


Tạp chí Công nghệ Sinh học **15**(3): 581-588, 2017

## NGHIÊN CỨU TỐI ƯU ĐIỀU KIỆN SẢN XUẤT SINH KHỐI NẤM MEN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* SC2.75

Ngô Thị Huyền Trang, Vũ Văn Hạnh 

Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

 Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: [vvhanh2003@gmail.com](mailto:vvhanh2003@gmail.com)

Ngày nhận bài: 27.6.2017

Ngày nhận đăng: 22.9.2017

### TÓM TẮT

Hiện nay, *Saccharomyces cerevisiae* là chủng nấm men không chỉ được ứng dụng rộng rãi trong ngành lên men đồ uống và sản xuất protein đơn bào mà còn được bổ sung vào thức ăn chăn nuôi. Mục đích của nghiên cứu này là tối ưu các điều kiện lên men của chủng *S. cerevisiae* Sc2.75 cho sinh khối nấm men cao trên nguồn nguyên liệu rẻ tiền. Khối lượng tế bào nấm men phụ thuộc đáng kể vào nồng độ các thành phần môi trường, các nguồn C, N, P, muối khoáng và các yếu tố lý hóa (pH, thời gian lên men). Khối lượng tế bào nấm men được xác định theo phương pháp xác định khối lượng khô. Từ kết quả tối ưu đơn biến để xác định khoảng tối ưu và tối ưu bằng phương pháp đáp ứng bề mặt - mô hình cấu trúc phức hợp tại tâm bằng phần mềm Design Expert 10, môi trường tối ưu lên men cho sinh khối nấm men khô cao với nồng độ tối ưu của các yếu tố (ri đường, Urea, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub> và NH<sub>4</sub>Cl) lần lượt là 16,13%, 0,46% và 0,22%, 0,04%, 0,4% và pH 6, tốc độ lắc 150rpm, thời gian lên men 18 giờ cho khối lượng tế bào nấm men cao nhất đạt 10,71 g nấm men khô/L, cao gấp 2 lần so với khối lượng tế bào nấm men thu được ở môi trường đối chứng (YPD) và cao gấp 1,7 lần so với môi trường ban đầu. Kết quả nghiên cứu này làm tiền đề cho các ứng dụng lên men công nghiệp để sản xuất probiotic cho thức ăn chăn nuôi.

**Từ khóa:** Ri đường, RSM-CCD, *Saccharomyces cerevisiae*, sinh khối, tối ưu

### MỞ ĐẦU

Sinh khối nấm men được sử dụng rộng rãi như nguồn cung cấp protein cho người và động vật trong thức ăn chăn nuôi hoặc các sản phẩm bổ sung cho con người (Halász, Lásztity, 1990; Solomon *et al.*, 2017). Nhiều nghiên cứu đã sử dụng chủng nấm men *S. cerevisiae* để sản xuất protein đơn bào, glucan, carotenoid (Bekatorou *et al.*, 2006; Kwiatkowski, Kwiatkowski, 2012; Mata-Gómez *et al.*, 2014). Nhiều phế phụ phẩm công-nông nghiệp đã được sử dụng làm nguồn cơ chất để sản xuất sinh khối nấm men trên quy mô công nghiệp, đặc biệt là ri đường. Ri đường là phụ phẩm của ngành công nghiệp chế biến đường và được sử dụng như cơ chất chính của quá trình sản xuất sinh khối nấm men giúp đơn giản hóa quá trình và làm giảm giá thành khi so sánh với việc sử dụng các nguồn cơ chất khác. Ri đường chứa 17 - 25% nước, khoảng 47 - 50% sucrose, khoảng 0,5 - 1% nguồn nitrogen, các protein, vitamin và khoáng chất khác (Gómez-Pastor *et al.*, 2011).

Trên thế giới có nhiều nghiên cứu sử dụng ri

đường như nguồn cơ chất cung cấp carbon chính để sản xuất tăng sinh khối nấm men (Pathissery, Rosamma, 2013; Schnierda *et al.*, 2014). Trong những hướng nhằm nâng cao sinh khối nấm men là tối ưu hóa thành phần nuôi cấy đang được quan tâm nghiên cứu. Phương pháp đáp ứng bề mặt (RSM) là một công cụ linh hoạt và hiệu quả, cung cấp các thông tin cần thiết trong các ảnh hưởng của các biến số quy trình và tổng quan các sai số thực nghiệm nhỏ nhất. RSM được áp dụng rộng rãi để tối ưu thông số quá trình nuôi cấy để sản xuất lipase và cồn sinh học (Garlapati *et al.*, 2013; Hamouda *et al.*, 2015). Mục đích của nghiên cứu này là tối ưu điều kiện lên men nấm men sử dụng ri đường như nguồn carbon cho sinh khối nấm men lớn nhất.

### NGUYÊN/VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

#### Vật liệu

Chủng *S. cerevisiae* Sc2.75 thuộc Bộ sưu tập chủng của Phòng Các chất chức năng sinh học, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và

Công nghệ Việt Nam. Môi trường: Các môi trường lên men dùng trong nghiên cứu gồm có: YPD (yeast-peptone-dextrose) (g/L): yeast extract 10, peptone 10, dextrose 20. Môi trường NM (%): rỉ đường 10, urea 0,5, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,5, MgSO<sub>4</sub> 0,01. Chuẩn bị giống: Chủng nấm men được lên men trong môi trường YPD, nuôi lắc 150rpm trong 18h làm giống lên men.

**Phương pháp**

Phương pháp xác định sinh khối nấm men khô theo phương pháp của Li và Mira de Orduña (2010).

**Thiết kế và xử lý số liệu**

Các thí nghiệm được nghiên cứu độc lập với nhau bằng cách thay đổi yếu tố khảo sát trong môi trường NM. Kết quả tối ưu của thí nghiệm trước sẽ được áp dụng cho các thí nghiệm tiếp theo. Các

thông số tối ưu bao gồm: rỉ đường (8 ÷ 20% w/v); Urea (0 ÷ 1,6%); KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(0 ÷ 1 %); MgSO<sub>4</sub> (0 ÷ 0,1%); pH (3,5 ÷ 7); thời gian (16 - 30h). Các thí nghiệm sử dụng: 10% (v/v) giống, lắc 150 rpm, 29°C ± 2, 18h. Khối lượng khô được xác định để chọn ra khoảng giá trị thích hợp phục vụ cho thí nghiệm đa biến theo phương pháp đáp ứng bề mặt.

**Phương pháp quy hoạch thực nghiệm**

Xác định nồng độ tối ưu của 3 yếu tố ảnh hưởng rỉ đường, urea và KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> bằng cách sử dụng qui hoạch trực giao đối xứng, mỗi yếu tố tiến hành tại 5 mức ( -α, -1, 0, +1, +α) (Bảng 1). Bảng ma trận thực nghiệm gồm 20 thí nghiệm, trong đó có 6 thí nghiệm ở tâm được thiết kế bởi phần mềm Design- Expert® (Del Castillo, 2007). Mối tương quan giữa giá trị mã hóa và giá trị thực được chỉ ra ở Bảng 1 và Phương trình (1).

**Bảng 1.** Giá trị mã hóa và giá trị thực nghiệm của các yếu tố thực nghiệm.

Kí hiệu	Biến số	Đơn vị	Giá trị mã hóa				
			-α	-1	0	+1	+α
X <sub>1</sub>	Rỉ đường	%	5,9	10	16	22	26,09
X <sub>2</sub>	Urea	%	0	0	0,6	1,2	1,6
X <sub>3</sub>	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	%	0	0	0,2	0,4	0,53

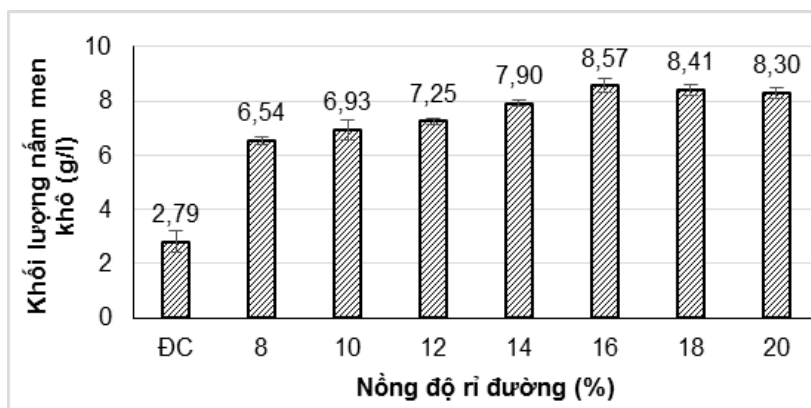
Ghi chú:  $x_i = (Xi-Xo)/\Delta Xi$  (1);  $x_i$  là giá trị mã hóa của yếu tố biến thiên thứ  $i$ ;  $X_i$  là giá trị thật của yếu tố thứ  $i$ ;  $X_o$  là giá trị thật của  $X_i$  tại điểm trung tâm;  $\Delta Xi$  là bước nhảy.

**KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**Khảo sát nồng độ rỉ đường thích hợp cho tăng sinh khối nấm men**

Hình 1 cho thấy ở các nồng độ rỉ đường khác nhau cho khối lượng nấm men khô khác nhau và cao

hơn so với môi trường đối chứng (YPD). Sinh khối nấm men tăng dần và đạt giá trị cao nhất ở 16% rỉ mật, cho khối lượng khô là 8,57g/L và giảm dần khi nồng độ rỉ đường tăng dần. Như vậy, nồng độ rỉ đường là 16% là tối ưu cho sự phát triển của chủng, sinh khối nấm men không thay đổi nhiều khi tăng nồng độ rỉ đường lên 18 và 20% (Hình 1).



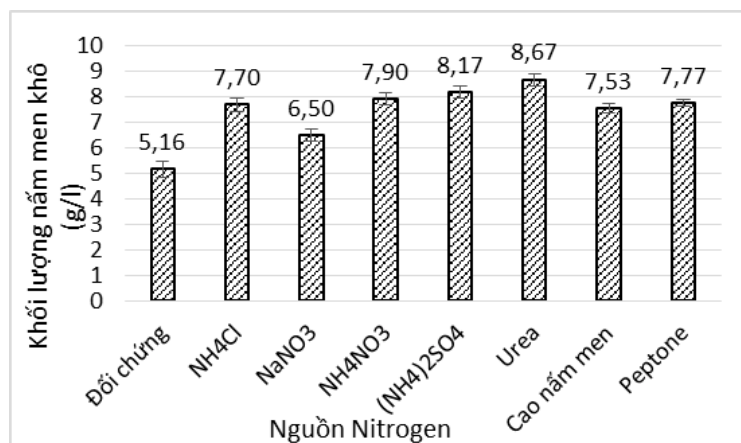
**Hình 1.** Ảnh hưởng của nồng độ rỉ đường tới sinh khối nấm men.

### Khảo sát nguồn nitrogen thích hợp cho tăng sinh khối nấm men

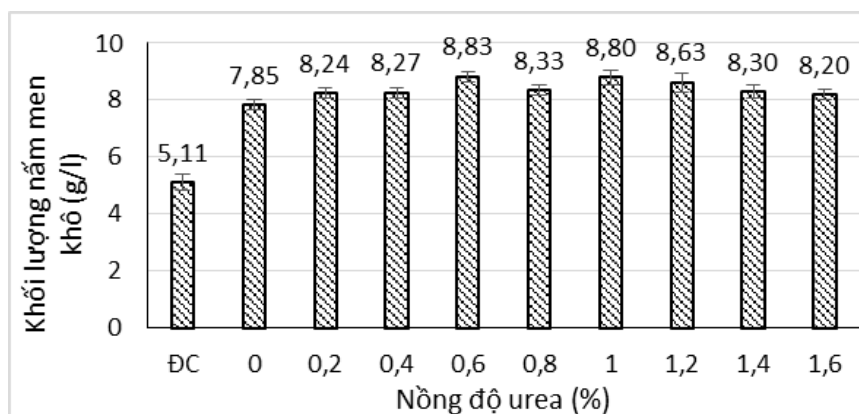
Kết quả khảo sát nguồn nitrogen thích hợp cho sự phát triển của nấm men cho thấy hầu hết các nguồn nitrogen như  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{NaNO}_3$ , urea,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , cao nấm men, pepton

đều làm tăng sinh khối nấm men so với môi trường đối chứng.

Khối lượng nấm men khô thu được nằm trong khoảng từ 6,5-8,67g/L. Tuy nhiên, nguồn nitrogen cho sinh khối nấm men cao nhất là urea với nồng độ 0,6% cho sinh khối khô là 8,83g/L (Hình 3).



Hình 2. Ảnh hưởng của nguồn nitrogen tới khối lượng nấm men.



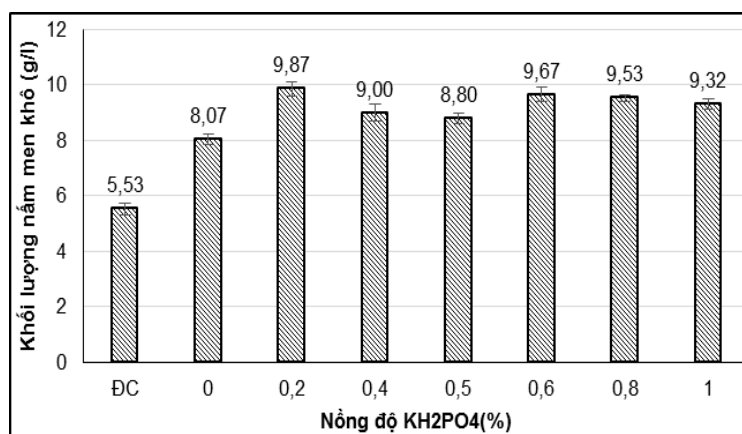
Hình 3. Ảnh hưởng của nồng độ urea tới khối lượng nấm men.

### Khảo sát nồng độ $\text{KH}_2\text{PO}_4$ thích hợp cho tăng sinh khối nấm men

Phosphorus có vai trò quan trọng trong hoạt động sống của nấm men. Nó là thành phần trong acidnucleic, nucleoprotein, phospholipid, Coenzyme A, ATP,...góp phần vào tạo hệ đệm điều chỉnh pH môi trường (Lương Đức Phẩm, 2009). Trong môi trường  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  phân li thành ion  $\text{H}^+$  làm cho hệ đệm có tính acid, ngược lại khi bổ sung  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  trong môi trường sẽ phân li thành  $\text{OH}^-$  làm môi trường pH có tính kiềm, trong khi pH

thích hợp cho nấm men phát triển là môi trường có pH hơi acid. Vì vậy,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  được lựa chọn bổ sung vào môi trường và tiến hành tối ưu nồng độ (Lê Xuân Phương, 2008).

Ở môi trường có các nồng độ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  khác nhau cho sinh khối nấm men khô khác nhau và cao hơn sinh khối từ môi trường YPD. Sinh khối nấm men khô có sự thay đổi khi nồng độ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  tăng dần và đạt cao nhất là 0,2% (đạt 9,87 g/L) (Hình 4). Khi lượng  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ít thì quá trình tổng hợp protein sẽ giảm, tổng hợp lipid sẽ tăng lên.

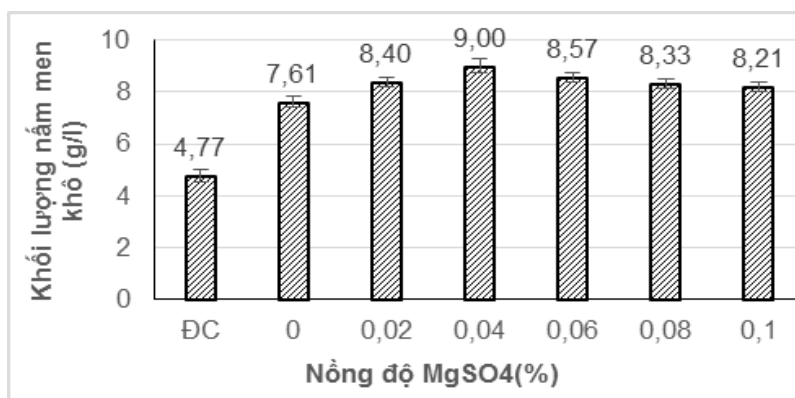


Hình 4. Ảnh hưởng của nồng độ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> tới sinh khối nấm men khô.

**Khảo sát nồng độ MgSO<sub>4</sub> thích hợp cho tăng sinh khối nấm men**

Ion Mg<sup>2+</sup> là yếu tố cần thiết cho sự phát triển và sinh tổng hợp của tế bào nấm men (Gardner, 2003). Ion này cũng làm vững chắc cấu trúc màng tế bào và bảo vệ tế bào nấm men khỏi tác động của môi trường qua quá trình lên men hoặc áp lực thẩm thấu cao (Blackwell *et al.*, 1997; Walker, Maynard, 1997). Trong nghiên cứu này, nồng độ MgSO<sub>4</sub> được khảo sát để tìm ra nồng độ thích hợp nhất cho sự sinh trưởng của nấm men.

Kết quả trên Hình 5 cho thấy sinh khối nấm men khô cao nhất đạt 9 g sinh khối khô/L ở nồng độ MgSO<sub>4</sub> 0,04%, cao hơn gấp hơn 2 lần so với môi trường đối chứng và cao hơn 1,18 lần so với môi trường không bổ sung muối MgSO<sub>4</sub>. Sinh khối nấm men bắt đầu giảm khi ở nồng độ MgSO<sub>4</sub> là 0,06%, (Hình 5) điều này cho thấy các tế bào không thể hấp thụ được tất cả Mg từ môi trường và Mg trở thành nhân tố hạn chế sự tăng tỉ lệ hấp thụ đáng kể (Saltukoglu, Slaughter, 1983).



Hình 5. Ảnh hưởng của nồng độ MgSO<sub>4</sub> tới sinh khối nấm men khô.

**Khảo sát giá trị pH và thời gian lên men thích hợp cho tăng sinh khối nấm men**

Thời gian lên men và pH môi trường có ảnh hưởng nhất định tới quá trình sinh trưởng và phát triển của nấm men (Medawar *et al.*, 2003).

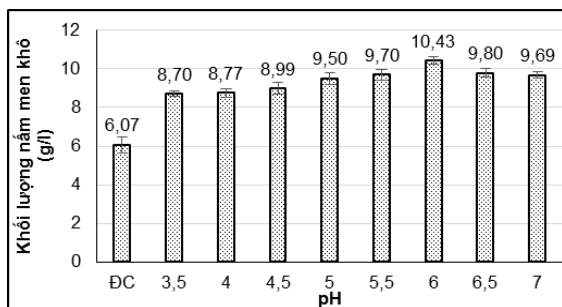
Giá trị pH ban đầu của môi trường lên men được điều chỉnh bởi HCl 0,1N và NaOH 0,2 M đến các giá

trị pH khảo sát (3,5 - 7). Kết quả trên hình 6 cho thấy, sinh khối nấm men tăng dần khi giá trị pH tăng dần và cao nhất tại pH 6, đạt 10,43 g sinh khối khô/L (Hình 6). Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Lamees và đồng tác giả (2013).

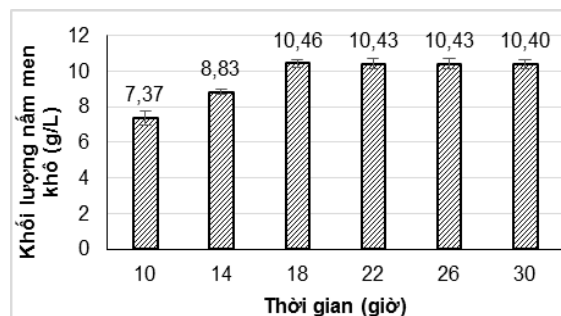
Thời gian lên men lỏng có ảnh hưởng rõ rệt đến sinh trưởng và phát triển của nấm men. Sinh

khối nấm men cao nhất sau 18 giờ lên men (10,46 g/L) và giảm dần sau đó. Kết quả này cũng phù hợp với quá trình sinh trưởng và phát triển trong

nuôi cấy liên tục của nấm men. Sau 22h, khối lượng khô nấm men hầu như không thay đổi (10,43g/L) (Hình 7).



Hình 6. Ảnh hưởng của pH tới sinh khối nấm men khô.



Hình 7. Ảnh hưởng của thời gian lên men tới sinh khối nấm men khô

### Thiết lập mô hình và phân tích số liệu

Giá trị mã hóa, kết quả thiết kế với ma trận kế hoạch thực nghiệm được trình bày ở Bảng 2. Bảng 2 gồm 20 thí nghiệm tương ứng là 20 giá trị khác nhau của ba yếu tố ri đường, urea và  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Khối lượng nấm men khô thu được tương ứng với các giá trị ba yếu tố trên.

Ở Bảng 3 cho thấy giá trị F của mô hình là 401,06 và mô hình hoàn toàn có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 99,99% ( $p < 0,0001$ ). Thêm vào đó, chuẩn F cho sự không tương thích của mô hình là 0,3 ( $p = 0,8949$ ), điều đó chứng tỏ mô hình hoàn toàn tương thích với thực nghiệm. Kết quả thu được cho thấy, các yếu tố tối ưu đều có ảnh hưởng tới tăng sinh khối nấm men. Bảng 4 chỉ ra kết quả phân tích sự phù hợp và có nghĩa của mô hình với thực nghiệm. Kết quả phân tích ANOVA cho thấy giá trị  $R^2$  là 0,9972 ở Bảng 4 gần bằng 1, chứng tỏ giá trị khối lượng nấm men khô thu được từ thực nghiệm gần với giá trị dự đoán của mô hình.

Từ các giá trị phân tích có nghĩa ở trên, giá trị hàm mong đợi được phần mềm DX10 đưa ra được biểu diễn theo phương trình cụ thể sau đây:  $Y = 10,73 + 0,039X_1 + 0,062X_2 + 0,12X_3 - 0,096X_1X_2 + 0,021X_1X_3 + 0,079X_2X_3 - 0,58X_1^2 - 0,29X_2^2 - 0,38X_3^2$  (2).

Trong đó, Y là sinh khối nấm men khô (g/L),  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  lần lượt là hàm lượng (% w/v) của ri đường, urea và  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .

Bảng 2. Ma trận thực nghiệm với 3 yếu tố ri đường, urea,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  và kết quả thí nghiệm.

STT	Ri đường (%)	Urea (%)	$\text{KH}_2\text{PO}_4$ (%)	Khối lượng nấm men (g/L)
1	16	0,6	0	9,43
2	5,91	0,6	0,2	9,03
3	16	0,6	0,2	10,73
4	10	1,2	0,4	9,77
5	22	0	0,4	9,63
6	10	0	0,4	9,33
7	22	1,2	0	9,27
8	26,09	0,6	0,2	9,13
9	10	0	0	9,26
10	16	0,6	0,2	10,8
11	10	1,2	0	9,43
12	16	0,6	0,2	10,79
13	22	0	0	9,53
14	22	1,2	0,4	9,73
15	16	0,6	0,54	9,87
16	16	0	0,2	9,78
17	16	1,61	0,2	10,03
18	16	0,6	0,2	10,67
19	16	0,6	0,2	10,73
20	16	0,6	0,2	10,67

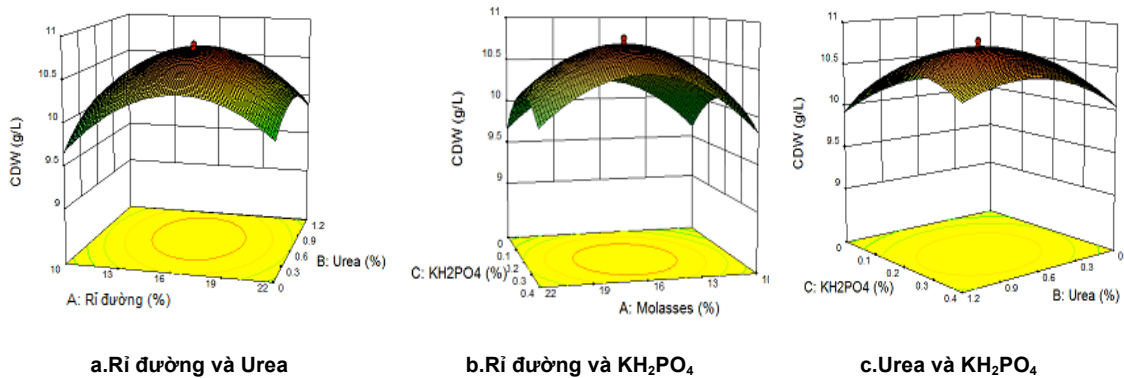
Từ Phương trình 2 cho thấy, ba yếu tố ri đường, urea và  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  có ảnh hưởng tích cực tới khối lượng nấm men khô (Hình 8). Ngoài ra, các giải pháp tối ưu với hàm lượng ba biến xác định là ri đường, urea và  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  từ sử dụng thuật toán hàm mong đợi bằng phương pháp đáp ứng bề mặt cũng được đưa ra, kết hợp với phương trình hàm mong đợi đã tìm ra, sinh khối nấm men khô tính được tương ứng với 3 biến xác định được trình bày ở Bảng 5.

**Bảng 3.** Kết quả phân tích ANOVA tối ưu quá trình tổng hợp các yếu tố.

Yếu tố	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình bình phương	Giá trị F	Giá trị p Prob > F	
Mô hình	7,35	9	0,82	401,06	<0,0001	Tin cậy
X <sub>1</sub> -rỉ đường	0,021	1	0,021	10,42	0,0091	
X <sub>2</sub> -Urea	0,055	1	0,055	27,25	0,0004	
X <sub>3</sub> -KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,21	1	0,21	105,17	<0,0001	
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	0,074	1	0,074	36,4	0,0001	
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	0,0028	1	0,0028	1,38	0,2671	
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0,050	1	0,050	24,37	0,0006	
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	4,84	1	4,84	2377,79	<0,0001	
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	1,19	1	1,19	586,71	<0,0001	
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	2,06	1	2,06	1011,71	<0,0001	
Phần dư	0,020	10	0,020			
Sự không tương thích	0,00467	5	0,00093	0,3	0,8949	Không tin cậy
Sai số thuần	0,016	5	0,0031			
Tổng tương quan	7,37	19				

**Bảng 4.** Kết quả phân tích sự phù hợp của mô hình với thực nghiệm.

Thông số	Giá trị	Thông số	Giá trị
Độ lệch chuẩn	0,045	R <sup>2</sup>	0,9972
Giá trị trung bình	9,88	R <sup>2</sup> hiệu chỉnh	0,9947
Hệ số biến thiên %	0,46	R <sup>2</sup> dự đoán	0,9918
Tổng bình phương phần dư dự đoán	0,06	Độ chính xác phù hợp	53,281



**Hình 8.** Bề mặt đáp ứng của từng cặp yếu tố ảnh hưởng tới sinh khối nấm men.

Bảng 5 cho thấy, 5 tổ hợp thành phần rỉ đường, urea và KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> tại các điểm có số thứ tự là 4, 8, 10, 11 và 12 cho khối lượng sinh khối nấm men khô mong đợi cao hơn cả và tương đương nhau. Tiến hành kiểm tra tính đúng đắn của mô hình tối ưu, tiến

hành các thí nghiệm kiểm chứng 5 điểm tối ưu mô hình đưa ra ở Bảng trên và chọn cặp biến cho kết quả hàm mong đợi tối ưu nhất.

Từ kết quả kiểm tra thực nghiệm và hiệu quả kinh tế trong sản xuất công nghiệp, giá trị tối ưu cho 3 biến

được xác định như sau: ri đường 16,13%, Urea 0,46% và  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,22%, khối lượng nấm men khô thu được là 10,71g/L. Kết quả này khẳng định việc sử dụng phương pháp toán học qui hoạch thực nghiệm hoàn

toàn có ý nghĩa và mang lại hiệu quả cao trong nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố ri đường, Urea và  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  đến quá trình sinh trưởng và phát triển của nấm men cho sinh khối nấm men khô cao.

**Bảng 5.** Các giải pháp tối ưu với hàm lượng 3 biến xác định và giá trị hàm mong đợi tối ưu.

STT	Ri đường (%)	Urea (%)	$\text{KH}_2\text{PO}_4$ (%)	Khối lượng nấm men khô (g/L)
1	16,81	0,81	0,33	10,64
2	15,78	0,49	0,14	10,65
3	18,40	0,60	0,19	10,65
<b>4</b>	<b>15,68</b>	<b>0,85</b>	<b>0,28</b>	<b>10,70</b>
5	17,06	0,93	0,19	10,64
6	14,37	0,91	0,20	10,64
7	17,94	0,91	0,27	10,63
<b>8</b>	<b>15,56</b>	<b>0,70</b>	<b>0,21</b>	<b>10,74</b>
9	16,54	0,59	0,13	10,65
<b>10</b>	<b>16,13</b>	<b>0,46</b>	<b>0,22</b>	<b>10,71</b>
<b>11</b>	<b>15,76</b>	<b>0,80</b>	<b>0,31</b>	<b>10,67</b>
<b>12</b>	<b>17,67</b>	<b>0,81</b>	<b>0,24</b>	<b>10,69</b>

**Bảng 6.** Kết quả kiểm tra sinh khối nấm men khô thu được từ mô hình và thực tế.

STT	Ri đường (%)	Urea (%)	$\text{KH}_2\text{PO}_4$ (%)	Khối lượng nấm men khô (g/L) theo thuật toán	Khối lượng nấm men khô (g/L) theo thực tế
4	15,68	0,849	0,284	10,70	10,69
8	15,56	0,70	0,21	10,74	10,73
<b>10</b>	<b>16,13</b>	<b>0,46</b>	<b>0,22</b>	<b>10,71</b>	<b>10,71</b>
11	15,76	0,80	0,31	10,67	10,66
12	17,67	0,81	0,24	10,69	10,67

## KẾT LUẬN

Phương pháp đáp ứng bề mặt - cấu trúc tại tâm đã xác định được hàm lượng tối ưu cho môi trường lên men lỏng cho sinh khối nấm men cao nhất có sử dụng ri đường như nguồn carbon và 2 yếu tố khác là urea và  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  có hàm lượng lần lượt là 16,13%, 0,46% và 0,22%. Các yếu tố này và sự tương tác giữa các yếu tố đều có sự ảnh hưởng nhất định đến quá trình sinh trưởng và phát triển của nấm men. Tối ưu các điều kiện lên men sản xuất sinh khối nấm men cho sinh khối khô (10,71g/L) cao gấp 2 lần so với môi trường đối chứng và cao gấp 1,7 lần sinh khối khô môi trường chưa tối ưu.

**Lời cảm ơn:** Công trình được thực hiện bởi sự tài trợ của đề tài “Nghiên cứu hoàn thiện qui trình sản xuất chế phẩm sinh học chứa đa enzyme và probiotic để ứng dụng trong chế biến thức ăn chăn nuôi từ bã

thải chế biến tinh bột”, mã số: 01C-06/01-2015-2. Tác giả xin chân thành cảm ơn ThS. Phương Thị Hương, CN. Nguyễn Danh Hưng, Dương Thu Hương, TS. Nguyễn Thị Nguyệt đã phụ giúp chuẩn bị thí nghiệm.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bekatorou A, Psarianos C, Koutinas AA (2006). Production of food grade yeasts. *Food Technol Biotechnol* 44(3): 407-415.
- Blackwell KJ, Tobin IM, Avery SV (1997). Manganese uptake and toxicity in magnesium- supplemented and unsupplemented *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Microbiol Biotechnol* 47: 180-184.
- Del Castillo E (2007). Process optimization: a statistical approach, Springer Science & Business Media.
- Gardner RC (2003) Genes for magnesium transport. *Curr Opin Plant Biol* 6: 263-267.

- Garlapati VK, Vundavilli PR, Banerjee R (2013) Enhanced lipase recovery through RSM integrated differential evolutionary approach from the fermented biomass. *Braz Arch Biol Technol* 56(5): 699-709.
- Gómez-Pastor R, Pérez-Torrado R, Garre E, Matallana E (2011) Recent advances in yeast biomass production. *Biomass-Detection, Production and Usage*, InTech.
- Halász A, Lásztity R (1990) Use of yeast biomass in food production, CRC Press.
- Hamouda HI, Nassar HN, Madian HR, Abu ASS, El-Gendy NSH (2015) Response surface optimization of bioethanol production from sugarcane molasses by *Pichia Veronae* strain HSC-22. *Biotechnol Res Int* 2015.
- Kwiatkowski S, Kwiatkowski SE (2012) Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) glucan polysaccharides-occurrence, separation and application in food, feed and health industries, INTECH Open Access Publisher.
- Lamees MRA, Nadhem HH, Reem W (2013) Optimum conditions for Biomass and lytic enzyme production by *Saccharomyces cerevisiae* and removal of total solids from waste water of dairy processing. *J Biotechnol Res Cent* 7(3): 61-73.
- Lê Xuân Phương (2008) Vi sinh học môi trường. ĐH Bách Khoa Đà Nẵng.
- Li E, Mira de Orduña R (2010). A rapid method for the determination of microbial biomass by dry weight using a moisture analyser with an infrared heating source and an analytical balance. *Lett Appl Microbiol* 50(3): 283-288.
- Luong Đức Phẩm (2009) Nấm men công nghiệp. NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
- Mata-Gómez LC, Montañez JC, Méndez-Zavala A, Aguilar CN (2014) Biotechnological production of carotenoids by yeasts: an overview. *Microb Cell Fact* 13(1): 12.
- Medawar W, Strehaiano P, Délia ML (2003) Yeast growth: lag phase modelling in alcoholic media. *Food Microbiology* 20(5): 527-532.
- Pathissery JS, Rosamma P (2013) A molasses based fermentation medium for marine yeast biomass production. *Int J Res Mar Sci* 2(2): 39-44.
- Saltukoglu A, Slaughter JC (1983) The effect of magnesium and calcium on yeast growth. *J Inst Brew* 89(2): 81-83.
- Schnierda T, Bauer FF, Divol B, Rensburg E, Görgens JF (2014). Optimization of carbon and nitrogen medium components for biomass production using non-Saccharomyces wine yeasts. *Lett Appl Microbiol* 58(5): 478-485.
- Solomon SG, Ataguba GA, Itodo GE (2017). Performance of *Clarias gariepinus* fed Dried Brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) slurry in replacement for soybean meal. *J Nutr Metab* 2017: 1-8.
- Walker GM, Maynard AI (1997) Accumulation of magnesium ions during fermentative metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Ind Microbiol Biotechnol* 18: 1-3.

## STUDY ON OPTIMAL FERMENTATION CONDITIONS FOR THE HIGH BIOMASS PRODUCTION OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* SC2.75

Ngô Thị Huyền Trang, Vũ Văn Hạnh

*Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology*

### SUMMARY

At present, *Saccharomyces cerevisiae* is applied widely not only in beverage fermentational industry and single cell protein production but also in feeds supplement. The aim of this study was to optimize some fermentation conditions of *S. cerevisiae* Sc2.75 strain for the highest biomass production on the cheap material source is molasses. The yeast cell biomass is significantly dependent on the concentration of C, N, P sources and mineral salts, and physical and chemical factors (pH, culture time). The yeast cell biomass was determined by the cell dried weight method. In order to enhance the cell biomass of *S. cerevisiae* Sc2.75, the fermentation conditions (molasses, urea, monopotassium phosphate, magnesium sulfate, ammonium chloride) were optimized by each factor to select optimal range of factors and then molasses, urea and monopotassium phosphate were chosen to optimize by means of response surface method- composite centre design (RSM-CCD) and Design Expert® 10 software, as a result, the optimized medium were (% w/v): molasses 16.13, Urea 0.46, monopotassium phosphate 0.22, magnesium sulfate 0.04, ammonium chloride 0.4, pH 6, at the temperature of  $29 \pm 2^\circ\text{C}$ , 150 rpm, the culture time of 18 hours, in this medium cell dried weight of strain Sc2.75 was 10.71 g/L, which was two folds increased as high as the cell dried weight obtained in the control medium and 1.7-folds increased higher than that of the original medium. The result of this study was the initial approach which was to use molasses as the inexpensive carbon source for application in the industrial probiotic production for feeds.

**Keywords:** High biomass, molasses, optimization, RSM-CCD, *Saccharomyces cerevisiae*