

NGHIÊN CỨU ĐIỀU KIỆN CỐ ĐỊNH NẤM MEN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* N28 BẰNG CHẤT MANG CELLULOSE VI KHUẨN VÀ BƯỚC ĐẦU ỨNG DỤNG TRONG LÊN MEN RƯỢU VANG

Nguyễn Thúy Hương, Bùi Thị Thanh Hương

Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia, thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Cellulose vi khuẩn (Bacterial cellulose, BC) có nhiều đặc tính tốt như: độ tinh khiết cao, có khả năng hút và giữ ẩm tốt, có khả năng đàn hồi tốt. Do đó, BC có thể làm giá thể tốt để hút và trữ môi trường cho cố định tế bào vi sinh vật. Nghiên cứu này nhằm tìm ứng dụng mới của BC: cố định tế bào nấm men *Saccharomyces cerevisiae* N28 trên giá thể BC. Các kết quả đạt được cho thấy: 1) A-BC có mật độ tế bào nấm men cố định cao hơn S-BC. 2) Điều kiện cố định tế bào nấm men bằng phương pháp bẫy – hấp phụ là: Hấp phụ bằng máy lắc, thời gian ủ 4 ngày, ở nhiệt độ 30°C. 3) Hiệu quả sử dụng nấm men cố định trong lên men rượu vang khá tốt: có thể tái sử dụng 8 lần mà vẫn đảm bảo về mặt thời gian và các chỉ tiêu trong lên men chính.

Từ khóa: *Acetobacter xylinum*, cellulose vi khuẩn, cellulose vi sinh vật, Na-alginate

MỞ ĐẦU

Cellulose thực vật và các dẫn xuất của cellulose là chất mang truyền thống trong kỹ thuật cố định tế bào vi sinh vật. Ngoài nguồn cellulose thực vật, cellulose vi khuẩn (bacterial cellulose - BC) do vi khuẩn *Acetobacter xylinum* tạo ra đã có nhiều ứng dụng trong các lĩnh vực thực phẩm, y học, môi trường và một số ngành công nghiệp khác (Yoshinaga *et al.*, 1997). Cellulose vi khuẩn có nhiều đặc tính tốt của một chất mang trong cố định tế bào vi sinh vật như: độ tinh khiết cao, có khả năng hút, giữ ẩm tốt nhờ cấu trúc mạng lưới cellulose, có khả năng đàn hồi tốt, các tính chất cơ lý bền, dễ dàng phù hợp với hình dạng thiết bị phản ứng sinh học, có khả năng tái sử dụng và an toàn sinh học (Krystynowicz, Craja, 2002). So sánh với các yêu cầu của một chất mang trong kỹ thuật cố định tế bào vi sinh vật, cho thấy, BC phù hợp với các tiêu chuẩn cơ bản của chất mang và BC có tác động bảo vệ tế bào (Yoshinaga *et al.*, 1997). Ở Việt Nam, nhóm chúng tôi đã bước đầu thăm dò khả năng ứng dụng này. Kết quả thực nghiệm trên một số đối tượng vi sinh vật cho thấy, có khá nhiều ưu thế ở chất mang BC trong kỹ thuật cố định tế bào (Nguyễn Thúy Hương, 2006; 2008).

Kỹ thuật cố định nấm men đã được ứng dụng nhiều trên thế giới trong lên men bia, rượu vang. Phương pháp lên men với nấm men cố định đã đem lại hiệu quả kinh tế cao, không chỉ nâng cao hiệu suất sinh tổng hợp rượu etylic mà còn giảm chi phí ở

giai đoạn chuẩn bị giống. Những chất mang thường được sử dụng là alginate và các loại trái cây như táo, lê (Tampion *et al.*, 1987). Ở Việt Nam, các ứng dụng này chưa được ứng dụng rộng rãi. Hơn nữa, các loại chất mang truyền thống này kém bền, vì vậy việc tìm kiếm các chất mang có ưu thế hơn là cần thiết.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi cố định tế bào nấm men *Saccharomyces cerevisiae* N28 trên chất mang cellulose vi khuẩn để tạo chế phẩm ứng dụng trong lên men rượu vang hiệu quả hơn.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* N28 trong bộ sưu tập giống của Bộ môn Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Bách khoa, thành phố Hồ Chí Minh. Đặc điểm sinh học của chủng nấm men *S. cerevisiae* N28 cần thiết để theo dõi hiệu quả trong quá trình cố định tế bào được tóm tắt qua bảng 1.

Cellulose vi khuẩn do *Acetobacter xylinum* BC16 sinh tổng hợp bằng quá trình lên men bề mặt và lên men chìm, để tạo ra hai dạng BC tương ứng là S-BC (dạng màng) và A-BC (dạng hạt). Cả hai loại BC này đều ở dạng thô, làm sạch, xử lý vô trùng, sấy khô ở 100°C trong 4 h và bảo quản ở nhiệt độ phòng để làm vật liệu chất mang cố định nấm men. (Nguyễn Thúy Hương, Phạm Thành Hồ, 2003; Nguyễn Thúy Hương, 2006). Na-alginate từ Kanto, Nhật Bản.

Bảng 1. Một số đặc điểm sinh học của chủng nấm men *S. cerevisiae* N28.

Chỉ tiêu theo dõi	Đặc điểm
Hình thái tế bào	Tế bào nấm men hình trứng, kích thước 3 × 6 μm
Môi trường dịch thể	Mật độ tế bào đạt 6,5.10 ⁶ tế bào/ml sau 4 ngày nuôi cấy
Khả năng chịu đường	25%
Khả năng chịu cồn	15%V

Cố định tế bào bằng Na-alginate

Nấm men *S. cerevisiae* N28 được cố định theo phương pháp nhót tạo gel bằng chất mang alginate gồm các bước như sau: pha loãng Na-alginate theo các nồng độ khảo sát 1, 1,5, 2, 2,5 và 3%, thanh trùng, trộn sinh khối nấm men để đạt được các mật độ tế bào nấm men khảo sát 10⁷, 10⁸, 10⁹, 10¹⁰, 10¹¹ tế bào/ml, nhỏ bằng buret để kết gel trong bình chứa chất hỗ trợ tạo gel CaCl₂. Rửa hạt nấm men 2 lần bằng 100 ml nước muối sinh lý và bảo quản ở nhiệt độ 5°C (Tampion *et al.*, 1987).

Cố định tế bào bằng cellulose vi khuẩn

Nấm men *S. cerevisiae* N28 được cố định theo phương pháp bẫy hấp phụ bằng chất mang BC gồm 2 giai đoạn:

Giai đoạn hấp phụ: Trong 30 phút đầu tiên sau khi ngâm 10 g BC trong 100 ml dịch tế bào, BC sẽ trương nở về trạng thái ban đầu, đồng thời sẽ hấp phụ tế bào nấm men vào hệ thống sợi bên trong cũng như trên bề mặt bên ngoài.

Giai đoạn bẫy tăng sinh: Kế tiếp giai đoạn hấp phụ. Các tế bào đó được hấp phụ giai đoạn trên tiếp tục phát triển và tăng sinh trên giá đỡ BC, khi tiếp tục ở ở điều kiện tối ưu của vi sinh vật cố định (Nguyễn Thúy Hương, 2006; 2008).

Cellulose vi khuẩn có 2 loại: S-BC là cellulose vi khuẩn nuôi cấy bề mặt và A-BC là cellulose vi khuẩn nuôi cấy chìm. Hai loại BC này khác nhau về hình dạng và các đặc tính cơ lý. S-BC có ưu thế ở việc dễ tạo màng phù hợp với thiết bị lên men và độ chịu lực cao hơn A-BC. Nhưng A-BC có ưu thế ở độ trương nở và ngâm nước cao, một tính chất rất cần thiết của chất mang trong cố định tế bào (Nguyễn Thúy Hương, 2006). Các kết quả trình bày dưới đây chúng tôi khảo sát cả 2 loại cellulose vi khuẩn là S-BC và A-BC.

Định lượng nấm men cố định trên chất mang BC: Mẫu đại diện, đập mẫu vô trùng, xử lý bằng

cellulase và định lượng bằng phương pháp đếm gián tiếp (Krystynowicz, Craja, 2002)

Lên men tái sử dụng BC và alginate

Để đánh giá khả năng lên men tái sử dụng nấm men cố định, chúng tôi tiến hành lên men dịch nho truyền thống với chế phẩm A-BC và so sánh với hạt alginate. Sau thời gian lên men 6 ngày, chế phẩm nấm men cố định trên chất mang A-BC được chuyển qua bình erlen để rửa 2 lần bằng 100 ml nước muối sinh lý. Sau đó chế phẩm này được chuyển qua bình môi trường lên men tiếp theo để theo dõi khả năng tái sử dụng của chế phẩm.

Đối với hạt alginate cũng được thực hiện tương tự. Để dễ dàng trong thao tác, sử dụng rây lưới inox vô trùng.

Đường sót định lượng bằng phương pháp Bertrand.

Nồng độ rượu xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng - khí.

Hàm lượng acid tổng xác định bằng phương pháp chuẩn độ (Tampion *et al.*, 1987).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Cố định nấm men bằng chất mang alginate

Kỹ thuật cố định nấm men bằng chất mang alginate đã được nghiên cứu và ứng dụng trong lĩnh vực lên men bia, rượu vang. Độ bền của hạt tế bào nấm men cố định phụ thuộc vào 3 yếu tố chính là nồng độ alginate, CaCl₂ và lượng tế bào nấm men đưa vào cố định.

Nồng độ alginate

Để khảo sát sự ảnh hưởng của nồng độ Na-alginate tới sự hình thành và độ bền của hạt tế bào cố định, hạt được tạo ra với nồng độ alginate thay đổi từ 1 đến 3%. Với nồng độ dung dịch 1% Na-alginate,

hạt gel không được tạo ra vì dung dịch quá loãng. Ở nồng độ 1,5%, hạt có xu hướng bị vỡ khi nhỏ vào dung dịch CaCl₂ hoặc co lại sau khi tạo hạt. Tăng nồng độ alginate trên 2,5% dẫn đến tăng thời gian tạo hạt và độ bền của hạt tế bào cố định. Mặt khác, ở nồng độ alginate cao khả năng khuếch tán cơ chất vào hạt tế bào trong quá trình lên men tế bào cố định kém. Nồng độ 2% alginate được chọn cho các khảo sát tiếp theo (Bảng 2).

Nồng độ Ca²⁺

Nồng độ Ca²⁺ có ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng tạo hạt và độ bền của hạt tế bào cố định. Với loại Na-alginate sử dụng trong báo cáo, hạt tế bào cố định tạo thành cấu trúc tốt ở nồng độ CaCl₂ là 1,5%. Khi tăng nồng độ CaCl₂ lên thì độ bền của hạt không tăng nhiều. Dưới nồng độ 1,5% mức độ tạo hạt kém

hoặc không định hình (Bảng 2).

Nồng độ tế bào nấm men đưa vào cố định

Chúng tôi cố định tế bào nấm men ở nồng độ 2% Na-alginate, 1,5% CaCl₂ và thay đổi nồng độ tế bào nấm men đưa vào cố định từ 10⁷ đến 10¹¹ tế bào/ml. Khi tăng lượng tế bào đưa vào cố định thì hiệu suất cố định cũng gia tăng. Nhưng sự khác biệt về lượng tế bào trong hạt giữa các nồng độ tế bào nấm men 10⁹, 10¹⁰, 10¹¹ không đáng kể. Trong khi đó, tỷ lệ tế bào nấm men thoát ra dịch có xu hướng gia tăng. Như vậy, trong các nồng độ tế bào nấm men đưa vào cố định mà chúng tôi khảo sát, khoảng nồng độ này không ảnh hưởng đến cấu trúc tạo gel. Xét trên yếu tố hiệu suất cố định chúng tôi chọn nồng độ tế bào nấm men đưa vào cố định là 10⁹ tế bào/ml (Bảng 2).

Bảng 2. Một số yếu tố ảnh hưởng tới quá trình cố định nấm men bằng chất mang alginate.

Đặc điểm	Nồng độ Na-alginate (%)				
	1	1,5	2	2,5	3
Khả năng tạo hạt	-	+	++	++	++
Hình dạng	Vỡ	Cầu, co rút	Hình cầu	Hình cầu	Hình cầu
Kích thước (mm)	-	2 - 3	3	3	3
Cấu trúc hạt	-	Mềm, dễ vỡ, dễ co rút	Mềm, chắc	Mềm, chắc	Mềm, hơi rắn
	Nồng độ CaCl ₂ (%)				
	0,5	1	1,5	2	2,5
Khả năng tạo hạt	-	+/-	++	++	++
Cấu trúc hạt	-	Tạo gel mềm	Mềm, chắc	Mềm, chắc	Mềm, chắc
	Nồng độ tế bào nấm men đưa vào cố định (tế bào/ml)				
	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁹	10 ¹⁰	10 ¹¹
Tỷ lệ nấm men cố định (%)	50	72	90	91	91

Ghi chú: Tạo hạt kém: (-); Tạo hạt rất mềm và dễ bị co rút: (+/-); Tạo hạt trung bình: (+); Tạo hạt tốt: (++)

Cố định nấm men bằng chất mang cellulose vi khuẩn

Ảnh hưởng của chế độ khuấy đảo trong quá trình cố định hấp phụ

Mật độ tế bào trên chất mang qua 3 phương pháp (phương pháp ngâm, sử dụng cánh khuấy và máy lắc trong quá trình hấp phụ) được biểu thị ở hình 1. Hai phương pháp cải tiến nhằm gia tăng khả năng hấp phụ tế bào vi khuẩn vào chất mang đều đạt

được kết quả. Đối với chất mang S-BC: Mật độ gia tăng từ 3,3.10⁷ tế bào/g lên đến 3,9.10⁷ (cánh khuấy) và 3,9.10⁷ tế bào/g (lắc). Đối với chất mang A-BC: Mật độ cũng gia tăng từ 4,1.10⁷ tế bào/g lên đến 4,5.10⁷ (cánh khuấy) và 4,6.10⁷ tế bào/g (lắc). Trong các phương án cải tiến, sử dụng máy lắc 250 vòng/phút được lựa chọn để gia tăng mật độ tế bào hấp phụ lên chất mang trong thời gian BC tương đương do tính thuận tiện, dễ sử dụng và hạn chế được khả năng nhiễm tạp.

Ảnh hưởng của thời gian ủ trong quá trình cố định cố bẫy - hấp phụ

Thời gian ủ chính là thời gian nấm men tăng sinh trên giá thể BC, để nhốt thêm một lượng lớn tế bào nấm men trong mạng lưới cellulose sau quá trình hấp phụ.

Đối với chất mang S-BC, trong ngày thứ nhất, số lượng tế bào đạt $1,4.10^9$ tế bào/g. Trong 4 ngày đầu, số lượng tế bào tăng lên với tốc độ nhanh và đạt trạng thái ổn định $3,1.10^9$ tế bào/g sau ngày thứ 4. Ngày thứ 5 đạt mật độ tối đa $3,2.10^9$ tế bào/g chất mang (Hình 2).

Đối với chất mang A-BC, kết quả thu được cũng tương tự: trong ngày thứ nhất, số lượng tế bào là $2,25.10^9$ tế bào/g. Trong 4 ngày đầu, số lượng tế bào có xu hướng tăng và đạt trạng thái ổn định $4,05.10^9$ tế bào/g trong ngày thứ 4 và thứ 5. Ngày thứ 5 đạt mật độ tối đa $4,1.10^9$ tế bào/g. Như vậy, thời gian ủ tốt nhất đối với 2 loại chất mang S-BC và A-BC là như nhau (4 - 5 ngày) (Hình 2).

So sánh giữa 2 loại chất mang, A-BC có mật độ tế bào cao hơn, gấp khoảng 1,3 lần so với S-BC. Điều này là do cấu trúc mạng lưới cellulose của S-BC và A-BC, dẫn đến khả năng giữ nước của cellulose vi khuẩn dạng A-BC lớn hơn cellulose vi khuẩn dạng S-BC (Krystynowicz, Czaja, 2002). Khả năng ngậm nước cao dẫn đến trong quá trình trương nở sẽ hấp phụ được nhiều hơn lượng tế bào và môi trường dinh dưỡng cần thiết cho giai đoạn ủ để gia tăng mật độ tế bào trong lòng chất mang.

Chất mang A- BC và nấm men cố định nhốt trong mạng lưới A-BC được chụp dưới kính hiển vi điện tử với độ phóng đại 10 000 lần (Hình 3).

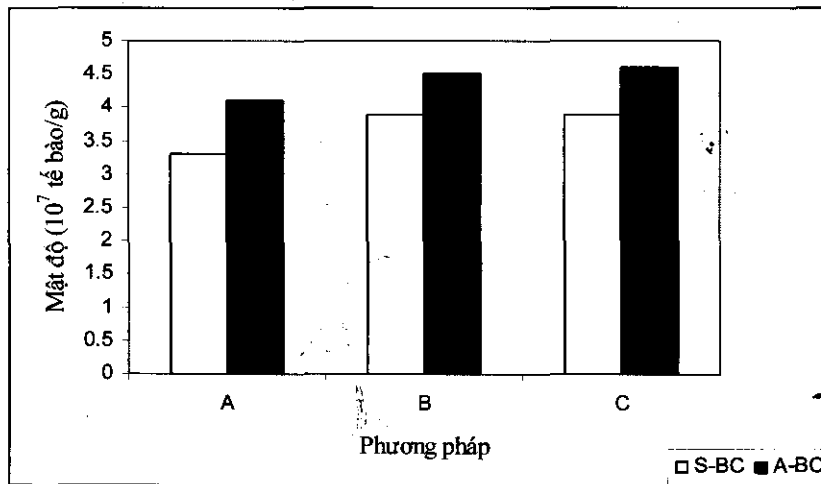
Ảnh hưởng của nhiệt độ trong thời gian ủ quá trình cố định bẫy - hấp phụ

Nhiệt độ trong thời gian ủ quá trình cố định bẫy - hấp phụ chính là nhiệt độ cần thiết để tăng sinh khối nấm men trên giá thể BC. Với 4 mức khảo sát nhiệt độ trong thời gian ủ từ 20 - 35°C, lượng tế bào phát triển trong chất mang BC cao nhất khi ủ ở 30°C (Bảng 3).

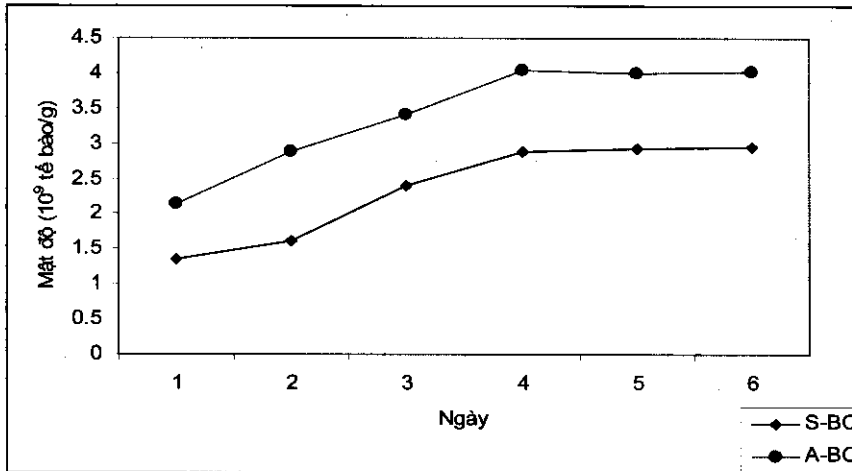
Bảng 3. Mật độ tế bào theo nhiệt độ ủ trên chất mang dạng S-BC và A-BC.

Chất mang	Nhiệt độ ủ			
	20°C	25°C	30°C	35°C
S-BC	$3,9.10^8$	$8,5.10^8$	$3,8.10^9$	$7,9.10^7$
A-BC	$4,2.10^8$	$9,6.10^8$	$4,5.10^9$	$8,5.10^7$

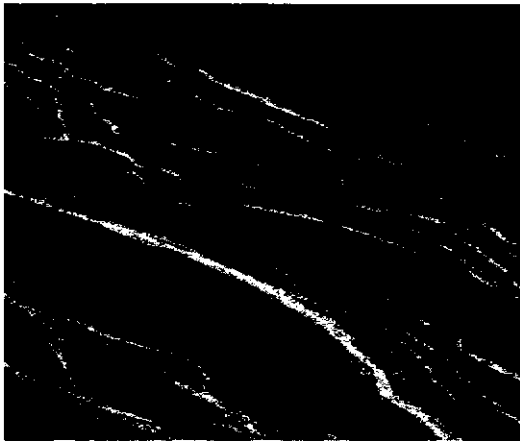
Với các điều kiện tối ưu đã khảo sát: sử dụng chất mang A-BC, hấp phụ bằng máy lắc, thời gian ủ 4 ngày, ở nhiệt độ 30°C, lượng tế bào nấm men cố định trên chất mang đạt được như sau: Mật độ trung bình là: $4,5.10^9$ tế bào/g (với A-BC); Mật độ nấm men mặt ngoài chất mang là: $3,2.10^4$ tế bào/cm²; Mật độ nấm men bên trong chất mang là: $2,8.10^4$ tế bào/cm².



Hình 1. Mật độ nấm men phát triển trên chất mang qua các phương pháp hấp phụ. A: Phương pháp cổ điển (ngâm); B: Sử dụng cánh khuấy; C: Sử dụng máy lắc.



Hình 2. So sánh mật độ tế bào theo thời gian ủ trên chất mang dạng S-BC và A-BC.



A



B

Hình 3. Chất mang A-BC sau khi vô trùng (A) và nấm men cố định trong mạng lưới BC (B).

So sánh chất mang BC và chất mang alginate trong kỹ thuật cố định tế bào nấm men

Bảng 4 trình bày so sánh giữa chất mang truyền thống (alginate) và chất mang BC cellulose vi khuẩn, dựa vào các tính chất của chất mang trong kỹ thuật cố định tế bào nấm men. Ưu điểm nổi bật của chất mang BC so với alginate thể hiện qua 4 tính chất: Tính chất cơ lý bền vững, dễ phù hợp với hình dạng thiết bị lên men, giá thành thấp hơn 6 lần và số lần tái sử dụng cao gấp 2 - 3 lần (Bảng 4). Chính tính chất cơ lý bền vững của BC (Tsuchida, Yoshinaga, 1997) giúp chế phẩm tế bào cố định chịu được các

điều kiện khuấy đảo trong lên men và góp phần gia tăng số lần tái sử dụng chế phẩm nấm men cố định. Hạt alginate cố định tế bào nấm men rất dễ vỡ dưới tác động khuấy đảo (Có khuấy đảo: sau 3 lần hạt bị vỡ, không khuấy đảo: sau 4 lần hạt rất mềm vỡ). Mạng hoặc hạt BC giữ nguyên cấu trúc rất chắc sau 9 lần theo dõi tái sử dụng.

Khả năng ứng dụng của nấm men cố định bằng chất mang BC trong lên men rượu vang

Xét trên các chỉ tiêu sinh học và hóa lý cơ bản của quá trình lên men chính, có sự khác biệt ở 2 chỉ tiêu thời gian lên men và nồng độ rượu. Sự tạp

niêm được phát hiện ở lần thứ 9 lên men tái sử dụng chế phẩm nấm men. Như vậy khả năng tái sử dụng chế phẩm nấm men cố định trên chất mang BC là 8 lần (Bảng 5). Số liệu xử lý thống kê cho thấy không có sự khác biệt các chỉ tiêu theo dõi qua 8 lần tái sử dụng.

Bảng 4. So sánh chất mang BC và chất mang alginate trong cố định tế bào nấm men.

Các tính chất	Chất mang	
	Na-alginate	BC
Phương pháp cố định	Nhốt trong lòng chất mang alginate dựa vào khả năng tạo gel. Hiệu suất cố định cao.	Bẫy - hấp phụ: Gồm 2 giai đoạn: Hấp phụ nấm men lên chất mang BC - Bẫy tăng sinh nấm men trên và trong giá thể BC. Hiệu suất cố định cao.
Tính chất cơ lý	Mềm, dễ vỡ dưới tác động khuấy đảo	Độ chịu lực cao (Yoshinaga <i>et al.</i> , 1997)
Khả năng phù hợp hình dạng phản ứng sinh học	Dạng hạt	Dạng màng, dạng hạt, dạng sợi với kích thước mong muốn
Tác động kim hãm hoạt động sống của vi sinh vật cố định	Chưa phát hiện tác động kim hãm tế bào	Tác động bảo vệ tế bào (Yoshinaga <i>et al.</i> , 1997)
Khả năng tái sử dụng	Không khuấy đảo: sau 4 lần Có khuấy đảo: sau 3 lần hạt bị vỡ	8 lần
Độ bền chất mang trong tái sử dụng	Dễ bị các yếu tố ngoài tác động	Sau khi hết tái sử dụng tế bào cố định, vẫn có khả năng tái sử dụng chất mang
Khả năng thu nhận chất mang trong điều kiện Việt Nam	Có	Có
Giá thành ước lượng	1.200.000 đồng/kg	200.000 đồng/kg
An toàn sinh học	An toàn	An toàn

Bảng 5. Một số chỉ tiêu hóa lý chính trong lên men.

Chỉ tiêu	Đối chứng	Số lần tái sử dụng								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Thời gian (ngày)	6	6	6	6	6	6	6	6	6	7
°Bx	8,1	8,0	8,2	8,2	8,0	8,2	8,1	8,2	8,4	8,5
Đường sót (g/l)	4,2	4,5	4,6	4,5	4,8	4,6	4,5	4,5	4,8	4,8
Độ chua (ml NaOH 1 N/100 ml)	2,8	2,6	2,8	2,8	2,8	2,8	2,7	2,8	2,8	2,8
Nồng độ rượu (%V)	9,2	9,0	9,0	9,0	9,2	9,2	9,1	9,0	8,8	7,1
OD 600 nm	0,75	0,28	0,30	0,35	0,38	0,43	0,45	0,52	0,55	0,71
Tỷ lệ rửa trôi tế bào (%)		Không đáng kể (2 - 3%)			8%	12%	15%	18%	26%	32%
Tạp nhiễm	-	-	-	-	-	-	-	-	v	+

Ghi chú: Đối chứng: Lên men bằng nấm men tự do; (-/+): Không và có phát hiện tạp nhiễm.

KẾT LUẬN

BC hoàn toàn phù hợp là một chất mang trong kỹ thuật cố định tế bào nấm men.

Chất mang BC có nhiều ưu thế hơn chất mang alginate trong kỹ thuật cố định tế bào nấm men: Tính chất cơ lý bền vững, dễ phù hợp với hình dạng thiết bị lên men, giá thành thấp hơn 6 lần và số lần tái sử dụng cao gấp 2 - 3 lần.

Chất mang A-BC có ưu thế cố định tế bào nhiều hơn chất mang S-BC: mật độ nấm men cố định trên A-BC luôn cao hơn S-BC từ $0,3.10^8$ đến $1,1.10^8$ tế bào/g.

Điều kiện cố định tế bào nấm men bằng phương pháp bẫy - hấp phụ tốt nhất là: Hấp phụ bằng máy lắc 250 vòng/phút, thời gian ủ 4 ngày, ở nhiệt độ 30°C.

Hiệu quả sử dụng nấm men cố định trong lên men rượu vang khá tốt: có thể tái sử dụng 8 lần mà vẫn đảm bảo về mặt thời gian và các chỉ tiêu chính trong lên men.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn PGS. TS. Phạm Thành Hồ đã hỗ trợ về mặt khoa học.

IMMOBILIZING *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* N28 CELLS BY BACTERIAL CELLULOSE AND APPLICATION

Nguyen Thuy Huong*, Bui Thi Thanh Huong

University of Technology, VNU-HCM

SUMMARY

Bacterial cellulose (BC) has many good qualities: high purity, water absorption, plasticity. BC can be used as matrix absorbing cultural medium for the growth of microbial biomass. Our study focused on the improvement of immobilization of *Saccharomyces cerevisiae* N28 using BC and comparison with alginate. The BC showed 4 major advantages in comparison with Na-alginate in immobilization of *S. cerevisiae* N28: more stability in mechanical and physical properties, fermentation equipment, lower cost (6 fold) and lighter reutilization (2 - 3 fold). The granular A-BC matrix absorbed more culture medium, in turn more cells than surface BC from $0,3.10^8$ to $1,1.10^8$ cells/g. The best conditions for immobilizing *S. cerevisiae* N28 were 4 days entrapment, at 30°C and under shaking 250 rpm. The efficiency was very high the BC might be reused continuously for at least 8 fermentations

Keywords: *Acetobacter xylinum*, bacterial cellulose (BC), microbial cellulose, Na-alginate

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Thúy Hương, Phạm Thành Hồ (2003) Chọn lọc dòng *Acetobacter xylinum* thích hợp cho các loại môi trường dùng trong sản xuất cellulose vi khuẩn với quy mô lớn. *Tạp chí Di truyền học và Ứng dụng*. 3/2003: 49-54.

Nguyễn Thúy Hương (2006) Tuyển chọn và cải thiện các chủng *Acetobacter xylinum* tạo cellulose vi khuẩn để sản xuất và ứng dụng ở quy mô pilot. *Luận án Tiến sĩ Sinh học*. Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, thành phố Hồ Chí Minh.

Nguyễn Thúy Hương (2008) Một số ứng dụng của cellulose vi khuẩn trong lĩnh vực thực phẩm. *Tạp chí Sinh học* 30(1): 62-69.

Krystynowicz A, Czaja W (2002) Factors affecting the yield and properties of bacterial cellulose. *Ind Microbiol Biotech* 29: 189-195.

Tampion J, Tampion MD (1987) *Immobilized cells: principle and applications*. Cambridge Press.

Yoshinaga F, Tonouchi N, Wanatabe K (1997) Research progress in production of bacterial cellulose by aeration and agitation culture and its application as a new industrial material. *Biosci Biotechnol Biochem* 61: 219-224.

* Author for correspondence: Tel: 84-8-38639341; Fax: 84-8-38639341; E-mail: nthuong13567@yahoo.com