

Quy trình thu nhận cao nấm men *Saccharomyces cerevisiae* từ xác men của quá trình lên men rượu công nghiệp

Producing *Saccharomyces cerevisiae* yeast extract from winery spent yeast biomass

Nguyễn Thị Phương^{1*}, Vũ Văn Văn¹

¹Viện Kỹ thuật công nghệ cao NTT - Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, Việt Nam

*Tác giả liên hệ, Email: nguyenphuong@ntt.edu.vn

THÔNG TIN

DOI:10.46223/HCMCOUJS.
tech.vi.17.1.1361.2022

Ngày nhận: 22/12/2020

Ngày nhận lại: 11/08/2021

Duyệt đăng: 23/08/2021

Từ khóa:

cao nấm men; dịch chiết nấm men; hèm rượu; phương pháp cơ học; *Saccharomyces cerevisiae*

TÓM TẮT

Saccharomyces cerevisiae có vai trò rất lớn trong sản xuất cao nấm men dùng trong thực phẩm cũng như thành phần dinh dưỡng của môi trường nuôi cấy trong nghiên cứu vi sinh. Trong khi đó, *S. cerevisiae* cũng là một trong các dòng men quan trọng và chiếm ưu thế trong quá trình lên men rượu, hiện diện trong phần lớn các quy trình sản xuất các loại thức uống lên men truyền thống. Để tận dụng nguồn xác men thải ra từ quá trình lên men rượu công nghiệp hiệu quả, cao nấm men được thu bằng phương pháp cơ học đơn giản và ít tốn chi phí, bằng cách sử dụng nhiệt độ và áp suất phá vỡ các tế bào nấm men. Hàm lượng nucleic acid và protein của thử nghiệm khảo sát điều kiện tối ưu trong tách chiết dịch chiết nấm men bằng phương pháp sử dụng nồi hấp được sử dụng để đánh giá điều kiện như tỉ lệ bã men:nước, nhiệt độ và thời gian hấp thích hợp. Kết quả cho thấy, dịch chiết nấm men có hàm lượng dinh dưỡng tối ưu với điều kiện tỉ lệ bã men:nước là 1:4 (khối lượng/thể tích) được hấp ở 110°C trong 20 phút. Cao nấm men sau khi thu nhận bằng quá trình đông khô thể hiện hiệu năng trên các chủng vi khuẩn bao gồm các vi khuẩn Gram dương (*Staphylococcus aureus* và *Bacillus cereus*) và Gram âm (*Escherichia coli* và *Pseudomonas aeruginosa*) tương đương cao nấm men thương mại trong và ngoài nước. Như vậy, chúng tôi đã thành công trong việc sản xuất cao nấm men bằng phương pháp sử dụng nhiệt độ áp suất lên bã men của quá trình lên men rượu công nghiệp.

ABSTRACT

Relying upon the dynamic fermentation capacities along with alcoholic tolerant characteristics, *Saccharomyces cerevisiae* strains are better known and have been widely studied in bread, brewery production, and winemaking. In addition, *S. cerevisiae* has played a pivotal role in yeast extract production for use in food and microbial media as a nutrient source especially. This project used a simple mechanical method on the new yeast source - winery spent yeast, a byproduct of alcoholic fermentation process, to produce yeast extract. The results showed that the

Keywords:

yeast extract; spent yeast;
winery yeast; temperature-
pressure; *Saccharomyces*
cerevisiae

yeast extract with optimal protein and nucleic acid content was obtained when spent yeast in water (1:4, g/mL) was sterilized at 110°C for 20 minutes using autoclave. Produced yeast extract exhibited high efficiency on bacterial growth including Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*) and Gram-negative (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*) that were similar to some commercials. As such, we have been successful in producing yeast extract using a temperature-pressure method on winery spent yeast.

1. Giới thiệu

Trong sản xuất rượu, hai giai đoạn chủ yếu trong quá trình lên men rượu là quá trình đường hóa - chuyển hóa tinh bột thành đường lên men và quá trình lên men - sự chuyển hóa từ đường thành cồn bởi nấm men (Nout & Aidoo, 2002). Có nhiều chủng nấm men khác nhau tham gia trong quy trình sản xuất rượu. Tuy nhiên, những chủng men quan trọng và chiếm ưu thế trong quá trình lên men rượu thuộc chi *Saccharomyces*, đặc biệt là *Saccharomyces cerevisiae* hiện diện trong phần lớn các loại thức uống lên men truyền thống (Lee & Fujio, 1999; Wang & Fang, 1986).

Ngoài việc đóng góp trong công nghiệp rượu, bia và bánh mì, *Saccharomyces cerevisiae* có một vai trò rất lớn trong sản xuất cao nấm men dùng trong thực phẩm cũng như thành phần môi trường nuôi cấy trong nghiên cứu vi sinh. Trong công nghiệp sản xuất cao nấm men, cao nấm men được tạo ra với ba bước chính: lên men thu sinh khối nấm men, phá vỡ màng tế bào, thu nhận phần tan trong nước (thành phần trong tế bào nấm men).

Theo số liệu của Tổng cục Thống kê vào năm 2016, sản lượng rượu trên cả nước là 306.8 triệu lít (VGSO, 2016), trong đó rượu công nghiệp chiếm khoảng 75 triệu lít được sản xuất từ khoảng 167 cơ sở sản xuất rượu công nghiệp, trên 200 triệu lít còn lại là rượu được nấu ở quy mô hộ gia đình. Đến năm 2018, theo thống kê sơ bộ của Bộ Công Thương, sản lượng rượu được sản xuất là 316.3 triệu lít cả nước (VGSO, 2018). Do vậy, phế phẩm của quá trình lên men rượu bao gồm xác nấm men được thải ra môi trường ở nước ta là rất lớn. Để tận dụng nguồn xác men rẻ tiền từ phế phẩm của quá trình lên men rượu công nghiệp và xử lý rác thải của lên men rượu công nghiệp và hướng đến giải pháp hữu ích, đề tài “Xây dựng quy trình thu nhận cao nấm men từ xác men của quá trình lên men rượu công nghiệp” được thực hiện.

Cao nấm men có thể được sản xuất thông qua sự phá vỡ thành tế bào nấm men bởi các enzyme nội sinh, enzyme ngoại sinh hoặc acid. Cao nấm men rất giàu chất dinh dưỡng cho sự phát triển của vi sinh vật, cao nấm men cung cấp peptide, amino acid, nucleotide, vitamin, nguyên tố vi lượng và các yếu tố tăng trưởng khác cho môi trường (Jacob, Striegel, Rychlik, Hutzler, & Methner, 2019).

Thành phần của các sản phẩm cao nấm men thương mại có thể khác nhau giữa các thương hiệu sản xuất. Tuy nhiên, ngoài các thành phần như chất béo và hàm lượng đường, hàm lượng protein trung bình trong chiết xuất nấm men thương mại thường dao động từ 50 đến 75% khối lượng (Suwanapong, Khongsay, Laopaiboon, Jaisil, & Laopaiboon, 2013).

Tùy thuộc vào mục đích sản xuất, các phương pháp nhằm phá vỡ màng tế bào thu nhận nguyên sinh chất khác nhau có thể được sử dụng. Một số phương pháp để sản xuất cao nấm men công nghiệp như tự phân hủy bằng cách sử dụng enzyme nội sinh của nấm men, nhiệt phân,

plasmolysis - phương pháp tự phân hủy với một số thay đổi liên quan đến việc thêm muối vô cơ hoặc dung môi hữu cơ, thủy phân bằng cách sử dụng enzyme hoặc acid ngoại sinh và phá vỡ cơ học, trong đó nhiệt độ hoặc áp suất cao được sử dụng (Sommer, 1998). Những phương pháp sử dụng thêm enzyme, acid hoặc dung môi vô cơ hoặc hữu cơ có thể làm tăng chi phí sản xuất và làm cho bước tinh chế thêm phức tạp (Zarei, Dastmalchi, & Hamzeh-Mivehroud, 2016). Tùy thuộc vào ứng dụng của chiết xuất nấm men, phương pháp chiết xuất được sử dụng sẽ khác nhau.

Các phòng thí nghiệm vi sinh học tại Việt Nam có nhu cầu tương đối cao về cao nấm men, tuy nhiên, chỉ có vài sản phẩm cao nấm men từ các thương hiệu như Merck, Sigma- Aldrich, Himedia. Thêm vào đó, giá thành của các sản phẩm này thường cao do quy trình sản xuất phức tạp cũng như chi phí nhập khẩu. Tuy nhiên, việc tìm ra một quy trình hiệu quả về chi phí cho sản xuất cao nấm men với nguồn xác men sau lên men rượu công nghiệp là một việc làm thiết thực. Phá vỡ tế bào bằng phương pháp cơ học sử dụng nhiệt độ và áp suất cao để làm vỡ các tế bào nấm men có thể khắc phục những vấn đề liên quan đến giá thành và độ phức tạp của quá trình.

2. Cơ sở lý thuyết

Các báo cáo trên thế giới về sản xuất cao nấm men thường là các báo cáo về sản xuất cao nấm men dùng trong thực phẩm. Cho đến nay, phương pháp tự ly giải (autolysis) là phương thức được sử dụng nhiều nhất trong sản xuất cao nấm men thực phẩm (Tanguler & Erten, 2008). Dựa trên nhu cầu sử dụng, cao nấm men có thể được đóng gói thành ba dạng: lỏng, sệt và bột thông qua bước cô đặc hoặc sấy phun (Sommer, 1998). Mặc dù được sử dụng rộng rãi, tuy nhiên, phương pháp autolysis có một số nhược điểm như năng suất thấp và quá trình tách pha rắn - lỏng khá khó khăn (Podpora, Świdorski, Sadowska, Rakowska, & Wasiak-Zys, 2016).

Ngoài ra, quá trình ly giải có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các enzyme thủy phân ngoại sinh. Hyoky, Sarkki, và Tylli (1997) báo cáo rằng chiết xuất nấm men được sản xuất bằng cách phân hủy lượng nấm men (men bia hoặc men làm bánh) bằng enzyme, bằng cách thu hồi các chất tan và tinh chế dung dịch bằng chất hấp phụ polymer. Tuy nhiên, đây là quá trình khá phức tạp và đòi hỏi chi phí cao (Hyoky & ctg., 1997).

Một nghiên cứu được thực hiện bởi Zarei và cộng sự (2016) đã đưa ra một kết quả đầy hứa hẹn về cao nấm men được sản xuất từ men bánh mì bằng phương pháp cơ học. Trong quy trình này, cao chiết nấm men được sản xuất bằng phương pháp cơ học như nhiệt độ và áp suất cao. Chiết xuất nấm men sau đó đã được thử nghiệm nhằm đánh giá khả năng tăng trưởng tế bào vi khuẩn (*Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus*). Kết quả cho thấy sự tăng trưởng của tế bào vi khuẩn trong môi trường chứa cao nấm men trong thí nghiệm tương đương với sự tăng trưởng của vi khuẩn được nuôi trong môi trường chứa ba cao nấm men thương mại (Zarei & ctg., 2016).

Nghiên cứu này áp dụng phương thức phá vỡ tế bào nấm men bằng phương pháp cơ học theo nghiên cứu của Zarei và cộng sự (2016) với một số thay đổi cho phù hợp với nấm men thu nhận từ quá trình lên men rượu và thực hiện khảo sát khả năng tăng trưởng của một số chủng vi sinh vật trong môi trường nuôi bao gồm dịch chiết nấm men. Sự tăng trưởng của vi khuẩn được nuôi bằng môi trường chứa dịch chiết nấm men và so sánh với một số cao nấm men thương mại. Mục tiêu của thí nghiệm này là đánh giá tiềm năng của việc sử dụng nguồn nấm men mới - xác men của quá trình lên men rượu công nghiệp để sản xuất dịch chiết nấm men bằng phương pháp phá vỡ cơ học, nhằm đưa ra một phương pháp đơn giản và hiệu quả về chi phí cho quá trình sản xuất cao nấm men.

3. Phương pháp nghiên cứu

3.1. Vật liệu nghiên cứu

3.1.1. Nguyên liệu

Dịch sau lên men rượu cung cấp bởi công ty Trách nhiệm hữu hạn Huy Việt - Tây Đô, 1904 QL91, Phường Thuận An, Thốt Nốt, Cần Thơ được kiểm tra hàm lượng dinh dưỡng bao gồm lượng hàm lượng amino acid và lượng đường tổng tại Trung tâm kỹ thuật đo lường chất lượng 3 (QUATEST 3).

3.1.2. Chủng vi khuẩn

Các chủng vi khuẩn được sử dụng trong thử nghiệm tăng trưởng là hai chủng vi khuẩn Gram âm (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027) và hai chủng vi khuẩn Gram dương (*Bacillus cereus* ATCC 10876, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923).

3.2. Phương pháp nghiên cứu

3.2.1. Khảo sát quy trình thu nhận dịch chiết nấm men

Xác men sau khi lên men rượu được thu nhận và rửa 02 lần với nước cất tỉ lệ 1:2 (khối lượng/thể tích). Huyền phù sau đó được ly tâm ở 6,000 vòng/phút trong 10 phút và thu nhận phần cặn - bã men. Thí nghiệm khảo sát điều kiện tách chiết được thực hiện sử dụng máy hấp khử trùng (Hirayama). Quá trình hấp kết thúc khi máy hấp đạt nhiệt độ đã thiết lập và sau đó áp suất giảm xuống bằng 0, đồng thời nhiệt độ giảm còn 95°C. Hỗn hợp sau đó được làm lạnh nhanh trên đá trong 10 phút.

Khảo sát tỉ lệ bã men:nước cất

Bã men trước tiên được xử lý ở nhiệt độ 121°C trong 30 phút với các tỉ lệ bã men rượu: nước cất là 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 và 1:5. Huyền phù sau đó được ly tâm ở 6,000 vòng/phút trong 10 phút và thu nhận phần tan - dịch chiết nấm men. Phần dịch chiết nấm men ở mỗi tỉ lệ sau đó được đưa về cùng một thể tích và được định lượng protein tan bằng phương pháp Bradford. Lượng nucleic acid được định tính bằng phương pháp mật độ quang bước sóng A_{260nm} của dịch chiết nấm men pha loãng 100 lần. Ngoài ra, tế bào sau đó còn được nhuộm bằng thuốc nhuộm Loefflers (thuốc nhuộm nhuộm xanh tế bào không phân biệt tế bào sống/chết) và số tế bào chưa bị phá vỡ được đếm sử dụng buồng đếm hồng cầu. Dựa trên tỉ lệ tế bào nấm men bị phá vỡ, lượng protein và nucleic acid, quy trình có tỉ lệ bã men:nước thích hợp được lựa chọn.

Khảo sát nhiệt độ phá tế bào

Xác men được xử lý ở nhiệt độ khảo sát 100°C, 110°C và 121°C trong 30 phút, sau đó làm lạnh nhanh để phá màng tế bào. Huyền phù sau đó được ly tâm ở 6,000 vòng/phút trong 10 phút và thu nhận phần tan - dịch chiết nấm men. Các dịch chiết nấm men ở mỗi điều kiện nhiệt độ sau đó được định lượng protein tan, nucleic acid và xác định số tế bào bị phá vỡ tương tự như ở khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ xác men:nước.

Khảo sát thời gian phá tế bào

Xác men sau đó được xử lý ở nhiệt độ 121°C trong thời gian khảo sát là 10 phút, 20 phút và 30 phút, sau đó làm lạnh nhanh để phá màng tế bào. Huyền phù sau đó được ly tâm ở 6,000 vòng/phút trong 10 phút và thu nhận phần tan - dịch chiết nấm men. Các dịch chiết nấm men ở mỗi điều kiện thời gian tách chiết sau đó được định lượng protein tan, nucleic acid và xác định số tế bào bị phá vỡ tương tự như ở khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ xác men:nước.

Biểu đồ thể hiện lượng protein và nucleic acid tách chiết sử dụng phần mềm GraphPad

Prism. Các giá trị được thể hiện là trung bình cộng của ba lần lặp lại và độ lệch chuẩn (Standard Deviation - SD). Kiểm định T-test (kiểu paired test) của phần mềm GraphPad Prism được sử dụng để so sánh hàm lượng nucleic acid và protein tách được giữa các mẫu trong cùng một khảo sát. Khác biệt được coi là có ý nghĩa với (*, $p < 0.05$), (**, $p < 0.005$), (***, $p < 0.0005$).

3.2.2. Hàm lượng dinh dưỡng của cao nấm men

Định lượng protein: Phương pháp Bradford

Hàm lượng protein của cao nấm men được định lượng bằng phương pháp Bradford với protein chuẩn BSA (Bovine Serum Albumin, Sigma Aldrich) sử dụng máy đo quang phổ Jenway, Genova.

Hàm lượng nucleic acid

Hàm lượng nucleic acid trong dịch chiết nấm men được định tính bằng phương pháp đo mật độ quang tại bước sóng A_{260nm} sử dụng máy đo quang phổ Jenway, Genova.

3.2.3. Hiệu năng của cao nấm men trong nuôi cấy vi khuẩn

Cao nấm men được đánh giá hiệu năng trên năm chủng vi sinh vật gồm hai chủng Gram dương (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) và hai chủng Gram âm (*Escherichia coli* và *Pseudomonas aeruginosa*) nuôi cấy trên môi trường chứa cao nấm men với nồng độ 3g/L và 5g/L muối NaCl, pH 6.2. Đối chứng dương là môi trường nuôi cấy chứa thành phần cao nấm men thương mại hãng Angel (Việt Nam) và Himedia (Ấn Độ) với nồng độ tương đương. Chứng âm là môi trường không chứa cao nấm men.

Cao nấm men tiếp theo được đánh giá hiệu năng trên vi sinh vật nuôi cấy trên môi trường lỏng chỉ chứa dịch chiết nấm men và muối, môi trường thạch (1.6% agar). Đối chứng dương là môi trường nuôi cấy với thành phần cao nấm men thương mại hãng Angel (Việt Nam) và Himedia (Ấn Độ). Chứng âm là môi trường không chứa cao nấm men.

Thông qua khả năng tăng trưởng của các chủng vi sinh vật trong 12 giờ nuôi cấy, hiệu năng nuôi cấy vi sinh vật của cao nấm men thử nghiệm được đánh giá/so sánh với các cao nấm men thương mại trong và ngoài nước. Đường cong tăng trưởng của các chủng vi sinh vật được xây dựng bằng phần mềm Sigma Plot, các giá trị được thể hiện là trung bình cộng của ba lần lặp lại và độ lệch chuẩn (Standard Deviation - SD).

4. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

4.1. Khảo sát điều kiện tách chiết dịch chiết nấm men

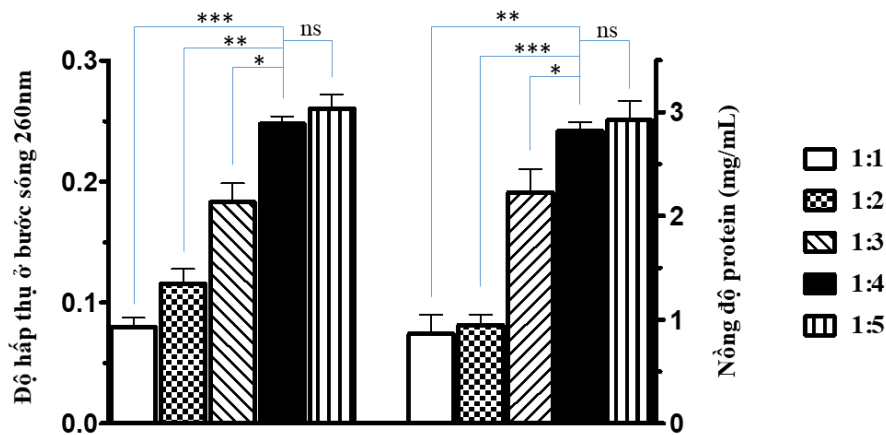
Điều kiện quy trình tách chiết dịch chiết nấm men được xác định dựa trên khả năng phá vỡ màng tế bào nấm men, hàm lượng protein hòa tan và hàm lượng nucleic acid dựa trên chỉ số mật độ quang ở bước sóng A_{260nm} .

4.1.1. Ảnh hưởng của tỉ lệ bã men và nước lên hiệu suất tách chiết

Tỉ lệ tế bào nấm men bị phá vỡ ở quy trình sử dụng tỉ lệ bã men:nước lần lượt là 1:3 ($61.33 \pm 0.76\%$), 1:4 ($60.50 \pm 1.32\%$) và 1:5 ($64.33 \pm 1.15\%$) lớn hơn quy trình sử dụng tỉ lệ bã men:nước là 1:1 và 1:2 (lần lượt là $27.67 \pm 1.89\%$ và $29.33 \pm 1.04\%$) (Bảng 1). Kết quả cho thấy, tỉ lệ nước càng lớn thì hiệu quả phá vỡ tế bào càng cao. Theo đó, tỉ lệ tế bào nấm men bị phá vỡ ở quy trình sử dụng tỉ lệ bã men:nước 1:1 và 1:2 là tương đương nhau về mặt thống kê. Nhóm tỉ lệ 1:3, 1:4 và 1:5 cũng cho tỉ lệ tế bào bị phá vỡ tương đương nhau và lớn hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm tỉ lệ 1:1 và 1:2.

Tuy nhiên, hàm lượng protein và nucleic acid tách chiết được khi bã men được pha trong nước với tỉ lệ 1:4 (khối lượng/thể tích) lớn hơn so với quy trình sử dụng tỉ lệ bã men:nước là 1:1,

1:2 và 1:3. Bên cạnh đó, hàm lượng protein và nucleic acid tách chiết được khi bã men được pha trong nước với tỉ lệ 1:4 tương đương với tỉ lệ 1:5 (Hình 1).

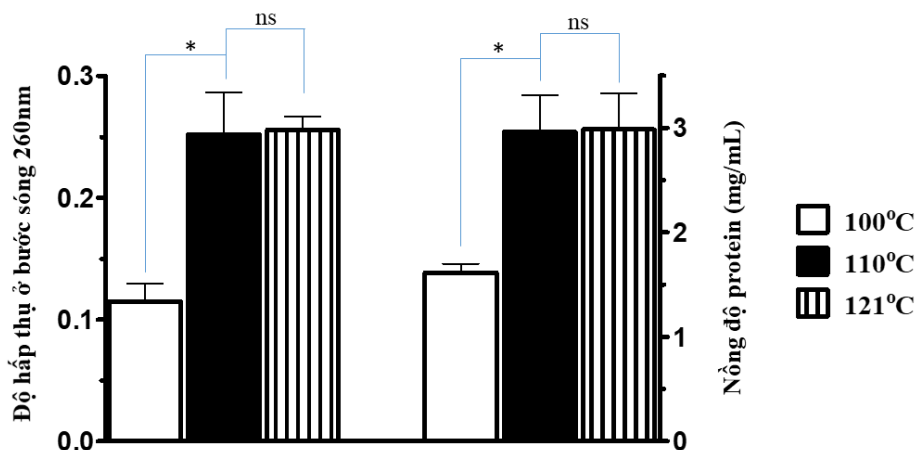


Hình 1. Hàm lượng nucleic acid và protein tách chiết ở quy trình sử dụng tỉ lệ bã men:nước là 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 và 1:5 (khối lượng/thể tích). Kiểm định T-test, khác biệt có ý nghĩa thống kê: * $p < 0.05$; ** $p < 0.005$; *** $p < 0.0005$, ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê

Quy trình tách chiết sử dụng tỉ lệ bã men:nước là 1:1, 1:2 và 1:3 cho lượng protein và nucleic acid ít hơn so với hai tỉ lệ còn lại có thể do lượng nước ở các tỉ lệ này không đủ để bề mặt tế bào được tiếp xúc với phân tử nước, làm cho việc gia nhiệt không thành công. Điều này dẫn đến việc tế bào nấm men bị kết cụm nhiều ở tỉ lệ bã men:nước là 1:1, 1:2 và 1:3 so với tỉ lệ 1:4 và 1:5, làm giảm lượng tế bào bị phá vỡ hoặc lượng protein/nucleic acid được hòa tan ở các tỉ lệ chứa lượng nước nhỏ. Tóm lại, tỉ lệ bã men:nước là 1:4 và 1:5 cho lượng protein và nucleic acid nhiều nhất. Tuy nhiên, xét về hiệu quả tách chiết thì tỉ lệ 1:4 là tỉ lệ bã men:nước được lựa chọn để tách chiết dịch chiết nấm men.

4.1.2. Ảnh hưởng của điều kiện nhiệt độ lên hiệu suất tách chiết

Thí nghiệm được thiết kế cố định thông số thời gian (30 phút) và tỉ lệ bã men:nước cất (1:5), nhiệt độ khảo sát ở các nhiệt độ khác nhau gồm 100°C, 110°C và 121°C. Kết quả cho thấy, hàm lượng protein và nucleic acid tách chiết được khi tế bào nấm men được xử lý với nhiệt độ 110°C và 121°C trong 20 phút là tương đương nhau và lớn hơn có ý nghĩa thống kê so với quy trình sử dụng nhiệt độ 100°C.

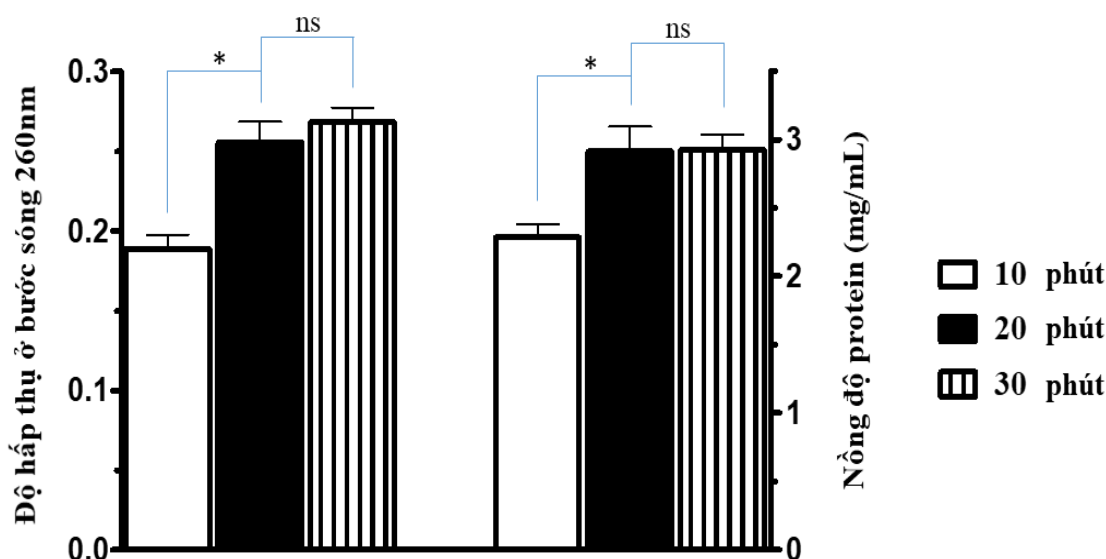


Hình 2. Hàm lượng nucleic acid và protein tách chiết ở nhiệt độ 100°C, 110°C và 121°C. Kiểm định T-test, khác biệt có ý nghĩa thống kê: * $p < 0.05$; ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Ngoài ra, tế bào nấm men hấp ở nhiệt độ 110°C và 121°C bị phá vỡ nhiều hơn so với nhiệt độ 100°C trong 20 phút (Bảng 1). Xét về hiệu quả tách chiết thì nhiệt độ 121°C là nhiệt độ thích hợp nhất để tách chiết cao nấm men từ bã men của quá trình lên men rượu công nghiệp.

4.1.3. Ảnh hưởng thời gian xử lý lên hiệu suất tách chiết

Thí nghiệm được thiết kế cố định thông số nhiệt độ (110°C) và tỉ lệ bã men:nước cất (1:4), thời gian khảo sát là 10 phút, 20 phút và 30 phút. Kết quả cho thấy, tỉ lệ tế bào nấm men bị phá vỡ trong thời gian 20 phút và 30 phút cũng nhiều hơn (có ý nghĩa thống kê) so với quy trình tách chiết trong 10 phút. Tỉ lệ tế bào nấm men bị phá vỡ trong thời gian 30 phút nhiều hơn so với 20 phút, tuy nhiên khác biệt này không có ý nghĩa thống kê (Bảng 1).



Hình 3. Hàm lượng nucleic acid và protein tách chiết từ bã men ở nhiệt độ 110°C trong 10 phút, 20 phút và 30 phút. Kiểm định T-test, khác biệt có ý nghĩa thống kê: * $p < 0.05$; ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Ngoài ra, hàm lượng protein và nucleic acid tách chiết được khi bã men được xử lý ở nhiệt độ 121°C trong 20 phút tương đương với quy trình 30 phút và lớn hơn so với quy trình sử dụng thời gian 10 phút (Hình 3). Tuy nhiên, xét về hiệu quả tách chiết thì 20 phút là thời gian được lựa chọn để tách chiết dịch chiết nấm men. Như vậy, điều kiện tối ưu để phá tế bào nấm men thu nhận dịch chiết nấm men từ nguồn xác men của quy trình lên men rượu công nghiệp là quá trình hấp khử trùng ở 110°C trong 20 phút với tỉ lệ xác men:dH₂O là 1:4 (khối lượng:thể tích).

Kết quả khảo sát điều kiện thu nhận dịch chiết nấm men cho thấy sự tương đồng trong việc xác nhận hiệu quả của phương pháp xử lý tế bào nấm men bằng nhiệt độ và áp suất so với nghiên cứu của Zarei và cộng sự (2016). Tác giả Zarei và cộng sự (2016) sử dụng điều kiện hấp là nhiệt độ 115°C trong 10 phút để thu nhận dịch chiết nấm men từ men bánh mì. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, điều kiện nhiệt độ 120°C chỉ trong 10 phút không phải là điều kiện tối ưu nhằm có được tỉ lệ tế bào bị phá vỡ, thu nhận lượng protein và nucleic acid cao nhất. Điều này có thể do nguồn nguyên liệu nấm men khác nhau của hai nghiên cứu. Để thu nhận được dịch chiết nấm men, điều kiện tiên quyết là phải phá vỡ được vách/màng tế bào, và điều này phụ thuộc vào cấu trúc của vách/màng tế bào. Vách/màng tế bào nấm men thu nhận sau quá trình lên men rượu (thích nghi với cồn) có thể bị thay đổi theo chiều hướng bền hơn với nhiệt, do đó, cần nhiều thời gian hơn để phá vỡ tế bào nấm men so với việc thu nhận từ lên men bánh mì.

Bảng 1

Tỉ lệ tế bào nấm men bị phá vỡ theo thông số khảo sát Tỉ lệ bã men:dH₂O, Thời gian hấp và Nhiệt độ hấp (giá trị được biểu diễn là Trung bình của 003 lần lặp lại $\pm$ độ lệch chuẩn)

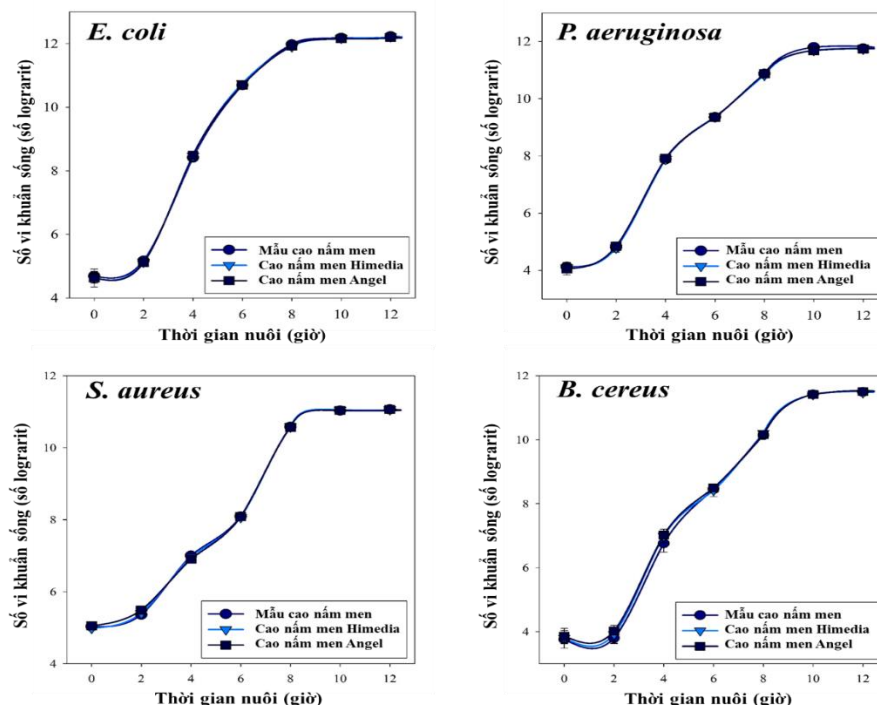
Tỉ lệ bã men: dH ₂ O (g/mL)	Tỉ lệ tế bào bị phá vỡ - Trung bình $\pm$ SD (%)	Thời gian hấp (phút)	Tỉ lệ tế bào bị phá vỡ - Trung bình $\pm$ SD (%)	Nhiệt độ hấp (°C)	Tỉ lệ tế bào bị phá vỡ - Trung bình $\pm$ SD (%)
1:1	27.67 $\pm$ 1.89 ^a				
1:2	29.33 $\pm$ 1.04 ^a				
1:3	6.33 $\pm$ 0.76 ^b	10	47.77 $\pm$ 2.87 ^a	100	37.33 $\pm$ 2.75 ^a
1:4	60.50 $\pm$ 1.32 ^b	20	60.83 $\pm$ 1.26 ^b	110	61.50 $\pm$ 6.26 ^b
1:5	64.33 $\pm$ 1.15 ^b	30	61.50 $\pm$ 2.78 ^b	121	63.33 $\pm$ 4.73 ^b

^{a,b}: Phân tích phương sai một yếu tố ANOVA đối với từng yếu tố khảo sát

Nguồn: Kết quả xử lý từ dữ liệu điều tra

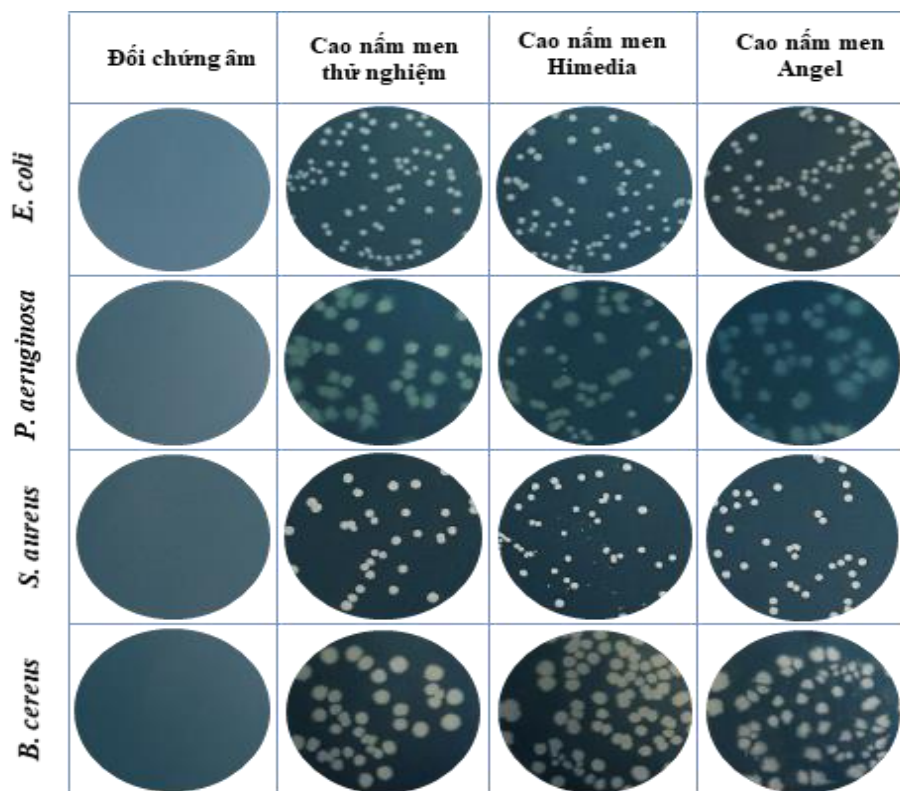
4.2. Hiệu năng của cao nấm men trong nuôi cấy vi khuẩn

Hiệu năng của cao nấm men thử nghiệm trong nuôi cấy vi khuẩn được chứng minh thông qua số vi khuẩn sống (khuẩn lạc/mL - CFU/mL) nuôi trong môi trường chứa các loại cao nấm men thử nghiệm. Kết quả cho thấy, các chủng vi khuẩn *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* và *B. cereus* được nuôi trong môi trường chứa cao nấm men được sản xuất từ men thải của quá trình chưng cất rượu công nghiệp cho thấy khả năng tăng trưởng tương tự như nuôi trong môi trường chứa cao nấm men thương mại (Hình 4).



Hình 4. Đường cong tăng trưởng của các chủng vi sinh vật *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* và *B. cereus* được nuôi trong môi trường có nguồn dinh dưỡng chính là cao nấm men của mẫu thí nghiệm, cao nấm men hãng Himedia và hãng Angel. Kết quả được trình bày là giá trị trung bình của ba lần lặp lại (Mean) và độ lệch chuẩn (SD)

Ngoài ra, hình dạng và kích thước khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn được nuôi trong môi trường có cao nấm men sản xuất từ men thải của quá trình chưng cất rượu công nghiệp cũng tương tự như nuôi trong môi trường chứa cao nấm men thương mại (Hình 5). Từ đó kết luận, cao nấm men thử nghiệm có hiệu quả tương đương với cao nấm men hãng Himedia và Angel trên các chủng vi khuẩn thử nghiệm.



Hình 5. Khuẩn lạc của các chủng *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* và *B. cereus* nuôi trong môi trường chứa cao nấm men thử nghiệm, cao nấm men hãng Himedia và Angel. Đối chứng âm là môi trường nuôi cấy không chứa cao nấm men

5. Kết luận & gợi ý

Qua quá trình khảo sát các điều kiện tách chiết như nhiệt độ, thời gian và tỉ lệ bã men:nước thì tỉ lệ bã men:nước là 1:4 (khối lượng/thể tích) được hấp ở nhiệt độ 110°C trong 20 phút được coi là tối ưu để tách chiết dịch chiết nấm men từ bã men của quá trình lên men rượu công nghiệp.

Cao nấm men thử nghiệm đã chứng minh hiệu năng trong nuôi cấy các chủng vi khuẩn Gram dương (*S. aureus* và *B. cereus*) và Gram âm (*E. coli* và *P. aeruginosa*) so với các sản phẩm cao nấm men thương mại trong và ngoài nước. Vì vậy, cao nấm men sản xuất bằng phương pháp vật lý (sử dụng nhiệt độ kết hợp với áp suất) từ bã men của quá trình lên men rượu công nghiệp được coi là có tiềm năng trong nuôi cấy vi khuẩn.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ NTTU trong đề tài mã số 2020.01.014.

Tài liệu tham khảo

- Hyoky, G., Sarkki, M., & Tylli, M. (1997). Non-bitter yeast extract. *Trends in Food Science & Technology*, 11(8), Article 383.
- Jacob, F. F., Striegel, L., Rychlik, M., Hutzler, M., & Methner, F.-J. (2019). Yeast extract production using spent yeast from beer manufacture: Influence of industrially applicable disruption methods on selected substance groups with biotechnological relevance. *European Food Research and Technology*, 245(6), 1169-1182.
- Lee, A., & Fujio, Y. (1999). Microflora of banh men, a fermentation starter from Vietnam. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 15(1), 51-55.
- Nout, M., & Aidoo, K. (2002). Asian fungal fermented food. In H. D. Osiewacz (Ed.), *Industrial applications* (pp. 23-47). Switzerland AG: Springer.
- Podpora, B., Świdorski, F., Sadowska, A., Rakowska, R., & Wasiak-Zys, G. (2016). Spent brewer's yeast extracts as a new component of functional food. *Czech Journal of Food Sciences*, 34(6), 554-563.
- Sommer, R. (1998). Yeast extracts: Production, properties and components. *Food Australia*, 50(4), 181-183.
- Suwanapong, S., Khongsay, N., Laopaiboon, L., Jaisil, P., & Laopaiboon, P. (2013). Dried spent yeast and its hydrolysate as nitrogen supplements for single batch and repeated-batch ethanol fermentation from sweet sorghum juice. *Energies*, 6(3), 1618-1631.
- Tanguler, H., & Erten, H. (2008). Utilisation of spent brewer's yeast for yeast extract production by autolysis: The effect of temperature. *Food and Bioproducts Processing*, 86(4), 317-321.
- VGSO. (2016). *Main products of Vietnamese industry in 2016*. Truy cập ngày 10/10/2020 tại <https://www.gso.gov.vn/px-web-2/?pxid=V0705&theme=C%C3%B4ng%20nghệ%20Việt%20Nam>
- VGSO. (2018). *Main products of Vietnamese industry in 2018*. Truy cập ngày 10/10/2021 tại <https://www.gso.gov.vn/px-web-2/?pxid=V0705&theme=C%C3%B4ng%20nghệ%20Việt%20Nam>
- Wang, H., & Fang, S. (1986). History of Chinese fermented foods. In H. C. a. W. H. (Ed.), *Indigenous fermented food of non-western origin* (pp. 23-35). Berlin and Stuttgart: Cramer Press.
- Zarei, O., Dastmalchi, S., & Hamzeh-Mivehroud, M. (2016). A simple and rapid protocol for producing yeast extract from *Saccharomyces cerevisiae* suitable for preparing bacterial culture media. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 15(4), 907-913.

