

Ảnh hưởng của một số yếu tố đến quá trình lên men rượu vang khóm (*Ananas comosus*) Tân Phước (Tiền Giang)

The effects of some factors on the fermentation process of *Tan Phuoc* (Tiền Giang) pineapple wine (*Ananas comosus*)

Phạm Thành Lễ^{1,*}

¹ Trường Đại học Tiền Giang, 119 Ấp Bắc, Phường 5, Mỹ Tho, Tiền Giang, Việt Nam

Thông tin chung

Ngày nhận bài:

17/06/2021

Ngày nhận kết quả phân biện:

06/07/2021

Ngày chấp nhận đăng:

15/09/2021

Từ khóa:

Khóm, lên men, nấm men, rượu vang, *Saccharomyces cerevisiae*

Keywords:

Pineapples, fermentation, yeast cells, wine, *Saccharomyces cerevisiae*

Tóm tắt

Khóm là loại trái cây có hương vị thơm ngon và giàu vitamin như A, B₁, B₂, and C. Từ loại trái cây này hứa hẹn mang đến một loại rượu trái cây mới về hương vị và có màu sắc đẹp, góp phần đa dạng hóa các sản phẩm lên men từ trái cây. Trong nghiên cứu này, khảo sát ảnh hưởng của mật số nấm men *Saccharomyces cerevisiae* (5 - 25 triệu CFU/ml), độ pH (3,6 - 4,2) và hàm lượng chất khô hòa tan (20 - 28 °Brix) của dịch lên men ban đầu đến chất lượng rượu vang được khảo sát. Kết quả nghiên cứu cho thấy rượu vang khóm đạt chất lượng cao (hàm lượng ethanol 12,8 %V, nồng độ chất khô còn lại là 7,1 °Brix và pH 3,85 sau 12 ngày lên men) khi dịch lên men được điều chỉnh ban đầu với mật số nấm men 15 triệu CFU/ml, pH 4,0 và hàm lượng chất khô hòa tan 26 °Brix.

Abstract

Pineapples are a kind of fruit with a delicious taste and rich in vitamins such as A, B₁, B₂, and C. This kind of fruit is promising to make a kind of wine with a new flavor and beautiful colors, contributing to diversify fermented products from fruits. In this research, the effects of the number of *Saccharomyces cerevisiae* yeast cells (5 - 25 x 10⁹ CFU/ml), the pH values (3.6 - 4.2) and the content of soluble solids (20 - 28 °Brix) of the initial fermented solution on the quality of pineapple wine were investigated. The research results show that the pineapple wine achieves the high quality (ethanol content of 12.8 %V, remaining soluble solid content of 7.1 °Brix and pH of 3.85 after 12 days of fermentation) when the fermented solution is initially adjusted with the number of yeast cells of 15 x 10⁹ CFU/ml, pH of 4.0 and the content of soluble solids of 26 °Brix.

1. GIỚI THIỆU

Khóm là một trong những cây ăn trái quan trọng trên thế giới đứng thứ 3 sau chuối và cây có múi, khóm tiêu thụ chủ yếu qua chế biến và ăn tươi. Tỉnh Tiền Giang có vùng chuyên canh khóm

lớn nhất Đồng bằng sông Cửu Long với diện tích 15.082 ha, năng suất bình quân 17 tấn/ha, sản lượng hơn 257.843 tấn/năm, tập trung tại các xã: Thạnh Mỹ, Mỹ Phước, Hưng Thạnh, Thạnh Tân, Thạnh Hòa, Tân Hòa Đông, Tân Lập 1,

* tác giả liên hệ, email: phamthanhle@tgu.edu.vn, 0918 676 234

Tân Lập 2, Phước Lập thuộc huyện Tân Phước [1]. Tại Tiền Giang, khóm đã được cấp chứng nhận sản xuất an toàn theo tiêu chuẩn VietGAP. Bên cạnh đó, Cục Sở hữu trí tuệ cũng đã cấp văn bằng bảo hộ Nhãn hiệu tập thể số 178303 cho sản phẩm Khóm Tân Lập. Khóm Tân Phước được tinh chọn là một trong 7 loại trái ngon tập trung đầu tư mở rộng phát triển sản xuất [2].

Tân Phước - Tiền Giang là một huyện nằm trong vùng Đồng Tháp Mười, nên đất đai, nguồn nước đều bị nhiễm phèn, hàng năm còn bị ảnh hưởng của lũ lụt. Nhưng thổ nhưỡng của vùng đất này lại được xem phù hợp để phát triển cây khóm (chủ yếu là khóm Queen). Khóm là cây ăn trái tham gia xuất khẩu chủ lực của tỉnh nhà bên cạnh xoài cát Hòa Lộc, thanh long, nhãn và vú sữa lò rèn. Hiện nay, khóm Tân Phước được tiêu thụ chủ yếu tại thị trường nội địa và được xuất khẩu sang các nước Châu Âu, Nhật, Singapore, Hongkong, Nga,... với các sản phẩm khóm tươi, sản phẩm khóm miếng khoanh đóng hộp, nước ép, puree,... Tuy nhiên, việc sản xuất và tiêu thụ khóm ở Tiền Giang vẫn còn nhiều khó khăn, thách thức đối với người nông dân do giá khóm không ổn định. Thường vào mùa chính vụ thu hoạch rộ tập trung chủ yếu vào tháng 5 và tháng 6 hàng năm, với lượng khóm tươi rất lớn nên thường xuyên xảy ra tình trạng “đụng hàng, dội chợ, rớt giá”, người trồng khóm thường gặp nhiều khó khăn trong khâu tiêu thụ. Bên cạnh đó, trái khóm có thời gian tồn trữ ngắn cũng như khả năng cân tiêu thụ số lượng trái không đạt chuẩn xuất khẩu và chế biến là một vấn đề rất được quan tâm.

Rượu vang là loại rượu lên men từ các loại dịch ép trái cây như nho, táo, lê,... bởi một số chủng nấm men riêng cho từng loại nguyên liệu. Rượu vang thu được không qua chưng cất, có hương vị thơm ngon từ trái cây tự nhiên, độ rượu nhẹ (10 - 14%), thích hợp với phụ nữ và người cao tuổi. Đối với các quá trình lên men rượu vang khi sử dụng các loại nguyên liệu trái cây và điều kiện lên men khác nhau sẽ ảnh hưởng rất lớn đến chất lượng rượu vang [3]. Theo [4] cho rằng, việc nghiên cứu ảnh hưởng của các thành phần tham gia vào hoạt động sinh trưởng của nấm men (mật số nấm men, nồng độ chất khô hòa tan và pH của dịch lên men) là bước đi không thể thiếu trong tiến trình nâng cao chất lượng vang khóm. Nghiên cứu này là phần quan trọng nhất để tạo ra sản phẩm rượu vang có chất lượng tốt nhất.

Do đó, một trong những giải pháp được đặt ra là sử dụng trái khóm để sản xuất rượu vang vừa tận dụng được nguồn nguyên liệu dồi dào, gia tăng lợi ích kinh tế cho người trồng vừa góp phần đa dạng hóa sản phẩm và tạo ra một sản phẩm có lợi cho sức khỏe.

2. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Nguyên liệu chính: Khóm chín đưa vào chế biến cần tươi tốt, không dập, sâu bệnh và có độ chín thích hợp khi vỏ quả có màu vàng từ $\frac{1}{2}$ quả trở lên, không quy định về kích thước và hình dạng quả. Khóm tươi được thu hoạch ở xã Tân Lập 1, huyện Tân Phước, tỉnh Tiền Giang; sau đó vận chuyển đến phòng thí nghiệm Bộ môn Công nghệ thực phẩm - Trường Đại học Tiền Giang được rửa sạch, gọt vỏ và ép lấy nước. Dịch quả sau khi ép được lọc và

khử trùng bằng NaHSO_3 ở nồng độ 140 mg/l trong vòng 30 phút [4]. Khối lượng nguyên liệu dịch khóm/mẫu thí nghiệm là 1 lít. Thí nghiệm bố trí ngẫu nhiên với 1 nhân tố thay đổi, các nhân tố còn lại cố định trong suốt quá trình thí nghiệm. Kết quả tối ưu của thí nghiệm trước dùng làm cơ sở cho thí nghiệm sau.

Giống nấm men: Dòng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* được sử dụng có nguồn gốc từ phòng thí nghiệm Vi sinh thực phẩm thuộc Bộ môn Công nghệ thực phẩm - Trường Đại học Tiền Giang. Giống được giữ trên môi trường thạch Sabouraud trong các ống thạch nghiêng, bảo quản ở 4 - 10°C. Định kỳ cấy chuyên 2 tháng/1 lần. Trước khi sử dụng, nấm men được nhân giống trên môi trường dinh dưỡng (khoai tây 20%, glucose 2%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,2% và KH_2PO_4 0,2% và nước vừa đủ 100%). Dịch nuôi cấy được phân phối vào bình tam giác đáy bằng nút gòn, khử trùng ở 121°C trong 15 phút, cấy men giống ở 30°C trên máy lắc 140 vòng/phút [5].

Lên men: Thực hiện quá trình lên men ở nhiệt độ phòng (28 - 30°C) trong điều kiện yếm khí. Thực hiện và kiểm soát tiến trình lên men chính trong 12 ngày. Cách 2 ngày lấy mẫu dịch lên men, kiểm tra mật số nấm men, hàm lượng chất khô, hàm lượng nitơ amin và khả năng sinh tổng hợp ethanol.

2.2. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của tỷ lệ giống cấy ban đầu bổ sung vào dịch lên men đến chất lượng sản phẩm

Dịch khóm trong bình lên men sau khi điều chỉnh độ Brix 22% bằng đường glucose, pH tự nhiên của dịch quả từ 3,85 - 3,94; bổ sung tỷ lệ giống cấy (nấm men *Saccharomyces cerevisiae*) vào dịch lên men thay đổi từ 5 - 25 triệu CFU/ml,

thực hiện lên men ở nhiệt độ phòng. Tiến hành khảo sát quá trình lên men liên tục trong khoảng thời gian 12 ngày, cứ 2 ngày (48 giờ) lấy mẫu dịch lên men đem phân tích.

Chỉ tiêu theo dõi: Khảo sát sự thay đổi mật số nấm men, hàm lượng chất khô, hàm lượng nitơ amin và ethanol trong dịch lên men.

Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của hàm lượng chất khô ban đầu bổ sung vào dịch lên men đến chất lượng sản phẩm

Dịch khóm trong bình lên men được bổ sung lượng giống cấy theo kết quả của thí nghiệm 1, pH tự nhiên của dịch khóm từ 3,85 - 3,94; điều chỉnh độ Brix dịch lên men bằng đường glucose thay đổi từ 20 - 28 °Brix, thực hiện lên men ở nhiệt độ phòng. Tiến hành khảo sát quá trình lên men liên tục trong khoảng thời gian 12 ngày, cứ 2 ngày (48 giờ) lấy mẫu dịch lên men đem phân tích.

Chỉ tiêu theo dõi: Khảo sát sự thay đổi mật số nấm men, hàm lượng chất khô, hàm lượng nitơ amin và ethanol trong dịch lên men.

Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng của pH ban đầu bổ sung vào dịch lên men đến chất lượng sản phẩm

Dịch khóm trong bình lên men được bổ sung tỷ lệ giống cấy theo kết quả của thí nghiệm 1, hàm lượng chất khô theo kết quả của thí nghiệm 2, pH của dịch lên men thay đổi từ 3,6 - 4,2 được điều chỉnh bằng acid citric hoặc NaHCO_3 , thực hiện lên men ở nhiệt độ phòng. Tiến hành khảo sát quá trình lên men liên tục trong khoảng thời gian 12 ngày, cứ 2 ngày (48 giờ) lấy mẫu dịch lên men đem phân tích.

Chỉ tiêu theo dõi: Khảo sát sự thay đổi mật số nấm men, hàm lượng chất

khô, hàm lượng nitơ amin và ethanol trong dịch lên men:

2.3. Phương pháp phân tích

- Xác định hàm lượng ethanol bằng phương pháp chưng cất [6].

- Hàm lượng đường (%) theo phương pháp Lane-Eynone [7].

- Xác định mật số nấm men trực tiếp trên buồng đếm hồng cầu.

- Xác định hàm lượng nitơ amin (TCVN 3708 - 90).

- Tổng chất khô hòa tan ($^{\circ}$ Brix) được đo bằng chiết quang kế (Nhật sản xuất).

- Hàm lượng acid tổng (tính theo acid acetic, g/L): bằng phương pháp chuẩn độ với NaOH 0,1N với chất chỉ thị màu phenolphthalein (TCVN 4589:1988).

Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm thống kê STATGRAPHICS.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân tích thành phần nguyên liệu

Qua kết quả phân tích ở bảng 1 cho thấy khóm (Tân Phước) khi chín có hàm lượng đường tổng tương đối cao 12,75%, hàm lượng acid tổng 5,3 g/L tương ứng với pH= 3,85.

Bảng 1. Thành phần hóa học của dịch khóm tươi

Thành phần	Hàm lượng
Độ ẩm (%)	81,17
Hàm lượng chất khô hòa tan ($^{\circ}$ Brix)	12,57
pH	3,85
Độ cứng	0,15
Độ acid (g/L tính theo acid acetic)	5,3

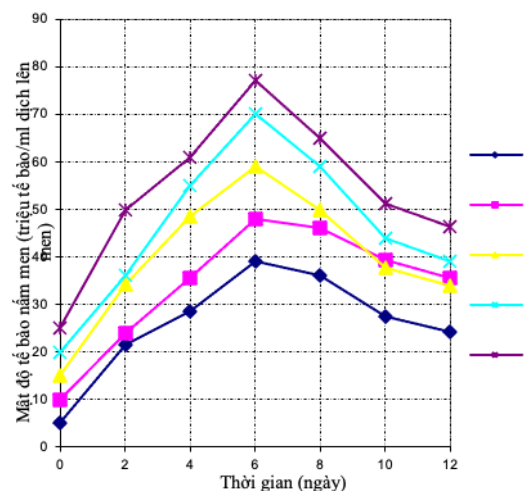
Đường tổng (g/100 ml) 12,75

Trong quá trình khảo sát nguyên liệu nhận thấy, dịch khóm có mùi với cường độ mạnh, màu vàng đẹp, hương vị đậm đà, điều này cho thấy trái khóm cũng là một loại nguyên liệu thích hợp sản xuất rượu vang.

3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ giống cây ban đầu bổ sung vào dịch lên men đến chất lượng sản phẩm

Do tính chất và thành phần khác nhau nên mỗi loại dịch quả sẽ cần một lượng mật số tế bào nấm men cần thiết để lên men. Nếu số lượng tế bào nấm men bổ sung vào dịch lên men thấp thì tốc độ của quá trình lên men bị chậm; điều này lại tạo điều kiện môi trường thuận lợi cho các loài vi sinh vật có hại như nấm mốc, vi khuẩn lên men acetic, lactic phát triển. Ngược lại, nếu mật số nấm men bổ sung quá cao sẽ xảy ra hiện tượng tăng sinh khối quá lớn dẫn đến cạnh tranh dinh dưỡng do nồng độ cơ chất giảm nhanh trong thời gian quá ngắn, kết quả là hoạt động sống và mật số tế bào nấm men bị ảnh hưởng nghiêm trọng.

3.2.1. Sự thay đổi mật số tế bào nấm men/ml dịch lên men

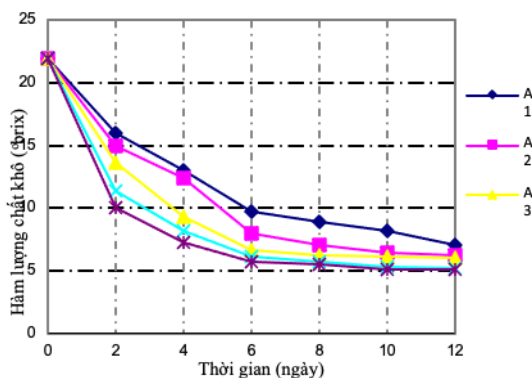


Hình 1. Sự thay đổi mật số tế bào nấm men khi lên men ở tỷ lệ giống cấy ban đầu khác nhau

Dựa vào Hình 1 nhận thấy, mật số tế bào nấm men trong dịch lên men ở các thí nghiệm đều tăng lên rất nhanh thể hiện qua độ dốc của đồ thị. Khi tăng lượng giống cấy thì mật số tế bào nấm men trong dịch lên men đều tăng và đạt cực đại sau 6 ngày lên men. Khi đó, ở mẫu A₁ đạt cực đại là 36 triệu CFU/ml trong khi ở mẫu A₅ là 77 triệu CFU/ml.

Sau ngày lên men thứ 6, mật số tế bào nấm men trong các mẫu thí nghiệm đều giảm cho đến khi quá trình lên men chính kết thúc. Điều này được giải thích là do lượng nấm men chết đi nhiều hơn so với lượng nấm men mới sinh ra. Mật khác lượng ethanol sinh tổng hợp ngày càng nhiều cùng với lượng cơ chất trong môi trường ngày càng cạn kiệt đã ức chế khả năng sinh trưởng của nấm men. Với mẫu A₃, A₄, A₅ do lượng giống cấy ban đầu nhiều hơn so với 2 mẫu A₁, A₂ nên hoạt động sinh sản, sinh dưỡng diễn ra với cường độ cao hơn dẫn đến mật số nấm men ở mẫu thí nghiệm này đạt đỉnh nhanh và mau chóng giảm hơn so với các mẫu còn lại.

3.2.2. Sự thay đổi hàm lượng chất khô trong dịch lên men

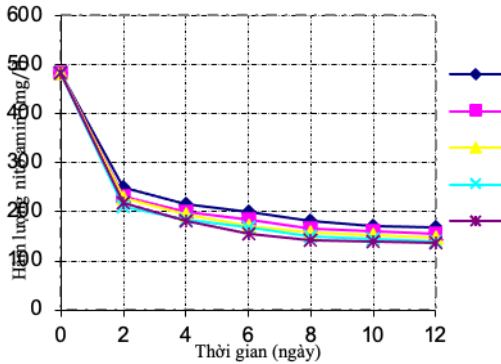


Hình 2. Sự thay đổi hàm lượng chất khô khi lên men ở tỷ lệ giống cấy ban đầu khác nhau

Dựa vào Hình 2 nhận thấy, mẫu thí nghiệm có lượng giống cấy càng cao thì hàm lượng chất khô giảm đi càng nhanh. Mẫu A₁ có lượng giống cấy thấp nhất nên hàm lượng chất khô giảm chậm đến khi kết thúc quá trình lên men chính hàm lượng chất khô vẫn còn cao là 7,5 °Brix trong khi đó mẫu A₅ là 5,1 °Brix sau 12 ngày lên men. Tốc độ sử dụng đường nhanh nhất trong 6 ngày đầu lên men chính tương ứng với mật số nấm men trong dịch lên men đạt cực đại. Theo [5], trong môi trường kỵ khí thì lượng cơ chất tiêu tốn cho nấm men nhiều hơn so với trong điều kiện hiếu khí. Ngoài ra, theo [8], có khoảng 10% glucose được sử dụng cho quá trình sinh khối của nấm men, phần còn lại được chuyển hóa thành rượu ethylic và các sản phẩm phụ khác như glycerol, pyruvate,...

3.2.3. Sự thay đổi hàm lượng nitơ amin trong dịch lên men

Thông thường nấm men sử dụng nitơ amin để tổng hợp protein phục vụ cho quá trình sinh trưởng và tăng sinh khối của chúng. Kết quả Hình 3 cho thấy, khi tăng lượng giống cấy ban đầu thì tốc độ giảm nitơ amin trong dịch lên men diễn ra nhanh hơn là do tốc độ tăng sinh khối của nấm men.



Hình 3. Sự thay đổi hàm lượng nitơ amin khi lên men ở tỷ lệ giống cấy ban đầu khác nhau

3.2.4. Sự thay đổi hàm lượng ethanol trong dịch lên men

Theo [4] cho rằng, trong cùng điều kiện pH và độ Brix ban đầu, hàm lượng rượu tạo thành phụ thuộc chủ yếu vào mật số nấm men sử dụng. Ở mẫu A₁, A₂ khi tỷ lệ giống cấy bổ sung vào tương ứng là 5 và 10 triệu CFU/ml thì hàm lượng ethanol sinh ra thấp hơn. Đó là do mật số nấm men bổ sung thấp, sinh khối nấm men không đủ để thực hiện quá trình chuyển hóa hết đường thành rượu; hàm lượng ethanol tổng hợp đạt mức cao ở ngày lên men thứ 8, những ngày sau lượng còn sinh

Bảng 2. Sự thay đổi hàm lượng ethanol khi lên men ở tỷ lệ giống cấy ban đầu khác nhau

Tỷ lệ giống cấy (triệu CFU/ml dịch lên men)	Thời gian (ngày)						CV (%)
	2	4	6	8	10	12	
A ₁ (5)	5,16 ^d	6,81 ^c	7,30 ^b	8,32 ^a	8,43 ^a	8,49 ^a	5,58
A ₂ (10)	6,18 ^d	7,50 ^c	8,10 ^b	9,22 ^a	9,34 ^a	9,41 ^a	5,24
A ₃ (15)	6,30 ^c	7,84 ^b	10,09 ^a	10,10 ^a	10,24 ^a	10,27 ^a	4,46
A ₄ (20)	8,03 ^c	9,11 ^b	9,36 ^a	9,42 ^a	9,45 ^a	9,47 ^a	4,13
A ₅ (25)	8,50 ^c	9,01 ^b	9,21 ^a	9,25 ^a	9,27 ^a	9,30 ^a	4,02

Ghi chú: Các giá trị trên cùng một hàng có chữ cái thường (a,b,c,d...) khác nhau thì thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$)

ra cũng tăng lên nhưng không có sự khác biệt; cơ chất sót lại còn nhiều là cơ hội để các chủng vi sinh vật khác phát triển như vi khuẩn lactic, vi khuẩn acetic,... rượu sẽ bị giảm chất lượng rượu vang.

Ở mẫu A₃, A₄ khi tăng lượng giống cấy 10, 15 triệu CFU/ml thì khả năng lên men càng mạnh, lượng đường được chuyển hóa thành rượu càng triệt để, thời gian lên men được rút ngắn lại (đạt cực đại ở ngày thứ 6). Lượng giống cấy bổ sung tăng cùng với lượng ethanol trong dịch lên men tạo ra càng nhiều làm cho rượu vang có nồng độ cồn cao hơn là điều mà chúng ta mong muốn, đồng thời nồng độ cồn cao sẽ ức chế hoạt động của các chủng vi sinh vật gây hại. Tuy nhiên, mẫu A₅ khi tăng tỷ lệ giống cấy đến 25 triệu CFU/ml thì nồng độ ethanol tạo ra thấp hơn so với các mẫu A₃, A₄ là do nấm men sử dụng một lượng lớn cơ chất để phát triển sinh khối; vì vậy hàm lượng chất khô dùng cho sự tổng hợp ethanol ít đi, dẫn đến hàm lượng ethanol được tổng hợp thấp hơn.

Bảng 3. So sánh khả năng sinh tổng hợp ethanol khi lên men ở các tỷ lệ giống cấy ban đầu khác nhau

Mẫu thí nghiệm	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	CV (%)
Hàm lượng ethanol (%V)	8,32 ^c	9,22 ^b	10,09^a	9,31 ^b	9,21 ^b	5,67
Thời gian lên men (ngày)	8	8	6	6	6	

Ghi chú: Các giá trị trên cùng một hàng có chữ cái thường (a,b,c,d...) khác nhau thì thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$)

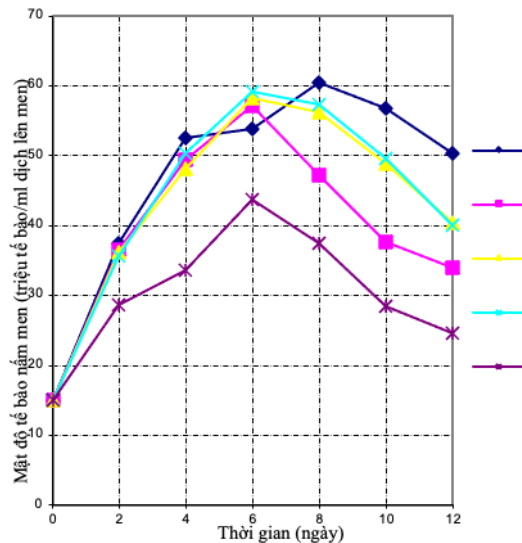
Trong sản xuất rượu vang nấm men là nhân tố hàng đầu, quyết định đến chất lượng của vang thành phẩm. Quá trình lên men nhanh hay chậm, lượng ethanol tạo ra nhiều hay ít, hương vị, màu sắc, trạng thái tốt hay xấu được quyết định bởi chất lượng cũng như số lượng nấm men bổ sung vào dịch lên men. Từ kết quả thống kê ở bảng 3 nhận thấy, mẫu A₃ có hàm lượng cồn cao nhất là 10,09 %V ở ngày lên men thứ 6 và khác biệt so với 4 mẫu thí nghiệm còn lại. Vì vậy, tỷ lệ nấm men bổ sung là 15 triệu CFU/ml được xem là phù hợp nhất cho quá trình lên men chính sản xuất rượu vang khóm.

3.3. Ảnh hưởng của hàm lượng chất khô ban đầu bổ sung vào dịch lên men đến chất lượng sản phẩm

Hàm lượng chất khô hòa tan ban đầu trong dịch lên men có ảnh hưởng rất lớn đến quá trình lên men. Nếu hàm lượng chất khô hòa tan quá cao sẽ kìm hãm quá trình lên men do tạo ra áp suất thẩm thấu đối với nấm men. Ngược lại, nếu hàm lượng chất khô hòa tan quá thấp thì lượng ethanol tạo ra sẽ không cao vì thiếu chất dinh dưỡng và sản phẩm có vị không hài hòa. Vì vậy, ở thí nghiệm này tiến hành khảo sát ảnh hưởng của nồng độ chất khô hòa tan đến quá trình lên men và chất lượng cảm quan của sản phẩm.

3.3.1. Sự thay đổi mật số tế bào nấm men/ml lên men

Kết quả Hình 4 cho thấy, trong những ngày đầu lên men, mật số tế bào nấm men trong dịch lên men ở các mẫu thí nghiệm đều tăng. Mẫu B₁ (ứng với dịch lên men 20 °Brix) thì mật số tế bào nấm men đạt cực đại là 60,5 triệu CFU/ml (ở ngày lên men thứ 8); trong khi ở mẫu B₅ (ứng với dịch lên men 28 °Brix) thì mật số tế bào chỉ đạt cực đại là 43,8 triệu CFU/ml (ở ngày lên men thứ 6) và thấp nhất so với các mẫu thí nghiệm còn lại. Sau khoảng thời gian lên men này, mật số tế bào nấm men ở các mẫu thí nghiệm giảm dần cho đến khi quá trình lên men chính kết thúc.

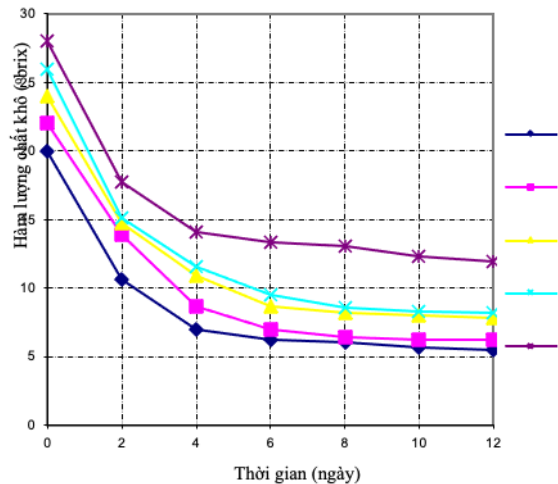


Hình 4. Sự thay đổi mật số tế bào nấm men khi lên men ở các hàm lượng chất khô ban đầu khác nhau

Điều này được giải thích là do trong những ngày đầu nấm men sử dụng chất dinh dưỡng trong dịch lên men để tăng sinh khối. Tuy nhiên, do mẫu B₅ có hàm lượng chất khô hòa tan ban đầu cao nhất, dẫn đến áp suất thẩm thấu trong dịch lên men tạo ra cao hơn so với các mẫu còn lại nên ức chế sự phát triển của nấm men. Ngược lại mẫu B₁ có hàm lượng chất khô thấp, ít bị ảnh hưởng và sinh khối nấm men cao hơn. Sau khi mật số tế bào đã đạt cực đại cũng đồng nghĩa với lượng cơ chất giảm, hàm lượng ethanol trong môi trường tăng làm hạn chế khả năng sinh sản của nấm men nên sinh khối nấm men trong dịch lên men lại giảm dần.

3.3.2. Sự biến đổi của hàm lượng chất khô trong dịch lên men

Dựa vào Hình 5 nhận thấy, ở giai đoạn đầu có sự giảm đều hàm lượng chất khô, riêng đối với mẫu B₅ hàm lượng chất khô giảm chậm nhất là do hàm lượng chất khô cao đã ức chế sự phát triển của nấm men nên việc sử dụng dưỡng chất chậm nhất. Mẫu B₁ và B₂ có tốc độ giảm chất khô nhanh hơn so với các mẫu còn lại là do tốc độ sinh trưởng của nấm men ít bị ảnh hưởng bởi hàm lượng chất khô.

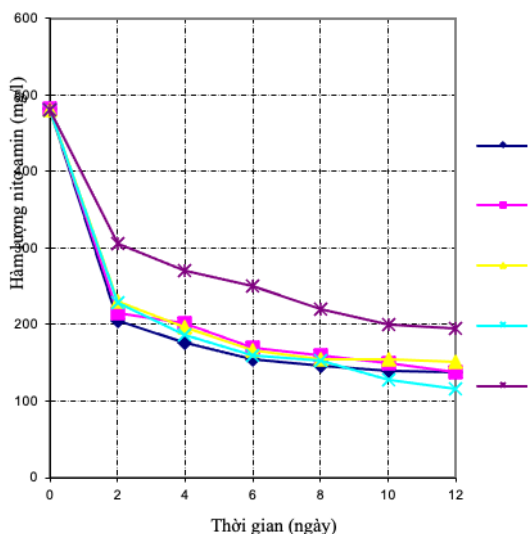


Hình 5. Sự thay đổi hàm lượng chất khô khi lên men ở các hàm lượng chất khô ban đầu khác nhau

3.3.3. Sự biến đổi của hàm lượng nitơ amin trong dịch lên men

Kết quả Hình 6 cho thấy, trong 6 ngày đầu hàm lượng nitơ amin ở các mẫu thí nghiệm đều giảm nhanh sau đó chậm dần đến khi kết thúc giai đoạn lên men chính.

Mẫu B₁, B₂ có tốc độ giảm nitơ amin trong dịch lên men diễn ra nhanh hơn so với các mẫu còn lại. Điều này là do hàm lượng chất khô trong dịch lên men cao sẽ ức chế khả năng sinh tổng hợp của nấm men dẫn đến mật số nấm men ít hơn và khả năng sử dụng nitơ amin cho phát triển sinh khối của nấm men cũng chậm hơn.



Hình 6. Sự thay đổi hàm lượng nitơ amin khi lên men ở các hàm lượng chất khô ban đầu khác nhau

3.3.4. Sự biến đổi của hàm lượng ethanol trong dịch lên men

Kết quả bảng 4 cho thấy, hàm lượng ethanol sinh tổng hợp tăng lên qua các ngày lên men. Tuy nhiên, mẫu thí nghiệm B₄ có tốc độ sinh tổng hợp ethanol là cao nhất, kế tiếp là các mẫu thí nghiệm B₃, B₂, B₁ và cuối cùng là mẫu B₅. Ở mẫu B₁, do lượng đường cần thiết cho quá trình chuyển hóa rượu không còn nhiều (do nấm men sử dụng để phát triển sinh khối), nên lượng ethanol tạo ra thấp. Ở các mẫu B₂, B₃, B₄ tương ứng hàm lượng chất khô tăng thì lượng cơ chất cung cấp cho quá trình lên men cũng đầy đủ hơn, do đó lượng ethanol tạo ra nhiều hơn, rượu vang có màu sắc đẹp, hương vị hấp dẫn hơn và lượng ethanol trong dịch lên men cao đến 12,15 %V sau ngày lên men thứ 8 (mẫu B₄).

Bảng 4. Sự thay đổi hàm lượng ethanol khi lên men ở các hàm lượng chất khô ban đầu khác nhau

Hàm lượng chất khô (°Brix)	Thời gian (ngày)						CV (%)
	2	4	6	8	10	12	
B ₁ (20)	5,86 ^c	8,13 ^b	9,33 ^a	9,37 ^a	9,44 ^a	9,45 ^a	5,12
B ₂ (22)	6,57 ^c	8,12 ^b	9,92 ^a	10,27 ^a	10,34 ^a	10,37 ^a	5,36
B ₃ (24)	7,21 ^d	9,00 ^c	11,10 ^a	11,67 ^a	11,76 ^a	11,76 ^a	5,07
B ₄ (26)	7,47 ^d	9,81 ^c	11,32 ^b	12,15 ^a	12,22 ^a	12,38 ^a	4,75
B ₅ (28)	5,45 ^d	7,15 ^c	8,35 ^b	8,41 ^b	8,98 ^a	9,24 ^a	4,58

Ghi chú: Các giá trị trên cùng một hàng có chữ cái thường (a,b,c,d...) khác nhau thì thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$)

Bảng 5. So sánh khả năng sinh tổng hợp ethanol khi lên men ở các hàm lượng chất khô ban đầu khác nhau

Mẫu thí nghiệm	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	B ₅	CV (%)
Hàm lượng ethanol (%V)	9,33 ^c	9,92 ^c	11,10 ^b	12,15^a	8,98 ^d	6,21
Thời gian lên men (ngày)	6	6	6	8	10	

Ghi chú: Các giá trị trên cùng một hàng có chữ cái thường (a,b,c,d...) khác nhau thì thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$)

Ở mẫu B₅ có hàm lượng chất khô 28 °Brix thì lượng ethanol sinh ra trong quá trình lên men là thấp nhất và thời gian kết thúc quá trình lên men chính kéo dài hơn. Điều này là do hàm lượng chất khô của dịch lên men cao tạo ra sự chênh lệch áp suất thẩm thấu giữa tế bào nấm men và môi trường bên ngoài. Hiện tượng này gọi là co nguyên sinh, làm ức chế hoạt động sống của nấm men dẫn đến giảm năng lực lên men. Theo [4], khi lên men cùng điều kiện pH và mật số nấm men, hàm lượng ethanol tăng đáng kể khi °Brix của dịch lên men cao hơn 20. Tuy nhiên, khi môi trường lên men được điều chỉnh hàm lượng chất khô cao hơn 26 °Brix thì khả năng sinh tổng hợp ethanol sẽ giảm.

Qua kết quả ở bảng 5 cho thấy, hàm lượng chất khô ban đầu của dịch lên men thích hợp nhất cho quá trình lên men rượu vang khóm là 26 °Brix, khi đó lượng cồn trong dịch men cao nhất (12,15 %V) và khác biệt so với các mẫu thí nghiệm còn lại.

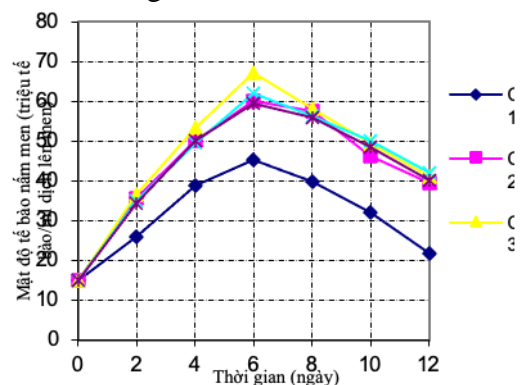
3.4. Ảnh hưởng của pH ban đầu bổ sung vào dịch lên men đến chất lượng sản phẩm

pH có ảnh hưởng lớn đối với sự sinh trưởng và phát triển của nấm men, pH tối thích cho sự phát triển của nấm men thường khoảng 4,0 - 5,0. Tuy nhiên, trong quá trình lên men sản xuất rượu vang thường điều chỉnh pH dịch lên men xuống thấp hơn khoảng 3,5 - 4,5 để hạn chế sự lên men của vi khuẩn tạp [3].

3.4.1. Sự biến đổi mật số tế bào nấm men/ml dịch lên men

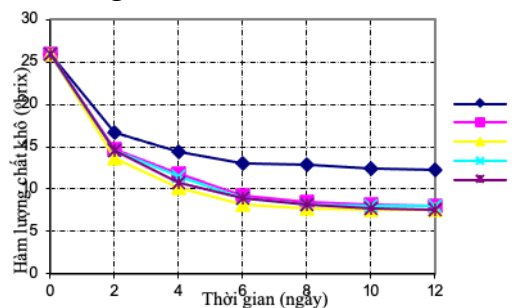
Qua đồ thị Hình 7 nhận thấy, ở mẫu thí nghiệm từ C₂ đến C₅ gần với pH tối thích của nấm men nên quá trình sinh trưởng diễn ra mạnh mẽ, mật số tế bào tăng nhanh và đạt cao nhất sau 6 ngày lên men. Ngược lại, mẫu C₁ tương ứng với pH dịch lên men là 3,6 có mật

số nấm men trong dịch lên men là thấp nhất là do ở pH thấp đã ức chế sự sinh trưởng của nấm men.



Hình 7. Sự thay đổi mật số tế bào nấm men khi lên men ở các pH ban đầu khác nhau

3.4.2. Sự biến đổi của hàm lượng chất khô trong dịch lên men



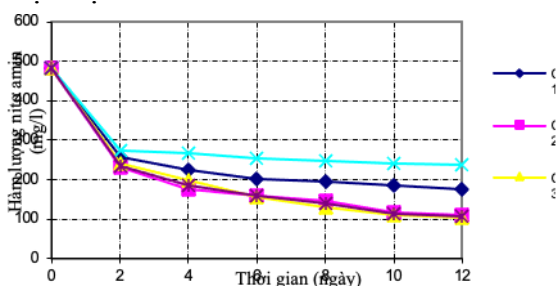
Hình 8. Sự thay đổi hàm lượng chất khô khi lên men ở các pH ban đầu khác nhau

Dựa vào Hình 8 nhận thấy, hàm lượng chất khô giảm nhanh trong 6 ngày đầu lên men tương ứng với giai đoạn mật số nấm men ở các mẫu thí

nghiệm phát triển sinh khối đạt cực đại. Tuy nhiên, mẫu C₁ có hàm lượng chất khô còn sót lại sau 12 ngày lên men vẫn còn cao lên đến 12,2 °Brix. Kết quả hoàn toàn phù hợp khi ứng với lượng sinh khối nấm men trong dịch lên men của mẫu thí nghiệm này thấp nhất so với các mẫu thí nghiệm còn lại.

3.4.3. Sự biến đổi của hàm lượng nitơ amin trong dịch lên men

Kết quả Hình 9 cho thấy, nấm men sử dụng nitơ amin để tổng hợp protein phục vụ cho quá trình tăng sinh khối. Khi ở trong điều kiện môi trường pH tối thích, lượng nitơ amin do nấm men sử dụng sẽ nhiều hơn dẫn đến lượng nitơ amin trong dịch lên men giảm nhanh hơn. Ngược lại, ở pH thấp ức chế nấm men phát triển (pH = 3,6) khi đó tốc độ giảm nitơ amin trong dịch lên men chậm lại.



Hình 9. Sự thay đổi hàm lượng nitơ amin khi lên men ở các pH ban đầu khác nhau

3.4.4. Sự biến đổi của hàm lượng ethanol trong dịch lên men

Dựa vào bảng 6 nhận thấy, hàm lượng ethanol trong dịch lên men đều tăng theo thời gian lên men. Mẫu C₃ có tốc độ sinh tổng hợp ethanol là cao nhất, tiếp theo là mẫu thí nghiệm C₄, C₅, C₂, C₁. Hàm lượng ethanol đạt cao nhất vào ngày lên men thứ 8, mặc dù sau ngày lên men này hàm lượng ethanol của các mẫu vẫn tiếp tục tăng nhưng không đáng kể. Vì thế, có thể xác định thời điểm kết thúc quá trình lên men chính vào ngày lên men thứ 8 đối với rượu vang khóm nghiên cứu.

Ở mẫu C₁ và mẫu C₂ (pH= 3,6 và 3,8) tương ứng với nồng độ ion H⁺ cao, còn ở mẫu C₄ (pH = 4,2) nồng độ ion H⁺ thấp không phù hợp cho quá trình sinh trưởng và phát triển của nấm men. Vì thế cần phải tiêu tốn một lượng cơ chất và thời gian nhất định để nấm men tự điều chỉnh pH môi trường về giá trị phù hợp. Ở mẫu C₃ (pH= 4,0) là giá trị pH thích hợp nhất cho hoạt động sống của nấm men cũng như quá trình sinh tổng hợp ethanol nên độ cồn đạt được là cao nhất. Mặt khác, khi pH môi trường đã phù hợp với hoạt động sống của nấm men thì không phải tiêu tốn thêm lượng cơ chất cần thiết cho quá trình điều chỉnh pH môi trường của nấm men nữa. Do đó hiệu quả của quá trình lên men là cao nhất, chất lượng rượu vang đạt được tốt hơn. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của [9] khi nghiên cứu sản xuất rượu từ xơ mít và [10] nghiên cứu sản xuất rượu từ dịch ép trái chanh dây và dây tím.

Bảng 6. Sự biến đổi hàm lượng ethanol trong quá trình lên men chính của dịch lên men ở các pH khác nhau

pH	Thời gian (ngày)						CV (%)
	2	4	6	8	10	12	
C ₁ (3,6)	5,51 ^d	8,04 ^c	9,02 ^b	10,05 ^a	10,16 ^a	10,22 ^a	4,42

C ₂ (3,8)	5,74 ^d	8,62 ^c	9,41 ^b	11,01 ^a	11,12 ^a	11,15 ^a	4,54
C ₃ (4,0)	7,61 ^d	10,21 ^c	11,73 ^b	12,77 ^a	12,77 ^a	12,80 ^a	4,27
C ₄ (4,2)	6,72 ^d	9,04 ^c	9,84 ^b	11,43 ^a	11,51 ^a	11,63 ^a	4,19
C ₅ (tự nhiên)	7,47 ^d	9,81 ^c	11,32 ^b	12,15 ^a	12,22 ^a	12,38 ^a	4,26

Ghi chú: Các giá trị trên cùng một hàng có chữ cái thường (a,b,c,d...) khác nhau thì thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$)

Bảng 7. So sánh khả năng sinh tổng hợp ethanol khi lên men ở các pH ban đầu khác nhau

pH ban đầu	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	CV (%)
Hàm lượng ethanol (%V)	10,05 ^e	11,01 ^d	12,80^a	11,43 ^c	12,15 ^b	4,34

Ghi chú: Các giá trị trên cùng một hàng có chữ cái thường (a,b,c,d...) khác nhau thì thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$)

Từ kết quả thí nghiệm cho thấy, pH môi trường ban đầu có ảnh hưởng rất lớn đến khả năng sinh trưởng của nấm men, là nhân tố rất quan trọng ảnh hưởng đến quá trình lên men chính. Như vậy giá trị pH ban đầu của dịch lên men phù hợp nhất cho quá trình lên men chính trong sản xuất vang khóm là 4,0 tương ứng với hàm lượng ethanol là 12,80 %V.



Hình 10. Sản phẩm rượu vang khóm nghiên cứu

4. KẾT LUẬN

Đối với các quá trình lên men rượu vang thì việc lựa chọn nguyên liệu và đặc biệt là điều kiện lên men sẽ ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng rượu vang như mật số nấm men bổ sung, hàm lượng chất khô ban đầu, pH và cả hàm lượng nitơ amin cần thiết cho sự sinh trưởng và chuyển hóa đường thành rượu của nấm men. Vì vậy, việc cần thiết là

tìm ra điều kiện thích hợp cho quá trình lên men ứng với loại nguyên liệu được sử dụng để tạo ra sản phẩm rượu đạt yêu cầu. Qua kết quả thực nghiệm, đã xác định một số điều kiện phù hợp cho quá trình lên men chính đối với rượu vang khóm từ vùng khóm Tân Phước như sau: mật số nấm men bổ sung ban đầu là 15 triệu CFU/ml dịch quả, hàm lượng chất khô của dịch lên men ban đầu là 26 °Brix và pH ban đầu của dịch lên men là 4,0; sản phẩm có hàm lượng cồn khoảng 12,8 %V. Quá trình lên men chính kết thúc sau 8 ngày lên men.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. <https://nongnghiep.vn/khom-tan-phuoc-ron-rang-don-tet-d255871.html>
- [2]. <http://tiengiang.gov.vn/>
- [3]. Nguyễn Công Hà, Lê Nguyễn Đoàn Duy và Bùi Thị Quỳnh Hoa (2014). Giáo trình công nghệ sản xuất rượu, bia và nước giải khát, Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ, 180 trang.
- [4]. Nguyễn Văn Thành, Nguyễn Minh Thủy, Trần Thị Quế và cộng sự (2013). “Lên men rượu vang khóm (*Ananas comosus*) Cầu Đúc (Hậu Giang)

bằng nấm men phân lập và thuần chủng”, Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ

[5]. Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học, 27, 56-63.

[6]. Lương Đức Phẩm (2006). *Nấm men công nghiệp*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.

[7]. Nguyễn Đình Thường và Nguyễn Thanh Hằng (2007). *Công nghệ sản xuất và kiểm tra cồn Ethylic*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 240.

[8]. Lane J.H, and Eynon L (1923). “Volumetric determination of reducing sugars by means of Fehling's solution, with methylene blue as internal indicator”, IS1 XXV: 143-149.

[9]. Larpent J. P (1991). “Biotechnologie des levures”, *Masson éditeur*, 265-273.

[10]. Tống Thị Ánh Ngọc, Bùi Thị Ánh Ngọc, Nguyễn Thị Mỹ Ngọc và cộng sự (2018). “Ảnh hưởng của pH và chất khô hòa tan đến quá trình lên men rượu từ xơ mít (*Artocarpus heterophyllus*)”, Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, Số chuyên đề: Nông nghiệp, Tập 54, 211-218.

[11]. Huỳnh Phan Phương Trang (2016). “Nghiên cứu quá trình lên men từ dịch ép trái chanh dây và dây tầm sử dụng tế bào nấm men cố định trên bã mía”. *Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM*.