

ĐỊNH LOẠI VÀ NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG LÊN MEN RƯỢU CỦA CHỦNG NẤM MEN NM2 PHÂN LẬP TỪ QUẢ BÀN CHUA (*Sonneratia caseolaris*)

Đoàn Văn Thuộc*, Đinh Thị Hồng Duyên

Trường Đại học Sư phạm Hà Nội, *thuocdv@hnue.edu.vn

TÓM TẮT: Từ mẫu dịch quả bàn chua lên men tự nhiên, chúng tôi đã phân lập được 20 chủng nấm men. Chủng nấm men NM2 có khả năng lên men rượu mạnh đã được lựa chọn để nghiên cứu. Kết quả định loại bằng di truyền phân tử đã cho thấy, chủng NM2 thuộc loài *Candida tropicalis* và được đặt tên là *Candida tropicalis* NM2, đây là loài nấm men phân bố rất rộng trong môi trường biển thuộc vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Chủng nấm men *Candida tropicalis* NM2 lên men rượu tốt nhất trong điều kiện nhiệt độ là 30°C và pH ban đầu là 3,5. Ở các điều kiện này khi sử dụng dịch quả bàn chua để nguyên liệu lên men, chủng *C. tropicalis* NM2 có thể tạo ra lượng rượu là 14,9% (v/v) sau 14 ngày. Với khả năng tạo ra hàm lượng rượu cao, chủng nấm men *C. tropicalis* NM2 có nhiều tiềm năng để ứng dụng trong công nghiệp sản xuất rượu hoặc cồn sinh học.

Từ khóa: *Candida tropicalis*, *Sonneratia caseolaris*, lên men rượu

MỞ ĐẦU

Rừng ngập mặn là hệ sinh thái đặc biệt nằm ở giữa đất liền và biển ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Rừng ngập mặn chiếm diện tích khoảng 152.361 km² và phân bố tại 123 quốc gia và vùng lãnh thổ. Khoảng 33,5% (51.049 km²) trong tổng diện tích rừng ngập mặn các quốc gia của khu vực Đông Nam Á. Rừng ngập mặn là nguồn tài nguyên quý báu vùng ven biển nhiệt đới và cận nhiệt đới. Nó có giá trị lớn cả về mặt kinh tế và sinh thái [10]. Việt Nam có khoảng gần 200 ha rừng ngập mặn, trải dài từ Bắc đến Nam với các loài cây phổ biến như trang, đước, mắm, bần, sú và vẹt [11].

Bàn chua có tên khoa học là *Sonneratia caseolaris* một loài cây phổ biến ở vùng ngập mặn ven biển. Ở Việt Nam, cây bàn chua được trồng và mọc hoang ở các rừng ngập mặn ven biển từ Bắc vào Nam. Đây là một loài cây gỗ trung bình (có thể cao tới 15-20 m) có giá trị chủ yếu là phòng hộ và lấy gỗ. Bên cạnh đó, loài cây này cũng cho một lượng quả khá lớn (khoảng 200-350 quả/cây). Ở một số nước như Indonesia, Sri Lanka quả cây được sử dụng để làm nước giải khát. Tuy nhiên, các sản phẩm nước quả tươi nếu không dùng ngay trong 24 giờ thì sẽ diễn ra quá trình lên men rượu bởi nấm men có sẵn trong dịch quả [1]. Như vậy, có thể thấy trong dịch quả bàn chua có rất nhiều nấm men.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân lập nấm men từ dịch quả bàn chua đang lên men. Tuyển chọn chủng nấm men có khả năng lên men rượu mạnh, phân loại chủng và tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của một số điều kiện nuôi cấy đến khả năng lên men rượu. Những nghiên cứu cơ bản này sẽ là tiền đề trong việc định hướng ứng dụng chủng tuyển chọn vào sản xuất rượu hoặc cồn sinh học.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Quả bàn chua được thu hái tại rừng ngập mặn thuộc địa phận xã Diêm Điền, huyện Thái Thụy, tỉnh Thái Bình dùng để phân lập nấm men và chiết dịch quả để lên men.

Môi trường sử dụng

Môi trường phân lập, nuôi cấy và giữ giống nấm men (Môi trường Hansen) (MT1) (g/l): glucose, 50; KH₂PO₄, 3; MgSO₄.7H₂O, 2; peptone, 10; agar, 20; pH 5. Môi trường dùng để khảo sát khả năng lên men của các chủng nấm men (MT2) có thành phần (g/l): sucrose, 150; peptone, 5; KH₂PO₄, 3; (NH₄)₂SO₄, 10; pH 5.

Phân lập nấm men

Nghiên quả bàn chua và thu dịch quả, làm giàu vi sinh vật bằng cách để cho dịch quả lên men tự nhiên trong 3 ngày, sau đó pha loãng với các nồng độ từ 10⁻⁶-10⁻². Hút 100 µl dịch quả lên men cho vào các đĩa petri có chứa môi

trường Hansen đặc, dùng que trang dàn đều trên bề mặt đĩa petri. Sau 2 ngày nuôi ở nhiệt độ 30°C, quan sát và lựa chọn những khuẩn lạc nấm men to, riêng rẽ để cấy giữ giống vào các đĩa petri hoặc ống nghiệm chứa môi trường Hansen đặc.

Tuyển chọn chủng nấm men có khả năng lên men rượu mạnh

Nuôi các chủng nấm men phân lập được trong môi trường Hansen lỏng trong 1 ngày. Hút 15 ml dịch nuôi cấy và cho vào bình Smith có chứa 135 ml môi trường lên men. Cân khối lượng bình lên men (m_0) sau đó giữ trong tủ ổn nhiệt ở 30 °C trong 5 ngày. Cân khối lượng bình sau 5 ngày lên men (m_1), dựa vào hiệu số m_0 - m_1 (lượng CO₂ thoát ra) để lựa chọn chủng nấm men có khả năng lên men rượu mạnh [6].

Mô tả đặc điểm hình thái và định danh chủng tuyển chọn nhờ giải trình tự gen

Quan sát và mô tả màu sắc và hình dạng khuẩn lạc của chủng tuyển chọn trên môi trường Hansen đặc sau 2 ngày nuôi cấy ở 30°C. Hình dạng và kích thước tế bào được quan sát và xác định trên kính hiển vi quang học và kính hiển vi điện tử (SEM).

Nuôi cấy chủng tuyển chọn trên môi trường Hansen lỏng trong 1 ngày ở 30 °C. Tách DNA tổng số bằng bộ kit ZR Fungal/Bacterial DNA MiniPrep™ (Hoa Kỳ). Khuếch đại đoạn DNA (Internal transcribed spacer - ITS) bằng phản ứng PCR sử dụng cặp mồi gồm mồi xuôi: ITS4 (5'-CCTCCGCTTATTGATATGC-3') và mồi ngược: ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAAC AAGG-3'). Chu trình nhiệt cho phản ứng: biến tính ở 95°C trong 3 phút; lặp lại 30 chu kỳ (95°C trong 1 phút, 55°C trong 30 giây và 72°C trong 1 phút); 72°C trong 10 phút và 4°C cho để bảo quản. Sản phẩm PCR sau đó được gửi sang công ty Bioneer (Hàn Quốc) để giải trình tự. Sử dụng phần mềm MEGA 6.06 để so sánh trình tự nucleotide và xây dựng cây phát sinh chủng loại của chủng nấm men tuyển chọn với các chủng nấm men có trên GenBank (NCBI).

Ảnh hưởng của pH và nhiệt độ đến sự sinh trưởng và lên men của chủng nấm men tuyển chọn

Ảnh hưởng của pH: Ảnh hưởng của pH ban

đầu đến sự sinh trưởng của chủng nấm men tuyển chọn được xác định bằng cách nuôi cấy chủng tuyển chọn trên môi trường Hansen lỏng ở các pH khác nhau, nhiệt độ 30°C. Sau 1 ngày, dựa vào mật độ quang ở bước sóng 600 nm (OD₆₀₀) để xác định pH phù hợp cho sinh trưởng. Ảnh hưởng của pH ban đầu đến khả năng lên men được xác định trên môi trường khảo sát lên men (MT2) ở các pH khác nhau, nhiệt độ 30°C. Sau 5 ngày lên men, dựa vào lượng khí CO₂ thoát ra để xác định pH phù hợp cho lên men.

Ảnh hưởng của nhiệt độ: Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng lên men của chủng tuyển chọn được xác định trên môi trường khảo sát lên men (MT2) ở các nhiệt độ khác nhau, pH 3,5. Sau 5 ngày lên men, dựa vào lượng khí CO₂ thoát ra để xác định nhiệt độ phù hợp cho lên men.

So sánh khả năng lên men của chủng tuyển chọn trên các môi trường lên men khác nhau

Để xác định môi trường thích hợp cho quá trình lên men, chúng tôi tiến hành thí nghiệm lên men ở các môi trường khác nhau: môi trường Hansen (MT1), môi trường khảo sát lên men (MT2), môi trường dịch quả ngâm (MT3), môi trường hỗn hợp gồm dịch quả ngâm và dịch quả tươi đun sôi theo tỷ lệ 1:1 (MT4). Cả 4 môi trường nghiên cứu đều được bổ sung thêm 220 g/l sucrose và 10% (v/v) giống nấm men. Sau 14 ngày lên men ở 30°C và pH 3,5, lấy mẫu và xác định hàm lượng rượu tạo ra, dựa vào đó xác định môi trường lên men phù hợp. Lượng rượu tạo ra được xác định theo phương pháp đã được mô tả bởi Lê Nguyễn Mai và nnk. (2006) [7].

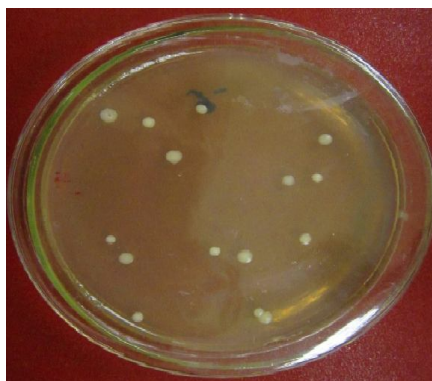
KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Phân lập và tuyển chọn chủng nấm men có khả năng lên men rượu mạnh

Chúng tôi đã tiến hành phân lập vi sinh vật từ dịch quả bần chua lên men tự nhiên, kết quả thu được 80 khuẩn lạc nấm men. Dựa vào hình thái, màu sắc và kích thước khuẩn lạc chúng tôi chọn ra 20 khuẩn lạc khác nhau (20 chủng nấm men) để tiến hành nghiên cứu khả năng lên men rượu. Sau 5 ngày lên men trong bình Smith, chúng tôi tiến hành kiểm tra và đánh giá khả năng lên men của 20 chủng này dựa vào sự giảm khối lượng bình lên men do CO₂ thoát ra.

Trong quá trình lên men, nấm men sử dụng đường trong dịch lên men để chuyển hóa thành rượu và CO₂. Lượng CO₂ tạo ra càng lớn chứng tỏ khả năng lên men của chủng đó càng tốt. Kết quả ở bảng 1 cho thấy, khả năng lên men của 20 chủng nấm men phân lập được rất khác nhau, điều này được thể hiện ở lượng CO₂ thoát có biên độ dao động rất lớn từ 1,7 g/l đến 31,7 g/l. Chủng có khả năng lên men mạnh nhất, giải phóng nhiều CO₂ nhất (31,7 g/l) là chủng NM2, trong khi đó, chủng NM53 có khả năng lên men kém nhất, giải phóng ít CO₂ nhất (1,7 g/l). Trong quá trình nghiên cứu, chúng tôi cũng nhận thấy, dịch lên men của NM2 có mùi thơm đặc trưng nhất. Vì vậy, chủng NM2 đã được lựa chọn để tiến hành nghiên cứu.

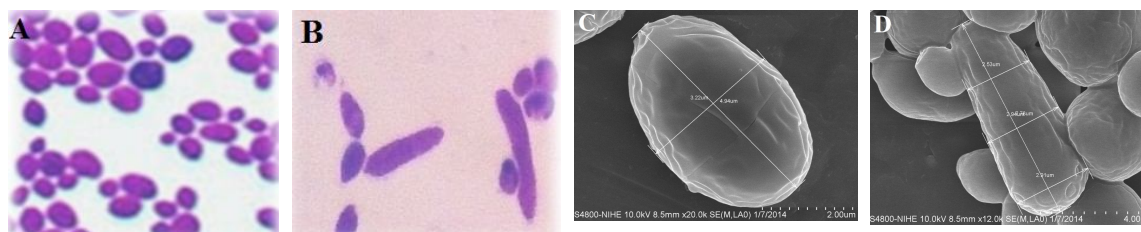
Đặc điểm hình thái khuẩn lạc, tế bào và định tên chủng NM2



Hình 1. Hình dạng và màu sắc của khuẩn lạc chủng NM2

Bảng 1. Khối lượng CO₂ thoát ra khi tiến hành lên men trong bình Smith

STT	Chủng	Khối lượng CO ₂ thoát ra (g/l)	STT	Chủng	Khối lượng CO ₂ thoát ra (g/l)
1	NM1	18,6±1,1	11	NM19	14,6±0,4
2	NM2	31,7±0,8	12	NM24	6±0,3
3	NM3	25,3±0,6	13	NM27	13,3±0,9
4	NM6	14,8±1,5	14	NM30	4,7±0,7
5	NM10	13±1,7	15	NM36	9,3±1,3
6	NM11	15±0,5	16	NM40	14,2±1,2
7	NM12	14±2	17	NM41	6,9±1,2
8	NM14	8,9±1	18	NM53	1,7 ±0,3
9	NM15	19,1±0,5	19	NM55	6,5±1,5
10	NM16	10,9±1,1	20	NM56	11,6±0,8



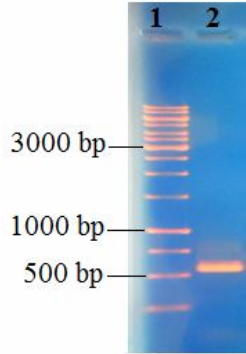
Hình 2. Hình dạng tế bào chủng nấm men NM2 khi (A, B) quan sát dưới kính hiển vi quang học (x 1000 lần) và (C,D) kính hiển vi điện tử quét (x 20 000 lần và 12 000 lần)

Nuôi cấy chủng NM2 trên môi trường Hansen đặc, sau 2 ngày nuôi cấy chúng tôi quan sát được những khuẩn lạc nấm men có hình tròn, màu trắng đục, bề mặt bóng, viền xung quanh nhẵn (hình 1). Khi làm tiêu bản tế bào nấm men và quan sát dưới kính hiển vi quang học (hình 2A và 2B) và kính hiển vi điện tử

(hình 2C và 2D), chúng tôi nhận thấy tế bào chủng NM2 có hình ovan hoặc hình trứng, kích thước trung bình dao động trong khoảng 1,5-4×4-7 μm, rất nhiều tế bào đang phân chia theo hình thức nảy chồi. Bên cạnh những tế bào có hình thái điển hình, còn có những tế bào dị hình có dạng dài (hình 2B và 2D). Trong quá trình

ngiên cứu, chúng tôi nhận thấy những tế bào dị hình này xuất hiện nhiều trong môi trường lên men (ít oxy phân tử), xuất hiện rất ít trong môi

trường có nhiều oxy phân tử. Như vậy, có thể nhận thấy những tế bào to lớn dị hình này có vai trò quan trọng trong quá trình lên men rượu.

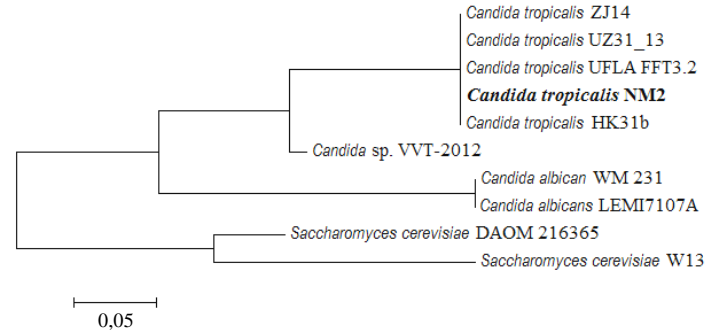


Hình 3. Sản phẩm nhân đoạn gen ITS của chủng NM2

1. Thang DNA chuẩn kích thước 1 kb; 2. Sản phẩm PCR của chủng M2

Chúng tôi đã tách chiết DNA tổng số của chủng NM2, sau đó tiến hành phản ứng PCR với trình tự mỗi ITS4 và ITS5. Kết quả PCR bằng điện di chỉ ra đã tách được một đoạn DNA có kích thước khoảng trên 500 bp (hình 3). So sánh trình tự thu được với trình tự nucleotide có trong ngân hàng gen thế giới chúng tôi nhận thấy có sự tương đồng với tỷ lệ trên 99% giữa trình tự gen của chủng NM2 với trình tự của các chủng thuộc loài *Candida tropicalis*. Chúng tôi đặt tên chủng nấm men này là *Candida tropicalis* NM2, cây phân loại được trình bày trong hình 4.

Loài *Candida tropicalis* đã được phân lập từ rất nhiều nguồn khác nhau như: vỏ, rễ và lá cây, từ bùn đất, từ phân, da và từ nước biển. Loài nấm men này chủ yếu phân bố ở môi trường biển vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới [5]. Những chủng nấm men thuộc loài *C. tropicalis* được phân lập từ môi trường biển đang được ứng dụng nhiều trong xử lý ô nhiễm môi trường [12], lên men sản xuất xylitol và ethanol sinh học [3, 8, 9]. Gần đây đã có 44 chủng nấm men thuộc loài *C. tropicalis* được phân lập từ môi trường biển của Trung Quốc, trong số này có rất nhiều chủng được phân lập từ các mẫu cây rừng ngập mặn, trong đó có cây bần chua [4]. Cũng giống như các chủng *C. tropicalis* phân lập được từ biển Trung Quốc, chủng *C. tropicalis* NM2 cũng có khả năng lên

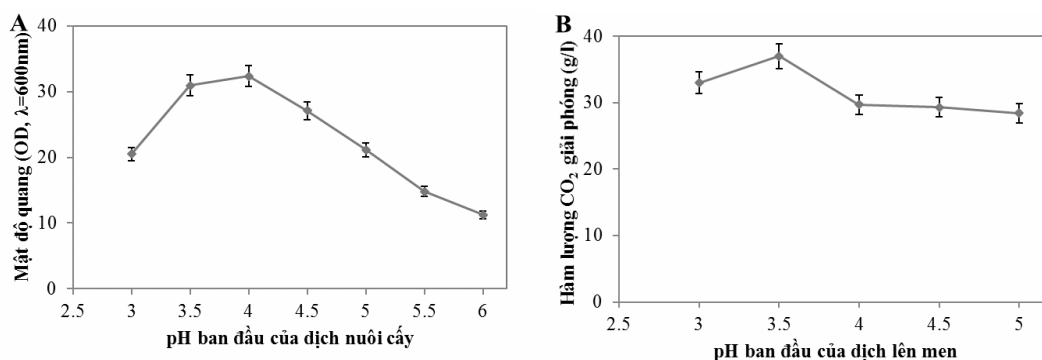


Hình 4. Cây phát sinh chủng loại của chủng *Candida tropicalis* NM2

men rất tốt các loại đường như glucose, mantose, sucrose hay galactose. Vùng biển Trung Quốc và Việt Nam đều có những điểm tương đồng về sự đa dạng sinh vật biển nói chung và vi sinh vật biển nói riêng.

Ảnh hưởng của pH đến sự sinh trưởng và lên men của chủng *Candida tropicalis* NM2

Khảo sát ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng của chủng *Candida tropicalis* NM2 được tiến hành trong các bình nón 100 ml chứa 25 ml môi trường Hansen lỏng với cùng lượng giống ban đầu. Sau 24 nuôi cấy ở 30°C, lấy mẫu và đo mật độ quang ở bước sóng 600 nm. Kết quả trong hình 5A cho thấy, số lượng tế bào nấm men tăng dần khi tăng pH ban đầu của môi trường từ 3,0 lên 3,5 và đạt giá trị cực đại tại pH 4,0, tại pH này mật độ quang đạt giá trị 32,3. Số lượng tế bào giảm mạnh khi tăng pH môi trường lên trên 4,0. Giá trị pH tối ưu cho sự sinh trưởng của chủng *C. tropicalis* NM2 (pH 4,0) thấp hơn so với pH tối ưu của chủng *C. tropicalis* BH-6 (pH 5,0) được phân lập từ rừng ngập mặn [13]. Sự khác biệt này là do môi trường sống của 2 chủng này có pH khác nhau: chủng *C. tropicalis* NM2 được phân lập từ dịch bần chua lên men nơi có pH khoảng 3,5. Trong khi đó, chủng *C. tropicalis* BH-6 được phân lập từ bùn đất rừng ngập mặn nơi có pH môi trường cao hơn (pH khoảng 7,0).



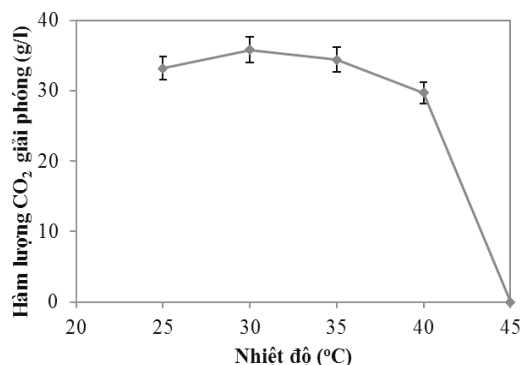
Hình 5. Ảnh hưởng của pH ban đầu đến (A) sự sinh trưởng và (B) khả năng lên men của chủng *Candida tropicalis* NM2

Chúng tôi cũng khảo sát ảnh hưởng của pH đến khả năng lên men của chủng *Candida tropicalis* NM2. Kết quả trong hình 5B cho thấy, ở pH 3,5 hàm lượng khí CO₂ tạo ra nhiều nhất (37 g/l), như vậy có thể kết luận pH 3,5 thích hợp nhất cho quá trình lên men của chủng *C. tropicalis* NM2.

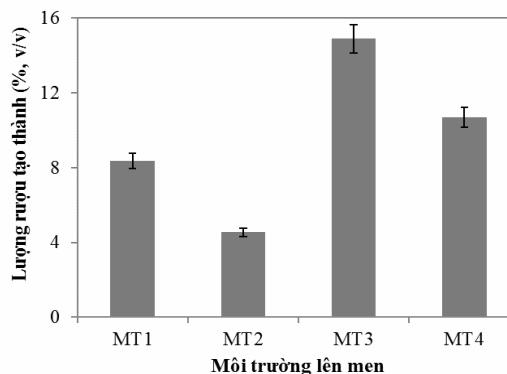
Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng lên men của chủng NM2

Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng lên men của chủng *Candida tropicalis* NM2 được tiến hành trong bình lên men Smith ở pH ban đầu tối ưu (pH 3,5). Hàm lượng CO₂ được giải phóng ở từng nhiệt độ thí nghiệm đã được xác

định và trình bày ở hình 6. Khi tăng nhiệt độ từ 25°C đến 30°C thì khối lượng CO₂ giải phóng cũng tăng. Ở nhiệt độ 30°C lượng CO₂ thoát ra khỏi bình lên men đạt cao nhất (35,8 g/l). Lượng CO₂ giảm dần khi tăng dần nhiệt độ lên 35 và 40°C, khi tiếp tục tăng nhiệt độ lên 45°C khả năng lên men của chủng NM2 ngừng lại (hình 6). Kết quả nghiên cứu thu được trong nghiên cứu này cũng tương tự như các kết quả thu được trong các nghiên cứu trước đó: loài nấm men *C. tropicalis* là loài ưa ấm, chúng sinh trưởng tốt nhất ở nhiệt độ từ 30-37°C [8, 13], khi tăng nhiệt độ lên khoảng 45-50°C loài này ngừng sinh trưởng [13].



Hình 6. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng lên men của chủng *Candida tropicalis* NM2



Hình 7. Hàm lượng rượu được tạo ra bởi chủng *Candida tropicalis* NM2 trên các môi trường lên men khác nhau

Khả năng lên men rượu của chủng *Candida tropicalis* NM2 trên các môi trường khác nhau

Chúng tôi đã tiến hành khảo sát khả năng

lên men của *Candida tropicalis* NM2 trong bốn loại môi trường khác nhau. Kết quả ở hình 7 cho thấy, hai môi trường lên men MT1 và MT2

cho hàm lượng rượu tạo ra thấp nhất. Đây là hai môi trường nhân tạo nên có thể các thành phần dinh dưỡng không thật phù hợp cho sự sinh trưởng và lên men của chủng *C. tropicalis* NM2. Hai môi trường này có thành phần gần tương tự nhau, điểm khác biệt cơ bản là thành phần pepton trong MT1 (10 g) gấp đôi so với MT2 (5 g), do sự khác biệt này mà hàm lượng rượu tạo ra trên MT1 (8,4%, v/v) cao hơn so với trên MT2 (4,6%, v/v). Ngược lại, môi trường chứa dịch quả bần chua (MT3 và MT4) là môi trường thuận lợi cho quá trình lên men. Dịch quả bần chua lên men chính là nguyên liệu đã được sử dụng để phân lập chủng nấm men *C. tropicalis* NM2. Môi trường dịch quả nhiều khả năng có chứa các chất thích hợp cho sự sinh trưởng phát triển và lên men của chủng *C. tropicalis* NM2, chính vì vậy, lượng rượu tạo ra trong môi trường này khá cao: 14,9% (v/v) trên MT3 và 10,7% (v/v) trên MT4. MT3 có chứa 100% dịch quả ngâm cho hiệu quả lên men tốt hơn so với MT4 có chứa 50% dịch quả ngâm và 50% dịch quả đun sôi.

Về lý thuyết, lượng rượu tối đa tạo ra tính theo lượng đường sucrose bổ sung sẽ là 14,97% (v/v), trong khi đó, lượng rượu đo được thực tế là 14,9% (v/v), như vậy hiệu suất lên men tính theo lượng sucrose bổ sung là 99,5%. Trong thực tế, khi không bổ sung sucrose, dịch quả bần chua vẫn có khả năng lên men rượu. Như vậy, các chủng nấm men đã sử dụng lượng carbohydrate có sẵn trong dịch quả để lên men. Trong thí nghiệm này, chủng nấm men *Candida tropicalis* NM2 đã sử dụng cả lượng sucrose bổ sung và lượng carbohydrate có sẵn để lên men nên hàm lượng rượu thu được khá cao (14,9%). Hàm lượng rượu mà chủng *C. tropicalis* NM2 tạo ra trong nghiên cứu này cao so với các chủng nấm men thông thường (tạo ra lượng rượu khoảng 10-11%, v/v). Tuy nhiên, kết quả này vẫn thấp hơn rất nhiều so với chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* L2226 (chủng này có thể lên men tạo ra lượng rượu khoảng 20,96%) [2]. Chủng *Saccharomyces cerevisiae* L2226 tạo ra lượng rượu cao bởi các điều kiện lên men của chủng này đã được tối ưu. Như vậy, khả năng tạo rượu của chủng *Candida tropicalis* NM2 có thể được nâng lên cao hơn nếu điều kiện lên men được nghiên cứu tối ưu.

KẾT LUẬN

Từ mẫu dịch quả bần chua lên men chúng tôi đã phân lập và tuyển chọn được chủng nấm men NM2. Chủng NM2 đã được định tên là *Candida tropicalis* NM2. Chủng *C. tropicalis* NM2 lên men rượu tốt nhất trong môi trường dịch quả ngâm ở pH 3,5 và nhiệt độ 30°C, hàm lượng rượu cực đại mà chủng này có thể tạo ra là 14,9% (v/v) sau 14 ngày lên men. Với khả năng lên men rượu mạnh, chủng *C. tropicalis* NM2 có nhiều tiềm năng ứng dụng trong công nghiệp sản xuất rượu hoặc cồn sinh học.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Bảo tồn thiên nhiên thế giới (International Union for Conservation of Nature, IUCN Project ref.: 77522-018; T7: MC110; T9: MFF200).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Baba S., Chan H. T., Aksornkoae S., 2013. Useful products from mangrove and other coastal plants. ISME Mangrove Educational Book Series, 3: 45-47.
2. Buescher W. A., Siler C. E., Morris J. R., Threlfall R. T., Main G. L., Cone G. C., 2001. High alcohol wine production from grape juice concentrates. Am. J. Enol. Vitic., 52: 4.
3. Cheng K. K., Zhang J. A., Ling H. Z., Ping W. X., Wei H., Ge J. P., Xu J. M., 2009. Optimization of pH and acetic acid concentration for bioconversion of hemicellulose from corncobs to xylitol by *Candida tropicalis*. Biochem. Eng. J., 43(2): 203-207.
4. Kuiran Y., Ying Z., Zhenming C., 2010. Distribution and diversity of *Candida tropicalis* strains in different marine environments. J. Ocean. Univ. China, 9(2): 139-144.
5. Kurtman C. P., Fell J. W., 2000. The Yeast-A taxonomic Study. Fourth Revised and enlarged edn. Elsevier, Amsterdam, Lausanne, New York, Oxford, Shannon, Singapore, Tokyo. 77-947.
6. Mai Thị Hằng, Đinh Thị Kim Nhung, Vương Trọng Hào, 2011. Thực hành Vi sinh vật học. Nxb. Đại học Sư phạm, 108-109.

7. Lê Thanh Mai, Nguyễn Thị Hiền, Phạm Thu Thủy, Nguyễn Thanh Hằng, Lê Thị Lan Chi, 2006. Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men, Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội. 138-141, 312-314.
8. Rao R. S., Jyothi Ch. P., Prakasham R. S., Sarma P. N., Rao L. V. 2006. Xylitol production from corn fiber and sugarcane bagasse hydrolysates by *Candida tropicalis*. *Bioresour. Technol.*, 97(15): 1974-1978.
9. Sonali P., Banwari L., 2008. Investigation of the potential of agro-industrial material as low cost substrate for ethanol production using *Candida tropicalis* and *Zymomonas mobilis*. *Biomass Bioenergy*, 32(7): 596-602.
10. Spalding M., Kainuma M., Collins L., 2010. *World Atlas of mangroves*. London, Washington D.C. 6-7.
11. Nguyễn Hoàng Trí. 1996. *Thực vật Rừng ngập mặn Việt Nam*, Nxb. Giáo dục Hà Nội.
12. Varma R. J., Gaikwad B.G., 2009. Biodegradation and phenol tolerance by recycled cells of *Candida tropicalis* NCIM 3556. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 63(4): 539-542.
13. Zhu D., Ma Y., Wang G., Pan G., 2015. Identification of *Candida tropicalis* BH-6 and synergistic effect with *Pantoea agglomerans* BH-18 on hydrogen production in marine culture. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 175: 2677-2688.

CHARACTERIZATION OF ALCOHOL PRODUCING YEAST ISOLATED FROM FERMENTED FRUIT JUICE OF *Sonneratia caseolaris*

Doan Van Thuoc, Dinh Thi Hong Duyen

Hanoi National University of Education

SUMMARY

Twenty yeast strains were isolated from fermented fruit juice of *Sonneratia caseolaris*. Among them, strain NM2 was chosen for further study as a potential alcohol producer. The results of molecular analysis method show that yeast strain NM2 belongs to *C. tropicalis*, which is widely distributed in the tropical and subtropical marine environment. The optimum temperature and the initial pH value for alcohol fermentation of strain *C. tropicalis* NM2 were 30°C and 3.5, respectively. Under these conditions, after 14 days of fermentation of fruit juice of *Sonneratia caseolaris*, maximum alcohol level of 14.9% (v/v) was obtained by strain *C. tropicalis* NM2. With the potential of high alcohol production, the yeast strain *C. tropicalis* NM2 can be applied for industrial alcohol or bioethanol production.

Keywords: *Candida tropicalis*, *Sonneratia caseolaris*, alcohol production.

Ngày nhận bài: 12-12-2014