

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG VÀ LÊN MEN CỦA HỖN HỢP NẤM MEN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* VAR. *BOULARDII* CNCM I-745 VÀ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* 7012 TRÊN DỊCH THỦY PHÂN BẮ ĐẬU NÀNH

INVESTIGATING THE GROWTH AND FERMENTATION OF MIXED YEAST *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* VAR. *BOULARDII* CNCM I-745 AND *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* 7012 ON SOYBEAN RESIDUE HYDROLYSATE

Mai Thị Vân Anh^{1,2*}, Đặng Đình Triển², Nguyễn Thanh Hằng²

¹Trường Đại học Kinh tế - Kỹ thuật Công nghiệp

²Đại học Bách khoa Hà Nội

Đến Tòa soạn ngày 04/08/2023, chấp nhận đăng ngày 07/09/2023

Tóm tắt: Nghiên cứu này đã khảo sát khả năng sinh trưởng và lên men của hai chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* CNCM I-745 và *Saccharomyces cerevisiae* 7012 khi kết hợp so với sự sinh trưởng và lên men độc lập của từng chủng. Kết quả nghiên cứu nhận được là: hai chủng nấm men có thể đồng thời sinh trưởng và lên men trên môi trường dịch thủy phân bã đậu, tốc độ lên men khi kết hợp chủng nhanh hơn khi lên men độc lập từng chủng; quá trình lên men làm tăng hoạt tính chống oxy hóa so với trước lên men. Việc kết hợp chủng cho thấy nấm men *S. boulardii* CNCM I-745 không chỉ phát triển tốt trên môi trường dịch thủy phân bã cùng *S. cerevisiae* 7012 mà mật độ probiotic vẫn duy trì ở mức cao > 7 log CFU/ml trong 6 tuần bảo quản ở 4°C. Quá trình lên men kết hợp cũng làm biến đổi cấu trúc bã nhiều hơn so với trường hợp lên men đơn chủng.

Từ khóa: Dịch thủy phân bã đậu nành, phụ phẩm sữa đậu nành, nấm men, lên men.

Abstract: This study investigated the growth and fermentation ability when combining two strains of yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* CNCM I-745 and *Saccharomyces cerevisiae* 7012 compared with the independent growth and fermentation of each strain. The research results showed: two yeast strains can simultaneously ferment on the soybean residue hydrolysate, the fermentation speed when combining strains was faster than single-strain fermentation; fermentation also increased antioxidant activity compared with pre-fermentation. The combination of strains showed that *S. boulardii* CNCM I-745 not only grew well on residue hydrolysate with *S. cerevisiae* 7012, but the probiotic density remained high > 7 log CFU/ml during 6 weeks of storage at 4°C. The combined fermentation also changed the residue structure more than in the case of single-strain fermentation.

Keywords: Okara, soybean curd residue, yeast, fermentation.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bã đậu nành, một phụ phẩm của ngành sản xuất sữa đậu nành và đậu phụ, chứa đa dạng các chất dinh dưỡng tốt có thể khai thác. Dịch thủy phân bã bằng một số enzyme đã được

xác nhận làm gia tăng đáng kể lượng chất hòa tan, thuận lợi cho sinh trưởng, lên men của vi sinh vật. Chuyển đổi sinh học bã đậu bởi nấm men là một trong những chiến lược để thay đổi mùi vị của phụ phẩm này. Một số nấm

men và các lipase đậu nành có thể phân giải các lipid trong bã và làm tăng lượng acid béo tự do, sau đó chuyển hóa để tạo ra methyl cetone, rượu bậc hai, ester, alkane và các lactone [11]. Các aldehyde không mong muốn có thể bị oxy hóa bởi các aldehyde dehydrogenase thành acid béo, hoặc bị cắt ngắn bởi alcohol dehydrogenase nấm men thành rượu. Sau đó, acyltransferase nấm men có thể xúc tác phản ứng giữa các rượu và các chất trung gian trao đổi chất của nấm men để tạo ester. Mặt khác proteinase và peptidase có thể chuyển hóa protein trong bã đậu, các acid amin tự do sau đó có thể được phân hủy tiếp qua con đường Ehrlich bởi nấm men để tạo rượu bậc cao và ester [5].

Nghiên cứu lên men bã đậu bởi *Y. lipolytica* cho thấy nấm men này đã dị hóa các aldehyde và các acid trong bã đậu nành làm giảm mùi cỏ, mùi ngái, mùi mốc, đồng thời tạo các chất thơm dễ bay hơi như 3-metylbutanal và 2-phenylethanol; sản phẩm lên men có nhiều chất vị umami, mùi pho mát, tăng đáng kể lượng lipid, succinate, các acid amin tự do và tăng khả năng chống oxy hóa [8]. Kết hợp Celluclast® 1.5L và Viscozyme® L với protease của *Y. lipolytica* cho thấy sau quá trình đường hóa lên men đồng thời, bã đậu nành có hoạt tính chống oxy hóa cao hơn, lượng acid amin tổng số và acid ferulic cao hơn [6].

Hiện nay, một số nghiên cứu không chỉ tập trung vào khả năng lên men của nấm men trên bã đậu mà còn quan tâm đến việc kết hợp nấm men với các probiotic trên cơ chất bã. Lên men rắn giữa probiotic và hai loại nấm men *S. cerevisiae*, *Hansenula sp.* tạo nhiều rượu, este, các chất thơm hơn so với các mẫu không kết hợp [19]. Sự kết hợp *L. saturnus* NCYC 22 với một số lợi khuẩn cho thấy lợi khuẩn phù hợp nhất là *Lb. paracasei* LAFTI L26, sản phẩm lên men chứa mật độ probiotic cao,

nhiều thành phần có hoạt tính sinh học và các ester mùi trái cây... [7].

Hiện nay, *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* không chỉ được coi là probiotic mà còn là tác nhân quan trọng để tạo ra các hoạt chất sinh học thông qua quá trình lên men. *S. boulardii* ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp các chất phytochemical hoạt động như isoflavone [18] và polyphenol [2], do đó làm tăng khả năng chống oxy hóa của sản phẩm. Ngoài ra, việc sử dụng loại nấm men này làm tăng khả năng sinh học của các khoáng chất và vitamin B thiết yếu, giảm nồng độ các chất kháng dinh dưỡng như phytate [10]. *S. boulardii* không khác biệt đáng kể về mô hình sinh trưởng nhưng khả năng chịu stress tốt hơn *S. cerevisiae*, hoạt tính chống oxy hóa cao hơn, polyphenol và flavonoid tổng số cao hơn trong phần ngoại bào [14]. *S. boulardii* đã được lên men hỗn hợp với *S. cerevisiae* để sản xuất bia thủ công có nhiều lợi ích cho sức khỏe. Vào cuối quá trình lên men *S. boulardii* chiếm ưu thế về mật độ so với *S. cerevisiae*. Việc bổ sung *S. boulardii* không những không ảnh hưởng tiêu cực đến mùi thơm của bia mà còn tạo cho sản phẩm bia sự gia tăng hoạt tính chống oxy hóa và hàm lượng polyphenol [9].

Hiện tại chưa có nhiều nghiên cứu về sự lên men kết hợp giữa *S. cerevisiae* với nấm men probiotic trên cơ chất bã đậu. Đây là hướng nghiên cứu mới có tính khả thi cao, do đó nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá khả năng kết hợp của hai chủng nấm men *S. cerevisiae* 7012 và *S. boulardii* I-745 trên cơ chất dịch thủy phân bã đậu nành nhằm định hướng tạo đồ uống lên men mới từ bã đậu, có chứa nấm men probiotic. Việc kết hợp này không những giúp tăng khả năng cộng sinh của hai chủng vi sinh vật do cùng tạo ra một sản phẩm chính mà còn tận dụng được lợi thế của cả hai chủng nấm men trong sản phẩm cuối cùng.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng

Hai chủng nấm men: *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* CNCM I-745 hoạt hóa từ chế phẩm men vi sinh Bioflora (Biocodex, Pháp); *S. cerevisiae* 7012 từ bộ sưu tập của Viện Công nghệ sinh học, Công nghệ thực phẩm - Đại học Bách khoa Hà Nội, được ký hiệu tương ứng là I-745 và 7012.

Dịch thủy phân bã dùng trong nghiên cứu (DBNC) thực hiện như sau: mỗi mẫu bã thu nhận từ nhà máy sữa đậu nành Vinasoy Bắc Ninh đã tiến xử lý hấp tiệt trùng, được bổ sung nước để đạt nồng độ chất khô 5%, chỉnh pH về 7,0 và thủy phân bằng Alcalase® 2.4 L trong 1 giờ; chỉnh tiếp về pH 4,5 thủy phân trong 3 giờ bằng enzyme Viscozyme® L và Pectinex® Ultra SP-L [1], sau đó bổ sung 2 % đường saccharose vào dịch. Dịch này được đun sôi cách thủy 15 phút và làm nguội xuống khoảng 30°C trước khi cấy nấm men trong các điều kiện vô trùng.

Môi trường nhân giống cấp 1 là dịch chiết malt đại mạch 10°Bx hấp tiệt trùng 121°C trong 15 phút; môi trường cấp 2 là dịch bã đã chuẩn bị ở trên, ly tâm thu dịch trong và hấp tiệt trùng 121°C trong 15 phút.

Môi trường nuôi cấy nấm men: sử dụng môi trường thạch YGC (Yeast Glucose Chloramphenicol Agar) để định lượng cả hai loại nấm men và YPGal (Yeast Peptone Galactose) để định lượng riêng chủng 7012 do *S. boulardii* không sử dụng đường galactose làm nguồn cơ chất.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá khả năng sinh trưởng và lên men của các chủng trên dịch thủy phân bã đậu nành trong 48 giờ kể từ khi bắt đầu nuôi cấy

Các chủng nấm men từ thạch nghiêng được

nhân giống trong các ống nghiệm chứa 10 mL môi trường cấp 1 ở 30°C trong 24 giờ. 1 mL giống cấp 1 được hút vào 9 mL môi trường cấp 2 nhân giống tiếp trong 24 giờ ở 30°C. 10 mL dịch giống cấp 2 của mỗi chủng được chuyển vào bình lên men chứa 90 mL dịch bã (DBNC) để đạt mật độ ban đầu khoảng 6 log CFU/ml với mẫu lên men độc lập.

Với mẫu lên men kết hợp, chọn tỷ lệ chủng là 1:1, mật độ ban đầu mỗi chủng đều là 6 log CFU/mL dịch thủy phân. Cứ 6 h/lần xác định mật độ tế bào của từng chủng và lượng CO₂ giải phóng (dựa vào sự giảm khối lượng bình lên men) trong 48 giờ nuôi ở 30°C.

2.2.2. Đánh giá các chỉ tiêu của dịch lên men sau 48 giờ lên men độc lập và kết hợp

Tiến hành như 2.2.1, phân tích các chỉ tiêu trước lên men và sau lên men của cả 3 trường hợp gồm: pH, độ chua, hàm lượng đường tổng, hàm lượng polyphenol, hoạt tính chống oxy hóa, độ cón, thành phần các chất dễ bay hơi, đánh giá cảm quan hương thơm, quan sát hình thái hạt bã đậu qua ảnh chụp trên kính hiển vi điện tử quét.

2.2.3. Đánh giá khả năng tồn tại của các chủng nấm men khi nuôi độc lập và kết hợp trên dịch thủy phân bã đậu nành trong thời gian bảo quản ở điều kiện 4°C

Các mẫu lên men được tiến hành như 2.2.1. Xác định mật độ tế bào sau 48 giờ nuôi ở 30°C và 1 tuần/lần trong 7 tuần tàng trữ ở điều kiện lạnh 4°C bằng cách đếm khuẩn lạc nấm men trên môi trường YGC và YPGal.

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Xác định hàm lượng đường tổng

Dịch phân tích được thủy phân hoàn toàn trong 2 giờ bằng acid HCl 25%, sau đó trung hòa về pH 7,0 bằng NaOH 10%, định mức đến thể tích xác định sau đó ly tâm thu dịch trong phân tích. Hàm lượng đường khử trong dịch được xác định bằng phương pháp DNS

thông qua độ hấp thụ ở bước sóng 540 nm của sản phẩm cuối cùng với thuốc thử DNS sử dụng đường chuẩn D-glucose [4].

2.3.2. Xác định hàm lượng protein tan trong acid tricloacetic (TCA), hàm lượng polyphenol, khả năng chống oxy hóa

Tiến hành như mô tả ở [1].

2.3.3. Xác định hàm lượng ethanol trong dịch phân tích

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC, sử dụng hệ thống HPLC của Agilent Technologies 1200 series (Đức) với cột phân tích Biorad 87H, detector RID.

2.3.4. Quan sát hình thái bột bã đậu qua hình ảnh chụp bằng kính hiển vi điện tử quét

Bột bã đậu đã được chuẩn bị như mô tả của Li và cs [15] với điều chỉnh nhỏ. Mẫu bã đậu nành sau khi thủy phân được ly tâm 3.500 vòng/phút trong 10 phút, gạn dịch trong, rửa bã bằng 20 mL cồn 70% v/v và 20 mL cồn tuyệt đối, sau đó sấy ở 40°C trong 48 giờ trước khi tiến hành quan sát mẫu. Bột bã đậu được phủ bạch kim bằng thiết bị Jeol JEC-3000FC và sau đó được quan sát bằng kính SEM (JSM-IT200, Jeol, Tokyo, Nhật Bản) với độ phóng đại 5.000 lần, điện áp 5 kV.

2.3.5. Phương pháp phân tích thống kê

Kiểm tra ý nghĩa đối với dữ liệu thí nghiệm được thực hiện bằng cách sử dụng phân tích phương sai một yếu tố (One-Way ANOVA) và kiểm định Turkey sử dụng SPSS® 22.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) ở mức ý nghĩa $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

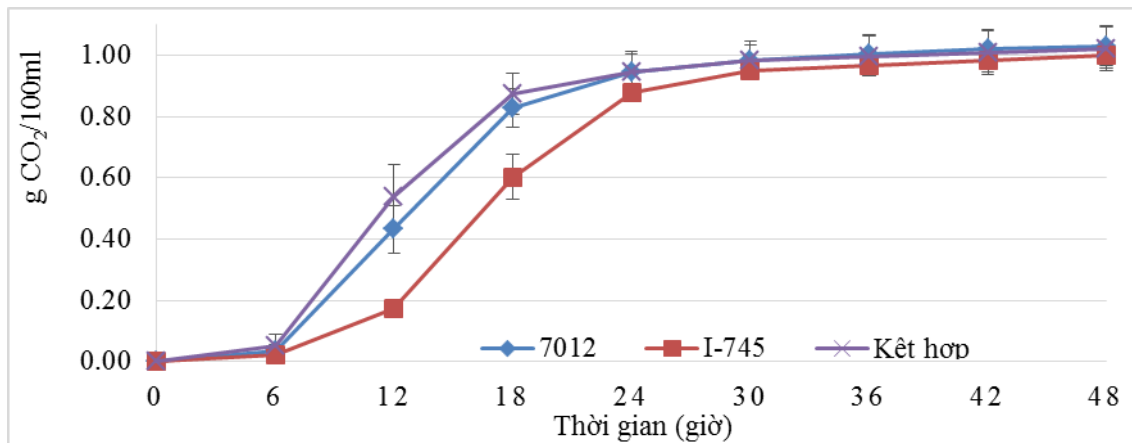
3.1. Đánh giá tốc độ sinh trưởng và lên men của các chủng nấm men trong 48 giờ đầu

Kết quả ở hình 1 cho thấy, hai chủng nấm men

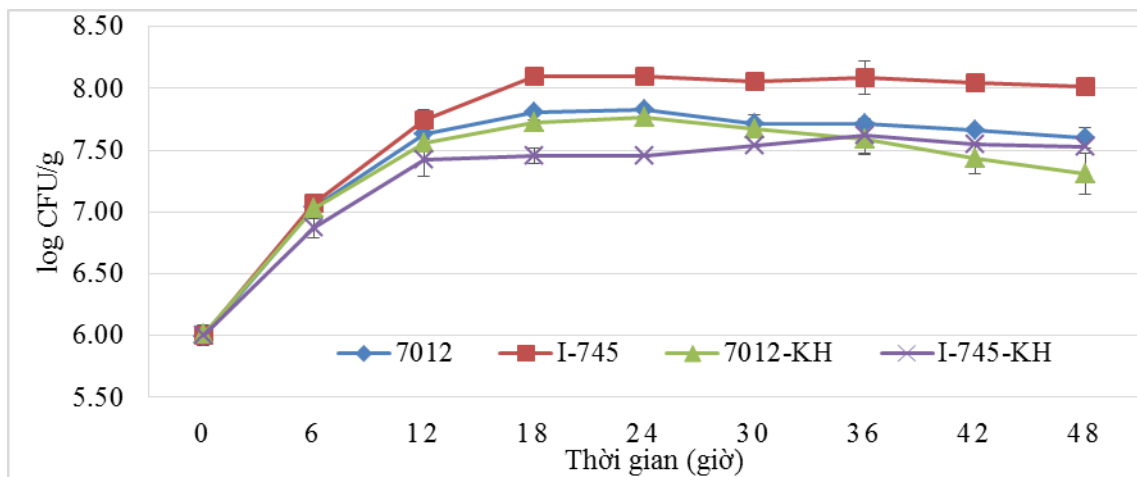
có thể sinh trưởng và lên men đồng thời trên môi trường dịch thủy phân bã đậu. Với mẫu lên men độc lập bằng chủng I-745, tốc độ giải phóng CO₂ và tổng lượng CO₂ luôn là thấp nhất, điều đó chứng tỏ khả năng sử dụng cơ chất cho sinh trưởng và lên men của I-745 khi nuôi độc lập trên dịch thủy phân bã chậm nhất. Với mẫu lên men kết hợp, tốc độ giải phóng CO₂ là nhanh nhất thể hiện ngay từ giờ nuôi cấy thứ 8. Như vậy, có thể thấy tốc độ sinh trưởng và lên men khi kết hợp chủng nhanh hơn khi lên men độc lập từng chủng.

Kết quả ở hình 2 cho thấy hai chủng nấm men có thể đồng thời tăng sinh tốt trên môi trường dịch thủy phân bã đậu, mật độ nấm men tại các mẫu lên men đơn chủng cao hơn tương ứng so với lên men hỗn hợp. Điều này hợp lý do trong mẫu lên men hỗn hợp có sự cạnh tranh về cơ chất giữa hai chủng nấm men.

Với lên men đơn chủng thì I-745 luôn là chủng có mật độ cao hơn duy trì từ giờ thứ 12 đến cuối quá trình tăng trưởng còn 7012 luôn có mật độ thấp hơn. Với chủng 7012, trong mẫu lên men hỗn hợp, mặc dù mật độ thấp hơn so với lên men độc lập nhưng đường cong sinh trưởng của 7012 vẫn thể hiện quy luật tương tự với nuôi độc lập, pha log từ 0÷ 12 giờ, pha cân bằng từ 12÷24 giờ và mật độ bắt đầu giảm từ sau 24 giờ. Có thể nhận thấy khi kết hợp, giai đoạn đầu chủng 7012 sẽ phát triển ưu thế hơn chủng còn lại về mật độ sau đó bắt đầu pha suy vong từ giờ thứ 24 còn chủng probiotic I-745 vẫn duy trì được mật độ cao hơn 7012 sau 48 giờ. Sự tồn tại của nấm men probiotic I-745 là phù hợp với định hướng của nhóm nghiên cứu là tạo đồ uống lên men có chứa nấm men probiotic.



Hình 1. Lượng CO₂ thoát ra trong 48 giờ nuôi cấy



Hình 2. Sự sinh trưởng của *S.bouardii* CNCM-I745 và *S.cerevisiae* 7012 trong 48 giờ nuôi cấy

I-745: Mật độ I-745 trong mẫu lên men đơn chủng; 7012: Mật độ 7012 trong mẫu lên men đơn chủng;

I-745-KH: Mật độ I-745 trong mẫu lên men kết hợp; 7012-KH: Mật độ 7012 trong mẫu lên men kết hợp

3.2. Đánh giá các chỉ tiêu của dịch lên men

Kết quả phân tích trong bảng 1 cho thấy, khi kết hợp hai chủng, quá trình lên men dịch thủy phân bã đậu vẫn diễn ra bình thường. Sau 48 giờ lên men, hàm lượng chất khô hòa tan của dịch đều giảm từ khoảng 5 xuống 3°Brix. Độ chua có tăng so với trước lên men tùy từng mẫu, tuy nhiên chênh lệch này là không nhiều. Hàm lượng đường tổng sau lên men của mẫu I-745 còn lại nhiều nhất. Lượng ethanol tạo ra sau 48 giờ lên men của các mẫu dao động trong khoảng 1,26÷1,38% v/v. Hàm lượng protein tan trong TCA cũng giảm sau quá trình lên men nhưng vẫn còn lại một

lượng nhất định khoảng > 400 mg/100mL. Giữa lên men đơn chủng và kết hợp sau lên men 48 giờ các khác biệt này là không đáng kể. Giảm lượng protein hòa tan có thể do hoạt tính phân giải protein của các chủng nấm men [13].

Hàm lượng polyphenol của các mẫu đều không tăng, thậm chí một số mẫu có giảm chút ít so với trước lên men. Theo Vong và cs, 2019, trong số hợp chất polyphenol có một vài thành phần được chuyển hóa trong quá trình lên men nên bị giảm đi và cũng có thể có những thành phần được tạo thêm trong quá trình lên men [7]. Do vậy lượng này thay đổi

không có quy luật cụ thể và cũng cần nghiên cứu thêm, tuy nhiên lượng giảm là không nhiều, sau quá trình lên men trong dịch vẫn còn một lượng polyphenol nhất định.

Bảng 1. Thành phần của dịch trước và sau lên men

Chỉ tiêu phân tích	Dịch trước lên men	Dịch sau 48 giờ lên men		
		7012	I-745	Kết hợp
°Brix	5,00 ^a ± 0,20	3,00 ^b ± 0,10	3,13 ^b ± 0,06	3,03 ^b ± 0,06
Ethanol, % v/v	-	1,38 ^a ± 0,02	1,26 ^b ± 0,03	1,37 ^a ± 0,01
Độ chua, mg acid lactic/100 mL	350,55 ^b ± 1,72	364,05 ^{a,b} ± 10,22	374,40 ^a ± 4,76	365,85 ^{a,b} ± 3,71
Hàm lượng đường tổng, g/100 mL	4,69 ^a ± 0,26	2,03 ^b ± 0,04	2,11 ^b ± 0,08	2,03 ^b ± 0,08
Hàm lượng protein tan trong TCA, mg/100 mL	563,96 ^a ± 21,80	409,96 ^b ± 19,03	418,40 ^b ± 17,19	406,20 ^b ± 11,30
Hàm lượng polyphenol, mg GAE/100 mL	32,83 ^a ± 1,08	29,65 ^b ± 1,29	30,41 ^{a,b} ± 0,32	30,63 ^{a,b} ± 1,32
Hàm lượng chất có hoạt tính chống oxy hóa, mg AAE/100 mL	0,60 ^c ± 0,05	1,57 ^b ± 0,06	1,66 ^{a,b} ± 0,02	1,79 ^a ± 0,04

a, b, c: Phân tích thống kê bằng ANOVA với khoảng tin cậy 95%. Các chữ cái khác nhau trong cùng một hàng thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các giá trị trung bình $p < 0,05$

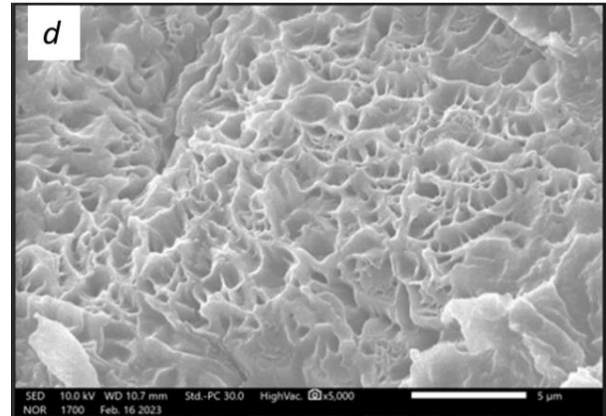
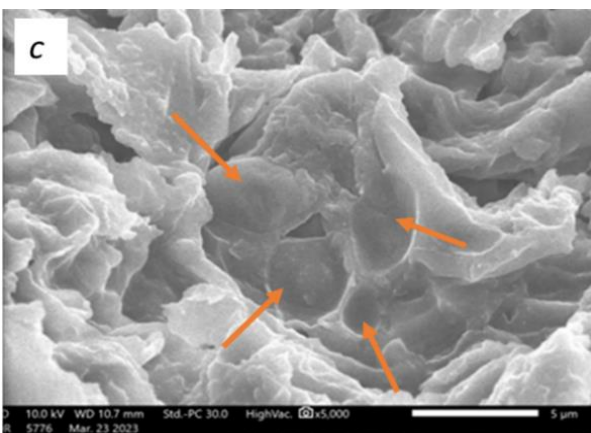
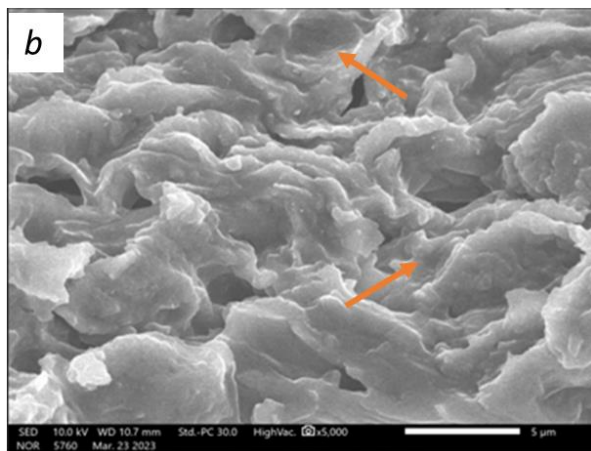
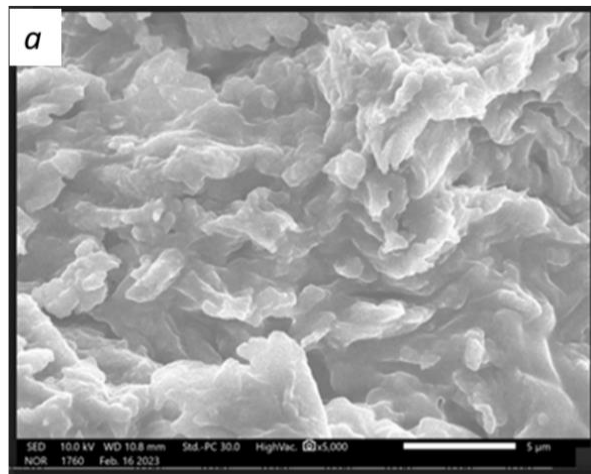
Khả năng chống oxy hóa của dịch sau lên men của các mẫu đều tăng so với trước lên men. Trong dịch lên men có sẵn một lượng peptit mạch ngắn và hàm lượng polyphenol nhất định, các thành phần này góp phần tạo khả năng chống oxy hóa cho dịch. Ngoài ra, bản thân tế bào nấm men cũng đã được công nhận là một nguồn chất chống oxy hóa. Nấm men nói chung và *S. cerevisiae* nói riêng có khả năng tổng hợp một số hợp chất có hoạt tính sinh học có thể đóng vai trò chất chống oxy hóa như glutathion [20], coenzym Q hoặc ubiquinone [3], carotenoid... [17]. Một số sản phẩm chuyển hóa bởi nấm men sau quá trình lên men, một số chất trong thành phần tế bào như protein hòa tan, acid amin chứa lưu huỳnh, β -glucan thành tế bào nấm men... cũng góp phần tạo ra khả năng chống oxy hóa

[17]. Dịch lên men bởi I-745 và dịch lên men hỗn hợp thể hiện hoạt tính chống oxy hóa cao hơn so với dịch lên men chỉ sử dụng 7012. Kết quả về hoạt tính chống oxy hóa của dịch lên men từ *S. boulardii* cao hơn so với *S. cerevisiae* cũng đã được một số tác giả công bố [16], [12].

Mặc dù nghiên cứu này mới dừng ở bước khảo sát và chưa đi sâu vào các phân tích cụ thể về cảm quan sản phẩm, nhưng theo đánh giá sơ bộ của chúng tôi, dịch sau lên men 48 giờ ở cả 3 mẫu đều có hương thơm cải thiện so với trước lên men, trong đó mẫu lên men bằng 7012 có hương thơm tốt nhất, mẫu lên men bằng I-745 mặc dù hương thơm có cải thiện so với trước lên men nhưng cường độ mùi rất thấp và kém thơm hơn mẫu 7012, mẫu lên men kết hợp chủng vừa có hương thơm

đặc trưng giống mẫu lên men đơn chủng 7012 lại vừa có một lượng probiotic mật độ cao $> 7 \log \text{CFU/mL}$ nên tích hợp được các ưu điểm của hai mẫu lên men đơn chủng, phù hợp để tiến hành nghiên cứu tạo đồ uống lên men từ bã đậu nành, có chứa probiotic.

3.3. Quan sát hình thái bột bã đậu qua hình ảnh chụp bằng kính hiển vi điện tử quét



Hình 3. Ảnh SEM của hạt bã đậu nành ở các chế độ xử lý khác nhau (độ phóng đại 5000 lần)

(a) Bã trước lên men; (b) Bã sau lên men với 7012;
(c) Bã sau lên men với I-745; (d) Bã sau lên men với tổ hợp chủng 7012 và I-745

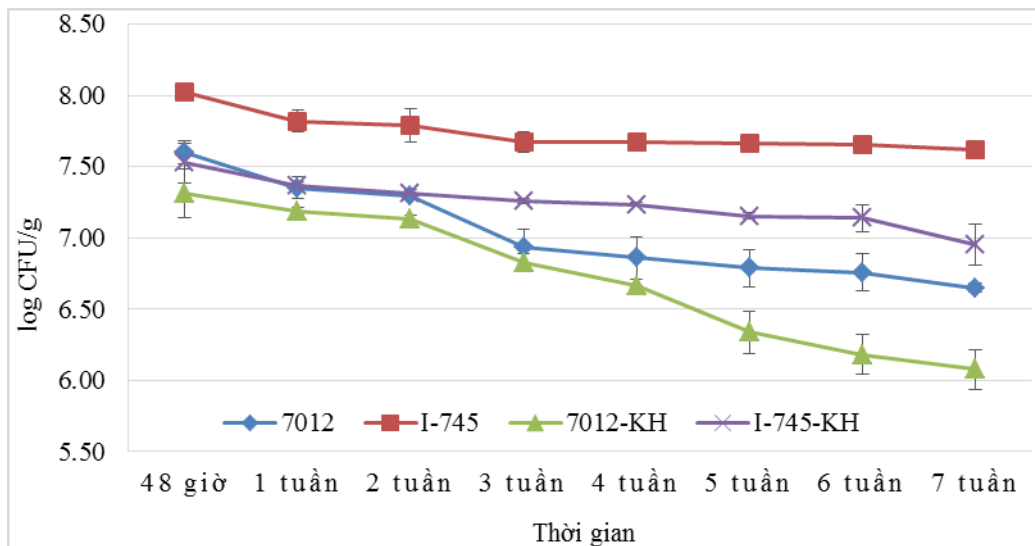
Hình ảnh SEM (hình 3) cho thấy sau quá trình lên men của nấm men trên dịch thủy phân, cấu trúc bã có sự thay đổi, xuất hiện thêm các cấu trúc rỗng tại một số vị trí do tác động của nấm men. Điều này cho thấy trong quá trình lên men, nấm men tiếp tục sử dụng triệt để hơn các chất dinh dưỡng của dịch thủy phân, đồng thời nấm men tiếp tục tấn công vào cấu trúc xơ của bã. Tác động tấn công này bắt đầu xuất hiện khi lên men đơn chủng và thể hiện rõ hơn khi kết hợp chủng, có thể thấy cấu trúc bã sau lên men bằng tổ hợp chủng xuất hiện rất nhiều vị trí tấn công của nấm men tạo ra các dạng cấu trúc lỗ xốp như tổ ong. Điều này một lần nữa khẳng định tác động hiệp đồng của việc lên men bằng tổ hợp chủng trên cơ chất bã đậu.

3.4. Đánh giá khả năng tồn tại của các chủng nấm men khi nuôi độc lập và kết hợp trên dịch thủy phân bã đậu nành trong thời gian bảo quản ở điều kiện 4°C

Kết quả hình 4 cho thấy trong quá trình bảo quản dịch lên men ở 4°C kể từ khi kết thúc thời điểm lên men 48 giờ, mật độ tế bào của tất cả các mẫu lên men tiếp tục giảm và đều đạt $> 6 \log \text{CFU/mL}$ tại thời điểm tuần thứ 7.

Trong quá trình bảo quản, mật độ I-745 trong mẫu lên men kết hợp vẫn được duy trì và giảm chậm hơn nhiều so với 7012. Đến 6 tuần bảo quản, mật độ probiotic I-745 trong mẫu

kết hợp mặc dù không cao bằng mẫu lên men đơn chủng nhưng vẫn đạt $> 7 \log \text{CFU/mL}$ dịch lên men. Sau 7 tuần, mật độ này giảm xuống $< 7 \log \text{CFU/mL}$ trong mẫu kết hợp.



Hình 4. Khả năng tồn tại của *S. boulardii* CNCM I-745 và *S. cerevisiae* 7012 khi bảo quản ở 4°C

I-745: Mật độ I-745 trong mẫu lên men đơn chủng; 7012: Mật độ 7012 trong mẫu lên men đơn chủng;
I-745-KH: Mật độ I-745 trong mẫu lên men kết hợp; 7012-KH: Mật độ 7012 trong mẫu lên men kết hợp

Như vậy, có thể khẳng định *S. boulardii* CNCM I-745 không chỉ sinh trưởng và lên men tốt trên môi trường dịch thủy phân bã khi kết hợp đồng thời cùng *S. cerevisiae* 7012 mà mật độ probiotic còn duy trì ở mức cao $> 7 \log \text{CFU/mL}$ trong 6 tuần bảo quản ở 4°C, điều này rất phù hợp cho định hướng tạo đồ uống lên men chứa probiotic.

3. KẾT LUẬN

Các kết quả thực nghiệm trên cho thấy hai chủng nấm men *S. boulardii* CNCM I-745 và *S. cerevisiae* 7012 có thể đồng lên men trên môi trường dịch thủy phân bã đậu, tốc độ lên men khi kết hợp chủng nhanh hơn khi lên men

độc lập từng chủng; quá trình lên men làm tăng hoạt tính chống oxy hóa của dịch so với trước lên men. Việc kết hợp chủng cho thấy *S. boulardii* CNCM I-745 không chỉ sinh trưởng và lên men tốt trên môi trường dịch thủy phân bã cùng *S. cerevisiae* 7012, mật độ probiotic vẫn duy trì ở mức cao $> 7 \log \text{CFU/mL}$ trong 6 tuần bảo quản ở 4°C. Quá trình lên men kết hợp cũng làm biến đổi cấu trúc bã nhiều hơn so với trường hợp lên men đơn chủng điều này cho thấy kết hợp chủng tạo điều kiện để nấm men có thể sử dụng triệt để hơn các chất dinh dưỡng của dịch thủy phân so với việc lên men độc lập từng chủng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Mai Thị Vân Anh, Nguyễn Thị Xuân Sâm, Nguyễn Kim Loan, Nguyễn Thanh Hằng. "Nghiên cứu ứng dụng Viscozyme® L và pectinex® Ultra SP-L nhằm gia tăng hiệu quả chuyển hóa bã đậu nành". Tạp chí Nông nghiệp & PTNT (2022), 15(1): p. 41-48.
- [2] Değirmencioğlu, N., O. Gurbuz, Y. Şahan, "The monitoring, via an in vitro digestion system, of the bioactive

- content of vegetable juice fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii*". *Journal of Food Processing and Preservation*, Journal (2016), 40(4), 798-811 DOI: 10.1111/jfpp.12704.
- [3] González-Mariscal, I., E. García-Testón, S. Padilla, A. Martín-Montalvo, T.P. Vicianá, L. Vázquez-Fonseca, P.G. Domínguez, C. Santos-Ocaña, "The regulation of coenzyme q biosynthesis in eukaryotic cells: all that yeast can tell us". *Molecular Syndromology*, Journal (2014), 5(3-4), 107-118 DOI: 10.1159/000362897.
- [4] Miller, G.L., "Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar". *Analytical chemistry*, Journal (1959), 31(3), 426-428 DOI: 10.1021/ac60147a030.
- [5] Sørensen, L.M., K. Gori, M.A. Petersen, L. Jespersen, N. Arneborg, "Flavour compound production by *Yarrowia lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Debaryomyces hansenii* in a cheese-surface model". *International Dairy Journal*, Journal (2011), 21(12), 970-978 DOI: 10.1016/j.idairyj.2011.06.005.
- [6] Vong, W.C., X.Y. Lim, S.-Q. Liu, "Biotransformation with cellulase, hemicellulase and *Yarrowia lipolytica* boosts health benefits of okara". *Appl Microbiol Biotechnol*, Journal (2017), 101(19), DOI: 10.1007/s00253-017-8431-1.
- [7] Vong, W.C., S.Q. Liu, "The effects of carbohydrase, probiotic *Lactobacillus paracasei* and yeast *Lindnera saturnus* on the composition of a novel okara (soybean residue) functional beverage". *LWT*, Journal (2019), 100, 196-204 DOI: 10.1016/j.lwt.2018.10.059.
- [8] Weng Chan Vong, Kai Ling Corrine A.U. Yang, Shao-Quan Liu, "Okara (soybean residue) biotransformation by yeast *Yarrowia lipolytica*". *Int J Food Microbiol*, Journal (2016), 235, 1-9 DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.06.039.
- [9] Capece, A., R. Romaniello, A. Pietrafesa, G. Siesto, R. Pietrafesa, M. Zambuto, P. Romano. "Use of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* in co-fermentations with *S. cerevisiae* for the production of craft beers with potential healthy value-added". *International journal of food microbiology* (2018), 284: p. 22-30.
- [10] Chandrasekar Rajendran, S., B. Chamlagain, S. Kariluoto, V. Piironen, P. Saris, "Biofortification of riboflavin and folate in idli batter, based on fermented cereal and pulse, by *Lactococcus lactis* N8 and *Saccharomyces boulardii* SAA655". *Journal of Applied Microbiology*, Journal (2017), 122(6), 1663-1671 DOI: 10.1111/jam.13453.
- [11] Collins, Y.F., P.L. McSweeney, M.G. Wilkinson, "Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge". *International Dairy Journal*, Journal (2003), 13(11), 841-866 DOI: 10.1016/S0958-6946(03)00109-2.
- [12] Datta, S., D.J. Timson, U.S. Annapure, "Antioxidant properties and global metabolite screening of the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Journal (2017), 97(9), 3039-3049 DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.01.015.
- [13] de Figueroa, L.I.C., M. Combina, F. Vazquez, "Multi-enzyme production by pure and mixed cultures of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeasts during wine fermentation". *International journal of food microbiology*, Journal (2012), 155(0168-1605), 43-50 DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.01.015.
- [14] Lazo-Vélez, M., S. Serna-Saldívar, M. Rosales-Medina, M. Tinoco-Alvear, M. Briones-García, "Application of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* in food processing: a review". *Journal of applied microbiology*, Journal (2018), 125(4), 943-951 DOI: 10.1111/jam.14037.
- [15] Li, Z., L. Cai, Z. Gu, Y.-C. Shi. "Effects of granule swelling on starch saccharification by granular starch hydrolyzing enzyme". *Journal of agricultural and food chemistry* (2014), 62(32): p. 8114-8119.
- [16] Mulero-Cerezo, J., Á. Briz-Redón, Á. Serrano-Aroca, "*Saccharomyces Cerevisiae* Var. *Boulardii*: Valuable

- Probiotic Starter for Craft Beer Production". Applied Sciences, Journal (2019), 9(16), 3250 DOI: 10.3390/app9163250.*
- [17] Querol, A., G.H. Fleet, *Yeasts in food and beverages*. Springer, Berlin Heidelberg New York(2006). p. 285-291.
- [18] Rekha, C., G. Vijayalakshmi, "*Bioconversion of isoflavone glycosides to aglycones, mineral bioavailability and vitamin B complex in fermented soymilk by probiotic bacteria and yeast*". *Journal of applied microbiology, Journal (2010), 109(4), 1198-1208 DOI: 10.1111/j.1365-2672.2010.04745.x.*
- [19] Shi, H., M. Zhang, W. Wang, S. Devahastin. "*Solid-state fermentation with probiotics and mixed yeast on properties of okara*". *Food Bioscience (2020), 36: p. 100610.*
- [20] Stephen, D.W., D.J. Jamieson, "*Glutathione is an important antioxidant molecule in the yeast Saccharomyces cerevisiae*". *FEMS microbiology letters, Journal (1996), 141(2-3), 207-212 DOI: 10.1016/0378-1097(96)00223-6.*

Thông tin liên hệ: **Mai Thị Vân Anh**

Điện thoại: 0976208967 - Email: mtvanh@uneti.edu.vn.

Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Kinh tế - Kỹ thuật Công nghiệp.