

Biological characterization of HT1 strain of *Streptomyces* with potential antimicrobial activity against *Streptococcus agalactiae* causing disease on tilapia

Nguyen Van Giang, Chu Duc Ha, Nguyen Thi Thu

Abstract

The article presents the biological characteristics and antimicrobial activity of actinomyces strain HT1 against *Streptococcus agalactiae* causing disease on tilapia. The 'HT1' colonies were observed to be circular, diameter 4 - 6 mm, dried surface with grayish white color, aerial hyphae are long, straight branching with a chain of spherical spore on ISP 4 medium after 21 day of cultivation. The favourable conditions for growth and antimicrobial activity of the strain HT1 were established: temperature of 30°C, pH (6 - 8), shaking speed of 200 rpm, the inoculums size of 3% (v/v), volume of medium in shaking flask of 10% (v/v). Our results also revealed that 'HT1' strain could grow well on the media containing xylose (C resource), peptone and KNO₃ (N resource) with clear zone of inhibition against *S. agalactiae* 23, 24 and 24.67 mm, respectively.

Key words: Antimicrobial activity, biological characteristics, *Streptococcus agalactiae*, actinomyces, tilapia

Ngày nhận bài: 10/6/2017
Ngày phản biện: 20/6/2017

Người phản biện: TS. Đinh Trường Sơn
Ngày duyệt đăng: 25/6/2017

TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN TỰ PHÂN TẾ BÀO NẤM MEN BIA THẢI

Nguyễn Thị Thanh Thủy¹, Hồ Tuấn Anh²

TÓM TẮT

Nấm men bia thải sau khi xử lý được tối ưu hóa các điều kiện tự phân theo thiết kế Box-Behnken. Hàm số ki vọng đơn Deringer được sử dụng để tối ưu hoá các yếu tố đầu ra. Kết quả cho thấy, khả năng phân giải bã men bia phụ thuộc nhiều vào yếu tố đơn lẻ, quan trọng nhất là nhiệt độ, thời gian và pH. Sự kết hợp giữa các yếu tố với nhau ít hoặc không làm thay đổi kết quả ở mức ý nghĩa ngoại trừ tương tác giữa pH với thời gian gây giảm các chất hòa tan. Với điều kiện tối ưu bã nấm men : nước là 1 : 3, tốc độ khuấy 30 vòng/phút, nhiệt độ tự phân 52°C, pH 5,8, thời gian tự phân 22h, tỷ lệ protein chuyển hóa đến dạng amin tự do là 41,3%, tỷ lệ protein chuyển hóa đến dạng hòa tan là 73,6%, và tỷ lệ chuyển hóa chất khô từ sinh khối vào dịch chiết nấm men là 52,1%. Giá trị kỳ vọng đạt cho cả ba hàm mục tiêu là 94,3%.

Từ khóa: Nấm men bia, tối ưu hóa, tự phân, mô hình toán học, thiết kế thí nghiệm

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tự phân (autolysis) là quá trình xảy ra tự nhiên, khi tế bào kết thúc chu kỳ phát triển và chuyển sang pha suy vong, lúc đó các enzyme nội bào sẽ được tiết ra phân hủy tế bào (Hasan and Huseyin, 2007). Mặc dù tạo ra sản phẩm với hiệu suất thu hồi cao, nhưng phương pháp phân giải tế bào bằng acid hiện nay ít được sử dụng rộng rãi do chi phí đầu tư ban đầu cao, ngoài ra có khả năng tạo ra các sản phẩm phụ gây độc như mono và dichloropropanol (Chae *et al.*, 2001). Cho đến nay việc sử dụng các enzyme như glucanase, protease, nuclease và deaminase để phân giải nấm men đang được phổ biến (Chung *et al.*, 1999; Chae *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2001). Tuy nhiên, kinh phí sử dụng cho phương pháp này còn cao. Phân giải tế bào nấm men bia thải ứng dụng

trong sản xuất thức ăn chăn nuôi thì tự phân là kinh tế nhất, có tính khả thi cao khi áp dụng ở quy mô công nghiệp.

Theo các tài liệu đã công bố và kết quả nghiên cứu của nhóm đề tài, quá trình tự phân nấm men bia thải chịu ảnh hưởng của nhiệt độ, pH, thời gian, tốc độ khuấy, tỷ lệ phối trộn sinh khối nấm men với nước (Kenji, 2002; Иванова *et al.*, 1989).

Quá trình tự phân của nấm men không chỉ chịu ảnh hưởng của các đơn yếu tố mà còn là sự kết hợp của các yếu tố với nhau. Việc thực hiện tối ưu hóa điều kiện tự phân nấm men nhằm xác định được mức độ của từng yếu tố ảnh hưởng cũng như sự tương tác giữa các yếu tố với nhau là cần thiết để nâng cao hiệu quả của quá trình tự phân.

¹ Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Kinh tế Kỹ thuật Công nghiệp

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nấm men bia thái thu từ Công ty TNHH Một thành viên Bia Rượu Eresson, khu công nghiệp Quang Minh, Mê Linh, Hà Nội. Trong quá trình tiền xử lý, nấm men thái được rửa và tách bằng nước, dung dịch H₃PO₄ 0,01N và NaCl 0,05% với tỷ lệ 3: 1 so với sinh khối, nhiệt độ 0 - 5°C, thời gian lắng 50 phút. Dịch nấm men được đưa qua sàng loại bỏ các cặn thô, lọc vớt nhằm loại bỏ nước tự do để thu được nấm men ở dạng đặc, màu kem đồng nhất, tỷ lệ tế bào sống 92 - 95%, (Hồ Tuấn Anh, 2016). Nấm men vắt có hàm lượng chất khô tuyệt đối 20,50%, hàm lượng protein và các thành phần chứa nitơ chiếm 54,72% so với chất khô tuyệt đối. Tỷ lệ protein chuyển hóa đến FAN là 4,1%, tỷ lệ protein chuyển hóa đến dạng hòa tan là 14,2%.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm tối ưu hóa điều kiện tự phân nấm men bia thái

Để xác định điều kiện tối ưu cho quá trình tự phân của nấm men, trong nghiên cứu này 5 yếu tố chính được xác định là tỷ lệ bã nấm men : nước (X₁); tốc độ khuấy (vòng/ phút) (X₂); nhiệt độ tự phân (°C) (X₃); pH (X₄); thời gian tự phân (giờ) (X₅). Giá trị biến thiên của 5 yếu tố được xác định dựa trên nghiên cứu ảnh hưởng các yếu tố đến quá trình tự phân nấm men, cụ thể như sau: Tỷ lệ sinh khối nấm men : nước: 1 : 2; 1 : 3; 1 : 4, tốc độ khuấy: 25; 30; 35 vòng /phút, nhiệt độ tự phân: 42; 47; 52°C, pH: 5,0; 5,4; 5,8, thời gian tự phân: 14; 18; 22 h. Các điều kiện tự phân trước và sau mã hóa được bố trí theo thiết kế Box-Behnken (Bảng 1). Mô hình toán học sử dụng để xác định giá trị tối ưu cho các yếu tố có dạng như sau:

$$Y_i = f_i(X_1, X_2, \dots, X_k) \text{ hay } Y = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2 + B_3X_3 + B_4X_4 + B_5X_5 + B_6X_1X_2 + B_7X_1X_3 + B_8X_1X_4 + B_9X_1X_5 + B_{10}X_2X_3 + B_{11}X_2X_4 + B_{12}X_2X_5 + B_{13}X_3X_4 + B_{14}X_3X_5 + B_{15}X_4X_5 + B_{16}X_1^2 + B_{17}X_2^2 + B_{18}X_3^2 + B_{19}X_4^2 + B_{20}X_5^2$$

Trong đó: B₀, B₁, B₂, B₃, B₄, B₅, B₆, B₇, B₈, B₉, B₁₀, B₁₁, B₁₂, B₁₃, B₁₄, B₁₅, B₁₆, B₁₇, B₁₈, B₁₉, B₂₀: là hệ số hồi quy. X₁, X₂, X₃, X₄, X₅: là các yếu tố thí nghiệm cần tối ưu.

Y_i: Là các hàm mục tiêu bao gồm: tỷ lệ protein chuyển hóa đến dạng amin tự do (FAN) (y₁), tỷ lệ protein chuyển hóa đến dạng hòa tan không kết tủa sau ly tâm (y₂), và tỷ lệ chuyển hóa chất khô từ sinh khối vào dịch chiết nấm men (y₃).

Hàm số kì vọng đơn Deringer được sử dụng để tối ưu hoá các yếu tố đầu ra (tỷ lệ protein chuyển hóa đến dạng amin tự do (FAN), tỷ lệ protein chuyển hóa đến dạng hòa tan không kết tủa sau ly tâm, và tỷ lệ chuyển hóa chất khô từ sinh khối vào dịch chiết nấm men). Hàm số kì vọng này thay đổi phụ thuộc vào điểm kì vọng, dao động từ 0 (không mong muốn) đến 1 (mong muốn), hàm này có thể đạt giá trị lớn nhất hoặc nhỏ nhất, tùy thuộc vào mục đích thí nghiệm. Phương trình hàm số kì vọng có dạng như sau:

$$d_i = 0 \quad y_i \leq y_{i,\min}$$

$$d_i = \left[\frac{(y_i - y_{i,\min})}{(y_{i,\max} - y_{i,\min})} \right]^{wi} \quad y_{i,\min} \leq y_i \leq y_{i,\max}$$

$$d_i = 1 \quad y_i \geq y_{i,\max}$$

Trong đó y_{i,min} và y_{i,max} là mức tối thiểu, mức tối đa tương ứng của các biến độc lập, đây là giá trị nhỏ nhất và lớn nhất của điểm ưa thích cho các chỉ tiêu chất lượng. Các điểm kỳ vọng đơn sau đó được kết hợp với nhau tạo thành kỳ vọng tổng thể (D) và được tính theo công thức dưới, trong đó r_i thể hiện hệ số trọng lượng cho mỗi chỉ tiêu. Trong nghiên cứu này r_i được cố định là 1.

$$D = \left(\prod_{i=1}^n d_i^{r_i} \right)^{1/\sum r_i}$$

2.2.2. Phương pháp phân tích

Xác định hàm lượng chất khô bằng phương pháp sấy đối lưu ở 60°C đến khối lượng không đổi.

Xác định hàm lượng FAN của dịch chiết nấm men theo phương pháp ninhydrin của Wylie & Johnson, đo màu ở bước sóng 570 nm, mô tả trong mục 8.10 của EBC (Analitica - EBC, 2005).

Xác định hàm lượng protein tổng số và protein hòa tan theo phương pháp của Kjeldahl, mô tả trong 8.9.1 của EBC (Analitica - EBC, 2005).

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu nhận được xử lý bằng phần mềm Excel 2010 và JMP version 13.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 7 năm 2016 đến tháng 2 năm 2017 tại Khoa Công nghệ thực phẩm - Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Bảng 1. Thiết kế thí nghiệm tối ưu hóa quá trình tự phân

Công thức	Trước mã hóa					Sau mã hóa				
	Tỷ lệ bã nầm men:nước	Tốc độ khuấy (vòng/ phút)	Nhiệt độ tự phân (°C)	pH	Thời gian tự phân (h)	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅
1	1:3	30	42	5,4	14	0	0	-1	0	-1
2	1:2	25	47	5,4	18	-1	-1	0	0	0
3	1:3	30	47	5,4	18	0	0	0	0	0
4	1:4	30	47	5,0	18	1	0	0	-1	0
5	1:2	35	47	5,4	18	-1	1	0	0	0
6	1:3	35	52	5,4	18	0	1	1	0	0
7	1:3	30	52	5,4	14	0	0	1	0	-1
8	1:3	25	42	5,4	18	0	-1	-1	0	0
9	1:3	30	52	5,8	18	0	0	1	1	0
10	1:3	35	47	5,0	18	0	1	0	-1	0
11	1:3	35	47	5,4	22	0	1	0	0	1
12	1:3	30	42	5,8	18	0	0	-1	1	0
13	1:4	35	47	5,4	18	1	1	0	0	0
14	1:2	30	47	5,4	22	-1	0	0	0	1
15	1:4	30	47	5,4	14	1	0	0	0	-1
16	1:3	25	47	5,8	18	0	-1	0	1	0
17	1:3	30	47	5,0	22	0	0	0	-1	1
18	1:2	30	47	5,8	18	-1	0	0	1	0
19	1:3	25	47	5,4	22	0	-1	0	0	1
20	1:3	25	47	5,4	14	0	-1	0	0	-1
21	1:2	30	42	5,4	18	-1	0	-1	0	0
22	1:3	30	47	5,8	14	0	0	0	1	-1
23	1:3	30	42	5,4	22	0	0	-1	0	1
24	1:3	30	47	5,0	14	0	0	0	-1	-1
25	1:3	35	42	5,4	18	0	1	-1	0	0
26	1:2	30	52	5,4	18	-1	0	1	0	0
27	1:4	30	52	5,4	18	1	0	1	0	0
28	1:3	25	52	5,4	18	0	-1	1	0	0
29	1:4	30	42	5,4	18	1	0	-1	0	0
30	1:3	35	47	5,8	18	0	1	0	1	0
31	1:3	30	47	5,4	18	0	0	0	0	0
32	1:4	30	47	5,8	18	1	0	0	1	0
33	1:2	30	47	5,0	18	-1	0	0	-1	0
34	1:3	30	47	5,4	18	0	0	0	0	0
35	1:3	30	52	5,0	18	0	0	1	-1	0
36	1:2	30	47	5,4	14	-1	0	0	0	-1
37	1:4	30	47	5,4	22	1	0	0	0	1
38	1:3	30	42	5,0	18	0	0	-1	-1	0
39	1:3	35	47	5,4	14	0	1	0	0	-1
40	1:3	30	52	5,4	22	0	0	1	0	1
41	1:4	25	47	5,4	18	1	-1	0	0	0
42	1:3	30	47	5,8	22	0	0	0	1	1
43	1:3	25	47	5,0	18	0	-1	0	-1	0

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Sau khi có bảng mã hóa các công thức, tiến hành bố trí thí nghiệm như thiết kế của mô hình, kết quả thu được trong bảng 2.

Kết quả cho thấy: đối với hàm y_1 , tỷ lệ protein chuyển hóa đến FAN dao động trong khoảng 39,6 - 41,2%; hàm y_2 , tỷ lệ protein chuyển hóa tới dạng hòa tan thu được trong khoảng 70,7 - 73,5%; hàm y_3 , tỉ lệ chất khô chuyển hóa vào dạng hòa tan thu được trong khoảng 49,0 - 51,8%. Tuy nhiên, để tìm ra được phương trình toán học cho các hàm mong đợi, lựa chọn được điểm tối ưu theo mong muốn, các số liệu đã có được xử lý tối ưu trong phần mềm JMP.

Bảng 2. Hiệu quả tự phân của tế bào nấm men ở các điều kiện khác nhau

Công thức	y_1 (%)	y_2 (%)	y_3 (%)	Công thức	y_1 (%)	y_2 (%)	y_3 (%)
1	39,7	70,9	49,0	23	40,4	72,3	50,4
2	40,3	71,8	50,1	24	40,9	71,7	50,2
3	40,4	72,1	50,4	25	39,2	71,1	49,2
4	39,9	71,9	50,2	26	40,5	71,4	49,8
5	40,5	71,8	50,2	27	40,4	72,5	50,8
6	40,7	73,0	51,4	28	40,6	73,3	51,6
7	39,9	72,5	50,6	29	40,3	72,8	51,0
8	40,1	71,2	49,4	30	40,2	71,6	50,2
9	41,1	73,5	51,8	31	41,2	72,8	51,2
10	40,0	71,6	50,0	32	40,4	72,0	50,3
11	41,2	72,6	51,0	33	41,1	73,1	51,4
12	40,9	71,9	50,2	34	39,7	71,1	49,4
13	40,6	72,2	50,6	35	40,4	72,1	50,4
14	40,9	72,1	50,6	36	39,9	72,3	50,6
15	39,9	72,1	50,2	37	39,7	71,3	49,4
16	40,8	72,6	50,8	38	41,1	72,9	51,4
17	40,7	72,3	50,8	39	39,7	70,7	49,0
18	40,9	72,3	50,6	40	40,0	71,8	49,8
19	40,8	72,4	50,8	41	41,1	73,3	51,8
20	39,6	71,6	49,6	42	40,3	72,4	50,6
21	40,2	70,9	49,2	43	40,9	72,6	51,1
22	39,7	70,9	49,0				

Với 5 yếu tố đầu vào là tỷ lệ bã nấm men : nước (X_1), tốc độ khuấy (vòng/ phút) (X_2), nhiệt độ tự phân ($^{\circ}C$) (X_3), pH (X_4), thời gian tự phân (X_5), 3 yếu tố đầu ra là tỷ lệ protein chuyển hóa đến dạng amin tự do (FAN) (y_1), tỷ lệ protein chuyển hóa đến dạng hòa tan không kết tủa sau ly tâm (y_2), và tỷ lệ chuyển hóa chất khô từ sinh khối vào dịch chiết nấm men

(y_3) phần mềm cho thấy được mức độ ảnh hưởng của các yếu tố đầu vào tới chất lượng dịch tự phân của nấm men. Kết quả được thể hiện trong bảng 3.

Từ bảng 3 có thể thấy quá trình tự phân của nấm men chịu ảnh hưởng của cả 5 yếu tố đầu vào. Tuy nhiên ảnh hưởng lớn nhất là nhiệt độ tự phân với mức quan trọng 17,8; tiếp đến là thời gian tự phân và pH môi trường tự phân có tầm ảnh hưởng gần tương tự nhau với mức quan trọng 14,8 và 14,2. Tốc độ khuấy ảnh hưởng yếu hơn khi mức quan trọng chỉ còn 10,5. Tỷ lệ nấm men : nước là yếu tố có mức độ ảnh hưởng nhỏ nhất đến chất lượng của dịch sau tự phân khi mức quan trọng chỉ có 5,6.

Bên cạnh sự ảnh hưởng của các đơn yếu tố, hiệu quả tự phân của nấm men còn chịu tác động của tương tác giữa pH và thời gian tự phân, tuy nhiên chỉ ở mức độ tương đối nhẹ thể hiện ở mức quan trọng chỉ dừng lại ở 3,5.

Để thấy rõ được tương tác của các yếu tố đến từng hàm mục tiêu, kết quả phân tích hệ số hồi quy của các yếu tố thí nghiệm được thể hiện trong bảng 4.

Từ kết quả ước lượng hệ số hồi quy, phương trình mô tả mối tương quan giữa tỷ lệ protein chuyển hóa đến dạng amin tự do (FAN) và các yếu tố thí nghiệm là:

$$y_1 = 40,4 + 0,06875X_1 + 0,18125X_2 + 0,1125X_3 + 0,5375X_4 + 0,575X_5 - 0,25X_4X_5$$

Phương trình mô tả mối tương quan giữa tỷ lệ protein chuyển hóa đến dạng hòa tan không kết tủa sau ly tâm và các yếu tố thí nghiệm là:

$$y_2 = 70,566667 + 0,35625X_1 + 0,0625X_2 + 0,80625X_3 + 0,54375X_4 + 0,39375X_5 - 0,225X_4X_5$$

Phương trình mô tả mối tương quan giữa tỷ lệ chuyển hóa chất khô từ sinh khối vào dịch chiết nấm men và các yếu tố thí nghiệm như sau:

$$y_3 = 48,866667 + 0,36875X_1 + 0,13125X_2 + 0,7875X_3 + 0,54375X_4 + 0,59375X_5 - 0,225X_4X_5$$

Với kết quả bảng 4, ảnh hưởng của các đơn yếu tố, từ X_1 đến X_5 đến 3 hàm mục tiêu đều có ý nghĩa với $P < 0,05$. Sự tương tác giữa các yếu tố với nhau hầu như không có ý nghĩa trừ sự tương tác giữa $X_4 * X_5$. Hai yếu tố pH và thời gian có ảnh hưởng đến tỉ lệ các chất hòa tan thu được ở mức ý nghĩa, tuy nhiên sự ảnh hưởng này là tiêu cực. Nó không làm tăng tỉ lệ chất hòa tan mà làm biến đổi ngược lại.

Để xác định giá trị tối ưu của các yếu tố thí nghiệm, điểm kỳ vọng sẽ được tối đa hóa khi sử dụng đồ thị dự đoán hiệu suất tự phân, kết quả được thể hiện trên hình 1.

Bảng 3. Mức độ ảnh hưởng của các yếu tố đến hiệu quả tự phân của nấm men

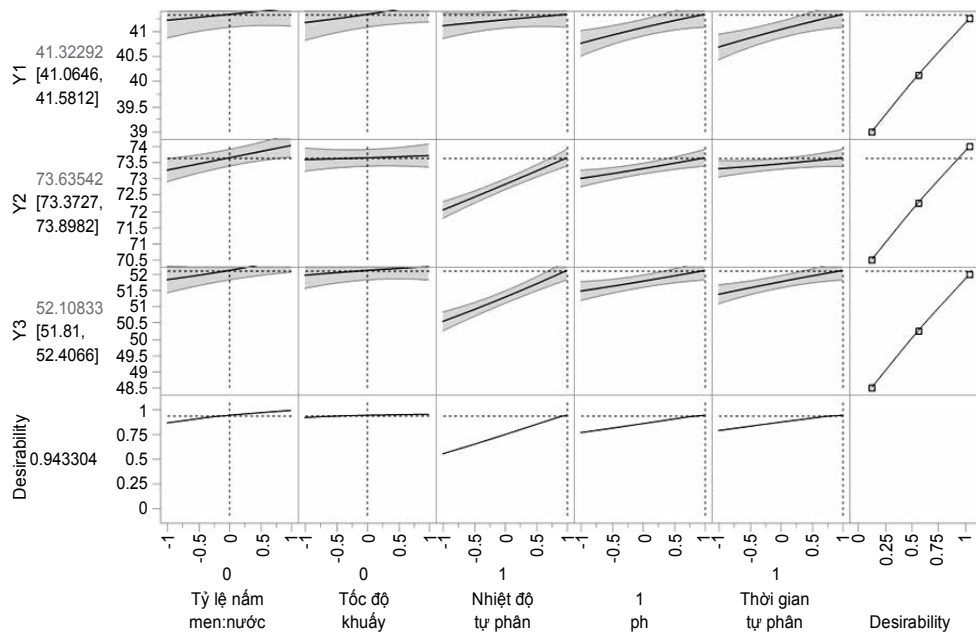
Yếu tố	Mức quan trọng	Giá trị P	Yếu tố	Mức quan trọng	Giá trị P
X ₃	17,844	0,00000	X ₄ *X ₄	0,209	0,61861
X ₅	14,890	0,00000	X ₅ *X ₅	0,209	0,61861
X ₄	14,280	0,00000	X ₂ *X ₂	0,165	0,68350
X ₁	10,541	0,00000	X ₁ *X ₄	0,000	1,00000
X ₂	5,628	0,00000	X ₂ *X ₄	0,000	1,00000
X ₄ *X ₅	3,596	0,00025	X ₁ *X ₅	0,000	1,00000
X ₁ *X ₃	0,405	0,39317	X ₂ *X ₅	0,000	1,00000
X ₁ *X ₂	0,397	0,40104	X ₂ *X ₃	0,000	1,00000
X ₃ *X ₃	0,361	0,43505	X ₃ *X ₄	0,000	1,00000
X ₁ *X ₁	0,275	0,53129	X ₃ *X ₅	0,000	1,00000

Bảng 4. Hệ số hồi quy của hàm mục tiêu y₁, y₂ và y₃

Thành phần	Hàm mục tiêu y ₁		Hàm mục tiêu y ₂		Hàm mục tiêu y ₃	
	Hệ số hồi quy	Giá trị P	Hệ số hồi quy	Giá trị P	Hệ số hồi quy	Giá trị P
Intercept (Hệ số tự do)	40,4	<0,0001	70,566667	<0,0001	48,866667	<0,0001
X ₁	0,06875	0,0256	0,35625	<0,0001	0,36875	<0,0001
X ₂	0,18125	<0,0001	0,0625	0,0436	0,13125	0,0007
X ₃	0,1125	0,0007	0,80625	<0,0001	0,7875	<0,0001
X ₄	0,5375	<0,0001	0,54375	<0,0001	0,54375	<0,0001
X ₅	0,575	<0,0001	0,39375	<0,0001	0,59375	<0,0001
X ₁ *X ₂	0,025	0,6674	-0,05	0,4010	-0,025	0,7097
X ₁ *X ₃	0,05	0,3932	0,025	0,6727	-0,05	0,4587
X ₂ *X ₃	1,776e-15	1,0000	0	1,0000	0	1,0000
X ₁ *X ₄	1,776e-15	1,0000	-3,55e-15	1,0000	-1,78e-15	1,0000
X ₂ *X ₄	1,776e-15	1,0000	3,553e-15	1,0000	1,776e-15	1,0000
X ₃ *X ₄	1,776e-15	1,0000	0	1,0000	-1,78e-15	1,0000
X ₁ *X ₅	1,776e-15	1,0000	3,553e-15	1,0000	-1,78e-15	1,0000
X ₂ *X ₅	1,776e-15	1,0000	-3,55e-15	1,0000	1,776e-15	1,0000
X ₃ *X ₅	1,776e-15	1,0000	0	1,0000	-1,78e-15	1,0000
X ₄ *X ₅	-0,25	0,0003	-0,225	0,0009	-0,225	0,0026
X ₁ *X ₁	0,0020833	0,9638	1,187e-15	1,0000	0,0333333	0,5313
X ₂ *X ₂	0,01875	0,6835	0,0083333	0,8584	-0,016667	0,7535
X ₃ *X ₃	-0,00625	0,8917	0,0166667	0,7215	0,0416667	0,4351
X ₄ *X ₄	-0,022917	0,6186	0,0166667	0,7215	0,0166667	0,7535
X ₅ *X ₅	-0,022917	0,6186	0,0166667	0,7215	-0,016667	0,7535

Kết quả hình 1 cho thấy hiệu quả tự phân sẽ đạt cao nhất đối với hàm y₁ và y₃ tại tỷ lệ bã nấm men : nước là 1 : 3, tốc độ khuấy 30 vòng/ phút, nhiệt độ tự phân 52°C, pH 5,8, thời gian tự phân 22 h. Đối với hàm y₂ giá trị max thu được tại tỷ lệ bã nấm men : nước là 1 : 4, tốc độ khuấy 30 vòng/ phút, nhiệt độ tự phân 52°C, pH 5,8, thời gian tự phân 22 h. Tuy nhiên vì 3 hàm mục tiêu này đồng thời xảy ra trong quá trình tự phân, tại điều kiện đạt max của y₁ và y₃

thì giá trị của y₂ cũng tương đối cao (thấp hơn không đáng kể so với giá trị max). Chính vì vậy, để cả 3 hàm mục tiêu đạt giá trị cao, nhóm đề tài lựa chọn điều kiện tự phân tại tỷ lệ bã nấm men : nước là 1 : 3, tốc độ khuấy 30 vòng/ phút, nhiệt độ tự phân 52°C, pH 5,8, thời gian tự phân 22h. Tại điều kiện này giá trị hàm y₁ thu được là 41,3% y₂ là 73,6% và y₃ là 52,1%. Giá trị kỳ vọng đạt cao là 94,3%.



Hình 1. Điều kiện tự phân nấm men tối ưu

IV. KẾT LUẬN

Tối ưu hóa các điều kiện tự phân theo thiết kế Box-Behnken cho thấy quá trình tự phân của nấm men chịu ảnh hưởng chủ yếu bởi các yếu tố riêng rẽ mà ít chịu ảnh hưởng bởi sự kết hợp giữa nhiều yếu tố. Yếu tố ảnh hưởng lớn nhất là nhiệt độ, tiếp theo là thời gian, pH. Chịu ảnh hưởng ít là tỉ lệ bã nấm men: nước và tốc độ khuấy.

Tỷ lệ protein chuyển hóa đến dạng amin tự do là 41,3%, tỷ lệ protein chuyển hóa đến dạng hòa tan là 73,6% và tỷ lệ chuyển hóa chất khô từ sinh khối vào dịch chiết nấm men là 52,1% trong điều kiện tối ưu tỷ lệ bã nấm men : nước là 1 : 3, tốc độ khuấy 30 vòng/phút, nhiệt độ tự phân 52°C, pH 5,8, thời gian tự phân 22 h. Tuy nhiên, tùy thuộc vào mong muốn sản phẩm đầu ra cần chỉ tiêu gì vượt trội mà lựa chọn các điều kiện tối ưu dựa trên kết quả mô hình đã tìm được.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được hỗ trợ kinh phí của Sở Khoa học và Công nghệ Hà Nội trong khuôn khổ đề tài “Nghiên cứu ứng dụng công nghệ sinh học trong tái chế men bia thải làm thức ăn chăn nuôi cho địa bàn Hà Nội”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hồ Tuấn Anh, 2016. Nghiên cứu phương pháp tiền xử lý nấm men bia thải. Hội thảo khoa học toàn quốc 2016. “Tiến bộ kỹ thuật thực phẩm và kỹ thuật sinh học: Từ nghiên cứu đến sản xuất, 10 - 11/10/2016,

Trường Đại học Bách khoa Hà Nội”. Nhà xuất bản Bách khoa Hà Nội, 253-261.

Chae, H. J., Joo, H., In, M. J., 2001. Utilization of brewer yeast cells for the production of food grade extract. Part 1: effect of different enzymatic treatments on solid and protein recovery and flavor characteristic. *Bioresource Tech.*, 76: 253-258.

Chung, Y., Chae, H. J., Kim, D. C., Oh, N. S., Park, M. J., Lee, Y. S., In, M. J., 1999. Selection of commercial proteolytic enzymes for the production of brewer yeast extract. *Food Eng. progr.*, 3: 159-163.

EBC (European Brewery Convention), 2005. *Analitica - EBC*. Copyright Fachverlag Hans Carl, Nurnberg. Printed in Germany by Fahner Druck GmbH, Lauf a.d. Pegnitz. ISBN 3-418-00759-7.

Hasan T., Huseyin E., 2007. Utilisation of spent brewer yeast for yeast extract production by autolysis: the effect of temperature. *Food and Bioproducts processing*, 86:317-321.

Kenji Satake, 2002. Tận dụng men thừa trong các nhà máy bia. Hội thảo Công nghệ xử lý chất thải và tận dụng nấm men trong ngành sản xuất bia 13/3/2002, TP. Hồ Chí Minh. Viện Nghiên cứu Bia, Nước giải khát (RIB), 11-16.

Kim D. C., Chae H. J., Kim D. C., Oh N. S., In M. J., 2001. Effect of cell lytic enzymes on the production of yeast extract. *J. Kor. Soc. Agri. Che. Biotechnol.* 44: 273-275.

Иванова, Т. Ат. Колева, Н. Люцканов, 1989, Получаване, характеристика и приложение на автолизати от пивни дрожди, Научни трудове на ВИХВП, том 36, свитък 2, 129-140.

Optimization of autolysis conditions for waste brewer's yeast

Nguyen Thi Thanh Thuy, Ho Tuan Anh

Abstract

Treated brewers' yeast is optimized for the autolysis conditions followed the Box-Behnken design. Derringer's desirability function is used for optimization of output factors. The results showed that the autolysis ability of waste beer yeast depended on various factors, but the most important ones were temperature, composting time and pH. The combined factors had very little or insignificant impact on the result, except the interaction between pH and composting time caused reducing the dissolved substances. Under the optimum condition the ratio of yeast: water at 1: 3, stirring speed at 30 rpm, temperature at 52°C, pH at 5.8 and composting time in 22h, the percentage of protein converted to free amino nitrogen, of the protein transformed to dissolved form, and of the dry matter transformed into extract were 41.3; 73.6 and 52.1%, respectively. The desirability value for all three target function was 94.3%.

Keywords: Waste beer yeast, optimization, autolysis, mathematical model, experimental design

Ngày nhận bài: 5/7/2017

Người phản biện: TS. Nguyễn Xuân Cảnh

Ngày phản biện: 10/7/2017

Ngày duyệt đăng: 27/7/2017

TUYỂN CHỌN CHỦNG VI KHUẨN LACTIC CÓ KHẢ NĂNG SINH ENZYME β - GALACTOSIDASE CHỊU AXIT (pH 2 - 3)

Nguyễn Hoàng Anh¹, Hồ Tuấn Anh²

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, 82/265 chủng vi khuẩn lactic được xác định là sinh enzyme β -galactosidase bằng phương pháp nuôi cấy trên môi trường thạch có bổ sung X-gal. Trong đó, chủng RGH7.1, RGH6.1, RGH8.8 sinh enzyme β -galactosidase ngoại bào có hoạt độ cao nhất tương ứng là 685,95 U/L, 498,92 U/L và 492,23 U/L. β -galactosidase của ba chủng này đều có hoạt độ cao ở pH 2 và 3 với hoạt độ tương đối tương ứng dao động từ 74,32 - 83,16%, 86,49 - 93,24%. Hoạt độ của β -galactosidase của ba chủng này còn trên 50% sau 4 giờ ủ ở pH 2 và 3, trong đó chủng RGH 7.1 có độ bền với pH 2 và pH 3 tốt nhất, hoạt độ còn lại sau 4 giờ ủ tương ứng là 50,01% và 65,14%. Kết quả của nghiên cứu này chỉ ra rằng enzyme β -galactosidase ngoại bào từ chủng RGH 7.1 có tiềm năng lớn ứng dụng trong công nghiệp chế biến sữa không lactose, cũng như viên nang uống chứa enzyme β -galactosidase bền ở pH 2 và 3 cho người không dung nạp lactose

Từ khóa: Vi khuẩn lactic, β -galactosidase, bền pH

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Enzyme β -galactosidase còn được gọi là lactase, là enzyme xúc tác cho quá trình thủy phân lactose thành glucose và galactose (Davail *et al.*, 1994). Nhờ khả năng phân giải lactose mà β -galactosidase được sử dụng nhiều trong công nghiệp sản xuất các sản phẩm từ sữa để giảm hàm lượng lactose, một thành phần chính trong sữa mà phần lớn người trưởng thành dung nạp rất kém và đặc biệt một số ít người lớn kể cả trẻ sơ sinh có dị ứng mạnh với đường lactose (Järvelä *et al.*, 2009). β -galactosidase được bổ sung vào quá trình sản xuất bơ sữa để tránh sự kết tinh lactose và tăng độ ngọt của sản phẩm, cải thiện các chức năng của các sản phẩm từ sữa. Ngoài ra, trong y dược chúng được sử dụng hỗ trợ tiêu hóa cho những người có khả năng hấp thụ lactose kém

(Nakayama and Amachi, 1999). Khả năng chịu pH acid đóng vai trò quan trọng trong quá trình thủy phân lactose ở các sản phẩm chế biến và sản phẩm sữa lên men. β -galactosidase có khả năng hoạt động ở pH acid trong sản xuất sữa chua và phomat sẽ làm tăng quá trình acid hóa, làm giảm khả năng đông đặc của sữa chua và tăng tốc độ phát triển cấu trúc và hương vị cho phomat (Parmjit S Panesar *et al.*, 2010). β -galactosidase có thể tìm thấy ở động vật, thực vật, nấm men, nấm mốc và vi khuẩn (Lê Xuân Phương, 2001). Trong đó, enzyme thu nhận từ vi khuẩn ưu việt hơn cả vì vi khuẩn có sinh khối nhỏ, sinh sản nhanh, nhưng tỉ lệ enzyme trong tế bào lớn. Mặt khác, môi trường dinh dưỡng để nuôi cấy vi khuẩn lại rẻ tiền, dễ kiếm nên quy trình sản xuất chế phẩm enzyme khá dễ dàng, hiệu suất thu hồi cao và ít tổn

¹ Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Trường Đại học Kinh tế Kỹ thuật Công nghiệp