

## SỬ DỤNG PHƯƠNG PHÁP LÊN MEN HAI GIAI ĐOẠN TRONG QUY TRÌNH SẢN XUẤT RƯỢU SHOCHU NHẬT BẢN

Chu Lương Trí<sup>1\*</sup>, Lê Duy Khương<sup>1</sup>, Vũ Công Tâm<sup>2</sup>, Hoàng Văn Hùng<sup>3</sup>,  
Nguyễn Thị Mai Ly<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Môi trường, Trường Đại học Hạ Long

<sup>2</sup>Trung tâm Khoa học Công nghệ và Bồi dưỡng cán bộ, Trường Đại học Hạ Long

<sup>3</sup>Khoa Thủy sản, Trường Đại học Hạ Long

\* Email: [chuluongtri@daihochalong.edu.vn](mailto:chuluongtri@daihochalong.edu.vn)

Ngày nhận bài: 02/12/2021

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 15/02/2022

Ngày chấp nhận đăng: 22/02/2022

### TÓM TẮT

Nhằm giới thiệu và ứng dụng kỹ thuật và công nghệ trong chế biến và sản xuất, nâng cao chất lượng sản phẩm rượu, bài viết này trình bày quá trình lên men hai giai đoạn, sử dụng nấm mốc *Aspergillus spp.* và nấm men *Saccharomyces cerevisiae* trong quá trình sản xuất rượu Shochu từ gạo và khoai lang theo phương pháp truyền thống của Nhật Bản. Trong quá trình này, nấm mốc *Aspergillus spp.* đóng vai trò quan trọng trong việc thủy phân tinh bột thành đường, còn nấm men *S. cerevisiae* có tác dụng chuyển hóa các sản phẩm đường thành rượu. Trong quá trình lên men, ngoài sản phẩm chính là rượu, các hợp chất hữu cơ dễ bay hơi cũng được sản xuất, tạo ra hương vị và màu sắc đặc trưng của sản phẩm. Bên cạnh đó, quá trình tuyển chọn nguyên liệu, điều kiện lên men và chưng cất cũng có ảnh hưởng rất lớn tới hiệu quả của quá trình sản xuất rượu Shochu. Nhóm tác giả hi vọng việc sản xuất rượu theo phương pháp truyền thống của Nhật Bản sẽ được chuyển giao, ứng dụng trong quá trình sản xuất rượu ở Việt Nam, đẩy mạnh quá trình công nghiệp hóa các sản phẩm từ nông nghiệp, cũng như đáp ứng nhu cầu tiêu thụ đồ uống có cồn chất lượng, an toàn của thị trường.

**Từ khóa:** *Aspergillus spp.*, lên men, rượu Shochu, *Saccharomyces cerevisiae*

### USING THE TWO-STAGE FERMENTATION TECHNIQUE IN THE JAPANESE SHOCHU PRODUCTION PROCESS

#### ABSTRACT

To introduce and apply technology in the processing and production of alcohols, and improve the quality of alcohol products aiming toward the sustainable development of the beverage business, this review explains the Japanese shochu production from rice and sweet potato using microbial *Aspergillus* and *Saccharomyces*. In this technique, *Aspergillus spp.* plays an important role in the saccharification of starches to produce sugars while *S. cerevisiae* simultaneously ferments these sugars to ethanol. During this process, numerous volatile aromatic compounds also are produced, resulting in the distinct taste of final shochu products. Besides, this review also presents a discussion on the scenarios of initial material, fermentation, and distillation that affect the final yield of the Shochu production process.

**Keywords:** *Aspergillus spp.*, fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*, Shochu drinks

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo báo cáo của tổ chức Y tế Thế giới (WHO, 2014), Nhật Bản là nước tiêu thụ đồ uống có cồn tương đương 7,3 lít rượu nguyên chất tính trên một người (từ 15 tuổi trở lên) trong một năm, cao hơn so với mức tiêu thụ trung bình của thế giới là 6,4 lít rượu nguyên chất trên một người. Trong số các đồ uống có cồn, rượu trắng Shochu (烧酎 – Thiêu Trửu) là loại sản phẩm rất phổ biến tại Nhật Bản. Theo tổng hợp số liệu từ Hiệp hội các nhà sản xuất rượu Sake và Shochu Nhật Bản (JSS), tổng sản lượng xuất xưởng rượu Shochu năm 2019 của Nhật Bản là khoảng 800 triệu lít. Cùng với những tiêu chuẩn gắt gao về chất lượng đầu ra sản phẩm theo quy định về an toàn thực phẩm, các nhà sản xuất rượu Shochu của Nhật Bản vẫn luôn tìm cách ứng dụng các tiến bộ khoa học kỹ thuật trong quá trình sản xuất để nâng cao chất lượng và giá thành của sản phẩm, tạo vị thế và thương hiệu trong thị trường đồ uống có cồn.

Cũng theo báo cáo của WHO, Việt Nam là quốc gia đang phát triển với nhu cầu tiêu thụ đồ uống có cồn, đặc biệt là rượu ở mức cao và tăng nhanh nhất khu vực Đông Nam Á (từ 6,6 lít/người/năm 2014 lên đến 8,3 lít/người/năm 2018). Tuy nhiên, hiện nay, sản phẩm rượu sản xuất thủ công với chất lượng và sự an toàn vệ sinh thực phẩm không được kiểm soát vẫn đang chiếm một thị phần rất lớn ngoài thị trường.

Với mục đích giới thiệu, chuyển giao và ứng dụng khoa học kỹ thuật mới trong quá trình nâng cao chất lượng, an toàn vệ sinh

thực phẩm của ngành sản xuất rượu ở quy mô tiểu – thủ công nghiệp tại Việt Nam, nghiên cứu này xin tập trung giới thiệu quy trình sản xuất rượu Shochu từ gạo và khoai lang theo phương pháp lên men hai giai đoạn truyền thống của Nhật Bản. Cùng với đó, nguyên liệu đầu vào, điều kiện lên men và chưng cất - là những yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng rượu Shochu, cũng được đem ra thảo luận.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

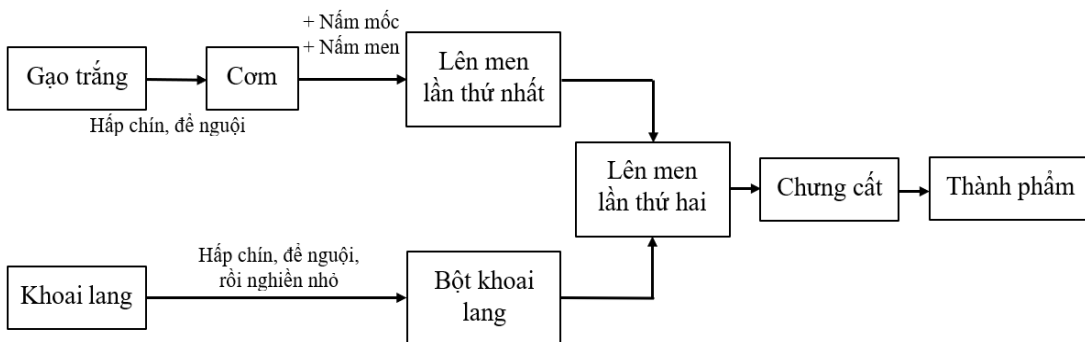
Bài báo sử dụng phương pháp thu thập số liệu thứ cấp từ những công trình khoa học đã được công bố có liên quan tới quá trình sản xuất rượu Shochu. Bên cạnh đó, những báo cáo về thị trường tiêu thụ cũng như năng lực sản xuất rượu Shochu từ các tổ chức (WHO, JSS) cũng được tổng hợp và trình bày.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

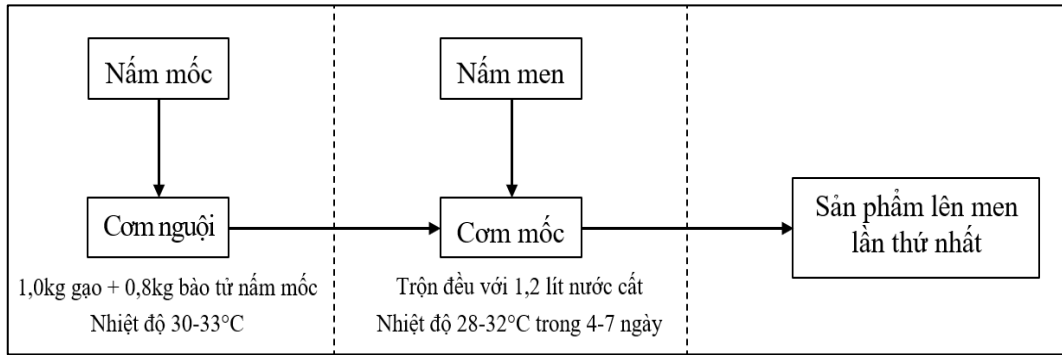
### 3.1. Nguyên liệu sản xuất rượu Shochu

Nguyên liệu chính của quá trình sản xuất rượu Shochu là các sản phẩm giàu tinh bột và đường, ví dụ như đường mía, gạo, khoai lang, khoai tây, bột mì. Thông qua quá trình sinh trưởng, lên men yếm khí không bắt buộc của các vi sinh vật, các loại enzyme thủy phân được tạo ra, chuyển hóa nguyên liệu giàu đường và tinh bột thành đường glucose, đồng thời đường glucose được các vi sinh vật sử dụng để lên men tạo ra rượu ( $C_2H_5OH$ ).

Trong khuôn khổ bài viết này, quá trình sản xuất rượu Shochu từ loại nguyên liệu phổ biến nhất là gạo trắng và khoai lang sẽ được lấy làm ví dụ thảo luận (Hình 1).



**Hình 1. Sơ đồ quá trình sản xuất rượu Shochu từ gạo và khoai lang qua hai giai đoạn lên men, sử dụng nấm mốc và nấm men**



**Hình 2. Sơ đồ quá trình lên men lần thứ nhất trong quy trình sản xuất rượu Shochu**

Các hệ vi sinh vật lên men được sử dụng phổ biến trong quá trình sản xuất rượu Shochu là nấm mốc và nấm men. Trong số các loại nấm mốc phổ biến, các nấm mốc *Aspergillus* có khả năng sinh trưởng mạnh mẽ được biết đến là những vi sinh vật được ứng dụng nhiều hơn cả trong quá trình sản xuất rượu Shochu. Đối với nấm men, *S. cerevisiae* là nguồn gene đang được sử dụng và đánh giá cao về hiệu quả lên men.

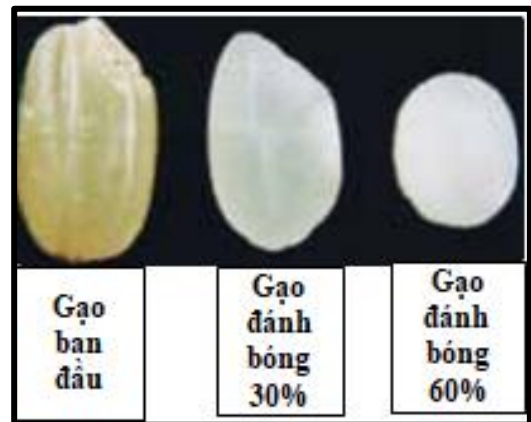
### 3.2. Quá trình lên men lần thứ nhất

Quá trình lên men lần thứ nhất được diễn ra theo hai bước chính khi lần lượt ủ com nguội với nấm mốc (bước 1), rồi sau đó là nấm men (bước 2).

Ở bước thứ nhất, gạo trắng được vo sạch, ngâm qua đêm trong nước lạnh, hấp chín, để nguội, rồi được phối trộn với nấm mốc (Hình 2). Ngoài thành phần chính là tinh bột, có vai trò là nguyên liệu cho quá trình lên men, hạt gạo thô còn chứa một hàm lượng lớn những thành phần không hiệu quả tới quá trình lên men là protein và lipid. Những thành phần không hiệu quả này chủ yếu nằm ở trong mầm và trên bề mặt hạt gạo (Hình 3). Chính vì vậy, việc đánh bóng, bào mòn hạt gạo theo một tỉ lệ mong muốn, trước khi hấp chín để phục vụ quá trình lên men hiệu quả là rất cần thiết (Okuda và nnk., 2019).

Có ba loại nấm mốc thường được sử dụng trong quá trình lên men rượu Shochu tại Nhật Bản là nấm mốc vàng (mốc hoa cau) *Aspergillus oryzae*, nấm mốc đen *Aspergillus luchuensis* và nấm mốc trắng *Aspergillus*

*kawachii* (Bảng 1). Trong quá trình ủ lên men giữa nấm mốc và com hấp chín, có khoảng 50 loại enzymes sẽ được tạo ra, trong đó phần lớn là các enzyme gluco-, alpha- và beta-amylase, có tác dụng chuyển hóa tinh bột thành đường. Ngoài ra, các loại nấm mốc này còn sản xuất các enzyme protease và carboxypeptidase để chuyển hóa protein trong com sang các dạng amino-acid và peptide. Điều này được cho là có ảnh hưởng tới hương thơm và mùi vị của rượu Shochu (Sasaki & Nunomura, 2003; Furukawa, 2012).



(Nguồn: Japan National Research Institute of Brewing, 2014. *The Story of Sake*, vol.1, p.3.)

**Hình 3. Hạt gạo được đánh bóng bề mặt để loại bỏ những thành phần không phù hợp cho quá trình lên men**

Để làm sáng tỏ hơn sự ảnh hưởng của quá trình lên men lần thứ nhất của nấm mốc đối với hương vị của rượu Shochu, một nhóm nghiên cứu đến từ Đại học Kagoshima (Nhật Bản) đã sử dụng kỹ thuật Sắc kí khí – Khối

phổ (HPLC) để phân tích các sản phẩm lên men và phát hiện ra rằng việc sử dụng các nấm mốc *Aspergillus* vàng, trắng hoặc đen (Bảng 1) sẽ sản xuất ra một lượng lớn các hợp chất tự nhiên, trong đó nổi bật nhất là isovaleraldehyde, ethyl caprylate, ethyl caproate và ethyl 2-methylbutyrate. Những hợp chất dễ bay hơi này có tác dụng rõ rệt trong việc tạo ra các mùi vị đặc trưng của rượu Shochu. Chi tiết hơn, khi phân tích định tính và định lượng, so sánh sản phẩm lên men, các kết quả đã chỉ ra rằng nấm mốc vàng có các sản phẩm lên men riêng biệt từ alcohols và aldehydes, ảnh hưởng tới hương vị đặc trưng, trong khi nấm mốc trắng và đen có kết quả lên men tương tự nhau về các hợp chất dễ bay hơi, trong đó phổ biến nhất là các hợp chất furans (Shiraishi và nnk., 2016; Yoshizaki và nnk., 2010).

Việc ứng dụng các loại nấm mốc *Aspergillus* trong sản xuất thực phẩm lên men rất cần chú trọng tới sự an toàn thực phẩm bởi các họ nấm mốc này thường sản sinh Aflatoxins, một loại chất độc nguy hại tới sức khỏe con người và động vật. Thật may mắn, các kết quả phân tích bộ gene của cả ba nấm mốc *Aspergillus* (Bảng 1) đều cho thấy chúng an toàn trong sản xuất thực phẩm và không có khả năng tổng hợp Aflatoxins (Sasaki & Nunomura, 2003).

Kết quả của bước thứ nhất trong quá trình lên men rượu Shochu, sau thời gian ủ *Aspergillus* với cơm khoảng 36-48 giờ, là

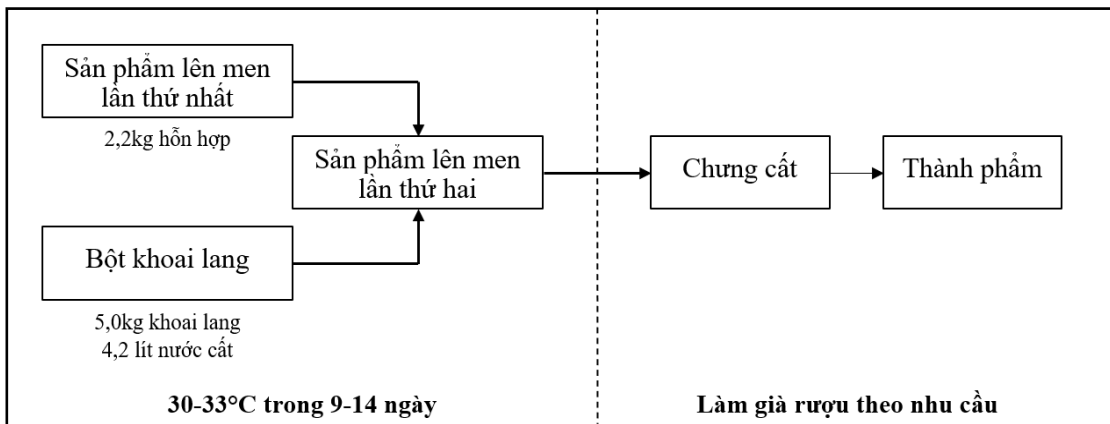
hỗn hợp cơm – sợi mốc cùng các enzym thủy phân tinh bột và một lượng đường glucose đã được chuyển hóa từ cơm (Hình 4).

Toàn bộ sản phẩm thu được từ bước thứ nhất được chuyển sang bước thứ hai (Hình 5), khi đó, nước sạch và nấm men *S. cerevisiae* được phối trộn đều. Mục đích của quá trình này là tạo điều kiện thuận lợi để từ lượng glucose có sẵn trong quá trình phát triển nấm mốc sẽ được nấm men *S. cerevisiae* sử dụng như nguồn cacbon và gia tăng nhanh chóng quá sinh trưởng, tăng sinh khối, đồng thời sản xuất enzyme lên men đường glucose thành rượu.



(Nguồn: Japan National Research Institute of Brewing, 2014. *The Story of Sake*, vol.1, p.3.)

**Hình 4. Hạt cơm nguội sau 48 giờ ủ với nấm mốc**



**Hình 5. Quá trình lên men lần thứ hai trong quá trình sản xuất rượu Shochu, sử dụng khoai lang làm nguồn tinh bột chính**

**Bảng 1. Ba loại nấm mốc phổ biến được sử dụng trong quá trình sản xuất rượu Shochu tại Nhật Bản**

Tên khoa học	Tên thường gọi	Đặc tính	Ứng dụng
<i>Aspergillus oryzae</i>	Mốc vàng (Mốc hoa cau)	Nhạy cảm với nhiệt độ môi trường nuôi cấy Sản phẩm lên men có hương vị nhẹ, mùi hoa quả	Chủ yếu được sử dụng trong sản xuất thủ công Nguồn gene của <i>Aspergillus oryzae</i> thường được sử dụng để phát triển các chủng tái tổ hợp
<i>Aspergillus luchuensis</i>	Mốc đen	Khả năng sinh trưởng mạnh, sức đề kháng với môi trường tốt Sản phẩm lên men có vị ngọt nhẹ, mùi hương đậm	Có tính ứng dụng cao trong sản xuất quy mô công nghiệp lớn
<i>Aspergillus kawachii</i>	Mốc trắng	Được phân lập từ những chủng đột biến của nấm mốc <i>Aspergillus luchuensis</i> Sản phẩm lên men có vị ngọt đậm, mùi hương nhẹ	Có tính ứng dụng cao trong sản xuất quy mô công nghiệp lớn

### 3.3. Quá trình lên men lần thứ hai

Khoai lang thường được chọn là nguồn cấp tinh bột được sử dụng trong bước lên men lần thứ hai (lên men chính) của quá trình sản xuất rượu Shochu. Khoai lang sau thu hoạch được rửa sạch, hấp chín rồi để nguội và xay cắt nhỏ thành sản phẩm kích thước 2-4cm. Trộn đều hỗn hợp lên men lần thứ nhất và khoai lang nghiền nhỏ trong thùng lên men lớn. Bổ sung nước theo tỉ lệ bằng 70% khối lượng cơ chất lên men. Giữ hỗn hợp lên men trong điều kiện khoảng 30-33°C trong thời gian 9-14 ngày (Hình 4).

Trong quá trình lên men chính này, sự sinh trưởng và phát triển của nấm men *S. cerevisiae* là yếu tố quyết định tới sản lượng và chất lượng rượu. Quá trình lên men sẽ sản xuất một lượng cồn lớn cùng với sự gia tăng nhiệt độ và tạo ra các acid hữu cơ. Các điều kiện này sẽ ảnh hưởng tiêu cực tới quá trình sinh trưởng của chính nấm men. Vì vậy, việc điều hòa nhiệt độ bằng hệ thống làm mát và

kiểm soát pH bằng cách bổ sung thêm kiềm trong suốt quá trình lên men lần thứ hai là vô cùng quan trọng (Gao & Fleet, 1988; Liu và nnk., 2015).

Bên cạnh đó, việc tuyển chọn và sử dụng các nấm men có khả năng sinh trưởng và phát triển tốt, có thể chống chịu được các điều kiện nhiệt độ cũng như nồng độ cồn và acid hữu cơ ở ngưỡng cao có thể là những giải pháp khả thi (Yamamoto và nnk., 2012; Yamamoto và nnk., 2011).

Hiện nay, các nấm men tự nhiên *S. cerevisiae* thường chỉ có thể sinh trưởng và phát triển trong môi trường lên men khoảng dưới 13% độ cồn. Ở nồng độ cồn cao hơn, quá trình thẩm thấu qua màng tế bào sẽ xảy ra và gây ức chế tới sự sinh trưởng của nấm men (Ghareib và nnk., 1988; Ma & Liu, 2010; Yuan và nnk., 2021). Để nâng cao khả năng sinh trưởng của nấm men *S. cerevisiae* trong điều kiện nồng độ cồn cao, các kỹ thuật sinh học phân tử đã và đang được áp dụng để

can thiệp vào quá trình biểu hiện các gene liên quan tới khả năng kháng chịu môi trường cồn, khả năng tổng hợp màng tế bào của *S. cerevisiae*, để nâng cao khả năng chống chịu nồng độ cồn lên tới 20-25% (Ding và nnk., 2009; Izawa & Inoue, 2009; Morard và nnk., 2019; Stanley và nnk., 2010).

Bên cạnh việc sử dụng kỹ thuật gene để tạo các chủng nấm men tái tổ hợp, các kỹ thuật lên men tiên tiến cũng được áp dụng để nâng cao hiệu quả của quá trình sản xuất rượu. Sử dụng thiết bị sục khí và khuấy đều trong bể lên men để tăng tương tác giữa enzyme và cơ chất, các nhà khoa học tại Đại học Kumamoto (Nhật Bản) có thể nâng cao hiệu quả quá trình lên men với nồng độ cồn đạt được ở mức 17,5% (Miyagawa và nnk., 2011).

Với việc sử dụng khoai lang làm nguồn tinh bột chính trong quá trình sản xuất rượu Shochu, các đặc tính của nguồn tinh bột này cũng là một yếu tố đóng góp vào chất lượng sản phẩm. Các kết quả nghiên cứu trước đây đã chứng minh rằng khoai lang được trồng trong thời gian sinh trưởng lâu hơn (180 ngày) sẽ cho sản phẩm rượu có mùi thơm tự nhiên cao hơn, với hàm lượng  $\beta$ -damascenone, rose oxide và fatty acid esters cao hơn so với giống ngắn ngày (120 ngày). Tuy nhiên, sử dụng giống ngắn ngày sẽ cho chất lượng rượu thành phẩm có vị ngọt hơn, tương ứng với với lượng monoterpene alcohols cao hơn so với giống dài ngày (Okutsu và nnk., 2016).

Kết thúc quá trình lên men thứ hai, sản phẩm lên men là hỗn hợp của rượu cùng các hợp chất dễ bay hơi trong dung dịch lên men và các thành phần bã rượu. Với nhiệt độ sôi của ethanol  $C_2H_5OH$  là  $78^\circ C$ , việc sử dụng hơi nước sôi ở  $100^\circ C$  để chưng cất sản phẩm rượu là khả thi. Tuy nhiên, trong hỗn hợp sản phẩm lên men, ngoài  $C_2H_5OH$  còn có các sản phẩm là những hợp chất tự nhiên dễ bay hơi, mang đặc trưng về hương vị, màu sắc và độ ngọt của rượu. Chính vì vậy, việc lựa chọn kỹ thuật chưng cất thích hợp là một biện pháp nâng cao hiệu quả quá trình sản xuất rượu.

### 3.4. Chưng cất, đóng gói

Ở quy mô công nghiệp hiện nay, hai phương pháp chủ yếu được áp dụng để chưng cất rượu Shochu là phương pháp chưng cất dưới áp suất cao và phương pháp chưng cất chân không.

Ở phương pháp chưng cất áp suất cao, hỗn hợp sản phẩm lên men được đun sôi hoặc được thổi sục, khuấy đảo bằng hơi nước nóng  $90-100^\circ C$ . Từ đó, cồn, acid hữu cơ, acid amin và vitamin được lôi cuốn và thu lại trong sản phẩm. Vì ở quá trình chưng cất này xảy ra ở nhiệt độ cao, nên sản phẩm rượu sẽ có hương vị đậm (Hayashi và nnk., 2021).

Ở phương pháp chưng cất chân không, hỗn hợp sản phẩm lên men được hút chân không. Do đó, nhiệt độ sôi của hỗn hợp sẽ giảm xuống, chỉ ở khoảng  $50-60^\circ C$ . Sử dụng phương pháp này, các sản phẩm sẽ bay hơi được lôi cuốn và thu cất ở nhiệt độ trung bình. Do đó, rượu sẽ có hương vị nhẹ, màu sắc rượu trong (Oishi và nnk., 2008).

Rượu Shochu sau chưng cất thường được xuất bán ở sản phẩm với độ cồn trong khoảng 15-25%. Các sản phẩm thường được lưu giữ trong chai thủy tinh hoặc sành sứ để giữ được hương vị và màu sắc trong thời gian dài.

## 4. KẾT LUẬN

Sản xuất rượu Shochu là quá trình ứng dụng chu trình lên men của hệ vi sinh vật nhằm mục đích chuyển nguồn tinh bột thành đường và từ đường lên men thành rượu. Trong quá trình sản xuất này, nguồn gene vi sinh vật, bao gồm nấm men và nấm mốc, cùng các yếu tố kỹ thuật hỗ trợ quá trình sinh trưởng của chúng, là các yếu tố quan trọng nhất ảnh hưởng tới chất lượng sản phẩm rượu. Bên cạnh đó, việc lựa chọn nguyên liệu, chủ yếu là gạo và khoai lang, cũng góp một phần đáng kể vào hiệu quả toàn bộ quá trình lên men. Để đảm bảo hương vị và màu sắc của sản phẩm theo tiêu chuẩn cao, việc lựa chọn phương án chưng cất là một điểm cần lưu ý.

Với mục tiêu nâng cao chất lượng sản phẩm rượu truyền thống Việt Nam, việc khai thác, tuyển chọn và lưu trữ được nguồn gene vi sinh vật nấm men và nấm mốc bản địa tại Việt Nam, từ đó góp phần tạo ra các dòng sản phẩm rượu chất lượng mang tính thương hiệu cao là một hướng nghiên cứu ứng dụng vô cùng tiềm năng. Nhóm tác giả hi vọng việc sản xuất rượu theo phương pháp truyền thống của Nhật Bản sẽ được chuyển giao, ứng dụng trong quá trình sản xuất rượu ở Việt Nam, đẩy mạnh quá trình công nghiệp hóa các sản phẩm từ nông nghiệp, cũng như đáp ứng nhu cầu ngày càng cao về tiêu thụ đồ uống có cồn chất lượng, an toàn của thị trường.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ding, J., Huang, X., Zhang, L., Zhao, N., Yang, D., Zhang, K. (2009). Tolerance and stress response to ethanol in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(2), 253-263. DOI: 10.1007/s00253-009-2223-1.
- Furukawa, S. (2012). Sake: quality characteristics, flavour chemistry and sensory analysis. In Piggott, J. (Ed.): *Alcoholic Beverages*, (pp. 180-195). Cambridge, United Kingdom: Woodhead Publishing.
- Gao, C., Fleet, G.H. (1988). The effects of temperature and pH on the ethanol tolerance of the wine yeasts, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida stellata* and *Kloeckera apiculata*. *Journal of Applied Bacteriology*, 65(5), 405-409. DOI:10.1111/j.1365-2672.1988.tb04312.x.
- Ghareib, M., Youssef, K.A., Khalil, A.A. (1988). Ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* and its relationship to lipid content and composition. *Folia Microbiologica (Praha)*, 33(6), 447-52. DOI: 10.1007/BF02925769.
- Hayashi, K., Kajiwara, Y., Futagami, T., Goto, M., Takashita, H. (2021). Making Traditional Japanese Distilled Liquor, Shochu and Awamori, and the Contribution of White and Black Koji Fungi. *Journal of Fungi*, 7(7), 517. DOI: 10.3390/jof7070517.
- Izawa, S., Inoue, Y. (2009). Post-transcriptional regulation of gene expression in yeast under ethanol stress. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 53(2), 93-99. DOI: 10.1042/BA20090036.
- Liu, X., Jia, B., Sun, X., Ai, J., Wang, L., Wang, C., Zhao, F., Zhan, J., Huang, W. (2015). Effect of Initial PH on Growth Characteristics and Fermentation Properties of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Food Science*, 80(4), M800-M808. DOI: 10.1111/1750-3841.12813.
- Ma, M., Liu, Z.L. (2010). Mechanisms of ethanol tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87(3), 829-45.
- Miyagawa, H., Tang, Y.-Q., Morimura, S., Wasano, N., Ota, H., Okuno, H., Takase, Y., Kida, K. (2011). Development of Efficient Shochu Production Technology with Long-term Repetition of Sashimoto and Reuse of Stillage for Fermentation. *Journal of the Institute of Brewing*, 117(1), 91-97.
- Morard, M., Macías, L.G., Adam, A.C., Lairón-Peris, M., Pérez-Torrado, R., Toft, C., Barrio, E. (2019). Aneuploidy and Ethanol Tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. *Frontiers in Genetics*, 10(82).
- Oishi, M., Tanoue, Y., Kajiwara, Y., Takashita, H., Okazaki, N. (2008). Sensory attributes of furfural formed in barley-shochu making and its formation factors. *Journal of the Brewing Society of Japan*, 103(9), 730-734.

- Okuda, M., Iizuka, S., Xu, Y., Wang, D. (2019). Rice in brewing. in: Bao, J. (Ed.), *Rice (Fourth Edition)*, (pp. 589-626). Washington DC:AACC International Press.
- Okutsu, K., Yoshizaki, Y., Kojima, M., Yoshitake, K., Tamaki, H., Kazunori, T. (2016). Effects of the cultivation period of sweet potato on the sensory quality of imo-shochu, a Japanese traditional spirit. *Journal of the Institute of Brewing*, 122(1), 168-174.
- Sasaki, M., Nunomura, N. (2003). Fermented foods | Soy (Soya) Sauce. in: Caballero, B. (Ed.), *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)*, (pp. 2359-2369). Oxford: Academic Press.
- Shiraishi, Y., Yoshizaki, Y., Ono, T., Yamato, H., Okutsu, K., Tamaki, H., Futagami, T., Yoshihiro, S., Takamine, K. (2016). Characteristic odour compounds in shochu derived from rice koji. *Journal of the Institute of Brewing*, 122(3), 381-387.
- Stanley, D., Bandara, A., Fraser, S., Chambers, P.J., Stanley, G.A. (2010). The ethanol stress response and ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Applied Microbiology*, 109(1), 13-24.
- WHO (World Health Organization). (2014). *Global Status Report on Alcohol and Health 2014*. Truy cập ngày 05/12/2021 từ: [http://www.who.int/substance\\_abuse/publications/alcohol/en/](http://www.who.int/substance_abuse/publications/alcohol/en/).
- Yamamoto, H., Mizutani, M., Yamada, K., Iwaizono, H., Takayama, K., Hino, M., Kudo, T., Ohta, H., Kida, K., Morimura, S. (2012). Characteristics of aromatic compound production using new shochu yeast MF062 isolated from shochu mash. *Journal of the Institute of Brewing*, 118(4), 406-411. DOI: 10.1002/jib.57.
- Yamamoto, H., Morimura, S., Mizutani, M., Yamada, K., Ochi, H., Takayama, K., Kudo, T., Ohta, H., Kida, K. (2011). Isolation and Characterization of Shochu Yeasts with Superior Brewing Ability from Shochu Mash. *Journal of the Institute of Brewing*, 117(4), 627-633. DOI: 10.1002/j.2050-0416.2011.tb00514.x
- Yoshizaki, Y., Yamato, H., Takamine, K., Tamaki, H., Ito, K., Sameshima, Y. (2010). Analysis of Volatile Compounds in Shochu Koji, Sake Koji, and Steamed Rice by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of the Institute of Brewing*, 116(1), 49-55. DOI: 10.1002/j.2050-0416.2010.tb00397.x
- Yuan, H., Chen, W., Chen, Y., Wang, L., Zhang, C., Deng, W., Zhang, L., Liu, G., Shen, C., Lou, K., Wang, S. (2021). Isolation and characterization of yeast for the production of rice wine with low fusel alcohol content. *PLOS ONE*, 16(11), e0260024. DOI:10.1371/journal.pone.0260024.