

PHÂN LẬP VÀ ĐỊNH DANH CÁC CHỦNG NẤM MEN TỪ TRÁI HỒNG XIÊM, TRỨNG CÁ VÀ CACAO TẠI TỈNH TIỀN GIANG

Đoàn Thị Ngọc Thanh, Nguyễn Thị Kim Hằng

Trường Đại học Tiền Giang

TÓM TẮT

Ngày nay, các sản phẩm lên men từ trái cây đang ngày càng phổ biến trên thị trường. Việc sử dụng dòng nấm men phù hợp sẽ giúp nâng cao hiệu suất và chất lượng của quá trình lên men. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm phân lập, tuyển chọn và định danh các dòng nấm men từ trái hồng xiêm, trứng cá và cacao tại Tiền Giang. Đây là những trái cây được trồng nhiều tại Tiền Giang và là nguồn thu nhập tiềm năng các dòng nấm men để định hướng sản xuất rượu địa phương. Trong 10 dòng nấm men phân lập được, tuyển chọn được 4 dòng SP1-K1, CC3, SP2 và TC-K2 có khả năng chịu glucose, chịu ethanol và có khả năng kết lắng tốt. Kết quả định danh bằng giải trình tự một phần rDNA với cặp mồi ITS1 và ITS4 cho thấy các dòng tuyển chọn SP1-K1, SP2 và TC-K2 tương đồng cao với *Pichia kudriavzevii* và dòng nấm men CC3 tương đồng cao với *Hanseniaspora guilliermondii*. Các dòng nấm men trên có tiềm năng trong việc tạo hương, nâng cao năng suất lên men từ trái cây địa phương.

Từ khóa: Cacao, hồng xiêm, nấm men, trứng cá.

MỞ ĐẦU

Tiền Giang là một trong những tỉnh trồng nhiều loại cây ăn trái trong vùng Đồng bằng sông Cửu Long. Đặc biệt, với gần 75.000 ha vườn cây ăn trái, chiếm gần 40% diện tích đất nông nghiệp của tỉnh, cho sản lượng mỗi năm trên 1,39 triệu tấn trái cây các loại (Mộng Tuyết, 2018), Tiền Giang là địa phương có diện tích cây ăn trái lớn nhất cả nước. Tuy nhiên, do qui mô sản xuất nhỏ lẻ, đầu ra không ổn định, thường xuyên phải đối mặt tình trạng "trúng mùa, mất giá" nên tình hình tiêu thụ sản phẩm vẫn còn gặp nhiều khó khăn. Đặc biệt, hồng xiêm (*Manilkara zapota*) được trồng nhiều và thường bán tươi những trái ngon, những trái chất lượng không tốt được thái ra nhiều với giá rẻ. Cây cacao (*Theobroma cacao*) được quy hoạch trồng nhiều tại Tiền Giang, nhưng hiện nay, trái cacao thường được thu mua bởi các công ty sản xuất sô cô la với số lượng khiêm tốn, vẫn chưa thể thu hết trái từ nhà vườn. Bên cạnh đó, trứng cá (*Muntingia calabura*) là cây hoang dại có sức sống mạnh và cho trái nhiều, là nguồn thu nhập tiềm năng để phát triển sản phẩm mới trong tương lai. Do vậy, phát triển sản phẩm rượu lên men từ trái cây địa phương không chỉ đáp ứng nhu cầu về thức uống có ích đối với sức khỏe mà còn đáp ứng được nhu cầu đa dạng hoá sản phẩm, tạo ra sản phẩm mới có hương vị đặc trưng, góp phần giải quyết nhu cầu về đầu ra cho trái cây địa phương. Hệ vi sinh vật tham gia trong quá trình lên men trái cây tự nhiên rất phức tạp nên thường cho độ cồn không cao, dễ bị nhiễm tạp, chất lượng rượu ít được đảm bảo. Công nghiệp lên men hiện đại xây dựng dựa trên việc sử dụng chủng nấm men tuyển chọn có độ tin cậy về an toàn, khả năng lên men tốt, góp phần ổn định chất lượng của sản phẩm tạo ra (Fleeter, 2003). Trong những năm qua, men thương mại là loại thường sử dụng trong sản xuất rượu vang do nhu cầu của quy mô sản xuất công nghiệp. Tuy nhiên, men thương mại có thể làm giảm các đặc trưng của rượu vang khi lên men những nguồn nguyên liệu từ những vùng khác nhau. Do đó, ngày càng có nhiều nhà sản xuất rượu trở lại với phương pháp lên men truyền thống, sử dụng các dòng men địa phương. Các loài và chủng nấm men với các đặc tính khác nhau sẽ tạo thành các chất dễ bay hơi có thành phần và tỷ lệ khác nhau trong sản phẩm lên men rượu từ đó ảnh hưởng đến nồng độ cồn và hương vị của rượu (Xu et al., 2011). Vì vậy, việc đa dạng nguồn nấm men từ nguồn mẫu trái cây tại địa phương là cần thiết.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Phân lập và định danh sơ bộ các dòng nấm men

Các mẫu trái hồng xiêm, cacao, trứng cá chín được thu nhận tại thành phố Mỹ Tho và huyện Châu Thành, tỉnh Tiền Giang. Cân 10 g mẫu trái cây, bổ sung 90 ml môi trường YPG (Yeast extract-Peptone-Glucose medium), ủ lên men trong túi nylon vô trùng và giữ làm nguồn phân lập nấm men. Sau 24 giờ lên men, mẫu được bảo quản ở 4°C. Dòng nấm men được phân lập trên môi trường YPG và YPG có bổ sung chloramphenicol với nồng độ 30 mg/mL. Định danh sơ bộ các dòng nấm men phân lập được bằng phương pháp hình thái học dựa vào khóa phân loại nấm men của Kurtzman và Fell (1998).

Tuyển chọn chủng nấm men

Thí nghiệm kiểm tra khả năng chịu nồng độ glucose và nồng độ ethanol của các dòng nấm men được thực hiện theo phương pháp của Tahía và đồng tác giả (1983). Các dòng nấm men được nuôi cấy cùng mật độ trong dung

dịch YPG bổ sung glucose với các nồng độ 15%, 20%, 25% và 30% (w/v). Nấm men được nuôi lắc 150 vòng/phút trong 24 giờ ở 30°C, tiến hành đo mật độ quang OD_{540nm}. So sánh khả năng chịu nồng độ glucose thử nghiệm giữa các dòng phân lập và lựa chọn các dòng có khả năng chịu glucose tốt để tiếp tục khảo sát khả năng chịu ethanol. Việc tăng mật độ quang học trong mỗi bình nuôi cấy được ghi nhận như bằng chứng của sự phát triển của nấm men, và khả năng chịu nồng độ glucose (Tahía *et al.*, 1983).

Sau đó, các dòng nấm men được nuôi cấy cùng mật độ trong dung dịch YPG bổ sung ethanol tinh khiết với các nồng độ 0%, 4%, 6%, 8% và 10% (v/v). Nấm men được nuôi lắc 150 vòng/phút trong 24 giờ ở điều kiện 30°C, tiến hành đo mật độ quang OD_{540nm} (Tahía *et al.*, 1983). So sánh khả năng chịu nồng độ ethanol thử nghiệm của dòng phân lập thông qua sự khác nhau của mật độ tế bào và lựa chọn các dòng có khả năng chịu ethanol tốt để tiếp tục khảo sát tính chất kết lắng của chúng.

Thí nghiệm khảo sát khả năng kết lắng của các dòng nấm men được thực hiện theo phương pháp của Guimarães và đồng tác giả (2006). Nấm men được nuôi cấy trong ống nghiệm chứa 10 mL môi trường YPG lỏng và nuôi lắc 150 vòng/phút ở 30°C trong 72 giờ. Sau khi ủ lấy ống nghiệm ra lắc đều, rồi bắt đầu đo chiều cao đoạn lắng trong ở các ống nghiệm mỗi ngày. Nấm men được đánh giá khả năng kết lắng tốt sau 7 ngày lên men khi chiều dài đoạn dịch trong lớn hơn 75% chiều cao của khối môi trường lên men, chiều dài đoạn dung dịch trong chiếm 50-75% chiều cao của khối môi trường lên men là nấm men có khả năng lắng trung bình, chiều dài đoạn dịch trong chiếm 25-50% là nấm men có khả năng lắng yếu và nhỏ hơn 25% thì nấm men không lắng (Guimarães *et al.*, 2006).

Định danh bằng phương pháp giải trình tự

Dòng nấm men được chọn giải trình tự một phần rRNA bằng phản ứng PCR với cặp mồi ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3') và ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') (Korabecna, 2007). Điều kiện PCR được xác định để khuếch đại vùng ITS1, ITS2 và vùng DNA ribosome 5,8S (rDNA) của nấm men (kích thước đoạn gen khoảng trong khoảng 350-880 bp) là: biến tính ban đầu ở 94°C trong 90 giây; 30 chu kỳ chính gồm 3 giai đoạn lần lượt ở 95°C trong 50 giây, 55°C trong 70 giây và 72°C cho 90 giây và 1 chu kỳ cuối ở 72°C trong 5 phút. Sản phẩm PCR khuếch đại bởi cặp mồi ITS1 và ITS4 tiếp tục được tinh sạch bằng bộ clean up PCR SV kit (GeneAII® Expin™). Mẫu sản phẩm PCR sau khi tinh sạch được gửi đi giải trình tự tại công ty Nam Khoa Biotek.

Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu kết quả thí nghiệm được nhập và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và phần mềm IBM SPSS Statistics version 22 với phân tích so sánh trung bình ANOVA.

KẾT QUẢ

Kết quả phân lập dòng nấm men từ hồng xiêm, trứng cá và cacao

Từ các nguồn mẫu trứng cá, hồng xiêm và cacao, trên môi trường YPG có bổ sung kháng sinh chloramphenicol với nồng độ 30 mg/mL, đã phân lập và làm thuần được 10 dòng nấm men. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc và hình thái tế bào của 10 dòng nấm men này được mô tả ở Bảng 1.

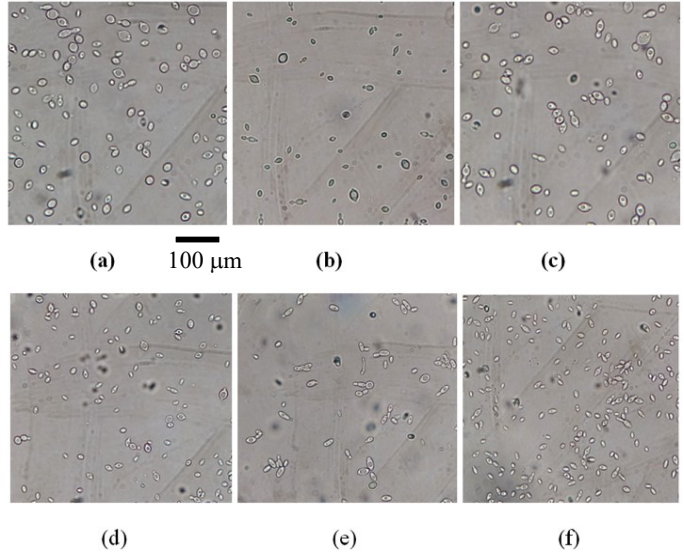
Bảng 1. Đặc điểm của các dòng nấm men phân lập được từ trái cây thí nghiệm

STT	Nguồn phân lập	Dòng nấm men	Đặc điểm khuẩn lạc	Đặc điểm tế bào
1	Hồng xiêm	SP1-K1	Hình tròn, màu trắng đục, bề mặt láng khô, mô cao, bìa răng cưa, kích thước 2-3 mm	Hình elip, nảy chồi đa cực, có hình thành nội bào tử
2	Hồng xiêm	SP1-K2	Hình tròn, màu trắng đục, bề mặt láng khô, mô cao, bìa nguyên, kích thước 2,5-3,5 mm	Hình elip, nảy chồi đơn cực, có hình thành nội bào tử
3	Cacao TD 03 tươi	CC3	Hình tròn, màu trắng sữa, bề mặt láng khô, đỉnh mô cao màu trắng đục, bìa nguyên, kích thước 1-1,5 mm	Hình oval, nảy chồi lưỡng cực, hình thành nội bào tử
4	Cacao TD 10 tươi	CC10-K1	Hình tròn, màu trắng trong, bề mặt láng khô, bìa nguyên, đỉnh màu trắng đục, bờ đều, kích thước 1,5-2 mm	Hình cầu, nảy chồi lưỡng cực, hình thành nội bào tử
5	Hồng xiêm	SP1-K3	Hình tròn, màu trắng trong, bề mặt láng khô, mô cao, bìa nguyên, kích thước 1,5-2,5 mm	Hình oval, nảy chồi lưỡng cực, hình thành nội bào tử
6	Hồng xiêm	SP2	Hình tròn, nhọn 2 đầu, màu trắng đục, bề mặt láng khô, hơi cao, bìa nhiều sợi nhỏ, kích thước 2-3,5 mm	Hình cầu, không hình thành nội bào tử
7	Hồng xiêm	SP3	Hình tròn, màu trắng trong, bề mặt láng khô, bờ đều, bìa gợn sóng, kích thước 2-2,5 mm	Hình cầu, nảy chồi đơn cực, có hình thành nội bào tử
8	Cacao TD 10 tươi	CC10-K2	Hình tròn, màu trắng trong, bề mặt láng khô, bờ đều, bìa nguyên, kích thước 1,5-2 mm	Hình elip nhọn, nảy chồi đơn cực, hình thành nội bào tử
9	Trứng cá	TC-K1	Hình tròn, màu trắng trong, bề mặt láng ướt, nhầy, bìa nguyên, kích thước 1-2 mm	Hình cầu, có hình thành nội bào tử
10	Trứng cá	TC-K2	Hình elip nhọn, màu trắng đục, bề mặt sần, bìa nguyên, bờ đều, kích thước 2,5- 3,5 mm	Hình elip, nảy chồi đơn cực, có hình thành nội bào tử

Các chủng phân lập được trên môi trường thạch YPG ở 30°C sau 24 giờ có sự đa dạng về hình dạng khuẩn lạc và hình dạng tế bào. Hình dạng tế bào tiêu biểu quan sát dưới kính hiển vi vật kính 40X được thể hiện trên Hình 1.

Hình 1. Hình dạng tế bào của 6 dòng nấm men

- (a) Tế bào hình cầu dòng SP2;
- (b) Tế bào hình cầu dòng CC10-K1;
- (c) Tế bào hình oval dòng CC3;
- (d) Tế bào hình oval dòng SP1-K3;
- (e) Tế bào hình elip dòng SP1-K1 ;
- (f) Tế bào hình elip nhọn dòng CC10-K2.



Khảo sát khả năng chịu nồng độ đường glucose của các dòng nấm men phân lập

Nhiều nghiên cứu khác nhau đã thực hiện để đánh giá loại đường hoặc nồng độ đường hỗ trợ tốt nhất trong quá trình lên men đã cho thấy glucose là cơ chất cho hiệu quả tốt nhất của quá trình lên men yếm khí trong sản xuất rượu. Tuy nhiên, nếu nồng độ glucose quá cao sẽ dẫn đến sự ức chế tăng trưởng của nấm men từ đó ảnh hưởng đến hiệu suất của quá trình lên men (Abigail *et al.*, 2018).

Kết quả đo OD_{540nm} của 10 chủng phân lập sau 24 giờ nuôi cấy trên môi trường YPG có bổ sung lần lượt 15%, 20%, 25%, 30% (w/v) glucose so với môi trường YPG chuẩn được thể hiện trên Bảng 2.

Bảng 2. Giá trị OD_{540nm} của các dòng nấm men tại các nồng độ glucose khác nhau

NDD (%)	Dòng										F	CV(%)
	SP1-K1	SP1-K2	CC3	CC10-K1	SP1-K3	SP2	SP3	CC10-K2	TC-K1	TC-K2		
15	6,58 ^a	6,06 ^a	7,73 ^a	6,70 ^a	6,13 ^a	9,33 ^a	7,35 ^a	7,88 ^a	2,88 ^a	7,73 ^a	ns	1,35
20	8,57 ^a	7,10 ^a	6,43 ^a	8,10 ^a	8,40 ^a	6,60 ^a	5,42 ^a	5,86 ^a	0,62 ^b	4,64 ^{ab}	*	1,52
25	2,68 ^{ab}	2,01 ^b	3,71 ^a	2,69 ^{ab}	3,54 ^a	3,40 ^{ab}	4,18 ^a	3,37 ^{ab}	0,16 ^c	1,93 ^b	**	4,70
30	3,38 ^a	3,65 ^a	3,31 ^a	2,87 ^a	2,46 ^{ab}	2,47 ^{ab}	3,55 ^a	2,50 ^{ab}	0,77 ^b	1,95 ^{ab}	*	

Ghi chú: NDD- nồng độ đường, các số trong một hàng có cùng chữ theo sau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% (*), 1% (**) hoặc không có ý nghĩa thống kê (ns).

Qua Bảng 2 cho thấy các dòng SP1-K1, SP1-K2, CC3, CC10-K1, SP2, SP3 là các dòng có khả năng chịu glucose tốt hơn các dòng còn lại (với mức ý nghĩa 5%) ở nồng độ glucose 20 - 30%. Do đó, các dòng này được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo. Riêng dòng TC-K2 tuy có giá trị OD_{540nm} tương đối thấp nhưng do mong muốn thu nhận được nguồn nấm men đa dạng nên dựa trên nguồn gốc phân lập sẽ lựa chọn thêm dòng TC-K2 cho thí nghiệm tiếp theo.

Khảo sát khả năng chịu nồng độ ethanol của các dòng nấm men phân lập

Sau khi tuyển chọn được 7 dòng có khả năng chịu nồng độ glucose tốt, tiến hành nuôi cấy các dòng tại môi trường YPG có bổ sung ethanol tinh khiết với các nồng độ tương ứng là 0%, 4%, 6%, 8% và 10% (v/v) và khảo sát giá trị OD_{540nm} sau 24 giờ nuôi. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần với 3 ống nghiệm khác nhau. Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Giá trị OD_{540nm} của các dòng nấm men tại các nồng độ ethanol khác nhau

NDE (%)	Dòng							F	CV(%)
	SP1-K1	SP1-K2	CC3	CC10-K1	SP2	SP3	TC-K2		
0	2,56 ^a	2,52 ^a	2,24 ^a	2,28 ^a	2,62 ^a	2,64 ^a	2,37 ^a	ns	2,87
4	1,88 ^{abc}	1,87 ^{abc}	0,92 ^{cd}	1,23 ^{bcd}	2,34 ^a	0,74 ^d	2,08 ^{ab}	*	4,47
6	1,19 ^{ab}	1,30 ^{ab}	0,17 ^c	0,11 ^c	2,00 ^a	0,13 ^c	1,03 ^{bc}	**	5,41
8	0,67 ^a	0,13 ^a	0,32 ^a	0,06 ^a	0,55 ^a	0,34 ^a	0,26 ^a	ns	5,57
10	0,05 ^a	0,06 ^a	0,04 ^a	0,01 ^a	0,01 ^a	0,04 ^a	0,01 ^a	ns	5,56

Ghi chú: NDE- nồng độ ethanol, các số trong một hàng có cùng chữ theo sau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% (*), 1% (**) hoặc không có ý nghĩa thống kê (ns).

Dựa vào Bảng 3 cho thấy trong 7 dòng nấm men khảo sát có 6 dòng có khả năng sinh trưởng trong môi trường có nồng độ ethanol từ 0 - 8%. Khi nồng độ tăng lên 10% ethanol, sự tăng trưởng của các dòng nấm men bị ức chế. Màng sinh chất của nấm men là cơ quan đầu tiên tiếp xúc với ethanol. Các chủng nấm men có khả năng chịu cồn cao chứa ít lipid trong thành phần tế bào hơn so với các chủng khác do ethanol là một hợp chất lưỡng tính (Thomas *et al.*, 1978). Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Yeon và đồng tác giả (2011) khi tiến hành sàng lọc các dòng nấm men hoang dại và chọn ra được dòng nấm men có khả năng chịu nồng độ ethanol tốt nhất là 7%, ứng dụng vào quá trình lên men rượu từ các loại trái cây. Các dòng nấm men SP1-K1, CC3, SP2, TC-K2 được lựa chọn dựa trên khả năng chịu ethanol tốt và nguồn gốc phân lập.

Khảo sát khả năng kết lắng của các dòng nấm men phân lập

Ngoài việc khảo sát khả năng chịu glucose và ethanol, các dòng nấm men tuyển chọn tiếp tục được khảo sát khả năng kết lắng. Khả năng kết lắng của các dòng nấm men phân lập được đánh giá bằng cách nuôi cấy trong ống nghiệm chứa 10 mL canh YPG và ủ ở 30°C trong 48 - 72 giờ. Sau khi ủ, lấy ống nghiệm ra lắc đều rồi đo chiều cao đoạn lắng trong ở các ống nghiệm. Kết quả về khả năng kết lắng của 4 dòng nấm men là giá trị của 3 lần lặp lại tỷ lệ chiều cao phần dịch trong so với toàn ống nuôi cấy được thể hiện trong Bảng 4.

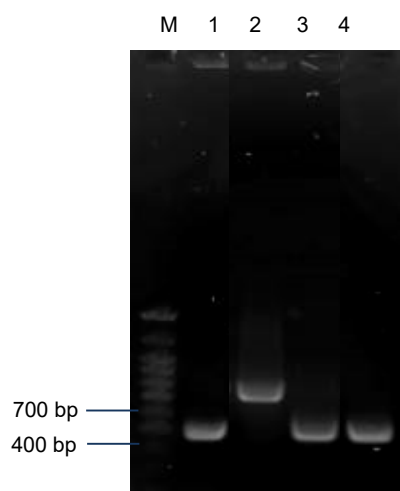
Bảng 4. Kết quả khả năng kết lắng của các dòng nấm men phân lập

Dòng nấm men	Dạng kết lắng	Khả năng kết lắng	
		Tỷ lệ độ cao phần dịch trong so với toàn ống nuôi cấy (%)	Đặc điểm
SP1-K1	Dạng bột	94,57	Lắng không hoàn toàn, sinh khối nổi trên bề mặt
CC3	Dạng bột	94,40	Lắng hoàn toàn, tăng trưởng sinh khối ít
SP2	Dạng bột	94,63	Lắng không hoàn toàn, sinh khối nổi trên bề mặt
TC-K2	Dạng bột	93,13	Lắng hoàn toàn, sinh khối nổi trên bề mặt

Kết quả cho thấy cả 4 dòng nấm men khảo sát đều có khả năng kết lắng tốt, dịch lên men trong và tỷ lệ độ cao dịch trong đều lớn 75% so với chiều cao của dịch lên men sau 7 ngày lên men, các chủng nấm men khảo sát đều lắng xuống đáy ống nghiệm làm cho môi trường dịch lên men trong. Khả năng kết lắng là một đặc tính rất tốt dùng để sản xuất rượu vang, vì nấm men kết lắng tốt thuộc nhóm nấm men lên men chìm, nhóm nấm men lên men chậm, nên khả năng giữ mùi hương cao. Khả năng kết lắng tốt còn làm cho rượu trong, quá trình lắng sẽ không tốn các phụ gia cũng như thiết bị lọc từ đó giảm chi phí sản xuất và tăng giá trị của sản phẩm. Đồng thời, các kết lắng dạng bột bám chắc đáy ống lên men, thuận tiện quá trình tách cặn sau lên men (Xu *et al.*, 2011).

Kết quả định danh các dòng nấm men tuyển chọn

Kết quả điện di sản phẩm PCR với cặp mồi ITS1/ITS4 của 4 dòng nấm men cho thấy có xuất hiện băng với kích thước khoảng 450 bp-800 bp khi đối chiếu với marker, là phù hợp với kích thước dự đoán (hình 2). Sau khi giải trình tự, các đoạn trình tự của 4 dòng được so sánh trên ngân hàng dữ liệu NCBI, các mức độ tương đồng được thể hiện ở Bảng 5. Như vậy, 4 chủng phân lập được thuộc 2 giống *Pichia* và *Hanseniaspora*.



Hình 2. Kết quả PCR khuếch đại vùng gen ITS1 + 5,8S + ITS2 của 4 dòng nấm men trên gel agarose 1,2%

(M: thang DNA chuẩn 100 bp; 1: SP1-K1; 2: CC3; 3: SP2; 4: TC-K2)

Bảng 5. Kết quả định danh với công cụ BlastN trên NCBI

Dòng	Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
SP1-K1	KF806465.1	<i>Pichia kudriavzevii</i> strain L9	1061	1749	100%	0	98%
TC-K2	MK587457.1	<i>Pichia kudriavzevii</i> strain Khodavandi-Alizadeh-5	830	1078	100%	0	99%
SP2	MT071784.1	<i>Pichia kudriavzevii</i> strain G1-10	438	438	100%	0	99%
CC3	FJ491945.1	<i>Hanseniaspora guilliermondii</i> isolate ZY7 18S	1286	1560	100%	0	99%

Kết quả định danh đã xác định dòng nấm men SP1-K1, TC-K2 và SP2 tương đồng cao với *Pichia kudriavzevii*, và tương đồng gần 90% so với nấm men thương mại *Saccharomyces cerevisiae* CBS. Giống như hầu hết các loại nấm men, *Pichia kudriavzevii* tham gia vào quá trình lên men rượu và bia nhờ khả năng sản xuất ethanol với hiệu suất cao, đồng thời cũng có khả năng chịu cồn tốt. Nấm men *Pichia kudriavzevii* có khả năng sử dụng nhiều loại đường khác nhau và có thể chịu được môi trường chứa 40% glucose (Oberoi *et al.*, 2012).

Dòng nấm men CC3 đã được định danh tương đồng cao với *Hanseniaspora guilliermondii*, có độ tương đồng 86% so với nấm men thương mại *Saccharomyces cerevisiae* CBS. Sự hiện diện của *H. guilliermondii* giúp tạo mùi hương của rượu vang cũng như các loại đồ uống lên men khác (de Arruda *et al.*, 2012), chúng có khả năng lên men đường glucose và cellibiose và có khả năng chịu môi trường có nồng độ glucose cao. Sản phẩm lên men bởi dòng nấm men này gồm ester, glycerol, ethanol (Helena *et al.*, 2002).

KẾT LUẬN

Từ các mẫu trái cây địa phương như cacao, hồng xiêm và trứng cá, đã phân lập được 4 dòng nấm men có khả năng chịu đường, chịu ethanol tốt và có khả năng kết lắng tốt. Kết quả định danh cho thấy có 3 dòng tương đồng cao với *Pichia kudriavzevii* và 1 dòng tương đồng cao với *Hanseniaspora guilliermondii*. Kết quả định danh sẽ được đưa lên ngân hàng gen trong thời gian tới. Đây là những dòng nấm men tiềm năng cho việc sản xuất các sản phẩm lên men từ trái cây địa phương góp phần giải quyết đầu ra cho nông sản và đồng thời đa dạng hóa sản phẩm từ nông sản địa phương.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bryan A, Hart C, Howell A, Wise M, Roberts B (2018). Glucose concentrations effect on rate of fermentation in yeast. *J Undergraduate Biol Lab Invest*.
- de Arruda MPG, dos Santos CM, Sauer E, Wosiacki G, Nogueira A (2012). Influence of fermentation with *Hanseniaspora* sp. yeast on the volatile profile of fermented apple. *J Agric Food Chem* 60: 9815-21.
- Fleet GH (2003). Yeasts in fruit and fruit products. In: *Boekhout T, Robert R, Yeasts and Food, Beneficial and Detrimental Aspects BehrsVerlag*: 267-288.
- Guimarães TM, Moriel GGD, Machado IP, Picheth CMTF, Bonfim TMB (2006). Isolation and characterization of *Saccharomyces cerevisiae* strains of winery interest. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* 42(1): 119-126.

- Helena A, Torráo AR, Hogg T, Gírio FM (2002). Physiological behaviour of *Hanseniaspora guilliermondii* in aerobic glucose-limited continuous cultures. *FEMS Yeast Res* 3: 211-216.
- Korabecna M (2007). The variability in the fungal ribosomal DNA (ITS1, ITS2, and 5.8 S rRNA gene): Its biological meaning and application in medical mycology. *Commun Curr Res Edu Topic Trend Appl Microbiol* 2: 783-787.
- Kurtzman CP, Fell JW (1998). The Yeast: A Taxonomic study, 4th ed. *Elsevier Science*: 1076 page.
- Mộng Tuyết, Cổng thông tin điện tử tỉnh Tiền Giang. <http://tiengiang.gov.vn/chi-tiet-tin?/Trai-cay-xuat-khau-Tien-Giang-truoc-thoi-co-va-thach-thuc/11129305> đăng ngày 31/12/2018.
- Oberoi HS, Babbar N, Sandhu SK, Dhaliwal SS, Kaur U, Chadha BS, Bhargav VK (2012). Ethanol production from alkali-treated rice straw via simultaneous saccharification and fermentation using newly isolated thermotolerant *Pichia kudriavzevii* HOP-1. *J Ind Microbiol Biotechnol* 39(4): 557-566.
- Tahía B, Lucas DEL C, Andrés A, Jaime C, E Cerdáo IE (1983). Selection of wine yeasts for growth and fermentation in the presence of ethanol and sucrose. *Mycobiol* 39(1): 33-39.
- Thomas DS, JA Hossack, AH Rose (1978). Plasma-membrane lipid composition and ethanol tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. *Arch Microbiol* 117: 239-245.
- Xu Li, Yu B, Curran P, Liu SQ (2011). Chemical and volatile composition of Mango wines fermented with different *Saccharomyces cerevisiae* yeast strains. *South Afr J Enol Vitic* 32(1): 1353-1360.
- Yeon-Ju K, Lee, Yu-Ri C, So-Young L, Jong-Tae P, Jae-Hoon S, Kwan-Hwa P, Jung-Wan K (2011). Screening wild yeast strains for alcohol fermentation from various fruits. *Mycobiol* 39(1): 33-39.

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF YEAST FROM SAPODILLA, JAMAICAN CHERRY AND COCOA FRUITS IN TIEN GIANG PROVINCE

Doan Thi Ngoc Thanh, Nguyen Thi Kim Hang

Tien Giang University

SUMMARY

Nowadays, fruit alcoholic fermented products become popular in the market. The appropriate use of yeast will help improving efficiency and quality of the fermentation process. The aim of this study was to isolate, screen and identify yeast strains from sapodilla, jamaican cherry and cocoa in Tien Giang province. These fruits are abundant grown in Tien Giang, which are a potential source to collect yeasts for the local wine production orientation. There were 10 strains of yeast isolated from fruit samples and four selected strains are SP1-K1, CC3, SP2 and TC-K2 about glucose tolerance, ethanol tolerance and flocculation. The results of rDNA sequencing have identified the yeast strains SP1-K1, SP2 and TC-K2 were highly matched with *Pichia kudriavzevii* and CC3 was highly matched with *Hanseniaspora guilliermondii*. The selected yeasts showed high potential in wine fermentation application, contributing to enhance the value and stabilize the quality of wine products.

Keywords: Cocoa, jamaican cherry, sapodilla, yeast.