

KHẢO SÁT MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM CỦA CHỦNG XẠ KHUẨN HT1 CÓ KHẢ NĂNG KHÁNG VI KHUẨN *Streptococcus agalactiae* GÂY BỆNH TRÊN CÁ RÔ PHI

Nguyễn Văn Giang¹, Chu Đức Hà², Nguyễn Thị Thu¹

TÓM TẮT

Bài báo này trình bày một số kết quả về hoạt tính kháng khuẩn *Streptococcus agalactiae* và đặc điểm sinh học của chủng xạ khuẩn HT1. Chủng xạ khuẩn HT1 có hoạt tính kháng *S. agalactiae* gây bệnh trên cá rô phi mạnh nhất với vòng kháng khuẩn đạt 21 mm sau 24 giờ nuôi. Khuẩn lạc của xạ khuẩn HT1 có kích thước từ 4 - 6 mm, hình tròn, bề mặt khô, màu xám trắng sau 21 ngày nuôi trên môi trường ISP4, cuống sinh bào tử dạng hơi lượn sóng, phân nhánh, chuỗi sinh bào tử có dạng xoắn lò xo. Chủng xạ khuẩn HT1 sinh trưởng tốt nhất khi được nuôi lỏng, lắc 200 vòng/phút, nhiệt độ là 30°C với pH 7, lượng tiếp giống ở mức 3%, thể tích môi trường lên men/thể tích bình nuôi là 10%. Nguồn cacbon và nitơ thích hợp cho sinh trưởng và sinh chất kháng khuẩn của chủng HT1 là xylose, pepton và KNO₃ với đường kính vòng kháng khuẩn tương ứng đạt 23,24 và 24,67 mm.

Từ khóa: Hoạt tính kháng khuẩn, *Streptococcus agalactiae*, xạ khuẩn, đặc điểm sinh học, cá rô phi

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Những năm gần đây, ngành nuôi cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) trên thế giới đang gặp phải nhiều dịch bệnh do liên cầu khuẩn *Streptococcus* gây ra, trong số đó phải kể đến như bệnh Streptococcosis do *Streptococcus agalactiae* (Sun *et al.*, 2016). Để khống chế *Streptococcus* spp. trong các ao nuôi cá rất nhiều liệu pháp sử dụng thuốc kháng khuẩn (erythromycin, oxytetracyclin, doxycyclin, sulfadiazin và amoxicilin) đã được áp dụng. Việc lạm dụng thuốc kháng khuẩn không những gây ra sự tồn dư thuốc trong cơ thể cá, ảnh hưởng tới chất lượng cá, mà còn dẫn đến hiện tượng kháng chất kháng khuẩn ở *S. agalactiae*. Nhiều nghiên cứu cho thấy lạm dụng kháng sinh đã dẫn tới hiện tượng “nhờn thuốc” và chính vì thế nhiều quốc gia trên thế giới đã ban hành quy định cấm và hạn chế nhiều loại kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản (Cabello, 2006).

Xạ khuẩn được biết đến là nhóm vi sinh vật phân bố rộng rãi trong tự nhiên và có khả năng sinh nhiều hợp chất kháng khuẩn có khả năng kháng lại các vi khuẩn, vi nấm gây bệnh. Gần 80% kháng sinh trên thế giới được biết đến có nguồn gốc từ xạ khuẩn, chủ yếu là chi *Streptomyces* và *Micromonospora* (Lima *et al.*, 2012). Nghiên cứu này được thực hiện nhằm tuyển chọn và đánh giá khả năng kháng vi khuẩn *S. agalactiae* của chủng xạ khuẩn HT1. Từ đó, chủng xạ khuẩn được tuyển chọn sẽ được sử dụng như nhân tố sinh học hữu hiệu nhằm kiểm soát và góp phần giảm thiểu dịch bệnh trên cá rô phi.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chủng liên cầu khuẩn *S. agalactiae* và các chủng

xạ khuẩn được Khoa Thủy sản và Bộ môn Công nghệ vi sinh - Khoa Công nghệ sinh học - Học viện Nông nghiệp Việt Nam cung cấp. Các môi trường được sử dụng trong nghiên cứu: Môi trường LB, hệ thống môi trường International Streptomyces Project (ISP) từ ISP I đến ISP 7.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Hoạt tính kháng khuẩn của chủng xạ khuẩn: Các chủng xạ khuẩn được kiểm tra khả năng kháng *S. agalactiae* bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch (agar disk-diffusion) (Balouiri *et al.*, 2016). Các chủng xạ khuẩn được nuôi trong môi trường ISP4 lỏng, 7 ngày, vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* được nuôi lắc trên môi trường LB lỏng trong vòng 24 h. Hút 0.1ml dịch nuôi vi khuẩn và cấy chang trên môi trường LB đặc. Dùng dụng cụ đục thạch có đường kính 7mm đã được vô trùng đục các thoi thạch và lấy chúng ra. Hút 0.1ml dịch nuôi cấy xạ khuẩn đã được nuôi lỏng lắc trên môi trường ISP4 từ 5 - 7 ngày trước đó nhỏ vào các lỗ thạch đã được chuẩn bị. Để đĩa thử hoạt tính trong tủ lạnh ở 4°C từ 4h để chất kháng sinh khuếch tán vào môi trường, sau đó chuyển ra tủ 30°C. Sau 24h quan sát và đo vòng kháng khuẩn. Hoạt tính kháng khuẩn được tính theo công thức: D-d (mm), trong đó D - đường kính vòng vô khuẩn, d - đường kính lỗ thạch.

- Phương pháp xác định đặc điểm sinh học của xạ khuẩn: Chủng xạ khuẩn được nuôi trên hệ thống môi trường ISP (International Streptomyces Project) (Shirling and Gottlieb, 1966) để xác định đặc điểm hình thái, màu sắc khuẩn lạc, sắc tố tan và khả năng hình thành sắc tố melanin.

¹ Khoa Công nghệ Sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Bộ môn Sinh học Phân tử, Viện Di truyền Nông nghiệp

- Ảnh hưởng của điều kiện nuôi: Chủng HT1 được nhân giống trên môi trường nhân giống cấp 1 (Yeast extract 10 g/l, dextrose 10 g/l, pH 6,8) sau đó được tiếp giống vào môi trường ISP4 chứa trong bình tam giác (V = 250 ml) lần lượt khảo sát ảnh hưởng của thời gian và trạng thái nuôi cấy (chủng xạ khuẩn được nuôi ở hai trạng thái lắc (200 vòng/phút) và tĩnh, nồng độ tiếp giống (2 - 10% v/v), nhiệt độ (25, 30, 35, 40 và 50°C), pH môi trường (từ 3 đến 11), thể tích môi trường nuôi/thể tích bình: 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 và 45%; nguồn cacbon (glucose, sucrose, maltose, xylose, lactose, fructose, tinh bột) và nguồn nitơ (pepton, cao nấm men, urea, NaNO₃, KNO₃, NH₄NO₃, (NH₄)₂SO₄). Hoạt tính kháng khuẩn được xác định bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch.

- Phương pháp xác định sinh khối khô: Chủng xạ khuẩn HT1 được nuôi trên môi trường: Yeast extract 10 g, dextrose 10 g, 1000 ml nước cất, pH 6.8 ở 30°C. Sau 3 ngày nuôi, hút 10 ml dịch nuôi bổ sung vào 100ml môi trường ISP4 lỏng đựng trong bình có thể tích 250 ml. Sau đó nuôi các bình ở 30°C trên hai trạng thái tĩnh và lắc 200 vòng/phút. Toàn bộ lượng mẫu nuôi được lọc qua giấy lọc Whatmann No 1, lượng sinh khối ướt được sấy khô trong không khí nóng. Lượng sinh khối khô được tính bằng sự chênh lệch giữa trọng lượng giấy lọc có sinh khối và trọng lượng giấy lọc đã cân trước đó (Bhavana *et al.*, 2014).

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 2/2016 - tháng 2/2017 tại phòng thí nghiệm Bộ môn Công nghệ vi sinh, Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

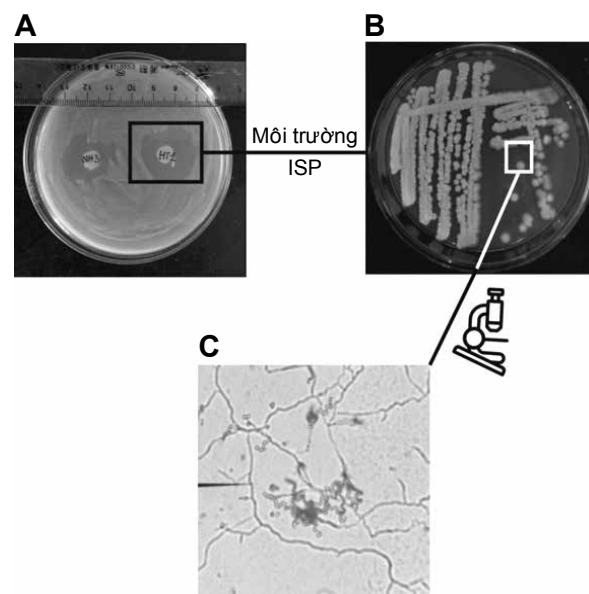
III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định đặc điểm sinh học của chủng xạ khuẩn có khả năng kháng vi khuẩn *S. agalactiae*

Từ 90 chủng xạ khuẩn được lưu giữ trong phòng thí nghiệm sau khi sàng lọc dựa trên khả năng kháng vi khuẩn *S. agalactiae*, đã chọn được chủng xạ khuẩn HT1 có khả năng kháng vi khuẩn *S. agalactiae* mạnh nhất với đường kính vòng kháng khuẩn đạt 21mm sau 24 giờ (Hình 1A). Chủng HT1 sau đó được cấy sang hệ thống môi trường ISP để quan sát đặc điểm hình thái và một số đặc tính sinh học cơ bản.

Màu sắc khuẩn lạc của chủng xạ khuẩn HT1 khi nuôi trên các môi trường ISP (từ ISP1 đến ISP7) có sự khác nhau. Khuẩn ty khí sinh của chủng HT1 có

màu xám ở các môi trường ISP1, 2, 3 và 7, trong khi các khuẩn ty này có màu trắng khi nuôi trên môi trường ISP4 và 5. Khuẩn ty cơ chất của chủng HT1 có màu xám vàng khi nuôi trên môi trường ISP1, màu vàng trên môi trường ISP2, 4 và 6, màu trắng trên môi trường ISP5 và màu xám khi nuôi trên môi trường ISP7. Sự phát triển của chủng xạ khuẩn HT1 trên môi trường ISP không làm thay đổi màu sắc vùng thạch quanh khuẩn lạc, chứng tỏ chủng HT1 không có khả năng sinh sắc tố melanin, khuẩn lạc điển hình có kích thước từ 4 - 6 mm, hình tròn, bề mặt khô, màu xám trắng sau 21 ngày nuôi (Hình 1B). Quan sát dưới kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 1000, chủng HT1 có cuống sinh bào tử dạng hơi lượn sóng, phân nhánh, chuỗi sinh bào tử có dạng xoắn lò xo (Hình 1C).

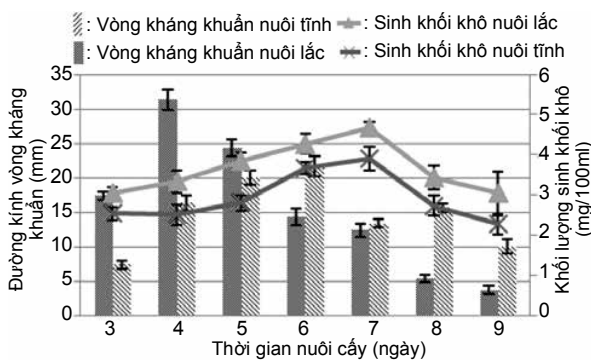


Hình 1. Sàng lọc (A), quan sát khuẩn lạc (B) sau 7 ngày nuôi trên môi trường ISP4 và xác định hình thái chuỗi bào tử (C, 1000x) của chủng xạ khuẩn HT1

3.2. Kết quả theo dõi ảnh hưởng của các điều kiện lên men đến khả năng sinh trưởng và sinh chất kháng khuẩn của chủng xạ khuẩn HT1

Hoạt tính kháng khuẩn của xạ khuẩn nói chung chịu tác động của môi trường nuôi (lên men) khác nhau. Như trình bày ở hình 2, khả năng sinh chất kháng khuẩn và khối lượng sinh khối khô có sự sai khác rõ rệt ở các điều kiện nuôi khác nhau. Trong đó, chủng HT1 có khả năng sinh trưởng và sinh chất kháng khuẩn mạnh khi được nuôi trong môi trường ISP4 lỏng, lắc 200 vòng/phút. Khả năng sinh hoạt tính kháng khuẩn được ghi nhận từ ngày thứ 3 và kéo dài đến ngày thứ 9, đạt cực đại sau 4 ngày với kích thước vòng kháng khuẩn đạt 31,33 mm.

Với mục đích tìm hiểu ảnh hưởng của mật độ giống đến khả năng hình thành chất kháng khuẩn, nồng độ tiếp giống cũng được khảo sát. Trong dải nồng độ tiếp giống từ 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9 và 10%, chủng HT1 có khả năng sinh chất kháng khuẩn cao nhất ở ngưỡng nồng độ tiếp giống 3% với đường kính vòng kháng khuẩn đạt 22,3 mm. Trước đó, Song và cộng tác viên (2012) đã cho rằng bổ sung lượng giống là 5% và thể tích môi trường là 75 ml/ trên thể tích bình tam giác (250 ml) thì hoạt tính kháng khuẩn của *S. felleus* đạt tối ưu.



Hình 2. Ảnh hưởng của thời gian và trạng thái nuôi cấy đến khả năng sinh chất kháng khuẩn của chủng HT1

Bên cạnh đó, ảnh hưởng của nhiệt độ và pH đến sinh trưởng của chủng xạ khuẩn HT1 cũng được quan tâm trong nghiên cứu này. Tiến hành thử nghiệm dải nhiệt độ từ 25, 30, 35, 40 và 50°C cho thấy, HT1 sinh trưởng tốt nhất ở ngưỡng 30°C, khi nhiệt độ đạt ngưỡng 50°C, HT1 mất hoàn toàn khả năng đối kháng vi khuẩn *S. agalactiae*. Naik và cộng tác viên (2015) cũng cho rằng ở nhiệt độ 50°C, chủng xạ khuẩn *S. zaomyeticus* có khả năng sinh trưởng nhưng lại không có khả năng sinh chất kháng khuẩn. Khi nuôi cấy HT1 trong điều kiện lỏng, lắ 200 vòng/phút, ở dải pH 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10 và 11, nhiệt độ 30°C, sinh khối khô của chủng HT1 đạt cao nhất (2,5 - 3,3 mg/100ml) và có khả năng sinh kháng khuẩn mạnh nhất (đường kính vòng kháng khuẩn từ 12,6 đến 22,3 mm) ở ngưỡng pH trung tính (từ 6 - 8). Lê Thị Thanh Xuân và Tăng Thị Chính (2007) cũng kết luận xạ khuẩn thuộc nhóm vi sinh vật phát triển tốt ở môi trường trung tính hoặc hơi kiềm.

Chủng HT1 được tiếp giống với lượng 3% thể tích giống được nuôi vào bình có dung tích 250 ml chứa môi trường ISP4, pH = 7 với tỷ lệ dịch nuôi/ thể tích bình là 10; 15; 20; 25; 30; 35; 40 và 45%. Nuôi các bình này ở 30°C với tốc độ lắ 200 vòng/phút, sau 4 ngày nuôi đem đi kiểm tra khả năng kháng vi khuẩn *S. agalactiae*. Thay đổi thể tích môi trường

lên men dẫn đến sự thay đổi lượng ôxi không khí được khuếch tán vào môi trường, vì thế ảnh hưởng tới sự phát triển của vi sinh vật. Trên cơ sở đánh giá hoạt tính kháng *S. agalactiae*, kết quả thí nghiệm cho thấy, với lượng môi trường lên men chiếm 10% thể tích bình, hiệu quả tổng hợp chất kháng khuẩn tốt nhất, tương ứng với vòng kháng *S. agalactiae* là 23,67 mm.

Như vậy, chủng xạ khuẩn HT1 có thể sinh trưởng và có hoạt tính sinh kháng khuẩn trong dải nhiệt độ 25 - 40°C, pH từ 4 - 11, tối ưu ở 30°C, pH 6 - 8. Chủng xạ khuẩn HT1 thích hợp trong nuôi cấy lỏng, lắ. Với lượng tiếp giống ở mức 3%, lượng môi trường lên men chiếm 10% thể tích bình, xạ khuẩn HT1 sinh trưởng tốt và có hoạt tính kháng khuẩn mạnh nhất.

3.3. Ảnh hưởng của nguồn cacbon và nitơ đến khả năng sinh chất kháng khuẩn của chủng HT1

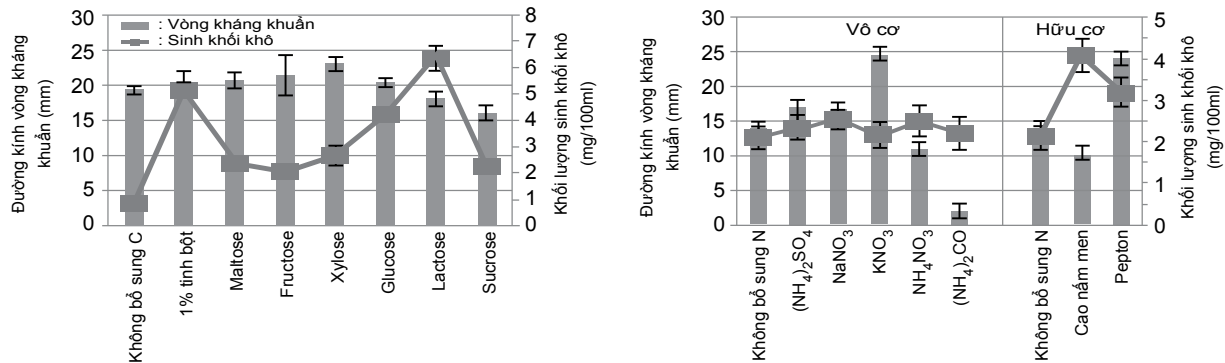
Trong môi trường nuôi cấy vi sinh vật luôn cần thiết phải cung cấp nguồn carbon và nitơ cho quá trình trao đổi chất và giải phóng năng lượng. Trong nghiên cứu này, nguồn carbon trong môi trường ISP4 được thay thế với khối lượng tương đương bởi tinh bột, maltose, fructose, xylose, glucose và sucrose, trong khi 2 nguồn nitơ đã được tiến hành đánh giá, bao gồm (i) nguồn N vô cơ là $(NH_4)_2SO_4$, $NaNO_3$, KNO_3 , NH_4NO_3 và $(NH_4)_2CO$ và (ii) nguồn nitơ hữu cơ là cao nấm men và pepton. Kết quả đánh giá khả năng sinh trưởng và khả năng sinh kháng khuẩn được thể hiện ở hình 3.

Chủng HT1 có khả năng sinh trưởng và sinh chất kháng khuẩn trên nhiều nguồn C khác nhau. Trên môi trường có bổ sung xylose, chủng HT1 có khả năng sinh chất kháng khuẩn mạnh nhất với đường kính vòng kháng khuẩn đạt 23 mm. Kết quả này cũng khá tương đồng với kết quả nghiên cứu của Bundale và cộng tác viên công bố trước đó. Các tác giả này cho rằng xylose là một nguồn carbon tốt cho sinh trưởng và sinh chất kháng khuẩn của chủng xạ khuẩn R5 (Bundale *et al.*, 2015).

Cũng như carbon, nitơ là thành phần nguyên liệu cho sự tổng hợp các sản phẩm của tế bào, ngoài ra các hợp chất chứa nitơ còn giúp tế bào thực hiện quá trình trao đổi chất và điều hòa quá trình chuyển hóa. Tuy nhiên, các dạng khác nhau của nguồn nitơ đã có ảnh hưởng tới khả năng sử dụng của vi sinh vật. Chủng HT1 có khả năng sinh trưởng và sinh chất kháng khuẩn khi nuôi trong môi trường chứa các nguồn nitơ khác nhau (Hình 3). Pepton và KNO_3

là 2 nguồn nitơ giúp xạ khuẩn HT1 có khả năng sinh chất kháng khuẩn mạnh nhất, đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là 24 và 24,67 mm. Kết quả này tuy không cao bằng hoạt tính kháng khuẩn của chính chủng HT1 khi nuôi trên môi trường ISP4 nhưng rất hữu ích trong điều kiện lên men công nghiệp, khi

cần phải sử dụng các nguồn carbon, nitơ sẵn để tìm và không đắt. Như vậy, xylose, pepton và KNO_3 là nguồn carbon và nitơ thay thế thích hợp giúp chủng xạ khuẩn HT1 sinh trưởng và có khả năng sinh chất kháng khuẩn *S. agalactiae* mạnh nhất.



Hình 3. Ảnh hưởng của nguồn cacbon và nitơ đến khả năng sinh trưởng và sinh chất kháng khuẩn của chủng HT1 khi nuôi lắc 200 vòng/phút ở nhiệt độ 30°C

IV. KẾT LUẬN

- Đã tuyển chọn được chủng xạ khuẩn HT1 có hoạt tính kháng *S. agalactiae* mạnh nhất. Chủng HT1 không có khả năng sinh sắc tố melanin trên môi trường ISP, khuẩn lạc chủng HT1 có kích thước từ 4 - 6 mm, hình tròn, bề mặt khô, màu xám trắng trên môi trường ISP sau 21 ngày nuôi cấy. Cống sinh bào tử của chủng HT1 có dạng hơi lượn sóng, phân nhánh, chuỗi sinh bào tử có dạng xoắn lò xo.

- Các điều kiện thích hợp cho chủng xạ khuẩn HT1 sinh trưởng tốt: nhiệt độ 30°C, pH trung tính (6 - 8), nuôi cấy lỏng, lắc 200 vòng/phút, lượng tiếp giống 3%, thể tích môi trường nuôi/thể tích bình nuôi là 10%.

- Chủng xạ khuẩn HT1 sinh trưởng tốt và có hoạt tính kháng *S. agalactiae* trong môi trường có nguồn carbon là xylose, nguồn nitơ là Pepton và KNO_3 với đường kính vòng kháng khuẩn đạt tương ứng là 23, 24 và 24,67 mm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Xuân Cảnh, Hồ Tú Cường, Nguyễn Thị Định, Phạm Thị Hiếu, 2016. Nghiên cứu chủng xạ khuẩn có khả năng đối kháng với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 14(11): 1809-1816.

Lê Thị Thanh Xuân, Tăng Thị Chính, 2007. Ảnh hưởng của các điều kiện lên men lên khả năng sinh chất kháng khuẩn kháng nấm *Fusarium oxysporum* của hai chủng xạ khuẩn *Streptomyces cyaneogriseus* HD54 và *Streptomyces hygroscopicus* HD58. *Tạp chí Sinh học*, 29(1): 89-94.

Balouiri, M., Sadiki, M., Ibsouda, S.K., 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal*, 6: 71-79.

Bhavana, M., Talluri, V.P., Kumar, K.S., Rajagopal, S.V., 2014. Optimization of culture conditions of *Streptomyces carpaticus* (MTCC-11062) for the production of antimicrobial compound. *Int J Pharm Pharm Sci*, 6(8): 281-285.

Bundale, S., Begde, D., Nashikkar, N., Kadam, T., Upadhyay, A., 2015. Optimization of culture conditions for production of bioactive metabolites by *Streptomyces* spp. isolated from soil. *Adv Microbiol*, 5(6): 11.

Cabello F.C., 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environ. Microbiol.*, 8: 1137-1144.

Lima, R.E., Silva, I.R., Martins, M.K., Azevedo, J.L., Araújo, J.M., 2012. Antibiotics produced by *Streptomyces*. *Braz J Infect Dis*, 16: 466-471.

Shirling, E.B. and Gottlieb, D., 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* sp. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 16: 313-340.

Song, Q., Huang, Y., Yang, H., 2012. Optimization of fermentation conditions for antibiotic production by actinomycetes YJ1 strain against *Sclerotinia sclerotiorum*. *J Agri Sci*, 4(7): 95-102.

Sun, J., Fang, W., Ke, B., He, D., Liang, Y., Ning, D., Tan, H., Peng, H., Wang, Y., Ma, Y., Ke, C., Deng, X., 2016. Inapparent *Streptococcus agalactiae* infection in adult/commercial tilapia. *Sci Rep*, 6: 26319.

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