

KHẢO SÁT QUÁ TRÌNH LÊN MEN NƯỚC MÍA ROC16 VÀ CHUNG CẤT RƯỢU MÍA SỬ DỤNG CHẾ PHẨM THƯỜNG MẠI SACCHAROMYCES CEREVISIA

Đến tòa soạn 25-04-2023

Phan Thị Khánh Vinh*, Ngô Thị Sáu, Nguyễn Bảo

Khoa Công Nghệ Thực Phẩm, Trường Đại học Nha Trang, Việt Nam

* Email: vinhptk@ntu.edu.vn

SUMMARY

FERMENTATIVE CHARACTERISTICS AND DISTILLATION BY USING SACCHAROMYCES CEREVISIA PREPARATION ON SUGARCANE JUICE ROC16

Sugarcane ROC16 (Khanh Hoa province) is a key crop for economic development of the province, mainly serving the sugar industry. However, the value of sugar is not high, and is subject to fierce competition from imported sugar. It is essential to understand the technology that can create new products with high added value from sugarcane. The research conducted a survey on the fermentation process of ROC16 sugarcane juice and distillation of sugarcane alcohol using the commercial yeast Saccharomyces cerevisia to obtain a rum product with high alcohol content and characteristic odor. The results have determined some physicochemical parameters of ROC16 sugarcane juice with Brix 22°Bx, density 1,090 g/cm³, pH 5.1. Fermentation of sugarcane juice samples with S. cerevisiae (Spirit Ferm) for 7 days is appropriate. Alcohol distilled from sugarcane juice samples supplemented with tartaric acid has a typical rum flavor and highest alcohol concentration of 65% for the total of two fractions.

Keywords: sugar cane juice, Saccharomyces cerevisiae, fermentation, distillation

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Mía là một trong các cây trồng chủ lực giúp nhiều địa phương, trong đó có tỉnh Khánh Hòa phát triển kinh tế. Mía hầu như là nguồn nguyên liệu đầu vào cho ngành công nghiệp mía đường của Việt Nam. Tuy nhiên, hiện nay chúng ta đang đối mặt với sự cạnh tranh khốc liệt từ đường nhập khẩu, đường nhập lậu khiến đẩy giá đường thị trường xuống dưới giá thành sản xuất và dẫn đến đường tồn kho, diện tích cây mía bị thu hẹp [1]. Việc đa dạng hoá sản phẩm có giá trị gia tăng cao từ mía đường là nhu cầu cần thiết cho ngành mía Việt Nam.

Trên thế giới, ngoài sản xuất đường mía, nước mía và mật mía còn được sản xuất rượu, đặc biệt ở các nước Trung Mỹ, có nhiều thương hiệu nổi tiếng như Bacardi (Cuba), Captain Morgan

(Jamaica) v.v Trong khi đó, các sản phẩm rượu chưng cất từ mía lại chưa phổ biến và sản xuất đại trà. Các yếu tố quan trọng quyết định đến chất lượng mùi đặc trưng của rượu chưng cất từ mía là nguyên liệu mía (giống cây), cách xử lý dịch mía ép, chủng loại nấm men sử dụng và phương pháp chưng cất rượu. Điểm đáng chú ý gần đây là Công ty JTV đã nhập khẩu nước mía đông lạnh từ giống mía ROC16 ở Việt Nam về Vương quốc Bỉ để sản xuất rượu Rum mía. Chất lượng sản phẩm được chuyên gia và người tiêu dùng đánh giá rất cao vì cho ra rượu Rum mía có mùi vị như ý, hương thơm với 55 độ cồn. ROC16 là giống mía trồng phổ biến ở tỉnh Khánh Hoà với nhiều ưu điểm nổi bật là năng suất cao, và cho trữ đường cao và thường được sử dụng để làm nước mía ép giải khát.

Bên cạnh đó, Huỳnh Xuân Phong và cộng sự đã tiến hành khảo sát chủng loại nấm men chịu nhiệt phù hợp để lên men ethanol sinh học từ dịch ép mía được thanh trùng bằng NaHSO_3 [2]. Mục đích của nghiên cứu này là tuyển chọn nấm men thu được lượng ethanol sinh học tinh khiết tốt nhất. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng *Saccharomyces cerevisiae* lên men dịch ép mía cho hàm lượng ethanol đạt tốt nhất (10,58%) trong 23 dòng nấm men. Võ Tiến Dũng và cộng sự cũng thực hiện nghiên cứu ethanol sinh học từ mía và cây cao lương [3]. Trước đó, Vương Trọng Hào và cộng sự đã thực hiện lên men vang mía bằng nấm men *S. cerevisiae* LT2 vào năm 2003 [4]. Kết quả nghiên cứu cho thấy vang mía lên men từ nước mía tự nhiên cho hương thơm và vị ưu điểm hơn hẳn nước mía thanh trùng. Bản chất sản phẩm này là nước mía có độ cồn thấp.

Qua phân tích bối cảnh trên, rượu mía chưng cất cao độ (còn được gọi là rượu Rum) là tiềm năng rất lớn khi làm chủ công nghệ sản xuất rượu Rum ở Việt Nam. Nhóm nghiên cứu đã thực hiện khảo sát các phương pháp xử lý dịch mía ROC16 khác nhau, kết hợp quá trình lên men dịch mía bằng nấm men thương mại *S. cerevisia* và chưng cất rượu mía để thu sản phẩm rượu Rum có hàm lượng cồn cao và mùi đặc trưng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng nghiên cứu

Mía ROC16 thu hoạch ở Diên Thọ, Diên Khánh, tỉnh Khánh Hòa. Cây mía đạt độ chín khoảng 12 tháng tuổi làm nguyên liệu cho nghiên cứu. Mía được làm sạch, chặt bỏ phần ngọn và rễ, tuốt bỏ lớp vỏ cứng bên ngoài. Dùng máy ép để thu dịch mía và lọc để loại bỏ xơ, bã mía lẫn vào. Từ dịch nước mía ép sau quá trình lọc, chuẩn bị thành 04 mẫu khác nhau với chế độ xử lý cụ thể như sau, mẫu 1 - dịch nước mía tự nhiên (đối chứng); Mẫu 2 - dịch nước mía được bổ sung tinh thể axit tartaric để giảm pH từ 5,1 về 3,6. Tỷ lệ bổ sung là 0,1% (khối lượng/thể tích). Sau khi cho tinh thể axit tartaric vào, khuấy đều cho tan hoàn toàn; Mẫu 3 - dịch nước mía đem gia nhiệt đến 100°C và giữ nhiệt trong 4 phút để thanh trùng. Mẫu sau đó được làm nguội đến nhiệt độ phòng;

Mẫu 4 - dịch nước mía được bổ sung tinh thể axit tartaric với tỷ lệ tương tự mẫu 2. Sau đó đem nâng nhiệt đến 100°C và giữ nhiệt trong vòng 4 phút. Mẫu sau đó cũng tiến hành làm nguội đến nhiệt độ phòng.

Chế phẩm nấm men thương hiệu Spirit Ferm. Chế phẩm bao gồm men rượu *S. cerevisiae*, vitamin nhóm B và enzym pectolytic. Nấm men chịu được nồng độ ethanol đến 16%. Nhiệt độ lên men tối ưu là 20-25°C. Chế phẩm được hoạt hóa trước bằng nước sôi để nguội với tỉ lệ 1:10 trong thời gian 15 phút. Lượng chế phẩm sử dụng 0,05% lượng dịch nước mía ép theo hướng dẫn nhà sản xuất.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Xác định độ rượu thực tế sau lên men bằng phương pháp chưng cất

Sau khi lên men dịch nước mía, đo thể tích thu được rồi đem đi chưng cất ở nhiệt độ $95 \pm 5^\circ\text{C}$ sử dụng bộ sinh hàn. Sau khi chưng cất, đo lại thể tích rượu và đo độ rượu ở nhiệt độ phòng bằng tỷ trọng kế đo độ cồn. Để xác định độ rượu thực hiện như sau: Rót rượu chưng cất vào ống đong 100 ml khô sạch, tránh tạo bọt khí, thả từ từ rượu kế vào ống đong sao cho rượu kế không quá chìm sâu vào so với mức đọc. Để rượu kế ổn định sau đó đọc độ rượu trên rượu kế.

Độ rượu thực tế của dịch sau quá trình lên men được tính theo công thức:

$$b = \frac{a \times V2}{V1}$$

Trong đó:

- a: Độ rượu của dịch sau khi chưng cất (% v/v)
- b: Độ rượu của dịch sau quá trình lên men (% v/v)
- V1: Thể tích rượu sau khi lên men (ml)
- V2: Thể tích rượu sau khi chưng cất (ml)

Trường hợp rượu không ở nhiệt độ chuẩn 20°C, cần tra bảng để quy đổi về nồng độ rượu ở 20°C [5].

2.2.2 Xác định độ rượu biểu kiến trong quá trình lên men bằng phương pháp đo tỷ trọng

Để xác định độ rượu biểu kiến của dịch trong quá trình lên men. Tiến hành đo tỷ trọng dịch mía

ban đầu (SG) và đo tỷ trọng dịch sau lên men (FG). Sử dụng tỷ trọng kế để đo tỷ trọng.

Sử dụng tỷ trọng kế Chefast Hydrometer Kit để đo tỷ trọng và công thức tính theo hướng dẫn nhà sản xuất.

Độ rượu biểu kiến của dịch trong quá trình lên men tính theo tỷ trọng với công thức như sau:

$$ABV = \frac{(SG - FG)}{0,776} \times 100$$

Trong đó:

ABV: Độ rượu của dịch trong quá trình lên men (% v/v)

SG: Tỷ trọng dịch nước mía ban đầu (g/cm³)

FG: Tỷ trọng dịch nước mía sau lên men (g/cm³)

2.2.3 Xác định nồng độ chất hòa tan, pH

Nồng độ chất rắn hòa tan (%) được tính dựa trên chỉ số (Brix) đo được trên khúc xạ kế ATC-1E (Atago, Nhật Bản). Từ chỉ số nồng độ chất rắn hòa tan đo được quy đổi về nồng độ chất rắn hòa tan ở nhiệt độ chuẩn 20°C [6]. Giá trị pH được xác định bằng pH kế (BP3001, nhà sản xuất Trans Instruments).

2.3 Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được thực hiện 3 lần, kết quả thu được là giá trị trung bình của các lần đo. Kết quả thí nghiệm được xử lý và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, USA).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tính chất lý hóa của dịch nước mía

Nhóm nghiên cứu xác định mía ROC16 (Diên Khánh, Khánh Hòa) có thành phần khối lượng như sau: tỷ lệ nước mía 58,5%, tỷ lệ bã 41,5%. Nồng độ chất hòa tan của dịch mía ép là 22,6 Bx, pH 5,1 và tỷ trọng 1,090 g/cm³. Giá trị pH tương đối gần với kết quả nghiên cứu của Huỳnh Xuân Phong và cộng sự, với dịch mía thu được có pH 5,5 [2]. Bên cạnh đó, các nghiên cứu về rượu vang lên men từ các loại trái cây như nho, dứa, xo mít v.v đều cho thấy ngưỡng Brix phù hợp cho nấm men *S. cerevisiae* là từ 22 Bx-25 Bx và pH dao động từ 4,0-5,5 [7, 8]. Vì vậy, dịch mía ROC16 tại Khánh Hòa phù hợp cho quá trình lên men sử dụng *S. cerevisiae*.

3.2. Ảnh hưởng của phương pháp xử lý nước mía đến độ Brix, pH, tỷ trọng và độ rượu trong quá trình lên men

Kết quả thể hiện ở đồ thị Hình 1 cho thấy sau thời gian lên men 9 ngày tất cả các mẫu đều có nồng độ chất tan (chủ yếu là đường saccharose và đường khử) giảm. Kết quả công trình nghiên cứu Ngô Thị Phương Dung và cộng sự sau 6 ngày lên men ri đường cũng cho thấy kết quả độ Brix giảm từ 20 Bx xuống 12,7 Bx [9]. Nồng độ chất tan giảm nhanh từ ngày đầu đến ngày 5. Ở ngày thứ 5 lên men, độ Brix các mẫu dao động từ 8,0-11,2 Bx. Trong đó, mẫu nước mía đã thanh trùng có tốc độ chuyển hóa chất tan chậm nhất (mẫu 3) vì nấm men *S. cerevisia* thương phẩm tham gia quá trình trao đổi chất và lên men rượu, trong khi đó ở mẫu 1 và mẫu 2 (không thanh trùng) còn có thêm sự hiện diện nhóm nấm men dại (wild yeast) *Candida*, *Debaryomyces*, *Hanseniaspora*, *Meyerozyma*, *Wickerhamiella* và *Zygosaccharomyces* trên thân cây mía [10].

So sánh giữa mẫu 3 và mẫu 4 đều thực hiện thanh trùng nhưng ở mẫu 4 có bổ sung axit tartaric có mức độ giảm giá trị Brix trong 5 ngày đầu nhanh hơn. Kết quả xác định độ rượu thực tế bằng phương pháp chưng cất, mẫu 4 thu được là 11,6%, trong khi ở mẫu 3 là 10,0%. Điều này có thể lý giải như sau khi bổ sung axit tartaric vào dịch nước mía và đem gia nhiệt 100°C đã diễn ra quá trình chuyển hóa đường mía saccharose thành thành đường nghịch đảo - hỗn hợp của glucose và fructose vì vậy nấm men *S. cerevisia* sử dụng được ngay để lên men thành ethanol, trong khi với đường saccharose, nấm men cần sử dụng enzyme nội sinh invertaza để chuyển hóa thành đường fructose và glucose, rồi từ đó chuyển hóa thành ethanol.

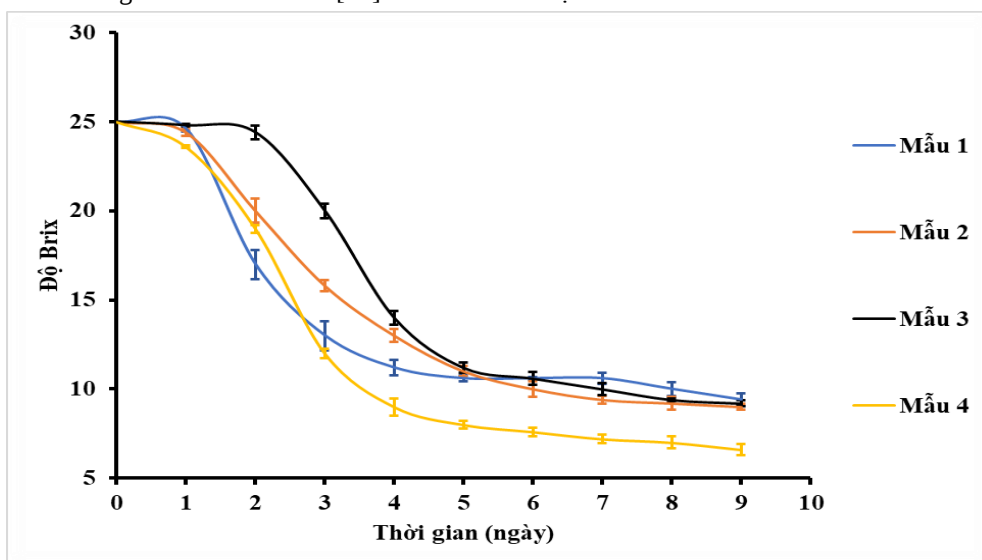
Từ đồ thị Hình 2 cho thấy pH trong quá trình lên men của bốn mẫu khảo sát đều có xu hướng giảm từ ngày đầu lên men đến ngày 4. Tuy nhiên, Mẫu 1 đối chứng, pH có xu hướng giảm mạnh nhất, giảm 29,2% so ban đầu sau 48 giờ; riêng mẫu 2 bổ sung thêm axit tartaric pH gần như chỉ giảm 10,6%. Xét về nồng độ rượu của hai mẫu này sau 48 giờ lên men mẫu 1 chỉ đạt 0,7%, trong khi mẫu 2 là 4,6% (Hình 3). Tương tự, mẫu 4 cũng bổ sung axit tartaric kết hợp thanh trùng, sau 48 giờ nồng

độ rượu đạt 5,1%. Nguyên nhân là do axit tartaric giúp thúc đẩy chuyển hóa đường saccharose thành đường nghịch đảo và gia nhiệt sẽ giúp chuyển hóa tốt hơn. Sau 5 ngày thì pH ở các mẫu khảo sát tăng nhẹ và có xu hướng ổn định.

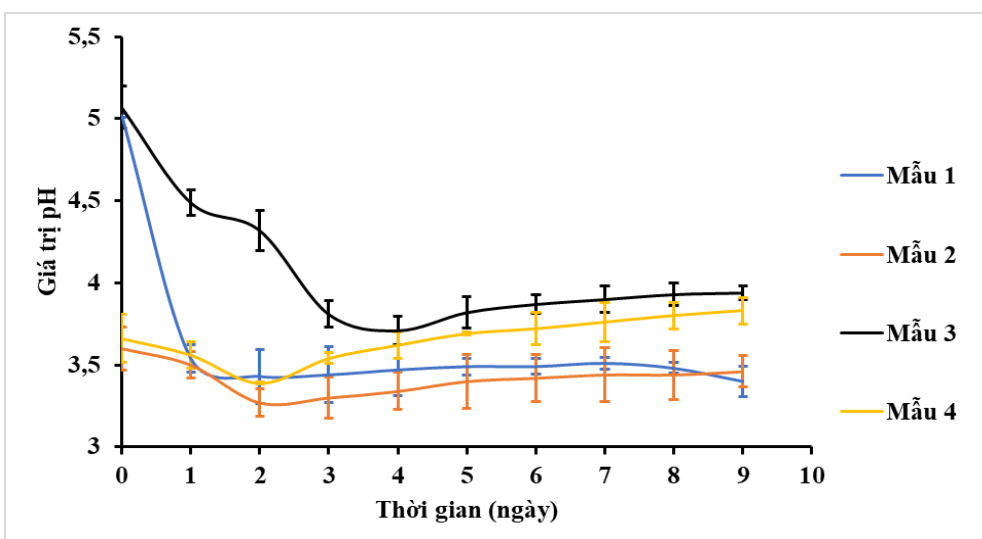
Đối với mẫu 3 và mẫu 1, từ ngày 2 đến ngày 5 độ rượu tăng mạnh, tăng từ 0,5%-0,7% lên 12,1%-13,0%. Trong khi mẫu 2 và mẫu 4 đều bổ sung axit tartaric từ ngày 1 đến ngày 4 độ rượu tăng mạnh từ 0,5-1,5% lên 12,4-13,7%. Từ ngày thứ 5 đến ngày thứ 9 thì nồng độ rượu tăng rất chậm nguyên nhân là do nồng độ ethanol tăng mạnh đã ảnh hưởng đến chức năng trao đổi glucose của màng tế bào nấm men [11]. Sau 7

ngày nồng độ ethanol gần như không thay đổi ở tất cả các mẫu.

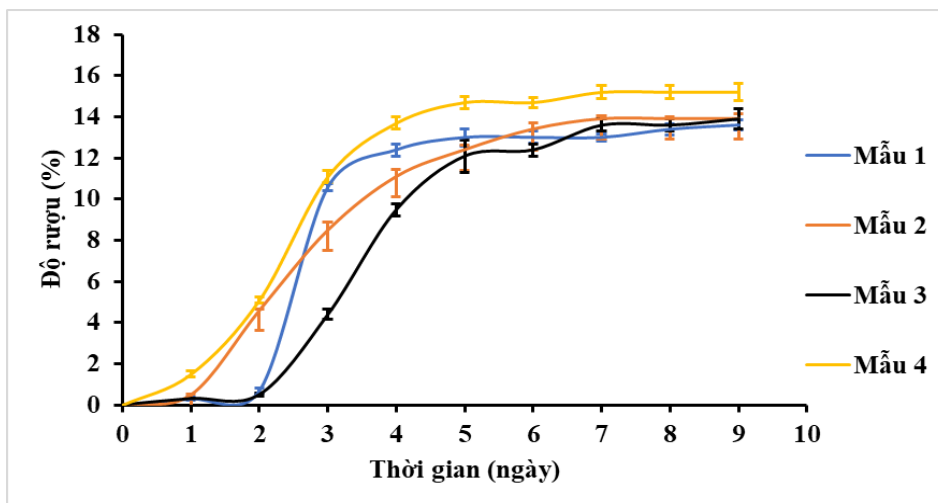
Từ thông số tỷ trọng và độ Brix dịch mía trước và trong quá trình lên men của bốn mẫu nước mía xử lý được đo bằng tỷ trọng kế và khúc xạ kế Atago, đã xây dựng được bốn đồ thị thể hiện mối tương quan giữa tỷ trọng và độ Brix với hệ số tương quan $R=0,99$ (Hình 4), cho thấy có mối tương quan tuyến tính rất cao giữa tỷ trọng và độ Brix của mẫu trong quá trình lên men. Sử dụng phương trình tuyến tính giúp xác định được tỷ trọng từ phép đo nồng độ chất tan, và từ đó tính toán được độ rượu biểu kiến theo công thức ở mục 2.2.2.



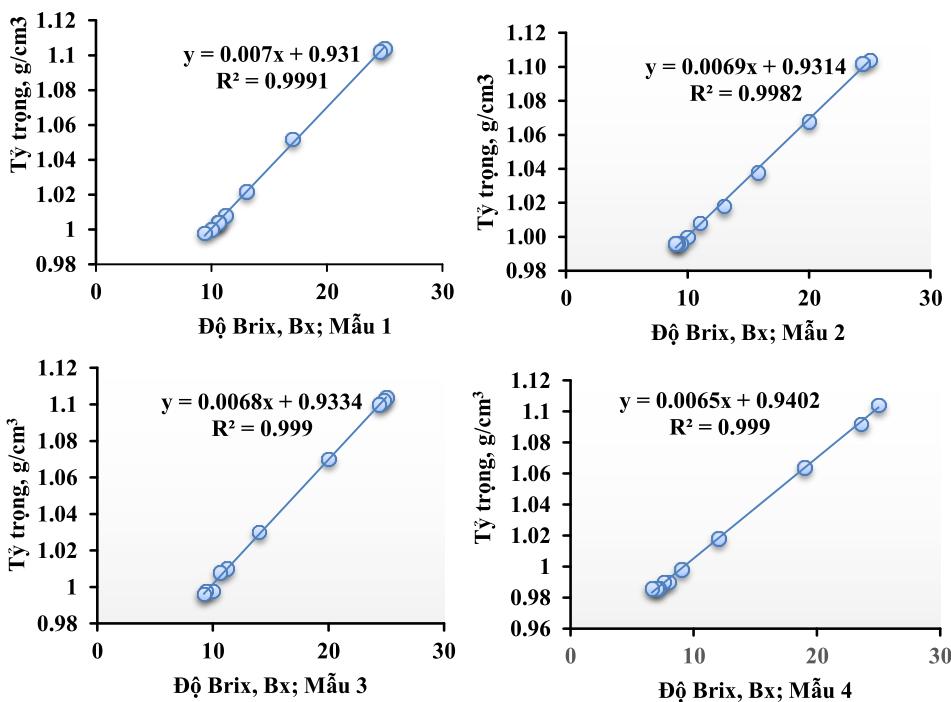
Hình 1. Ảnh hưởng của phương pháp xử lý nước mía đến độ Brix trong thời gian lên men



Hình 2. Ảnh hưởng của phương pháp xử lý nước mía đến pH trong thời gian lên men



Hình 3. Ảnh hưởng của phương pháp xử lý nước mía đến độ rượu biểu kiến trong quá trình lên men



Hình 4. Tương quan giữa độ Brix và tỷ trọng của 4 mẫu lên men

Bảng 1: Tính chất của các phân đoạn chưng cất từ dịch nước mía lên men

Mẫu	pH		Độ rượu, % ở 20°C	
	Phân đoạn 1 80-95°C	Phân đoạn 2 95-100°C	Phân đoạn 1 80-95°C	Phân đoạn 2 95-100°C
Mẫu 1	4,76 ± 0,02	3,86 ± 0,01	54,0	4,0
Mẫu 2	4,70 ± 0,01	4,00 ± 0,02	57,0	8,0
Mẫu 3	4,80 ± 0,03	4,02 ± 0,02	48,0	1,0
Mẫu 4	4,82 ± 0,02	3,67 ± 0,01	57,0	1,0

3.3. Khảo sát công đoạn chưng cất

Bốn mẫu rượu sau lên men được đem đi chưng cất. Kết quả độ rượu và pH của phân đoạn đầu

tiên được thể hiện Bảng 1. Phân đoạn 1 (80 - 95°C) tập trung thu nhận rượu nồng độ cao hơn phân đoạn 2 (95-100°C) cụ thể dao động từ 48

đến 57% phụ thuộc phương pháp xử lý. Trong đó mẫu 2 và mẫu 4 đều bổ sung axit tartaric và phân đoạn 1 của các mẫu này có nồng độ rượu cao nhất 57%. Tuy nhiên, ở phân đoạn 2 của hai mẫu có sự khác biệt lớn về nồng độ rượu, cụ thể ở mẫu 2 là 8% và mẫu 4 có thành trùng chỉ đạt 1%. Tương tự, với mẫu 3 thực hiện thanh trùng trước lên men nên thu được nồng độ rượu trong cả phân đoạn 1 và 2 đều thấp nhất với 48% và 1% tương ứng. Kết quả thí nghiệm cho thấy vai trò của nấm men đại diện trên thân cây mía góp phần tăng nồng độ rượu trong sản phẩm chưng cất. So sánh 4 mẫu thí nghiệm thì mẫu 2 chỉ bổ sung axit tartaric sẽ thu được nồng độ rượu ở phân đoạn 1 và 2 đều cao nhất. Bên cạnh đó, rượu chưng cất sẽ lưu giữ được hương mía tự nhiên.

Giá trị pH ở phân đoạn 2 đều thấp hơn so với phân đoạn 1. Kết quả nghiên cứu của tác giả Kim Đông và cộng sự cũng cho thấy càng cuối quá trình chưng cất thì hàm lượng axit tổng càng cao [12].

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Qua nghiên cứu đã xác định được một số chỉ tiêu hóa lý của dịch nước mía ROC16 (Diên Khánh, Khánh Hòa) có độ Brix 22°Bx, tỷ trọng 1,09 g/cm³, pH là 5,1. Kết quả nghiên cứu công đoạn lên men các mẫu nước mía đã xác định được thời gian lên men phù hợp là 7 ngày ở nhiệt độ 29±1°C. Rượu chưng cất từ mẫu nước mía bổ sung axit tartaric có nồng độ rượu cao nhất: phân đoạn 1 là 57% và phân đoạn 2 là 8%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Phạm Thu Thủy, Lan Hương, (2020). Báo cáo thị trường đường năm 2020. *Vietnambiz*, 20.
- [2] Huỳnh Xuân Phong, Hà Phú Quý, Nguyễn Ngọc Thanh, Bùi Hoàng Đăng Long, Ngô Thị Phương Dung, (2019). Lên men ethanol từ dịch ép mía sử dụng nấm men chịu nhiệt. *TNU J. Sci. Technol.*, **202(9)**, 185–192.
- [3] Vo Tien Dung, Nguyen Tuan Binh, Truong The Manh, (2021). Extracting ethanol from energy plant VA06-new orientation in mining environmental rehabilitation. *Tạp chí phân tích Hóa, Lý và Sinh học*, **26(3B)**, 226–229.
- [4] Vương Trọng Hào, Ngô Thanh Xuân, (2003). Nghiên cứu lên men vang mía. *Tạp chí Khoa học Các khoa học tự nhiên. Đại học sư phạm Hà Nội*, 94–99.
- [5] Nguyễn Đình Thường, Nguyễn Thanh Hằng, (2005). *Công nghệ sản xuất và kiểm tra cồn etylic*. NXB Khoa học Kỹ thuật. Hà Nội, Việt Nam.
- [6] Lê Thanh Mai, Nguyễn Thị Hiền, Phạm Thu Thủy, Nguyễn Thanh Hằng, Lê Thị Lan Chi, (2007). *Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men*. NXB Khoa học Kỹ thuật. Hà Nội, Việt Nam, 331.
- [7] Tống Thị Ánh Ngọc, Bùi Thị Ánh Ngọc, Nguyễn Thị Mỹ Ngọc, Ngô Minh Quang, (2018). Ảnh hưởng của pH và chất khô hòa tan đến quá trình lên men rượu từ xơ mít (*Artocarpus heterophyllus*) giống Thái Lan. *Tạp chí Khoa Học Trường Đại học Cần Thơ*, **54**, 211–218.
- [8] Nguyễn Văn Thành, Nguyễn Minh Thủy, Trần Thị Quế, Nguyễn Thị Mỹ Tuyền, Nguyễn Phú Cường, Huỳnh Trần Toàn, (2013). Lên men rượu vang khóm Cầu Đức (Hậu giang) bằng nấm men phân lập và thuần chủng. *Tạp chí Khoa học trường Đại học Cần Thơ. Phần B Nông nghiệp, thủy sản và công nghệ sinh học*, **27**, 56–63.
- [9] Ngô Thị Phương Dung, Nguyễn Ngọc Thanh, Võ Bá Phúc, Bùi Hoàng Đăng Long, Pornthap Thanonkeo, Mamoru Yamada, Huỳnh Xuân Phong, (2017). Lên men ethanol từ rỉ đường sử dụng nấm men chịu nhiệt. *Tạp chí Khoa học và công nghệ Việt Nam*, **18(7)**, 59–64.
- [10] R. S. C. De Souza *et al.*, (Jun. 2016). Unlocking the bacterial and fungal communities assemblages of sugarcane microbiome. *Sci. Reports 2016 61*, **6(1)**, 1–15.
- [11] P. B. Bely Marina, J.M. Salmon, (1994). Assimilable nitrogen addition and hexose transport system activity during enological fermentation. *J. Inst. Brew.*, **100(4)**, 279–282.
- [12] Nguyễn Kim Đông, Phan Văn Thom, Lý Nguyễn Bình, (2012). Nghiên cứu quá trình sản xuất rượu để qui mô hộ trên địa bàn tỉnh Vĩnh Long. *Tạp chí Khoa học*, **24a**, 153–166.