

TỐI ƯU HÓA MÔI TRƯỜNG TỔNG HỢP ENZYME β -GLUCOSIDASE (E.C. 3.2.1.21) TỪ *ASPERGILLUS NIGER* VỚI CƠ CHẤT SỬ DỤNG LÀ CÂY LỤC BÌNH (*EICHHORNIA CRASSIPES*)

● LÊ HOÀNG BẢO NGỌC

TÓM TẮT:

Bài viết nghiên cứu “Tối ưu hóa môi trường tổng hợp enzyme β -glucosidase (E.C. 3.2.1.21) từ *Aspergillus niger* với cơ chất sử dụng là cây lục bình (*Eichhornia crassipes*)” nhằm khảo sát khả năng sản xuất enzyme β -glucosidase từ những nguyên liệu sẵn có ở địa phương. Kết quả nghiên cứu đã xác định được thành phần môi trường tối ưu cho quá trình sinh tổng hợp enzyme β -glucosidase từ *Aspergillus niger* là 22,8 % lục bình; 1,17 % glucose; 0,2 % ammonium sulphat và thời gian nuôi cấy tối ưu là 16,6 giờ. Qua đó hoạt tính enzyme β -glucosidase tăng gấp 2,78 lần so với mức khảo sát ban đầu.

Từ khóa: β -glucosidase, tối ưu hóa, cây lục bình, *Aspergillus niger*, lên men bán rắn.

1. Đặt vấn đề

Enzyme β -glucosidase (β - D - glucoside glucohydrolase, E.C.3.2.1.21) ngoài ra còn có tên gọi cellobiase, là một nhóm trong hệ enzyme cellulase, có tác dụng thủy phân cellobiose thành glucose và các celloextrins khác [1]. Hiện nay, β -glucosidase là đối tượng của rất nhiều nghiên cứu vì những tiềm năng ứng dụng to lớn trong các lĩnh vực khác nhau như chuyển hóa sinh khối, sản xuất xăng etanol từ nguồn phụ phẩm nông nghiệp [2], sản xuất giấy và bột giấy, xử lý ô nhiễm môi trường [3] và công nghệ thực phẩm (tăng hợp chất thơm trong sản xuất rượu vang, nâng cao khả năng tiêu hóa các sản phẩm từ đậu nành...) [4].

Trong số các nguồn giống vi sinh vật có thể sinh tổng hợp enzyme cellulase như: *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Humicola insolens*, *Penicillium emersonii*, *Penicillium funiculosom*, *Trichoderma harzianum*,... thì *Aspergillus niger* được lựa chọn để nghiên cứu với những ưu điểm như enzyme tổng hợp đều đạt các tiêu chuẩn GRAS (Generally Recognized As Safe) của Mỹ và RAS (Recognized As Safe) của châu Âu (Mathewson, 1998) [5-6].

Lên men bán rắn (SSF) là một phương pháp lên men trên cơ chất rắn và hầu như chứa rất ít hay không có nước tự do, phương pháp yêu cầu các thiết bị đơn giản và ít tốn năng lượng [7]. Các nghiên cứu gần đây đã cho thấy việc sử dụng lên

men bán rắn kết hợp sử dụng các cơ chất cảm ứng ở dạng sinh khối lignocellulose là một trong những phương pháp giúp giảm giá thành sản xuất nhóm enzyme cellulase [8]. Đồng bằng sông Cửu Long với các đặc điểm như là vùng có hệ thống sông ngòi đa dạng, do đó nguồn thực vật thủy sinh như cây lục bình (*Eichhornia crassipes*) rất phổ biến, bên cạnh một số lợi ích thì hiện nay lục bình vẫn còn ngoài tự nhiên với số lượng lớn dễ dẫn đến ô nhiễm môi trường. Ngoài ra, với lợi thế về nền nông nghiệp phát triển mạnh nên các phụ phẩm nông nghiệp như rơm, cám là rất phong phú ở Đồng bằng sông Cửu Long. Việc sử dụng các nguồn nguyên liệu này làm cơ chất và các thành phần dinh dưỡng bổ sung trong môi trường lên men tổng hợp enzyme β -glucosidase, không chỉ giúp giảm giá thành sản xuất mà còn giảm sự ô nhiễm môi trường. Từ những lí do trên, đề tài nghiên cứu “Tối ưu hóa môi trường tổng hợp enzyme β -glucosidase (E.C. 3.2.1.21) từ *Aspergillus niger* với cơ chất sử dụng là cây lục bình (*Eichhornia crassipes*)” được tiến hành với hy vọng đề ra được một quy trình sản xuất được nguồn enzyme với hoạt tính cao nhưng giá thành thấp, cũng như làm tiền đề cho các nghiên cứu sau về sinh tổng hợp enzyme β -glucosidase.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Xử lý nguyên liệu trong môi trường lên men

Trấu, cám, lục bình được thu thập tại các địa điểm thuộc huyện Chợ Mới, tỉnh An Giang.

Các mẫu nguyên liệu được rửa sạch và sấy khô ở 50°C trong vòng 24 giờ với độ ẩm đạt được cụ thể như sau: lục bình: 8,58%; trấu: 5,72%; cám: 7,17%. Sau đó, các mẫu nguyên liệu khô được đem xay nhuyễn, trữ trong các túi PP và giữ ở 4°C.

2.1.2. Chủng giống

Giống nấm *Aspergillus niger* (VTCC-F-905) được cung cấp bởi Viện Vi sinh vật và công nghệ sinh học (IMBT) thuộc Trường Đại học Quốc gia Hà Nội (VNUH).

Môi trường nhân giống và giữ giống *Aspergillus niger* là môi trường PDA. Môi trường nuôi bột bào

tử nấm *Aspergillus niger* là tấm, cám với tỷ lệ 1:1, độ ẩm 40%.

Nấm *Aspergillus niger* được bổ sung vào môi trường nuôi cấy để sinh tổng hợp enzyme β -glucosidase ở dạng bột bào tử với mật số khoảng 107 CFU/g môi trường.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Lên men sản xuất enzyme

Môi trường lên men được thực hiện theo phương pháp lên men bán rắn với các thông số cố định là tỷ lệ trấu, cám lần lượt là 25% và 45%, pH 5, độ ẩm 60%. Sau khi được tiệt trùng ở 121°C trong 30 phút, môi trường được làm nguội đến 30-40°C, cho vào khay nhựa (950 ml), tiến hành cấy giống và ủ trong tủ ủ ở nhiệt độ 30°C. Dịch enzyme được trích ly bằng dung dịch đệm citrate pH 4 với tỷ lệ 1:4. Sau đó tiến hành ly tâm 4000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C để thu nhận dịch enzyme thô, bảo quản ở 40°C để tiến hành đo hoạt tính enzyme.

2.2.2. Đo hoạt tính enzyme β -glucosidase

Hoạt tính enzyme β -glucosidase được xác định theo phương pháp của Fawzi [9]. Trong đó, sử dụng Cellobiose làm cơ chất phản ứng. Dung dịch phản ứng gồm có 1 ml cellobiose 1% trong đệm citrate pH 5.0 và 1 ml dung dịch enzyme. Sau khi ủ ở 50°C trong 1 giờ, hàm lượng đường khử sinh ra (glucose) được đo ở bước sóng 540 nm với thuốc thử 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) theo phương pháp của Miller [10] và Datsomor [11].

1 đơn vị hoạt tính β -glucosidase được định nghĩa là lượng enzyme xúc tác thủy phân giải phóng 1 μ mol glucose/phút trong điều kiện thích hợp.

2.2.3. Tối ưu hóa theo phương pháp quy hoạch thực nghiệm Box-Wilson

Mục đích: Xác định mức độ ảnh hưởng của 4 nhân tố: hàm lượng lục bình, thời gian nuôi cấy, hàm lượng glucose, nguồn nitơ đối với quá trình sinh tổng hợp enzyme β -glucosidase của *Aspergillus niger*, từ đó có thể nâng cao khả năng tổng hợp enzyme β -glucosidase thông qua thực hiện kế hoạch leo dốc.

Sử dụng phương pháp tối ưu hóa Box Willson quy hoạch thực nghiệm bậc 1 với 4 biến, $y = b_0 +$

$b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_4x_4$, trong đó y là đại lượng cần tối ưu (hoạt tính enzyme β -glucosidase); b_0, b_1, b_2, b_3 là các hệ số hồi quy; x_1, x_2, x_3, x_4 là các biến số. [12].

- Xác định hệ số tương tác b_j theo công thức:

$$b_j = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_{ij}y_i$$

Từ đó xác định được phương trình hồi quy mô tả thực nghiệm:

- Kiểm định sự có nghĩa các hệ số hồi quy theo tiêu chuẩn Student

Phương sai tái hiện:

$$S_{th}^2 = \frac{\sum_{u=1}^m (y_u^o - \bar{y}^o)^2}{m-1}$$

Sai số tính cho b_j :

$$S_{bj} = \frac{S_{th}}{\sqrt{N}}$$

y_u^o : giá trị y thu được tại tâm thực nghiệm

$\bar{y}^o$: giá trị trung bình của các lần đo giá trị y_u^o

m : số thí nghiệm làm tại tâm

Các giá trị tính toán theo số liệu thực nghiệm của phân bố Student tính theo công thức:

$$t_j = \frac{|b_j|}{S_{bj}}$$

Tra bảng phân vị xác định giá trị của tiêu chuẩn Student đối với mức ý nghĩa $p = 0,05$; bậc tự do $f = m - 1$

Nếu $t_j > t_{b(p,f)}$ thì hệ số b_j khác đáng kể với 0, ảnh hưởng của x_j có ý nghĩa đến việc làm thay đổi thông số tối ưu hóa y , hệ số b_j được chọn.

Ngược lại nếu $t_j < t_{b(p,f)}$ thì hệ số b_j không khác đáng kể với 0, ảnh hưởng của x_j ít có ý nghĩa đến việc làm thay đổi thông số tối ưu hóa y , hệ số b_j không được chọn.

- Kiểm tra tính tương thích của phương trình hồi quy:

Kiểm tra sự tương thích của phương trình theo tiêu chuẩn Fisher:

$$F = \frac{S_{du}^2}{S_{th}^2}$$

với phương sai dư:

$$S_{du}^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (y_i - \bar{y}_i)^2}{N - N'}$$

Trong đó: N là số thí nghiệm; N' là hệ số có ý nghĩa trong phương trình; y_i là giá trị đo được trong thực nghiệm; $\bar{y}_i$ là giá trị tính toán theo phương trình hồi quy

Tra bảng phân bố Fisher với $p = 0,05$; $f_1 = N - N'$; $f_2 = m - 1$

Nếu $F_b > F$: tương thích, phương trình phù hợp với các số liệu thực nghiệm, ngược lại khi $F_b < F$: không tương thích với thực nghiệm.

- Tối ưu hóa thực nghiệm theo đường dốc nhất: Tối ưu hóa quá trình khảo sát các hàm mục tiêu bằng phương pháp leo dốc (phương pháp Box - Wilson), chọn bước nhảy nhảy cho một yếu tố và bước chuyển động của những yếu tố còn lại được tính theo công thức:

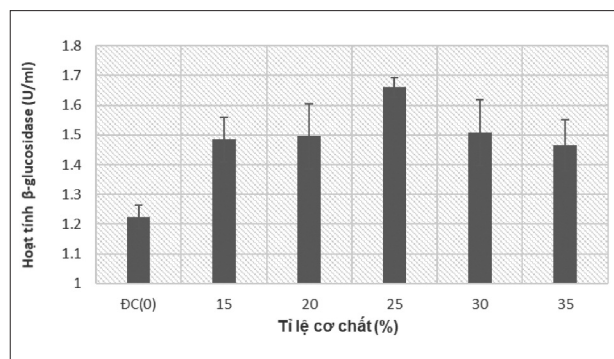
$$\delta_j = \delta_l \frac{\delta_j \Delta_j}{\delta_l \Delta_l}$$

Trong đó: δ_l là bước chuyển động của yếu tố thứ 1, δ_j là bước chuyển động của yếu tố j ; Δ_j, Δ_l là khoảng biến thiên của các yếu tố tương ứng.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của hàm lượng lục bình đến quá trình tổng hợp enzyme β -glucosidase từ *Aspergillus niger*

Hình 1: Ảnh hưởng của tỷ lệ lục bình bổ sung đến hoạt tính enzyme β -glucosidase



Kết quả tại Hình 1 cho thấy khi bổ sung vào môi trường lượng lục bình dùng làm cơ chất cảm ứng ở một tỷ lệ nhất định thì kích thích quá trình tổng hợp enzyme β -glucosidase, tuy nhiên khi sử dụng ở tỷ lệ cao, hoạt tính enzyme giảm dần, hoạt tính enzyme cao nhất được ghi nhận là ở tỷ lệ 25%.

3.2. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến quá trình tổng hợp enzyme β -glucosidase từ *Aspergillus niger*

Kết quả tại Hình 2 cho thấy: hoạt tính β -glucosidase đạt được cao nhất trong giai đoạn từ 15 đến 21 giờ nuôi cấy (trong đó ở thời điểm 21 giờ nuôi cấy đạt hoạt tính cao nhất), trong giai đoạn này mốc phát triển mạnh lan khắp bề mặt và có xu hướng ăn sâu vào toàn bộ khối môi trường, sợi nấm có thể quan sát bằng mắt thường, khối môi trường kết bảnh lại, ở 18 giờ tiếp theo (tức 39 giờ nuôi cấy) nấm *Aspergillus niger* bắt đầu già, thấy xuất hiện những bào tử màu đen mọc rải rác trên bề mặt khối cơ chất, hoạt tính enzyme β -glucosidase giảm mạnh. Như vậy, việc lựa chọn thời điểm kết thúc quá trình nuôi cấy rất quan trọng, không chỉ giúp thu được enzyme có hoạt tính cao, mà còn giúp giảm chi phí cho quá trình sản xuất enzyme. Do đó từ những kết quả trên có thể kết luận chọn nghiệm thức 21 giờ nuôi cấy để thực hiện cho các thí nghiệm tiếp theo.

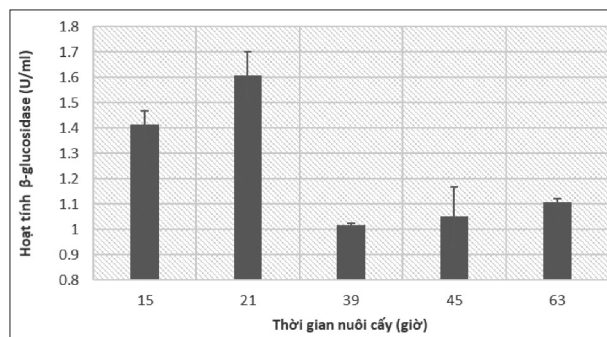
3.3. Ảnh hưởng của hàm lượng glucose đến quá trình tổng hợp enzyme β -glucosidase từ *Aspergillus niger*

Kết quả tại Hình 3 cho thấy glucose ở tỷ lệ thấp là nguồn carbon thích hợp cho quá trình sinh tổng hợp β -glucosidase từ *Aspergillus niger*, tuy nhiên khi bổ sung với tỷ lệ cao (2%) thì hoạt tính enzyme giảm mạnh. Như vậy, từ kết quả trên quyết định chọn nghiệm thức 1,5% glucose để thực hiện cho các thí nghiệm tiếp theo.

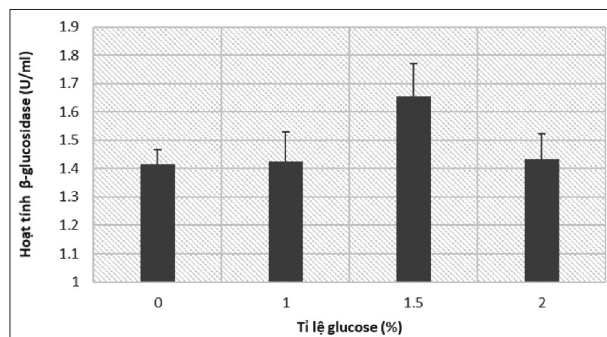
3.4. Ảnh hưởng của nguồn nitơ đến quá trình tổng hợp enzyme β -glucosidase từ *Aspergillus niger*

Kết quả của Hình 4 cho thấy 2 nguồn nitơ thích hợp cho quá trình sinh tổng hợp β -glucosidase từ *Aspergillus niger* là ammonium sulphat và urê với tỷ lệ bổ sung là 0,2%. Điều này giống với nghiên cứu của [15]: ammonium sulphat là nguồn nitơ thích hợp cho tổng hợp cellulase và nghiên cứu của [16]: hiệu quả thúc đẩy quá trình sinh tổng hợp cellulase của *Aspergillus niger* giảm dần theo thứ tự sau urê > pepton > natri nitrat > dịch trích nấm men.

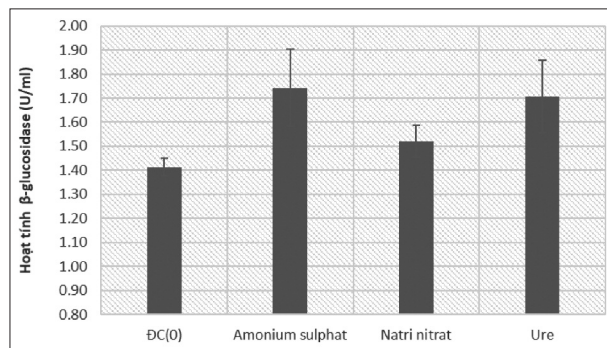
Hình 2: Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến hoạt tính enzyme β -glucosidase



Hình 3: Ảnh hưởng của tỷ lệ glucose đến hoạt tính enzyme β -glucosidase



Hình 4: Ảnh hưởng của nguồn nitơ đến hoạt tính enzyme β -glucosidase



3.5. Tối ưu hóa môi trường nuôi cấy đối với việc tổng hợp enzyme β -glucosidase theo mô hình Box Wilson

Từ kết quả của các thí nghiệm trước, chọn các yếu tố ảnh hưởng đến thông số tối ưu hóa như sau: x_1 là hàm lượng lục bình (%), mức cơ sở là 25, khoảng biến thiên là 5; x_2 là thời gian nuôi cấy (giờ), mức cơ sở là 21, khoảng biến thiên là 5; x_3

là hàm lượng glucose (%), mức cơ sở là 1,5, khoảng biến thiên là 0,5; x_4 là hàm lượng ammonium sulphat (%), mức cơ sở là 0,2, khoảng biến thiên là 0,1.

3.5.1. Xác định phương trình hồi quy

Bảng 1. Kết quả 3 thí nghiệm ở tâm để xác định phương sai tái hiện

N_0	Y_n^0	Y_{tb}
1	1,65	
2	1,78	1,71
3	1,71	

Các hệ số hồi quy được xác định như sau: $b_0 = 2,5$; $b_1 = -0,08$; $b_2 = -0,14$; $b_3 = -0,11$; $b_4 = 0,004$

Từ đó, thiết lập phương trình hồi quy có dạng:

$$y = 2,5 - 0,08x_1 - 0,14x_2 - 0,11x_3 + 0,004x_4$$

Kiểm định sự có nghĩa các hệ số hồi quy theo tiêu chuẩn Student:

- Phương sai tái hiện: $S_{th}^2 = 0,005$

- Sai số tính cho bi: $S_{bj} = 0,017$

Các giá trị tính toán theo số liệu thực nghiệm của phân bố Student tính theo công thức: $t_0 = 140$, 48; $t_1 = 4,49$; $t_2 = 7,86$; $t_3 = 6,18$; $t_4 = 0,82$

Tra bảng phân vị xác định giá trị của tiêu chuẩn Student đối với mức ý nghĩa $p = 0,05$; bậc tự do $f = 2$; $t_{b(p;f)} = 4,30$

Đối chiếu t_b với các giá trị Student tính ta thấy: $t_0 > t_b$; $t_1 > t_b$; $t_2 > t_b$; $t_3 > t_b$ và chỉ có $t_4 < t_b$ nên hệ số b_4 không có ý nghĩa. Do đó, phương trình hồi quy có dạng như sau: $y = 2,5 - 0,08x_1 - 0,14x_2 - 0,11x_3$

Kiểm tra tính tương thích của phương trình hồi quy theo tiêu chuẩn Fisher:

- Phương sai dư theo công thức có giá trị bằng $S_{du}^2 = 0,06$;

$$S_{th}^2 = 0,005$$

- $F = 12$

So sánh giá trị F với $F_b =$

$$F_{(1-p)(f_1, f_2)}$$

Trong đó: p là mức ý nghĩa 5 %; f_1 là bậc tự do của phương sai dư $f_1 = N - N' = 16 - 4 = 12$; f_2 là bậc tự do của phương sai tái hiện $f_2 = m - 1 = 2$

Tra bảng ta có: $F_b = 19,4$; vì $F < F_b$, phương trình phù hợp với các số liệu thực nghiệm.

Từ phương trình hồi quy nhận thấy chỉ có 3 yếu tố: lượng lực bình (x_1), thời gian nuôi cấy (x_2), lượng glucose (x_3) là ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng sinh tổng hợp enzyme cellulase của *Aspergillus niger*, trong đó thời gian nuôi cấy ảnh hưởng mạnh nhất sau đó đến hàm lượng glucose và hàm lượng lực bình. Do đó, để nâng cao hoạt tính enzyme, tiến hành giảm thời gian nuôi cấy, giảm lượng glucose và lực bình bổ sung vào môi trường so với thí nghiệm mức trung bình (mức cơ sở).

3.5.2. Tối ưu hóa thực nghiệm

Tối ưu hóa thực nghiệm được thực hiện bằng phương pháp đường dốc nhất, bắt đầu từ điểm không tức là mức cơ sở: $x_1 = 25\%$; $x_2 = 21$ giờ; $x_3 = 1,5\%$.

Chọn bước chuyển động của yếu tố x_2 là δ_2 ; $\delta_2 = 0,4$. Các bước chuyển động của các yếu tố x_1 và x_3 được tính theo công thức với kết quả như sau: $\delta_1 = 0,2$; $\delta_3 = 0,03$.

Các kết quả thực nghiệm tối ưu hóa được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả thực nghiệm tối ưu hóa

Tên	x_1	x_2	x_3	y (U/ml)
				β -glucosidase
Hệ số b_j	-0,08	-0,14	-0,11	
Khoảng biến thiên Δ_j	5	5	0,5	
$b_j \Delta_j$	0,4	0,7	0,055	
Bước δ_j	0,2	0,4	0,03	
Mức cơ sở	25	21	1,5	1,70 b
Thử nghiệm 1	24,4	19,8	1,41	1,73 b
Thử nghiệm 2	23,6	18,2	1,29	2,43 b
Thử nghiệm 11	22,8	16,6	1,17	4,73 a
Thử nghiệm 12	22,6	16,2	1,14	2,55 b
Thử nghiệm 15	22,0	15,0	1,05	2,49 b

Các số có chữ cái theo sau giống nhau trong cùng một cột khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức 5%.

Nhận được kết quả tốt nhất ở thí nghiệm thứ 11, khác biệt có ý nghĩa thống kê với các thí nghiệm còn lại, trong đó hoạt tính enzyme β -glucosidase tăng gấp 2,78 lần. Như vậy, thành phần môi trường tối ưu cho quá trình sinh tổng hợp enzyme cellulase từ *Aspergillus niger* là 22,8 % lục bình, 1,17 % glucose, 0,2 % Ammonium sulphat và thời gian nuôi cấy tối ưu là 16,6 giờ.

4. Kết luận và đề nghị

4.1. Kết luận

Qua kết quả đề tài, nhận thấy quá trình sinh tổng hợp enzyme β -glucosidase từ *Aspergillus niger* chịu ảnh hưởng của nhiều nhân tố khác nhau trong quá trình nuôi cấy, cụ thể từ phương trình hồi quy $y = 2,5 - 0,08x_1 - 0,14x_2 - 0,11x_3$ nhận thấy trong 4

nhân tố khảo sát thì chỉ có 3 nhân tố: hàm lượng lục bình, thời gian nuôi cấy và glucose là ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng sinh tổng hợp enzyme β -glucosidase của *Aspergillus niger*, trong đó thời gian nuôi cấy ảnh hưởng mạnh nhất sau đó đến hàm lượng glucose và cuối cùng là hàm lượng lục bình. Thực hiện các thí nghiệm leo dốc xác định thành phần môi trường tối ưu cho quá trình sinh tổng hợp enzyme β -glucosidase từ *Aspergillus niger* là 22,8 % lục bình, 1,17 % glucose, 0,2 % Ammonium sulphat và thời gian nuôi cấy tối ưu là 16,6 giờ. Qua đó, hoạt tính enzyme β -glucosidase tăng gấp 2,78 lần so với mức khảo sát ban đầu.

4.2. Đề nghị

Nghiên cứu các phương pháp tinh sạch để thu nhận enzyme ở dạng tinh khiết và khảo sát các yếu tố động học ảnh hưởng đến hoạt tính của enzyme β -glucosidase ■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Ahmed, A., Nasim, F. U., Batool, K., & Bibi, A. (2017). Microbial β -Glucosidase: Sources, Production and Applications. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 5(1), 31-46.
2. Mishra, S., Goyal, D., Kumar, A., Dantu, P.K. (2019). Biotechnological Applications of β -Glucosidases in Biomass Degradation. In: *Yadav, A., Singh, S., Mishra, S., Gupta, A. (eds) Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi. Fungal Biology*. USA: Springer, Cham.
3. Srivastava, N., Rathour, R., et. al. (2019). Microbial Beta Glucosidase Enzymes: Recent Advances in Biomass Conversion for Biofuels Application. *Biomolecules*, 9(6), 220.
4. Zhang, P., Zhang, R., Sirisena, S., Gan, R., Fang, Z. (2021). Beta-glucosidase activity of wine yeasts and its impacts on wine volatiles and phenolics: A mini-review. *Food Microbiol*, 100: 103859.
5. Schuster, E., Dunn-Coleman, N., Frisvad, J. C. & van Dijck, P.W.M. (2002). On the safety of *Aspergillus niger* - a review. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 59, 426-435.
6. Mathewson, P. R. (1998). *Eagan Press Handbook Series: Enzymes*. USA. Eagan Press.
7. Bhargav, S., Panda, B.P., Ali, M., Javed, S. (2008). Solid-state fermentation: an overview. *Chem. Biochem. Eng.*, 22(1), 49-70.
8. Bhardwaj, N., Kumar, B., Agrawal, K., & Verma, P. (2021). Current perspective on production and applications of microbial cellulases: A review. *Bioresources and Bioprocessing*, 8, 1-34.
9. Fawzi, E.M. (2003). Production and purification of β -glucosidase and protease by *Fusarium proliferatum* NRRL 26517 grown on nitida wastes. *Annals of Microbiology*, 53(4), 463-476.

10. Miller, G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for the determination of reducing sugar. *Anal Chem*, 3, 426-428.
11. Datsomor, O., Yan, Q., Opoku-Mensah, L., Zhao, G., Miao, L. (2022). Effect of Different Inducer Sources on Cellulase Enzyme Production by White-Rot Basidiomycetes *Pleurotus ostreatus* and *Phanerochaete chrysosporium* under Submerged Fermentation. *Fermentation*, 8(10), 561.
12. Nguyễn Cảnh. (2010). *Quy hoạch thực nghiệm*. TP. Hồ Chí Minh: NXB Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh.

Ngày nhận bài: 11/2/2023

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 11/3/2023

Ngày chấp nhận đăng bài: 25/3/2023

Thông tin tác giả:

ThS. LÊ HOÀNG BẢO NGỌC

Giảng viên Bộ môn Công nghệ sinh học, Khoa Nông nghiệp - Tài nguyên thiên nhiên

Trường Đại học An Giang - Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh

OPTIMIZING THE MEDIUM COMPOSITION FOR SYNTHESIZING β -GLUCOSIDASE (E.C. 3.2.1.21) FROM *ASPERGILLUS NIGER* WITH THE USE OF WATER HYACINTH *EICHHORNIA CRASSIPES* AS SUBSTRATE

● Master. **LE HOANG BAO NGOC**

Lecturer, Department of Biotechnology,

Faculty of Agriculture - Natural Resources, An Giang University,

Vietnam National University - Ho Chi Minh City

ABSTRACT:

This study is to optimize the medium composition for synthesizing β -glucosidase (E.C. 3.2.1.21) from *Aspergillus niger* with the use of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) as substrate. This study explores the production of β -glucosidase from local available by-product materials. The study finds out that the optimal medium compositions for the biosynthesis of β -glucosidase from *Aspergillus niger* are 22.8 percent water hyacinth; 1.17 percent glucose; 0.2 percent ammonium sulphate and the optimal culture time is 16.6 hours. Under these medium compositions, the activity of β -glucosidase increase 2.78 times compared to the initial survey level.

Keywords: β -glucosidase, optimization, water hyacinth, *Aspergillus niger*, solid state fermentation (SSF).