

## ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ ĐẾN KHẢ NĂNG SINH SẮC TỐ CAROTENOID CỦA NẤM MEN ĐỎ *Rhodotorula*

Nguyễn Thị Tuyết Lê\*, Lê Việt Phương, Bùi Quang Tuấn, Bùi Huy Doanh

*Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

\*Tác giả liên hệ: tuyetle\_hua@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 15.06.2021

Ngày chấp nhận đăng: 02.07.2021

### TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu này nhằm chọn lọc các chủng nấm men đỏ *Rhodotorula* có khả năng sinh sắc tố carotenoid và đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ, pH, nguồn C, N đến sinh trưởng và khả năng sinh sắc tố của các chủng nấm men này. Tổng số 8 chủng nấm men đỏ (SR1, SR2, SR3, SR4, SR5, SR6, SR7, SR8) được nuôi cấy trên môi trường Hansen dịch thể ở 30°C trong 72 giờ. Chủng nấm men đỏ SR6 và SR7 có hàm lượng carotenoid cao nhất (0,76 và 0,81 mg/g VCK) đã được lựa chọn để nghiên cứu mức tiếp giống, ảnh hưởng của nhiệt độ, pH và nguồn cơ chất C, N. Kết quả cho thấy, khả năng sinh trưởng và sản sinh sắc tố carotenoid đạt cao nhất ở hai chủng nấm men đỏ được chọn lọc khi được nuôi cấy trên môi trường Hansen dịch thể, với tỉ lệ tiếp giống 2% ở nhiệt độ 30°C, pH môi trường là 5,5. Nguồn N và C thích hợp nhất được lựa chọn sử dụng cho môi trường nuôi cấy nấm men đỏ là peptone và glucose. Cơ chất giàu tinh bột được lựa chọn cho quá trình lên men rắn là bột ngô và bột gạo.

Từ khóa: Nấm men đỏ *Rhodotorula*, sắc tố carotenoid.

### Factors Affecting the Carotenoid Production by Red Yeast *Rhodotorula* Strains used to Produce Carotene-rich Feed for Layers

### ABSTRACT

The objectives of this work were to select carotenoid-producing red yeast strains and assess the impact of various parameters such as temperature, pH, C and N sources on dry biomass and their carotenoid production. A total of 8 *Rhodotorula* strains, viz. SR1, SR2, SR3, SR4, SR5, SR6, SR7, SR8 were inoculated on Hansen broth at 30°C/72h. The highest carotenoid producing yeast strains SR6 and SR7 (0.76 and 0.81 mg/gDM) were selected to further study the effect of inoculation percentages, temperature, pH, as well as C and N sources on growth and carotenoid production. The results showed that the two selected red yeast strains grew fast and produced the highest carotenoid when cultured on liquid Hansen medium with 2% inoculation rate at 30°C and pH 5.5. The optimum sources of N and C for red yeast culture medium were peptone and glucose, respectively. Corn meal and rice flour were chosen as the best substrates for solid fermentation.

Keywords: Red yeast, *Rhodotorula*, carotenoids.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong chăn nuôi gà đẻ, sắc tố carotenoid là yếu tố cần phải có trong thức ăn. Ngoài tác dụng cung cấp chất tiền vitamin A, sắc tố carotenoid còn là chất chống oxy hóa sinh học để bảo vệ tế bào, buồng trứng, làm tăng năng suất và sản lượng trứng. Tuy nhiên nguồn nguyên liệu chủ yếu trong thức ăn chăn nuôi như ngô, sắn, cám

gạo... hàm lượng carotenoid thấp chưa đáp ứng đủ nhu cầu. Do đó, gia cầm bị thiếu sắc tố vàng nên sức đề kháng yếu, dễ sinh bệnh, giảm tỉ lệ đẻ và chất lượng trứng kém (Nguyễn Thị Minh Nguyệt & cs., 2010). Vì vậy, một trong những giải pháp để bù đắp sự thiếu hụt carotenoid trong thức ăn là sử dụng các chủng nấm men đỏ như *Rhodotorula* sp. có khả năng sản xuất carotenoid, trong đó có beta-carotene đã được

nhiều nhà khoa học quan tâm (Eugennia & cs., 1997; Somashekar & Joseph, 2000; Pârvu & Paraschivescu, 2014).

Nấm men *Rhodotorula* (Rh) sp. còn được gọi là nấm men sinh sắc tố carotenoid, là một trong rất ít các chi nấm men có khả năng tổng hợp tích lũy một lượng lớn các sắc tố carotenoid, trong đó chủ yếu là  $\beta$ -carotene, torulene, torularhodin. Sinh khối nấm men *Rhodotorula* sp. được ghi nhận là hàm lượng axit béo không no có giá trị cao, đặc biệt là axit folic và axit linoleic chiếm chủ yếu. Bên cạnh đó, việc dùng sinh khối nấm men *Rhodotorula* bổ sung trong thức ăn cho gia súc, gia cầm đã được báo cáo là an toàn và không độc tính (Eugennia & cs. 1997; Pârvu & Paraschivescu, 2014). Vì vậy, việc khai thác sắc tố carotenoid có trong tế bào nấm men *Rhodotorula* sp. để bổ sung vào thực phẩm cho người và vật nuôi là hướng nghiên cứu đầy tiềm năng (Somashekar & Joseph, 2000). Xuất phát từ nhu cầu thực tiễn, việc nghiên cứu chọn lọc và xây dựng qui trình sản xuất sinh khối từ các chủng *Rhodotorula* sp. có khả năng sản sinh hàm lượng carotenoid lớn và có khả năng tổng hợp sinh khối cao trên môi trường rắn là cần thiết để có thể tận dụng được các nguồn thức ăn chăn nuôi sẵn có, rẻ tiền và cải thiện hàm lượng carotene trong trứng, nâng cao chất lượng trứng gà. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm chọn lọc các chủng nấm men *Rhodotorula* sp. có khả năng sinh carotenoid cao nhất và đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố ngoại cảnh đến sinh trưởng và sinh sắc tố carotenoid của các chủng nấm men được chọn lọc.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Tổng số 08 chủng nấm men đỏ được phân lập từ mẫu cây ngô ủ chua, mẫu cám gạo lên men và mẫu cỏ voi bao gồm: *Rhodotorula* sp. SR1, SR2, SR3, SR4, SR5, SR6, SR7, SR8. Các chủng nấm men được bảo quản giữ giống tại Bộ môn Dinh dưỡng - Thức ăn, Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Sử dụng 2 môi trường nuôi cấy. (1) Môi trường Hansen dịch thể: glucose (50 g/l),

peptone (10 g/l),  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (5 g/l),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (3 g/l),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (2-5 g/l), thạch (20 g/l), nước cất (1.000ml). (2) Môi trường thạch malt (YM) dịch thể gồm: glucose (10 g/l), peptone (5 g/l), yeast extract (3 g/l), malt extract (3 g/l); nước cất (1.000ml). Môi trường được hấp tiệt trùng ở  $121^\circ\text{C}/15$  phút và điều chỉnh pH  $5,5 \pm 0,3$  ở nhiệt độ  $25^\circ\text{C}$ .

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Đánh giá khả năng tích lũy sinh khối và sinh sắc tố carotenoid

Tiến hành xác định sinh khối và phân tích hàm lượng carotenoid của sinh khối khô của các chủng nấm men đỏ sau khi được nuôi cấy trên môi trường Hansen dịch thể ở  $30^\circ\text{C}$  trong 96 giờ.

Hàm lượng carotenoid tổng số được chiết tách bằng dung môi chloroform-methanol với tỷ lệ 2:1 và định lượng bằng phương pháp HPLC (Võ Xuân Hoài & cs., 2014). Các mẫu thí nghiệm được phân tích tại Phòng Thí nghiệm Bộ môn Dinh dưỡng - Thức ăn, Khoa Chăn nuôi.

Sinh khối khô (g/l) được xác định bằng ly tâm dung dịch nuôi cấy nấm men đỏ 4.000 vòng/phút trong 5 phút, để thu sinh khối. Sinh khối được sấy ở  $105^\circ\text{C}/2$  giờ cho đến khối lượng không đổi (Li & Mira, 2010).

Nghiên cứu lựa chọn tỉ lệ tiếp giống 1%, 2%, 3% , 4% và 5%. Các chủng giống được chọn lọc sẽ được nuôi cấy trên 02 môi trường là Hansen và YM dịch thể ở  $30^\circ\text{C}/72$  giờ. Đánh giá số lượng tế bào sau khi nuôi cấy.

#### 2.2.2. Đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố đến sinh trưởng và tích lũy sắc tố ở nấm men đỏ

Nhiệt độ nuôi cấy: Nuôi cấy các chủng nấm men đỏ được chọn lọc trên môi trường YM dịch thể với tỷ lệ tiếp giống 2% (tỷ lệ đã được lựa chọn từ nội dung 2.2.1). Đánh giá khả năng sinh trưởng và tích lũy sinh khối của các chủng nấm men đỏ ở các mức nhiệt độ nuôi cấy khác nhau: 20, 25, 30 và  $35^\circ\text{C}/72$  giờ. Đếm số lượng tế bào sử dụng buồng đếm Neubauer; Thu sinh khối sau 72 giờ nuôi cấy và xác định hàm lượng carotenoid tổng số.

Giá trị pH môi trường: Môi trường YM dịch thể được điều chỉnh pH ở các mức khác nhau từ 3-6 (cách nhau 0,5 đơn vị). Tỷ lệ tiếp giống 2%. Nuôi cấy ở 30°C/72 giờ. Đếm số lượng tế bào; Thu sinh khối sau 72 giờ nuôi cấy và xác định hàm lượng carotenoid tổng số.

Nguồn đường: Sử dụng môi trường Hansen dịch thể, có bổ sung các loại đường khác nhau gồm: đường glucose và rỉ mật đường, với hàm lượng đường dao động từ 30-50 g/l (cách nhau 10 đơn vị). Nuôi cấy giống nấm men đỏ với tỷ lệ tiếp giống 2% ở 30°C/72 giờ. Đánh giá tốc độ sinh trưởng qua số lượng tế bào và sinh khối thu được.

Nguồn N: Sử dụng môi trường Hansen dịch thể, có bổ sung nguồn N khác nhau như peptone (5-10 g/l) và (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (5-10 g/l) (cách nhau 10 đơn vị). Nuôi cấy giống nấm men đỏ với tỷ lệ tiếp giống 2% ở 30°C/72 giờ. Đánh giá tốc độ sinh trưởng qua số lượng tế bào và sinh khối thu được.

Nguồn cơ chất: Các cơ chất sử dụng trong nghiên cứu gồm: cám gạo, bột ngô, bột sắn và bột gạo. Các cơ chất được được hấp tiệt trùng ở 121°C/15 phút, để nguội và cấy giống nấm men đỏ với tỷ lệ tiếp giống 2%. Nuôi cấy ở nhiệt độ phòng (25-30°C) trong 5-6 ngày. Đánh giá kết quả: Lấy mẫu, xác định hàm lượng carotenoid của sinh khối thu được.

Trong nghiên cứu này, các thí nghiệm về khả năng tích lũy sinh khối, sinh sắc tố carotenoid và ảnh hưởng của một số yếu tố đến sinh trưởng và tích lũy sắc tố ở nấm men đỏ được lặp lại 3 lần.

### 2.3. Xử lý số liệu

Số liệu thu thập được thực hiện với chương

trình Microsoft Excel (2010). Các đánh giá thống kê được thực hiện bằng phần mềm thống kê Minitab 16. Sử dụng phân tích Anova một nhân tố và phép thử Tukey để đánh giá sự sai khác các giá trị trung bình giữa các chủng nấm men đỏ với mức ý nghĩa  $P < 0,05$ .

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Khả năng tích lũy sinh khối và hàm lượng carotenoid của các chủng nấm men đỏ

Kết quả đánh giá khả năng tích lũy sinh khối tế bào của các chủng nấm men đỏ trong điều kiện nhiệt độ 30°C/72 giờ được thể hiện ở bảng 1.

Các chủng nấm men được nuôi cấy trên môi trường Hansen dịch thể ở 30°C. Sinh khối thu được sau 72 giờ nuôi cấy. Kết quả cho thấy hai chủng SR6 và SR7 là hai chủng có khả năng tích lũy sinh khối cao nhất. Sau khi sấy khô, sinh khối thu được tương ứng là 0,66 và 0,68 mg/ml. Hai chủng tích lũy sinh khối thấp nhất là SR4 và SR8. Hàm lượng carotenoid tổng số thu được đạt cao nhất ở 02 chủng SR7 và SR6, tương ứng với hàm lượng sinh khối cao nhất của hai chủng này. Khả năng tích lũy sinh khối của nấm men đỏ phụ thuộc vào tốc độ sinh trưởng và số lượng tế bào thu được. Các chủng có tốc độ sinh trưởng nhanh, số lượng tế bào tạo thành lớn thì khối lượng sinh khối tích lũy cũng lớn. Theo Banzatto & cs. (2013), sau 24 giờ nuôi cấy, sinh trưởng của nấm men đỏ đã đạt đến pha logarithm và duy trì ổn định đến 72 giờ. Ở giai đoạn sinh trưởng này khả năng sản sinh carotenoid là cao nhất do quá trình trao đổi chất ở giai đoạn này diễn ra mạnh mẽ nhất để tổng hợp sắc tố (Costa & cs., 1987).

**Bảng 1. Khả năng tích lũy sinh khối tế bào của các chủng nấm men đỏ**

| Chỉ tiêu                        | Chủng nấm men đỏ <i>Rhodotorula</i> |                      |                      |                   |                     |                    |                   |                    | SEM   | P      |
|---------------------------------|-------------------------------------|----------------------|----------------------|-------------------|---------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------|--------|
|                                 | SR1                                 | SR2                  | SR3                  | SR4               | SR5                 | SR6                | SR7               | SR8                |       |        |
| Sinh khối khô (mg/ml)           | 0,59 <sup>abc</sup>                 | 0,56 <sup>bode</sup> | 0,61 <sup>abcd</sup> | 0,44 <sup>e</sup> | 0,52 <sup>cde</sup> | 0,66 <sup>ab</sup> | 0,68 <sup>a</sup> | 0,46 <sup>de</sup> | 0,016 | <0,001 |
| Hàm lượng carotenoid (mg/g VCK) | 0,52 <sup>cd</sup>                  | 0,58 <sup>bc</sup>   | 0,64 <sup>b</sup>    | 0,42 <sup>d</sup> | 0,53 <sup>bcd</sup> | 0,76 <sup>a</sup>  | 0,81 <sup>a</sup> | 0,48 <sup>cd</sup> | 0,020 | 0,001  |

Ghi chú: Các giá trị trung bình mang chữ cái khác nhau trong cùng một hàng biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ );  $n = 3$  đối với từng công thức thí nghiệm.



Hình 1. Nuôi cấy thu sinh khối nấm men đỏ

Hai chủng SR7 và SR6 có khả năng sinh sắc tố tốt nhất đã lựa chọn để tiến hành thí nghiệm tiếp theo. SR6 và SR7 được định danh theo phương pháp sinh học phân tử tại Viện Công nghiệp thực phẩm đều thuộc về loài *Rhodotorula glutinis* (genbank KT282390.1, độ tương đồng 98,82% và 98,84%).

### 3.2. Tỷ lệ tiếp giống và môi trường nuôi cấy thích hợp

Hai chủng SR7 và SR6 được nuôi trên 02 môi trường Hansen và YM dịch thể với các mức tiếp giống khác nhau (1%, 2%, 3%, 4% và 5%). Số lượng tế bào nấm men đỏ đạt cao hơn ở môi trường Hansen dịch thể so với môi trường YM (Bảng 2). Kết quả này có thể là do môi trường Hansen ngoài nguồn C và N thì còn được bổ sung các chất khoáng như  $MgSO_4$ ,  $KH_2PO_4$  trong khi đó thành phần của môi trường YM chỉ có nguồn C và N (đường, cao mạch nha và peptone). Môi trường nghèo khoáng chất đã ảnh hưởng tới sinh trưởng của nấm men (Banzatto & cs., 2013).

Kết quả ở bảng 2 cũng cho thấy, số lượng tế bào thu được tăng dần khi tăng tỷ lệ tiếp giống. Số lượng tế bào thu được đạt cao nhất ở mức tiếp giống 5%. Tuy nhiên, nếu sử dụng tỷ lệ tiếp giống cao từ 4-5% sẽ ảnh hưởng tới chi phí sản xuất. Vì vậy, chúng tôi lựa chọn mức tiếp giống là 2% để sử dụng cho việc sản xuất sinh khối nấm men đỏ bởi vì ở mức tiếp giống này tế bào tăng rõ rệt so với mức tiếp giống 1% nhưng lại không có sai khác rõ rệt so với mức 3%. Như vậy, môi trường thích hợp cho sản xuất sinh khối nấm men đỏ là Hansen dịch thể với tỷ lệ tiếp giống là 2% với mật độ tế bào đạt tối thiểu  $10^8$ /ml.

### 3.3. Ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng sinh trưởng và sinh sắc tố ở nấm men đỏ

#### 3.3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Hai chủng nấm men đỏ (SR6 và SR7) được chọn lọc từ nội dung 1 được nuôi cấy trên môi trường Hansen dịch thể với mức tiếp giống là 2% ở các mức nhiệt độ, pH khác nhau (Bảng 3 và 4).

Sau 72h nuôi cấy, cả hai chủng nấm men đỏ đều có số lượng tế bào và hàm lượng carotenoid đạt cao nhất ở mức nuôi cấy  $30^\circ C$  (Bảng 3). Tuy nhiên, số lượng tế bào thu được khi nuôi cấy ở mức  $25^\circ$  và  $30^\circ C$  sai khác không có ý nghĩa thống kê ( $P > 0,05$ ). Vì vậy, mức nhiệt độ  $25^\circ C$  cũng cho thấy thích hợp với nuôi cấy nấm men đỏ. Trong khi đó, cả hai mức nhiệt độ 20 và  $35^\circ C$ , số lượng tế bào đều đạt thấp nhất. Như vậy, từ kết quả trên mức nhiệt độ nuôi cấy thích hợp cho nấm men đỏ là từ  $25-30^\circ C$ . Số lượng tế bào và hàm lượng carotenoid thu được ở chủng SR7 cao hơn so với SR6.

#### 3.3.2. Ảnh hưởng của pH

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các mức pH đến sinh trưởng và sinh sắc tố carotenoid của nấm men đỏ được trình bày ở bảng 4. Sau 72 giờ nuôi cấy, số lượng tế bào nấm men đỏ và hàm lượng carotenoid đạt cao nhất khi nuôi cấy trên môi trường điều chỉnh pH ở mức 5,5. Giá trị pH thích hợp với từng loài *Rhodotorula* cụ thể còn phụ thuộc rất nhiều vào thành phần môi trường và nhiệt độ nuôi cấy.

#### 3.3.3. Ảnh hưởng của hàm lượng đường

Kết quả thu được ở bảng 5 cho thấy, số lượng tế bào nấm men đỏ và hàm lượng

carotenoid thu được ở môi trường nuôi cấy sử dụng đường glucose cao hơn rõ rệt so với môi trường sử dụng rỉ mật đường. Hàm lượng đường sử dụng cũng có ảnh hưởng rõ rệt tới số lượng tế

bào cũng như khả năng sinh sắc tố của hai chủng nấm men đỏ. Với kết quả này, đường glucose được lựa chọn sử dụng trong môi trường với mức bổ sung 30 g/l.

**Bảng 2. Số lượng tế bào ở các mức tiếp giống (triệu/ml)**

| Môi trường nuôi cấy | Mức tiếp giống     |                    |                    |                    |                    | SEM  | P value |
|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------|---------|
|                     | 1%                 | 2%                 | 3%                 | 4%                 | 5%                 |      |         |
| SR6                 |                    |                    |                    |                    |                    |      |         |
| Hansen dịch thể     | 74,2 <sup>d</sup>  | 78,6 <sup>c</sup>  | 78,8 <sup>c</sup>  | 82,5 <sup>b</sup>  | 88,6 <sup>a</sup>  | 1,49 | 0,001   |
| YM dịch thể         | 73,6 <sup>b</sup>  | 77,1 <sup>ab</sup> | 77,6 <sup>ab</sup> | 78,8 <sup>ab</sup> | 84,2 <sup>a</sup>  | 1,73 | 0,019   |
| SR7                 |                    |                    |                    |                    |                    |      |         |
| Hansen dịch thể     | 115,2 <sup>c</sup> | 133,6 <sup>b</sup> | 136,8 <sup>b</sup> | 143,1 <sup>a</sup> | 145,8 <sup>a</sup> | 2,93 | <0,001  |
| YM dịch thể         | 111,4 <sup>c</sup> | 131,2 <sup>b</sup> | 131,5 <sup>b</sup> | 138,4 <sup>a</sup> | 140,2 <sup>a</sup> | 1,38 | <0,001  |

Ghi chú: Các giá trị trung bình mang chữ cái khác nhau trong cùng một hàng biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ );  $n = 3$  đối với từng công thức thí nghiệm.

**Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến sinh trưởng và sinh sắc tố carotenoid của nấm men đỏ**

| Chỉ tiêu                        | Nhiệt độ nuôi cấy (°C) |                    |                    |                    | SEM    | P      |
|---------------------------------|------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------|--------|
|                                 | 20                     | 25                 | 30                 | 35                 |        |        |
| SR6                             |                        |                    |                    |                    |        |        |
| Số lượng tế bào (triệu/ml)      | 64,6 <sup>b</sup>      | 88,4 <sup>a</sup>  | 91,6 <sup>a</sup>  | 63,8 <sup>b</sup>  | 1,55   | <0,001 |
| Hàm lượng carotenoid (mg/g VCK) | 0,38 <sup>b</sup>      | 0,58 <sup>a</sup>  | 0,68 <sup>a</sup>  | 0,41 <sup>b</sup>  | 0,002  | <0,001 |
| SR7                             |                        |                    |                    |                    |        |        |
| Số lượng tế bào (triệu/ml)      | 68,2 <sup>b</sup>      | 128,5 <sup>a</sup> | 132,4 <sup>a</sup> | 68,4 <sup>b</sup>  | 0,96   | <0,001 |
| Hàm lượng carotenoid (mg/g VCK) | 0,41 <sup>e</sup>      | 0,74 <sup>ab</sup> | 0,83 <sup>a</sup>  | 0,47 <sup>de</sup> | 0,0011 | <0,001 |

Ghi chú: Các giá trị trung bình mang chữ cái khác nhau trong cùng một hàng biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ );  $n = 3$  đối với từng công thức thí nghiệm.

**Bảng 4. Ảnh hưởng của pH môi trường nuôi cấy đến sinh trưởng và sinh sắc tố carotenoid của nấm men đỏ**

| Chỉ tiêu                        | pH                |                   |                   |                    | SEM   | P-value |
|---------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------|---------|
|                                 | 4,0               | 4,5               | 5,0               | 5,5                |       |         |
| SR6                             |                   |                   |                   |                    |       |         |
| Số lượng TB (triệu/ml)          | 34,4 <sup>d</sup> | 68,2 <sup>c</sup> | 72,8 <sup>b</sup> | 88,2 <sup>a</sup>  | 0,657 | <0,001  |
| Hàm lượng carotenoid (mg/g VCK) | 0,12 <sup>c</sup> | 0,42 <sup>b</sup> | 0,48 <sup>b</sup> | 0,58 <sup>a</sup>  | 0,001 | <0,001  |
| SR7                             |                   |                   |                   |                    |       |         |
| Số lượng TB (triệu/ml)          | 42,2 <sup>d</sup> | 70,6 <sup>c</sup> | 87,5 <sup>b</sup> | 122,5 <sup>a</sup> | 1,06  | <0,001  |
| Hàm lượng carotenoid (mg/g VCK) | 0,18 <sup>c</sup> | 0,45 <sup>b</sup> | 0,56 <sup>b</sup> | 0,73 <sup>a</sup>  | 0,003 | <0,001  |

Ghi chú: Các giá trị trung bình mang chữ cái khác nhau trong cùng một hàng biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ );  $n = 3$  đối với từng công thức thí nghiệm.

Banzatto & cs. (2013) cho biết *Rhodotorula rubra* có năng suất sản xuất carotenoid cao khi nuôi cấy trên môi trường nước mía. Các caroteinoid thu được chủ yếu là torulene, torularhodin và  $\beta$ -carotene. Tuy nhiên, rỉ mật đường được sử dụng phổ biến hơn trong sản xuất carotenoid từ các loài *Rhodotorula* do rỉ mật đường giàu khoáng chất, vitamin và rẻ tiền, dễ kiếm (Bhosale & Gadre, 2001; Aksu & Eren, 2007).

Panduro & cs. (2013) cho biết, hàm lượng đường tăng thì tốc độ sinh trưởng và khả năng tích lũy sinh khối sẽ giảm. Theo các tác giả, lượng sinh khối tích lũy cao nhất của nấm men đỏ *Rhodotorulaglutinis* là 46,1 g/l ở môi trường có 20% đường glucose và sử dụng  $\text{NaNO}_3$  làm nguồn cung cấp N.

### 3.3.4. Ảnh hưởng của hàm lượng N

Đối với nguồn N sử dụng, số lượng tế bào

nấm men đỏ thu được sau 72 giờ nuôi cấy ở môi trường sử dụng peptone cao hơn rõ rệt so với môi trường sử dụng  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (Bảng 6). Với kết quả thu được, hàm lượng peptone bổ sung là 10 g/l được lựa chọn cho môi trường nuôi cấy nấm men đỏ.

Nguồn N có ảnh hưởng đến khả năng tổng hợp carotenoid của *Rhodotorula* và tùy thuộc vào khả năng sử dụng các nguồn N của từng loài. Song cũng có quan điểm cho rằng khả năng tổng hợp carotenoid của vi sinh vật không chịu ảnh hưởng của nguồn N mà phụ thuộc chủ yếu vào đặc tính di truyền của chủng giống dùng trong nghiên cứu (Somashekar & Joseph, 2000).

### 3.3.5. Ảnh hưởng của cơ chất

Nguồn carbon ảnh hưởng rất lớn đến sự phát triển, khả năng tổng hợp sắc tố và thành phần sắc tố và các axit béo của nấm men *Rhodotorula*.

**Bảng 5. Ảnh hưởng của đường đến sinh trưởng của các chủng nấm men đỏ**

| Chỉ tiêu                       | Glucose            |                    | SEM   | P     | Rỉ mật đường      |                   | SEM   | P      |
|--------------------------------|--------------------|--------------------|-------|-------|-------------------|-------------------|-------|--------|
|                                | 30 g/l             | 50 g/l             |       |       | 30 g/l            | 50 g/l            |       |        |
| SR6                            |                    |                    |       |       |                   |                   |       |        |
| Số lượng tế bào (triệu/ml)     | 87,4 <sup>a</sup>  | 82,5 <sup>b</sup>  | 0,45  | 0,001 | 77,4 <sup>a</sup> | 71,2 <sup>b</sup> | 0,259 | <0,001 |
| Hàm lượng carotenoid (mg/gVCK) | 0,56 <sup>a</sup>  | 0,51 <sup>a</sup>  | 0,024 | 0,082 | 0,48 <sup>a</sup> | 0,41 <sup>b</sup> | 0,01  | 0,001  |
| SR7                            |                    |                    |       |       |                   |                   |       |        |
| Số lượng tế bào (triệu/ml)     | 116,8 <sup>a</sup> | 106,1 <sup>b</sup> | 1,49  | 0,014 | 88,8 <sup>a</sup> | 82,5 <sup>b</sup> | 1,04  | 0,002  |
| Hàm lượng carotenoid (mg/gVCK) | 0,68 <sup>a</sup>  | 0,64 <sup>b</sup>  | 0,017 | 0,04  | 0,58 <sup>a</sup> | 0,52 <sup>b</sup> | 0,016 | 0,01   |

Ghi chú: Các giá trị trung bình mang chữ cái khác nhau trong cùng một hàng và cùng cơ chất sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ );  $n = 3$  đối với từng công thức thí nghiệm.

**Bảng 6. Ảnh hưởng của N đến sinh trưởng của các chủng nấm men đỏ**

| Chỉ tiêu                       | Peptone            |                    | SEM   | P     | (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> |                   | SEM   | P    |
|--------------------------------|--------------------|--------------------|-------|-------|-------------------------------------------------|-------------------|-------|------|
|                                | 5 g/l              | 10 g/l             |       |       | 5 g/l                                           | 10 g/l            |       |      |
| SR6                            |                    |                    |       |       |                                                 |                   |       |      |
| Số lượng tế bào (triệu/ml)     | 88,5 <sup>a</sup>  | 92,2 <sup>a</sup>  | 2,33  | 0,095 | 72,5 <sup>b</sup>                               | 81,4 <sup>a</sup> | 1,98  | 0,04 |
| Hàm lượng carotenoid (mg/gVCK) | 0,56 <sup>b</sup>  | 0,64 <sup>a</sup>  | 0,029 | 0,034 | 0,43 <sup>b</sup>                               | 0,51 <sup>a</sup> | 0,022 | 0,01 |
| SR7                            |                    |                    |       |       |                                                 |                   |       |      |
| Số lượng tế bào (triệu/ml)     | 118,4 <sup>a</sup> | 122,2 <sup>b</sup> | 0,94  | 0,005 | 88,6                                            | 90,2              | 3,36  | 0,59 |
| Hàm lượng carotenoid (mg/gVCK) | 0,69 <sup>b</sup>  | 0,75 <sup>a</sup>  | 0,014 | 0,011 | 0,58 <sup>b</sup>                               | 0,62 <sup>a</sup> | 0,014 | 0,02 |

Ghi chú: Các giá trị trung bình mang chữ cái khác nhau trong cùng một hàng và cùng cơ chất sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ );  $n = 3$  đối với từng công thức thí nghiệm.

**Bảng 7. Hàm lượng carotenoid thu được trên các cơ chất khác nhau (mg/g VCK)**

| Chủng nấm men đỏ | Cám gạo           | Bột ngô           | Bột sắn           | Bột gạo            | SEM   | P      |
|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------|--------|
| SR6              | 0,68 <sup>a</sup> | 0,74 <sup>a</sup> | 0,48 <sup>b</sup> | 0,73 <sup>a</sup>  | 0,005 | <0,001 |
| SR7              | 0,71 <sup>b</sup> | 0,78 <sup>a</sup> | 0,51 <sup>c</sup> | 0,75 <sup>ab</sup> | 0,013 | <0,001 |

Ghi chú: Các giá trị trung bình mang chữ cái khác nhau trong cùng một hàng biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ );  $n = 3$  đối với từng công thức thí nghiệm.



**Hình 2. Bột gạo lên men với nấm men đỏ**



**Hình 3. Bột ngô lên men với nấm men đỏ**

Kết quả thu được cho thấy, hàm lượng carotenoid tổng số đạt cao nhất khi nuôi cấy hai chủng nấm men đỏ trên cơ chất là bột ngô, bột gạo. Cơ chất bột sắn, hàm lượng carotenoid thu được là thấp nhất, không phù hợp để sử dụng nuôi cấy nấm men đỏ. Hàm lượng carotenoid thu được ở cám gạo thấp hơn so với bột ngô và bột gạo ở chủng SR6, nhưng lại không có sự sai khác thống kê với chủng SR7. Từ kết quả ở bảng 5, bột ngô và bột gạo là hai loại cơ chất được lựa chọn để sử dụng sản xuất sinh khối nấm men đỏ.

#### 4. KẾT LUẬN

Hai chủng nấm men đỏ *Rhodotorula* SR6 và SR7 có khả năng tích lũy sinh khối và sinh sắc tố carotenoid cao nhất. Sinh trưởng và khả năng sản sinh sắc tố carotenoid của hai chủng nấm men đỏ được chọn lọc tốt nhất khi được nuôi cấy trên môi trường Hansen dịch thể ở nhiệt độ 30°C, pH môi trường là 5,5. Nguồn N và C thích hợp nhất được lựa chọn sử dụng cho môi trường nuôi cấy nấm men đỏ là peptone và glucose. Cơ chất tinh bột được lựa chọn cho quá trình lên men rắn là bột ngô và bột gạo. Tỷ lệ tiếp giống được lựa chọn là 2% với mật độ tế bào đạt tối thiểu  $10^8$ /ml.

#### LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đã hỗ trợ kinh phí trong khuôn khổ dự án World Bank “Nghiên cứu sản xuất chế phẩm sinh học từ nấm men đỏ *Rhodotorula* và rong mơ phục vụ chăn nuôi gà để nhằm nâng cao chất lượng dinh dưỡng của trứng gà” để chúng tôi có thể hoàn thành nghiên cứu này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Aksu Z. & Eren A.T. (2007). Production of carotenoids by the isolated yeast of *Rhodotorula glutinis*. *Biochemical Engineering Journal*. 35: 107-113. doi:10.1016/j.bej.2007.01.004.
- Banzatto D., Lidyane Aline de Freitas, Márcia Justino Rossini Mutton (2013). Carotenoid production by *Rhodotorula rubra* cultivated in sugarcane juice, molasses, and syrup. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas. 33 (Supl. 1): 14-18.
- Bhosale P. & R.V. Gadre (2001).  $\beta$ -Carotene production in sugarcane molasses by a *Rhodotorula glutinis* mutant. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 26: 327-332.
- Costa I., Martelli H.L., de Silva I.M. & Pomeroy D. (1987). Production of  $\beta$ -carotene by a *Rhodotorula* strain. *Biotechnology Letter*. 9: 373-375.
- Eugenia M., Talos D., Panaitescu M., Contrea A., Trif A., Caprita R., Bogdan G.H., Gravila C., Manu C.,

- Driha R., Coman M. & Marinovici A.V. (1997) Studies on metabolic role of *Rhodotorula rubra* 120 r carotenoid pigments, used as a fodder additive concentrate, in laying hens nutrition. Roum. Biotechnology Letter. 2: 55- 60.
- Li E. & Mira R.O. (2010). A rapid method for the determination of microbial biomass by dry weight using a moisture analyser with an infrared heating source and an analytical balance. Letters in Applied Microbiology. 50: 283-288.
- Nguyễn Thị Minh Nguyệt, Nguyễn Thị Tú Minh & Nguyễn Hữu Phúc (2010). Ảnh hưởng của tổng hàm lượng carotenoid trong thức ăn đến năng suất cho trứng của gà đẻ. Tạp chí Phân tích Hoá, Lý và Sinh học. 15(3): 68-74.
- Panduro L.M.R., Yolanda González García & Jesús Antonio Córdova Lópe (2013). Improving biomass production of *Rhodotorula glutinis* by nutrients modification of the culture medium. XVII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. 23-28 June, Cancun Mexico. IX-C18.
- Pârvu M. & Paraschivescu M.T. (2014). Feeding *Rhodotorula rubra* yeast in egg yolk pigmentation (II). Romanian Biotechnological Letters. 19(6): 9959-9963.
- Somashekar D. & Joseph R. (2000). Inverse relationship between carotenoid and lipid formation in *Rhodotorula gracilis* according to the C:N ratio of the growth medium. World Journal of Microbiology & Biotechnology. 16: 491-493.
- Võ Xuân Hoài, Phan Thanh Dũng & Trần Cát Đông (2014). Xây dựng qui trình định lượng carotenoid trong một số chế phẩm đang lưu hành trên thị trường. Tạp chí Nghiên cứu y học, Y học TP Hồ Chí Minh. 18(2): 182-187.