Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ
Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học
ISSN 1859-2333 | e-ISSN 2815-5599

DOI:10.22144/ctujos.2026.014

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN NẤM MEN CHỊU NHIỆT VÀ LÊN MEN BỐN LOẠI DỊCH ÉP TRÁI CÂY

Dương Thị Bích[1*], Nguyễn Thị Thu Thảo[2] và Nguyễn Văn Bá[2]
[1]Khoa Dược - Điều dưỡng, Trường Đại học Tây Đô, Việt Nam
[2]Khoa Sinh học và Ứng dụng, Trường Đại học Tây Đô, Việt Nam
**Tác giả liên hệ (Corresponding author): dtbich@tdu.edu.vn*

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 04/05/2025
Sửa bài (Revised): 16/05/2025
Duyệt đăng (Accepted): 25/11/2025

Title: *Isolation and selection of heat-tolerant yeast for ethanol fermentation of four types of fruit juice*

Author(s): *Duong Thi Bich[1*], Nguyen Thi Thu Thao[2] and Nguyen Van Ba[2]*

Affiliation(s): *[1]Faculty of Pharmacy and Nursing, Tay Do University, Viet Nam; [2]Faculty of Applied Biology, Tay Do University, Viet Nam*

TÓM TẮT

Việc tuyển chọn nấm men chịu nhiệt và lên men nhiều loại trái cây là rất cần thiết trong lĩnh vực lên men đồ uống, giúp giảm chi phí làm mát và áp dụng trên nhiều nguyên liệu. Trong nghiên cứu, 6 dòng nấm men có khả năng sản xuất ethanol với nồng độ từ 4 đến10% đã được phân lập và tuyển chọn. Trong đó, 5 dòng phát triển ở nhiệt độ 45°C trong môi trường YPD lỏng. Qua khảo sát sàng lọc, dòng MR phân lập từ mít, có thể phát triển ở nhiệt độ 45°C, pH 3,5 và lên men được các loại trái cây như ổi, khế, mít và cam sành đạt nồng độ ethanol tương ứng 10%, 10%, 8% và 6% được chọn. Trình tự gen 18S rRNA của dòng MR được phân tích cho thấy mức độ tương đồng 91,34% với Saccharomyces cerevisiae AUMC 10233. Các điều kiện nhiệt độ, pH, thời gian lên men và từng loại trái cây được tiếp tục khảo sát để khai thác tối đa khả năng lên men của dòng MR, nhằm nâng cao hiệu suất sản xuất ethanol và đa dạng nguyên liệu.

Từ khóa: *Ethanol, nấm men chịu nhiệt, Saccharomyces cerevisiae*

ABSTRACT

The selection of heat-tolerant yeasts capable of fermenting a wide variety of fruits is crucial in the beverage fermentation industry. This approach not only helps reduce cooling costs during fermentation but also enables the use of diverse raw materials. The research results isolated and selected 6 yeast strains capable of producing ethanol at concentrations of 4-10%. Of these, 5 strains grew at 45°C in YPD broth medium. The MR strain isolated from jackfruit has with following characteristics: able to grow at 45°C; pH suitable at 3.5 and adaptability on ethanol fermentation with guava, starfruit, jackfruit and oranges with ethanol concentrations of 10%, 10%, 8% and 6% respectively. Sequence analysis of the MR strain's 18S rRNA gene revealed 91.34% similarity with Saccharomyces cerevisiae AUMC 10233. Further research and investigation of optimal conditions, including temperature, pH, fermentation time and fruit type, is needed to maximize the alcoholic fermentation potential of the MR strain, in order to improve ethanol production efficiency and wine quality on a variety of fruits.

Keywords: *Ethanol, heat-tolerant yeasts, Saccharomyces cerevisiae*

1. GIỚI THIỆU

Saccharomyces cerevisiae là loài nấm men rất phổ biến trong ngành công nghiệp lên men sản xuất rượu trái cây. Với khả lên men đạt yêu cầu, tăng trưởng nhanh, dễ thích nghi với khoảng nhiệt độ rộng từ 2 đến 45ºC, pH từ 2,5 đến 8,5 và chịu được SO_2 tốt hơn so với các loài khác (Maicas, 2020; Topaloğlu et al., 2023). Trong các nghiên cứu về quy trình lên men rượu trái cây, các dòng nấm men được phân lập và tuyển chọn có nguồn gốc từ loại trái cây đó thường được sử dụng như nghiên cứu của Pham et al. (2024). Trong nghiên cứu này, dòng *Saccharomyces cerevisiae* HB2 từ cam trồng tại Hòa Bình lên men rượu cam có nồng độ ethanol là 7,76% và pH 3,37 được phân lập và tuyển chọn hoặc phải tuyển chọn các dòng nấm men thương mại để phù hợp cho từng loại trái cây. Theo nghiên cứu của Nguyen et al. (2023), 3 chủng nấm men thương mại gồm *Saccharomyces cerevisiae* BV818, RV100, Angel (Angel Yeast Co., Ltd.) và Mauripan (AB Mauri Vietnam) được tuyển chọn để lên men dưa lưới. Kết quả chỉ có chủng *S. cerevisiae* BV818 lên men tốt nhất so với các chủng khác, nồng độ ethanol đạt 8,54%. Đối với nghiên cứu của Jiang et al. (2023) thì hai chủng *Torulaspora delbrueckii* Biodiva và *Lachancea thermotolerans* Concerto lên men rượu thanh long ruột đỏ phù hợp hơn chủng *Saccharomyces cerevisiae* EC-1118, với khả năng duy trì hoạt động chống oxy hóa và màu tốt hơn. Bên cạnh đó việc sử dụng các dòng nấm men bản địa được chứng minh có khả năng sinh ethanol và nhiều hợp chất bay hơi làm tăng hương vị của rượu tốt hơn dòng thương mại (Guan et al., 2025). Qua tổng hợp các nghiên cứu trên cho thấy, để lên men rượu có chất lượng tốt của một loại trái cây nào đó, thì cần phải khảo sát tuyển chọn dòng nấm men phù hợp từ nguồn phân lập hoặc thương mại, điều đó làm tăng thêm chi phí và thời gian. Việc tìm kiếm những dòng nấm men có khả năng lên men được nhiều loại trái cây trồng phổ biến ở nước ta như mít, ổi, khế và cam sành là rất cần thiết. Đây là nhưng loại trái cây cho năng suất cao trong chính vụ nhưng giá thấp hoặc khó tiêu thụ, dẫn đến lãng phí. Việc tuyển chọn dòng nấm men phù hợp với những loại trái cây này, đồng thời có khả năng chịu nhiệt cao, góp phần nâng cao giá trị kinh tế của chúng và giảm chi phí làm mát khi lên men sản xuất rượu.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Nguyên liệu

Các loại trái cây như ổi, khế, cam sành, mít được thu trong khu vực thành phố Cần Thơ vào tháng 6 năm 2024.

Hóa chất và môi trường

Môi trường phân lập và nuôi cấy nấm men: môi trường YPD (Yeast extract 0,5%, Peptone 0,5%, D-glucose 2%)

Hóa chất: D- glucose (VN), sucrose (VN), Yeast extract (Merck) và các hóa chất: ethanol 99% (Ấn Độ), acid citric (Ấn Độ), $NaHSO_3$ (Ấn Độ), NaOH (Ấn Độ), HCl (Ấn Độ), $(NH_4)_2SO_4$, KH_2PO_4, $MgSO_4$. $7H_2O$, $CaCl_2$. $2H_2O$.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân lập và nhận diện sơ bộ dòng nấm men

Các mẫu trái cây thu về được loại bỏ trái hư và hạt, cắt nhỏ cả vỏ và thịt quả cho vào môi trường YPD với tỷ lệ 5% mẫu và ủ trong 48 giờ. Sau thời gian ủ, các mẫu được trải trên môi trường YPD có bổ sung 2% agar. Những khuẩn lạc khác nhau được tuyển chọn và cấy phân lập nhiều lần trên môi trường để tạo dòng thuần. Các dòng tuyển chọn được cấy vào trong ống môi trường 2% glucose có đặt chuông Durham và theo dõi cột khí xuất hiện trong chuông Durham sau 24-48 giờ. Các dòng có xuất hiện cột khí trong chuông Durham được tuyển chọn để quan sát hình thái khuẩn lạc, đặc điểm tế bào (Nguyen et al., 2021).

2.2.2. Khảo sát khả năng lên men sinh ethanol

Các dòng phân lập có sinh hơi sau 24-48 giờ được tuyển chọn khảo sát khả năng lên men ethanol. Môi trường lên men được thiết kế gồm các thành phần: glucose 18,5%; $(NH_4)_2SO_4$ 0,65%; KH_2PO_4 0,3%; $MgSO_4$. $7H_2O$ 0,06%; $CaCl_2$. $2H_2O$ 0,01%; yeast extract 0,4%. Môi trường được khử trùng ở 115ºC trong 15 phút, để nguội bổ sung 1% huyền phù nấm men đã tăng sinh trong YPD 24 giờ và ủ 120 giờ ở nhiệt độ 30ºC. Nồng độ ethanol được xác định bằng ethanol kế ở 20ºC (Ogbonna et al., 1997; Saeed & Ahlam, 2005).

2.2.3. Khảo sát khả năng chịu pH, ethanol và nhiệt trong môi trường lỏng

Các dòng nấm men có khả năng sinh ethanol từ 2% trở lên được tuyển chọn để khảo sát khả năng chịu các điều kiện khắc nghiệt của môi trường (Joshi

et al., 2017). Huyền phù nấm men được tăng sinh 24 giờ và bổ sung vào các ống môi trường khảo sát với tỷ lệ là 1%. Đối với khảo sát khả năng chịu pH, các ống môi trường được điều chỉnh pH ở các mức 3; 3,5; 4 và 4,5 bằng acid citric trước khi bổ sung nấm men. Đối với khảo sát chịu ethanol, các ống môi trường được bổ sung ethanol tuyệt đối với tỷ lệ 4, 8, 12 và 14%. Các mẫu khảo sát được ủ ở 30^{o}C. Khảo sát khả năng chịu nhiệt, các ống YPD sau khi bổ sung nấm men được bố trí các nhiệt độ phòng, 35; 40 và 45^{o}C (Lai et al., 2022). Sự phát triển của nấm men được đánh giá qua việc làm đục môi trường sau 24 giờ so với ống YPD không chủng nấm men. Các dòng có khả năng chịu ethanol, chịu nhiệt cao và pH thấp chọn khảo sát khả năng lên men rượu trái cây.

2.2.4. Khảo sát khả năng lên men bốn loại trái cây khác nhau

Nguyên liệu là những loại trái cây như: mít, ổi, khế, cam sành, đây là những loại có thời gian bảo quản ngắn và giá thành thấp khi vào chính vụ. Vì vậy, việc chuyển sang sản xuất nước ép lên men không chỉ bảo quản lâu mà tăng giá trị sử dụng của nguồn trái cây này. Các nguyên liệu được rửa sạch loại bỏ hạt, ép lấy dịch quả điều chỉnh ^{o}Brix đạt 24-25, pH từ 4,5 đến 4,7, thanh trùng bằng $NaHSO_3$ (140 mg/mL) trong 2 giờ. Sau đó bổ sung nấm men được tuyển chọn với tỷ lệ 1%. Đậy kín bằng water-lock để lên men ở nhiệt độ phòng, thời gian lên men kết thúc khi các bình không còn xuất hiện bọt khí. Độ ethanol ở các mẫu lên men được xác định bằng ethanol kế ở 20^{o}C (Nguyen et al., 2021).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập nấm men

Từ 4 loại trái cây chín được thu tại thành phố Cần Thơ gồm: mít, ổi, khế, cam sành đã phân lập 17 dòng nấm men cụ thể ở Bảng 1.

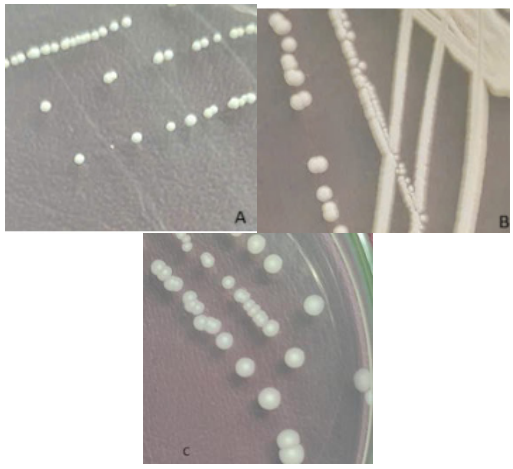
Bảng 1. Kết quả phân lập từ các loại trái cây

TT	Loại trái cây	Địa điểm thu mẫu	Số dòng phân lập
1	Cam sành	Chợ Cái Răng	4
2	Khế		4
3	Ổi lê	Chợ Bình Thủy	4
4	Ổi rubi		2
3	Mít		3

Những dòng nấm men phân lập có khuẩn lạc dạng tròn đều, bìa nguyên, trắng đục hoặc trắng trong, đường kính từ 1 đến 4 mm. Tế bào có các hình dạng chủ yếu là hình cầu có 5 dòng, hình oval 5 dòng và bầu dục 7 dòng. Vị trí nảy chồi theo một hướng hoặc hai hướng (Bảng 2, Hình 1 và Hình 2). Đặc điểm khuẩn lạc và hình dạng tế bào các dòng phân lập hoàn toàn phù hợp với mô tả đặc điểm nấm men của Chavez et al. (2023).

Bảng 2. Đặc điểm các dòng nấm men phân lập

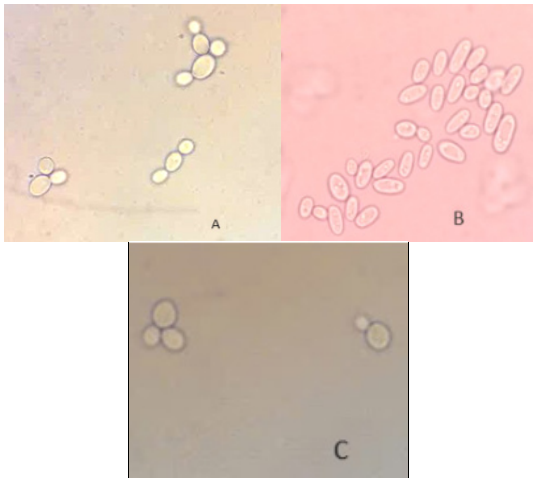
Đặc điểm		Tỷ lệ (%)	Số dòng
Khuẩn lạc	Khuẩn lạc tròn, mô, bìa nguyên	100	17
	Màu trắng đục	76,4	13
	Màu trắng trong	23,5	4
Tế bào	Tế bào hình oval	29,4	5
	Tế bào hình cầu	29,4	5
	Tế bào hình bầu dục	41,2	7
Kiểu nảy chồi	Chồi 1 hướng	82,3	14
	Chồi 2 hướng	17,6	3



Hình 1. Khuẩn lạc các dòng phân lập

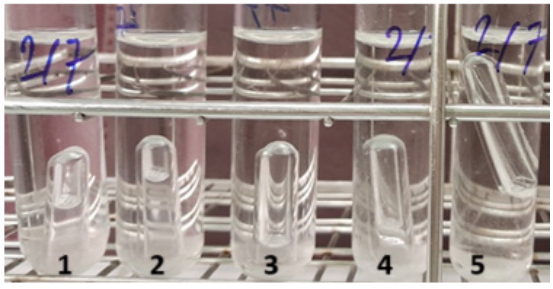
Khuẩn lạc trắng đục, mô (dòng MR), B. Khuẩn lạc trắng đục, mô (dòng MBT2), C. Khuẩn lạc trắng trong, lài (dòng K3))

Các dòng phân lập được kiểm tra khả năng sinh hơi trong môi trường 2% glucose sau 24-48 giờ. Những dòng có sinh hơi đẩy chuông Durham được tuyển chọn để thực hiện các khảo sát tiếp theo (Hình 3).



Hình 2. Hình tế bào các dòng nấm men phân lập

Tế bào hình oval, chồi 2 hướng; B. Tế bào hình bầu dục, chồi 1 hướng; C. Tế bào hình cầu, chồi 1 hướng)



Hình 3. Khả năng sinh hơi sau 24 giờ của các dòng phân lập

(1. Dòng OL1; 2. Dòng MBT2; 3. Dòng C; 4. Dòng MR; 5. Dòng TL3)

3.2. Khả năng lên men sinh ethanol

Từ kết quả khảo sát sinh hơi trong môi trường glucose đã chọn được 12 dòng để khảo sát khả năng sinh ethanol. Kết quả cho thấy dòng MR phân lập từ mít và hai dòng phân lập từ ổi (TL1, TL3) sinh ethanol cao nhất từ 9 đến 10% khác biệt không có ý nghĩa thống kê (P<0,01), tiếp theo là dòng C3 và CC5 phân lập từ cam sành có nồng độ ethanol lần lượt là 8,3% và 6%, dòng OĐ3 phân lập từ ổi Rubi là 4,6% (Bảng 3). Theo Joshi *et al*. (2017) rượu vang trái cây phải có nồng độ ethanol tối thiểu là 7,1%. Tuy nhiên nếu là rượu trái cây có ethanol thấp thì nồng độ ethanol chỉ cần có từ 2 đến 7%. Từ đó các dòng phân lập sinh ethanol từ 2% trở lên được chọn để khảo sát khả năng chịu nhiệt, ethanol và pH.

Bảng 3. Kết quả khảo sát khả năng lên men glucose sinh ethanol

TT	Dòng phân lập	Độ ethanol
1	OĐ3	$4,6\pm1,2^{cd}$
2	MBT2	$2,6\pm0,5^{dg}$
3	OL1	$1,3\pm0,5^{g}$
4	OL2	$2,6\pm1,2^{dg}$
5	OĐ2	$3,3\pm1,5^{cdg}$
6	K4	$1,6\pm1,5^{dg}$
7	CC1	$3,0\pm1,0^{cdg}$
8	CC5	$6,0\pm1,7^{bc}$
9	C3	$8,3\pm0,5^{ab}$
10	TL1	$9,3\pm1,5^{a}$
11	TL3	$10,3\pm0,5^{a}$
12	MR	$9,3\pm1,2^{a}$

Ghi chú: Các số mang mũ chữ cái khác nhau, khác biệt có ý nghĩa thống kê trong phép kiểm định One-way ANOVA với P<0,01

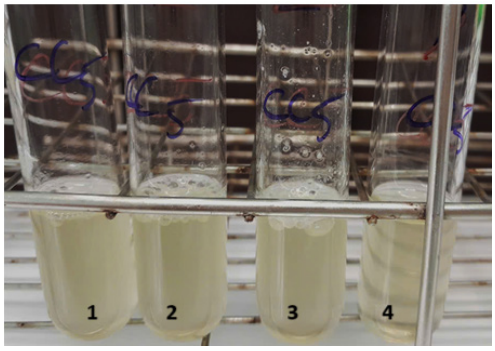
3.3. Khả năng chịu pH, ethanol và nhiệt

Kết quả được thể hiện ở Bảng 4 cho thấy tất cả các dòng phân lập có thể phát triển ở pH 3,5. Riêng các dòng OĐ3, CC5 và C3 phát triển ở pH 3. Nội dung được trình bày ở Hình 4 thể hiện khả năng phát triển của dòng CC5 phân lập từ cam sành ở các độ pH khác nhau. Ống thứ 4 có độ pH là 3, nấm men vẫn phát triển và làm đục môi trường giống như các ống còn lại. Nấm men có khoảng pH rộng từ 2,5 đến 8,5 (Maicas, 2020), tuy nhiên pH tốt cho các enzym hoạt động chuyển hóa sinh ethanol là 4,5. Nếu lệch quá mức so với pH ngoại bào của nấm men làm giảm lượng ethanol sinh ra (Yusuf et al., 2023). Quá trình lên men sản sinh CO_2 có thể làm pH môi trường giảm, nếu sử dụng dòng nấm men chịu pH thấp thì quá trình được thuận lợi hơn.

Về khả năng chịu ethanol, tất cả các dòng khảo sát đều phát triển ở nồng độ 8%, có bốn dòng phát triển ở nồng độ 12%. Nội dung được thể hiện ở Hình 5 cho thấy dòng TL3 phân lập từ ổi có khả năng phát triển và làm đục môi trường ở nồng độ 8% (ống thứ 3). Mặc dù nấm men là nhóm vi sinh vật có khả năng lên men sản xuất ethanol tốt, nhưng nồng độ ethanol cao trong môi trường ảnh hưởng đến quá trình vận chuyển các chất qua màng, các bào quan và có thể làm chết tế bào (Sahana et al., 2024). Bên cạnh đó, tế bào nấm men có thể điều hòa chuyển sang sản xuất glycerol, ergosterol để sống sót trong môi trường bất lợi (Ji et al., 2025). Nấm men có khả năng chịu ethanol được tuyển chọn là cần thiết trong quá trình lên men. Các dòng MR, OĐ3, OL1 và C3 có khả năng chịu nồng độ ethanol 12%, đây là đặc tính tốt. Đối với dòng OL1 và OĐ3 tuy chịu được ethanol

môi trường cao nhưng khả năng sinh ethanol thấp có thể do ảnh hưởng bởi các điều kiện môi trường khác. Theo Kanagasabai et al. (2019), khả năng sản xuất ethanol của nấm men còn chịu ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố bên ngoài như pH, nhiệt độ, thời gian lên men, cơ chất và các vi lượng, vì thế môi trường khảo sát có thể không phù hợp với hai dòng này.

Việc tuyển chọn những dòng nấm men có khả năng chịu nhiệt cao rất phù hợp cho quá trình lên men sản xuất ethanol ở các nước nhiệt đới. Lên men ở nhiệt độ cao giúp giảm tiêu hao năng lượng làm mát, giảm nguy cơ nhiễm những vi sinh vật ưa nhiệt gây hư hỏng, tăng chuyển hóa đường thành ethanol (Kucharczyk & Tuszynski, 2018). Kết quả khảo sát cho thấy khả năng chịu nhiệt các dòng phân lập là 40ºC, trong đó các dòng MR, TL1, TL3, CC5 và C3 có thể phát triển ở 45ºC. Kết quả được thể hiện ở Hình 6 cho thấy khả năng phát triển ở nhiệt độ cao của dòng MR phân lập từ mít. Ống thứ 4 ủ ở điều kiện nhiệt độ 45ºC, nấm men phát triển làm đục môi trường hơn so với ống số 5 (ống đối chứng không có nấm men). Việc tìm kiếm các dòng chịu nhiệt cũng được nhiều nghiên cứu thực hiện nhằm cung cấp nguồn nấm men tốt góp phần giảm chi phí trong sản xuất ethanol công nghiệp như nghiên cứu của nhóm Jayamma et al. (2021) đã phân lập được 20 dòng nấm men có thể phát triển ở nhiệt độ 45ºC từ chất thải của nhiều loại trái cây. Nhóm nghiên cứu Huynh et al. (2019) đã phân lập dòng nấm men *P. kudriavzevii* CM4.2 từ đất có khả năng lên men ethanol ở nhiệt độ 45ºC với năng suất ethanol 4,10 g/L/ giờ.



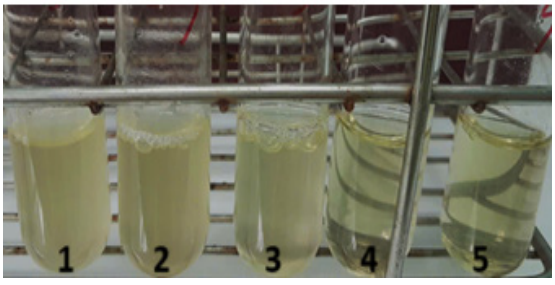
Hình 4. Khả năng chịu pH dòng của CC5

(1. pH= 4,5; 2. pH=4,0; 3. pH= 3,5; 4. pH=3)

Bảng 4. Kết quả khảo sát khả năng chịu pH, chịu ethanol và nhiệt độ của 12 dòng phân lập

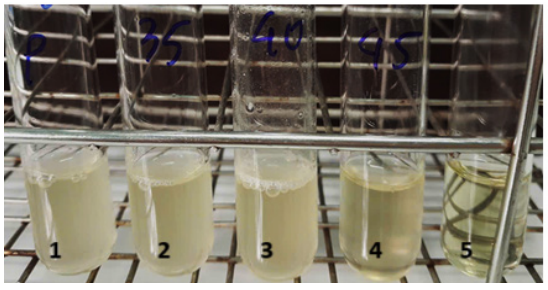
Dòng phân lập	pH				Chịu ethanol				Chịu nhiệt				Khả năng sinh hơi (12 giờ)
	3	3,5	4	4,5	4	8	12	14	30	35	40	45	
MR	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	±	+
MBT2	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+
OL2	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+
OĐ2	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+
OĐ3	+	+	+	+	+	+	±	-	+	+	+	-	+
TL1	-	+	+	+	+	+	±	-	+	+	+	±	+
TL3	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	±	+
CC1	-	+	+	+	+	±	-	-	+	+	+	-	+
CC5	+	+	+	+	+	±	-	-	+	+	+	±	+
C3	+	+	+	+	+	+	±	-	+	+	+	±	+

Ghi chú: - không đục môi trường, ± đục ít, + đục nhiều



Hình 5. Khả năng chịu ethanol dòng của TL3

(1. Nồng độ 0%; 2. Nồng độ 4%; 3. Nồng độ 8%; 4. Nồng độ 12%; 5. Nồng độ 14%)



Hình 6. Khả năng chịu nhiệt dòng MR

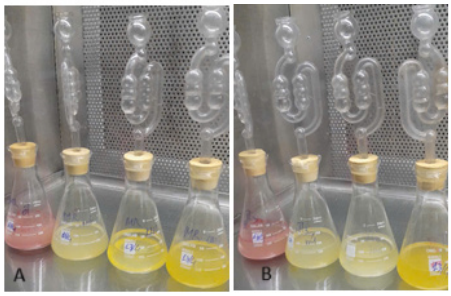
(1. Ở 30 ºC; 2. Ở 35 ºC; 3. Ở 40 ºC; 4. Ở 45 ºC; 5. Môi trường YPD)

3.4. Khả năng lên men các loại dịch trái cây

Dựa vào khả năng sinh ethanol và khả năng chịu nhiệt cao tuyển chọn 4 dòng TL1, TL3, MR và C3 lên men bốn loại dịch trái cây gồm mít, ổi, khế và cam sành được thể hiện ở Hình 7 (dòng MR có ký hiệu A và dòng TL3 ký hiệu B). Kết quả sau 7 ngày lên men được thể hiện ở Bảng 5.

Bảng 5. Kết quả khảo sát khả năng lên men các loại dịch trái cây của 4 dòng phân lập

0	Loại trái cây lên men	Chỉ tiêu khảo sát			Ghi chú
		Cồn	pH	ºBrix	
TL1	Ổi	9	3,7	9	
	Khế	8	3,7	9	
	Mít	0	4,5	18	
	Cam sành	0	4,2	14,5	
TL3	Ổi	9	3,7	7,5	
	Khế	8	3,7	9,5	
	Mít	3	4,6	14	
	Cam sành	2	4,2	16	
C3	Ổi	8	3,7	9	
	Khế	7	3,9	10	
	Mít	0	4,5	18	
	Cam sành	6	4,2	11	
MR	Ổi	10	3,8	6	
	Khế	10	3,9	6	
	Mít	8	4,3	10	
	Cam sành	6	4,3	13	



Hình 7. Khảo sát khả năng lên men dịch trái cây

(A. Dòng phân lập MR; B. Dòng phân lập TL3)

Dựa vào các chỉ tiêu gồm nồng độ ethanol sinh ra, sự thay đổi pH và ºBrix cho thấy dòng MR thể hiện khả năng lên men tốt nhất so với ba dòng còn lại. Nồng độ ethanol được sinh ra ở dịch ép ổi và khế đạt 10% với ºBrix giảm còn 6 và pH nằm trong khoảng 3,8-3,9, điều đó cho thấy lượng đường chuyển hóa thành ethanol có hiệu quả. Đối với mít, nồng độ ethanol đạt 8%, thấp hơn so với nghiên cứu của Nguyen and Nguyen (2024) nồng độ ethanol đạt 15,31% (v/v) sau 9 ngày lên men với các điều kiện ban đầu được thiết lập: tỷ lệ men 0,799%, dịch quả có ºBrix là 26,71 và pH là 4,06. Từ đó cho thấy điều kiện lên men ban đầu của mít có thể chưa phù cho dòng MR, cần có khảo sát điều kiện lên men tối ưu của dòng này đối với mít. Đối với cam sành nồng độ ethanol chỉ thu được 6% sau lên men, có thể dịch lên men bị nhiễm D- limonen từ vỏ cam khi xử lý nguyên liệu đầu vào đã gây ức chế hoạt động của nấm men. Theo Indulekha et al. (2017) hàm lượng D- limonen trong nguyên liệu không được quá 0,05%, cao hơn ảnh hưởng đến quá trình lên men. Vì vậy, việc loại bỏ vỏ cam cần được thực hiện trước khi ép lấy dịch. Các dòng TL1, TL3 không phù hợp cho mít và cam vì sản sinh ethanol rất thấp khoảng 0-3%. Dòng C3 không lên men mít, nhưng ở ổi, khế và cam cho nồng độ ethanol đạt từ 6 đến 8% có thể nghiên cứu thêm về điều kiện ảnh hưởng đến quá trình lên men của dòng này.

Từ kết quả khảo sát đã tuyển chọn dòng MR với khả năng lên men hiệu quả cả bốn loại trái cây và được xác định tên bằng phân tích trình tự gen. Giải trình tự gen 18S rRNA và so sánh trên ngân hàng gen NCBI, cho thấy dòng MR có trình tự DNA tương đồng 91,34% với chủng *Saccharomyces cerevisiae* AUMC 10233, tuy nhiên mức độ tương đồng còn thấp, để xác định loài cụ thể cần có những phân tích trên các vùng gen nhận diện như ITS1, ITS2 và vùng 5.8S rRNA (International Organisation of Vine and Wine [OIV], 2011). Việc nhận diện loài có thể giúp xác định tính an toàn của dòng MR từ đó đưa ra các nghiên cứu sâu hơn để đưa dòng này vào ứng dụng trong lên men rượu trái cây.

4. KẾT LUẬN

Từ nguồn trái cây gồm mít, ổi, khế và cam sành, đã phân lập được 17 dòng nấm men. Qua các thí nghiệm khảo sát khả năng lên men sinh ethanol, chịu nhiệt, pH và nồng độ ethanol, đã tuyển chọn dòng MR được phân lập từ mít. Dòng MR có khả năng phát triển ở nhiệt độ 45°C, pH 3,5, chịu được nồng độ ethanol 12% và lên men hiệu quả trên bốn loại dịch trái cây (ổi, khế, mít, cam sành) với nồng độ ethanol lần lượt đạt 10%, 10%, 8% và 6%. Dòng MR có tế bào hình cầu, nảy chồi một hướng, trình tự gen 18S rRNA có độ tương đồng 91,34% với *Saccharomyces cerevisiae* AUMC 10233.

TÀI LIỆU THAM KHẢO (REFERENCES)

Chavez, C. M., Groenewald, M., Hulfachor, A. B., Kpurubu, G., Huerta, R., Hittinger, C. T. & Rokas, A. (2023). The cell morphological diversity of *Saccharomycotina yeasts. FEMS Yeast Research, 24*, 1-9. https://doi.org/10.1093/femsyr/foad055

Huynh, P. X., Preekamol, K., Ngo, D. T. P., Mamoru, Y., & Pomthao, T. (2019). Isolation and characterization of thermotolerant yeasts for the production of second-generation bioethanol. *Annals of Microbiology*, 69, 765-776, https://doi.org/10.1007/s13213-019-01468-5

Indulekha, J., Muthukumar, K., & Arunagiri, A. (2017). A review on the potential of citrus waste for D-limonene, pepctin, and bioethanol production. *International Journal of Green Energy*, *14*(7), 599-612. https://doi.org/10.1080/15435075.2017.1307753

International Organisation of Vine and Wine. (2011). *Biology molecular tools for identification of Saccharomyces cerevisiae wine yeast and other yeast species related to winemaking.* Resolution OIV-OENO 408-2011, 24th https://www.oiv.int/node/3314.

Jayamma, P., Shirnalli, G. G., Goudar, D. G., & Olekar, N. (2021). Isolation and identification of thermotolerant yeast isolates from different fruit wastes. *The Pharma Innovation, 11*(1), 855-859.

Jiang, X., Lu, Y., & Liu, S. Q. (2023). Effects of different yeasts on physicochemical and oenological properties of Red Dargon fruit wine fermented with Saccharomyces cerevisiae, Torulaspora delbrueckii and Lachancea thermotolerans. *Microorganisms*, *8*(3), 315. https://doi.org/10.3390/microorganisms8030315.

Ji, X. X., Zhang, Q., Yang, B. X., Song, Q. R., Sun, Z. Y., Xie, C. Y., & Tang, Y. Q. (2025). Respones mechanism of ethanol-tolerant *Saccharomyces cerevisiae* strain ES-42 to increased ethanol during continuous ethanol fermentation. *Microbial Cell Factories*, *24*(33). https://doi.org/10.1186/s12934-025-02663-7

Joshi, V. K., Panesar, P. S., & Kaur, S. (2017). Science and Technology of fruit Wines: An overview. In Kosseva, M.R., Joshi, V.K. and Panesar, P.S. (Eds). *Science and Technology of Fruit Wine Production* (1-7). *ScienceDirec*t. https://doi.org/10.1016/C2013-0-13641-0.

Kanagasabai, M., Maruthai, K., & Thangavelu, V. (2019). Simultaneous saccharification and fermentation and factors influencing ethanol production in SSF process. In Yu, Y (Eds). *Alcohol fuels-current technologies and future prospect* (1-14). IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.86480

Kucharczyk, K., & Tuszynski, T. (2018). The effect of temperature on fermentation and beer volatiles at an industrial scale. *Journal of The Institute of Brewing, 124*(3), 230-235. https://doi.org/10.1002/jib.491

Lai, Y. T., Hsich, C. W., Lo, Y. C., Liou, B. K., Lin, H. W., Hou, C. H., & Cheng, K. C. (2022). Isolation and indentification of aroma-producing non-saccharomyces yeast strains and the enological characteristic comparsion in wine making. *LWwt- Food Science and Technology, 154*, 1-13. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112653

Maicas, S. (2020). The role of yeasts in fermentation processes. *Microoganisms, 8*(1142), 1-8. https://doi.org/10.3390/microorganisms8081142

Nguyen, P. V. N., & Nguyen, H. T. (2024). Research on processing distilled wine from Thai Jackfruit (Artocarpus heterophyllus Lam.) by – product. *Journal of Science and Technology (NTTU)*, 7(5), 36-44. https://doi.org/10.55401/8xb7g943

Nguyen, T. N., Huynh, K. V., Le, T. T., Luu, C. M., Doan, T. K., & Huynh, P. X. (2021). Isolation and selection of fermentative yeasts for wine production from soursop (*Annona muricata* L.). *Can Tho University Science Journal, 57*(4B), 131-138 *(in Vietnamese)*.

Nguyen, T. N., Luu, C. M., Vo, H. T. P., Nguyen, N. T. T., Bui, L. H. D., & Huynh, P. X. (2023). Study on fermention conditions for cantaloupe wine (*Cucumis melo* L.) using *Saccharomyces cerevisiae* BV818. *TNU Journal of Science and Technology*, *228*(09), 415-423 (*in Vietnamese)*. https://doi.org/10.34238/tnu-jst.7851

Ogbonna, J. C., Tom, I. S., Liu, Y. C., & Tanaka, H. (1997). Efficient production of ethanol by cells Immobilized in Loofa (*Luffa cylindrica*) sponge. *Journal of Fermentation and Bioengineering, 84*(3), 271-274. https://doi.org/10.1016/S0922-338X(97)82069-7

Pham, T. Q., Dao, N. T. K., & Ho, A. T. (2024). Isolation and selection of yeast strains capable of fermenting orange juice. *HNUE Journal of Science Natural Sciences*, *69*(2),140-150. https://doi.org/10.18173/2354-1059.2024-0029

Saeed, A. W. S., & Ahlam. (2005). Microbiological conversion of waste fruits and vegetables into ethanol. *Department of Zoology, University of the Punjab, Lahore.*

Sahana, G. R., Balasubramanian, B., Joseph, K. S., Pappuswamy, M., Liu, W. C., Meyyazhagan, A., Kamyab, H., Chelliapan S., & Joseph, B. V. (2024). A review on ethanol tolerance mechaisms in yeast: Curent knowledge in biotechnological applications and future directions. *Rrocess Biochemistry*, 138: 1-13. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2023.12.024

Topaloğlu, A., Esen, Ö., Turanlı-Yıldız, B., Arslan, M., & Çakar, Z. P. (2023). From *Saccharomyces cerevisiae* to Ethanol: Unlocking the Power of Evolutionary Engineering in Metabolic Engineering Applications. *J. Fungi*, *9*(10), 984. https://doi.org/10.3390/jof9100984

Guan, T., Gui, X., Wu, Y., Wang, S., Tian, L., Liu, Q., & Wu, Y. (2025). Aromatic and sensorial profiles of Guichang kiwi wine fermented by indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains. *J. Food Science*, *90*(2), e70067 https://doi.org/10.1111/1750-3841.70067

Yusuf, U. S., Usman, U. G., Bbubakar, A. Y., & Mansir, G. (2023). Effect of pH and temperature on bioethanol production: Evidences from the fermentation of sugarcane molasses using *Saccharomyces cerevisiae*. *Dutse Journal of Pure and Applied Sciences* (DUJOPAS), *8*(4b), 9-16, https://doi.org/10.4314/dujopas.v8i4b.2