

**PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN CÁC DÒNG NẤM MEN  
TỪ QUẢ HỒNG XIÊM (*Manilkara zapota* (L.) P. Royen)  
CÓ KHẢ NĂNG CHỊU ĐƯỢC ETHANOL Ở NỒNG ĐỘ CAO  
ĐỂ LÊN MEN RƯỢU VANG SAPO**

Nguyễn Văn Bá\*, Nguyễn Thị Thu Thảo, Nguyễn Thành Luân,  
Phạm Thanh Chính và Châu Nhật Thắng  
*Khoa Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Tây Đô*  
(\*Email: nguyenvanba84@gmail.com)

**Ngày nhận:** 18/12/2020

**Ngày phản biện:** 12/01/2021

**Ngày duyệt đăng:** 20/02/2021

---

**TÓM TẮT**

Mục tiêu nghiên cứu nhằm phân lập và tuyển chọn các dòng nấm men từ dịch quả hồng xiêm (sapo) để lên men rượu vang sapo, góp phần đa dạng hóa rượu vang trái cây. Nghiên cứu phân lập các dòng nấm men từ dịch quả sapo lên men; khảo sát khả năng lên men đường saccharose của các dòng nấm men phân lập; khảo sát khả năng chịu ethanol của các dòng nấm men; xác định các dòng nấm men lên men tốt dịch quả sapo. Kết quả nghiên cứu đã phân lập được 21 dòng nấm men, trong đó có 4 dòng nấm men có khả năng lên men đường saccharose và có khả năng chịu ethanol 12% v/v; Khảo sát hoạt tính lên men của các dòng nấm men tuyển chọn cho thấy ở nghiệm thức dịch lên men 24°Bx, pH 4,5, nấm men S6 sau 17 ngày lên men cho ra rượu vang sapo có nồng độ ethanol đạt 10,1% v/v, pH và lượng đường sót là 4,3 và 8,23 g/L khác biệt so với nấm men thương mại và 3 dòng nấm men còn lại ( $P < 0,05$ ). Dòng nấm men S6 tuyển chọn có hiệu quả cao nhất và được định danh là *Saccharomyces cerevisiae* bằng phương pháp giải trình tự gen 28S rRNA.

**Từ khóa:** Khả năng chịu ethanol, lên men saccharose, lên men rượu vang sapo

---

Trích dẫn: Nguyễn Văn Bá, Nguyễn Thị Thu Thảo, Nguyễn Thành Luân, Phạm Thanh Chính và Châu Nhật Thắng, 2021. Phân lập và tuyển chọn các dòng nấm men từ quả hồng xiêm (*Manilkara zapota* (L.) P. Royen) có khả năng chịu được ethanol ở nồng độ cao để lên men rượu vang sapo. Tạp chí Nghiên cứu khoa học và Phát triển kinh tế Trường Đại học Tây Đô. 11: 218-227.

\*PGS.TS. Nguyễn Văn Bá – Trưởng Khoa Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Tây Đô

## 1. GIỚI THIỆU

Từ lâu con người đã biết sử dụng nấm men trong tự nhiên để lên men truyền thống các loại trái cây để sản xuất rượu vang. Rượu vang là thức uống có cồn (ethanol) không thể thiếu trong các buổi lễ Tết, hiếu hỉ (Luong Đức Phẩm, 2006).

Đồng bằng sông Cửu long, với điều kiện khí hậu thuận lợi cho nhiều loại cây ăn trái phát triển, tạo nên nguồn nguyên liệu dồi dào để lên men rượu vang trái cây, sản phẩm rượu vang trái cây theo vùng, miền có chất lượng và giá trị cảm quan rất đặc biệt, phục vụ du lịch địa phương.

Hồng xiêm còn gọi là cây sáo, là cây ăn quả được trồng phổ biến từ rất lâu ở nhiều vùng trong cả nước. Chỉ riêng huyện Châu Thành (Tiền Giang) có tổng diện tích vườn trồng cây ăn trái gần 12.000 ha, trong đó có 1600 ha cây sáo (Anh Tuấn, 2013).

Nấm men lên men rượu vang trái cây đã được nhiều nghiên cứu trước đây, tuy nhiên nghiên cứu nấm men lên men rượu vang trái sáo vẫn còn hạn chế. Đề tài được thực hiện nhằm mục tiêu phân lập và tuyển chọn các dòng nấm men từ dịch quả sáo để lên men rượu vang sáo góp phần đa dạng hóa rượu vang trái cây.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Giống sáo Mặc Bắc được trồng tại huyện Châu Thành, tỉnh Tiền Giang. Các dòng nấm men thuần chủng được phân lập, tồn trữ ở 4 °C được dùng để thử khả năng lên men và khả năng chịu

cồn. Chúng nấm men có triển vọng được định danh bằng phương pháp giải trình tự gen 28S rRNA.

### 2.1. Quá trình phân lập nấm men

Cân 25 g mẫu sáo nghiền nguyên trái (cả lớp phần và vỏ bên ngoài) cho vào bình tam giác 250 mL có chứa 100 mL nước cất vô trùng và để lên men tự nhiên ở nhiệt độ phòng trong 3 ngày. Dùng pipet hút 1 mL dịch quả lên men cho vào đĩa petri có chứa môi trường SDA vô trùng và trải đều trên mặt môi trường. Sau 12 giờ, tiến hành phân lập, kiểm tra độ thuần dưới kính hiển vi và trữ mẫu ở nhiệt độ 4 °C.

### 2.2. Đánh giá khả năng lên men rượu vang sáo của các dòng nấm men đã phân lập

Khảo sát khả năng sử dụng saccharose để lên men của các dòng nấm men phân lập trên môi trường chứa saccharose 1% vô trùng, 3 lần lặp lại, chọn ra các dòng nấm men để lên men rượu vang sáo có bổ sung saccharose.

Sử dụng nồng độ ethanol có 4 mức độ (8%, 10%, 12% và 14% v/v) và 3 lần lặp lại để tuyển chọn các dòng nấm men khi lên men sinh ethanol cao. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 2 nhân tố, 3 lần lặp lại với nhân tố A là 4 dòng nấm men đã chọn (S2, S4, S6, và S20) và nấm men thương mại (đối chứng) để lên men dịch quả sáo có 3 mức độ về chất khô hòa tan (18, 22 và 24 °Brix. Nhân tố B có bổ sung saccharose, pH được chỉnh ở giá trị 4,5.

Các chỉ tiêu được ghi nhận như: Hình dạng, kích thước, đặc điểm của các dòng nấm phân lập được. Chiều cao cột khí CO<sub>2</sub> (mm) trong chuông Durham của các dòng nấm men khi lên men sinh ra theo thời gian. Khả năng chịu ethanol bằng cách đếm số tế bào sống >50% dưới kính hiển vi sau 24 g trong môi trường lỏng chứa nồng độ ethanol tương ứng. Khả năng lên men rượu vang sáo của nấm men bằng cách so sánh độ rượu chung cất được 100 mL đo ở 20 °C và được tính theo khối lượng rượu vang sáo.

Số liệu thu thập được phân tích thống kê bằng phần mềm SPSS 20.

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Đặc điểm và nhận dạng sơ bộ các dòng nấm men phân lập

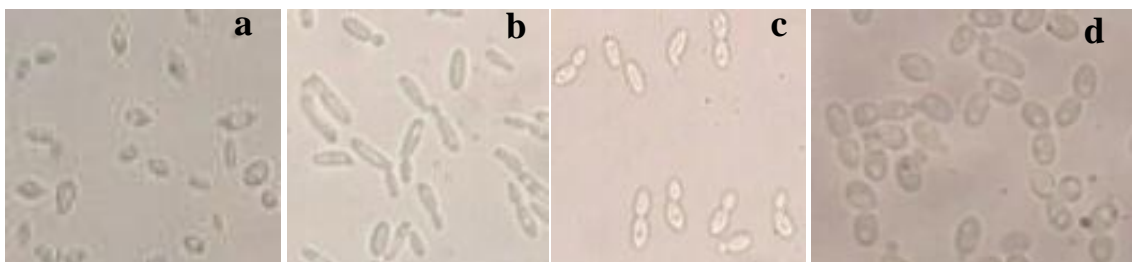
Theo mô tả hình thái, phân loại về giống nấm men *Saccharomyces* của khóa phân loại theo Kreger, (1984), và Lương Đức Phẩm, (2006), các dòng nấm men phân lập được nhận diện thuộc giống *Saccharomyces* (Bảng 1).

Bảng 1. Hình dạng, kích thước, đặc điểm của các dòng nấm phân lập được

Dòng nấm men	Hình dạng nấm men	Kích thước nấm men (Dài x rộng) (µm)	Hình thức sinh sản	Đặc điểm khuẩn lạc
S1	Elip ngắn	2,5 x 1	Nảy chồi	tròn đều, màu trắng đục, bìa răng cưa, mô, bề mặt sần sùi, đường kính 2 mm
S2	Elip ngắn	1,7 x 0,5	Nảy chồi	tròn đều, màu trắng đục, bìa răng cưa, bề mặt sần sùi, đường kính 2,5 mm
S3	Bầu dục nhỏ	2,5 x 2	Nảy chồi	tròn đều, màu trắng sữa, bìa nguyên, lồi, bề mặt trơn bóng, đường kính 1,5 mm
S5	Elip ngắn	3 x 1,5	Nảy chồi	tròn đều, màu trắng sữa, bìa nguyên, mô, bề mặt trơn bóng, đường kính 1 mm
S6	Bầu dục lớn	3 x 2	Nảy chồi	tròn đều, màu trắng sữa, bìa nguyên, mô, bề mặt trơn bóng, đường kính 1,5 mm
S7	Elip ngắn	2,5 x 1,7	Sinh nội bào tử	không tròn đều, màu trắng đục, bìa răng cưa, mô, bề mặt sần sùi, đường kính 2,5 mm
S8	Elip ngắn	2 x 1,8	Sinh nội bào tử	không tròn đều, màu trắng đục, bìa răng cưa, lồi, bề mặt sần sùi, đường kính 2 mm
S9	Bầu dục nhỏ	1,5 x 1	Nảy chồi	tròn đều, màu trắng sữa, bìa nguyên, mô, bề mặt trơn bóng, đường kính 1,5 mm
S10	Bầu dục nhỏ	2 x 1,8	Nảy chồi	tròn đều, màu trắng sữa, bìa nguyên, lồi, bề mặt trơn bóng, đường kính 1,7 mm

S11	Elip dài	5 x 2	Sinh nội bào tử	không tròn đều, màu trắng đục, bìa răng cưa, lồi, bề mặt sần sùi, đường kính 2 mm
S12	Bầu dục nhỏ	1,5 x 1	Nảy chồi	tròn đều, màu trắng sữa, bìa nguyên, mô, bề mặt trơn bóng, đường kính 1 mm
S13	Bầu dục nhỏ	2 x 1,5	Nảy chồi	tròn đều, màu trắng sữa, bìa nguyên, mô, bề mặt trơn bóng, đường kính 1,5 mm
S14	Elip ngắn	2 x 1	Nảy chồi	không tròn đều, màu trắng đục, bìa răng cưa, lồi, bề mặt sần sùi, đường kính 3 mm
S15	Elip ngắn	2,5 x 1,5	Sinh nội bào tử	tròn đều, màu trắng đục, bìa răng cưa, mô, bề mặt sần sùi, đường kính 2 mm
S16	Bầu dục nhỏ	1,5 x 1	Nảy chồi	tròn đều, màu trắng sữa, bìa nguyên, mô, bề mặt trơn bóng, đường kính 1,5 mm
S17	Bầu dục nhỏ	1,8 x 1	Nảy chồi	tròn đều, màu trắng sữa, bìa nguyên, mô, bề mặt trơn bóng, đường kính 1,5 mm
S18	Bầu dục nhỏ	1,5 x 1	Nảy chồi	tròn đều, màu trắng sữa, bìa nguyên, mô, bề mặt trơn bóng, đường kính 2 mm
S19	Bầu dục nhỏ	1,5 x 1,2	Nảy chồi	tròn đều, màu trắng sữa, bìa nguyên, mô, bề mặt trơn bóng, đường kính 1 mm
S20	Bầu dục lớn	2 x 1	Nảy chồi	tròn đều, màu trắng sữa, bìa nguyên, mô, bề mặt trơn bóng, đường kính 2,5 mm
S21	Bầu dục	2 x 1,5	Nảy chồi	tròn đều, màu trắng sữa, bìa nguyên, mô, bề mặt trơn bóng, đường kính 1 mm

Dựa vào hình dạng tế bào, 4 nhóm đặc trưng được thể hiện ở Hình 1.



Hình 1. Hình dạng của 4 nhóm nấm men đặc trưng

a) Hình bầu dục nhỏ, b) Hình elip dài, c) Hình elip ngắn, d) Bầu dục lớn

**3.2. Khả năng lên men saccharose của các dòng nấm men phân lập**

nấm men phân lập có khả năng lên men đường saccharose 1%.

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy chỉ có 4 dòng S20, S2, S6 và S4 trong tổng số 21 dòng

Bảng 2. Chiều cao cột khí CO<sub>2</sub> trong chuông Durham của một số dòng nấm men lên men dịch đường saccharose 1% theo thời gian

Dòng nấm men	Chiều cao cột khí CO <sub>2</sub> trong chuông Durham (mm)					
	9 giờ	13 giờ	25 giờ	33 giờ	49 giờ	
S20	3,10 <sup>b</sup> ± 0,79	6,27 <sup>b</sup> ± 0,64	8,60 <sup>b</sup> ± 0,52	12,10 <sup>b</sup> ± 1,49	13,83 <sup>b</sup> ± 2,46	-
S2	1,70 <sup>a</sup> ± 0,17	1,77 <sup>a</sup> ± 0,25	2,17 <sup>a</sup> ± 0,28	-	-	-
S6	1,50 <sup>a</sup> ± 0,86	1,77 <sup>a</sup> ± 0,92	2,70 <sup>a</sup> ± 1,8	3,60 <sup>a</sup> ± 3,38	-	-
S4	0,77 <sup>a</sup> ± 0,75	0,83 <sup>a</sup> ± 0,76	-	-	-	-

Ghi chú: các số trong cùng một cột mang chữ cái khác nhau có sự khác biệt ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

**3.3. Khả năng chịu ethanol của các dòng nấm men được phân lập**

Khả năng chịu ethanol của 21 dòng nấm men được trình bày ở Bảng 3. Kết quả cho thấy, tất cả các dòng nấm men đều sống, phát triển ở môi trường Hansen có nồng độ 8% ethanol (+ đến +++). Ở nồng độ 12% ethanol, chỉ còn

lại 3 dòng S20, S5, S7 phát triển, các dòng còn lại sống yếu hoặc chết, nghĩa là không có khả năng lên men tiếp tục ở nồng độ này, trong đó đáng chú ý có dòng S6 có khả năng lên men saccharose. Do đó có bốn dòng nấm men có khả năng chịu ethanol đến 12% được chọn để lên men rượu vang sapo.

Bảng 3. Kết quả xác định khả năng chịu ethanol của các dòng nấm men phân lập

Dòng nấm men	Nồng độ ethanol			
	8%	10%	12%	14%
S12	+++	+	+	-
S16	+++	++	+	-
S19	+++	++	+	-
S14	+++	++	+	-
S15	+++	++	+	-
S8	+++	++	+	-
S17	+	-	-	-
S18	+++	+	+	-
S9	+	-	-	-
S10	+	-	-	-
S21	+	-	-	-
S13	++	+	+	-
S20	+++	++	++	+
S5	+++	++	++	-
S2	+++	++	+	-
S11	+++	++	+	-
S6	+++	++	+	-
S1	+++	++	+	+
S3	+++	++	+	+
S7	+++	++	++	-
S4	+++	++	+	-

Chú thích: “+++”: tế bào sống 100%, “++” trên 50% tế bào còn sống; “+“: dưới 50% tế bào sống, “-“: tế bào nấm men chết hoàn toàn

**3.4. Khả năng lên men dịch quả sago của các dòng nấm men được phân lập**

Khả năng lên men dịch quả sago của các dòng nấm men tuyển chọn được thể hiện ở Bảng 4. Sau 5 giờ đầu lên men, chiều cao cột khí CO<sub>2</sub> trong chuông Durham bắt đầu có khác biệt ý nghĩa

giữa khả năng lên men của 21 dòng nấm men, đến giờ thứ 33 đã có 6 dòng nấm men sinh khí CO<sub>2</sub> chứa đầy chuông Durham (các dòng S8, S17, S18, S9, S21 và S20), đến giờ thứ 37, có đến 15 dòng nấm men sinh khí CO<sub>2</sub> chứa đầy chuông Durham, trong đó có dòng S6.

Bảng 4. Chiều cao cột khí CO<sub>2</sub> trong chuông Durham theo thời gian lên men dịch quả sáo của các dòng nấm men phân lập

Dòng nấm men	Chiều cao cột khí CO <sub>2</sub> trong chuông Durham (mm) theo thời gian				
	5 giờ	13 giờ	29 giờ	33 giờ	37 giờ
S12	4,50 <sup>fg</sup> ± 0,50	16,83 <sup>h</sup> ± 1,04	21,00 <sup>g</sup> ± 1,32	22,86 <sup>fg</sup> ± 1,10	24,00
S16	1,00 <sup>ac</sup> ± 1,00	6,27 <sup>bc</sup> ± 1,41	13,27 <sup>bc</sup> ± 1,10	19,76 <sup>bcd</sup> ± 1,50	24,00
S19	6,00 <sup>h</sup> ± 1,00	15,60 <sup>gh</sup> ± 1,96	22,83 <sup>ghi</sup> ± 1,04	23,26 <sup>fg</sup> ± 0,64	24,00
S14	3,33 <sup>def</sup> ± 0,57	7,50 <sup>c</sup> ± 1,32	10,60 <sup>a</sup> ± 2,25	20,86 <sup>cde</sup> ± 1,10	24,00
S15	4,50 <sup>fg</sup> ± 0,50	12,50 <sup>def</sup> ± 2,29	13,83 <sup>bcd</sup> ± 3,01	21,16 <sup>de</sup> ± 1,60	24,00
S8	1,00 <sup>a</sup> ± 1,00	3,33 <sup>a</sup> ± 1,44	23,67 <sup>ghi</sup> ± 0,57	24,00 <sup>g</sup> ± 0,00	-
S17	4,50 <sup>fg</sup> ± 0,50	14,00 <sup>efg</sup> ± 1,00	23,93 <sup>i</sup> ± 0,11	24,00 <sup>g</sup> ± 0,00	-
S18	5,16 <sup>gh</sup> ± 0,76	14,33 <sup>efgh</sup> ± 1,89	23,60 <sup>ghi</sup> ± 0,69	24,00 <sup>g</sup> ± 0,00	-
S9	1,50 <sup>abc</sup> ± 1,32	4,83 <sup>ab</sup> ± 1,04	23,67 <sup>ghi</sup> ± 0,57	24,00 <sup>g</sup> ± 0,00	-
S10	2,16 <sup>abcd</sup> ± 0,76	7,43 <sup>c</sup> ± 0,60	14,60 <sup>cde</sup> ± 2,15	21,93 <sup>ef</sup> ± 0,90	24,00
S21	3,00 <sup>de</sup> ± 1,00	14,93 <sup>fgh</sup> ± 0,90	23,33 <sup>ghi</sup> ± 1,15	24,00 <sup>g</sup> ± 0,00	-
S13	4,16 <sup>efg</sup> ± 0,76	16,83 <sup>h</sup> ± 0,76	21,17 <sup>gh</sup> ± 0,76	23,50 <sup>fg</sup> ± 0,50	24,00
S20	4,83 <sup>gh</sup> ± 0,76	15,17 <sup>gh</sup> ± 1,25	23,83 <sup>hi</sup> ± 0,28	24,00 <sup>g</sup> ± 0,00	-
S5	0,91 <sup>a</sup> ± 0,14	13,60 <sup>efg</sup> ± 1,50	18,43 <sup>f</sup> ± 0,92	23,66 <sup>fg</sup> ± 0,57	24,00
S2	2,83 <sup>cde</sup> ± 0,76	6,83 <sup>bc</sup> ± 1,04	11,33 <sup>ab</sup> ± 2,08	19,43 <sup>bc</sup> ± 0,60	24,00
S11	2,50 <sup>bcd</sup> ± 0,50	13,50 <sup>efg</sup> ± 1,80	21,83 <sup>ghi</sup> ± 0,76	23,50 <sup>fg</sup> ± 0,50	24,00
S6	0,93 <sup>a</sup> ± 0,90	7,50 <sup>c</sup> ± 0,86	13,66 <sup>bcd</sup> ± 1,75	19,60 <sup>bcd</sup> ± 1,50	24,00
S1	1,16 <sup>ab</sup> ± 0,76	6,50 <sup>bc</sup> ± 1,50	12,60 <sup>abc</sup> ± 1,50	18,83 <sup>ab</sup> ± 1,60	24,00
S3	1,50 <sup>abc</sup> ± 0,50	10,16 <sup>d</sup> ± 0,76	16,00 <sup>def</sup> ± 1,00	22,50 <sup>efg</sup> ± 1,32	24,00
S7	0,76 <sup>a</sup> ± 0,25	5,50 <sup>abc</sup> ± 1,32	13,83 <sup>bcd</sup> ± 1,75	17,83 <sup>a</sup> ± 1,04	24,00
S4	2,83 <sup>cde</sup> ± 0,28	11,83 <sup>de</sup> ± 1,04	16,66 <sup>ef</sup> ± 1,52	20,26 <sup>bcd</sup> ± 0,64	24,00

Ghi chú: số liệu là kết quả trung bình của 3 lần lặp lại, các số trong cùng một cột mang chữ cái khác nhau có sự khác biệt ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

### 3.5. Hoạt tính lên men rượu vang sáo của dòng nấm men được chọn

Trên cơ sở các bước nghiên cứu, 4 dòng nấm men (S2, S4, S6, S20) được chọn để đánh giá khả năng lên men dịch quả sáo được bổ sung saccharose. Kết quả ở Bảng 5 cho thấy hoạt tính lên men rượu vang sáo thể hiện qua hàm lượng chất khô hòa tan (HLCKHT) giảm sau

17 ngày lên men. Ở nghiệm thức có 24 °Bx với dòng nấm men S6, sau 17 ngày lên men, rượu vang sáo đạt 10,10 % (v/v) ethanol, hàm lượng chất khô hòa tan 9,17 °Bx, đường sót vừa phải 8,23g/L cho vị hài hòa, cảm quan khá (Kurtzman and Fell, 1998), khác biệt có ý nghĩa thống kê so với sản phẩm rượu vang sáo của nấm men thương mại và 3 dòng nấm men còn lại. So sánh với các nghiên

cứ trước đây thì Nguyễn Minh Thủy và ctv., (2011), lên men sản xuất rượu vang thốt nốt có hàm lượng ethanol đạt 13,36% v/v; Nguyễn Minh Thủy và ctv., (2014) đã nghiên cứu lên men sản xuất rượu vang sim có hàm lượng ethanol đạt 13,43% v/v; Huỳnh Xuân Phong và ctv., (2017), rượu vang khóm đạt 10,03% v/v ethanol; Đoàn Thị Kiều Tiên và ctv., (2018), rượu vang trái giắc đạt 9,9% v/v ethanol; Nguyễn Thị Niềm và ctv., (2018), rượu vang cà na đạt 7,44% v/v ethanol; Tống Thị Ánh Ngọc và ctv., (2018), lên men rượu vang xơ mít Thái đạt 15% v/v ethanol. So sánh với các kết

quả trên cho thấy, nguồn nguyên liệu, chủng nấm men tuyển chọn và điều kiện lên men có ảnh hưởng quan trọng đến hàm lượng ethanol trong sản phẩm. Do đó cần tiếp tục nghiên cứu về điều kiện lên men thích hợp và sưu tầm, tuyển chọn thêm nấm men lên men tốt hơn.

Giá trị pH của sản phẩm rượu vang sapo đều giảm sau 17 ngày lên men. Hiện tượng giảm pH do sự hoạt động của nấm men trong quá trình lên men kỵ khí sinh ra CO<sub>2</sub> và một số acid hữu cơ sinh ra cũng làm giảm pH, giá trị pH 4,31 của rượu vang sapo tương đối hài hòa (Lương Đức Phẩm, 2006).

Bảng 5. Hoạt tính lên men rượu vang sapo của 4 dòng nấm men qua các chỉ tiêu như độ cồn, hàm lượng chất khô hòa tan (HLCKHT), pH và đường sót sau 17 ngày lên men

HLCKHT trước lên men (°Bx)	Mẫu	HLCKHT sau lên men (°Bx)	pH sau lên men	Độ cồn % (V/v)	Đường sót sau lên men (g/L)
18	ĐC	7,17± 0,4 <sup>a</sup>	3.90± 0,03 <sup>ab</sup>	6,83± 0,28 <sup>b</sup>	3,27± 0,42 <sup>c</sup>
	S2	6,23± 0,25 <sup>bc</sup>	4.01± 0,56 <sup>ab</sup>	6,17± 0,28 <sup>a</sup>	3,73± 0,07 <sup>b</sup>
	S4	6,17± 0,28 <sup>bc</sup>	4.37± 0,04 <sup>b</sup>	7,17± 0,28 <sup>b</sup>	2,65± 0,18 <sup>a</sup>
	S6	5,90± 0,1 <sup>ab</sup>	4.36± 0,06 <sup>b</sup>	9,07± 0,11 <sup>c</sup>	1,88± 0,12 <sup>a</sup>
	S20	6,50± 0,3 <sup>c</sup>	3.65± 0,05 <sup>a</sup>	7,17 ± 0,28 <sup>b</sup>	2,38± 0,34 <sup>a</sup>
22	ĐC	9,63± 0,15 <sup>d</sup>	3.69± 0,08 <sup>a</sup>	7,50± 0,50 <sup>a</sup>	8,25± 0,47 <sup>c</sup>
	S2	9,00± 0,20 <sup>c</sup>	3.78± 0,01 <sup>b</sup>	8,37± 0,32 <sup>b</sup>	8,00± 0,20 <sup>b</sup>
	S4	9,37± 0,35 <sup>b</sup>	4.37± 0,03 <sup>c</sup>	8,53± 0,05 <sup>b</sup>	9,01± 0,65 <sup>c</sup>
	S6	9,60± 0,20 <sup>a</sup>	4.32± 0,02 <sup>c</sup>	9,33± 0,28 <sup>c</sup>	8,75± 0,05 <sup>a</sup>
	S20	9,37± 0,15 <sup>cd</sup>	3.67± 0,02 <sup>a</sup>	8,17± 0,28 <sup>b</sup>	9,10 ± 0,20 <sup>d</sup>
24	ĐC	12,27± 0,25 <sup>d</sup>	3.73± 0,03 <sup>b</sup>	8,07± 0,11 <sup>b</sup>	10,17± 0,35 <sup>b</sup>
	S2	10,20± 0,20 <sup>b</sup>	4.27± 0,03 <sup>c</sup>	8,93± 0,11 <sup>c</sup>	9,83± 0,58 <sup>b</sup>
	S4	11,30± 0,30 <sup>c</sup>	3.65± 0,04 <sup>a</sup>	8,07± 0,11 <sup>b</sup>	10,15± 0,31 <sup>b</sup>
	S6	9,17± 0,15 <sup>a</sup>	4.31± 0,02 <sup>c</sup>	10,10± 0,10 <sup>d</sup>	8,23± 0,26 <sup>a</sup>
	S20	13,47± 0,25 <sup>c</sup>	3.65± 0,04 <sup>a</sup>	7,50± 0,50 <sup>a</sup>	12,00± 0,70 <sup>c</sup>

(Ghi chú: các chữ cái a,b,c trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở mức ý nghĩa P < 0,05



**3.6. Định danh nấm men phân lập S6 bằng phương pháp giải trình tự gen**

Chủng nấm men S6 được định danh bằng phương pháp giải trình tự và phân tích trình tự gen 28S rRNA. Kết quả giải trình tự trên đoạn gen 28S rRNA của chủng nấm men S6 như sau:

GGAGCGGACGACGTGTAAAGA  
GCGTCGGACCTGCGACTCGCCTGA  
AAGGGAGCGAAGCTGGCCGAGCG  
AACTAGACTTTTTTCAGGGACGCT

TGGCGGCCGAGAGCGAGTGTTGC  
GAGACAACAAAAGCTCGACCTC  
AAATCAGGTAGGAATACCCGCTG  
AACTTAAGCAT

Trình tự đoạn gen được so sánh với các gen 28S rRNA của nấm men trong ngân hàng gen NCBI bằng phần mềm BLAST, kết quả cho thấy, đoạn gen 28S rRNA của dòng nấm men S6 có độ tương đồng đến 98.84% so với trình tự gen 28S rRNA của *Saccharomyces cerevisiae* (MF662380.1) (Hình 2).

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain HBUM07151 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal...</a>	<i>Saccharomyces...</i>	307	307	100%	1e-81	98.84%	465	MF662380.1

Hình 2. So sánh trình tự gen 28S rRNA của S6 và của chủng *Saccharomyces cerevisiae* với số đăng ký MF662380.1

**4. KẾT LUẬN**

Từ 21 dòng nấm men phân lập được từ dịch quả sáo lên men, S6 là dòng nấm men có ưu điểm nhất, là dòng nấm men lên men rượu vang sáo có triển vọng. Dòng nấm men S6 được định danh là *Saccharomyces cerevisiae* bằng phương pháp giải trình tự gen 28S rRNA. Do nghiên cứu được thực hiện ngắn hạn, nghiên cứu cần tiếp tục sưu tầm thêm các dòng nấm men lên men rượu vang sáo và khảo sát điều kiện lên men để đạt hiệu quả cao hơn.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Huỳnh Xuân Phong, Danh Minh Lợi, Nguyễn Ngọc Thanh, Lê Phan Đình Quý, Bùi Hoàng Đăng Long, Pornthap

Thanonkeo, Mamoru Yamada và Ngô Thị Phương Dung, 2017. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ 51 (B): 7-17.

2. Kreger-van Rij N.J.W., 1984. The yeast, a taxonomic study, 3th ed., Elsevier, Amsterdam.

3. Kurtzman, C.P. and Fell, J.W. (eds), 1998. The Yeast: A Taxonomic Study, 4th edn, revised and enlarged. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science Publisher.

4. Lương Đức Phẩm, 2006. Nấm men công nghiệp, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.

5. Nguyễn Minh Thủy, Nguyễn Văn Thành và Bùi Thị Thúy Ngân, 2011. Tuyến chọn các dòng nấm men được phân lập từ nước thốt nốt. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ 18b 117-126.
6. Nguyễn Minh Thủy, Nguyễn Phú Cường, Nguyễn Thị Mỹ Tuyền, Đinh Công Dinh, 2014. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ 12 (1): 89-97.
7. Nguyễn Văn Thành, Nguyễn Minh Thủy và Neáng Thơi, 2012. Phân

lập, tuyến chọn nấm men từ nước thốt nốt thu hoạch ở Tri Tôn Tỉnh An Giang. Tạp chí Khoa học 22a: 203-212 Trường Đại học Cần Thơ.

8. Nguyễn Văn Thành, Nguyễn Minh Thủy, Trần Thị Quế và Nguyễn Thị Mỹ Tuyền, 2013. Phân lập, tuyến chọn nấm men trong lên men rượu vang khóm. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ.

## **ISOLATION AND SELECTION OF YEAST HIGH ETHANOL TOLERANCE STRAINS FROM FERMENTED JUICE OF *Manilkara zapota* (L.) P. Royen FOR SAPOTE WINE FERMENTATION**

Nguyen Van Ba\*, Nguyen Thi Thu Thao, Nguyen Thanh Luan,  
Phạm Thanh Chinh and Chau Nhut Thang  
*Faculty of Applied Biology, Tay Do University*  
(\*Email: nguyenvanba84@gmail.com)

### **ABSTRACT**

*The aim of this study was to isolate and select the yeast strains from the fermented sapote juice for sapote wine fermentation, contributing to diversify of fruit wines. The research was carried out by isolation of yeast strains from the fermented sapote juice; Evaluating the isolated yeast strains which can produce saccharose; Evaluating the ability of ethanol tolerance of the isolated yeast strains; Selecting the suitable yeast strains for sapote wine fermentation. The results showed that among 21 yeast strains have been isolated, four strains had ability of saccharose fermentation and ethanol tolerance at 12% concentration etc. After 17 days fermentation, the S6 yeast strain produced the good quality of sapote wine: ethanol content 10.10% v/v concentration, pH 4.31 and the sugar residue 8.23 g/L, significant difference in comparison with commercial yeast and the others ( $P < 0.05$ ). The S6 yeast strain was named *Saccharomyces cerevisiae* by the genetic analysis method with 28S rRNA.*

**Keywords:** *Ethanol tolerance, saccharose fermentation, sapote-wine fermentation*