



**KHẢO SÁT CÁC ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY ẢNH HƯỞNG ĐẾN
SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CỦA NẤM MEN (*Saccharomyces cerevisiae*)
TRONG MÔI TRƯỜNG NƯỚC VO GẠO
EFFECTS OF CULTURE CONDITIONS AFFECTING THE GROWTH OF
Saccharomyces cerevisiae IN RICE WASHING WATER MEDIUM**

Lái Thị Yến Nhi¹, Nguyễn Trần Văn Anh¹, Nguyễn Công Kha³, Lê Đức Trí⁴, Nguyễn
Phạm Tuấn^{2*}, Nguyễn Hoài Vững², Vũ Thị Yến¹, Lê Duyên⁵

¹Trường Đại học Kiên Giang

²Trung tâm Công nghệ Sinh học tỉnh An Giang

³Sở khoa học và Công nghệ An Giang

⁴Công Ty TNHH Angimex-Kitoku

⁵Khoa Kiểm soát nhiễm khuẩn, Bệnh Viện Đa khoa Vĩnh Long

*ngphamtuan1983@gmail.com

Ngày nhận bài:

02/3/2026

Ngày chấp nhận đăng:

25/8/2026

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, rice washing water, dry biomass, cell density.

ABSTRACT

Rice washing water is a byproduct of the rice processing procedure that contains numerous nutrients suitable for microbial fermentation to create value-added products. This study was conducted to determine the factors affecting the growth and development of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* in a rice washing water medium. The investigated factors included: medium pH, initial cell density, inoculum volume, temperature, and fermentation time. The growth and development of *S. cerevisiae* were evaluated based on cell density (cells/mL) and dry biomass (g/L). The results showed that the optimal growth of *S. cerevisiae* was achieved under the following conditions: pH 5.5, an initial cell density of 107 cells/mL, an inoculum volume of 7% (v/v), and a fermentation temperature of 32.5°C. These conditions yielded the highest cell density and dry biomass, reaching 8.66 (log10 cells/mL) and 49.45 g/L, respectively, after 72 hours of fermentation. Rice washing water represents a potential raw material source for fermentation to produce microbial products applied in animal husbandry, aquaculture, and agriculture.

TÓM TẮT

Nước vo gạo là nguồn phụ phẩm trong quá trình chế biến gạo và chứa nhiều thành phần dinh dưỡng, thích hợp cho quá trình lên men của vi sinh vật để sản xuất các sản phẩm có giá trị gia tăng. Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định các yếu tố ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của nấm men *Saccharomyces cerevisiae* trong môi trường nước vo gạo. Các yếu tố được khảo sát bao gồm: pH môi trường, mật số tế bào, thể tích chủng, nhiệt độ và thời gian lên men. Các chỉ tiêu đánh giá khả năng sinh trưởng và phát triển của nấm men *S. cerevisiae* là mật số tế bào (tế bào/mL) và sinh khối khô (g/L). Nấm men *S. cerevisiae* sinh trưởng và phát triển tốt trong điều kiện như pH = 5,5; mật số tế bào chủng ban đầu 107 tế bào/mL; thể tích chủng 7% (v/v) và nhiệt độ lên men 32,5 °C, cho mật số tế bào và sinh khối khô cao nhất lần lượt là mật số tế bào 8,66 (log10 tế

Từ khóa: *Saccharomyces* bào/mL) và sinh khối khô 49,45 g/L sau 72 giờ lên men. Nguồn nguyên liệu *cerevisiae*, nước vo gạo, nước vo gạo là nguồn nguyên liệu tiềm năng trong việc lên men để sản xuất sinh khối khô, mật số tế các sản phẩm từ vi sinh vật ứng dụng trong chăn nuôi, thủy sản và nông nghiệp.

1. Giới thiệu

Nấm men thuộc chi *Saccharomyces*, đặc biệt là *Saccharomyces cerevisiae*, đóng vai trò trung tâm trong công nghệ sinh học nhờ khả năng sinh trưởng nhanh và chuyển hóa hiệu quả các loại đường lên men. Loài nấm men này được ứng dụng rộng rãi trong công nghiệp thực phẩm, công nghệ lên men và sản xuất ethanol, bia và rượu vang (Viljoen và Heard, 2000; Feldmann, 2005). Ngoài các ứng dụng truyền thống, sinh khối và dịch chiết nấm men là nguồn giàu protein, vitamin và axit amin, được sử dụng phổ biến trong nuôi cấy vi sinh vật và công nghiệp thực phẩm (Barrette và cộng sự, 1999; Vukasinovic và cộng sự, 2007). Do đó, việc phát triển các nguồn nguyên liệu mới, giá rẻ và thân thiện với môi trường để nuôi cấy nấm men đang được quan tâm. Trong quá trình chế biến gạo, nước vo gạo là một nguồn phụ phẩm cần xử lý và giảm ảnh hưởng đến môi trường. Nước vo gạo là một phụ phẩm giàu carbohydrate và khoáng chất, có tiềm năng làm môi trường nuôi cấy vi sinh vật. Nước vo gạo chứa hàm lượng carbohydrate cao ($\approx 9,15$ g/100 g) cùng lượng ẩm lớn ($\approx 86\%$), cung cấp nguồn cacbon và môi trường ẩm cần thiết cho vi sinh vật trong quá trình lên men. Ngoài ra, các khoáng chất như phospho (187 mg/100 g), kali (106 mg/100 g), magie (88 mg/100 g) và một ít protein (2,54 g/100 g) cũng được tìm thấy trong nước vo gạo (SGS, 2024).

Sự sinh trưởng và khả năng tạo sinh khối của nấm men chịu ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố môi trường và điều kiện nuôi cấy như pH, nhiệt độ, mật số tế bào giống ban đầu, thời gian lên men và thể tích môi trường nuôi cấy. Trong đó, pH môi trường có ảnh hưởng trực tiếp đến hoạt tính enzyme, khả năng hấp thu dinh dưỡng và tốc độ sinh trưởng của tế bào nấm men. Theo Walker (1998), phần lớn các chủng *S. cerevisiae* phát triển tốt trong khoảng pH từ 4,0–6,0. Khi pH quá thấp hoặc quá cao, quá trình trao đổi chất và sinh trưởng của tế bào có thể bị ức chế. Bên cạnh đó, nhiệt độ cũng là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hoạt động sinh lý và hiệu suất sinh khối của nấm men. Nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của *S. cerevisiae* thường dao động trong khoảng 28–32°C; nhiệt độ vượt quá giới hạn tối ưu có thể làm giảm khả năng sinh trưởng và gây biến tính enzyme nội bào (Stanbury và cộng sự, 2017). Ngoài pH và nhiệt độ, mật số tế bào giống ban đầu cũng ảnh hưởng đáng kể đến thời gian thích nghi, tốc độ tăng trưởng và khả năng sử dụng nguồn dinh dưỡng của nấm men. Mật số tế bào quá thấp có thể kéo dài pha tiềm phát, trong khi mật số quá cao dễ dẫn đến cạnh tranh dinh dưỡng và tích lũy các sản phẩm chuyển hóa gây ức chế sinh trưởng (Madigan và cộng sự, 2018). Thể tích môi trường và điều kiện nuôi cấy cũng ảnh hưởng đến khả năng hòa tan oxy và hiệu quả trao đổi chất của tế bào nấm men trong quá trình lên men. Vì vậy, việc khảo sát và tối ưu hóa các điều kiện nuôi cấy là cần thiết nhằm nâng cao khả năng sinh trưởng và tích lũy sinh khối của nấm men trong môi trường nước vo gạo. Từ những cơ sở trên, nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát các điều kiện nuôi cấy ảnh hưởng đến sinh trưởng và sinh khối của *Saccharomyces cerevisiae* trong môi trường nước vo gạo, góp phần nâng cao giá trị sử dụng của nguồn phụ phẩm này trong công nghiệp vi sinh và góp phần giảm thiểu ô nhiễm môi trường.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Mẫu nước vo gạo được thu từ phòng thí nghiệm của Công ty TNHH Angimex-Kitoku, tỉnh An Giang (9F55+67H, phường Mỹ Thới, tỉnh An Giang).

Mẫu nấm men *Saccharomyces cerevisiae* được lưu giữ trên môi trường ATCC-1245 YEPD ở Trung tâm Công nghệ sinh học tỉnh An Giang.

Thiết bị và hoá chất: máy đo pH (Selecta, Tây Ban Nha), cân phân tích (Ohaus, Mỹ), kính hiển vi điện tử có gắn camera (Accu-scope, Mỹ), buồng đếm hồng cầu (Marienfeld-Superior, Đức), tủ cấy (Esco, Singapore), NaOH, phenolphthalein (Merck, Đức), HCl (Trung Quốc), và các thiết bị, hoá chất cần thiết khác.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Chuẩn bị mẫu nấm men và nước vo gạo cho thí nghiệm lên men

Chủng *S. cerevisiae* được bảo quản trên môi trường ATCC-1245 YEPD và hoạt hóa trên môi trường ATCC-1245 YEPD ở nhiệt độ phòng trong thời gian 48 – 72 giờ. Tiến hành xác định mật số tế bào nấm men bằng buồng đếm hồng cầu (Nhưng và Thanh, 2025).

Nước vo gạo lọc qua rây có đường kính 0,2 mm để loại bỏ cặn, thu phần nước vo gạo và xác định độ Brix bằng khúc xạ kế ở nhiệt độ 20 °C (Mai và cộng sự, 2009).

Nước vo gạo sử dụng trong nghiên cứu được thu nhận từ dây chuyền sản xuất gạo không vo của Công ty TNHH Angimex-Kitoku. Nguyên liệu là giống gạo Nhật Bản (*Oryza sativa* L. subsp. *japonica*). Trong quy trình sản xuất công nghiệp, gạo được rửa bằng hệ thống tự động trước khi sấy và đóng gói. Mỗi mẻ sản xuất có quy mô khoảng 23–24 tấn gạo, lượng nước vo gạo phát sinh dao động 300–360 L/tấn gạo, tương đương khoảng 6,9–8,6 m³ nước vo gạo cho mỗi mẻ sản xuất.

Ngay sau khi thu nhận, nước vo gạo được bổ sung axit fomic 20% đến nồng độ bảo quản thích hợp nhằm hạn chế sự phát triển của vi sinh vật trong quá trình vận chuyển về phòng thí nghiệm. Sau đó, mẫu được chứa trong các can nhựa HDPE sạch, được đậy kín và vận chuyển trong ngày để phục vụ nghiên cứu.

Để hạn chế những thay đổi về thành phần hóa học và sự phát triển của vi sinh vật tự nhiên, nước vo gạo sau khi đưa về phòng thí nghiệm được bảo quản ở 4 ± 1 °C và sử dụng trong vòng 5–7 ngày. Trước khi tiến hành các thí nghiệm lên men, mẫu được khuấy cho đồng nhất và đưa về nhiệt độ phòng. Việc bảo quản lạnh giúp hạn chế quá trình lên men tự phát, giảm hoạt động của enzyme và duy trì tương đối ổn định hàm lượng carbohydrate hòa tan cũng như các chất dinh dưỡng trong nước vo gạo (Fellows, 2017).

2.2.2 Ảnh hưởng của pH môi trường đến sinh trưởng và sinh khối nấm men *S. cerevisiae*

Môi trường nước vo gạo có độ Brix = 6 được chuẩn bị với thể tích 99 mL và được điều chỉnh về các mức pH khác nhau gồm 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 và 6,0. Sau đó, môi trường được hấp khử trùng ở 121°C trong 20 phút và được để nguội đến nhiệt độ phòng. Tiếp theo, 1 mL dịch nấm men với mật độ $2,6 \times 10^6$ tế bào/mL được chủng vào môi trường và tiến hành ủ ở nhiệt độ phòng. Mật số tế bào nấm men và sinh khối khô được ghi nhận tại các thời điểm từ 24 đến 120 giờ sau khi lên men.

Mật số tế bào nấm men (Nhưng và Thanh, 2025) được tính theo công thức:

$$N \text{ (tế bào/mL)} = \frac{A \times 4000 \times \text{độ pha loãng}}{5 \times 16}$$

Trong đó: A là số tế bào bình quân trong một ô lớn; N là tổng số tế bào (tế bào/mL).

Sinh khối khô nấm men được xác định theo phương pháp của Danesi và cộng sự (2006). Các bình lên men theo các khoảng thời gian 24-120 giờ, tiến hành hút 20 mL dung dịch lên men cho vào các ống Falcon 50 mL, tiến hành ly tâm 5.000 vòng/phút trong 20 phút, thu phần cặn và bỏ phần dịch. Phần cặn được sấy ở 105 °C cho đến khi khối lượng không đổi.

Sinh khối khô nấm men được tính theo công thức:

$$X \text{ (g/L)} = (M2 - M1) \times 50$$

Trong đó: X: sinh khối khô nấm men (g/L); 50: hệ số chuyển đổi; M1: khối lượng của ống Falcon; M2: khối lượng của ống Falcon khi có sinh khối nấm men.

2.2.3 Ảnh hưởng của mật số tế bào đến sinh trưởng và sinh khối nấm men *S. cerevisiae*

Môi trường nước vo gạo có độ Brix = 6 được chuẩn bị với thể tích 99 mL và được điều chỉnh về pH 5,5. Sau đó, môi trường được hấp khử trùng ở 121°C trong 20 phút và được để

nguội đến nhiệt độ phòng. Dịch nấm men với các mật số tế bào khác nhau gồm 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 và 10^8 tế bào/mL được sử dụng để chủng vào môi trường với thể tích 1 mL cho mỗi nghiệm thức. Quá trình nuôi cấy được tiến hành ở nhiệt độ phòng. Mật số tế bào nấm men và sinh khối khô được ghi nhận tại các thời điểm từ 24 đến 120 giờ sau khi lên men.

2.2.4 Ảnh hưởng của thể tích chủng đến sinh trưởng và sinh khối nấm men *S. cerevisiae*

Môi trường nước vo gạo có độ Brix = 6 được chuẩn bị với các thể tích lần lượt là 99 mL, 97 mL, 95 mL, 93 mL và 90 mL, sau đó được điều chỉnh về pH 5,5. Sau quá trình hấp khử trùng ở 121°C trong 20 phút và làm nguội đến nhiệt độ phòng, dịch nấm men có mật số 10^7 tế bào/mL được chủng vào môi trường với các tỷ lệ khác nhau gồm 1%, 3%, 5%, 7% và 10% (v/v). Các nghiệm thức được ủ ở nhiệt độ phòng. Mật số tế bào nấm men và sinh khối khô được ghi nhận tại các thời điểm từ 24 đến 120 giờ sau khi lên men.

2.2.5 Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men đến sinh trưởng và sinh khối nấm men *S. cerevisiae*

Môi trường nước vo gạo có độ Brix = 6 được chuẩn bị với thể tích 93 mL và được điều chỉnh về pH 5,5. Sau khi hấp khử trùng ở 121°C trong 20 phút và để nguội, 7 mL dịch nấm men có mật số 10^7 tế bào/mL được chủng vào môi trường. Các nghiệm thức được ủ ở các mức nhiệt độ khác nhau gồm 30°C , $32,5^\circ\text{C}$ và 35°C . Mật số tế bào nấm men và sinh khối khô được ghi nhận tại các thời điểm từ 24 đến 120 giờ sau khi lên men.

2.2.6 Ảnh hưởng của thời gian lên men đến sinh trưởng và sinh khối nấm men *S. cerevisiae*

Môi trường nước vo gạo có độ Brix = 6 được chuẩn bị với thể tích 93 mL và được điều chỉnh về pH 5,5. Sau quá trình hấp khử trùng ở 121°C trong 20 phút và làm nguội, 7 mL dịch nấm men có mật số 10^7 tế bào/mL được chủng vào môi trường. Quá trình nuôi cấy được thực hiện ở nhiệt độ $32,5^\circ\text{C}$. Mật số tế bào nấm men và sinh khối khô được ghi nhận tại các thời điểm từ 24 đến 96 giờ sau khi lên men.

2.3 Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2020. Phân tích thống kê được thực hiện bằng phần mềm Statgraphics 19 theo mô hình phân tích phương sai một nhân tố đối với từng thí nghiệm khảo sát riêng lẻ. Các giá trị kết quả được trình bày dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (Mean $\pm$ SD). Sự khác biệt giữa các giá trị trung bình được đánh giá bằng phép kiểm định LSD hoặc Duncan ở mức ý nghĩa 5% ($p < 0,05$).

3. Kết quả và thảo luận

3.1 Ảnh hưởng của pH môi trường đến sinh trưởng và sinh khối nấm men *S. cerevisiae*

pH là yếu tố ảnh hưởng lớn đến hoạt động của nấm men. Sự thay đổi nồng độ ion H^+ có khả năng làm thay đổi khả năng tích điện trên bề mặt tế bào, ảnh hưởng đến hoạt động của enzyme, từ đó làm ảnh hưởng đến quá trình thẩm thấu, hấp thụ dinh dưỡng của nấm men (Phạm Thị Minh Hải và cộng sự, 2024).

Mật số tế bào nấm men ở tất cả các mức pH thử nghiệm (từ 4,0 đến 6,0) đều tuân theo quy luật sinh trưởng chuẩn. Mật số tăng nhanh và đạt giá trị cực đại tại thời điểm 48 giờ (pha lũy thừa/pha cân bằng), sau đó duy trì ổn định ở 72 – 96 giờ và giảm mạnh ở 120 giờ (pha suy vong). Điều kiện pH 5,5 cho mật số tế bào đạt giá trị $6,93 \log_{10}$ tế bào/mL sau 48 giờ lên men và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với tất cả các mức pH còn lại. Khi hạ pH xuống 4,0 hoặc pH $> 6,0$, mật số tế bào tại 48 giờ đều giảm mạnh $6,57 \log_{10}$ tế bào/mL và $6,68 \log_{10}$ tế bào/mL. Điều này cho thấy môi trường pH 5,5 tạo điều kiện thuận lợi hơn cho sự sinh trưởng của nấm men. Theo Fleet (2008), khoảng pH từ 5,0–5,5 là điều kiện tối ưu cho nhiều chủng *S. cerevisiae* vì tại khoảng pH này, hoạt tính của các enzyme liên quan đến đường phân và tổng hợp sinh khối đạt hiệu quả cao nhất. Đồng thời, pH thích hợp còn giúp duy trì tính toàn vẹn của màng tế bào và tăng khả năng hấp thu nguồn carbon cũng như khoáng chất từ môi trường. Ở điều kiện pH thấp hơn, đặc biệt là pH 4,0, nồng độ ion H^+ cao có thể làm giảm tính ổn định của màng tế bào và gây ức chế hoạt động của nhiều enzyme nội bào. Sự tích lũy proton trong tế bào làm rối loạn cân bằng pH nội bào, buộc tế bào phải tiêu tốn nhiều năng lượng để duy trì trạng thái cân bằng ion,

từ đó làm giảm tốc độ sinh trưởng và phân chia tế bào (Madigan và cộng sự, 2018). Ngoài ra, môi trường quá axit còn ảnh hưởng đến khả năng vận chuyển đường và các chất dinh dưỡng qua màng tế bào, dẫn đến mật số tế bào thấp hơn so với các nghiệm thức có pH tối ưu. Từ 72 đến 120 giờ lên men, mật số tế bào nấm men ở tất cả các nghiệm thức đều có xu hướng giảm. Nguyên nhân có thể do nguồn dinh dưỡng trong môi trường dần cạn kiệt và các sản phẩm trao đổi chất như ethanol, axit hữu cơ và CO₂ tích lũy ngày càng nhiều trong môi trường lên men. Các chất này có thể gây độc cho tế bào, làm giảm hoạt tính enzyme và ức chế quá trình sinh trưởng của nấm men (Stanbury và cộng sự, 2017).

Khác với mật số tế bào (đạt đỉnh ở 48 giờ), sinh khối khô của nấm men có xu hướng tích lũy tối đa muộn hơn, tập trung vào thời điểm 72 giờ ở hầu hết các nghiệm thức. Từ sau 72 giờ đến 120 giờ, sinh khối sụt giảm rất nhanh. Cụ thể, ở pH 5,5, sinh khối nấm men đạt cực đại 35,69 g/L sau 72 giờ thí nghiệm, cao gấp 1,7 lần so với nghiệm thức pH 4,0, sinh khối đạt 20,79 g/L và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với tất cả các mức pH còn lại. Ngược lại, sau 72 giờ lên men, sinh khối khô ở tất cả các nghiệm thức đều giảm dần, đặc biệt ở các mức pH không tối ưu (pH 4–5 và pH 6,0). Sự suy giảm này có thể liên quan đến hiện tượng tự phân tế bào và sự chuyển sang pha suy vong của quần thể nấm men khi môi trường không còn đủ dinh dưỡng và tích lũy nhiều sản phẩm chuyển hóa ức chế (Stanbury và cộng sự, 2017). Điều này cho thấy ở điều kiện pH thích hợp, tế bào nấm men không chỉ tăng nhanh về số lượng mà còn tích lũy mạnh các thành phần vật chất tế bào như protein, polysaccharide và lipid. Theo Walker và Stewart (2016), trong pha sinh trưởng lũy thừa, nấm men có cường độ tổng hợp sinh khối cao do tốc độ chuyển hóa carbohydrate và tổng hợp vật chất tế bào diễn ra mạnh mẽ.

Bảng 1. Ảnh hưởng của pH môi trường đến mật số tế bào *S. cerevisiae*

Mức pH	Mật số tế bào ($\log_{10}$ tế bào/mL)				
	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ	120 giờ
4,0	5,53 ^b ±0,02	6,57 ^c ±0,03	6,49 ^b ±0,02	6,36 ^b ±0,02	5,62 ^c ±0,03
4,5	5,59 ^b ±0,01	6,79 ^c ±0,03	6,39 ^c ±0,02	6,36 ^b ±0,01	5,73 ^b ±0,03
5,0	5,64 ^{ab} ±0,02	6,84 ^b ±0,01	6,56 ^a ±0,03	6,47 ^b ±0,07	5,75 ^a ±0,01
5,5	5,88 ^a ±0,07	6,93 ^a ±0,01	6,49 ^b ±0,02	6,41 ^{ab} ±0,02	5,95 ^b ±0,01
6,0	5,52 ^b ±0,02	6,68 ^d ±0,01	6,46 ^b ±0,05	6,35 ^b ±0,02	5,63 ^c ±0,02

Ghi chú: Các chữ cái giống nhau trong cùng một cột không khác biệt có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5% ($p > 0,05$).

Bảng 2. Ảnh hưởng của pH môi trường đến sinh khối của *S. cerevisiae*

Mức pH	Sinh khối nấm men (g/L)				
	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ	120 giờ
4,0	14,09 ^d ±0,07	15,89 ^d ±0,95	20,79 ^e ±1,00	17,59 ^b ±0,53	13,56 ^d ±0,42
4,5	15,64 ^c ±0,24	20,02 ^c ±0,21	22,91 ^d ±0,32	16,60 ^c ±0,07	14,64 ^c ±0,08
5,0	22,86 ^b ±0,32	26,77 ^b ±0,18	27,87 ^c ±0,24	15,57 ^d ±0,37	16,43 ^b ±0,14
5,5	28,89 ^a ±0,48	34,70 ^a ±0,10	35,69 ^a ±0,29	28,16 ^a ±0,26	21,71 ^a ±0,28
6,0	15,61 ^c ±0,59	19,65 ^c ±0,16	30,48 ^b ±0,21	14,36 ^e ±0,25	11,53 ^e ±0,14

Ghi chú: Các chữ cái giống nhau trong cùng một cột không khác biệt có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5% ($p > 0,05$).

Theo Đinh Võ Tú Anh (2025), môi trường H3 (già và khoai tây) tại pH 5,5 cho mật số tế bào nấm men *S. cerevisiae* đạt cao nhất là 10,48 ($\log_{10}$ tế bào/mL). Nguyễn Ngọc Thanh và cộng sự (2019) đã xác định mức pH 5,59 cho sinh khối nấm men đạt 4,69 g/L trong môi trường lên men nước chua tàu hũ. Hơn nữa, theo Gustavo và cộng sự (2025), điều kiện pH 5,5 thích hợp cho quá trình lên men nấm men *S. cerevisiae* trong môi trường nước thải đồ lúa (là lượng nước dư thừa phát sinh từ quá trình "đồ lúa", một kỹ thuật xử lý thóc trước khi xay xát), mật số tế bào và sinh khối nấm men đạt lần lượt 11,30 $\log_{10}$ tế bào/mL và 8,42 g/L sau 72 giờ lên men. Trong khi đó, Mujdalipah và Putri (2020), pH 5 thích hợp cho quá trình lên men sản xuất protein tế bào đơn bằng nấm men *S. cerevisiae* từ hỗn hợp dịch vỏ khóm: nước vo gạo với tỷ lệ với tỷ lệ 1:2 (v/v) trong thời gian 56 giờ, sinh khối nấm men đạt 4,76 g/L và hàm lượng protein đạt 289,08

mg/L. Hơn nữa, Khan và cộng sự (2021) nghiên cứu ảnh hưởng của các phụ phẩm nông nghiệp như rỉ đường, vỏ táo và vỏ cam đến sinh khối nấm men *S. cerevisiae*. Mẫu nấm men *S. cerevisiae* nuôi trong môi trường YEPD có bổ sung các phụ phẩm nông nghiệp, điều chỉnh về pH 5 sau 48 giờ cho sinh khối nấm men đạt lần lượt là 6,42 g/L (rỉ đường), 5,86 g/L (vỏ cam) và 5,03 g/L (vỏ táo). Ngược lại, Milala và cộng sự (2018) dùng nấm men *S. cerevisiae* lên men từ vỏ cam để sản xuất protein tế bào đơn ở điều kiện pH 7 và sinh khối nấm men đạt 1,145 g/L. Tóm lại, pH 5,5 là điều kiện thích hợp nhất cho sự sinh trưởng và tích lũy sinh khối của *S. cerevisiae* trong môi trường nước vo gạo.

3.2 Ảnh hưởng của mật số tế bào đến sinh trưởng và sinh khối nấm men *S. cerevisiae*

Mật số tế bào ban đầu ảnh hưởng trực tiếp đến tốc độ phát triển, thời gian thích nghi và năng suất sinh tổng hợp của vi sinh vật. Mật độ cao giúp rút ngắn giai đoạn lag, tăng nhanh sinh khối, nhưng có thể gây thiếu hụt dinh dưỡng sớm, trong khi mật độ thấp làm kéo dài thời gian nuôi cấy.

Bảng 3. Ảnh hưởng của mật số tế bào ban đầu đến mật số tế bào của *S. cerevisiae*

Mật số tế bào (tế bào/mL)	Mật số tế bào ($\log_{10}$ tế bào/mL)				
	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ	120 giờ
$2,7 \times 10^4$	$4,84^{\pm 0,05}$	$5,53^{\pm 0,02}$	$5,56^{\pm 0,02}$	$5,32^{\pm 0,04}$	$4,25^{\pm 0,02}$
$2,7 \times 10^5$	$5,84^{\pm 0,04}$	$6,72^{\pm 0,02}$	$6,65^{\pm 0,01}$	$6,30^{\pm 0,04}$	$5,24^{\pm 0,03}$
$2,7 \times 10^6$	$5,74^{\pm 0,04}$	$6,63^{\pm 0,02}$	$6,51^{\pm 0,02}$	$6,46^{\pm 0,03}$	$5,27^{\pm 0,04}$
$2,7 \times 10^7$	$6,78^{\pm 0,01}$	$7,79^{\pm 0,004}$	$7,51^{\pm 0,01}$	$7,52^{\pm 0,01}$	$6,28^{\pm 0,05}$
$2,7 \times 10^8$	$6,72^{\pm 0,01}$	$7,71^{\pm 0,01}$	$7,50^{\pm 0,02}$	$7,56^{\pm 0,03}$	$6,31^{\pm 0,02}$

Ghi chú: Các chữ cái giống nhau trong cùng một cột không khác biệt có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5% ($p > 0,05$).

Ở tất cả các mức nồng độ giống cấy ban đầu, mật số tế bào nấm men đều đạt giá trị cực đại sau 48 giờ nuôi cấy. Sau cột mốc này, mật số tế bào có xu hướng đi ngang hoặc giảm nhẹ trong giai đoạn 72–96 giờ (pha cân bằng) và sụt giảm mạnh mẽ ở thời điểm 120 giờ (pha suy vong). Nghiệm thức cấy ban đầu ở mức $2,7 \times 10^7$ tế bào/mL cho kết quả sinh trưởng tốt nhất. Tại thời điểm 48 giờ, mật số đạt đỉnh cao nhất với 7,79 $\log_{10}$ tế bào/mL, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các mức mật số tế bào thấp hơn ($10^4 - 10^6$). Khi mật số ban đầu là $2,7 \times 10^4$ tế bào/mL, nấm men sinh trưởng rất chậm, đạt đỉnh ở 48 giờ chỉ có 5,53 $\log_{10}$ tế bào/mL do pha thích nghi (lag phase) bị kéo dài. Trong khi đó, nếu tăng mật số tế bào ban đầu lên quá cao ở mức $2,7 \times 10^8$ tế bào/mL, mật số tế bào tại 48 giờ đạt 7,71 $\log_{10}$ tế bào/mL, lại có xu hướng thấp hơn nghiệm thức $2,7 \times 10^7$ tế bào/mL và khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Điều này cho thấy tăng lượng giống vượt ngưỡng tối ưu không giúp tăng mật số tế bào tối đa. Ở thời điểm 120 giờ lên men, mật số tế bào nấm men ở tất cả các nghiệm thức thí nghiệm đều có xu hướng giảm (4,25–6,31 $\log_{10}$ tế bào/mL) (Bảng 3).

Ngược lại với mật số tế bào đạt đỉnh ở 48 giờ, sinh khối nấm men (g/L) đạt giá trị cực đại muộn hơn, tại thời điểm 72 giờ ở tất cả các nghiệm thức. Điều này phản ánh sự tích lũy vật chất khô của tế bào diễn ra mạnh mẽ ngay cả khi tế bào đã ngừng phân chia số lượng. Nghiệm thức $2,7 \times 10^7$ tế bào/mL cho sinh khối tối đa tại 72 giờ đạt 33,95 g/L và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại. Sau 120 giờ lên men, nghiệm thức $2,7 \times 10^7$ tế bào/mL cho sinh khối ổn định và cao hơn so với các nghiệm thức còn lại, đạt 27,97 g/L. Ở các nghiệm thức mật độ tế bào ($10^4 - 10^6$), sự tích lũy sinh khối tỷ lệ thuận với lượng giống cấy, tăng dần từ 23,42 - 28,08 g/L tại thời điểm 72 giờ. Khi mật độ tế bào ban đầu lớn ($2,7 \times 10^8$ tế bào/mL), sinh khối tại 72 giờ bị sụt giảm và đạt 30,16 g/L (Bảng 4).

Bảng 4. Ảnh hưởng của mật số tế bào ban đầu đến sinh khối của *S. cerevisiae*

Mật số tế bào (tế bào/mL)	Sinh khối nấm men (g/L)				
	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ	120 giờ
$2,7 \times 10^4$	$10,03^{\pm 0,37}$	$18,94^{\pm 0,12}$	$23,42^{\pm 0,29}$	$22,31^{\pm 0,06}$	$16,98^{\pm 0,10}$
$2,7 \times 10^5$	$17,86^{\pm 0,13}$	$23,42^{\pm 0,12}$	$26,42^{\pm 0,06}$	$23,23^{\pm 0,20}$	$17,94^{\pm 0,27}$

Mật số tế bào (tế bào/mL)	Sinh khối nấm men (g/L)				
	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ	120 giờ
$2,7 \times 10^6$	$22,95^c \pm 0,38$	$27,03^c \pm 0,22$	$28,08^c \pm 0,04$	$24,18^c \pm 0,08$	$19,09^c \pm 0,06$
$2,7 \times 10^7$	$25,66^a \pm 0,18$	$30,07^a \pm 0,39$	$33,95^a \pm 0,12$	$31,11^a \pm 0,09$	$27,97^a \pm 0,09$
$2,7 \times 10^8$	$24,13^b \pm 0,05$	$27,68^b \pm 0,08$	$30,16^b \pm 0,02$	$27,85^b \pm 0,26$	$22,89^b \pm 0,19$

Ghi chú: Các chữ cái giống nhau trong cùng một cột không khác biệt có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5% ($p > 0,05$).

Diễn biến về mật số tế bào và sinh khối sinh tổng hợp của *S. cerevisiae* chịu sự chi phối chặt chẽ bởi các cơ chế động học quần thể vi sinh vật: (i) Cơ chế kéo dài pha tiềm phát ở mật độ thấp: Khi mật độ tế bào ban đầu quá thấp ($10^4 - 10^5$ tế bào/mL), các tế bào nấm men cần nhiều thời gian để tiết ra các đại phân tử, yếu tố sinh trưởng (growth factors) nhằm tự biến đổi môi trường xung quanh cho phù hợp với sự phát triển chung của quần thể (hiệu ứng quorum sensing/cảm ứng số đông). Điều này khiến pha lag bị kéo dài, tốc độ tích lũy sinh khối và phân chia tế bào ở giai đoạn đầu (24 giờ) bị chậm lại rõ rệt; (ii) Cơ chế cạnh tranh dinh dưỡng và ức chế ngược ở mật độ cao: Tại mức mật độ $2,7 \times 10^7$ tế bào/mL, quần thể đạt được sự cân bằng tối ưu giữa số lượng cá thể và lượng chất dinh dưỡng (nguồn carbon, nitơ, khoáng chất) có sẵn trong môi trường. Tuy nhiên, khi tăng lượng giống lên mức $2,7 \times 10^8$ tế bào/mL, số lượng tế bào quá lớn ngay từ đầu tạo ra áp lực cạnh tranh cơ chất/dinh dưỡng cực kỳ gay gắt. Chất dinh dưỡng bị cạn kiệt quá nhanh trước khi tế bào kịp đạt đến kích thước và khối lượng tối đa, dẫn đến sinh khối sụt giảm. Mật số tế bào quá dày làm tăng nhanh tốc độ bài tiết các sản phẩm chuyển hóa thứ cấp có độc tính như ethanol, các axit hữu cơ và khí CO_2 . Sự tích lũy sớm các chất này làm thay đổi pH môi trường cục bộ và gây stress màng tế bào, dẫn đến kìm hãm sự phân chia tế bào và thúc đẩy pha suy vong diễn ra sớm hơn (Azhar và cộng sự, 2017).

Kết quả nghiên cứu này phù hợp với nghiên cứu của Phạm Thành Lễ (2021) khi sử dụng *S. cerevisiae* trong quá trình lên men rượu vang khóm, mật số tế bào nấm men ban đầu là $7,40 \log_{10}$ tế bào/mL, đạt mật số nấm men cao nhất sau 6 ngày lên men, đạt $7,89 \log_{10}$ tế bào/mL. Hơn nữa, Nguyễn Ngọc Thanh và cộng sự (2019) cho rằng mật số tế bào ban đầu 10^7 tế bào/mL là một trong ba yếu tố có ý nghĩa ảnh hưởng đến sự tăng sinh khối của nấm men trong môi trường nước chua tàu hũ. Mật số tế bào ban đầu 10^7 tế bào/mL kết hợp với pH 5,59 và hàm lượng peptone 4,78 g/L, sinh khối *S. cerevisiae* LX1.1 đạt 4,69 g/L, cao hơn so với điều kiện chua tối ưu chỉ đạt 2,04 g/L. Điều này cho thấy mật số tế bào ban đầu đóng vai trò quan trọng trong việc rút ngắn pha thích nghi, thúc đẩy nhanh pha sinh trưởng lũy thừa, từ đó làm tăng khả năng tích lũy sinh khối. Như vậy, mật số tế bào ban đầu 10^7 tế bào/mL thích hợp nhất cho sự sinh trưởng và tích lũy sinh khối của *Saccharomyces cerevisiae* trong môi trường nước vo gạo.

3.3 Ảnh hưởng của thể tích chủng đến sinh trưởng và sinh khối nấm men *S. cerevisiae*

Thể tích chủng ảnh hưởng trực tiếp đến động học sinh trưởng nấm men và tốc độ lên men. Thể tích chủng quá thấp kéo dài thời gian thích nghi, làm chậm sự sinh trưởng, trong khi thể tích chủng quá cao có thể gây cạnh tranh dinh dưỡng và giảm mật độ tế bào cuối cùng. Thể tích chủng tối ưu thường giúp rút ngắn thời gian lên men, đạt mật độ tế bào cao và ổn định chất lượng sản phẩm.

Mật số tế bào nấm men ($\log_{10}$ tế bào/mL) ở tất cả các công thức nghiệm thức đều có xu hướng chung: tăng dần và đạt cực đại tại thời điểm 48 giờ, sau đó suy giảm dần theo thời gian (đến 120 giờ). Thể tích chủng có ảnh hưởng ý nghĩa lớn ($p < 0,05$) đến mật số tế bào tại mọi thời điểm khảo sát (Bảng 5). Khi tăng thể tích chủng từ 1% đến 7% (v/v), mật số tế bào tăng dần ở mọi mốc thời gian. Nghiệm thức 7% (v/v) đạt mật số tế bào cao nhất vượt trội tại mốc 48 giờ ($8,58 \log_{10}$ tế bào/mL) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với tất cả các nghiệm thức còn lại. Khi tiếp tục tăng thể tích chủng lên 10% (v/v), mật số tế bào tối đa tại 48 giờ lại suy giảm xuống còn $8,33 \log_{10}$ tế bào/mL và giảm xuống còn $5,67 \log_{10}$ tế bào/mL sau 120 giờ (Bảng 5).

Khác với mật số tế bào, động học tích lũy sinh khối khô (g/L) có sự phân hóa về thời gian đạt đỉnh tùy thuộc vào tỷ lệ giống cấy: Nghiệm thức thể tích chủng thấp (1%, 3% và 10%, v/v),

sinh khối đạt giá trị cực đại muộn hơn, vào thời điểm 72 giờ và đạt lần lượt là 29,58 g/L; 32,69 g/L và 39,78 g/L. Nghiệm thức thể tích chủng trung bình (5%, v/v): đạt sinh khối cực đại sớm hơn, ở thời điểm 48 giờ (33,86 g/L). Trong khi đó, nghiệm thức thể tích chủng 7% (v/v) cho kết quả tối ưu nhất với sinh khối tăng liên tục và đạt đỉnh cực đại ở 72 giờ với giá trị 41,96 g/L, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với tất cả các nghiệm thức khác ở mọi mốc thời gian (Bảng 6).

Bảng 5. Ảnh hưởng của thể tích chủng đến mật số tế bào của *S. cerevisiae*

Thể tích chủng (v/v)	Mật số tế bào ($\log_{10}$ tế bào/mL)				
	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ	120 giờ
Thể tích 1%	6,54 ^e ±0,01	7,52 ^e ±0,01	7,40 ^e ±0,02	7,26 ^e ±0,04	6,48 ^d ±0,04
Thể tích 3%	6,68 ^d ±0,01	7,76 ^d ±0,03	7,56 ^b ±0,03	7,30 ^e ±0,02	6,73 ^b ±0,01
Thể tích 5%	6,84 ^c ±0,01	7,84 ^c ±0,02	7,43 ^c ±0,02	7,41 ^b ±0,03	6,67 ^c ±0,02
Thể tích 7%	7,68 ^a ±0,02	8,58 ^a ±0,02	8,42 ^a ±0,01	7,63 ^a ±0,01	7,32 ^a ±0,01
Thể tích 10%	7,50 ^b ±0,01	8,33 ^b ±0,03	7,27 ^d ±0,01	6,37 ^d ±0,03	5,67 ^e ±0,02

Ghi chú: Các chữ cái giống nhau trong cùng một cột không khác biệt có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5% ($p > 0,05$).

Bảng 6. Ảnh hưởng của thể tích chủng đến sinh khối của *S. cerevisiae*

Thể tích chủng (v/v)	Sinh khối nấm men (g/L)				
	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ	120 giờ
Thể tích 1%	24,04 ^e ±0,09	28,17 ^e ±0,13	29,58 ^e ±0,22	26,67 ^e ±0,23	20,20 ^e ±0,20
Thể tích 3%	26,65 ^d ±0,13	29,65 ^d ±0,38	32,69 ^e ±0,28	27,50 ^d ±0,17	23,15 ^d ±0,09
Thể tích 5%	29,62 ^c ±0,08	33,86 ^c ±0,11	32,17 ^d ±0,15	30,09 ^c ±0,14	26,41 ^c ±0,06
Thể tích 7%	33,15 ^a ±0,19	37,04 ^a ±0,18	41,96 ^a ±0,10	37,20 ^a ±0,15	31,55 ^a ±0,11
Thể tích 10%	30,07 ^b ±0,07	34,39 ^b ±0,13	39,78 ^b ±0,18	32,70 ^b ±0,17	27,54 ^b ±0,27

Ghi chú: Các chữ cái giống nhau trong cùng một cột không khác biệt có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5% ($p > 0,05$).

Sự biến thiên về động học sinh trưởng và tích lũy sinh khối theo tỷ lệ chủng cấy có thể được giải thích thông qua các cơ chế sinh lý vi sinh vật sau: thể tích chủng quá thấp (1% - 3%, v/v), số lượng tế bào ban đầu đưa vào môi trường quá ít, làm kéo dài pha thích nghi (lag-phase). Nấm men cần nhiều thời gian để tiết các enzyme ngoại bào, chất kích thích sinh trưởng nhằm cảm ứng môi trường (hiện tượng *quorum sensing* - cảm biến mật độ yếu). Điều này khiến mật số tế bào và sinh khối tích lũy chậm, kéo dài thời gian lên men tổng thể. Thể tích chủng 7% (v/v): Tỷ lệ 7% cung cấp một mật độ tế bào ban đầu vừa đủ lớn để rút ngắn tối đa pha lag, đưa quần thể nấm men bước nhanh vào pha lũy thừa (log-phase). Ở mật độ này, sự cân bằng giữa hàm lượng chất dinh dưỡng (nguồn cacbon, nitơ, khoáng chất) và số lượng tiêu thụ đạt trạng thái lý tưởng, giúp nấm men tận dụng tối đa cơ chất để phân chia tế bào và tích lũy sinh khối lớn nhất. Khi thể tích chủng quá cao (10%, v/v): Việc đưa quá nhiều tế bào vào hệ thống ngay từ đầu dẫn đến sự cạnh tranh dinh dưỡng gay gắt (đặc biệt là oxy hòa tan và nguồn nitơ dễ hấp thụ). Các tế bào nhanh chóng chuyển sang pha cân bằng và pha chết do cạn kiệt cơ chất sớm và sự tích tụ nhanh chóng của các sản phẩm chuyển hóa ức chế (như ethanol, các axit hữu cơ). Điều này giải thích vì sao ở nghiệm thức 10%, mật số tế bào đạt đỉnh ngắn ở 48 giờ nhưng suy giảm nghiêm trọng ở các giờ sau (96 - 120 giờ) do hiện tượng tự phân (autolysis) của tế bào (Narendranath và Power, 2005).

Theo Fatma và cộng sự (2015), khi lên men chủng BM24, việc bổ sung thể tích chủng 2-5% (v/v) giống cấy lấy từ nuôi cấy tiềm tăng trưởng ở pha tăng trưởng lũy thừa giữa, với mật độ 8,60 $\log_{10}$ tế bào/mL, đã cho sinh khối tối đa 16-18 g/L sau 4 ngày ủ. Ngược lại, khi sử dụng thể tích chủng 7% (v/v), sinh khối nấm men giảm xuống khoảng 28% so với sinh khối thu được khi dùng thể tích chủng 5% (v/v). Tương tự, ở chủng nấm M2, khi thể tích chủng > 7% (v/v), sinh khối giảm nhẹ khoảng 10%. Kết quả phân tích cho thấy khi thể tích chủng > 7% (v/v), các chất dinh dưỡng trong môi trường nuôi cấy có thể bị tiêu thụ nhanh chóng, dẫn đến tốc độ sinh trưởng và khả năng sống sót của tế bào nấm men thấp. Tóm lại, thể tích chủng thích hợp nhất cho sự sinh trưởng và tích lũy sinh khối của *S. cerevisiae* trong môi trường nước vo gạo là thể tích chủng 7% (v/v).

3.4 Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men đến sinh trưởng và sinh khối nấm men *S. cerevisiae*

Nhiệt độ môi trường ảnh hưởng trực tiếp đến tốc độ phát triển, trao đổi chất, hoạt động enzyme và khả năng tồn tại của vi sinh vật. Mỗi nhóm vi sinh vật (ưa lạnh, ưa ấm và ưa nhiệt) có nhiệt độ tối ưu riêng; nhiệt độ quá cao làm biến tính protein, trong khi quá thấp ức chế sinh trưởng.

Mật số tế bào nấm men ở tất cả các dải nhiệt độ đều đạt giá trị cực đại sau 48 giờ nuôi cấy, sau đó giảm dần theo thời gian (72 giờ - 120 giờ). Tại thời điểm 48 giờ lên men, nhiệt độ 32,5 °C cho mật số tế bào cao nhất đạt 8,78 log₁₀ tế bào/mL, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với hai mức nhiệt độ còn lại. Ở nhiệt độ 30°C và 35°C, mật số tế bào thấp hơn và đạt lần lượt là 8,61 log₁₀ tế bào/mL và 8,63 log₁₀ tế bào/mL. Sau 96-120 giờ lên men, mật số tế bào nấm men có xu hướng giảm. Ở mức nhiệt 32,5°C, mật số tế bào đạt 7,56 log₁₀ tế bào/mL, trong khi đó, mật số tế bào ở nhiệt độ 30°C và 35°C đạt lần lượt là 7,45 log₁₀ tế bào/mL và 7,47 log₁₀ tế bào/mL (Bảng 7).

Bảng 7. Ảnh của nhiệt độ lên men đến mật số tế bào của nấm men *S. cerevisiae*

Nhiệt độ (°C)	Mật số tế bào (log ₁₀ tế bào/mL)				
	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ	120 giờ
30	7,66 ^b ±0,02	8,61 ^b ±0,02	8,51 ^b ±0,02	7,65 ^a ±0,02	7,45 ^b ±0,01
32,5	7,76 ^a ±0,02	8,78 ^a ±0,02	8,59 ^a ±0,01	7,65 ^a ±0,01	7,56 ^a ±0,01
35	7,51 ^c ±0,02	8,63 ^b ±0,02	8,60 ^a ±0,03	7,63 ^a ±0,02	7,47 ^b ±0,02

Ghi chú: Các chữ cái giống nhau trong cùng một cột không khác biệt có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5% ($p > 0,05$).

Bảng 8. Ảnh của nhiệt độ lên men đến sinh khối của nấm men *S. cerevisiae*

Nhiệt độ (°C)	Sinh khối nấm men (g/L)				
	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ	120 giờ
30	34,76 ^b ±0,30	37,96 ^b ±0,27	40,61 ^b ±0,18	36,04 ^b ±0,13	32,18 ^b ±0,16
32,5	39,74 ^a ±0,29	44,69 ^a ±0,18	48,04 ^a ±0,16	42,81 ^a ±0,16	39,78 ^a ±0,14
35	24,61 ^c ±0,11	29,10 ^c ±0,10	31,85 ^c ±0,15	28,48 ^c ±0,10	25,36 ^c ±0,15

Ghi chú: Các chữ cái giống nhau trong cùng một cột không khác biệt có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5% ($p > 0,05$).

Sinh khối nấm men đạt giá trị cực đại muộn hơn mật số tế bào, cụ thể là ở thời điểm 72 giờ ở cả 3 mức nhiệt độ. Nhiệt độ tối ưu ở 32,5°C, sinh khối đạt cao nhất 48,04 g/L sau 72 giờ lên men và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các mức nhiệt độ còn lại ($p < 0,05$). Trong khi đó, ở nhiệt độ 30°C và 35°C, sinh khối tế bào đạt lần lượt là 40,61 g/L và 31,85 g/L (Bảng 8).

S. cerevisiae là nhóm vi sinh vật ưa ấm (mesophiles), có khoảng nhiệt độ sinh trưởng lý tưởng thường nằm trong khoảng 28-35°C. Kết quả thực nghiệm cho thấy 32,5°C là nhiệt độ tối ưu cho chủng nấm men này vì những lý do cơ chế sau: Tại nhiệt độ tối ưu (32,5°C): Hoạt tính của các enzyme trong chu trình chuyển hóa đường (như đường phân, hô hấp và lên men) đạt trạng thái lý tưởng nhất. Tốc độ vận chuyển chất dinh dưỡng qua màng tế bào diễn ra nhanh chóng, cung cấp đủ năng lượng (ATP) và tiền chất cho việc phân chia tế bào cũng như tích lũy sinh khối. Tại nhiệt độ thấp (30°C): Tốc độ phản ứng enzyme bị chậm lại theo định luật Van't Hoff. Màng tế bào trở nên ít linh hoạt hơn, làm giảm hiệu suất vận chuyển chất dinh dưỡng, dẫn đến tốc độ sinh trưởng và tích lũy sinh khối thấp hơn so với mức tối ưu. Tại nhiệt độ cao (35°C): trong 48 giờ đầu, mật số tế bào ở 35°C vẫn tương đối cao (8,63 log₁₀ tế bào/mL) do nhiệt độ cao kích thích tốc độ phân chia ban đầu, nhưng sinh khối lại thấp, chỉ đạt 29,10 g/L. Ở nhiệt độ cao, nấm men phải đối mặt với áp lực nhiệt (*heat stress*), làm biến tính một phần protein/enzyme và tăng tính thấm của màng tế bào. Để sinh tồn, nấm men phải tiêu tốn rất nhiều năng lượng (ATP) cho các cơ chế bảo vệ (như tổng hợp protein sốc nhiệt - HSPs, bơm ion duy trì pH nội bào) thay vì dùng năng lượng đó để đồng hóa tạo sinh khối. Ngoài ra, nhiệt độ cao thúc đẩy hiện tượng tự phân (*autolysis*) sớm của tế bào (Aldiguier và cộng sự, 2004).

Theo Phạm Thị Minh Hải và cộng sự (2024), nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh trưởng của nấm men *S. cerevisiae* trong dịch rong *Ulva* thủy phân bổ sung 9% rỉ đường được nuôi cấy 72 giờ ở khoảng nhiệt độ nuôi cấy 20–35°C. Sinh trưởng của *S. cerevisiae* tăng dần khi

nhệt độ nuôi cấy tăng từ 20–30°C và đạt giá trị cao nhất tại 30°C (sinh khối ướt 16,61 g/L). Trong khi đó, ở điều kiện nhiệt độ 35°C, sinh khối ướt của nấm men giảm còn 12,51 g/L. Hơn nữa, theo Razzaq và cộng sự (2020), lượng sinh khối nấm men lớn nhất, 9,18 g/L, thu được ở điều kiện nhiệt độ 30 °C trong 6 ngày trên cơ chất lên men là bã mía, củ cải đường. Nghiên cứu của Milala và cộng sự (2018) nuôi cấy nấm men *Saccharomyces cerevisiae* phân lập từ cà chua phụ phẩm ở nhiệt độ 37°C trong 96 giờ trên môi trường vỏ cam, lượng sinh khối nấm men thu được cao nhất là 1,145 g/L. Như vậy, nhiệt độ thích hợp nhất cho sự sinh trưởng và tích lũy sinh khối của *S. cerevisiae* trong môi trường nước vo gạo là nhiệt độ 32,5°C.

3.5 Ảnh hưởng của thời gian lên men đến sinh trưởng và sinh khối nấm men *S. cerevisiae*

Thời gian lên men là yếu tố quyết định chất lượng, hương vị và thành phần dinh dưỡng của sản phẩm, ảnh hưởng trực tiếp đến sự phát triển của vi sinh vật, độ pH và hàm lượng các chất chuyển hóa. Thời gian lên men nấm men ngắn (lên men nhanh) giúp rút ngắn quy trình sản xuất, tiết kiệm thời gian, hạn chế vi khuẩn tạp nhiễm và tăng hiệu suất tạo hương thơm/ethanol ban đầu. Tuy nhiên, thời gian quá ngắn có thể làm sản phẩm thiếu hương vị, cấu trúc kém ổn định do nấm men chưa kịp chuyển hóa hết các hợp chất hoặc chưa sinh trưởng đủ. Trong khi đó, thời gian lên men nấm men kéo dài làm tăng độ cồn và hiệu suất chuyển hóa, nhưng nếu quá dài, nó làm giảm đáng kể số lượng tế bào nấm men sống, giảm hoạt tính và gây ra hiện tượng đường sót, đặc biệt là trong các quy trình lên men rượu vang hay cố định nấm men.

Mật số tế bào nấm men *S. cerevisiae* biến động theo xu hướng tăng rồi giảm trong suốt 96 giờ lên men. Trong giai đoạn từ 24 đến 48 giờ, mật số tế bào tăng mạnh từ 7,65 log₁₀ tế bào/mL lên đến 8,75 log₁₀ tế bào/mL (tăng khoảng 1,1 lần) và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Từ 48 đến 72 giờ, mật số tế bào giảm nhẹ xuống 8,66 log₁₀ tế bào/mL, tuy nhiên, vẫn duy trì ở mức cao. Đến 72–96 giờ lên men, mật số tế bào tiếp tục giảm còn 7,70 log₁₀ tế bào/mL, gần tương đương với giá trị ghi nhận tại thời điểm 24 giờ. Kết quả này cho thấy quần thể nấm men đạt mật số cực đại sau 48 giờ lên men, sau đó giảm dần khi thời gian lên men kéo dài (Bảng 9).

Bảng 9. Ảnh của thời gian lên men đến mật số tế bào và sinh khối của *S. cerevisiae*

Thời gian lên men (giờ)	Mật số tế bào (log ₁₀ tế bào/mL)	Sinh khối khô nấm men (g/L)
24 giờ	7,65 ^d ±0,03	40,59 ^d ±0,13
48 giờ	8,75 ^a ±0,19	45,27 ^b ±0,30
72 giờ	8,66 ^b ±0,21	49,45 ^a ±0,19
96 giờ	7,70 ^c ±0,24	44,68 ^c ±0,03

Ghi chú: Các chữ cái giống nhau trong cùng một cột không khác biệt có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 5% ($p > 0,05$).

Sinh khối khô của *S. cerevisiae* thể hiện tổng trọng lượng của cả tế bào sống, tế bào chết và các thành phần cấu trúc tế bào trong môi trường. Sinh khối khô của *S. cerevisiae* tăng dần trong quá trình lên men và đạt giá trị cực đại sau 72 giờ. Cụ thể, sinh khối khô tăng từ 40,59 g/L tại thời điểm 24 giờ lên 45,27 g/L sau 48 giờ và đạt 49,45 g/L sau 72 giờ. Sự gia tăng giữa các thời điểm này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Sau 72 giờ, sinh khối khô giảm đáng kể xuống 44,68 g/L tại thời điểm 96 giờ. Kết quả cho thấy sinh khối của nấm men tiếp tục tích lũy trong giai đoạn đầu của quá trình lên men và đạt giá trị cao nhất sau 72 giờ trước khi giảm ở giai đoạn lên men kéo dài (Bảng 9).

Sự khác biệt về thời điểm đạt giá trị cực đại giữa mật số tế bào và sinh khối khô phản ánh đặc điểm sinh trưởng và chuyển hóa của *S. cerevisiae* trong quá trình lên men. Mật số tế bào đạt cực đại sau 48 giờ, cho thấy quần thể nấm men đang ở cuối pha lũy thừa hoặc bắt đầu chuyển sang pha cân bằng. Trong giai đoạn này, nguồn carbon, nitơ và oxy hòa tan vẫn đáp ứng nhu cầu sinh trưởng, tạo điều kiện cho tế bào phân chia với tốc độ cao, do đó số lượng tế bào sống đạt giá

trị lớn nhất. Tuy nhiên, phần lớn nguồn năng lượng được ưu tiên cho quá trình nhân đôi tế bào nên khối lượng trung bình của mỗi tế bào chưa đạt mức tối đa (Walker, 1998).

Mặc dù mật số tế bào giảm nhẹ từ 8,75 xuống 8,66 $\log_{10}$ tế bào/mL trong khoảng thời gian từ 48 đến 72 giờ, sinh khối khô vẫn tiếp tục tăng và đạt giá trị cực đại 49,45 g/L sau 72 giờ. Hiện tượng này có thể được giải thích bởi việc tế bào bước vào pha cân bằng, khi tốc độ phân chia giảm nhưng hoạt động trao đổi chất vẫn tiếp tục. Trong giai đoạn này, nấm men tăng cường tích lũy các hợp chất dự trữ nội bào như glycogen và trehalose, đồng thời thành tế bào được củng cố nhằm tăng khả năng thích nghi với điều kiện bất lợi. Sự gia tăng khối lượng của từng tế bào đã bù đắp cho phần sinh khối mất đi do một số tế bào già chết, dẫn đến tổng sinh khối khô vẫn tiếp tục tăng (Walker, 1998; François và Parrou, 2001).

Sau 72 giờ lên men, cả mật số tế bào và sinh khối khô đều giảm rõ rệt. Sự suy giảm này chủ yếu liên quan đến sự cạn kiệt nguồn dinh dưỡng trong môi trường và sự tích lũy các sản phẩm chuyển hóa như ethanol và các axit hữu cơ, làm giảm pH và gây bất lợi cho hoạt động sinh lý của tế bào. Đồng thời, điều kiện thiếu dinh dưỡng kéo dài kích hoạt quá trình tự phân, trong đó các enzyme nội bào như protease và nuclease phân hủy các thành phần của tế bào, làm giải phóng các chất hòa tan vào môi trường. Vì vậy, mật số tế bào sống giảm từ 8,66 xuống 7,70 $\log_{10}$ tế bào/mL, đồng thời sinh khối khô cũng giảm từ 49,45 xuống 44,68 g/L sau 96 giờ lên men. Kết quả này phù hợp với các mô tả về sinh lý và hiện tượng tự phân của nấm men trong điều kiện lên men kéo dài (Alexandre và Charpentier, 1998; Walker, 1998).

Theo nghiên cứu của Walker (1998) về sinh học nấm men, pha cân bằng của *S. cerevisiae* thường đạt được sau 36–48 giờ tùy thuộc vào nồng độ đường ban đầu. Sự lệch pha giữa mật số tế bào sống và tổng sinh khối trong nghiên cứu này trùng khớp với Boulton và Quain (2001): khi nấm men chuyển sang pha cân bằng, tốc độ phân chia tế bào giảm nhưng quá trình tích lũy sinh khối vẫn tiếp diễn. Hiện tượng này được giải thích bởi sự tích lũy các carbohydrate dự trữ, chủ yếu là glycogen và trehalose, làm tăng khối lượng trung bình của mỗi tế bào (François và Parrou, 2001). Đây cũng là cơ sở để giải thích việc sinh khối khô trong nghiên cứu đạt cực đại muộn hơn so với mật số tế bào. Alexandre và Charpentier (1998) về cơ chế tự phân của nấm men trong sản xuất rượu vang chứng minh rằng, khi nồng độ ethanol vượt ngưỡng chịu đựng và cơ chế năng lượng (ATP) của tế bào cạn kiệt, màng tế bào bị mất tính bán thấm, dẫn đến hiện tượng suy giảm sinh khối khô do các thành phần nội bào bị rò rỉ ra ngoài dung dịch pha lỏng.

Nghiên cứu của Dunuweera và cộng sự (2021) nuôi cấy nấm men sản xuất protein đơn bào từ nguồn phụ phẩm nông nghiệp như xoài, măng cầu xiêm, dưa, đu đủ, chuối, măng cụt, điều, ca cao, mít và lựu đã được sử dụng làm cơ chất để sản xuất protein đơn bào. Sau 96 giờ nuôi cấy, sinh khối nấm men (0,429 g) và hàm lượng protein (48,32%) đạt cao nhất ở cơ chất là phụ phẩm măng cầu xiêm. Ngược lại, cơ chất lựu cho sản lượng sinh khối và hàm lượng protein thấp nhất. Hơn nữa, theo Sokchea và cộng sự (2018), nấm men *S. cerevisiae* cho sinh khối cao nhất đạt 7,57 g/L trong điều kiện tỷ lệ C/N là 10/1 và nồng độ rỉ đường 35 g/L sau 24 giờ nuôi cấy. Razzaq và cộng sự (2020) nghiên cứu sản xuất protein đơn bào từ nấm men *S. cerevisiae* trên giá thể bã củ cải đường ở nhiệt độ 30°C trong 6 ngày và bổ sung ammonium sulfate làm nguồn nitơ. Sinh khối nấm men đạt 9,18 g/L. Theo Mujdalipah và Putri (2020), sản xuất protein tế bào đơn bằng nấm men *S. cerevisiae* từ hỗn hợp dịch vỏ khóm: nước vo gạo với tỷ lệ với tỷ lệ 1: 2 (v/v) sau 56 giờ lên men cho hàm lượng sinh khối khô đạt 4,76 g/L trọng lượng khô và hàm lượng protein đạt 289,08 ppm. Hơn nữa, Khan và cộng sự (2021) nghiên cứu sản xuất sinh khối nấm men *S. cerevisiae* từ các nguồn cơ chất là phụ phẩm khác nhau như vỏ táo, vỏ cam và rỉ đường. Sau 48 giờ lên men, sinh khối của nấm men *S. cerevisiae* đạt lần lượt là 6,42 g/L (rỉ đường), 5,86 g/L (vỏ cam) và 5,03 g/L (vỏ táo). Ngược lại, Milala và cộng sự (2018) cho thấy nấm men *S. cerevisiae* lên men từ vỏ cam để sản xuất protein tế bào đơn và sinh khối nấm men đạt 1,145 g/L sau 96 giờ lên men. Tóm lại,

thời gian lên men thích hợp nhất cho sự sinh trưởng và tích lũy sinh khối của *S. cerevisiae* trong môi trường nước vo gạo là 72 giờ.

4. Kết luận

Nấm men *S. cerevisiae* có khả năng sinh trưởng và phát triển trong môi trường nước vo gạo với các điều kiện như pH 5,5; mật số tế bào ban đầu là 10^7 tế bào/mL; thể tích chủng 7% (v/v); nhiệt độ nuôi cấy 32,5°C và thời gian lên men 72 giờ cho mật số tế bào và sinh khối khô cao nhất đạt lần lượt là 8,66 ($\log_{10}$ tế bào/mL) và 49,45 g/L. Kết quả nghiên cứu cho thấy, nước vo gạo là nguồn nguyên liệu thích hợp cho quá trình lên men của nấm men *S. cerevisiae* nhằm sản xuất sinh khối nấm men để nghiên cứu sản xuất sản phẩm yeast extract.

Lời cảm ơn

Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn Trung tâm Công nghệ sinh học tỉnh An Giang, Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh An Giang và Trường Đại học Kiên Giang đã hỗ trợ thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Aldiguier, A. S., Alfenore, S., Cameleyre, X., Goma, G., & Guillouet, S. E. (2004). Synergistic effects of temperature and ethanol on *Saccharomyces cerevisiae* growth and fermentation. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 26(4), 217-222.
- Alexandre, H., & Charpentier, C. (1998). Biochemical aspects of stuck and sluggish fermentation in grape must. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 20(1), 20-27.
- Azhar, S. H. M., Aluwi, S. S., Madon, Z., & Tan, I. S. (2017). Ethanol production from toxic lignocellulosic biomass by *Saccharomyces cerevisiae*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 12, 114-120.
- Barrette, J., Champagne, C.P. & Goulet, J. (1999). Development of bacterial contamination during production of yeast extracts. *Appl. Environ. Microbiol*, 65, 3261-3263.
- Boulton, C., & Quain, D. (2001). *Brewing Yeast and Fermentation*. Blackwell Science.
- Danesi, E. D. G., Miguel, A. S. M., Rangel-Yagui, C. O., Carvalho, J. C. M., Pessoa, A. (2006). Effect of carbon: nitrogen ratio (C:N) and substrate source on glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) production by recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Food Engineering*, 75, 96-103.
- Dunuweera, A. N., Nikagolla, D. N., & Ranganathan, K. (2021). Fruit waste substrates to produce single-cell proteins as alternative human food supplements and animal feeds using baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). *Journal of Food Quality*, 2021.
- Fatma, A., Samia A., Atef J., Hela Z. M., Moncef, N. & Tahar, M. (2015). Biosynthesis of single-cell biomass from olive mill wastewater by newly isolated yeasts. *Environ Sci Pollut Res* DOI 10.1007/s11356-015-5924-2.
- Feldmann, H. (2005). *Yeast: Molecular and cell biology*. Wiley-VCH.
- Fellows, P. J. (2017). *Food Processing Technology: Principles and Practice* (4th ed.). Woodhead Publishing.
- Fleet, G. H. (2008). Wine yeasts for the future. *FEMS Yeast Research*, 8, 979-995.
- François, J., & Parrou, J. L. (2001). Reserve carbohydrates metabolism in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiology Reviews*, 25(1), 125-145. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2001.tb00574.x>
- Hawaz, E., Tafesse, M., Tesfaye, A., Kiros, S., Beyene, D., Kebede, G., Boekhout, T., Groenwald, M., Theelen, & Muleta, D. (2024). Bioethanol production from sugarcane molasses by co-fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* isolate TA2 and *Wickerhamomyces anomalus* isolate HCJ2F-19. *Annals of Microbiology*, 74(13).
- Khan, F. A., Khan, S., Quratul, A., Ishaq, S., Salman, M., Rehman, A., Ullah, I., Kalsoom, & Jamil, J. (2021). Production of single-cell microbial protein and its use as a protein source in broiler ration. *Pakistan Journal of Zoology*, 1-9.

- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2018). *Brock Biology of Microorganisms*, Fifteenth edition. Pearson.
- Mai, L. T., Hiền, N. T., Thủy, P. T., Hằng, N. T., & Chi, L. T. L. (2009). Các phương pháp phân tích ngành công nghiệp lên men. NXB Khoa học và Kỹ thuật.
- Milala, M. A., Yakubu, M., Burah, B., Laminu, H. H., & Bashir, H. (2018). Production and optimization of single cell protein from orange peels by *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Bioscience and Biotechnology Discovery*, 3(5), 99–104.
- Mujdalipah, S., & Putri, M. L. (2020). Utilization of pineapple peel and rice washing water to produce single cell proteins using *Saccharomyces cerevisiae*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 472(1).
- Narendranath, N. V., & Power, R. (2005). Relationship between inoculum size and fermentation growth characteristics of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 32(11-12), 542-548.
- Nguyễn, N. N., Huỳnh, X. P., Bùi, H. Đ. L., Trần, T. H. V., & Đặng, T. N. (2019). Nghiên cứu thu sinh khối, yeast extract và β -glucan từ nấm men *Saccharomyces cerevisiae* nuôi trong môi trường nước chua tàu hũ. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 22, 89–99.
- Nhung, N. T. H., & Thanh, P. T. P. (2025). Khảo sát hiệu quả bảo quản tế bào hồng cầu thỏ (*Oryctolagus cuniculus*) trong glycerin 37% ở nhiệt độ 4°C và –18°C in vitro. *Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh*.
- Phạm, T. L. (2021). Ảnh hưởng của một số yếu tố đến quá trình lên men rượu vang khóm (*Ananas comosus*) Tân Phước (Tiền Giang). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Tiền Giang*, 10, 49.
- Phạm, T. M. H., Nguyễn, T. T. H., & Lê, N. U. (2024). Sản xuất sinh khối nấm men *Saccharomyces cerevisiae* từ dịch thủy phân rong *Ulva lactuca* và thử nghiệm dùng trong nuôi lưu hàu Thái Bình Dương thương phẩm. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 60 (SDMD), 138–145.
- Razzaq, Z. U., Muhammad, K. I. K., Abid, A. M. & Rahman, S. (2020). Characterization of single cell protein from *Saccharomyces cerevisiae* for nutritional, functional and antioxidant properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14, 2520–2528.
- Reade, A. E. & Gregory, K. F. (1975) High temperature production of protein enriched feed from cassava by fungi. *Appl Microbiol*, 30,897–903.
- SGS Vietnam Ltd. (2024, September 21). Analysis report for rinse rice water (Report No. 0000676285). SGS Vietnam Ltd., Can Tho, Vietnam.
- Sokchea, H., Hang, T. P., Dinh, P. L., Duc, N. L., & Tu, H. T. T. (2018). Effect of time, urea and molasses concentration on *Saccharomyces cerevisiae* biomass production. *Journal of Veterinary and Animal Research*, 1, 104.
- Stanbury, P. F., Whitaker, A., & Hall, S. J. (2017). *Principles of Fermentation Technology* (3rd ed.). Butterworth-Heinemann.
- Viljoen, B. J., & Heard, G. M. (2000). *Saccharomyces cerevisiae*. In Robinson, R. K., Batt, C. A., & Patel, P. D. (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (pp. 1918–1924). Academic Press.
- Vukasinovic, M. T., Marica, R. & Slavica, I. M. (2007). Utilization of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) for the production of yeast extract: effects of different enzymatic treatments on solid, protein and carbohydrate recovery. *J. Serb. Chem. Soc.* 72 (5) 451–457.
- Walker, G. M. (1998). *Yeast Physiology and Biotechnology*. John Wiley & Sons
- Walker, G. M., & Stewart, G. G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. *Beverages*, 2(4), 30.