO₃ thấp dẫn đến nguồn nitrogen hạn chế, làm cho môi trường nuôi cấy nấm nghèo chất dinh dưỡng nên lượng cellulase sinh ra ít. Tuy nhiên khi nồng độ NaNO₃ cao lại làm cho môi trường nuôi cấy có xu hướng bị kiềm hóa, trong khi đó pH thích hợp cho sự sinh tổng hợp cellulase của chủng *A. niger* T2 nằm ở

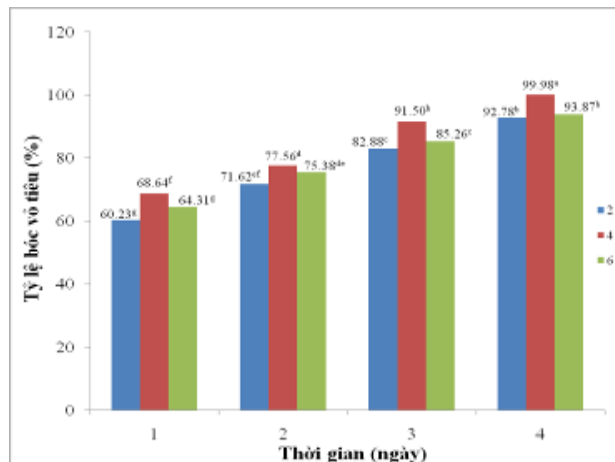
vùng axit mạnh (pH=4,5) nên gây sự ức chế hoạt động của chủng nấm này dẫn đến lượng cellulase sinh ra thấp. Ngoài ra, sự tổng hợp enzyme còn phụ thuộc vào khả năng tiết tối đa của từng loại vi sinh vật, có nghĩa là nếu tăng hàm lượng cơ chất vượt quá một giới hạn nhất định thì hoạt tính enzyme sẽ giảm (Selman, 1924).

Kết quả này cũng hợp lý với nghiên cứu của Narasimha và cộng sự (2006) là các chủng *A. niger* có thể sử dụng nhiều nguồn nitrogen khác nhau.

Từ những kết quả nghiên cứu thu được ở trên, chúng tôi tiến hành nuôi cấy thu sinh khối nấm *A. niger* T2 trong điều kiện tối ưu (nhiệt độ 30°C, thời gian 144 giờ, pH ban đầu 4,5, nồng độ cơ chất CMC: 1,5% và nồng độ NaNO₃: 0,3 %) để ứng dụng trong chế biến tiêu sọ.

Ảnh hưởng của chủng nấm *A. niger* T2 trong chế biến tiêu sọ.

Hạt tiêu sau khi thu hoạch được làm sạch và phân loại. Chủng nấm mốc được nuôi cấy lắc trong điều kiện tối ưu đã nghiên cứu ở trên để thu nhận sinh khối. Sinh khối thu được bổ sung vào tiêu với các tỷ lệ 2, 4 và 6 %. Hằng ngày, tiến hành bóc vỏ hạt tiêu để xác định lượng tỷ lệ bóc vỏ hạt tiêu so với ban đầu. Chúng tôi áp dụng quy trình chế biến tiêu sọ của Tôn Nữ Tuấn Nam (2008) có cải tiến và kết quả được thể hiện ở (Hình 6).



Hình 6. Ảnh hưởng của hàm lượng chủng *A. niger* T2 đến tỷ lệ bóc vỏ tiêu

Từ kết quả ở (Hình 6) cho ta thấy rằng, với tất cả các hàm lượng chủng khác nhau khi thời gian càng tăng thì tỉ lệ bóc vỏ càng cao. Hiệu suất phân giải vỏ tiêu cao nhất đạt 99,98 % với nồng độ chủng *Asp. niger* T2 bổ sung là 4% sau 4 ngày xử lý và thấp nhất là 60,23% sau 1 ngày xử lý với nồng độ chủng là 2%. Từ kết quả trên cho thấy với nồng độ chủng quá thấp hay quá cao đều cho hiệu quả bóc vỏ tiêu không cao. Trong ba nồng độ chủng khảo sát thì 4% cho hiệu suất bóc vỏ cao nhất sau tất cả các ngày.

Qua kết quả khảo sát cho thấy, hiệu suất bóc vỏ tiêu của chủng *A. niger* T2 ở 4% sau 4 ngày là đạt giá trị cao nhất. So với quy trình bóc vỏ tiêu theo phương pháp truyền thống, sử dụng *A. niger* T2 4% đã giảm thời gian ủ từ 10-15 ngày xuống còn 4 ngày. Tuy nhiên, khi so sánh với công bố của Nguyễn Đức Lượng và cộng sự (2003) khi sử dụng chế phẩm Biovina 6% thời gian ủ tương đương với kết quả nghiên cứu của chúng tôi, chỉ 4 ngày tiêu đã được bóc vỏ hoàn toàn.

4 Kết luận

- Điều kiện để chủng nấm *A. niger* T2 sinh tổng hợp cellulase cao nhất là sau 144 giờ, ở nhiệt độ 30°C, điều kiện pH ban đầu 4,5, nồng độ cơ chất CMC: 1,5% và nồng độ NaNO₃: 0,3%.

- Cellulase sinh tổng hợp từ chủng *A. niger* T2 có hoạt lực cao nên có tiềm năng ứng dụng trong thực tế. Hiệu suất bóc vỏ tiêu của chủng nấm *A. niger* T2 cao nhất đạt 99,98% sau 4 ngày xử lý với hàm lượng chủng bổ sung là 4%.

Tài liệu tham khảo

1. Nguyễn Đức Lượng, Nguyễn Thị Nguyên, Nguyễn Thị Ngọc Nhân, Hứa Tú Anh, *Sử dụng chế phẩm Biovina để xử lý vỏ hạt tiêu trong chế biến tiêu sọ*. Tạp chí sinh học Đại học Bách Khoa TP HCM, Hội nghị Khoa học và Công nghệ lần thứ 8, (2003), 60-68.
2. Tôn Nữ Tuấn Nam, *Đánh giá chất lượng và thị trường hồ tiêu tại Việt Nam*, Báo cáo, Dự án Quản lý bền vững nguồn tài nguyên thiên nhiên miền Trung, 2008.
3. Acharya PB, DK, Acharya and Modi HA, *Optimization for cellulase production by Aspergillus niger using saw dust as substrate*, African Journal of Biotechnology. 7 (22), (2008), 4147-4152.
4. Aguiar, CL, *Biodegradation of the cellulose from sugarcane bagasse by fungal cellulase*, Cienc. Tecnol. Aliment, 3(2), (2001), 117-121.
5. Ghose TK, *Mesurement of cellulase activities*, IUPAC, Pure & Appl. Chem, 59(2), (1987), 257-268.
6. Kang SW, Park YS, Lee JS, Hong SI, Kim SW, *Production of cellulases and hemicellulases by Aspergillus niger KK2 from lignocellulosic biomass*, Bioresour Technol. 91(2), (2004), 135-136.
7. Miller GL, *Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar*, Analytical Chemistry, 31(3), (1959), 426-428.
8. Narasimha G, Sridevi A, Buddolla Viswanath, Subhosh Chanda M. Rajasekhar Reddy B, *Nutrient effects on production of cellulolytic enzymes by Aspergillus niger*, African Journal of Biotechnology, 5, (2006), 472-476.
9. Omojasola, PF, OP, Jilani and SA, Ibiyemi, *Cellulase production by some fungi cultured on pineapple waste*, Nature Sci., 6, (2008), 64-69.
10. Selman A Waksman, *Influence of microorganisms upon the carbon-nitrogen ratio in the soil*, The Journal of Agricultural Science, 14, (1924), 555 -562.
11. Thankamani VL and Giridhar RN, *Fermentative production of white pepper using indigenous bacterial isolates*, Biotechnology and Bioprocess Engineering, 9, (2004), 435-439.

EFFECT OF SOME FACTORS ON EXTRACELLULAR CELLULASE ACTIVITY FROM *Aspergillus niger* T2 AND INITIAL USES IN WHITE PEPPER PROCESSING

Nguyen Hien Trang^{1,*}, Le Thanh Long¹, Trương Thị Bích Phương²

¹College of Agriculture and Forestry, Hue University

²College of Sciences, Hue University

Abstract. This study aimed to determine the effect of some factors on extracellular cellulase activity from *A. niger* T2 such as temperature, initial pH, incubation time, the concentration of CMC and NaNO₃ and its applications in white pepper processing. The results showed that the optimum condition for *A. niger* T2 to produce the highest extracellular cellulase was 30°C, initial pH value of 4.5, 1.5% of CMC concentration and 0.3% of NaNO₃ concentrations after 144-hour incubation, with enzyme activity obtained at 328.649 UI/ml, 459.323 UI/ml, 466.447 UI/ml, 466.762 UI/ml and 287.594 UI/ml, respectively. The ease of peeling pepper during processing white pepper was significantly affected by the addition of *A. niger* T2 biomass. Efficiency of *A. niger* T2 in white pepper processing was highest, 99.98% after 4 days treatment with 4% of strain addition.

Keywords: *Aspergillus niger*, cellulase, enzyme, peeling, white pepper