

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG LÊN MEN VÀ TÍNH CHỊU CỒN CỦA NẤM MEN

Ngô Thị Phương Dung¹

ABSTRACT

Of 50 yeast isolates from “banh men”, 9 strains were selected based on their better fermentative capacity in glucose solution after 14 hours of fermentation. These selected strains were studied further for their fermentation rate in saccharified glutinous rice liquid for 5 days at 30°C. They performed successfully in the alcoholic fermentation with mostly using of a relative high initial percentage of glucoz in which 8.6% (w/v) ethanol was produced from the initial reducing sugars at 18% (w/v). In the experiment of challenge with added ethanol, the yeast growth was inhibited by ethanol levels of 5 to 6% (w/v) in case of 7 isolates and 2.4 to 3% (w/v) ethanol in case of 2 isolates. The selected yeast strains were generally characterized as a genera of Saccharomyces based on the macro- and micro-morphological examination.

Keywords: yeast, fermentation, ethanol tolerance

Title: Study of fermentative capacity and ethanol tolerance of yeasts

TÓM TẮT

Từ 50 dòng men được phân lập từ viên men rượu, 9 dòng được tuyển chọn do có khả năng lên men tốt trong dung dịch đường glucoz sau 14 giờ lên men. Những dòng men này tiếp tục được thử nghiệm khả năng lên men rượu trong dung dịch đường khử từ nếp ở 30°C trong 5 ngày. Kết quả cho thấy quá trình lên men rượu thành công thể hiện qua sự tiêu thụ và biến đổi gần như hoàn toàn lượng đường khử ban đầu có nồng độ 18% (w/v), tạo ra ethanol có nồng độ 8,6% (w/v). Kết quả thử khả năng chịu đựng độ cồn cho thấy 7 dòng có khả năng chịu độ cồn trong khoảng 5 – 6% (w/v) ethanol và 2 dòng có khả năng chịu độ cồn thấp hơn từ 2,4 – 3% (w/v) ethanol. Dựa trên phân tích các đặc tính hình thái và sinh trưởng, các dòng men tuyển chọn được quan sát, nhận dạng và định danh sơ bộ thuộc giống Saccharomyces.

Từ khóa: nấm men, sự lên men, tính chịu cồn

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Thức uống lên men là một trong các sản phẩm lên men thực phẩm đã được biết từ rất lâu. Hầu như dân tộc nào cũng có các thức uống lên men truyền thống, một trong những sản phẩm đặc trưng đó là rượu cổ truyền. Cùng với sự phát triển của khoa học, nhiều sản phẩm lên men truyền thống đã được nghiên cứu sâu về mặt khoa học cũng như về mặt kỹ thuật sản xuất. Một số nước trong khu vực đã nghiên cứu và cải tiến thành công chất lượng rượu cổ truyền như rượu Sake của Nhật, rượu Mao Đài của Trung Quốc,...

Ở Việt Nam, các thức uống lên men cũng đa dạng và phong phú như rượu cần, rượu Làng Vân, rượu nếp than, rượu nếp và rượu gạo. Các loại rượu cổ truyền này đều có mùi vị thơm ngon và màu sắc hấp dẫn được nhiều người trong nước và cả

¹ Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học

khách nước ngoài ưa chuộng. Tuy nhiên, các loại rượu cổ truyền ở nước ta được sản xuất hoàn toàn thủ công, sử dụng men chủng từ men rượu và quá trình thực hiện ở điều kiện không được vô trùng. Những kiến thức về mối quan hệ giữa các vi sinh vật hiện diện trong men rượu và phương thức hoạt động của chúng, trong đó nấm mốc và nấm men có vai trò chủ yếu vẫn chưa được biết nhiều. Từ đó, làm cho rượu cổ truyền ở nước ta có năng suất thấp và chất lượng rượu không ổn định. Một trong hai giai đoạn chủ yếu trong quá trình lên men rượu là sự chuyển hóa từ đường thành cồn bởi nấm men (Nout and Aidoo, 2002). Có nhiều dòng nấm men khác nhau tham gia trong quá trình sản xuất rượu lên men (Ray, 2001; Dung *et al.*, 2006). Tuy nhiên, những dòng men quan trọng và chiếm ưu thế trong quá trình lên men rượu là thuộc giống *Saccharomyces*, đặc biệt là *S. cerevisiae* hiện diện trong phần lớn các loại thức uống lên men truyền thống (Wang & Fang, 1986; Lee & Fujio, 1999; Dung *et al.*, 2007). Từ những lý do trên, việc nghiên cứu nâng cao chất lượng rượu cổ truyền ở nước ta là rất cần thiết. Cần phải tập trung giải quyết những mặt còn hạn chế về chất lượng kém và không ổn định của viên men rượu. Đặc biệt là chúng ta cần phải coi trọng việc nghiên cứu và tuyển chọn các dòng men có khả năng lên men rượu tốt và tính chịu cồn cao.

Mục tiêu nghiên cứu

- Sơ tuyển các dòng men có khả năng lên men nhanh và mạnh trong dung dịch đường glucoz.
- Thử khả năng lên men rượu của các dòng men tuyển chọn trong dung dịch đường khử được sản xuất trong quá trình đường hoá của nấm mốc.
- Khảo sát sự phát triển của nấm men ở các nồng độ ethanol khác nhau và xác định tính chịu cồn của chúng.
- Phân tích đặc tính hình thái và sinh trưởng, quan sát, nhận dạng và định danh sơ bộ các dòng nấm men được tuyển chọn.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Thử khả năng lên men đường glucoz của nấm men trong chai Durham

Mục đích sơ tuyển chọn các dòng nấm men có khả năng lên men nhanh và mạnh trong dung dịch đường glucoz từ 50 dòng nấm men trong bộ lưu trữ của Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học – Đại học Cần Thơ.

Nuôi sinh khối nấm men: lấy men khoảng nửa vòng của đầu kim cấy từ ống thạch nghiêng chủng vào ống nghiệm có chứa 5 ml môi trường PGY (khoai tây 20%, glucoz 2%, yeast extract 1%) đã được khử trùng ở 115°C trong 10 phút, ủ trong 24 giờ ở 30°C.

Chủng men giống: lấy 1ml dung dịch nấm men đã được ủ sau 24 giờ cho vào chai Durham có chứa 9ml dung dịch glucoz 2% đã được khử trùng ở 115°C trong 10 phút. Lắc thật đều để dung dịch đường tràn đầy vào ống thuỷ tinh úp ngược nằm bên trong chai Durham, ủ ở 30°C. Thực hiện đo chiều cao cột khí CO₂ được sinh ra trong ống ở các thời điểm: 6, 8, 10, 12, 14 giờ ủ. Thí nghiệm có 3 lần lặp lại.

2.2 Thử khả năng lên men rượu của nấm men từ dịch đường khử

Các dòng men sơ tuyển được tiếp tục thử nghiệm khả năng lên men rượu trong dung dịch đường khử (20°Brix) được chuẩn bị từ nếp sếp sau quá trình đường hoá bằng nấm mốc *Amylomyces rouxii*.

Chuẩn bị dịch đường khử: 100g nếp sếp cùng với 120ml nước cất chứa trong bình tam giác 500ml, đậy bằng nút gòn, ngâm ở nhiệt độ phòng trong 4 giờ. Sau khi ngâm, nếp được hấp bằng autoclave trong 1 giờ ở 100°C. Nếp đã hấp được để nguội đến 35 – 40°C, sau đó chủng mốc bằng cách lấy toàn bộ bào tử và khuẩn ty của mốc *Amylomyces rouxii* đã được ủ 4 ngày ở 30°C trên đĩa môi trường Malt Extract Agar và trộn thật đều. Nếp hấp đã chủng mốc được ủ trong 3 ngày ở 30°C và sau đó thu hoạch bằng cách ly tâm (7.000 vòng/phút trong 20 phút ở 4°C) để lấy dịch đường khử và chỉnh dịch đường khử về 20°Brix.

Chuẩn bị men giống: lấy men khoảng nửa vòng của đầu kim cây từ ống trữ chủng vào ống nghiệm có chứa 12ml môi trường nuôi sinh khối PGY đã được khử trùng ở 115°C trong 10 phút, ủ trong 24 giờ ở 30°C.

Quy trình lên men trong dịch đường khử: 150ml dung dịch đường khử ở 20°Brix chứa trong bình tam giác 250ml, đậy bằng nút gòn. Khử trùng bằng autoclave ở 115°C trong 10 phút, để nguội đến khoảng 35 – 40°C. Chủng 3ml dung dịch men giống đã được nuôi ủ sau 24 giờ và trộn đều. Thay nút gòn và đậy bằng waterlock, ủ 5 ngày ở 30°C trong điều kiện kỵ khí. Thực hiện phân tích các chỉ tiêu: đếm số lượng bọt khí được sinh ra trong waterlock ở mỗi ngày, xác định hàm lượng cồn trong sản phẩm rượu bằng phương pháp chưng cất, đo pH bằng pH kế WTW pH 525, xác định hàm lượng glucoz còn lại sau khi lên men rượu bằng kit thử Glucoz oxidase, Megazyme. Thí nghiệm có 3 lần lặp lại.

2.3 Thử khả năng chịu đựng độ cồn của nấm men

100ml dung dịch đường khử ở 20°Brix (được chuẩn bị như trên) chứa trong bình tam giác 250ml. Khử trùng bằng autoclave ở 115°C trong 10 phút, để nguội đến khoảng 35 – 40°C. Cho ethanol tinh khiết vào môi trường ở các nồng độ 4, 8, và 12% (w/v). Chủng 1ml dung dịch men giống và trộn thật đều. Lấy mẫu đếm mật số tế bào nấm men bằng phương pháp đếm sống trên đĩa môi trường Oxytetracycline-Glucoz Yeast Extract Agar (OGYE) tại thời điểm vừa chủng men vào môi trường (t = 0). Ủ 3 ngày ở 30°C trong điều kiện kỵ khí. Lấy mẫu thực hiện phương pháp đếm sống trên đĩa môi trường OGYE và tính quy ra đơn vị Log CFU/ml. Thí nghiệm có 3 lần lặp lại.

2.4 Ghi nhận đặc tính hình thái và định danh sơ bộ các dòng nấm men

Các dòng nấm men tuyển chọn có khả năng lên men nhanh, mạnh và có tính chịu cồn cao được nhận dạng và định danh sơ bộ dựa trên các đặc tính hình thái và sinh trưởng.

2.5 Xử lý thống kê

Các số liệu thí nghiệm được xử lý thống kê bằng chương trình Stagraphic Plus Version 5, Manugistics, Inc., Rockville, USA.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Khả năng lên men rượu của nấm men trong dung dịch đường glucoz

Đây là 50 dòng men đều có khả năng lên men mạnh sau 24 giờ lên men trong dung dịch đường glucoz. Do mục đích của thí nghiệm là sơ tuyển các dòng men có khả năng lên men mạnh và nhanh – tức là các dòng men đạt được chiều cao cột khí CO₂ tối đa (42mm) trong chai Durham ở thời gian sớm nhất, vì vậy, khả năng lên men được theo dõi và xác định ở các thời gian sau 6, 8, 10, 12 và 14 giờ lên men.

Kết quả thí nghiệm từ Bảng 1 cho thấy sau 6, 8 và 10 giờ lên men thì tốc độ lên men của các dòng men còn chậm, chiều cao cột khí CO₂ trung bình sau 10 giờ lên men khoảng 13 – 25mm. Ở thời gian này, nấm men chủ yếu là tăng sinh khối nên quá trình lên men diễn ra chậm dẫn đến lượng khí CO₂ sinh ra ít. Sau 12 giờ lên men các dòng men lên men nhanh tuy nhiên chiều cao cột khí CO₂ trung bình giữa 3 lần lặp lại của các dòng men vẫn chưa đạt đến chiều cao tối đa của chai Durham là 42mm. Sau 14 giờ lên men đã có một số dòng men đã đạt được chiều cao khí CO₂ là 42mm. Còn sau 16 giờ lên men thì hầu hết các dòng men đều đạt được chiều cao trung bình khí CO₂ là 42mm. Chỉ tiêu đặt ra là chọn các dòng men có khả năng lên men mạnh và nhanh thể hiện qua việc đạt được chiều cao trung bình cột khí CO₂ tối đa (42mm) ở thời gian sớm nhất. Vì vậy, trong trường hợp này thời điểm sau 14 giờ lên men là phù hợp để tuyển chọn các dòng men có khả năng lên men nhanh và mạnh.

Bảng 1: Chiều cao cột khí CO₂ (mm) của 50 dòng men

Dòng men	Chiều cao khí CO ₂ (mm) sau các khoảng thời gian lên men				
	6h	8h	10h	12h	14h
17.1	4,3*	12,3	23,7	33,7	39,3
67.3	1,3	7,7	17,3	28,7	38,7
70.0	1,7	6,7	12,3	23,0	36,3
71.1	1,3	8,0	14,3	21,3	28,0
71.3	3,7	12,0	23,3	36,7	42,0
72.2	0,3	6,0	13,0	21,7	29,3
74.3	5,3	12,3	20,3	31,0	38,7
125.4	5,3	15,7	27,7	36,0	39,7
125.5	6,3	14,3	24,3	31,3	37,7
126.1	7,7	16,3	27,0	36,0	40,3
126.5	6,0	14,7	24,3	37,0	42,0
126.7	7,3	21,0	31,7	33,3	41,0
126.8	5,7	13,7	21,3	31,7	37,3
126.9	4,7	10,0	21,0	30,7	39,3
126.1	7,0	17,3	30,3	35,0	40,3
131.1	9,0	17,7	29,3	38,0	42,0
131.2	8,7	17,7	27,7	38,7	42,0
134.1	4,3	8,7	15,7	21,7	31,7
135.2	5,7	13,0	21,7	31,0	36,3

139.2	7,3	16,0	27,0	36,0	41,0
140.2	4,7	11,0	20,0	36,7	42,0
144.1	7,7	13,0	26,0	36,0	40,7
149.0	4,7	8,7	18,3	29,7	37,0
151.1	4,0	13,0	21,3	37,3	42,0
XII	0,0	4,3	8,3	12,3	18,0
SG	3,0	10,0	15,7	24,0	31,7
MR1	4,3	10,0	19,3	27,7	35,7
2.1	6,0	15,3	24,7	35,7	40,3
2.5	5,0	12,7	22,7	36,7	42,0
2.6	0,3	5,7	11,0	18,0	24,3
2.7	1,0	6,7	10,7	17,3	27,0
2.8	5,7	12,7	24,0	34,0	38,3
15.1	4,7	11,3	22,7	34,0	39,7
15.2	4,3	11,0	18,7	30,3	36,3
15.5	5,0	14,0	23,3	32,7	38,0
15.6	2,0	6,7	12,3	23,3	33,0
15.8	0,3	5,7	11,7	19,0	24,3
20.1	3,3	8,7	17,3	27,7	37,3
23.2	3,7	11,3	17,7	31,7	39,0
23.4	5,0	11,3	20,3	29,7	37,7
23.8	3,3	7,7	13,0	21,3	28,7
23.9	3,3	8,3	13,3	19,7	31,3
23.1	5,3	14,3	23,7	34,3	38,0
29.1	4,3	10,0	18,3	30,0	37,7
29.2	6,3	12,0	23,7	32,7	39,3
29.3	8,0	18,7	28,3	37,3	42,0
29.4	6,0	11,0	19,3	36,7	42,0
29.6	2,0	7,0	14,0	23,0	33,3
29.7	6,7	14,0	25,3	35,3	39,3
29.8	3,0	7,7	14,3	26,3	34,0

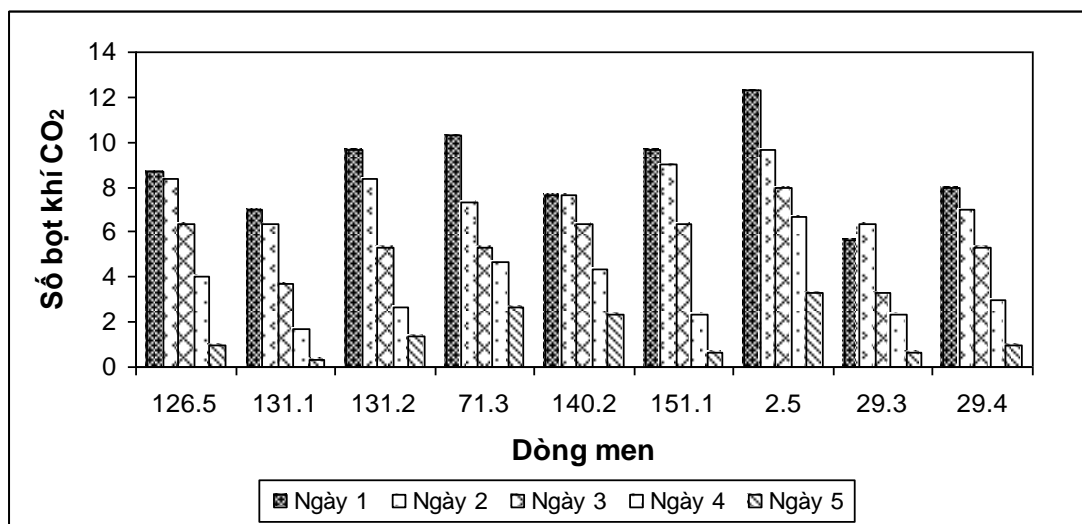
* Giá trị trung bình của ba lần lặp lại.

3.2 Khả năng lên men rượu của các dòng men chọn lọc trong dịch đường khử

Lên men trong dung dịch đường glucoz là phương pháp nhanh được sử dụng trong phòng thí nghiệm để sơ tuyển các dòng men có khả năng lên men nhanh và mạnh. Còn trong thực tế, nguồn nguyên liệu thường được sử dụng cho quá trình lên men là ngô, gạo, nếp,... Quá trình lên men từ các nguồn nguyên liệu trên gồm có hai giai đoạn: giai đoạn thứ nhất là sự đường hoá của nấm mốc, giai đoạn thứ hai là sự chuyển hoá đường thành rượu của nấm men. Hàm lượng cồn trong quá trình lên men cao hay thấp phụ thuộc vào hàm lượng đường và dòng nấm men. Vì vậy, thí nghiệm này tiến hành lên men trong dung dịch đường khử từ nếp, trong đó nồng

độ đường ở các nghiệm thức được điều chỉnh về cùng một nồng độ là 20°Brix để quan sát khả năng sản xuất ethanol của các dòng men.

Giai đoạn chuyển hoá đường thành rượu là quá trình lên men kỵ khí và đồng thời cũng sinh ra khí CO₂ trong quá trình lên men, vì thế khí CO₂ sinh ra là một trong các chỉ tiêu so sánh tốc độ lên men giữa các dòng men cũng như để quan sát và phân nào đánh giá quá trình lên men còn đang diễn ra hay kết thúc. Hình 1 cho thấy khí CO₂ sinh ra sau 1 và 2 ngày lên men của 9 dòng men là rất nhiều và quan sát thấy có lớp bọt khí trên bề mặt của dịch đường, chứng tỏ các dòng men này lên men rất nhanh và mạnh. Sau 5 ngày lên men thì lượng khí CO₂ sinh ra giảm đi rất nhiều và dòng 131.1 không có sinh bọt khí nữa, điều này chứng tỏ quá trình lên men gần như kết thúc. Các mẫu được thu hoạch để xác định độ cồn và glucoz sau 5 ngày lên men.



Hình 1: Số bọt khí CO₂ sinh ra trong quá trình lên men rượu

Kết quả lên men rượu của 9 dòng men trong Bảng 2 cho thấy pH của dịch lên men trong khoảng 3,3 – 3,4, chứng tỏ quá trình lên men thành công, không bị nhiễm các loại vi khuẩn gây chua và giá trị pH này thích hợp cho sự phát triển và biến dưỡng của tế bào nấm men vì nấm men là các vi sinh vật ưa acid (Neelakantam, 2005). Trong dịch đường khử có chứa nhiều loại đường khác nhau như: glucoz, maltoz, fructoz,... trong đó, nấm men chủ yếu sử dụng đường glucoz để chuyển hoá tạo thành rượu. Vì vậy, có sự tương quan giữa hàm lượng glucoz còn lại với nồng độ cồn, nếu hàm lượng glucoz còn lại nhiều thì nồng độ cồn sinh ra thấp và ngược lại. Hàm lượng glucoz trong dịch đường khử ở 20°Brix là 18% (w/v), sau 5 ngày lên men thì 9 dòng men này đã tiêu thụ khoảng 17% (w/v) lượng glucoz trong dịch đường khử. Nồng độ cồn thu được từ 9 dòng men này là 8,3 – 8,6 % (w/v), chứng tỏ chúng có khả năng lên men rất mạnh và sử dụng gần như hoàn toàn lượng đường glucoz. Theo phân tích thống kê thì khả năng sản xuất ethanol của 5 dòng men 29.4, 131.1, 2.5, 29.3 và 151.1 khác biệt có ý nghĩa đối với 2 dòng 71.3 và 140.2 và khác biệt không ý nghĩa đối với 2 dòng 131.2 và 126.5.

Bảng 2. pH, độ cồn và glucoz sau 5 ngày lên men rượu của 9 dòng men

Dòng men	pH (%w/v)	Glucoz (%w/v)	Độ cồn (20°C) (%w/v)
126.5	3,43 ¹	0,21	8,42 bc ²
131.1	3,46	0,09	8,56 ab
131.2	3,39	0,55	8,45 abc
71.3	3,47	1,40	8,32 c
140.2	3,48	0,77	8,32 c
151.1	3,43	0,12	8,48 ab
2.5	3,48	0,22	8,51 ab
29.3	3,36	0,45	8,49 ab
29.4	3.45	0.24	8,57 a

¹Giá trị trung bình của ba lần lặp lại.

²Các giá trị có mẫu tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở độ tin cậy 95%.

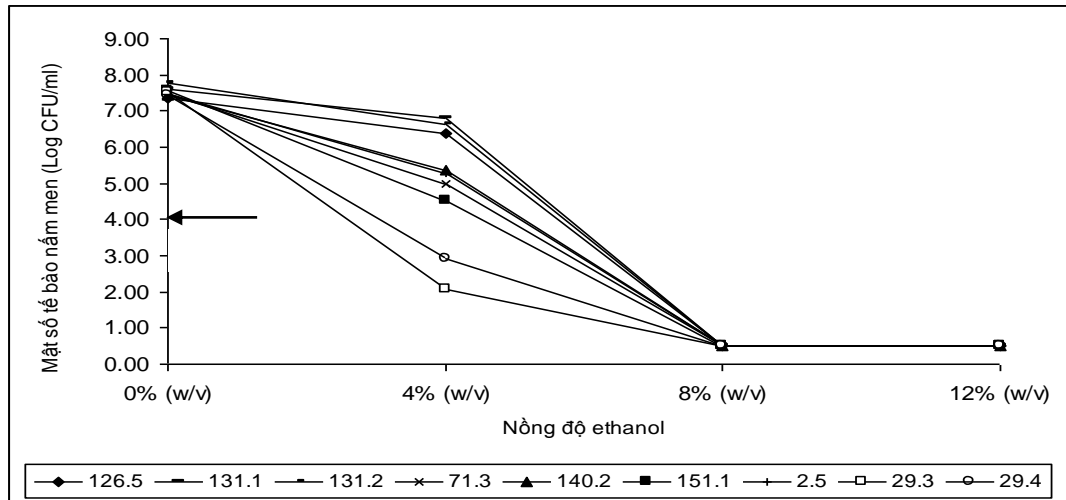
3.3 Khả năng chịu đựng độ cồn của nấm men

Mặc dù ethanol là sản phẩm chính của quá trình lên men nhưng ở một nồng độ nào đó nó sẽ ức chế sự phát triển và khả năng lên men của nấm men. Vì vậy, việc xác định khả năng chịu đựng độ cồn là một yếu tố rất cần thiết. Một trong các phương pháp xác định khả năng chịu đựng độ cồn của nấm men là theo dõi sự phát triển của nấm men trong môi trường có chứa các nồng độ ethanol khác nhau (Casey,1986).

Nồng độ nấm men ban đầu chủng vào dịch đường là 10⁴ tế bào/ml. Nồng độ chủng này được áp dụng để có khả năng theo dõi sự phát triển cũng như sự sống sót của tế bào nấm men trong quá trình lên men. Mật số tế bào nấm men lúc mới chủng vào ở các nồng độ 0, 4, 8 và 12% (w/v) ethanol trong khoảng 3,1 – 3,9 Log CFU/ml tương đương với nồng độ chủng ban đầu 4 Log CFU/ml, điều này chứng tỏ tế bào nấm men chưa chịu sự tác động của ethanol thêm vào. Trong ba ngày lên men quan sát các bình lên men ta thấy các bình không có bổ sung ethanol và các bình có bổ sung 4% (w/v) ethanol, có bọt khí sinh ra trong waterlock và khi lắc các bình này thì thấy có lớp bọt màu trắng trên bề mặt dịch đường (trừ các bình của dòng 29.3 và 29.4 ở 4% (w/v) ethanol thì ở ngày thứ 1 có bọt khí sinh ra nhưng đến ngày thứ 3 thì không thấy bọt khí nữa). Các bình ở 8 và 12% (w/v) ethanol thì không có bọt khí sinh ra cũng như không thấy lớp bọt.

Hình 2 cho thấy trong mẫu đối chứng không có bổ sung ethanol thì mật số tế bào nấm men của 9 dòng men đều phát triển tốt nằm trong khoảng 7,4 – 7,8 Log CFU/ml. Các bình có bổ sung 4% (w/v) ethanol thì chỉ có 7 dòng men 131.1, 131.2, 126.5, 140.2, 2.5, 71.3 và 151.1 tế bào nấm men vẫn phát triển. Trong đó, mật số tế bào so với nồng độ chủng ban đầu tăng 2,4 – 2,8 Log CFU/ml ở 3 dòng 131.1, 131.2 và 126.5, tăng 1 – 1,4 Log CFU/ml ở 4 dòng 140.2, 2.5, 71.3 và 151.1. Còn mật số tế bào của 2 dòng 29.3 và 29.4 giảm 1,1 – 2 Log CFU/ml so với nồng độ chủng ban đầu. Điều này chứng tỏ 2 dòng 29.3 và 29.4 bị ức chế khi bổ sung 4% (w/v) ethanol vào dịch đường. Sự giảm mật số tế bào nấm men của 7 dòng 131.1, 131.2, 126.5, 140.2, 2.5, 71.3 và 151.1 được tìm thấy ở 5 đến 6% (w/v) ethanol. Nồng độ này thấp hơn so với nồng độ cồn do chúng sản xuất là 8,3 – 8,6 % (w/v) ethanol. Sự khác biệt này có thể giải thích là do ethanol được bổ

sung ngay ở giai đoạn đầu của quá trình lên men làm cho nấm men bị sốc, còn trong quá trình lên men bình thường (không có bổ sung ethanol) thì tế bào nấm men có thời gian để thích ứng với nồng độ ethanol tăng dần (Dung, 2004). Theo phân tích thống kê (dựa vào mật số tế bào nấm men) thì khả năng chịu đựng độ cồn của 7 dòng 131.1, 131.2, 126.5, 140.2, 2.5, 71.3 và 151.1 khác biệt có ý nghĩa đối với 2 dòng 29.4 và 29.3. Dựa vào mật số tế bào (Log CFU/ml) lúc mới chủng vào trên đồ thị ta có thể xác định được khả năng chịu đựng độ cồn của từng dòng nấm men. Vì theo định nghĩa thì khả năng chịu đựng độ cồn của nấm men là nồng độ ethanol mà tại nồng độ này tế bào nấm men không phát triển (Casey,1986).



Hình 2: Ảnh hưởng nồng độ ethanol đối với sự phát triển của 9 dòng nấm men

3.4 Quan sát hình dạng tế bào và định danh sơ bộ các dòng nấm men được tuyển chọn

Quan sát sự phát triển của khuẩn lạc trên môi trường OGYE cũng như hình thái tế bào trên kính hiển vi thấy không có sự khác biệt về hình dạng bên ngoài của 7 dòng men. Nhìn chung các dòng này có một số đặc điểm cơ bản thuộc giống *Saccharomyces*, lớp Ascomycetes, như hình dạng khuẩn lạc: láng, rìa nguyên và khuẩn lạc có màu trắng đục; hình dạng tế bào: hình tròn hoặc oval, không có khuẩn ty; kích thước tế bào: $(3 - 10) \times (4,5 - 15) \mu m$; sinh sản vô tính bằng cách nảy chồi; sinh trưởng và phát triển ở nhiệt độ từ 25 - 40°C; có khả năng lên men glucoz và không tạo axit axetic.

4 KẾT LUẬN

- Chọn được 9 dòng nấm men có khả năng lên men nhanh và mạnh trong dung dịch đường glucoz trong chai Durham sau 14 giờ lên men.
- Lên men trong dịch đường khử cho thấy 9 dòng nấm men này sử dụng và biến đổi gần như hoàn toàn lượng đường khử ban đầu có nồng độ 18% (w/v), tạo ra ethanol có nồng độ 8,3 - 8,6% (w/v).
- Xác định được điểm chịu cồn của các dòng nấm men. Trong đó 7 dòng: 131.1, 131.2, 126.5, 140.2, 2.5, 71.3 và 151.1 có khả năng chịu đựng độ cồn trong

khoảng 5 – 6% (w/v) ethanol. Còn 2 dòng 29.3 và 29.4 có khả năng chịu đựng độ cồn thấp trong khoảng 2,4 – 3,0% (w/v).

- Định danh sơ bộ 7 dòng nấm men thuộc giống *Saccharomyces*, lớp *Ascomycetes*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Casey, G. P. and Ingledew, W. M. 1986. Ethanol tolerance in yeast. *CRC Critical Reviews in Microbiology* 13, 219-280.
- Dung, N. T. P. 2004. *Defined fungal starter granules for purple glutinous rice wine. Ph.D. thesis*, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands.
- Dung, N.T.P., Rombouts, F.M., and Nout, M.J.R. 2006. Functionality of selected strains of moulds and yeasts from Vietnamese rice wine starters. *Food Microbiology* 23, 331-340.
- Dung, N.T.P., Rombouts, F.M., and Nout, M.J.R. 2007. Characteristics of some traditional Vietnamese starch-based rice wine fermentation starters (*men*). *Food Science and Technology/LWT* 40, 130-135.
- Lee, A. C. and Fujio, Y. 1999. Microflora of *banh men*, a fermentation starter from Vietnam. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 15, 51-55.
- Neelakantam V. Narendranah and Ronan Power 2005. Relationship between pH and medium dissolved solids in terms of growth and metabolism of *Lactobacillus* and *Saccharomyces cerevisiae* during ethanol production. *Applied and Environmental Microbiology* 71.5, 2239 - 2243.
- Nout, M. J. R. and Aidoo, K. E. 2002. Asian Fungal Fermented Food. In *The Mycota. Vol.X "Industrial applications"*. ed. H. D. Osiewacz, pp. 23-47. Berlin-Heidelberg-New York: Springer-Verlag.
- Ray, B. 2001. Microorganism used in food fermentation. In *Fundamental food microbiology. Second edition* ed. B. Ray, pp. 109-118. Boca Raton, Florida: CRC press.
- Wang, H. L. and Fang, S. F. 1986. History of Chinese fermented foods. In *Indigenous fermented food of Non-Western origin. Mycologia memoir No. 11* ed. C. W. Hesseltine and H. L. Wang, pp. 23-35. Berlin: The New York Botanical Garden.