

## ẢNH HƯỞNG CỦA MẬT SỐ NẤM MEN, CHẤT KHÔ HOÀ TAN VÀ PH CỦA DỊCH LÊN MEN ĐẾN CHẤT LƯỢNG RƯỢU VANG THỐT NỐT

Nguyễn Minh Thủy<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Mỹ Tuyền, Nguyễn Phú Cường, Dương Kim Thanh, Lê Văn Boi, Lê Thanh Trường, Huỳnh Thị Chính và Phan Thanh Nhàn

### ABSTRACT

*The present study was conducted to evaluate the fermentation efficiency of isolated locally identified yeast strains against the commercial yeast preparations in the case of palm wine. The impact of isolated yeast cell number varied from  $10^1$ - $10^6$  CFU/ml, soluble solid contents and pH values ranged 20-24°Bx and 3.5 to 4.5 (respectively) were studied. The quality of fermented wine produced from isolated was compared to wine fermented from the commercial yeast.*

*After fermentation for 12 days, isolated Saccharomyces had all of the desired properties for the purpose of this study and fermented alcohol better than commercial wine yeasts. The highest of 13.67% (v/v) and lower 12.33% (v/v) alcohol concentrations with corresponding residual sugar concentrations of 2.57% (w/v) and 3.42% (w/v) were produced from palm wine (pH 4.0 and 24°Brix) with isolated yeast strain ( $10^3$  CFU/ml) and commercial yeast, respectively. The chemical properties of wine (volatile acid, ester, sulfur dioxide and methanol content) were less than permitted levels of Vietnamese standard.*

**Keywords:** palm wine, isolated yeast, commercial yeast, fermentation, quality

**Title:** Effect of isolated yeast cell number, total soluble solid and pH value to palm wine quality

### TÓM TẮT

*Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả lên men của dòng nấm men Saccharomyces đã được phân lập và tuyển chọn từ nước thốt nốt so với nấm men thương mại trong quá trình sản xuất rượu vang thốt nốt. Ảnh hưởng của số lượng tế bào nấm men phân lập ( $10^1$  ÷  $10^6$  CFU/ml), hàm lượng chất khô hoà tan (20 ÷ 24°Bx), pH (3,5 ÷ 4,5) cùng với quá trình lên men từ 2 dòng nấm men được khảo sát.*

*Sau 12 ngày lên men, kết quả cho thấy dòng nấm men thuần chủng Saccharomyces đã có tất cả các đặc tính mong muốn cho mục đích nghiên cứu này và rượu lên men tốt hơn so với nấm men thương mại. Hàm lượng ethanol cao (13,67% v/v) và hàm lượng đường sót thấp (2,57%) thể hiện với quá trình lên men từ dòng nấm men thuần chủng (với dịch lên men có số lượng tế bào nấm men  $10^3$  CFU/ml, hàm lượng chất khô hoà tan 24°Bx và pH 4,0). Hàm lượng ethanol thấp hơn (12,33%) và hàm lượng đường sót cao hơn (3,42%) thể hiện với rượu lên men từ nấm men thương mại. Các chỉ tiêu hóa học khác của rượu (acid bay hơi, ester, SO<sub>2</sub> và methanol) đều thấp hơn mức cho phép của tiêu chuẩn Việt Nam (7045:2009).*

**Từ khóa:** Rượu vang thốt nốt, nấm men phân lập, nấm men thương mại, lên men, chất lượng

<sup>1</sup> Khoa NN & SHƯĐ, Trường Đại học Cần Thơ

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở nước ta, cây thốt nốt mọc và được trồng ở các tỉnh khu vực Nam Bộ giáp với Campuchia. Riêng vùng Thất Sơn-An Giang, người dân trồng và khai thác thốt nốt nhằm mang lại thu nhập hàng ngày. Cây thốt nốt được xem là cây cho hiệu quả kinh tế cao, dễ trồng và có thời gian khai thác dài. Sau khi thu hoạch, nước thốt nốt thường chỉ được bán như nước giải khát dạng tươi hoặc dùng để sản xuất đường. Tuy nhiên nước thốt nốt sau thu hoạch thường nhanh chóng hỏng do quá trình lên men, làm giảm giá trị dinh dưỡng của sản phẩm và còn làm cho sản phẩm không còn khả năng sử dụng được (Nguyễn Minh Thủy *et al.*, 2006). Định hướng sử dụng nguyên liệu này cho quá trình sản xuất đa dạng sẽ giúp nâng cao giá trị của đặc sản tỉnh An Giang, đa dạng hóa sản phẩm từ cây thốt nốt và nâng cao thu nhập cho người trồng. Sản xuất rượu vang cũng là phương cách sử dụng hiệu quả nguồn nguyên liệu. Tuy nhiên kiểm soát tiến trình lên men (từ các yếu tố tác động) với dòng nấm men tuyển chọn là biện pháp kỹ thuật tốt để quản lý chất lượng sản phẩm. Do vậy, mục tiêu nghiên cứu nhằm chọn lựa điều kiện tối ưu cho quá trình sản xuất rượu vang thốt nốt chất lượng cao từ nguồn nấm men thuần chủng và so sánh chất lượng rượu vang lên men từ nấm men thương mại với quy trình được kiểm soát.

## 2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Nguyên vật liệu

*Nước thốt nốt*: thu hoạch trực tiếp trên cây cái (bông sẽ cho trái) tại huyện Tịnh Biên, tỉnh An Giang vào buổi sáng (đặt ống thu nước thốt nốt từ buổi chiều hôm trước đến sáng hôm sau). Vận chuyển nước (trong điều kiện lạnh) về phòng thí nghiệm Bộ môn CNTP, Trường Đại học Cần Thơ.

*Giống nấm men*: nấm men thuộc giống *Saccharomyces* được phân lập và tuyển chọn từ nước thốt nốt thu hoạch buổi sáng, xử lý sodium metabisulfite (khoảng 0,5 g/l). Giống được giữ trên môi trường Sabouraud trong các ống thạch nghiêng, bảo quản ở 4-10°C (Bùi Thị Thúy Ngân, 2010). Định kỳ cấy chuyển 2 tháng/1 lần.

*Nuôi cấy nhân giống nấm men*: Trước khi sử dụng nấm men cho quá trình lên men rượu, quá trình nuôi cấy được thực hiện bằng cách sử dụng nước thốt nốt có pH 4,5, 12-14°Brix, thanh trùng ở nhiệt độ 121°C trong 15 phút, nuôi cấy ở nhiệt độ 30-32°C trên máy lắc (140 RPM). Kiểm soát chất lượng nấm men thông qua số lượng tế bào/ml môi trường  $\geq 120-149.10^6$ , số lượng tế bào nảy chồi 10-15%, lượng tế bào chết không quá 2-4% (thực hiện theo phương pháp làm tiêu bản nhuộm tế bào chết bằng dung dịch Xanh methylene với pH 4,6, đếm số lượng men chết và tổng số ở buồng đếm - Lương Đức Phẩm, 2006).

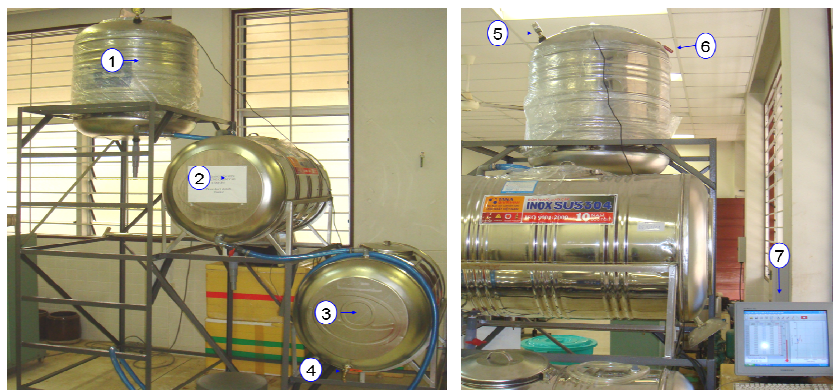
### 2.2 Phương pháp thí nghiệm

#### 2.2.1 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên ban đầu với việc chọn lựa tỷ lệ nấm men phân lập ( $10 \div 10^6$  CFU/ml) cho quá trình sản xuất rượu. Từ kết quả đạt được, các thí nghiệm được tiếp tục bố trí theo khối hoàn toàn ngẫu nhiên với 2 nhân tố: độ Brix ( $20 \div 24^\circ$ Brix) và giá trị pH (3,5÷4,5) của dịch lên men. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

### 2.2.2 Lên men

Bổ sung nấm men với các mật số  $10^3-10^6$  CFU/ml. Thực hiện quá trình lên men (thể tích khoảng 50 lít) ở nhiệt độ phòng ( $28-30^{\circ}\text{C}$ ) trong điều kiện yếm khí (Hình 1). Nhiệt độ bồn lên men được kiểm soát bằng phần mềm Logger Lite (version 1.4) và kiểm soát tiến trình lên men trong khoảng 10 đến 14 ngày. Thực hiện giải nhiệt bồn lên men (trong trường hợp cần thiết) bằng nước đá (từ khi bắt đầu quá trình lên men cho đến khoảng 72 giờ sau lên men). Thực hiện đồng thời quá trình lên men rượu vang thốt nốt từ dòng nấm men hiện có trên thị trường (Lesaffre 59703 Marcq, France) và so sánh chất lượng thành phẩm rượu vang được lên men từ hai dòng nấm men này.



**Hình 1: Hệ thống lên men rượu vang thốt nốt**

①: Bình lên men chính; ②: Bình lên men phụ; ③: Bình lên men phụ; ④: Van chiết chai; ⑤: Áp suất kế; ⑥: Van xả khí; ⑦: Hệ thống kiểm soát nhiệt độ suốt quá trình lên men rượu

### 2.2.3 Các chỉ tiêu phân tích

Hàm lượng ethanol (%v/v), đường sót (%), acid bay hơi (g/l), ester (g/l),  $\text{SO}_2$  (mg/l), methanol (g/l) (Lê Thanh Mai, 2007).

### 2.3 Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm Excel và Statgraphics 4.0 tính toán, thống kê số liệu, vẽ đồ thị.

## 3 KẾT QUẢ THẢO LUẬN

### 3.1 Ảnh hưởng của mật số nấm men đến chất lượng rượu vang thốt nốt

#### 3.1.1 Ảnh hưởng của mật số nấm men đến hàm lượng ethanol và hàm lượng đường sót trong sản phẩm rượu vang thốt nốt

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của mật số nấm men phân lập đến hàm lượng ethanol sinh ra và hàm lượng đường sót trong rượu vang thốt nốt được thể hiện ở bảng 1.

Kết quả thống kê cho thấy mật số nấm men bổ sung ban đầu có ảnh hưởng đến hàm lượng rượu sinh ra. Khi sử dụng mật số nấm men từ  $10^3-10^6$  CFU/ml cho rượu vang có độ cồn cao (từ 13,13 đến 13,88%). Trong khi đó, các mẫu rượu lên men với mật số nấm men thấp hơn ( $10^1-10^2$  CFU/ml) cho hàm lượng ethanol thấp (11,88-12,63% v/v). Như vậy mật số nấm men thấp hơn  $10^3$  CFU/ml hầu như quá trình lên men không triệt để. Theo Lương Đức Phẩm (2006) khi sử dụng nấm men

ở nồng độ thấp thì khả năng nảy chồi tiếp và thời gian đạt được định mức là rất dài sẽ ảnh hưởng đến hoạt động và trao đổi chất của nấm men. Những mẻ lên men này thường cho hiệu quả kém và chất lượng thành phẩm xấu.

Tương ứng với độ rượu tạo thành cao hơn thì hàm lượng đường sót ở các mẫu rượu sử dụng nấm men ở tỷ lệ  $10^4$ - $10^6$  CFU/ml thể hiện thấp hơn (khoảng 1,07-1,32%) so với các mẫu rượu lên men với mật số nấm men  $10^1$ - $10^3$  CFU/ml (khoảng 2,2 đến 2,37%).

**Bảng 1: Hàm lượng ethanol sinh ra và hàm lượng đường sót trong rượu vang thốt nốt (sau 12 ngày lên men) theo mật số nấm men phân lập (dịch lên men có hàm lượng chất khô hòa tan 22°Brix và pH 4,0)**

Mật số nấm men (CFU/ml)	Hàm lượng ethanol (% v/v)	Hàm lượng đường sót (% w/v)
10	11,88 <sup>a</sup>	2,20 <sup>bc</sup>
$10^2$	12,63 <sup>b</sup>	2,37 <sup>c</sup>
$10^3$	13,38 <sup>cd</sup>	1,92 <sup>b</sup>
$10^4$	13,63 <sup>cd</sup>	1,32 <sup>a</sup>
$10^5$	13,88 <sup>d</sup>	1,34 <sup>a</sup>
$10^6$	13,13 <sup>bc</sup>	1,07 <sup>a</sup>

Ghi chú: Các trung bình nghiệm thức đi kèm với các chữ giống nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt không ý nghĩa (mức ý nghĩa 5%).

Ngoài ra, khi tỷ lệ nấm men bổ sung càng cao thì tốc độ lên men ở thời gian đầu càng nhanh và có thể cản trở quá trình lên men tiếp theo (Lương Đức Phẩm, 2006). Vì vậy, với các tỷ lệ nấm men cao ( $10^6$  CFU/ml) thì độ cồn sinh ra không khác biệt ý nghĩa so với các mẫu rượu sử dụng mật số nấm men  $10^3$ - $10^5$  CFU/ml. Hàm lượng đường sót thấp do đường đã được sử dụng nhiều từ giai đoạn lên men ban đầu. Hơn nữa sử dụng nấm men với mật số cao thì cần thời gian nhân giống dài và tốn kém hơn.

**3.1.2 Ảnh hưởng của mật số nấm men đến các chỉ tiêu chất lượng khác của rượu vang thốt nốt**

Kết quả thống kê cho thấy mật số nấm men phân lập không ảnh hưởng nhiều đến hàm lượng acid bay hơi và hàm lượng methanol trong rượu vang thốt nốt (**bảng 2**). Trong sản phẩm này hàm lượng acid bay hơi và hàm lượng methanol dao động ở mức thấp và dưới mức cho phép của tiêu chuẩn Việt Nam.

Hàm lượng ester tổng số trong rượu vang thốt nốt khá cao (từ 500-700 mg/l) và thay đổi không theo quy luật nào. Mẫu rượu lên men với mật số nấm men  $10^2$ ,  $10^3$ ,  $10^5$  và  $10^6$  CFU/ml cho hàm lượng ester tương đương nhau và cao hơn các mẫu khác. Hợp chất ester là chất mùi và có vai trò quan trọng tạo nên mùi hương đặc trưng của sản phẩm (Lương Đức Phẩm, 2006). Nghiên cứu của Wondra và Berovi (2001) về chất tạo mùi trong rượu vang nho Chardonnay của Mỹ cho thấy hàm lượng ester trong rượu cũng dao động trong khoảng 450-790 mg/l.

Khi thay đổi mật số nấm men phân lập thì hàm lượng SO<sub>2</sub> sinh ra cũng thay đổi đáng kể (khoảng 159,57-522,24 mg/l), hàm lượng này thấp hơn trong rượu khi sử

dụng tỷ lệ nấm men cao ( $10^4$ - $10^6$  CFU/ml). Theo nhiều nghiên cứu cũng cho thấy nấm men sinh ra  $SO_2$  trong suốt quá trình lên men (Lonvaud-Funel *et al.*, 1988; Henick-Klink và Park, 1994). Khi sử dụng nấm men với tỷ lệ thấp ( $10$ - $10^2$ CFU/ml) thì thời gian nhân mật số của nấm men kéo dài và có thể trong thời gian này, nấm men sinh ra nhiều  $SO_2$  hơn. Mặt khác, với tỷ lệ nấm men  $10^4$ - $10^6$  CFU/ml tốc độ lên men cao và hàm lượng  $CO_2$  tạo ra và được giải phóng nhiều hơn nên một phần  $SO_2$  có thể bay hơi và làm giảm hàm lượng sulfite trong thành phẩm.

**Bảng 2: Chất lượng rượu vang thốt nốt lên men theo mật số nấm men phân lập (sau 12 ngày lên men-dịch lên men có hàm lượng chất khô hòa tan  $22^\circ$ Brix và pH 4,0)**

Mật số nấm men (CFU/ml)	Hàm lượng acid bay hơi (g/l)	Hàm lượng methanol (g/lit cồn $100^\circ$ )	Hàm lượng ester tổng số (mg/l)	Hàm lượng $SO_2$ (mg/l)
10	0,158 <sup>a</sup>	0,416 <sup>a</sup>	576,4 <sup>ab</sup>	490,88 <sup>b</sup>
$10^2$	0,149 <sup>a</sup>	0,402 <sup>a</sup>	756,8 <sup>c</sup>	490,88 <sup>b</sup>
$10^3$	0,161 <sup>a</sup>	0,390 <sup>a</sup>	719,4 <sup>bc</sup>	501,12 <sup>b</sup>
$10^4$	0,151 <sup>a</sup>	0,489 <sup>a</sup>	512,4 <sup>a</sup>	227,2 <sup>a</sup>
<b><math>10^5</math></b>	<b>0,158<sup>a</sup></b>	<b>0,459<sup>a</sup></b>	<b>631,4<sup>abc</sup></b>	<b>230,4<sup>a</sup></b>
$10^6$	0,156 <sup>a</sup>	0,450 <sup>a</sup>	607,2 <sup>abc</sup>	229,8 <sup>a</sup>

Ghi chú: Các trung bình nghiệm thức đi kèm với các chữ giống nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt không ý nghĩa (mức ý nghĩa 5%).

### 3.2 Ảnh hưởng của hàm lượng chất khô hòa tan và pH dịch lên men đến chất lượng rượu vang thốt nốt

#### 3.2.1 Hàm lượng ethanol và hàm lượng đường sót

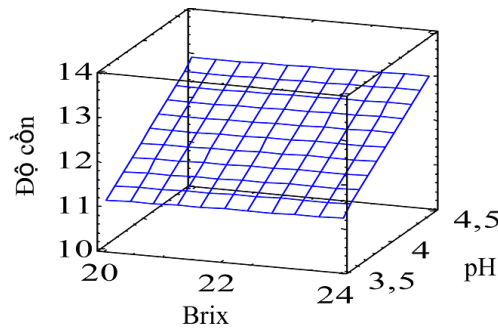
Kết quả thể hiện ở hình 2 cho thấy mẫu rượu lên men từ nước thốt nốt có bổ sung đường đến nồng độ chất khô hòa tan là  $24^\circ$ Brix cho hàm lượng ethanol cao nhất (trung bình 12,13% v/v) khác biệt có ý nghĩa so với mẫu sử dụng hàm lượng chất khô hòa tan là 20 và  $22^\circ$ Brix (trung bình 12,04% v/v). Điều này có thể do dịch lên men 20 và  $22^\circ$ Brix không đủ lượng đường cho nấm men tăng sinh khối, chuyển hóa đường thành rượu và nấm men có thể chết đi do cạnh tranh dinh dưỡng lẫn nhau làm cho lượng rượu sinh ra thấp.

pH của dịch lên men có ảnh hưởng đến chất lượng của rượu vang thốt nốt. Với mẫu rượu lên men từ nước thốt nốt có pH 3,5 và 4,0 thì hàm lượng ethanol sinh ra (trung bình 11,38 và 11,63% v/v) thấp hơn mẫu rượu lên men từ dịch men có pH ban đầu là 4,5 (trung bình 13,21 % v/v). Kết quả này có thể do ở các giá trị pH khác nhau, khả năng chuyển hóa đường thành rượu của nấm men cũng khác và pH 4,5 (dịch lên men ban đầu) thích hợp cho quá trình phát triển của nấm men.

Tương quan giữa độ cồn, độ Brix và pH được thể hiện ở phương trình:

$$\text{Độ cồn} = 4,2939 + 0,021 X + 1,83 \text{ pH}$$

$$R^2 = 0,80, \text{ STD} = 0,48$$



**Hình 2: Mô hình bề mặt đáp ứng thể hiện tương quan giữa độ cồn, °Brix và pH**

Với quá trình kiểm soát pH ban đầu của dịch lên men là 4,5 thì sau quá trình lên men, pH của rượu vang khoảng 3,5÷3,8. Giá trị pH này có thể cải thiện được độ ổn định của rượu, ức chế được sự phát triển của vi khuẩn và cũng tạo điều kiện tốt cho quá trình lên men đường. Tuy nhiên nếu điều chỉnh pH ban đầu của dịch lên men cao hơn 4,5 thì pH của rượu vang sau lên men sẽ khá cao ( $\geq 4,2\div 4,5$ ). Ở khoảng pH này sẽ tạo điều kiện tốt cho vi khuẩn phát triển nhanh chóng và dẫn đến quá trình lên men không mong muốn, rượu vang có chất lượng kém và màu sắc xấu (Kurtzman and Fell, 1998; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). Do vậy cần kiểm soát tiến trình lên men ở pH thích hợp.

Hàm lượng đường sót của mẫu rượu cao hơn khi pH dịch lên men thấp (Bảng 3). Đồng thời độ Brix dịch lên men càng cao thì hàm lượng đường sót càng cao. Hàm lượng đường sót của các mẫu rượu được lên men từ dịch lên men có hàm lượng chất khô hòa tan là 22 và 24°Brix khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê. Tuy nhiên giá trị này vẫn cao hơn mẫu rượu lên men từ dịch lên men 20°Brix.

**Bảng 3: Hàm lượng đường sót (%) của rượu vang thốt nốt lên men ở các độ brix và pH dịch lên men khác nhau (sau 12 ngày lên men)**

pH	Tổng chất khô hoà tan (°Brix)			Trung bình
	20	22	24	
3,5	0,33	1,74	1,58	<b>1,23<sup>c</sup></b>
4,0	0,29	1,38	1,34	<b>1,00<sup>b</sup></b>
4,5	0,30	0,54	0,88	<b>0,57<sup>a</sup></b>
<b>Trung bình</b>	<b>0,32<sup>a</sup></b>	<b>1,21<sup>b</sup></b>	<b>1,26<sup>b</sup></b>	<b>0,93</b>

Ghi chú: Các trung bình nghiệm thức đi kèm với các chữ giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa trên cùng một cột hoặc một hàng với mức ý nghĩa 5%.

### 3.2.2 Hàm lượng ester, acid bay hơi, SO<sub>2</sub> và methanol

#### Hàm lượng ester

Theo Lương Đức Phẩm (2006), hàm lượng ester hình thành do enzyme esterase của nấm men. Các ester cũng được tạo thành trong quá trình lên men rượu vang với một lượng đáng kể và chúng là những hợp chất quan trọng hình thành hương vị của sản phẩm, trong đó ethyl acetate là thành phần vượt trội hơn về số lượng.

Kết quả phân tích ở bảng 4 cho thấy hàm lượng ester tổng số sinh ra khá cao (0,30-0,72 g/l) và thể hiện sự khác biệt thống kê giữa các mẫu. Ở điều kiện pH thấp thì phản ứng thủy phân ester xảy ra càng nhanh (Ramey và Ough, 1980), do vậy mẫu rượu có giá trị pH cao thì tương ứng với hàm lượng ester sinh ra nhiều.

**Bảng 4: Hàm lượng ester (g/l) của rượu vang thốt nốt lên men ở các độ brix và pH dịch lên men khác nhau (sau 12 ngày lên men)**

pH	Tổng chất khô hoà tan (°Brix)			Trung bình
	20	22	24	
3,5	0,30	0,29	0,31	0,30 <sup>a</sup>
4,0	0,42	0,42	0,53	0,46 <sup>b</sup>
4,5	0,53	0,51	0,72	0,59 <sup>c</sup>
<b>Trung bình</b>	<b>0,42<sup>a</sup></b>	<b>0,41<sup>a</sup></b>	<b>0,52<sup>b</sup></b>	<b>0,45</b>

Ghi chú: Các trung bình nghiệm thức đi kèm với các chữ giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa trên cùng một cột hoặc một hàng với mức ý nghĩa 5%.

### Hàm lượng acid bay hơi

Kết quả phân tích ở **bảng 5** cho thấy hàm lượng acid bay hơi của rượu vang thốt nốt sau khi lên men có khác biệt ý nghĩa với nhau và dao động trong khoảng 0,1-0,31 g/l và thấp hơn so với tiêu chuẩn Việt Nam (1,5 g/l). Khi pH dịch lên men càng cao thì hàm lượng acid trong sản phẩm cuối càng thấp. Nguyên nhân có thể do nguyên liệu ban đầu được đưa xuống pH thấp bằng acid citric, do vậy khi pH càng thấp thì hàm lượng acid phân tích được càng cao. Tuy nhiên, ở các giá trị pH thí nghiệm thì hàm lượng acid dao động không đáng kể và các mẫu rượu đều đạt tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN 7045:2009).

**Bảng 5: Hàm lượng acid bay hơi (g/l) của rượu vang thốt nốt lên men ở các độ brix và pH dịch lên men khác nhau (sau 12 ngày lên men)**

pH	Tổng chất khô hoà tan (°Brix)			Trung bình
	20	22	24	
3,5	0,28	0,24	0,31	0,26 <sup>c</sup>
4,0	0,21	0,18	0,17	0,19 <sup>b</sup>
4,5	0,12	0,10	0,11	0,11 <sup>a</sup>
<b>Trung bình</b>	<b>0,20<sup>b</sup></b>	<b>0,17<sup>a</sup></b>	<b>0,18<sup>a</sup></b>	<b>0,18</b>

Ghi chú: Các trung bình nghiệm thức đi kèm với các chữ giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa trên cùng một cột hoặc một hàng với mức ý nghĩa 5%.

### Hàm lượng SO<sub>2</sub>

Kết quả thống kê cho thấy hàm lượng SO<sub>2</sub> càng cao khi hàm lượng đường càng cao (Bảng 6). Sulfite có thể tồn tại trong rượu với dạng kết hợp khi liên kết với đường, acetaldehyde, phenolic. Ở dạng này hoạt tính kháng khuẩn và chống oxy hóa bị giảm (Henderson, 2009; Zironi *et al.*, 1997). Vì vậy, với hàm lượng chất khô hòa tan càng cao, hàm lượng đường sót nhiều và là chất kết hợp với SO<sub>2</sub>, làm hàm lượng SO<sub>2</sub> tổng số cao. Ngoài ra sulfite còn tồn tại ở dạng tự do (SO<sub>2</sub> phân tử, HSO<sub>3</sub><sup>-</sup> và SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>). Theo lý thuyết của Zironi *et al.* (1997) thì phần trăm SO<sub>2</sub> tự do

phụ thuộc rất nhiều vào pH và cao hơn ở pH thấp. Ở pH 4,5 hầu hết SO<sub>2</sub> tự do ở dạng HSO<sub>3</sub><sup>-</sup> (gần 100%), khi pH giảm xuống đến 3,5 thì có khoảng 5% SO<sub>2</sub> tự do ở dạng phân tử. Trong quá trình lên men, pH dịch lên men giảm làm cho phần trăm SO<sub>2</sub> phân tử tăng lên. Do đó ở pH thấp hơn, phần trăm SO<sub>2</sub> dạng phân tử cao có thể bay hơi cùng với sự giải phóng CO<sub>2</sub> trong quá trình lên men nên làm giảm hàm lượng SO<sub>2</sub> tổng số trong rượu. Theo Ough (1985), hàm lượng SO<sub>2</sub> còn tiếp tục giảm trong quá trình vận chuyển và tồn trữ trong chai.

**Bảng 6: Hàm lượng SO<sub>2</sub> (mg/l) của rượu vang thốt nốt lên men ở các độ brix và pH dịch lên men khác nhau (sau 12 ngày lên men)**

pH	Tổng chất khô hoà tan (°Brix)			Trung bình
	20	22	24	
3,5	184,33	169,60	154,88	169,60 <sup>a</sup>
4,0	174,73	203,52	230,40	202,88 <sup>b</sup>
4,5	177,63	310,84	300,04	262,84 <sup>c</sup>
<b>Trung bình</b>	<b>178,89<sup>a</sup></b>	<b>227,98<sup>b</sup></b>	<b>228,44<sup>b</sup></b>	<b>221,77</b>

Ghi chú: Các trung bình nghiệm thức đi kèm với các chữ giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa trên cùng một cột hoặc một hàng với mức ý nghĩa 5%.

### Hàm lượng methanol

Kết quả phân tích thể hiện ở bảng 7 cho thấy hàm lượng methanol trung bình của các mẫu rượu vang thốt nốt khoảng 0,58 g/l cồn 100°. Hàm lượng này thấp hơn hàm lượng cho phép của tiêu chuẩn Việt Nam (không vượt quá 3g/l cồn 100°). Các mẫu rượu lên men với các nồng độ đường và acid khác nhau không ảnh hưởng lớn đến hàm lượng methanol sinh ra.

**Bảng 7: Hàm lượng methanol (g/l cồn 100°) của rượu vang thốt nốt lên men ở các độ brix và pH dịch lên men khác nhau (sau 12 ngày lên men)**

pH	Tổng chất khô hoà tan (°Brix)			Trung bình
	20	22	24	
3,5	0,56	0,46	0,50	0,51 <sup>a</sup>
4,0	0,64	0,54	0,46	0,55 <sup>a</sup>
4,5	0,55	0,63	0,85	0,68 <sup>b</sup>
<b>Trung bình</b>	<b>0,59<sup>a</sup></b>	<b>0,55<sup>a</sup></b>	<b>0,60<sup>a</sup></b>	<b>0,58</b>

Ghi chú: Các trung bình nghiệm thức đi kèm với các chữ giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa trên cùng một cột hoặc một hàng với mức ý nghĩa 5%.

Kết quả cũng cho thấy khi giảm pH dịch lên men thì hàm lượng methanol sinh ra cũng giảm. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Gerogiannaki-Christopoulou *et al.* (2004), khi điều chỉnh độ pH trước khi lên men bằng acid citric (20 g/l) thì hàm lượng methanol của rượu Tsipouro giảm từ 8-21%.



### 3.3 So sánh chất lượng rượu vang thốt nốt từ quá trình lên men của dòng nấm men phân lập và dòng nấm men thương mại

Kết quả thống kê ở bảng 8 cho thấy có sự khác biệt về chất lượng rượu vang thốt nốt thu được từ quá trình lên men của hai dòng nấm men (nấm men thương mại và nấm men phân lập từ nước thốt nốt tươi). Hàm lượng ethanol của rượu vang lên men từ dòng nấm men phân lập là 13,67% (v/v) cao hơn hàm lượng ethanol của rượu vang lên men bằng nấm men thị trường (11,5%-v/v). Hàm lượng đường sót của mẫu rượu lên men từ nấm men thuần chủng cũng thấp hơn. Như vậy dòng nấm men được tuyển chọn từ các dòng nấm men phân lập được từ nước thốt nốt tự nhiên (Bùi Thị Thúy Ngân, 2010) có khả năng lên men rượu tốt hơn dòng nấm men thương mại.

Rượu vang thốt nốt lên men từ nấm men phân lập có hàm lượng ester cao hơn và khác biệt có ý nghĩa so với rượu lên men từ nấm men thị trường. Điều này thể hiện ưu điểm vượt trội khi sử dụng nấm men phân lập, rượu vang có mùi vị đặc trưng mà các loại nấm men thương mại khác không có được. Các chỉ tiêu chất lượng còn lại của 2 loại rượu vang khác biệt không ý nghĩa với nhau và đều đạt tiêu chuẩn rượu vang Việt Nam.

Nhìn chung khi đánh giá cảm quan sơ bộ sản phẩm rượu vang tạo thành (dữ liệu không đưa ra ở đây), kết quả cho thấy sản phẩm rượu vang thốt nốt lên men từ nguồn nấm men phân lập có mùi vị thơm ngon và độ rượu cao hơn so với rượu vang sản xuất từ nguồn nấm men thương mại (trong cùng điều kiện lên men).

**Bảng 8: Các chỉ tiêu phân tích rượu vang thốt nốt từ sự lên men của hai loại nấm men (dịch lên men 24<sup>o</sup>Brix, pH 4,0)**

Các chỉ tiêu chất lượng rượu vang thốt nốt	Loại nấm men	
	Nấm men thương mại	Nấm men phân lập
Hàm lượng ethanol (%v/v)	11,50 <sup>a</sup>	13,67 <sup>b</sup>
Hàm lượng đường sót (g/l)	3,42 <sup>b</sup>	2,57 <sup>a</sup>
Hàm lượng acid bay hơi (g/l)	0,94 <sup>a</sup>	0,88 <sup>a</sup>
Hàm lượng ester (g/l)	0,20 <sup>a</sup>	0,47 <sup>b</sup>
Hàm lượng methanol (g/l còn 100 <sup>o</sup> )	0,46 <sup>a</sup>	0,47 <sup>a</sup>
Hàm lượng SO <sub>2</sub> (mg/l)	288,43 <sup>a</sup>	279,89 <sup>a</sup>

*Ghi chú: Các trung bình nghiệm thức đi kèm với các chữ giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa trên cùng một hàng với mức ý nghĩa 5%.*

## 4 KẾT LUẬN

Rượu vang thốt nốt đạt chất lượng cao nhất khi dịch lên men được bổ sung tỷ lệ nấm men phân lập 10<sup>3</sup>-10<sup>5</sup> CFU/ml, hàm lượng chất khô hoà tan là 24<sup>o</sup>Bx và pH 4. Rượu thành phẩm có chất lượng cao và đạt tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN 7045:2009). Đồng thời chất lượng rượu vang lên men từ nguồn nấm men phân lập thể hiện tốt hơn so với rượu vang lên men từ nguồn nấm men thương mại.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bùi Thị Thúy Ngân. 2010. Phân lập và tuyển chọn nấm men từ nước thối nổi thu hoạch tại Tỉnh Biên, An Giang. Luận văn thạc sĩ ngành Công nghệ thực phẩm và đồ uống. Trường Đại học Cần Thơ.
- Henderson, P. 2009. Sulfur dioxide: science behind this antimicrobial, anti-oxidant wine additive. *Practical Winery and vineyard Journal*, 1, 1-6.
- Henick-Kling T. and Park Y. H. 1994. Considerations for the use of yeast and bacterial starter cultures: SO<sub>2</sub> and timing of inoculation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45, 464-469.
- Kurtzman C.P. and Fell J.W. 1998. *The yeast*, A taxonomic, Elsevier Science B.V., 113-121.
- Lee C. Y., Smith N. L., Nelson R. R. 1979. Relationship between pectin ethylesterase activity and the formation of methanol in Concord grape juice and wine. *Food Chemistry* (4) Applied Science Publishers Ltd, England.
- Lê Thanh Mai. 2007. Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men. Nhà Xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
- Lonvaud-Funel A., Joyeux A., Desens C. 1988. Inhibition of malolactic fermentation of wines by products of yeast metabolism. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 44, 183-191.
- Lương Đức Phẩm. 2006. Nấm men công nghiệp. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- Nguyễn Minh Thủy, Hà Thanh Toàn, Dương Thị Phượng Liên, Phan Thị Thanh Quế, Huỳnh Thị Phương Loan và Dương Kim Thanh. 2006. Tuyển tập Công trình Nghiên cứu Khoa học 2006, Khoa Nông Nghiệp và Sinh Học Ứng Dụng, Trường Đại học Cần Thơ, 33-43.
- Gerogiannaki-Christopoulou M., Kyriakidis N. and Athanasopoulos P. 2004. Effect of grape variety (*Vitis vinifera L.*) and grape pomace fermentation conditions on some volatile compounds of the produced grape pomace distillates. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 38 (3), 155-162.
- Ough C. S. 1985. Some effects of temperature and SO<sub>2</sub> on wine during simulated transport or storage. *American Journal of Enology and Viticulture*, 36, 18-22.
- Ramey D. D., Ough, C. S. 1980. Volatile ester hydrolysis or formation during storage of model solutions and wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 28 (5), 928-934.
- Ribéreau-Gayon P., Dubourdiou D., Donèche B., Lonvaud A. 2006. *Handbook of Enology, Volume 1: The Microbiology of Wine and Vinifications (Volume 1, 2)*. Great Britain by Antony Rowe Ltd, Chippennham, Wiltshire.
- TCVN 7045:2009. Thụ viện trung tâm kỹ thuật ĐC 3. 49 Pasteur - Q.1- TP. HCM. <http://www.quatest3.com.vn/Upload/contents/TBTL-Quy2-2009.pdf>
- Wondra M. and Berovi M. 2001. Aroma Components of Chardonnay Wine: Analyses of Aroma Components of Chardonnay Wine Fermented by Different Yeast Strains. *Aroma Components of Chardonnay Wine. Food Technology and Biotechnology*, 39 (2) 141-148
- Zironi R., Celotti E., Battistutta F. 1997. Research for a marker of the hyperoxygenation treatment of musts for the production of white wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 48, 150-156.