

# Tuyển chọn các chủng vi nấm có khả năng sinh enzyme ngoại bào cao ứng dụng trong lên men quả bồ kết (*Gleditsia australis* Hemsl.)

Trương Thị Chiên, Mai Vũ Hoàng Giang, Nguyễn Thị Hiền, Phạm Thành Đức, Phan Xuân Bình Minh, Vũ Xuân Tạo\*

Trung tâm Sinh học thực nghiệm, Viện Ứng dụng Công nghệ, C6, phường Thanh Xuân Bắc, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 29/7/2024; ngày chuyển phân biện 1/8/2024; ngày nhận phân biện 13/8/2024; ngày chấp nhận đăng 16/8/2024

## **Tóm tắt:**

Bồ kết là nguồn thực vật giàu saponin có giá trị, được ứng dụng để sản xuất chất hoạt động bề mặt tự nhiên thân thiện với môi trường. Quả bồ kết có nhiều đặc tính sinh học phù hợp với ngành công nghiệp dược mỹ phẩm. Hiện nay, quả bồ kết là nguồn nguyên liệu chính để sản xuất nhiều sản phẩm như dầu gội, nước rửa chén... Nghiên cứu này đánh giá khả năng sinh amylase, protease và cellulase của 4 chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* (NE1, NE2, NE10 và NE13) và 2 chủng nấm mốc *Aspergillus oryzae* (NOS1 và NO42), trong đó 2 chủng *S. cerevisiae* NE2 và *A. oryzae* NOS1 được lựa chọn để lên men quả bồ kết. Kết quả đánh giá chất lượng sản phẩm sau lên men cho thấy, các chủng nấm đều có khả năng ứng dụng trong lên men quả bồ kết. Đặc biệt, việc sử dụng chủng *S. cerevisiae* NE2 đã giúp nâng cao chất lượng sản phẩm sau lên men rõ rệt với hàm lượng saponin/chất rắn hòa tan đạt 71,7%. Sản phẩm sau lên men là nguồn nguyên liệu chứa saponin có độ sạch cao, được ứng dụng như một chất hoạt động bề mặt trong phát triển các sản phẩm hóa mỹ phẩm.

**Từ khóa:** *Aspergillus oryzae*, bồ kết, *Gleditsia australis*, *Saccharomyces cerevisiae*.

**Chỉ số phân loại:** 1.6, 4.6

## Selection of microfungal strains with high exoenzyme production for the fermentation of *Gleditsia australis* Hemsl. fruits

Thi Chien Truong, Vu Hoang Giang Mai, Thi Hien Nguyen, Thanh Duc Pham, Xuan Binh Minh Phan, Xuan Tao Vu\*

Center for Experimental Biology, National Center for Technological Progress, C6 Thanh Xuan Bac Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

Received 29 July 2024; revised 13 August 2024; accepted 16 August 2024

## **Abstract:**

*Gleditsia australis* Hemsl. is a valuable plant source rich in saponins, used for producing environmentally friendly natural surfactants. *Gleditsia australis* Hemsl. fruits have various biological properties suitable for the pharmaceutical and cosmetic industries. Currently, *Gleditsia australis* Hemsl. fruit is the main raw material used to produce various products such as shampoo, dishwashing liquid... This study evaluated the amylase, protease, and cellulase production capabilities of four yeast strains of *Saccharomyces cerevisiae* (NE1, NE2, NE10, and NE13) and two mould strains of *Aspergillus oryzae* (NOS1 and NO42). Among these, the *S. cerevisiae* NE2 and *A. oryzae* NOS1 were selected for fermenting *Gleditsia australis* Hemsl. fruits. The quality assessment of the fermented product shows that both fungal strains are applicable in the fermentation of *Gleditsia australis* Hemsl. Notably, the use of the *S. cerevisiae* NE2 significantly improved the quality of the fermented product, with the saponin/soluble solids content reaching 71.7%. The post-fermentation product is a highly pure saponin source, used as a surfactant in the development of chemical and cosmetic products.

**Keywords:** *Aspergillus oryzae*, enzyme, *Gleditsia australis*, *Saccharomyces cerevisiae*.

**Classification numbers:** 1.6, 4.6

\* Tác giả liên hệ: Email: taovx.tsa@gmail.com

## 1. Đặt vấn đề

Ngày nay việc sử dụng các sản phẩm có nguồn gốc từ thiên nhiên đang trở thành xu hướng tiêu dùng mới. Đặc biệt, các hóa chất trong hóa mỹ phẩm, sản phẩm tẩy rửa... đang dần được thay thế bởi các thành phần chiết xuất từ thực vật. Ở Việt Nam, quả bồ kết (*Gleditsia australis* Hemsl.) được sử dụng phổ biến trong nhiều sản phẩm dầu gội, nước rửa chén... do trong thành phần có chứa nhiều saponin - một chất hoạt động bề mặt quan trọng trong các sản phẩm làm sạch [1]. Nghiên cứu thành phần hóa học cho thấy, có 67 hợp chất được phân lập từ các loài thuộc chi *Gleditsia* bao gồm triterpenes, sterol, flavonoid, alkaloid, phenolics và các dẫn xuất của chúng, trong đó 32 hợp chất được xác định là saponin [2]. Cao chiết từ quả bồ kết được xác định có hoạt tính chống ung thư, chống viêm, chống dị ứng, giảm đau, kháng khuẩn và kháng nấm [3, 4]. Vì vậy, saponin từ quả bồ kết có tiềm năng lớn trong phát triển các sản phẩm chăm sóc sức khỏe, mỹ phẩm và các sản phẩm làm sạch.

Việc chiết xuất saponin từ thực vật làm nguyên liệu cho phát triển các sản phẩm tẩy rửa luôn được quan tâm. Trong đó, phương pháp lên men truyền thống sử dụng các loài thực vật giàu saponin như quả bồ kết, bồ hòn với hệ vi sinh vật có sẵn trên nguyên liệu đã được nhiều đơn vị sản xuất áp dụng. Phương pháp này đơn giản, không tốn kém nhưng chất lượng thành phẩm sau lên men không cao, khó kiểm soát, không đồng đều giữa các mẻ lên men [5]. Một số nghiên cứu trên thế giới đã ứng dụng vi sinh vật trong lên men chiết xuất saponin như sử dụng nấm men *S. cerevisiae* và nấm mốc *A. oryzae* trong lên men quả bồ hòn để tăng độ tinh sạch của saponin, nâng cao tính cảm quan từ đó tăng chất lượng sản phẩm sau lên men [6-8]. Các chủng vi nấm *S. cerevisiae* và *A. oryzae* được xác định có khả năng sinh các loại enzyme ngoại bào cao, phù hợp sử dụng trong quá trình lên men. Tuy nhiên, việc nghiên cứu lên men quả bồ kết sử dụng các chủng vi nấm giúp tăng chất lượng sản phẩm sau lên men hiện chưa có nhiều công bố. Kết quả nghiên cứu của bài báo này sẽ là cơ sở khoa học quan trọng trong việc thiết lập quy trình lên men quả bồ kết cho hiệu quả cao, ổn định sử dụng vi nấm có tiềm năng ứng dụng trong sản xuất.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu

Ba mẫu quả bồ kết tươi được thu thập tại các tỉnh Thái Nguyên, Thanh Hóa và Gia Lai được xác định là loài *Gleditsia australis* Hemsl. bởi TS Đỗ Thị Xuyên - Bộ môn Khoa học Thực vật, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội. Các mẫu được ký hiệu lần lượt là BKTN, BKTH và BKGL.

Bốn chủng nấm men *S. cerevisiae* (ký hiệu tương ứng NE1, NE2, NE10 và NE13) và 2 chủng nấm mốc *A. oryzae* (ký hiệu tương ứng là NOS1 và NO42) thuộc bộ sưu tập giống vi sinh vật của Trung tâm Sinh học thực nghiệm, Viện Ứng dụng Công nghệ.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Xác định một số chỉ tiêu chất lượng của các mẫu quả bồ kết thu thập

Các mẫu quả bồ kết được sấy ở 60°C đến khối lượng không đổi, tách lấy phần vỏ quả, nghiền nhỏ, rây qua lưới kích thước 1 mm và phân tích các chỉ tiêu:

- Hàm lượng đường: Xác định theo tiêu chuẩn ngành 10 TCN 514:2002.

- Hàm lượng tinh bột: Xác định theo TCVN 12382:2018.

- Hàm lượng saponin tổng số: Xác định theo phương pháp đo quang [9].

Axit oleanolic được pha trong cồn tuyệt đối ở các nồng độ 5, 10, 15, 20, 25 và 30 µg/ml để dựng đường chuẩn định lượng saponin. Cân chính xác 1,0 g bột quả bồ kết vào ống falcon, thêm chính xác 25 ml ethanol 96%, siêu âm trong 1 giờ, để lắng. Hút 40 µl dịch chiết vào bình định mức 10 ml, bốc hơi đến cạn trên bếp cách thủy ở 80°C. Thêm vào bình 0,6 ml dung dịch vanilin/axit acetic băng nồng độ 50 mg/ml và 1,0 ml axit perchloric. Bọc kín bình, lắc đều và ủ ở 70°C trong 20 phút. Sau đó, làm lạnh nhanh và thêm axit acetic băng đến vạch định mức 10 ml. Lắc đều và đo quang ở 550 nm.

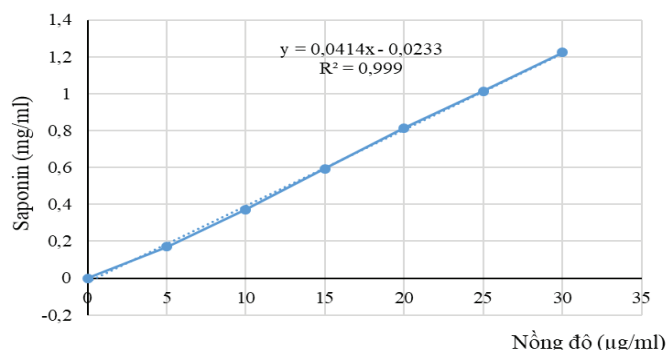
Xác định hàm lượng saponin tổng số dựa trên đường chuẩn axit oleanolic:

$$\text{Saponin (\%)} = \frac{W_{TSS}}{W_{mẫu}} \times 100$$

$$W_{TSS} = C_{TSS} \times V_{dịch\ chiết}$$

trong đó:  $W_{TSS}$  (mg): khối lượng saponin tổng số trong mẫu dịch chiết;  $W_{mẫu}$  (g): khối lượng mẫu phân tích;  $C_{TSS}$  (mg/ml): nồng độ saponin tổng số trong dịch chiết tính theo axit oleanolic;  $V_{dịch\ chiết}$  (ml): thể tích dịch chiết tương ứng.

Đường chuẩn định lượng saponin dựa theo nồng độ axit oleanolic được thể hiện trong hình 1.



Hình 1. Đường chuẩn định lượng saponin dựa theo nồng độ axit oleanolic.

### 2.2.2. Phương pháp đánh giá khả năng sinh cellulase, amylase và protease của các chủng vi nấm

Chủng *S. cerevisiae* và *A. oryzae* (1 ml dịch nấm men/ dịch bào tử nấm mốc ( $10^6$  tế bào (bào tử/ml))) được tiến hành lên men trong 50 ml môi trường tương ứng là YPD lỏng (g/l, yeast extract 10; peptone 20; D-glucose 20) và CD (Czapek-Dox) lỏng (g/l,  $\text{NaNO}_3$  2;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1;  $\text{MgSO}_4$  0,5; KCl 0,5;  $\text{FeSO}_4$  0,1; saccharose 30) với nguồn cacbon được thay thế bằng 0,2% cơ chất cảm ứng (CMC, tinh bột, sữa gầy) ở điều kiện lắc 150 vòng/phút, 30°C trong 3 ngày để thu dịch enzyme thô. 50  $\mu\text{l}$  dịch enzyme thô được nhỏ vào giếng đã đục sẵn trên môi trường thạch chứa 1% cơ chất tương ứng. Đĩa được ủ ở 4°C trong 4 giờ để dịch enzyme khuếch tán và ủ tiếp 48 giờ ở 30°C. Sử dụng dung dịch Lugol 0,1% để hiện vòng phân giải đối với dịch cellulase và amylase thô [10].

### 2.2.3. Phương pháp đánh giá khả năng lên men quả bò kết của chủng vi nấm tuyển chọn

Bột quả bò kết và dung dịch đường saccharose 2% (w/v) được khử trùng riêng rẽ và để nguội. Quá trình lên men được thực hiện trong bình tam giác 250 ml chứa tổng thể tích lên men là 100 ml bao gồm 10 g bột quả bò kết, 10 ml dịch nấm men/dịch bào tử nấm mốc ( $10^6$  tế bào (bào tử/ml)) và dung dịch đường saccharose 2% ở điều kiện lắc 150 vòng/phút, 30°C trong 4 ngày. Dịch sau lên men được ly tâm 8000 vòng/phút trong 10 phút để thu dịch nổi [6]. Phần dịch sau ly tâm được tiến hành xác định hàm lượng saponin/hàm lượng chất rắn hòa tan (chất rắn hòa tan), pH, °Brix, ethanol.

Hàm lượng chất rắn hòa tan được xác định bằng cân 10 g dịch chiết, sấy ở nhiệt độ 80°C đến khối lượng không đổi. Cân khối lượng mẫu trước và sau khi sấy để ghi lại kết quả.

Hàm lượng ethanol được xác định theo TCVN 5562:2009, pH trong dịch được xác định theo TCVN 7806:2007, °Brix trong dịch được xác định theo khúc xạ kế.

### 2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Sử dụng phương pháp thống kê sinh học trên phần mềm Excel 2016.

## 3. Kết quả và bàn luận

### 3.1. Đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng mẫu quả bò kết thu thập

Cây bò kết thường được trồng nhiều tại các tỉnh miền Bắc và vùng cao nguyên Nam Trung Bộ. Vì vậy, nghiên cứu này tiến hành thu thập một số mẫu quả bò kết được trồng

hiều tại các tỉnh Thái Nguyên, Thanh Hóa và Gia Lai. Kết quả đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng nguyên liệu thu thập được thể hiện tại bảng 1.

**Bảng 1. Chất lượng mẫu quả bò kết thu tại một số tỉnh của Việt Nam.**

Thứ tự	Chỉ tiêu	Các mẫu quả bò kết		
		BKTN	BKTH	BKGL
1	Đường tổng số (%)	8,71±0,66	9,15±0,73	9,32±0,70
2	Tinh bột (%)	6,08±0,81	6,68±0,78	6,54±0,88
3	Saponin (%)	10,17±0,92	8,31±0,89	11,11±0,94

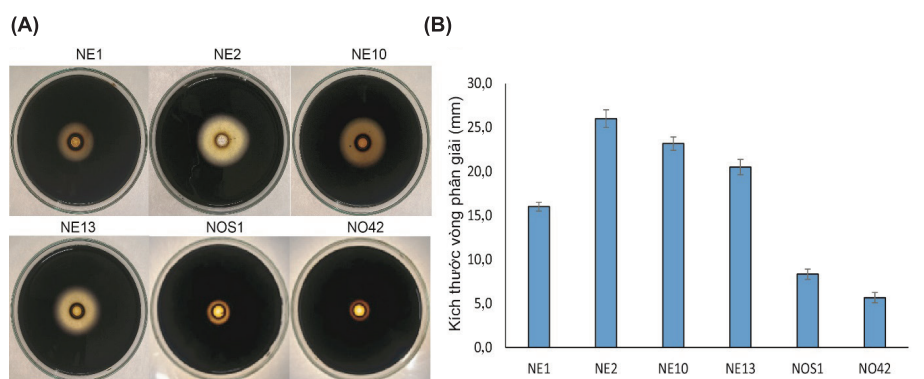
BKTN: bò kết tươi thu tại tỉnh Thái Nguyên; BKTH: bò kết tươi thu tại tỉnh Thanh Hóa; BKGL: bò kết tươi thu tại tỉnh Gia Lai.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, quả bò kết thu được tại 3 tỉnh có hàm lượng đường tổng số từ 8,71 đến 9,32% và hàm lượng tinh bột từ 6,08 đến 6,68%. Đây là nguồn cacbon cần thiết cho quá trình lên men. Hàm lượng saponin của các mẫu quả bò kết dao động từ 8,31 đến 11,11%, trong đó đạt cao nhất ở là mẫu quả bò kết thu tại Gia Lai và thấp nhất ở mẫu quả bò kết thu tại Thanh Hóa (sự khác biệt về hàm lượng saponin giữa các mẫu quả bò kết có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ ). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu trước đó về hàm lượng saponin tổng số của các mẫu quả bò kết đạt khoảng 10% [11]. Vì vậy, trong khuôn khổ nghiên cứu này chúng tôi lựa chọn mẫu quả bò kết thu thập tại Gia Lai sử dụng cho các thử nghiệm tiếp theo.

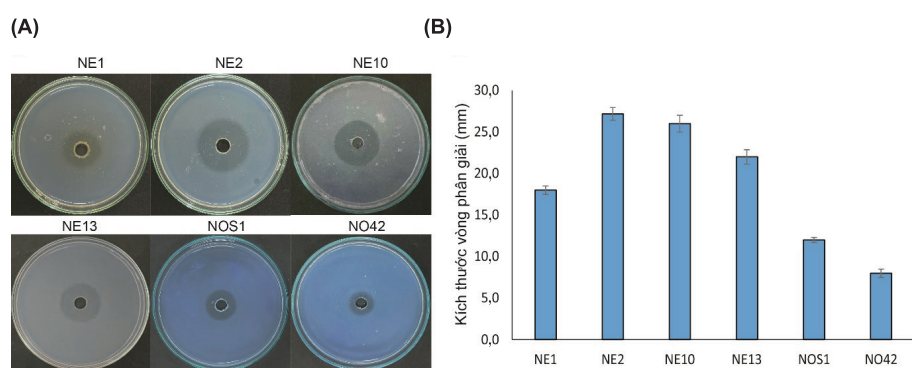
### 3.2. Đánh giá khả năng sinh enzyme ngoại bào của các chủng vi nấm nghiên cứu

#### 3.2.1. Khả năng sinh amylase

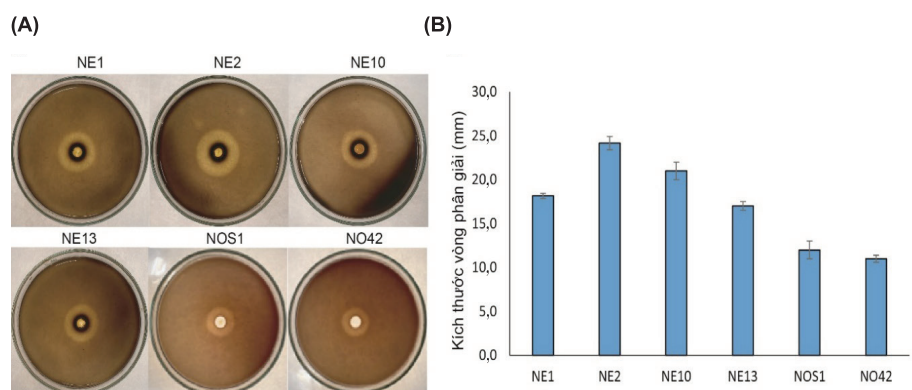
Cả 6 chủng vi nấm nghiên cứu được tiến hành xác định khả năng sinh amylase dựa trên kích thước vòng phân giải cơ chất tinh bột. Kết quả nghiên cứu cho thấy, trong 4 chủng nấm men *S. cerevisiae*, chủng NE2 cho đường kính vòng phân giải lớn nhất, trung bình đạt 26 mm (sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ ). Trong 2 chủng nấm mốc nghiên cứu, chủng *A. oryzae* NOS1 cho kích thước vòng phân giải lớn hơn, đạt trung bình 12 mm (hình 2). Nhiều nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng *S. cerevisiae* có khả năng sinh nhiều loại enzyme như pectinase, chitinase, invertase, catalase, tannase, amylase, protease, cellulase, lipase... được ứng dụng rộng rãi trong thực phẩm, đồ uống, dược phẩm và mỹ phẩm [12]. *A. oryzae* được sử dụng phổ biến trong các sản phẩm lên men truyền thống của Nhật Bản. *A. oryzae* có khả năng sản xuất nhiều loại enzyme hữu ích như  $\alpha$ -amylase, glucoamylase và  $\alpha$ -glucosidase phân giải tinh bột [13].



**Hình 2. Khả năng sinh amylase của các chủng vi nấm. (A)** Vòng phân giải trên môi trường chứa 1% tinh bột; **(B)** Kích thước vòng phân giải.



**Hình 3. Khả năng sinh protease của các chủng vi nấm. (A)** Vòng phân giải trên môi trường chứa 1% sữa gầy; **(B)** Kích thước vòng phân giải.



**Hình 4. Khả năng sinh cellulase của các chủng nấm. (A)** Vòng phân giải trên môi trường chứa 1% CMC; **(B)** Kích thước vòng phân giải.

### 3.2.2. Khả năng sinh protease

Protease từ vi sinh vật đóng vai trò quan trọng trong quá trình sản xuất chất tẩy rửa, thực phẩm và y tế [14, 15]. Khả năng sinh protease của các chủng vi nấm được xác định dựa trên khả năng phân giải cơ chất sữa gầy. Kết quả nghiên cứu cho thấy, chủng *S. cerevisiae* NE2 và *A. oryza* NOS1 là 2 chủng nấm men và nấm mốc cho khả năng sinh protease cao với đường kính vòng phân giải lần lượt đạt 27,2 và 12 mm (hình 3). Kết quả này tương tự với nghiên cứu của C. Li và cs (2014) [16], protease từ chủng nấm *A. oryzae* HG76

có tính axit được ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm, đồ uống và dược phẩm.

### 3.2.3. Khả năng sinh cellulase

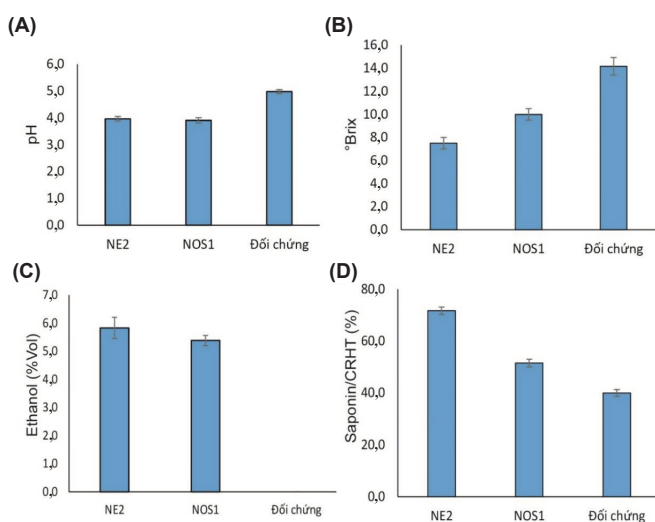
Với mục đích tuyển chọn các chủng vi nấm có khả năng sinh enzyme ngoại bào cao ứng dụng trong lên men quả bô kết nên chúng tôi đánh giá khả năng sinh cellulase của các chủng dựa trên việc xác định đường kính vòng phân giải cơ chất CMC. Kết quả nghiên cứu cho thấy, chủng *S. cerevisiae* NE2 có khả năng sinh cellulase mạnh nhất trong 4 chủng nấm men nghiên cứu, đường kính vòng phân giải cơ chất CMC đạt trung bình 24,2 mm (có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ ). Trong khi đó, chủng *A. oryzae* NOS1 có khả năng sinh enzyme cellulase mạnh hơn chủng NO42 (hình 4). Chủng *A. oryzae* được xác định là loài nấm an toàn và được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp sản xuất nhiều loại enzyme [17]. Khả năng sinh enzyme ngoại bào của các chủng vi nấm chủ yếu được sử dụng để hỗ trợ quá trình lên men các sản phẩm truyền thống như lên men rượu, đồ uống [12, 16, 18]. Tuy nhiên, việc sử dụng enzyme ngoại bào để lên men quả bô kết hiện chưa có nghiên cứu. Với kết quả nghiên cứu đạt được về khả năng sinh amylase, protease và cellulase của các chủng vi nấm, nghiên cứu này đã lựa chọn được chủng *S. cerevisiae* NE2 và chủng *A. oryzae* NOS1 đại diện cho nhóm nấm men và nấm mốc để tiến hành nghiên cứu lên men quả bô kết.

### 3.3. Đánh giá khả năng lên men quả bô kết của chủng vi nấm tuyển chọn

Quả bô kết được tiến hành lên men trong 4 ngày ở 30°C với sự tham gia của chủng vi nấm *S. cerevisiae* NE2 và chủng *A. oryzae* NOS1. Dịch sau lên men được ly tâm 8.000 vòng/phút. Kết quả bước đầu đánh giá cảm quan dịch lên men cho thấy, dịch lên men sử dụng chủng *S. cerevisiae* NE2 và *A. oryzae* NOS1 đều trong hơn và có màu nâu sáng hơn so với dịch lên men ở thí nghiệm đối chứng. Dịch lên men sử dụng chủng *S. cerevisiae* NE2 cho màu nâu sáng hơn dịch lên men sử dụng chủng *A. oryzae* NOS1 (hình 5).



Hình 5. Quy trình lên men chiết xuất saponin từ quả bồ kết.



Hình 6. Kết quả đánh giá các chỉ tiêu pH, °Brix, ethanol và saponin/chất rắn hòa tan của dịch lên men quả bồ kết. (A) pH; (B) °Brix; (C) Ethanol; (D) Saponin/chất rắn hòa tan.

Trong nghiên cứu này, dịch lên men sau ly tâm cũng được xác định các chỉ tiêu pH, °Brix, ethanol và saponin/chất rắn hòa tan. Kết quả nghiên cứu được trình bày tại hình 6.

Sau 4 ngày lên men sử dụng các chủng *S. cerevisiae* NE2 và *A. oryzae* NOS1, pH dịch lên men đã giảm so với đối chứng, cụ thể pH đạt 3,9-4,0 (hình 6A). Nghiên cứu của A.F. Belhaj và cs (2020) [19] cho thấy, pH ảnh hưởng lớn đến sự hấp phụ của chất hoạt động bề mặt. Ở pH thấp, chất hoạt động bề mặt thúc đẩy nhóm hydroxyl thu được điện tích dương làm tăng khả năng hấp phụ, đây là yếu tố quan trọng trong sản xuất các sản phẩm làm sạch [19]. Vì vậy, việc sử dụng các chủng vi nấm giúp làm giảm pH trong dịch

lên men, tạo điều kiện thuận lợi cho các chất hoạt động bề mặt, giúp tăng khả năng làm sạch của dịch quả bồ kết sau lên men.

Kết quả phân tích hàm lượng đường (thể hiện qua °Brix) trong dịch sau lên men với chủng *S. cerevisiae* NE2 và chủng *A. oryzae* NOS1 giảm mạnh sau 4 ngày nuôi cấy so với đối chứng (tương ứng đạt 7,5°Brix, 10°Brix và 14,2°Brix) (hình 6B). Kết quả này có thể được giải thích là do chủng *S. cerevisiae* NE2 và chủng *A. oryzae* NOS1 đã sử dụng các nguồn đường trong quá trình sinh trưởng và giúp cho sản phẩm lên men trong hơn. Đồng thời, sản phẩm phụ của quá trình lên men là ethanol dao động 5,4-5,8%Vol, còn ở mẫu đối chứng không phát hiện có sự thay đổi (hình 6C), đây là mức nồng độ chấp nhận được với các sản phẩm tẩy rửa [6].

Chỉ tiêu saponin/chất rắn hòa tan (hình 6D) của dịch lên men sử dụng chủng vi nấm NE2 và NOS1 tương ứng đạt 71,7 và 51,5%, trong khi ở mẫu đối chứng là 40,0% (sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ ). Như vậy, việc sử dụng 2 chủng *S. cerevisiae* NE2 và *A. oryzae* NOS1 giúp tăng lượng saponin/chất rắn hòa tan trong dịch lên men. Đặc biệt, việc sử dụng chủng *S. cerevisiae* NE2 giúp nâng cao rõ rệt chất lượng sản phẩm sau lên men. Kết quả này có thể là do *Saccharomyces* có khả năng sử dụng nguồn tinh bột và protein trong quá trình lên men từ đó làm tăng chất lượng sản phẩm sau lên men [8].

Một số các nghiên cứu tương tự đã được công bố như W. Heng và cs (2015) [6] đã sử dụng chủng *S. cerevisiae* AnQi BV818 trong lên men quả bồ hòn giúp tăng lượng saponin/chất rắn hòa tan từ 45,7 lên 75,5% và nồng độ ethanol tạo thành là 5,33%, hay như nghiên cứu của X.T. Le và cs (2023) [8] đã sử dụng *S. cerevisiae* lên men dịch chiết quả bồ hòn để loại bỏ tạp chất và nâng cao tính cảm quan của dịch lên men, độ đục giảm 75,6%, cải thiện rõ rệt màu sắc từ nâu sẫm thành nâu vàng. M.P. Wei và cs (2021) [7] cũng đã sử dụng nấm mốc *A. oryzae* trong lên men quả bồ hòn giúp tăng chất lượng sản phẩm sau lên men. Tuy nhiên, hiện hầu như chưa thấy có công bố nào về sử dụng các chủng vi nấm trong lên men quả bồ kết.

Những kết quả đạt được trong nghiên cứu này cho thấy, các chủng *S. cerevisiae* và *A. oryzae* trong nghiên cứu hoàn toàn có khả năng ứng dụng trong lên men quả bồ kết. Trong đó, chủng *S. cerevisiae* NE2 cho hiệu quả tốt nhất trong việc nâng cao chất lượng sản phẩm sau lên men quả bồ kết với chỉ tiêu saponin/chất rắn hòa tan đạt 71,7%, tạo nguồn nguyên liệu chất lượng cao cho việc tiếp tục phát triển các sản phẩm mỹ phẩm và gia dụng làm sạch khác.

#### 4. Kết luận

Nghiên cứu đã đánh giá được khả năng sinh amylase, protease và cellulase của 4 chủng nấm men *S. cerevisiae* (NE1, NE2, NE10 và NE13) và 2 chủng nấm mốc *A. oryzae* (NOS1 và NOS2), trong đó 2 chủng *S. cerevisiae* NE2 và *A. oryzae* NOS1 có khả năng sinh enzyme ngoại bào tốt nhất được xác định có khả năng lên men quả bồ kết. Đặc biệt, việc sử dụng chủng *S. cerevisiae* NE2 đã giúp nâng cao chất lượng sản phẩm sau lên men rõ rệt. Sản phẩm sau lên men có chỉ tiêu saponin/chất rắn hòa tan đạt 71,7% và là nguồn nguyên liệu cung cấp saponin - chất hoạt động bề mặt cho phát triển các sản phẩm mỹ phẩm và sản phẩm làm sạch.

#### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí từ nhiệm vụ khoa học và công nghệ cấp Bộ năm 2024-2025: “Nghiên cứu công nghệ lên men thảo dược giàu saponin ứng dụng trong sản xuất chất tẩy rửa sinh học” của Viện Ứng dụng Công nghệ. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] D.N. Do, T.T. Dang, Q.T. Le, et al. (2019), “Extraction of saponin from gleditsia peel and applications on natural dishwashing liquid detergent”, *Materials Today: Proceedings*, **18(7)**, pp.5219-5230, DOI: 10.1016/j.matpr.2019.07.522.

[2] J.P. Zhang, X.H. Tian, Y.X. Yang, et al. (2016), “*Gleditsia* species: An ethnomedical, phytochemical and pharmacological review”, *Journal of Ethnopharmacology*, **178**, pp.155-171, DOI: 10.1016/j.jep.2015.11.044.

[3] D.O. Saleh, I. Kassem, F.R. Melek (2016), “Analgesic activity of *Gleditsia triacanthos* methanolic fruit extract and its saponin-containing fraction”, *Pharmaceutical Biology*, **54(4)**, pp.576-580, DOI: 10.3109/13880209.2015.1064450.

[4] F.R. Melek, F.A. Aly, I.A.A. Kassem, et al. (2015), “Three further triterpenoid saponins from *Gleditsia caspica* fruits and protective effect of the total saponin fraction on cyclophosphamide-induced genotoxicity in mice”, *Zeitschrift Für Naturforschung C*, **70(1-2)**, pp.31-37, DOI: 10.1515/znc-2014-4132.

[5] V. Capozzi, M. Fragasso, R. Romaniello, et al. (2017), “Spontaneous food fermentations and potential risks for human health”, *Fermentation*, **3(4)**, DOI: 10.3390/fermentation3040049.

[6] W. Heng, Z. Ling, W. Na, et al. (2015), “Extraction and fermentation-based purification of saponins from *Sapindus mukorossi* Gaertn”, *Journal of Surfactants and Detergents*, **18(3)**, pp.429-438, DOI: 10.1007/s11743-015-1668-8.

[7] M.P. Wei, J.D. Qiu, L. Li, et al. (2021), “Saponin fraction from *Sapindus mukorossi* Gaertn as a novel cosmetic additive: Extraction, biological evaluation, analysis of anti-acne mechanism and toxicity prediction”, *Journal of Ethnopharmacology*, **268**, DOI: 10.1016/j.jep.2020.113552.

[8] X.T. Le, T.A.T. Tran, K.T. Phuong, et al. (2023), “Improvement in extraction and sensory properties of soapnut extract by fermentation”, *Polish Journal of Chemical Technology*, **25(2)**, pp.1-7, DOI: 10.2478/pjct-2023-0010.

[9] S. Hiai, H. Oura, T. Nakajima (1976), “Color reaction of some saponins and saponins with vanillin and sulfuric acid”, *Planta Medica*, **29(2)**, pp.116-122, DOI: 10.1055/s-0028-1097639.

[10] P. Yang, H. Zhang, L. Cao, et al. (2016), “Construction of *Aspergillus niger* integrated with cellulase gene from *Ampullaria gigas* Spix for improved enzyme production and saccharification of alkaline-pretreated rice straw”, *3 Biotech*, **6**, pp.1-10, DOI: 10.1007/s13205-016-0545-0.

[11] D.T. Loi (2004), *Vietnamese Medicinal Plants and Herbs*, Medical Publishing House, 1268pp (in Vietnamese).

[12] E.F. Vieira, C.M. Delerue (2020), “Exploitation of *Saccharomyces cerevisiae* enzymes in food processing and preparation of nutraceuticals and pharmaceuticals”, *Microbial Enzymes: Roles and Applications in Industries*, **11**, pp.41-62, DOI: 10.1007/978-981-15-1710-5\_2.

[13] T. Matsuzawa (2024), “Plant polysaccharide degradation-related enzymes in *Aspergillus oryzae*”, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **88(3)**, pp.276-282, DOI: 10.1093/bbb/zbad177.

[14] A. Razaq, S. Shamsi, A. Ali, et al. (2019), “Microbial proteases applications”, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **7**, DOI: 10.3389/fbioe.2019.00110.

[15] A.D. Varia, V.Y. Shukla, D.R. Tipre, et al. (2019), “Alkaline protease - A versatile enzyme”, *International Journal of Research and Analytical Reviews*, **6(2)**, pp.208-217.

[16] C. Li, D. Xu, M. Zhao, et al. (2014), “Production optimization, purification, and characterization of a novel acid protease from a fusant by *Aspergillus oryzae*, and *Aspergillus niger*”, *European Food Research and Technology*, **238**, pp.905-917, DOI: 10.1007/s00217-014-2172-5.

[17] Z. Sun, Y. Wu, S. Long, et al. (2024), “*Aspergillus oryzae* as a cell factory: Research and applications in industrial production”, *Journal of Fungi*, **10(4)**, DOI: 10.3390/jof10040248.

[18] Y.L. Yamane, J. Fujita, S. Izuwa, et al. (2002), “Properties of cellulose-degrading enzymes from *Aspergillus oryzae* and their contribution to material utilization and alcohol yield in sake mash fermentation”, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **93(5)**, pp.479-484, DOI: 10.1016/S1389-1723(02)80095-0.

[19] A.F. Belhaj, K.A. Elraies, S.M. Mahmood, et al. (2020), “The effect of surfactant concentration, salinity, temperature, and pH on surfactant adsorption for chemical enhanced oil recovery: A review”, *Journal of Petroleum Exploration and Production Technology*, **10**, pp.125-137, DOI: 10.1007/s13202-019-0685-y.