

TỐI ƯU HÓA QUÁ TRÌNH NHÂN GIỐNG NẤM MEN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* TRONG DỊCH BƯỚI BẰNG PHƯƠNG PHÁP BỀ MẶT ĐÁP ỨNG

Hồ Thị Ngân Hà¹

Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* đã được tối ưu hóa quá trình nhân giống trong môi trường dịch bưởi nhằm thu được mật độ tế bào cực đại. Nghiên cứu tiến hành khảo sát ảnh hưởng của nồng độ chất khô hòa tan ban đầu (độ Brix) và pH dịch bưởi cùng với tỷ lệ nấm men thuần khiết sử dụng trong quá trình nhân giống cũng như hàm lượng NaHSO₃ và thời gian thanh trùng dịch bưởi trước khi nhân giống. Các thí nghiệm được thiết kế theo phương pháp bề mặt đáp ứng (*Response surface methodology-RSM*). Kết quả đã tìm ra giá trị tối ưu của các nhân tố là nồng độ chất khô hòa tan ban đầu của dịch bưởi (21,07 °Bx), pH (4,14), tỷ lệ nấm men thuần (0,46%) kết hợp với hàm lượng NaHSO₃ (109,50 mg/L) và thời gian thanh trùng (38,21 phút) cho mật độ tế bào nấm men cực đại theo mô hình là 8,89387.109 tế bào/mL sau 24 giờ nhân giống.

Từ khóa: Nhân giống, *Saccharomyces cerevisiae*, dịch bưởi, RSM.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rượu vang là một loại rượu nhẹ được lên men trực tiếp từ dịch ép trái cây, đây là một thức uống có giá trị dinh dưỡng cao, hương vị thơm ngon và có lợi cho sức khỏe khi dùng một cách điều độ. Có hai phương pháp để lên men rượu vang là lên men tự nhiên và lên men nhờ các chủng nấm men thuần khiết. Phương pháp sản xuất rượu vang từ chủng thuần khiết có rất nhiều ưu điểm như thời gian lên men nhanh, sử dụng triệt để nguồn cơ chất, nồng độ cồn thu được cao hơn lên men tự nhiên, vang sáng màu nhanh hơn và có hương vị thanh khiết hơn.

Bưởi là một loại trái cây ngon, rất được ưa chuộng và trồng phổ biến ở nước ta. Thịt bưởi có chứa nhiều nước và một lượng đường tương đối lớn, đặc biệt là hàm lượng vitamin C và chất khoáng khá cao, nên có thể dùng để sản xuất loại rượu vang vừa ngon lại vừa đem lại nhiều lợi ích cho sức khỏe.

Vì vậy, nghiên cứu tiến hành tối ưu hóa quá trình nhân giống nấm men *Sac-*

charomyces cerevisiae thuần khiết trong dịch bưởi nhằm giúp nấm men tăng sinh khối đồng thời thích nghi dần với môi trường lên men, và từ đó có thể ứng dụng để lên men rượu vang bưởi.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Nguyên liệu: Bưởi Năm Roi, đường saccharose tinh luyện Biên Hòa. Các nguyên liệu này được mua trực tiếp ở siêu thị để đảm bảo chất lượng ổn định và an toàn thực phẩm.

- Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* Angel RV 100 (Trung Quốc).

- Hóa chất: acid citric, Na₂CO₃, NaHSO₃ và các hóa chất khác dùng để phân tích.

Nấm men và các hóa chất được cung cấp bởi Công ty TNHH Anh Vũ (TPHCM).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí theo

¹ThS – Trường ĐH An Giang
ĐT: 0919.965143
Email: htnha@agu.edu.vn

Ngày nhận bài: 7/12/2016

Ngày phản biện đánh giá: 1/2/2017

Ngày đăng bài: 3/5/2017

phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM - Response Surface Methodology) với mô hình phức hợp tại tâm (CCD - Central Composite Design).

Thiết kế thí nghiệm, phân tích thống kê và mô hình hồi qui bằng phần mềm Portable Statgraphics Centurion 15.2.11.0. Xử lý thống kê bằng phương pháp phân tích ANOVA với sự kiểm tra mức độ ý nghĩa của các nghiệm thức qua LSD ở độ tin cậy 95% ($P = 0,05$).

2.2.2. Quy trình nhân giống nấm men *Saccharomyces cerevisiae* trong dịch bươi

Chọn bươi Năm Roi có độ chín vừa phải. Bươi được tách riêng phần vỏ và

phần múi. Phần múi bươi được tách múi và ép lấy dịch quả để làm môi trường nhân giống. Tiến hành lọc dịch bươi qua vải lọc, sau đó dịch bươi được pha loãng với nước theo tỷ lệ 1:1 và điều chỉnh hàm lượng chất khô hòa tan ban đầu theo độ Brix bằng cách bổ sung đường, điều chỉnh pH bằng cách bổ sung acid citric hoặc Na_2CO_3 để tạo điều kiện thích hợp cho nấm men sinh trưởng. Cần thanh trùng dịch bươi bằng NaHSO_3 để tiêu diệt các vi sinh vật tạp. Bổ sung nấm men *Saccharomyces cerevisiae* thuần khiết vào môi trường dịch bươi, nuôi cấy ở điều kiện nhiệt độ thường.

2.2.3. Phương pháp phân tích

Bảng 1: Phương pháp phân tích các chỉ tiêu

Chỉ tiêu	Phương pháp phân tích
pH	Sử dụng pH kế
Độ Brix	Sử dụng Brix kế
Hàm lượng đường	Phương pháp Lane-Eynon [1]
Hàm lượng acid tổng	Phương pháp chuẩn độ bằng dung dịch kiềm[2]
Hàm lượng vitamin C	Phương pháp sử dụng iod [2]
Mật độ nấm men	Phương pháp đếm trên buồng đếm [3]

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Xác định các thành phần chính của dịch bươi.

Thành phần hóa học của nguyên liệu có ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình nghiên cứu. Tùy theo nguồn nguyên liệu mà các thông số trong quy trình sẽ thay đổi theo. Cho nên việc tìm hiểu thành

phần hóa học của nguyên liệu là một khâu rất quan trọng để góp phần xác định các thông số tối ưu cho quy trình sản xuất, đồng thời cũng góp phần giúp nhà sản xuất xác định giá trị dinh dưỡng mà nguyên liệu cung cấp. Kết quả được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2: Các chỉ tiêu của dịch bươi

Chỉ tiêu	Hàm lượng (*)
Độ Brix (%)	11,0
pH	3,8
Đường tổng (%)	9,8
Đường khử (%)	5,9
Acid tổng (tính theo acid citric) (%)	0,58
Vitamin C (mg%)	80

Ghi chú: (*) Kết quả trung bình của ba lần lặp lại

Từ kết quả phân tích các chỉ tiêu của nguyên liệu dịch bưởi ở bảng 2 cho thấy, hàm lượng chất khô hòa tan ban đầu trong nguyên liệu tương đối thấp (11,0%), tương ứng với hàm lượng đường tổng là 9,8% và hàm lượng đường khử là 5,9%, vì vậy cần bổ sung thêm đường để dịch nhân giống có đủ cơ chất cho nấm men sinh trưởng. Bưởi thuộc nhóm quả chua, giá trị pH khoảng 3,9 tương đương với hàm lượng acid tổng là 0,53%. Để điều chỉnh pH thích hợp, nghiên cứu sử dụng acid citric (vì đây cũng là acid chủ yếu trong dịch bưởi) hoặc Na_2CO_3 . Bên cạnh đó, bưởi thuộc loại quả citrus nên chứa hàm lượng vitamin C khá cao (80 mg%), góp phần cung cấp thêm nguồn dinh dưỡng cho nấm men sinh sản và phát triển.

3.2. Kết quả ảnh hưởng của độ Brix, pH và tỷ lệ nấm men *Saccharomyces cerevisiae* thuần đến quá trình nhân giống trong dịch bưởi

Nhân giống là quá trình làm tăng số lượng tế bào vi sinh vật sau mỗi chu kỳ cho tới khi đủ số lượng phục vụ cho sản xuất. Biến đổi chủ yếu trong giai đoạn này là quá trình tăng nhanh sinh khối nấm men. Quá trình này chịu ảnh hưởng của rất nhiều yếu tố, đặc biệt là điều kiện của dịch nhân giống (độ Brix, pH) và tỷ lệ nấm men thuần sử dụng, vì vậy, nghiên cứu tiến hành khảo sát những nhân tố này để tìm ra các thông số tối ưu giúp nấm men sinh trưởng thuận lợi. Kết quả được thể hiện trong bảng 3, bảng 4, hình 1, hình 2, hình 3.

Bảng 3: Sự thay đổi mật độ tế bào nấm men trong dịch bưởi theo thời gian nhân giống ở các giá trị độ Brix, pH và tỷ lệ nấm men khác nhau

Mẫu	Độ Brix, X_1 (°Bx)	pH, X_2	Tỷ lệ nấm men, X_3 (%)	Mật độ tế bào nấm men trong dịch bưởi theo thời gian nhân giống (10 ⁹ tế bào/mL)					
				6 giờ	12 giờ	18 giờ	24 giờ	30 giờ	36 giờ
1	19(-1)	3,5(-1)	0,3(-1)	3,27	5,10	6,09	7,31	6,73	5,21
2	25(+1)	3,5(-1)	0,3(-1)	3,09	4,75	5,73	6,48	5,95	4,65
3	19(-1)	4,5(+1)	0,3(-1)	3,47	5,28	6,32	7,57	6,95	5,59
4	25(+1)	4,5(+1)	0,3(-1)	3,18	4,94	5,77	6,79	6,19	4,79
5	19(-1)	3,5(-1)	0,5(+1)	4,54	6,38	7,43	7,21	6,43	4,97
6	25(+1)	3,5(-1)	0,5(+1)	3,34	5,11	5,84	6,52	6,69	5,77
7	19(-1)	4,5(+1)	0,5(+1)	4,69	6,57	7,63	7,36	6,64	5,26
8	25(+1)	4,5(+1)	0,5(+1)	3,39	4,97	5,92	6,87	6,99	6,01
9	16(-1,7)	4,0(0)	0,4(0)	3,12	4,84	5,67	6,39	5,56	4,19
10	28(+1,7)	4,0(0)	0,4(0)	2,97	4,12	4,56	4,95	4,65	4,08
11	22(0)	3,0(-1,7)	0,4(0)	4,03	5,75	6,59	7,05	6,62	5,11
12	22(0)	28(+1,7)	0,4(0)	4,09	5,81	6,71	7,36	6,87	5,27
13	22(0)	4,0(0)	0,2(-1,7)	2,62	4,13	5,02	5,87	5,56	4,53
14	22(0)	4,0(0)	0,6(+1,7)	4,80	6,61	7,51	7,96	8,01	7,2
15	22(0)	4,0(0)	0,4(0)	4,35	6,11	7,15	7,87	7,45	6,03
16	22(0)	4,0(0)	0,4(0)	4,46	6,25	7,28	7,85	7,39	6,01
17	22(0)	4,0(0)	0,4(0)	4,43	6,15	7,23	7,90	7,54	6,14
18	22(0)	4,0(0)	0,4(0)	4,39	6,28	7,29	8,03	7,63	6,21
19	22(0)	4,0(0)	0,4(0)	4,37	6,19	7,18	7,99	7,50	6,09
20	22(0)	4,0(0)	0,4(0)	4,32	6,21	7,21	8,05	7,69	6,17

Ghi chú: Số trong ngoặc là giá trị được mã hóa

Qua kết quả ở bảng 3 nhận thấy, mật độ tế bào nấm men tăng dần theo thời gian nhân giống và đạt giá trị cực đại sau 18 - 30 giờ. Tiến hành thống kê mật độ tế

bào nấm men trong dịch bươi của các mẫu ở các mốc thời gian nhân giống đạt giá trị cực đại, kết quả được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4: Kết quả phân tích ANOVA mật độ tế bào nấm men trong dịch bươi theo độ Brix, pH và tỷ lệ nấm men

Yếu tố	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình bình phương	Tỷ số F	Giá trị P
A:Độ Brix	3,02865.10 ¹⁸	1	3,02865.10 ¹⁸	29,44	0,0003
B:pH	3,97338.10 ¹⁷	1	3,97338.10 ¹⁷	3,86	0,0778
C:Tỷ lệ nấm men	2,46148.10 ¹⁷	1	2,46148.10 ¹⁷	2,39	0,1529
AA	7,72561.10 ¹⁸	1	7,72561.10 ¹⁸	75,09	0,0000
AB	2,22222.10 ¹⁵	1	2,22222.10 ¹⁵	0,02	0,8861
AC	7,20000.10 ¹⁵	1	7,20000.10 ¹⁵	0,07	0,7967
BB	7,27924.10 ¹⁷	1	7,27924.10 ¹⁷	7,08	0,0239
BC	8,00000.10 ¹⁴	1	8,00000.10 ¹⁴	0,01	0,9315
CC	1,42002.10 ¹⁸	1	1,42002.10 ¹⁸	13,80	0,0040
Tổng sai số	1,02879.10 ¹⁸	10	1,02879.10 ¹⁷		
Tổng tương quan	1,29797.10 ¹⁹	19			

$R^2 = 92,0738\%$

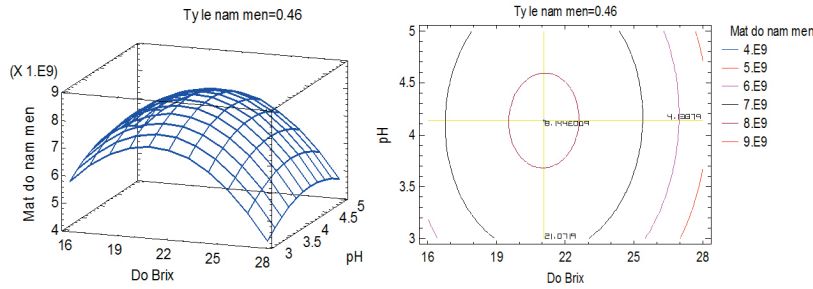
R^2 (hiệu chỉnh) = 84,9403%

Sau khi phân tích phương sai (ANOVA), phương trình hồi quy được dùng như là một mô hình để tiên đoán mật độ tế bào nấm men thu được.

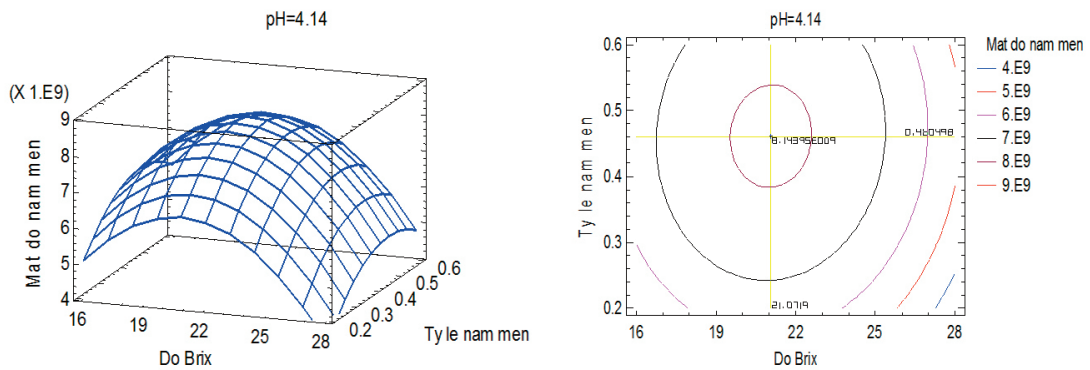
$$Y = -3,43463.10^{10} + 2,50306.10^9x_1 + 5,4904.10^9x_2 + 2,06538.10^{10}x_3 - 6,15909.10^7x_{12} + 1,11111.10^7x_1x_2 + 1.10^8x_1x_3 - 6,80606.10^8x_2^2 - 2.108x_2x_3 - 2,37652.10^{10}x_3^2$$

Trong đó, Y là mật độ tế bào nấm men trong dịch bươi (tế bào/mL); x₁, x₂, x₃ lần lượt là độ Brix (oBx), pH và tỷ lệ nấm men (%).

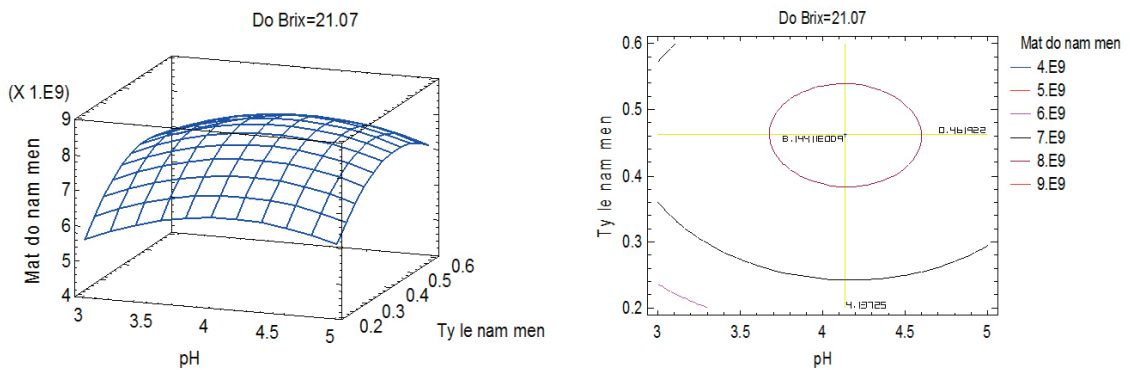
Hệ số hồi quy R² là một giá trị để đo lường mức độ tin cậy. R² thể hiện rằng có 92,1% số liệu thực nghiệm tương thích với số liệu tiên đoán theo mô hình. Để tìm hiểu rõ hơn về tương tác của từng cặp nhân tố cũng như để xác định mức độ tối ưu của mỗi biến cho mật độ tế bào nấm men tối ưu, đồ thị bề mặt ba chiều tương tác được xây dựng với trục Z là mật độ nấm men và hai biến độc lập bất kỳ, trong khi duy trì biến còn lại ở mức tối ưu của chúng



Hình 1: Biểu đồ mặt đáp ứng thể hiện sự phụ thuộc của mật độ tế bào nấm men trong dịch bươi vào độ Brix và pH khi cố định tỷ lệ nấm men ở 0,46%



Hình 2: Biểu đồ mặt đáp ứng thể hiện sự phụ thuộc của mật độ tế bào nấm men trong dịch bươi vào độ Brix và tỷ lệ nấm men khi cố định pH ở 4,14



Hình 3: Biểu đồ mặt đáp ứng thể hiện sự phụ thuộc của mật độ tế bào nấm men trong dịch bươi vào pH và tỷ lệ nấm men khi cố định độ Brix ở 21,1%

Về ảnh hưởng của độ Brix, các mẫu có hàm lượng đường trung bình (22 °Bx) là có mật độ tế bào nấm men cực đại cao nhất. Còn các mẫu có hàm lượng đường thấp (16 °Bx và 19 °Bx) không cung cấp đủ cơ chất cho nấm men phát triển. Ngược

lại, những mẫu có hàm lượng đường cao (25 °Bx và 28 °Bx) sẽ có tác dụng ức chế sự phát triển của nấm men. Nguyên nhân là vì khi nồng độ cơ chất đạt đến một giá trị tới hạn nào đó, hoạt độ nước giảm và xảy ra sự co tế bào chất làm ảnh hưởng đến

sự sinh trưởng của nấm men [4].

Giá trị pH cũng có ảnh hưởng đến hoạt động của nấm men. Nồng độ H⁺ có khả năng thay đổi điện tích các chất của vỏ tế bào, làm tăng hoặc giảm mức độ thẩm thấu các chất dinh dưỡng cũng như chiều hướng của quá trình lên men. Mỗi vi sinh vật chỉ có thể hoạt động tốt trong trạng thái ion nhất định [5]. Vì vậy, ở pH môi trường thấp (3,0 và 3,5) hoặc cao (4,5 và 5,0) thì mật độ tế bào nấm men đều thấp. Từ đó cho thấy giá trị pH khoảng 4,0 là thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của nấm men *Saccharomyces cerevisiae*. Hơn nữa, trong môi trường có pH thấp, các ion H⁺ xâm nhập vào bên trong tế bào nhiều làm vô hoạt enzyme nội bào [6]. Ngoài ra, ở pH thấp, tế bào cần dùng năng lượng để duy trì sự sống hơn là sự sinh trưởng [7].

Mật độ tế bào nấm men tăng nhanh ở các mẫu có tỷ lệ nấm men cao. Nguyên nhân là vì tỷ lệ nấm men càng cao thì nấm men tăng sinh khối càng nhiều và giá trị tối đa đạt được càng nhanh. Mẫu có tỷ lệ nấm men 0,2% có tốc độ tăng sinh khối chậm nhất. Khi tăng tỷ lệ nấm men lên khoảng 0,4% thì mật độ tế bào trong dịch bươi thu được tăng lên. Tuy nhiên, khi tỷ lệ nấm men tiếp tục tăng đến 0,6% thì mật

độ tế bào nấm men có xu hướng giảm do có sự cạnh tranh giữa các tế bào nấm men về dinh dưỡng.

Từ các biểu đồ ở hình 1, hình 2 và hình 3 cũng có thể xác định được giá trị tối ưu của từng yếu tố làm cho hàm đáp ứng cực đại. Mô hình đã dự đoán mật độ tế bào nấm men tối đa đạt được (8,1447.10⁹ tế bào/mL) ở giá trị các nhân tố: độ Brix (21,1%), pH (4,14) và tỷ lệ nấm men (0,46%).

3.3. Kết quả ảnh hưởng của hàm lượng NaHSO₃ và thời gian thanh trùng đến quá trình nhân giống nấm men *Saccharomyces cerevisiae* trong dịch bươi

SO₂ có ích cho quá trình lên men vang khi được bổ sung với một lượng nhỏ. SO₂ giúp bảo vệ rượu vang khỏi quá trình oxi hóa, đồng thời SO₂ cũng hữu dụng cho quá trình điều khiển sự sinh trưởng của vi khuẩn và nấm men do SO₂ ức chế và tiêu diệt một số vi khuẩn bất lợi (lactic, acetic) và nấm men dại [9]. Nghiên cứu sử dụng SO₂ dưới dạng muối NaHSO₃.

Tiến hành thống kê mật độ tế bào nấm men trong dịch bươi của các mẫu sau thời gian nhân giống 24 giờ, kết quả được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5: Kết quả phân tích ANOVA mật độ tế bào nấm men trong dịch bươi theo hàm lượng NaHSO₃ và thời gian thanh trùng

Yếu tố	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình bình phương	Tỷ số F	Giá trị P
A: Hàm lượng NaHSO ₃	1,42223.10 ¹⁸	1	1,42223.10 ¹⁸	92,46	0,0000
B: Thời gian thanh trùng	1,21635.10 ¹⁷	1	1,21635.10 ¹⁷	7,91	0,0261
AA	1,93879.10 ¹⁸	1	1,93879.10 ¹⁸	126,04	0,0000
AB	2,91271.10 ¹⁶	1	2,91271.10 ¹⁶	1,89	0,2112
BB	2,14228.10 ¹⁷	1	2,14228.10 ¹⁷	13,93	0,0073
Tổng sai số	1,07680.10 ¹⁷	7	1,53828.10 ¹⁶		
Tổng tương quan	4,96056.10 ¹⁸	12			

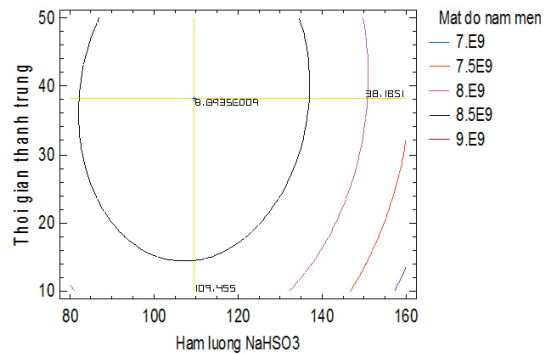
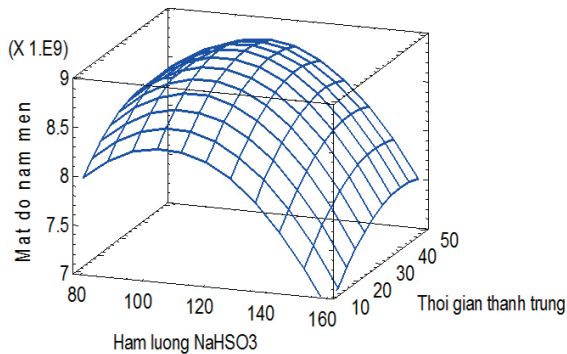
R² = 97,8293%

R² (hiệu chỉnh) = 96,2788%

Sau khi phân tích phương sai (ANOVA), phương trình hồi quy được dùng như là một mô hình để tiên đoán mật độ tế bào nấm men thu được.

$$Y = 2,04376.10^9 + 1,10609.10^9x_1 + 4,15425.10^7x_2 - 523649x_1^2 + 106667x_1x_2 - 696264x_2^2$$

Trong đó, Y là mật độ tế bào nấm men



Hình 4: Biểu đồ mặt đáp ứng thể hiện sự phụ thuộc của mật độ tế bào nấm men trong dịch bươi vào hàm lượng NaHSO₃ và thời gian thanh trùng

Biểu đồ ở hình 4 cho thấy khi hàm lượng NaHSO₃ tăng từ 80 mg/L lên khoảng 110 mg/L thì mật độ tế bào nấm men tăng lên. Nguyên nhân là do hàm lượng NaHSO₃ cao thì lượng SO₂ sinh ra nhiều nên ức chế và tiêu diệt được nhiều vi sinh vật tạp, làm giảm khả năng cạnh tranh giúp nấm men tăng trưởng và phát triển mạnh. Trong nghiên cứu của Constanti, Reguant, Poblet, Zamora, & Mas (1998), kết quả cho thấy SO₂ đã ngăn chặn sự phát triển của các loài không phải *Saccharomyces* và làm tăng tốc độ phát triển của các chủng *Saccharomyces cerevisiae* [10]. Tuy nhiên nếu tiếp tục tăng hàm lượng NaHSO₃ lên dần đến 160 mg/L thì mật độ tế bào nấm men lại giảm xuống. Bởi vì lúc đó dư lượng SO₂ còn lại sau khi thanh trùng nhiều sẽ ức chế luôn cả nấm men *S. cerevisiae*. Kết quả này tương tự như nghiên cứu của Frivik và Ebeler (2003). Các tác giả này cho thấy rằng khi bổ sung hàm lượng SO₂ từ 0 đến 100 ppm không gây ức chế khả năng sinh trưởng của nấm men, nhưng khi hàm lượng SO₂ cao hơn nữa thì tốc độ sinh trưởng của nấm men giảm [11].

Thời gian thanh trùng cũng ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng của nấm men. Khi thanh trùng với thời gian 10 phút thì chưa đủ để ức chế hết các loài vi sinh vật tạp nên nấm men tăng trưởng chậm, mật độ tế bào nấm men đạt thấp hơn so với các mẫu được thanh trùng với thời gian 30 phút. Nhưng nếu tiếp tục kéo dài thời gian thanh trùng lên đến 50 phút thì mật độ tế bào nấm men cũng không có sự khác biệt đáng kể do lúc này phần lớn vi khuẩn và nấm men đã bị tiêu diệt nên thời gian thanh trùng quá dài sẽ trở nên dư thừa.

Từ mặt đáp ứng ở hình 8 cũng có thể xác định được giá trị tối ưu của từng nhân tố làm cho hàm đáp ứng cực đại. Mô hình đã dự đoán mật độ tế bào nấm men trong dịch bươi tối đa đạt được (8,89387.10⁹ tế bào/mL) ở giá trị các nhân tố: hàm lượng NaHSO₃ (109,50 mg/L) và thời gian thanh trùng (38,21 phút).

IV. KẾT LUẬN VÀ KHUYẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Tiến hành nhân giống với dịch bươi có hàm lượng chất khô hòa tan ban đầu là

21,1^oBx, pH là 4,14, tỷ lệ nấm men là 0,46% sẽ tạo điều kiện thích hợp để nấm men sinh trưởng và đạt mật độ tế bào cao nhất (8,1447.10⁹ tế bào/mL) sau 24 giờ nhân giống.

Mật độ nấm men trong dịch bươi đạt được cao nhất (8,89387.10⁹ tế bào/mL) khi thanh trùng với hàm lượng NaHSO₃ 109,50 mg/L và thời gian 38,21 phút.

4.2. Khuyến nghị

Cần khảo sát các chất dinh dưỡng bổ sung trong quá trình nhân giống và khảo sát ảnh hưởng của oxy trong quá trình nhân giống.

Ứng dụng dịch nhân giống này để cố định nấm men hoặc lên men rượu vang bươi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hà Duyên Tư (Chủ biên) (2009). Hà Nội: Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật.
2. Trần Bích Lam (2006). *Thí nghiệm phân tích thực phẩm*. Nhà xuất bản Đại học quốc gia TP HCM.
3. Lê Văn Việt Mẫn (Chủ biên) (2006). *Thí nghiệm vi sinh vật học thực phẩm*. Nhà xuất bản Đại học quốc gia TP HCM.
4. Bajpai, P.K. & Margaritis, A. (1985). *Kinetics of ethanol production by immobi-*

lized cells of Zymomonas mobilis at varying D-glucose concentrations. Enzyme Microb. Technol., 7, 462-464.

5. Nguyễn Đình Thường & Nguyễn Thanh Hằng (2007). *Công nghệ sản xuất và kiểm tra cồn etylic*. Hà Nội: Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật.
6. Ferraro, L., Faticenti, F., Ciani, M. (2000). *Pilot scale vinification process using immobilized Candida stellata cells and Saccharomyces cerevisiae*. Process Biochemistry, 35, 1125-1129.
7. Argiriou, T., Kanellaki, M., Voliotis, S., & Koutinas, A.A. (1996). *Kissiris-supported yeast cells: high biocatalytic stability and productivity improvement by successive preservations at 0°C*. J. Agric. Food Chem., 44, 4028-4031.
8. Eisenman, L. (1998). *The home winemakers manual*. Del Mar, p179.
9. Constantí, M., Reguant, C., Poblet, M., Zamora, F., & Mas, A. (1998). *Molecular analysis of yeast population dynamics: Effect of sulphur dioxide and inoculum on must fermentation*, International Journal of Food Microbiology, 41, 169-175.
10. Frivik, S.K. & Ebeler, S.E. (2003). *Influence of Sulfur Dioxide on the Formation of Aldehydes in White Wine*. Am. J. Enol. Vitic., 54 (1), 32-38.

Summary

OPTIMIZATION OF SACCHAROMYCES CEREVISIAE PROPAGATION IN GRAPEFRUIT JUICE USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

The propagation of *Saccharomyces cerevisiae* in grapefruit juice has been optimized to obtain maximum population. This study investigated the effects of initial soluble dry concentration (oBrix) and pH of grapefruit juice with the ratio of pure yeast used in propagation as well as NaHSO₃ concentration and the duration of pasteurization of grapefruit juice before reproduction. These experiments were designed by using the response surface methodology (RSM). The research results found optimal values of these factors as follows: the initial soluble dry concentration (21.07oBx), pH (4.14), the percentage of pure yeast (0.46%) associated with NaHSO₃ concentration (109.50 mg/L) and pasteurization time (38.21 minutes), under which the highest yeast cell density was obtained. The predicted maximum density of yeast cell attained to 8.89387.10⁹ cells/mL after 24 hours of propagation.

Key words: *propagation, Saccharomyces cerevisiae, grapefruit juice, RSM.*