

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN NẤM MEN TRONG LÊN MEN RƯỢU VANG SƠ RI (*Malpighia glabra* L.)

Lý Thị Thanh Thảo* và Nguyễn Thị Tường Vi

Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

*Tác giả liên hệ: Lý Thị Thanh Thảo, Email: ltthao@agu.edu.vn

Lịch sử bài báo

Ngày nhận: 27/08/2020; Ngày nhận chỉnh sửa: 08/09/2020; Ngày duyệt đăng: 27/11/2020

Tóm tắt

Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu phân lập và tuyển chọn dòng nấm men thuần từ nguồn sơ ri được thu mua ở chợ Mỹ Xuyên và Mỹ Hòa Hưng - thành phố Long Xuyên - tỉnh An Giang, tìm những dòng nấm men có khả năng sản xuất rượu vang sơ ri chất lượng. Sáu dòng nấm men đã được phân lập từ mẫu sơ ri lên men tự nhiên. Sau khi phân lập tiến hành quan sát mô tả hình thái các dòng nấm men. Dòng nấm men SR4 được phân lập từ quả sơ ri ở Mỹ Xuyên đã được tuyển chọn do có khả năng lên men nhanh và cho độ cồn cao (12,06% v/v). Điều kiện lên men rượu vang sơ ri thích hợp của dòng SR4 với thời gian lên men 12 ngày, nồng độ chất khô hòa tan ban đầu 20°Brix, hàm lượng ethanol đạt 12,33% (v/v).

Từ khóa: *Malpighia glabra* L., nấm men, phân lập, tuyển chọn, rượu vang sơ ri, sự lên men rượu.

ISOLATION AND SELECTION OF YEAST STRAINS FOR BARBADOS CHERRY WINE FERMENTATION (*Malpighia glabra* L.)

Ly Thi Thanh Thao* and Nguyen Thi Tuong Vi

An Giang University, Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam

*Corresponding author: Ly Thi Thanh Thao, Email: ltthao@agu.edu.vn

Article history

Received: 27/08/2020; Received in revised form: 08/09/2020; Accepted: 27/11/2020

Abstract

This study was aimed to isolate and select the pure yeast strain from *Malpighia glabra* L. bought in My Xuyen and My Hoa Hung market, Long Xuyen city in An Giang province; thereby, searching for the yeast strains to make quality Barbados cherry wine. Six yeast strains were isolated from natural fermented *Malpighia glabra* L. samples. On isolating and observing their morphologies, the selected was the strain SR4 isolated from My Xuyen Barbados cherry due to its fast fermentation and highest ethanol content (12,06% v/v). The optimum fermentation conditions for Barbados cherry wine production by SR4 were 12 days, 20°Brix of initial total dry matter with ethanol content of 12,33 % (v/v).

Keywords: *Malpighia glabra* L., yeast, isolation, Barbados cherry wine, wine fermentation, selection.

DOI: <https://doi.org/10.52714/dthu.10.3.2021.866>

Trích dẫn: Lý, T. T. T., & Nguyễn, T. T. V. (2021). Phân lập và tuyển chọn nấm men trong lên men rượu vang sơ ri (*Malpighia glabra* L.). *Tạp chí Khoa học Đại học Đồng Tháp*, 10(3), 37-45. <https://doi.org/10.52714/dthu.10.3.2021.866>.

1. Đặt vấn đề

Ngày nay, khi xã hội phát triển, mức sống con người được nâng cao thì nhu cầu về ăn uống của con người ngày càng được quan tâm và đòi hỏi các sản phẩm không những phong phú đa dạng mà còn phải có giá trị dinh dưỡng và có tính dược liệu. Thức uống trái cây có nhiều dạng khác nhau về tính chất sản phẩm và công nghệ chế biến như nước trái cây tự nhiên, siro quả, rượu vang... trong đó, rượu vang là loại thức uống được ưa chuộng với hương vị thơm ngon và giàu dinh dưỡng.

Rượu vang là sản phẩm lên men khá phổ biến và có lịch sử lâu đời, là loại rượu được lên men từ dịch ép trái cây không qua chưng cất, có hương vị thơm ngon tự nhiên và giàu dinh dưỡng. Rượu có độ cồn thấp, chứa nhiều vitamin và khoáng chất nên rất có lợi cho sức khỏe. Xã hội ngày càng phát triển, nhu cầu tiêu thụ và yêu cầu về tính đa dạng sản phẩm rượu vang ngày càng tăng. Việt Nam có khí hậu ôn hòa, nguồn trái cây dồi dào và đa dạng quanh năm sẽ là điều kiện lý tưởng cho đa dạng sản phẩm rượu vang từ nhiều nguồn trái cây.

Sơ ri là loại trái cây có dịch quả rất giàu dinh dưỡng và rất tốt cho sức khỏe con người. Đồng thời, sơ ri cũng là một loại trái cây quen thuộc của miền Nam, khi chín vỏ màu đỏ và hàm lượng acid cao nên khi ăn tươi có vị chua. Nghiên cứu **“Phân lập và tuyển chọn nấm men trong lên men rượu vang sơ ri (*Malpighia glabra* L.)”** được tiến hành, nhằm tận dụng nguồn nguyên liệu sơ ri sẵn có. Từ đó góp phần làm phong phú thêm dòng sản phẩm rượu vang hiện nay, cải thiện đầu ra cho nguyên liệu, tăng hiệu quả kinh tế và đem lại lợi nhuận cao cho người trồng sơ ri.

2. Nội dung nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Sơ ri được mua ở chợ Mỹ Xuyên và chợ Mỹ Hòa Hưng, thành phố Long Xuyên, tỉnh An Giang và vận chuyển về Phòng thí nghiệm Bộ môn Công nghệ Sinh học, Trường Đại học An Giang.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập nấm men từ dịch sơ ri lên men

Sơ ri (xử lý sơ bộ), ép lọc, điều chỉnh pH=3,8; 20°Brix, lên men dịch sơ ri trong 3 ngày ở nhiệt độ phòng. Nuôi cấy khuẩn lạc trên môi trường PDA (Potato extract 4 g/L, dextrose 20 g/L, agar 15 g/L), ủ ở 28-30°C trong 24-48 giờ. Tiến hành phân lập, tách rỗng và làm thuần khuẩn lạc. Kiểm tra độ thuần (quan sát hình dạng, kích thước, màu sắc), trữ giống ở 4°C.

2.2.2. Khảo sát hoạt tính lên men sinh khí CO₂ của các dòng nấm men phân lập

Xác định dòng nấm men có khả năng lên men sinh khí CO₂ cao nhất (bằng cách đo chiều cao cột khí CO₂ sinh ra cao nhất trong ống Durham).

Nuôi sinh khối nấm men trong 24 giờ ở 30°C, lấy nửa vòng que cấy nấm men trong ống thạch nghiêng chủng vào 100 mL môi trường PG có bổ sung khoáng (khoai tây 200 g, glucose 20 g, (NH₄)₂SO₄ 2 g, KH₂PO₄ 1 g) (đã khử trùng ở 115°C trong 10 phút). Lấy 1 mL dung dịch nấm men cho vào ống nghiệm có chứa 9 mL dung dịch đường glucose 2% đã khử trùng ở 115°C trong 10 phút. Lắc thật đều để dung dịch đường tràn đầy vào ống Durham úp ngược nằm bên trong ống nghiệm chứa dung dịch đường glucose 2% ủ ở 30°C.

Khả năng lên men của nấm men là đo chiều cao cột khí CO₂ sinh ra trong ống Durham úp ngược tại các thời điểm 4, 6, 8, 16 và 23 giờ ủ. Dòng nấm men có hoạt tính cao là dòng nấm men có chiều cao cột khí CO₂ sinh ra nhanh và cao nhất.

2.2.3. Khảo sát khả năng lên men rượu của các dòng nấm men phân lập

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với một nhân tố là các dòng nấm men phân lập được, thí nghiệm được lặp lại 3 lần, số nghiệm thức 1 x 3 x 3 = 9 nghiệm thức. Giống nấm men phân lập được ở thí nghiệm 1 đem tăng sinh trong 100 mL môi trường PG, lắc và ủ 48 h ở nhiệt độ phòng, bổ sung giống nấm men vào dịch sơ ri

(pH = 3,8; 20°Brix), tiến hành lên men 5 ngày ở 28-30°C. Tỷ lệ nấm men bổ sung: 2% tỷ lệ nấm men theo thể tích dịch ép sơ ri với mật độ là $2 \cdot 10^7$ tế bào/mL.

Chỉ tiêu theo dõi: So sánh độ rượu (% v/v) (phương pháp chung cất) (Nguyễn, 2010), sự thay đổi pH (sử dụng máy đo pH), xác định nồng độ chất khô hòa tan trước và sau quá trình lên men bằng Brix kế.

2.2.4. Khảo sát sự ảnh hưởng của nồng độ chất khô hòa tan (độ Brix) ban đầu đến quá trình lên men rượu vang

Từ các thí nghiệm trên chọn được dòng nấm men có khả năng lên men tối ưu nhất, để tiến hành xác định độ Brix ban đầu thích hợp nhất cho quá trình lên men rượu vang sơ ri.

Tiến hành bố trí thí nghiệm 1 nhân tố (độ Brix ở 3 mức độ: 18°Brix, 20°Brix và 22°Brix), kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, thí nghiệm được lặp lại 3 lần, số nghiệm thức: $1 \times 3 \times 3 = 9$ đơn vị thí nghiệm.

Thanh trùng dịch sơ ri (pH = 3,8; 18°Brix - 20°Brix - 22°Brix) với NaHSO_3 (100 mg/L). Tiến hành cấy giống men chuẩn bị sẵn (tỷ lệ 2%, 2×10^7 tế bào/mL) vào dịch sơ ri đã thanh trùng. Lên men chính 28-30°C trong 5 ngày, lắng loại bỏ cặn, lên men phụ 10-15°C trong 7 ngày, tiến hành lắng, lọc, tách bã làm rượu trong, chiết rót thu hồi sản phẩm. Tiến hành so sánh độ rượu, pH, độ Brix trước và sau quá trình lên men. Kết quả thí nghiệm xác định độ Brix ban đầu thích hợp nhất cho quá trình lên men rượu vang sơ ri.

2.2.5. Phương pháp đánh giá cảm quan chất lượng sản phẩm

Chất lượng cảm quan sản phẩm được đánh giá theo tiêu chuẩn Việt Nam. Tiêu chuẩn này sử dụng hệ số 20 điểm, xây dựng trên một thang thống nhất có 6 bậc (từ 0-5) và điểm 5 là điểm cao nhất cho một chỉ tiêu. Đối với sản phẩm đồ uống có cồn nói chung và sản phẩm nước uống lên men nói riêng thì các chỉ tiêu cảm quan quan

trọng cần đánh giá gồm: trạng thái (độ trong), màu sắc, mùi và vị. Tiến hành lập chọn 5 người đánh giá cảm quan. Khi đánh giá cảm quan các chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm, người đánh giá cảm quan tham gia cho điểm, kết quả được trình bày là trung bình cộng điểm của những người đánh giá (Phạm, 2017).

2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm trên được lặp lại 3 lần và số liệu được xử lý trên phần mềm Excel 2010, phân tích thống kê ANOVA ($p < 0,05$) xác định ý nghĩa sự khác biệt của mỗi yếu tố.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả phân lập và tuyển chọn các chủng nấm men từ dịch cam lên men tự nhiên

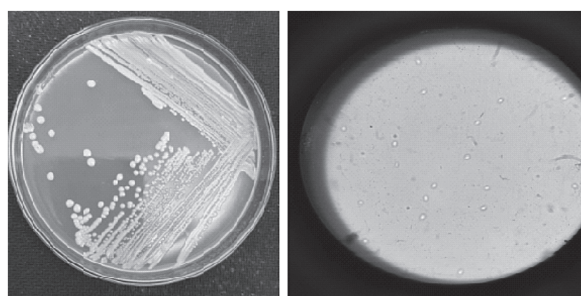
Mục đích của đề tài là phân lập và tuyển chọn được chủng nấm men có khả năng lên men rượu vang cao nhất từ dịch sơ ri lên men tự nhiên. Các nguồn phân lập nấm men từ sơ ri ở chợ Mỹ Xuyên và Mỹ Hòa Hưng, Long Xuyên, An Giang.

Các mẫu dịch quả sau khi ép được điều chỉnh về 20°Brix và pH = 3,8 sau đó cho lên men tự nhiên 3 ngày ở nhiệt độ phòng, rồi tiến hành phân lập theo phương pháp pha loãng. Sau 48 giờ cấy trải đĩa ở 30°C trên môi trường thạch PDA, đem quan sát thấy xuất hiện các khuẩn lạc đơn khác nhau. Chọn những khuẩn lạc đơn nghi ngờ là nấm men đem đi cấy thuần bằng phương pháp cấy rìa trên môi trường thạch PDA. Sau khi cấy rìa có được các loại khuẩn lạc đơn đem đi quan sát tế bào dưới kính hiển vi (X100) xác định được các dòng nấm men thuần khác nhau, tiến hành thử giống để bố trí các thí nghiệm tiếp theo.

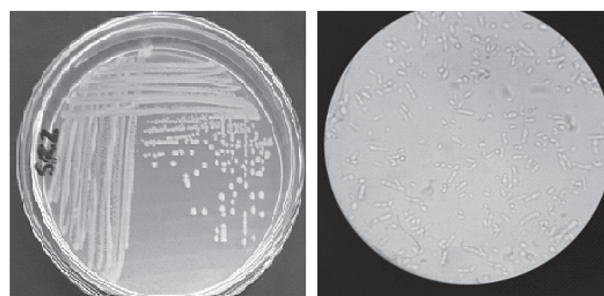
Kết quả phân lập được 6 dòng nấm men từ dịch sơ ri lên men có bổ sung đường. Trong đó, số lượng dòng nấm men được phân lập từ dịch sơ ri ở Mỹ Xuyên là 4 dòng được ký hiệu lần lượt là SR1, SR2, SR3, SR4, số dòng nấm men phân lập từ dịch sơ ri lấy mẫu ở Mỹ Hòa Hưng là 2 dòng được ký hiệu là SR5 và SR6. Dưới đây là bảng mô tả đặc điểm các dòng nấm men phân lập được sau 48 giờ nuôi cấy:

Bảng 1. Mô tả đặc điểm khuẩn lạc và tế bào của 6 dòng nấm men phân lập

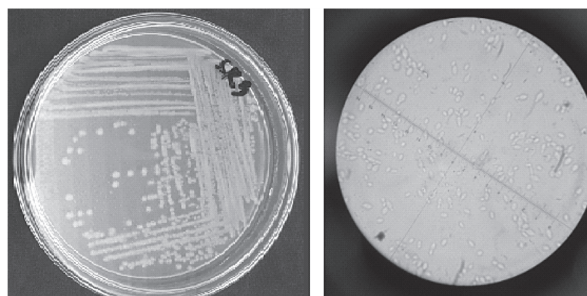
Dòng nấm men	Đặc điểm khuẩn lạc			Đặc điểm tế bào	Kích thước tế bào (μm)	
	Kích thước (mm)	Màu sắc	Hình dạng			
SR1	1,5	Trắng sữa	Mô thấp, bìa răng cưa	Khô	Oval nhỏ	0,3-0,4
SR2	1,5	Trắng đục	Mô cao, bìa răng cưa	Trơn láng	Elip dài, oval	0,4-0,7
SR3	2,0	Trắng sữa	Mô cao, bìa nguyên	Trơn láng	Oval nhỏ và lớn	0,2-0,6
SR4	1,5	Trắng sữa	Mô cao, bìa nguyên	Khô	Oval nhỏ	0,4-0,5
SR5	2,5	Trắng đục	Lài, bìa răng cưa	Trơn láng	Oval lớn	0,5-0,6
SR6	3,0	Trắng đục	Lài, bìa răng cưa	Khô	Hình cầu	0,3



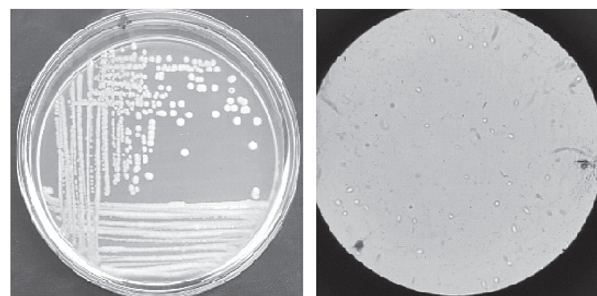
Nấm men SR1



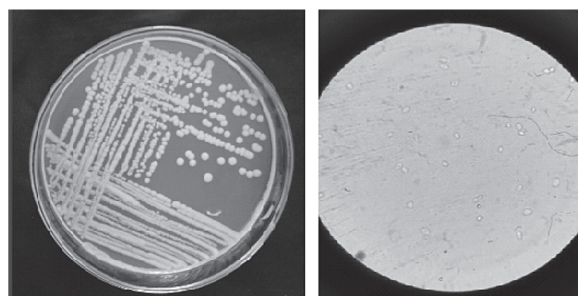
Nấm men SR2



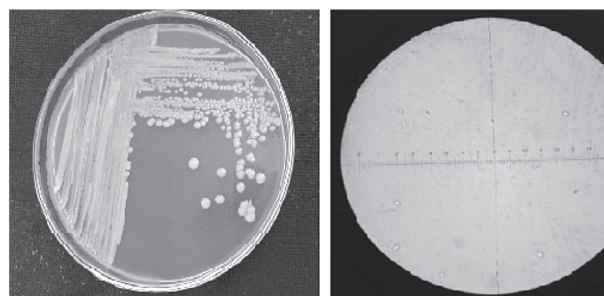
Nấm men SR3



Nấm men SR4



Nấm men SR5



Nấm men SR6

Hình 1. Hình dạng khuẩn lạc (bên trái) và hình dạng tế bào (bên phải) (ở X100) của 6 dòng nấm men

Theo nghiên cứu Đoàn & cs. (2017) đã phân lập được dòng nấm men *Saccharomyces sp.* HG1.3 có khả năng lên men trái giấm ở nhiệt độ 37°C, độ Brix ban đầu đạt 22°Brix, pH = 3,6. Huỳnh & cs. (2017) đã phân lập và tuyển chọn được 7 dòng nấm men từ dịch khóm lên men.

3.2. Kết quả khảo sát khả năng lên men sinh khí CO₂ của các dòng nấm men phân lập

Trong quá trình lên men rượu có hai sản phẩm chính là rượu ethanol và CO₂, để xác định hoạt lực lên men của nấm men có thể dựa vào khả năng sinh khí CO₂ trong quá trình lên men (Nguyễn & cs., 2003). Vì vậy, có thể dựa vào thời gian đầy hết ống Durham sớm nhất để

xác định có hoạt lực lên men mạnh nhất. Tuy nhiên, do thời gian lên men trong ống Durham ngắn trong khi quá trình lên men rượu có thời gian dài (5 ngày). Vì vậy, phương pháp đo chiều cao cột khí CO₂ bằng ống Durham chỉ là cơ sở ban đầu để xác định dòng nấm men có hoạt tính cao.

Chiều cao cột khí CO₂ thể hiện khả năng lên men rượu của các dòng nấm men. Tại các thời điểm đo khác nhau, chiều cao cột khí CO₂ trong ống Durham cũng khác nhau cho thấy cường độ lên men của các dòng nấm men cũng khác nhau. Trên cơ sở tạo cột khí CO₂ trong ống Durham, nhận thấy các dòng nấm men có ký hiệu SR4, SR6 lên men nhanh chóng.

Bảng 2. Chiều cao cột khí CO₂ trong ống Durham (cm) của 6 dòng nấm men phân lập

Dòng	Chiều cao cột khí CO ₂ trong ống Durham (cm)									
	4 giờ	6 giờ	8 giờ	10 giờ	12 giờ	14 giờ	16 giờ	18 giờ	20 giờ	22 giờ
SR1	0,10 ^{ab}	1,06 ^a	2,00 ^{cd}	2,26 ^{bc}	2,20 ^b	2,33 ^a	2,33 ^{ab}	2,50 ^{ab}	2,53 ^{ab}	2,66 ^{ab}
SR2	0,18 ^{cd}	1,33 ^a	1,76 ^{bc}	2,10 ^{abc}	2,36 ^b	2,36 ^a	2,46 ^{ab}	2,60 ^b	2,70 ^{bc}	2,70 ^{ab}
SR3	0,25 ^d	1,33 ^a	1,40 ^a	1,83 ^a	1,80 ^a	1,96 ^a	2,20 ^a	2,20 ^a	2,43 ^a	2,56 ^a
SR4	0,16^{bc}	1,90^b	2,16^d	2,43^c	2,76^c	3,00^b	3,00^c	3,00^c	3,00^d	3,00^c
SR5	0,13 ^{abc}	1,23 ^a	1,66 ^{ab}	2,33 ^{bc}	2,26 ^b	2,36 ^a	2,50 ^b	2,66 ^b	2,73 ^{bc}	2,73 ^{ab}
SR6	0,09 ^a	1,16 ^a	1,96 ^{bcd}	2,06 ^{ab}	2,23 ^b	2,36 ^a	2,46 ^{ab}	2,66 ^b	2,90 ^{cd}	2,90 ^{bc}

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình 3 lần lặp lại, trong cùng một cột các giá trị có mẫu tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%.

Dựa vào kết quả Bảng 2 cho thấy tất cả cột khí CO₂ trong ống Durham (cm) của 6 dòng nấm men đều tăng dần theo thời gian. Sau 4 giờ đầu lên men, đa số các dòng nấm men đều bắt đầu lên men yếu tuy nhiên lên men sớm hơn các dòng nấm men còn lại là SR3 (0,25 cm), khác biệt có ý nghĩa thống kê. Sau 6 giờ lên men thì các dòng nấm men đều lên men mạnh và nhanh, nhưng dòng SR4 lên men mạnh hơn và sinh khí cao hơn các dòng còn lại.

Sau 14 giờ, chiều cao cột khí của 6 dòng nấm men không có sự thay đổi nhiều. Hai dòng nấm men SR4 và SR6 tạo chiều cao cột khí trong ống Durham cao hơn các dòng khác, cho thấy hai dòng SR4, SR6 có khả năng lên men nhanh so với các dòng còn lại. Trong các dòng nấm men

trên thì dòng nấm men SR1 và SR3 lên men yếu.

Sau 22 giờ, dòng nấm men SR4 tạo thời gian sinh khí nhanh nhất và chiều cao cột khí cao nhất (3,00 cm) khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các dòng nấm men còn lại. Trong quá trình sinh hơi, có một số dòng nấm men đầy Durham lên cao do hoạt động sinh khí mạnh. Kết quả khảo sát phù hợp với nghiên cứu của Lý & cs. (2015) sau 4 giờ lên men, đa số các dòng nấm men lên men rất yếu, sau 22 giờ chiều cao cột khí sinh ra trong ống Durham đạt tối đa (3,00 cm).

3.3. Kết quả khảo sát khả năng lên men rượu của các dòng nấm men phân lập (so sánh độ rượu, pH, độ Brix trước và sau lên men)

Sau quá trình lên men 5 ngày thì độ Brix và pH giảm mạnh do nấm men sử dụng đường để

chuyển hóa thành rượu, CO₂ và một số chất khác. Kết quả thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Độ Brix, pH và hàm lượng cồn sau khi lên men của 6 dòng nấm men

Dòng nấm men	pH		Độ Brix		Độ rượu
	Trước lên men	Sau lên men	Trước lên men	Sau lên men	
SR1	4,24	3,53 ^b	20	14,93 ^d	6,50 ^a
SR2	4,24	3,48 ^a	20	14,66 ^d	9,23 ^b
SR3	4,24	3,52 ^{ab}	20	14,43 ^{cd}	9,66 ^{bc}
SR4	4,24	3,65^{cd}	20	13,66^a	12,06^c
SR5	4,24	3,62 ^c	20	13,93 ^{ab}	9,50 ^{bc}
SR6	4,24	3,66 ^d	20	13,76 ^a	10,66 ^{bc}

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình 3 lần lặp lại, trong cùng một cột các giá trị có mẫu tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%.

Sau quá trình lên men, giá trị pH rượu được tạo ra bởi 6 dòng nấm men đều giảm so với pH = 4,24 của dịch lên men ban đầu. Hoạt động của nấm men trong quá trình lên men kỵ khí sinh ra CO₂ và một số acid hữu cơ làm giảm pH của dịch lên men (Lương, 2006). Sau quá trình lên men, các dòng nấm men đều có pH nhỏ hơn 4,0. Trong đó, pH rượu được tạo ra bởi các dòng SR4, SR5 và SR6 giảm ít hơn so với các dòng còn lại và khác biệt có ý nghĩa so với các dòng còn lại.

Độ Brix giảm đáng kể sau quá trình lên men do nấm men hoạt động chuyển hóa đường thành rượu. Trong đó, có các dòng SR4 và SR6 hoạt động làm độ Brix giảm nhiều sau quá trình lên men, sự giảm độ Brix này là khác biệt có ý nghĩa thống kê so với sự giảm độ Brix bởi các dòng còn lại. Độ Brix sau quá trình lên men không thay đổi nhiều so với ban đầu vì thế hàm lượng rượu ethylic trong dịch lên men tạo ra thấp hơn và ngược lại. Sau năm ngày lên men, các dòng nấm men từ SR3 và SR6 tạo ra lượng rượu ethanol cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% so với các dòng nấm men còn lại.

Độ cồn dòng nấm men SR1 là 6,5% (v/v) khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các dòng còn lại. Dòng nấm men SR4 có độ Brix giảm nhiều từ 20°Brix còn 13,66°Brix nên tạo ra hàm lượng rượu ethanol cao nhất so với các dòng còn lại.

Từ các kết quả trên cho thấy, trong 6 dòng nấm men phân lập được thì dòng nấm men SR4 thể hiện hoạt lực cao nhất với các ưu điểm có thời gian kết thúc cột khí CO₂ sớm và rượu có độ cồn cao so với các dòng nấm men còn lại nên được chọn để tiến hành thí nghiệm tiếp theo.

Dòng SR4 có đặc điểm hình thái (trắng sữa, mô cao, bìa nguyên, oval nhỏ, nảy chồi nhiều hướng, 1-2 bào tử hình tròn), kết quả khảo sát đặc điểm sinh hóa (dòng SR4 có khả năng lên men đường glucose và sucrose, không có khả năng phân giải urea) và căn cứ vào khóa phân loại nấm men của Lương (2006) và Nguyễn (2006) có thể định danh sơ bộ dòng nấm men SR4 phân lập từ quả sơ ri thuộc chi *Saccharomyces*. Kết quả đạt được cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyễn & cs. (2013) đã định danh sơ bộ được dòng nấm men *Saccharomyces* từ dịch khóm lên men.

3.4. Sự ảnh hưởng của nồng độ chất khô hòa tan (độ Brix) ban đầu đến quá trình lên men rượu vang

Quá trình lên men là quá trình nấm men sử dụng đường và các chất dinh dưỡng có trong dịch lên men để chuyển hóa thành cồn. Quá trình lên men chịu ảnh hưởng của rất nhiều yếu tố như tỷ lệ nấm men, pH, độ Brix... Vì vậy, để quá trình lên men diễn ra tốt cần phải xác định các thông số trên cho tối ưu. Do đó nghiên cứu đã tiến hành khảo sát ảnh hưởng của độ Brix đến quá trình lên men.

Dựa vào kết quả thí nghiệm 2 và thí nghiệm 3 chọn dòng nấm men SR4 có hoạt lực lên men cao nhất trong 6 dòng nấm men phân lập được để bổ sung vào dịch lên men trong thí nghiệm 4. Tỷ lệ bổ sung nấm men là 2% so với dịch quả với mật độ tế bào đếm được lúc này là 5,31 x 10⁹ tế bào/mL và thu được kết quả như sau:

3.4.1. Sự thay đổi nồng độ chất khô tan (độ Brix) trong thời gian lên men

Bảng 4. Sự thay đổi độ Brix trong thời gian lên men

Brix mẫu	Độ Brix					
	2 ngày	4 ngày	6 ngày	8 ngày	10 ngày	12 ngày
18	13,93 ^a	6,9 ^a	6,63 ^a	6,53 ^a	6,26 ^a	6,03 ^a
20	15,46 ^b	6,8 ^a	6,43 ^a	6,3 ^a	6,2 ^a	6,06 ^a
22	17,93 ^c	9,06 ^b	8,83 ^b	8,26 ^b	8,06 ^b	7,83 ^b

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình 3 lần lặp lại, trong cùng một cột các giá trị có mẫu tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%.

Độ Brix giữa các mẫu có sự thay đổi rõ rệt theo thời gian lên men (Bảng 4). Ở hai ngày lên men, độ Brix sau lên men giảm mạnh so với độ Brix ban đầu. Do hoạt động chuyển hóa đường thành rượu của dòng nấm men SR4. Độ Brix tiếp tục giảm theo thời gian lên men.

Ở 22°Brix nồng độ chất khô hòa tan còn lại khá cao là do khi hàm lượng đường cao, nấm men bị ức chế dẫn đến sinh trưởng cũng như tổng hợp cồn của nấm men bị ảnh hưởng, việc tiêu hao đường sẽ ít đi. Sự thay đổi giữa các độ Brix ban đầu sau lên men được giải thích là do độ Brix ban đầu thấp nên tế bào nấm men sẽ sử dụng triệt để lượng đường có được trong dịch lên men để sinh trưởng và tổng hợp cồn, do đó độ Brix còn lại rất ít.

3.4.2. Ảnh hưởng của độ Brix đến pH trong quá trình lên men

Bảng 5. Sự thay đổi pH trong thời gian lên men

Brix	pH					
	2 ngày	4 ngày	6 ngày	8 ngày	10 ngày	12 ngày
18	3,62 ^c	3,39 ^a	3,36 ^a	3,32 ^a	3,34 ^a	3,38 ^a
20	3,53 ^b	3,46 ^b	3,44 ^b	3,41 ^b	3,40 ^b	3,47 ^b
22	3,48 ^a	3,47 ^b	3,38 ^a	3,36 ^a	3,35 ^a	3,40 ^a

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình 3 lần lặp lại, trong cùng một cột các giá trị có mẫu tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%.

Ở cả 3 mẫu với tỷ lệ độ Brix khác nhau, trong quá trình lên men pH sản phẩm giảm dần theo thời gian (Bảng 5). Đa số pH ở các mẫu giảm

mạnh ở thời gian 4 đến 6 ngày điều này chứng tỏ nấm men hoạt động mạnh mẽ. Sau khi quá trình lên men kết thúc pH tăng nhưng không đáng kể.

3.4.3. Ảnh hưởng của nồng độ chất khô hòa tan (độ Brix) ban đầu đến độ cồn sau lên men

Đường là cơ chất của quá trình lên men nên độ Brix bổ sung ảnh hưởng khá lớn đến độ rượu sinh ra sau lên men. Nếu độ Brix quá cao sẽ làm thay đổi áp suất thẩm thấu, các tế bào nấm men sẽ

bị co nguyên sinh và chết, ngược lại, khi độ Brix thấp, môi trường không đủ nguồn carbon cho nấm men phát triển thì hiệu suất lên men rượu cũng giảm (Bùi Ái, 2003).

Bảng 6. Ảnh hưởng của độ Brix đến độ cồn sau quá trình lên men

Độ Brix	Độ cồn (% v/v, ở 20°C)
18	9,00 ^a
20	12,33 ^b
22	10,33 ^a

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình 3 lần lặp lại, trong cùng một cột các giá trị có mẫu tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%.

Lượng cồn sinh ra sau quá trình lên men ở 3 mẫu khác biệt ý nghĩa thống kê (Bảng 6), điều đó chứng tỏ độ Brix ảnh hưởng đến quá trình lên men. Với mẫu lên men ở độ Brix 18°Brix, 22°Brix cho độ cồn thấp khoảng 9,00 - 10,33% (v/v) (với độ tin cậy 95% không có sự khác biệt giữa các mẫu), riêng mẫu ở 20°Brix độ cồn thu được cao nhất 12,33% (v/v) có sự khác biệt rõ rệt.

Từ kết quả khảo sát ảnh hưởng của độ Brix, pH và độ cồn đến sản phẩm sau quá trình lên men thì mẫu lên men độ Brix ban đầu là 20°Brix cho kết quả thích

hợp nhất, sau quá trình lên men thì pH giảm đi, độ Brix còn sót lại sau quá trình lên men cũng ít hẳn và cho độ còn cao so với các độ Brix ban đầu là 18°Brix và 22°Brix.

3.4.4. *Đánh giá chất lượng cảm quan*

Sản phẩm rượu vang sơ ri lên men từ dòng nấm men SR4 ở 3 độ Brix ban đầu là 18°Brix, 20°Brix và 22°Brix tạo rượu có vị đắng nhẹ, hơi ngọt, khi uống đọng lại vị ngọt đắng. Sau khi lên men 12 ngày tiến hành đánh giá cảm quan. Kết quả thu được thể hiện ở bảng sau:

Bảng 7. Điểm đánh giá cảm quan rượu vang sơ ri

Tỉ lệ Brix	Trạng thái	Màu sắc	Mùi	Vị
18	3,4 ^{ab}	3,8 ^b	3,4 ^a	3,6 ^a
20	3,8 ^b	3,8 ^b	4,2 ^b	4,4 ^b
22	2,8 ^a	2,8 ^a	3,2 ^a	3,2 ^a

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình 3 lần lặp lại, trong cùng một cột các giá trị có mẫu tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%.

Kết quả cảm quan rượu ở ba độ Brix khác nhau cho thấy mẫu rượu ở 20°Brix có điểm cảm quan cao nhất ở trạng thái, màu, mùi và vị được ưa chuộng hơn cả và khác biệt có nghĩa thống kê so với mẫu 18°Brix và 22°Brix.

Ở 20°Brix, rượu trong, không vẩn đục, rót chảy lỏng đều. Về màu sắc, mẫu rượu ở 20°Brix có màu vàng đặc trưng đạt giá trị cảm quan 3,8 điểm đánh giá, cao hơn mẫu rượu ở 22°Brix có màu vàng nâu, hơi đục. Về mùi vị, mẫu rượu ở 20°Brix có mùi thơm dịu, hài hòa, đặc trưng của sơ ri, thoảng mùi rượu, vị ngọt của đường, của rượu, vị chua nhẹ của acid nên cho giá trị cảm quan cao hơn và khác biệt có ý nghĩa so với các mẫu rượu ở 18°Brix và 22°Brix.

Ở độ Brix ban đầu 20°Brix thì pH giảm đi, độ Brix chuyển hóa hết thành rượu và độ còn sau lên men cao nhất. Đồng thời, ở 20°Brix thì rượu vang có mùi thơm nhẹ, trong và cho vị hài hòa.

Chúng tôi ở giá trị này tế bào nấm men hoạt động mạnh, quá trình lên men diễn ra nhanh nên giá trị 20°Brix ban đầu thích hợp nhất cho quá trình lên men rượu vang sơ ri.

4. Kết luận và kiến nghị

Nghiên cứu cho thấy có 6 dòng nấm men SR1, SR2, SR3, SR4, SR5, SR6 được phân lập từ dịch sơ ri ở chợ Mỹ Xuyên và Mỹ Hòa Hưng, Long Xuyên, An Giang. Khảo sát khả năng sinh hóa và khả năng lên men giữa các dòng nấm men phân lập được để chọn dòng nấm men có ưu thế tạo cồn tốt nhất. Kết quả chọn được dòng SR4 (định danh sơ bộ thuộc chi *Saccharomyces*) với thời gian sinh khí nhanh nhất. Qua kết quả khảo sát được nồng độ chất khô hòa tan ban đầu thích hợp nhất cho quá trình lên men để sản xuất rượu vang sơ ri là 20°Brix, vừa cho sản phẩm với độ cồn thích hợp (12,33% v/v) vừa tạo vị hài hòa cho sản phẩm. Tiến hành đánh giá cảm quan chất lượng sản phẩm theo TCVN 7045:2009, sản phẩm lên men đạt độ cồn 12,33% (v/v), có vị hài hòa, mùi đặc trưng của nguyên liệu, có màu vàng đẹp, đạt yêu cầu của đồ uống lên men từ trái cây./.

Tài liệu tham khảo

Bùi, A. (2003). *Công nghệ lên men ứng dụng trong công nghệ thực phẩm*. Hồ Chí Minh: NXB Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

Đoàn, T. K. T., Viên, T. H. Y., Huỳnh, X. P., Bùi, H. Đ. L., Hà, T. T., & Ngô, T. P. D. (2017). Tuyển chọn nấm men chịu nhiệt và ứng dụng lên men rượu vang trái giác (*Cayratia trifolia* l.) từ tỉnh Hậu Giang, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, (54.4B), 64-71.

Huỳnh, X. P., Danh, M. L., Nguyễn, N. T., Lê, P. Đ. Q., Bùi, H. Đ. L., Pornthap, T., Mamoru, Y., & Ngô, T. P. D.. (2017). Tuyển chọn nấm men chịu nhiệt và nghiên cứu điều kiện lên men rượu vang khóm, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, (51B), 7-15.

- Lương, Đ. P. (2006). *Nấm men công nghiệp*, Hà Nội: NXB Khoa học và Kỹ thuật.
- Lý, N. B., Trần, V. K., Hà, P. T., & Nguyễn, V. T. (2015). Phân lập và tuyển chọn nấm men có hoạt lực cao từ men rượu. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, (39B), 18-28.
- Nguyễn, Đ. L. (2006). *Thí nghiệm công nghệ sinh học* (Tập 2), Hồ Chí Minh: NXB Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.
- Nguyễn, Đ. L., Phan, T. H., & Nguyễn, A. T. (2003). *Thí nghiệm công nghệ sinh học tập 2, Thí nghiệm vi sinh vật học*. Hồ Chí Minh: NXB Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.
- Nguyễn, T. T. V. (2010). *Phân tích định lượng*. Hồ Chí Minh: NXB Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.
- Nguyễn, V. T., Nguyễn, M. T., Trần, T. Q., & Nguyễn, T. M. T. (2013). Phân lập, tuyển chọn và định danh nấm men trong lên men rượu vang khóm. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, (25), 27-35.
- Phạm, T. Y. (2017). *Nghiên cứu quy trình sản xuất nước uống lên men từ trái Sơ ri Malpighia Glabra L., Đồ án tốt nghiệp*. Trường Đại học Bà Rịa Vũng Tàu, Việt Nam.