Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ
Số chuyên đề: SDMD 2024
ISSN 1859-2333 | e-ISSN 2815-5599

DOI:10.22144/ctujos.2024.445

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

Phạm Thị Minh Hải*, Nguyễn Thị Thanh Hải và Lê Nhã Uyên
Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, Đại học Nha Trang
**Tác giả liên hệ (Corresponding author): haiptm@ntu.edu.vn*

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 03/04/2024
Sửa bài (Revised): 03/06/2024
Duyệt đăng (Accepted): 06/08/2024

Title: *Saccharomyces cerevisiae biomass cultivation using Ulva lactuca hydrolysate for the depuration process of commercial Pacific oyster*

Author(s): *Pham Thi Minh Hai*, Nguyen Thi Thanh Hai and Le Nha Uyen*

Affiliation(s): *Institute of Biotechnology and Environment, Nha Trang University*

TÓM TẮT

Rong lục Ulva lactuca thu nhận tại Ninh Thuận, Việt Nam qua xử lý nhiệt 150oC trong 10 phút và thủy phân bằng enzyme Celluclast® 1.5l Novozyme ở 50oC trong 36 giờ đã giải phóng được lượng đường khử là 19,76 ± 0,27% khối lượng khô của bột rong. Với cơ chất ban đầu là dịch rong thủy phân, môi trường sản xuất sinh khối nấm men được nghiên cứu bổ sung 9% (w/V) rỉ đường 70oBrix, điều chỉnh về pH 6. Cấy 10% (v/w) giống nấm men Saccharomyces cerevisiae mật độ 1,2x106cfu/ml vào môi trường và lên men ở nhiệt độ phòng trong 72h, tốc độ khuấy 120 vòng/ phút cho tốc độ sinh trưởng nấm men lớn nhất, lượng sinh khối nấm men ướt thu được cao nhất là 16,61±0,95 g/L. Thử nghiệm nuôi hàu trưởng thành 4 ngày bằng sinh khối nấm men trong rong Ulva lectuca thủy phân lên men cho tỷ lệ sống 93,43±1,46% và có tỷ lệ khối lượng thịt cao nhất, 26,45±0,42%. Như vậy, nấm men Saccharomyces cerevisiae trong rong lục Ulva lactuca lên men thực sự là nguồn thức ăn tiềm năng cho đối tượng hàu trưởng thành.

Từ khóa: *Hàu Thái Bình Dương, nuôi lưu, rong lục Ulva lactuca, Saccharomyces cerevisiae, thủy phân*

ABSTRACT

Ulva lactuca seaweed, harvested in Ninh Thuan, Vietnam, underwent heat treatment at 150°C for 10 minutes, followed by enzymatic hydrolysis using Celluclast® 1.5l Novozyme at 50°C for 36 hours, resulting in a release of reducing sugars equivalent to 19.76 ± 0.27 (%) of the seaweed powder's dry weight. Utilizing the resultant seaweed hydrolysate, a yeast biomass production medium was supplemented with 9% (w/v) molasses (70°Brix) and adjusted to pH 6. A 10% (v/w) inoculum of Saccharomyces cerevisiae strain at a density of 1.2×10^6 cfu/ml was then introduced to the medium and fermented at room temperature for 72 hours with agitation at 120 rpm, yielding the highest yeast growth rate and wet yeast biomass production of 16.61 ± 0.95 (g/L). In a depuration test spanning 4 days, adult oysters cultured with yeast biomass derived from Ulva lactuca seaweed hydrolysate fermentation exhibited a remarkable survival rate of 93.43 ± 1.46 (%). They achieved the highest meat weight ratio of 26.45 ± 0.42 (%). This underscores the potential of Saccharomyces cerevisiae biomass cultured in Ulva lactuca hydrolysate as a viable food source for commercial Pacific oysters during the depuration process.

Keywords: *Depuration process, hydrolysis, Pacific oyster, Saccharomyces cerevisiae, Ulva lactuca seaweed*

1. GIỚI THIỆU

Rong lục *Ulva lactuca* phân bố ở nhiều vùng biển Việt Nam trong đó có Ninh Thuận (Đàm, 2021). Rong lục *Ulva lactuca* có thành phần polysaccharide chiếm 44,7 - 49,9% trọng lượng trong tổng sinh khối khô, và hàm lượng tro, protein, lipid có thành phần tương ứng lần lượt là 27,4 - 28,7%; 8,4 - 18,9% và 2 - 3,5% (Bikker et al., 2016; Pappou et al., 2022). Việc sử dụng hiệu quả nguồn polysaccharid của rong biển trong quá trình lên men sản xuất thức ăn nuôi cá từ rong biển đã có nhiều nghiên cứu thử nghiệm và được đánh giá là thức ăn phù hợp nhu cầu dinh dưỡng của động vật thủy sản (Cruz-Suárez et al., 2010; Marinho et al., 2013; Bikker et al., 2016; Aslamyah et al., 2017). Các loại rong biển như *Ulva sp.* khi được bổ sung vào khẩu phần ăn của động vật thủy sản (cá, hàu) như một chất bổ sung đã làm tăng cường sự tăng trưởng, chuyển hóa lipid, hoạt động sinh lý, phản ứng với stress, khả năng kháng bệnh và chất lượng thân thịt của các loài cá khác nhau (Morais et al., 2020; Alberto et al., 2020; Omont et al., 2021).

Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* là chủng probiotic được sử dụng phổ biến trong nuôi trồng thủy sản. Nhiều nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* trong chế độ ăn, năng suất thủy sản nuôi được đánh giá thông qua cơ chế giảm vi khuẩn có hại trong đường ruột, tăng hiệu quả dinh dưỡng, giảm pH đường ruột và giảm hoạt động của vi khuẩn sinh NH_3 (Agboola et al., 2020; Valle et al., 2023). Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* bổ sung vào thức ăn cải thiện hiệu quả sử dụng thức ăn, tăng cường khả năng tiêu hóa thức ăn, tăng năng suất nuôi, giảm số lượng vi khuẩn gây bệnh, cải thiện hệ miễn dịch của vật nuôi và giảm các tác động tiêu cực đến môi trường trong chăn nuôi (Valle et al., 2023). Tanyaros et al. (2016) cho rằng *Saccharomyces cerevisiae* không phù hợp trong nuôi ấu trùng hàu nhưng có thể dùng trong nuôi hàu non. Hàu Thái Bình Dương *Crassostrea gigas* là loài hai mảnh vỏ được nuôi trồng nhiều nhất trên thế giới, tuy nhiên việc sản xuất số lượng lớn vi tảo làm thức ăn chăn nuôi tiêu tốn một chi phí đáng kể. Việc sử dụng mảnh vụn tế bào đơn (SCD) từ rong biển *Ulva lactuca*, đã được đề xuất như một giải pháp thay thế cho vi tảo *Chaetoceros calcitrans* trong nuôi hàu, với mục đích giảm chi phí sản xuất vi tảo (Omont et al., 2021).

Việc lên men tăng sinh khối nấm men *Saccharomyces cerevisiae* trong môi trường rong *Ulva lactuca* thủy phân sẽ làm cho rong biển tăng khả năng tiêu hóa carbohydrate và tăng hàm lượng protein trong thành phần rong, trở thành nguồn thức ăn có giá trị cho hàu trưởng thành.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thủy phân rong lục *Ulva lactuca* bằng enzyme cellulase

Mẫu rong lục *Ulva lactuca* được thu nhận vào tháng 3-4/2022 tại vùng biển ven bờ Ninh Thuận. Rong sau thu nhận được xử lý, rửa loại bỏ muối, sấy ở 45^{o}C/24 giờ, xay nhỏ đến kích thước 0,5-1 mm và bảo quản nhiệt độ 4^{o}C.

Quá trình thủy phân được thực hiện, như sau: 10 g bột rong được cho vào 200 ml nước cất, điều chỉnh về pH 5 và xử lý nhiệt ở 150^{o}C/ 10 phút (Bikker et al., 2016). Sau đó thủy phân dịch rong bằng cách thêm vào đó 2% (v/v) cellulase (Celluclast® 1.5l Novozyme 60.000 u/g). Quá trình thủy phân thực hiện trong 36 giờ ở nhiệt độ 50^{o}C trên máy lắc ổn nhiệt với tốc độ lắc 150 vòng/phút; (Trivedi et al., 2013; Omont et al., 2021). Thành phần hóa học trong mẫu bao gồm hàm lượng N tổng số xác định bằng phương pháp Kjeldahl (ISO 5983-2005); Hàm lượng tro được xác định bằng phương pháp nung ở 550^{o}C – 600^{o}C đến khối lượng không đổi (ISO 5984-2002); hàm lượng đường khử xác định bằng phương pháp quang phổ 3, 5 acid dinitrosalisylic (DNS) (Miller, 1959).

2.2. Nuôi cấy nấm men *Saccharomyces cerevisiae* trong dịch rong thủy phân

Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* được làm thuần và phục hồi từ men bánh mỳ Baker thương mại trên môi trường YPD (Yeast Peptone Dextrose Broth - Sigma Aldrich) và bảo quản trong thạch nghiêng ở 4^{o}C (Sudhakar et al., 2016). Tăng sinh nấm men trong môi trường YPD ở 30^{o}C, sau 24 giờ đạt được mật độ giống $1,2x10^7$ cfu/ml sẵn sàng cho thí nghiệm tiếp theo.

10% giống nấm men *Saccharomyces cerevisiae* đã chuẩn bị được cấy vào dịch rong thủy phân với các thông số nghiên cứu: tỷ lệ rỉ đường 70^{o}Brix bổ sung vào môi trường nuôi cấy là 5 - 20% w/V so với môi trường YDB; nhiệt độ nuôi cấy là 20-35^{o}C; thời gian lên men từ 24 -120 giờ. Xác định sinh khối nấm men ướt bằng cách ly tâm và cân sinh khối (g/l) và đánh giá khả năng sinh trưởng bằng hằng số tốc độ sinh trưởng c trong các thí nghiệm.

Mật độ nấm men (N) trong mẫu thí nghiệm xác định theo phương pháp đếm khuẩn lạc trên môi trường YPD- agar. Hằng số tốc độ sinh trưởng c của nấm men được xác định theo công thức:

$$c = \frac{(\log N - \log No)}{0{,}301.\,t}$$

No, N là mật độ nấm men trước và sau nuôi cấy

t là thời gian nuôi cấy

2.3. Thử nghiệm nuôi lưu hàu Thái Bình dương bằng sinh khối nấm men *Saccharomyces cerevisiae* trong dịch rong *Ulva lactuca* lên men

Hàu Thái Bình Dương nuôi tại Ninh Hòa, Việt Nam và thu hoạch vào tháng 12/2023. Vỏ ngoài của hàu được chà rửa sạch, không còn rong, tảo, ốc dính bám. Sau đó phân loại hàu size 20-22 con/kg cho vào các rổ, mỗi mẫu thử nghiệm dùng 2 kg hàu thương phẩm. Hàu thử nghiệm nuôi lưu trong điều kiện cho ăn và thay nước hàng ngày. Lượng nước sử dụng nuôi hàu là nguồn nước biển làm sạch bằng phương pháp lọc và chiếu tia cực tím 260 nm. Lượng thức ăn cho ăn thử nghiệm 1‰ so với lượng nước lọc (1 mL mẫu thử/1000 mL nước). Thời gian nuôi thử nghiệm là 4 ngày (96 giờ).

Bốn mẫu thức ăn thử nghiệm được thiết lập bao gồm: (1) Đối chứng (Không sử dụng bất cứ chế phẩm nào); (2) Nấm men bánh mỳ (hoạt hóa 30 phút nấm men bánh mỳ trong dung dịch glucose trước khi cho ăn); (3) Sinh khối nấm men *Saccharomyces cerevisiae* trong dịch rong *Ulva lactuca* thủy phân lên men; (4) Dịch rong *Ulva lactuca* thủy phân; (5) CP01 (tảo + probiotic) của công ty đang dùng.

Các thông số khảo sát thu nhận: Tỷ lệ sống (đếm số lượng con chết), tỷ lệ ruột (tách ruột hàu và cân khối lượng vỏ, ruột) được tính toán theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ sống} = \frac{\text{Npt}}{\text{Npo}} \text{x } 100\%$$

$$\text{Tỷ lệ ruột} = \frac{\text{Xthịt}}{\text{X nguyên vỏ}} \text{x } 100\%$$

Trong đó: Npt là số lượng hàu sống

Npo là số lượng hàu nuôi thử nghiệm ban đầu

Xthịt là khối lượng thịt hàu sau khi tách vỏ ngẫu nhiên 3 cá thể hàu sau thử nghiệm

X nguyên vỏ là khối lượng 3 cá thể hàu chưa tách vỏ ngẫu nhiên.

Mật độ tổng số vi khuẩn cũng được phân tích trong các mẫu ruột hàu. Mẫu kiểm tra được nuôi cấy trên môi trường PCA (Plate Count Agar) có bổ sung 1% NaCl, ủ ở 30ºC trong 24-48 giờ.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được thực hiện 3 lần và xử lý bằng phần mềm MS Excel 2013. So sánh sự khác biệt dựa vào phân tích phương sai ANOVA với sự khác biệt có ý nghĩa $p \leq 0{,}05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần hóa học của rong lục *Ulva lactuca*

Phân tích thành phần hóa học cơ bản của mẫu rong nguyên liệu, mẫu rong sau thủy phân cho kết quả trong Bảng 1. Kết quả cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa ($p \leq 0{,}05$) về hàm lượng đường khử trong mẫu sau thủy phân so với nguyên liệu.

Bảng 1: Thành phần hóa học của mẫu rong lục *Ulva lactuca* (% khối lượng khô của mẫu)

Mẫu phân tích	Tro	N tổng số	Đường khử
Mẫu nguyên liệu	23,6 ± 0,21[a]	14,72 ± 0,19[a]	4,31 ± 0,25[c]
Mẫu sau thủy phân	24,10 ± 0,17[a]	26,13 ± 0,25[b]	19,76 ± 0,27[d]

Các thông số a, b, c, d biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa theo cùng một cột p ≤ 0,05

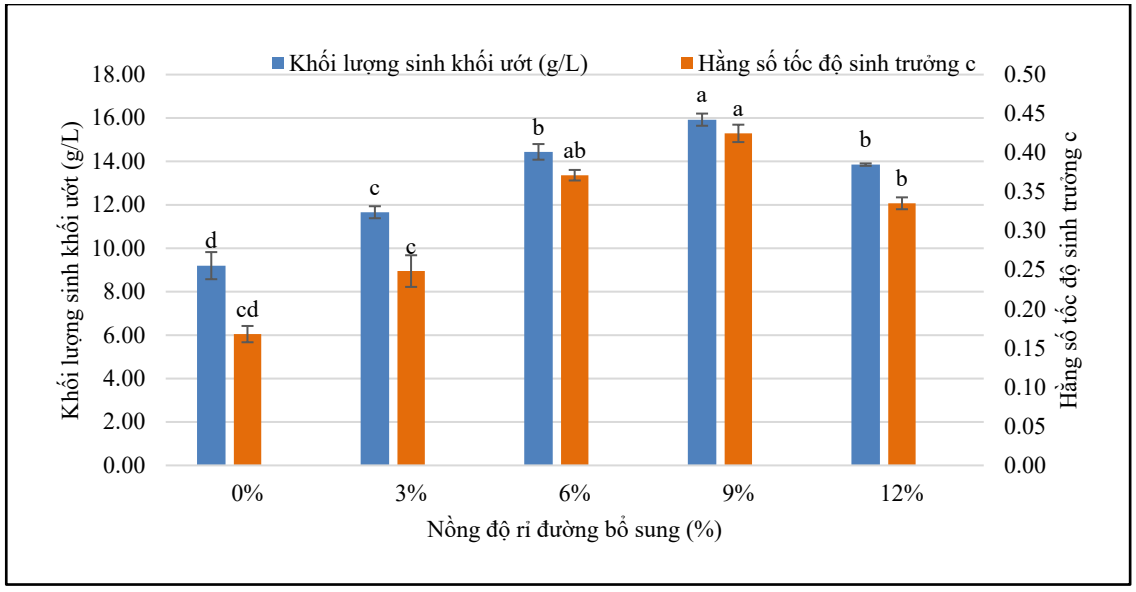
Quá trình thủy phân *Ulva lactuca* bằng cellulase đã làm tăng hàm lượng đường khử trong mẫu rong lục *Ulva lactuca* nguyên liệu gấp gần 5 lần lên 19,67%. Hàm lượng các thành phần tro, N tổng số và đường khử của rong *Ulva lactuca* Ninh Thuận, Việt Nam, nằm trong giới hạn kết quả phân tích của nghiên cứu trước đó (Bikker at al., 2016; Pappou et al., 2022). Sản phẩm thủy phân từ *Ulva lactuca* chứa lượng đường khử cao chủ yếu là glucose, rhamnose và lượng nhỏ xylose thuận lợi cho quá trình lên men vi sinh vật (Bikker et al., 2016).

3.2. Ảnh hưởng nồng độ rỉ đường bổ sung trong canh cấy đến sinh trưởng nấm men

Khả năng sinh trưởng của nấm men phụ thuộc vào hàm lượng và loại đường trong môi trường nuôi cấy. Theo Bikker et al. (2016), các polysaccharid từ rong lục *Ulva lactuca* đã được thủy phân thành các đường đơn sử dụng làm cơ chất cho quá trình lên men. Nồng độ cơ chất luôn là yếu tố ảnh hưởng đến lượng sinh khối của nấm men thu nhận. Lượng sinh khối ướt thu nhận và hằng số tốc độ sinh trưởng của nấm men trong dịch rong thủy phân bổ sung rỉ đường từ 3 - 12% được thể hiện trên Hình 1.

Việc chuyển đổi đường đơn trong rong biển thành các sản phẩm trao đổi chất bậc hai như ethanol nhờ nấm men *Saccharomyces cerevisiae* đã được báo cáo trong nghiên cứu trước đây (Yanagisawa et al., 2011; Zakaria et al., 2020). Yanagisawa et al. (2011) cho rằng việc sử dụng rong biển làm nguyên liệu thô lên men thu ethanol hiệu suất không cao do không thể chỉ dựa vào nồng độ đường khử sau thủy phân rong biển. Theo Dunuweera et al. (2021), nuôi cấy *Saccharomyces cerevisiae* trên bã chất thải các loại trái cây khác nhau cho thấy sự phát triển của nấm men phụ thuộc vào thành phần dinh dưỡng của cơ chất, vì vậy có thể bổ sung thêm cơ chất đường cho quá trình thu nhận sinh khối nấm men.

Trong nghiên cứu nuôi cấy nấm men trong dịch rong thủy phân, sinh trưởng của nấm men trong điều kiện lắc 120 rpm ở nhiệt độ phòng sau 72 giờ cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$) ở mẫu rong thủy phân không bổ sung rỉ đường (0%) so với các mẫu bổ sung rỉ đường. Khối lượng sinh khối nấm men ướt thu được cao nhất là 15,92 g/L khi thêm 9% rỉ đường. Hằng số tốc độ sinh trưởng của nấm men ở mẫu thêm 9% rỉ đường cũng cao nhất so với các mẫu còn lại. Như vậy, việc bổ sung rỉ đường 9% vào dịch rong lục thủy phân trong nghiên cứu phù hợp để thực hiện nghiên cứu quá trình lên men dịch rong tiếp theo. Sokchea et al. (2018) cho biết nuôi cấy *Saccharomyces cerevisiae* trong dịch rỉ đường tối ưu 35% tương đương tỷ lệ C/N là 15/1 thu được lượng sinh khối nấm men cao nhất. Sự khác biệt giữa nghiên cứu này và tỷ lệ dịch rỉ đường trong nghiên cứu của Sokchea et al. (2008) có thể là do sau khi rong lục thủy phân đã tạo ra lượng đường khử (19,76% - Bảng 1) là cơ chất cho sinh trưởng của nấm men. Vì vậy, chỉ cần bổ sung thêm 9% rỉ đường sẽ đạt được sinh khối tốt nhất trong nghiên cứu.



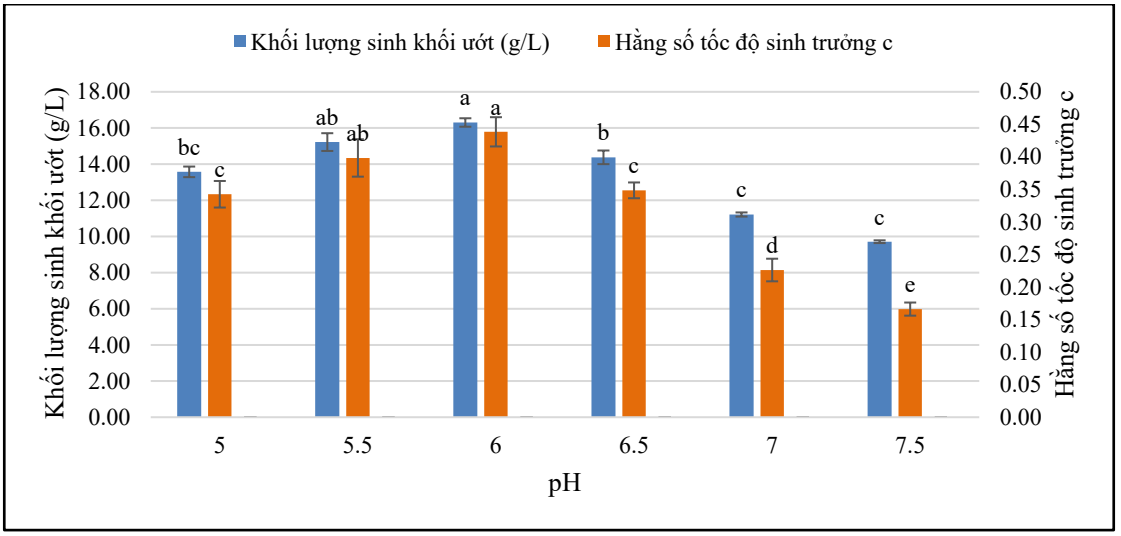
Hình 1. Ảnh hưởng nồng độ rỉ đường bổ sung đến sinh trưởng nấm men

Các thông số a, b, c, d biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa trên cùng một thông số với $p \leq 0,05$

3.3. Ảnh hưởng của pH dịch rong nuôi cấy

pH là yếu tố ảnh hưởng lớn tới 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 quá trình thẩm thấu, hấp thụ dinh dưỡng của nấm men. Kết quả thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của pH dịch rong đến sinh trưởng nấm men trong dịch rong thủy phân thể hiện trên Hình 2.

Khối lượng sinh khối nấm men thu được 16,30 g/L và hằng số sinh trưởng nấm men cao nhất khi nuôi cấy trong dịch rong có pH 6, không có sự khác biệt có ý nghĩa về các giá trị ở pH 5,5 - 6 ($p \leq 0,05$). Điều này cũng phù hợp nghiên cứu của Peña et al. (2015) khi nuôi cấy nấm men *Saccharomyces cerevisiae* ở pH 6 cho mật độ cao nhất. Giá trị pH 8 sẽ ức chế hoạt động sống của nấm men do chu kỳ sinh trưởng của tế bào dừng lại.



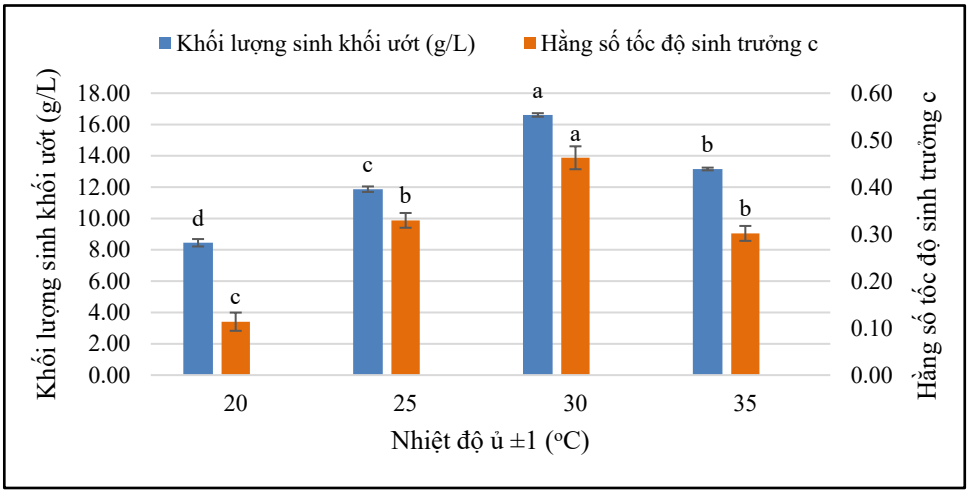
Hình 2. Ảnh hưởng của pH dịch cấy đến sinh trưởng của nấm men

Các thông số a, b, c, d, e biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa trên cùng một thông số với p ≤ 0,05

3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh trưởng nấm men

Nhiệt độ môi trường luôn ảnh hưởng đến phát triển của các vi sinh vật. Nấm men hoạt động trong một phạm vi nhiệt độ rộng với khoảng nhiệt độ tối ưu là 20°C-35°C. Nghiên cứu nhiệt độ ảnh hưởng đến sinh trưởng của *Saccharomyces cerevisiae* trong dịch rong *Ulva* thủy phân bổ sung 9% rỉ đường, mật độ nấm men sau thời gian nuôi cấy 72 giờ ở khoảng nhiệt độ nuôi cấy 20 – 35°C thể hiện trong Hình 3.

Theo nghiên cứu, mật độ nấm men đạt tối đa ở nhiệt độ 30°C sau 72 giờ nuôi cấy với tốc độ sinh trưởng c là 0,46 và lượng sinh khối ướt đạt được là 16,61 g/L. So với nuôi cấy ở nhiệt độ 20-25°C, sinh trưởng nấm men ở 30°C có sự khác biệt có ý nghĩa ($p \leq 0,05$). Lượng sinh khối ướt trong nghiên cứu này cao gấp 1,6 lần nghiên cứu của Razzaq et al. (2020), với lượng sinh khối lớn nhất 9,18 g thu được ở 30°C trong 6 ngày trên bã mía, củ cải đường. Nghiên cứu của Milala et al. (2018) nuôi cấy *Saccharomyces cerevisiae* phân lập từ chất thải cà chua ở nhiệt độ 37°C trong 96 giờ trên môi trường vỏ cam, lượng sinh khối nấm men cao nhất thu được là 1145 ppm. Tác giả cũng cho rằng, có thể không thuận lợi khi ủ môi trường lên men ở nhiệt độ trên 55°C và pH dưới 4.0 để sản xuất sinh khối nấm men *Saccharomyces cerevisiae*.



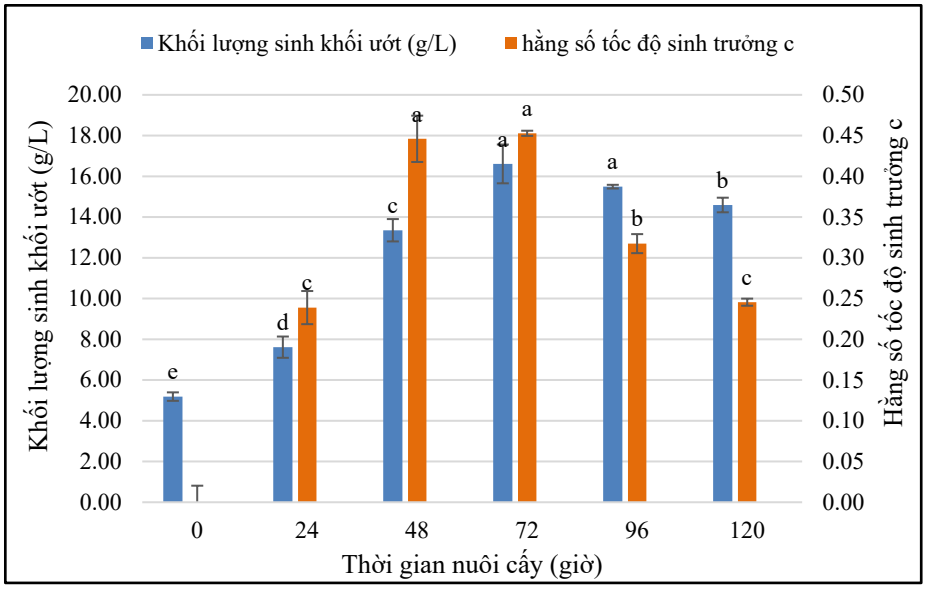
Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến sinh trưởng nấm men

Các thông số a, b, c, d biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa trên cùng một thông số với p ≤ 0,05

3.5. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến sinh trưởng nấm men

Hoạt động sống của nấm men trong môi trường nuôi cấy diễn ra qua các giai đoạn thích nghi và phát triển. Thời điểm thu nhận sinh khối nấm men được thực hiện ngay sau khi mật độ nấm men đạt giá trị cao nhất. Khoảng thời gian này phụ thuộc loài nấm men và điều kiện nuôi cấy. Nghiên cứu sinh trưởng của *Saccharomyces cerevisiae* trong dịch rong thủy phân bổ sung 9% rỉ đường, pH 6, nhiệt độ nuôi cấy 30°C trong khoảng thời gian 0 – 120 giờ thể hiện trong Hình 4. Hằng số tốc độ sinh trưởng được xác định ở từng thời điểm nghiên cứu.

Để thu được lượng sinh khối nấm men cao nhất, Sokchea et al. (2018) cho biết nuôi cấy trong 24 giờ trên dịch rỉ đường; Razzaq et al. (2020) tăng sinh khối nấm men trong 6 ngày ở 30°C trên bã mía; Dunuweera et al. (2021) nuôi nấm men trên trên bã chất thải các loại trái cây là 4 ngày. Trong rong lục thủy phân chứa nhiều loại đường đơn nên thời gian nuôi cấy nấm men sẽ có phase lag kéo dài so với chỉ nuôi cấy nấm men trên dịch rỉ đường (Sokchea et al., 2018) nhưng ngắn hơn so với nuôi cấy trên môi trường các bã thải khác (Razzaq et al., 2020; Dunuweera et al., 2021). Trong thời gian nuôi cấy, hằng số tốc độ sinh trưởng của nấm men tăng mạnh trong khoảng thời gian từ 24 – 48 giờ nuôi cấy và cao nhất ở thời điểm 48 – 72 giờ nghiên cứu. Mật độ nấm men thu được cao nhất sau 72 giờ nuôi cấy là 15,9±1,06 log cfu/g, lượng sinh khối nấm men ướt thu được là 16,61±0,95 g/L (Hình 4).



Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến sinh trưởng của nấm men

Các thông số a, b, c, d, e biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa trên cùng một thông số với p ≤ 0,05

3.6. Thử nghiệm nuôi lưu hàu thương phẩm bằng chế phẩm nấm men *Saccharomyces cerevisiae* nuôi cấy trong dịch thủy phân rong lục *Ulva lactuca*

Kết quả nuôi thử nghiệm hàu Thái Bình Dương dùng chế phẩm sinh khối nấm men trong dịch rong thủy phân làm thức ăn cho kết quả ở Bảng 2.

Suantika et al. (2021) cho biết hàm lượng protein trong rong đỏ *K. alvarezii* lên men *Saccharomyces cerevisiae* tăng gấp 3 lần so với nguyên liệu thô và dùng chế phẩm rong đỏ lên men nuôi tôm thử nghiệm. Tác giả cũng cho thấy tốc độ sinh trưởng, tổng khối lượng và tỷ lệ sống của tôm thẻ chân trắng đều tăng lên khi ăn thức ăn bổ sung rong lên men. Trong nghiên cứu sử dụng sinh khối *Saccharomyces cerevisiae* trong rong *Ulva lactuca* thủy phân làm thức ăn cho hàu cho tỷ lệ sống tương đương so với chế phẩm tảo- men vi sinh mà công ty dùng hiện tại nhưng có tỷ lệ ruột hàu cao hơn (p ≤ 0,05). Ở các mẫu nuôi thử nghiệm, tỷ lệ sống cao nhất ở mẫu dùng thức ăn nấm men trong rong thủy phân và mẫu dùng chế phẩm của công ty; tỷ lệ khối lượng thịt hàu cao nhất ở mẫu dùng thức ăn nấm men trong rong thủy phân và dịch rong thủy phân. Tổng số vi khuẩn trong thịt hàu không có sự khác biệt rõ ràng trong các mẫu thử. Như vậy, thức ăn sinh khối nấm men trong rong *Ulva lactuca* lên men thực sự là nguồn thức ăn tiềm năng làm tăng khối lượng hàu trưởng thành.

Bảng 2. Kết quả nuôi lưu hàu sau 96 giờ bằng sinh khối nấm men *Saccharomyces cerevisiae* trong dịch thủy phân *Ulva lactuca*

STT	Mẫu thử nghiệm	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ ruột hàu (%)	Tổng số vi khuẩn log (cfu/g)
01	Đối chứng	86,77 ± 1,54[b]	18,23 ± 0,34[c]	4,34 ± 1,43[a]
02	Sinh khối nấm men	74,77 ± 1,98[c]	22,13 ± 1,53[b]	3,61 ± 1,41[b]
03	Sinh khối nấm men trong dịch rong thủy phân	93,43 ± 1,46[a]	26,45 ± 0,42[a]	3,22 ± 0,95[b]
04	Dịch rong thủy phân	77,05 ± 1,28[c]	25,12 ± 0,51[a]	3,73 ± 0,87[b]
05	Chế phẩm công ty (probiotic + tảo)	92,68 ± 0,18[a]	19,16 ± 0,41[c]	3,38 ± 0,83[b]

Các thông số a, b, c trên cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa p ≤ 0,05

4. KẾT LUẬN

Quá trình thủy phân bằng xử lý nhiệt và enzyme cellulase đã giải phóng hàm lượng đường khử 19,76% khối lượng khô trong rong lục *Ulva lactuca*. Môi trường rong thủy phân bổ sung 9% rỉ đường, pH 6, ở nhiệt độ 30ºC trong thời gian 72 giờ sản xuất được lượng sinh khối nấm men *Saccharomyces cerevisiae* 16,61±0,95 g/L. Thử nghiệm sử dụng sinh khối nấm men trong rong *Ulva lactuca* thủy phân lên men có thể định hướng làm nguồn thức ăn tiềm năng làm tăng khối lượng thịt cho của hàu trưởng thành. Tuy nhiên, thời gian thử nghiệm ngắn (4 ngày) chưa đủ để đánh giá sự tăng trưởng của hàu và tích luỹ dinh dưỡng trong cơ thịt hàu. Vì vậy, thử nghiệm cần có nghiên cứu sử dụng thức ăn sinh khối nấm men trong rong *Ulva lactuca* lên men trong khoảng thời gian đủ để đánh giá sâu hơn về sinh trưởng của hàu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Agboola, J. O., Øverland, M., Skrede, A., & Hansen, J. Ø. (2020). Yeast as major protein-rich ingredient in aquafeeds: A review of the implications for aquaculture production. *Reviews in Aquaculture*, *13*(2), 949–970. https://doi.org/10.1111/raq.12507

Alberto, P. R., Gabriela, M. A., & Regina, E. G. (2020) Seaweed single cell detritus effects on the digestive enzymes activity and microbiota of the oyster *Crassostrea gigas. Journal of Applied Phycology, 32*, 3481–3493. https://doi.org/10.1007/s10811-020-02167-4

Aslamyah, S., Karim, M. Y., & Badraeni. (2017). Fermentation of seaweed flour with various fermenters to improve the quality of fish feed ingredients. *Journal Akuakultur Indonesia*, *16*(1), 8-14. https://doi.org/10.19027/jai.16.1.8-14

Bikker, P., Krimpen, V. M. M., Wikselaar, V. P., Houweling-Tan, B., Scaccia, N., Hal, V. J. W., Huijgen, W. J., Cone, J. W., & López-Contreras, A. M. (2016). Biorefinery of the green seaweed Ulva lactuca to produce animal feed, chemicals and biofuels. *Journal of Applied Phycology*, *28*(6), 3511-3525. https://doi.org/10.1007/s10811-016-0842-3

Cruz-Suárez, L. E., León, A., Peña-Rodríguez, A., Rodríguez-Peña, G., Moll, B., & Ricque-Marie, D. (2010). Shrimp/Ulva co-culture: A sustainable alternative to diminish the need for artificial feed and improve shrimp quality. *Aquaculture*, *301*(1-4), 64-68. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.01.021

Đàm, Đ. T. (2021). Đa dạng sinh học và nguồn lợi rong biển Việt Nam. *Khoa học Công nghệ Việt Nam, 4A,* 14-17.

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. https://doi.org/10.1155/2021/9932762

Marinho, G., Nunes, C., Sousa-Pinto, I., Pereira, R., Rema, P., & Valente, L. P. (2013). The IMTA-cultivated *Chlorophyta Ulva* spp. as a sustainable ingredient in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. *Journal of Applied Phycology*, *25*(5), 1359-1367. https://doi.org/10.1007/s10811-012-9965-3

Milala, M., Yakubu, M., Burah, B., Laminu, H., & Bashir, H. (2018). Production and optimization of single cell protein from orange peels by Saccharomyces cerevisiae. *Journal of Bioscience and Biotechnology Discovery*, *3*, 99-104.https://doi.org/10.31248/JBBD2018.081

Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, *31*(3), 426–428. https://doi.org/10.1021/ac60147a030

Morais, T., Inácio, A., Coutinho, T., Ministro, M., Cotas, J., Pereira, L., & Bahcevandziev, K. (2020). Seaweed Potential in the Animal Feed: A Review. *Journal of Marine Science and Engineering*, *8*(8), 559. https://doi.org/10.3390/jmse8080559

Trivedi, N., Gupta, V., Reddy, C. R. K., & Bhavanath J. (2013). Enzymatic hydrolysis and production of bioethanol from common macrophytic green alga *Ulva fasciata Delile*. *Bioresource Technology*, *Volume 150*, Pages 106-112, ISSN 0960-8524. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.09.103

Omont, A., Py, C., Gamboa-Delgado, J., Nolasco-Soria, H., Spanopoulos-Zarco, M., & Peña-Rodríguez, A. (2021). Nutritional contribution of seaweed Ulva lactuca single-cell detritus and microalgae *Chaetoceros calcitrans* to the growth of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*, *541*, 736835. ISSN 0044-8486. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736835

Pappou, S., Dardavila, M. M., Savvidou, M. G., Louli, V., Magoulas, K., & Voutsas, E. (2022). Extraction of bioactive compounds from *Ulva lactuca*. *Applied Sciences*, *12*(4), 2117. https://doi.org/10.3390/app12042117

Peña, A., Sánchez, N. S., Álvarez, H., Calahorra, M., & Ramírezand, J. (2015). Effects of high medium pH on growth, metabolism and transport in *Saccharomyces cerevisiae. FEMS Yeast Research*, *15*(2), fou005. https://doi.org/10.1093/femsyr/fou005

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. *J. Vet. Ani. Res. 1*, 104.

Suantika, G., Situmorang, M. L., Saputra, F. I., Alviredieta U., Aditiawati P., & Putri, S. P. (2021). The Effect of Feed Supplementation with Fermented Red Seaweed (*Kappaphycus alvarezii*) on Growth and Survival of White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Post-Larvae Culture. *Journal of Biosciences*, *28*(4), 286-292. https://doi.org/10.4308/hjb.28.4.286-392

Sudhakar, M. P., Merlyn, R., Arunkumar, K., & Perumal, K. (2016). Characterization, pretreatment and saccharification of spent seaweed biomass for bioethanol production using baker's yeast. *Biomass and Bioenergy*, *90*, 148–154. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.03.031

Valle, D. J. C., Bonadero, M. C., & Fernández-Gimenez, A. V., (2023). *Saccharomyces cerevisiae* as probiotic, prebiotic, synbiotic, postbiotics and parabiotics in aquaculture: An overview. *Aquaculture*, *569*, 739342. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739342

Yanagisawa, M., Nakamura, K., Ariga, O., & Nakasaki, K. (2011). Production of high concentrations of bioethanol from seaweeds that contain easily hydrolyzable polysaccharides. *Process Biochemistry*, *46*(11), 2111–2116. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.08.001

Zakaria, N. Z., Zhen, A. W., Mohd Hassan, S. A., & Zakaria, Z. (2020). Optimization on fermentation of seaweed (Gracilaria sp.) as feedstock *for bioethanol production by Saccharomyces* cerevisiae. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, *932*. https://doi.org/10.1088/1757-899X/932/1/012020