

ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ TỚI QUÁ TRÌNH LÊN MEN VANG TÁO MÈO (*DOCYNIA INDICA*)

ĐINH THỊ KIM NHUNG

I. MỞ ĐẦU

Việt Nam là nước nhiệt đới có nhiều loại hoa quả phong phú, trong đó có một số quả có thể là nguồn nguyên liệu tốt cho sản xuất rượu vang, đặc biệt ở miền núi phía bắc có quả táo mèo (*Docynia indica*) có hương vị thơm ngon. Hàng năm sản lượng táo mèo thu được khá lớn nhưng chỉ sử dụng khoảng 35 - 40%, lượng còn lại chưa được chế biến. Nếu tận dụng để sản xuất rượu vang táo mèo sẽ đem lại hiệu quả kinh tế góp phần nâng cao thu nhập cho người dân các dân tộc vùng cao. Kết quả nghiên cứu “*Ảnh hưởng của một số nhân tố tới quá trình lên men vang táo mèo*” là một đóng góp theo hướng giúp giải quyết đầu ra cho các sản phẩm chưa chế biến.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng nghiên cứu

Quả táo mèo (*Docynia indica*) được thu nhận từ 2 tỉnh trồng nhiều ở một số tỉnh vùng núi phía Bắc Việt Nam là Yên Bái và Sơn La. Chủng nấm men nghiên cứu được phân lập từ dịch quả táo mèo.

2. Phương pháp nghiên cứu

Phân lập, tuyển chọn chủng nấm men theo phương pháp của Graxinốp. Xác định hoạt lực lên men thông qua lượng khí cacbonic giải phóng. Xác định hàm lượng đường theo phương pháp Bectorans, rượu theo phương pháp Nitrocromic, axit tổng số bằng chuẩn độ với NaOH 0,1 N có chỉ thị là phenolphtalein, pH trên máy đo pH meter. Xử lý số liệu bằng thống kê toán học [6 - 9].

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

1. Thành phần hoá học cơ bản của dịch táo mèo, tuyển chọn chủng nấm men

Chúng tôi đã tiến hành phân tích thành phần hoá học cơ bản của dịch táo mèo. Kết quả thí nghiệm được trình bày tại bảng 1.

Bảng 1. Thành phần hoá học của dịch quả táo mèo

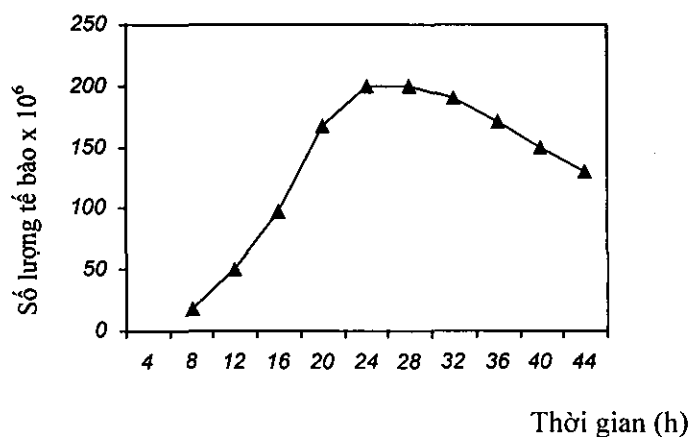
Thành phần hóa học	Đơn vị	Nơi thu mẫu		Trung bình
		Yên Bái	Sơn La	
Đường tổng số	%	4,8	4,82	4,81
Axit tổng số	%	1,45	1,48	1,47
Vitamin C	mg/l	11,0	11,4	11,22
Nước	%	84,0	85,1	84,6
Protein toàn phần	%	0,92	0,92	0,92
pH		2,8	3,0	2,9

Kết quả phân tích cho thấy trọng lượng trung bình quả táo mèo là $20,5 \pm 0,5$ g. Dịch táo mèo có hàm lượng: nước 84,6%; đường 4,81%; axit tổng số 1,47%; pH: 2,9; prôtêin toàn phần 0,92%; vitamin C: 11,22 mg/l.

Căn cứ vào hàm lượng đường và các chất có trong dịch táo mèo, đây là nguồn nguyên liệu có thể tận dụng để lên men rượu vang. Vì vậy chúng tôi sử dụng đường ngâm chích li quả táo mèo và dùng dung dịch này pha loãng cho lên men để phân lập tuyển chọn chủng nấm men có thể dùng cho lên men vang táo mèo. Quá trình tuyển chọn chủng dựa vào các chỉ tiêu: khả năng chịu được độ cồn và axit cao, tốc độ phát triển nhanh, chu kì lên men ngắn, có khả năng lên men tốt trong môi trường có hàm lượng đường cao. Bên cạnh đó, khả năng tạo hương thơm, không sinh độc tố, dễ lắng trong, có khả năng cạnh tranh tốt với các vi sinh vật khác, ổn định lâu dài trong sản xuất cũng là những lựa chọn quan trọng [7]. Trên cơ sở những nghiên cứu trên đã chọn được chủng T_2 có khả năng tạo ra trên 32 g CO_2 / lít sau 36 giờ. Dựa vào khoá phân loại của Lodder. J và Kreger-Van Rij. N. J. W [4, 5] xác định tên khoa học của chủng T_2 tuyển chọn là nấm men (*Saccharomyces cerevisiae*) và chủng này được sử dụng làm đối tượng nghiên cứu.

2. Động thái sinh trưởng, phát triển của chủng nấm men *S. cerevisiae* T_2 trên môi trường nhân giống

Trong công nghệ sản xuất rượu vang giai đoạn nhân giống chỉ chiếm một thời gian ngắn nhưng lại đóng vai trò hết sức quan trọng. Để nghiên cứu tốc độ phát triển của nấm men trên môi trường nhân giống, chúng tôi tiến hành theo dõi sự sinh trưởng, phát triển của nấm men trong khoảng thời gian 32 giờ [1, 7]. Giai đoạn nhân giống chiếm một thời gian ngắn vào khoảng 24 - 32 giờ nhưng lại đóng vai trò hết sức quan trọng. Đây là cơ sở để chọn thời điểm nhân giống cho phù hợp và đồng thời cũng là cơ sở để nghiên cứu ảnh hưởng của một số nhân tố tới quá trình phát triển của chủng nấm men đã tuyển chọn *S. cerevisiae* T_2 . Hình 1 là đồ thị động thái sinh trưởng của chủng T_2 .



Hình 1. Động thái sinh trưởng của *S. cerevisiae* T_2 trên môi trường nhân giống

Chủng nấm men này được cấy trên môi trường dịch quả táo mèo điều chỉnh độ đường 220 g/l, pH: 4,0, cấy giống 10%. Kết quả phân tích cho thấy, độ cồn đạt 12% V, đường sót 5,2%, hiệu suất lên men tốt. Qua nghiên cứu động thái phát triển của chủng nấm men *S. cerevisiae* T_2 , chúng tôi nhận thấy sự phát triển này tuân theo quy luật 4 pha bao gồm các pha tiềm phát, cấp số mũ, cân bằng và suy vong. Số lượng tế bào đạt giá trị cao nhất vào thời điểm 24 - 28 giờ. Kết quả nghiên cứu về thời gian nhân giống nấm men phù hợp với một số tác giả trong nước [7]. Thời điểm 24 giờ được chọn dùng để nhân giống cho nấm men.

3. Ảnh hưởng của các thành phần môi trường đối với sinh trưởng của *S.cerevisae* T₂

a. Cao nấm men

Cao nấm men là nguồn nitơ hữu cơ có vai trò là chất kích thích sinh trưởng quan trọng cho tế bào nấm men. Nguồn nitơ này được chọn ở các mức 0,2 - 1% [1, 8]. Bảng 2 là kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của cao nấm men đối với *S. cerevisae* T₂.

Bảng 2. Ảnh hưởng của cao nấm men đối với quá trình sinh trưởng của *S. cerevisae* T₂

Cao nấm men (%)	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
Số lượng tế bào $\times 10^6$	4,5	5,9	7,8	6,9	6,5

Lượng cao nấm men thích hợp cho chủng *S.cerevisae* T₂ ở mức 0,6 %, tại nồng độ này số lượng tế bào đạt cao nhất $7,8 \times 10^6$.

b. Ảnh hưởng của hàm lượng đường

Đường là nguồn các bon đóng vai trò quan trọng nhất trong việc tạo thành rượu trong vang táo mèo. Để nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng đường cho quá trình lên men, chúng tôi chọn hàm lượng đường ở các mức khác nhau từ 230, 250, 270 đến 290 g/l [3, 8, 9]. Môi trường lên men được bổ sung với lượng giống như nhau và theo dõi sự sinh trưởng của tế bào nấm men, hàm lượng rượu tạo thành, hàm lượng đường sót còn lại trong dịch lên men. Kết quả thí nghiệm được dẫn ra ở bảng 3.

Bảng 3. Khả năng lên men của chủng *S. cerevisae* T₂ trên môi trường có hàm lượng đường ở các mức khác nhau

Chỉ tiêu đánh giá	Hàm lượng đường (g/l)			
	230	250	270	290
Đường sót (%)	$5,0 \pm 0,2$	$5,0 \pm 0,2$	$6,0 \pm 0,2$	$9,0 \pm 0,2$
Cồn (%v)	$10,8 \pm 0,2$	$12,8 \pm 0,2$	$12,4 \pm 0,2$	$9,0 \pm 0,2$
Cảm quan	60	68	65	45

Kết quả hàm lượng rượu tạo thành cao nhất là 12,8% V trong môi trường có lượng đường 25% và hàm lượng đường sót trong dịch lên men còn 5%. Với mẫu có hàm lượng đường 29% nấm men phát triển rất kém, lượng đường sót còn rất cao tới 9%. Vì vậy hàm lượng đường thích hợp cho lên men của chủng nấm men T₂ này là 25%.

c. Ảnh hưởng của $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

Trong các nguồn nitơ gồm có 2 nitơ vô cơ và hữu cơ. Tốc độ sinh trưởng của nấm men không chỉ phụ thuộc vào các yếu tố như hàm lượng đường, nhiệt độ mà còn bị ảnh hưởng rất nhiều từ nguồn nitơ vô cơ và nguồn nitơ hữu cơ. Trong lên men thường sử dụng nguồn nitơ vô cơ để tránh gây mùi cho sản phẩm. Nguồn nitơ vô cơ chúng tôi chọn là $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, đây là nguồn nitơ dễ hấp thụ với tế bào nấm men và nguồn nitơ này được chọn ở các mức 0,4 - 1% [1, 8]. Kết quả thí nghiệm được dẫn ra ở bảng 4.

Kết quả cho thấy nguồn nitơ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ở mức 0,6 % là thích hợp cho chủng *S. cerevisae* T₂.

Bảng 4. Khả năng lên men của chủng *S. cerevisiae* T₂ trên môi trường có hàm lượng (NH₄)₂SO₄ ở các mức khác nhau

Chỉ tiêu	Hàm lượng (NH ₄) ₂ SO ₄ (%)			
	0,4	0,6	0,8	1
Đường sót (%)	6,0 ± 0,2	5,0 ± 0,2	5,0 ± 0,2	6,0 ± 0,2
Cồn(%v)	10,7 ± 0,2	12,9 ± 0,2	12,5 ± 0,2	12,0 ± 0,2
Cảm quan	60	70	65	55

d. Ảnh hưởng của MgSO₄. 7H₂O

Nguồn MgSO₄. 7H₂O được chọn sử dụng ở các mức 0,03 - 0,05 - 0,07 - 0,09% [9]. Kết quả thí nghiệm được dẫn ra ở bảng 5.

Bảng 5. Khả năng lên men của chủng *S. cerevisiae* T₂ trên môi trường có hàm lượng MgSO₄. 7H₂O khác nhau

Chỉ tiêu đánh giá	Hàm lượng MgSO ₄ .7H ₂ O (%)			
	0,03	0,05	0,07	0,09
Đường sót (%)	6,0 ± 0,2	5,0 ± 0,2	5,0 ± 0,2	6,0 ± 0,2
Cồn (%v)	11,0 ± 0,2	12,7 ± 0,2	13,0 ± 0,2	12,0 ± 0,2
Cảm quan	60	65	68	60

Như vậy nguồn MgSO₄. 7H₂O ở mức 0,07% là thích hợp cho chủng *S.cerevisiae* T₂.

4. Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện môi trường đối với lên men vang táo mèo

a. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Bảng 6. Khả năng lên men của chủng *S. cerevisiae* T₂ trên môi trường có nhiệt độ khác nhau

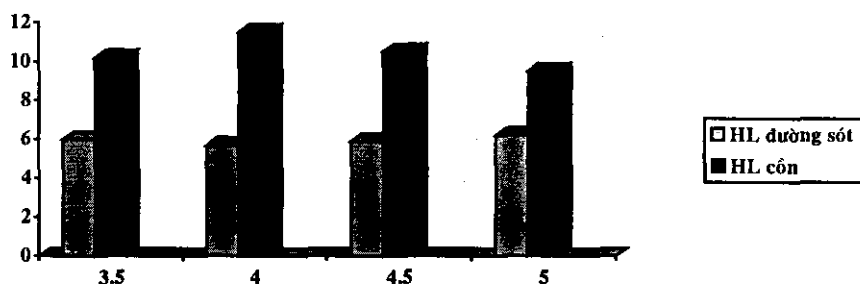
Chỉ tiêu đánh giá	Nhiệt độ °C			
	24	26	28	30
Đường sót (%)	6,0 ± 0,2	5,5 ± 0,2	5,0 ± 0,2	5,5 ± 0,2
Cồn (%v)	11, 0 ± 0,2	12,6 ± 0,2	13,0 ± 0,2	12,4 ± 0,2
Cảm quan	60	68	70	65

Để nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ tới quá trình nhân giống, chúng tôi chọn nhiệt độ ở: 24 – 26 – 28 – 30°C. Môi trường nhân giống được bổ sung với lượng giống như nhau và theo dõi sự sinh trưởng của tế bào nấm men [3, 6]. Kết quả thí nghiệm thu được ở bảng 6.

Kết quả cho thấy nhiệt độ thích hợp cho quá trình nhân giống chủng *S.cerevisiae* T₂ là 28°C.

b. Ảnh hưởng của pH môi trường

Nghiên cứu khả năng lên men của chủng *S. cerevisiae* T₂ trên môi trường có độ pH khác nhau từ 3,5; 4,0; 4,5; 5,0. Xác định khả năng lên men trên các loại môi trường này. Kết quả thí nghiệm thu được ở hình 2.



Hình 2. Khả năng lên men trên môi trường có độ pH khác nhau của *S. cerevisiae* T₂

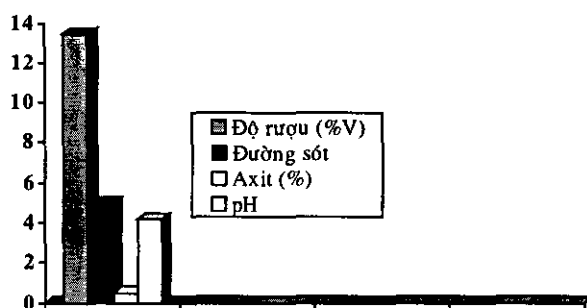
Kết quả cho thấy tại pH 4,0 hàm lượng rượu đạt cao nhất 13% V trong khi đường sót ở mức thấp nhất 5%. Kết quả này chứng tỏ pH thích hợp cho chủng nấm men T₂ là 4,0.

c. Ảnh hưởng của hàm lượng giống

Quá trình sản xuất rượu vang phụ thuộc rất nhiều vào số lượng giống nấm men. Để chọn được lượng giống bổ sung thích hợp cho quá trình lên men chúng tôi chọn trong khoảng từ 5, 10, 15, 20%. Kết quả đã chọn được lượng giống thích hợp cho quá trình lên men là 10 - 15%.

6. Lên men sản xuất thử với quy mô phòng thí nghiệm, xây dựng quy trình sản xuất rượu vang táo mèo

Sau khi đã nghiên cứu môi trường và điều kiện lên men thích hợp cho chủng nấm men T₂ gồm đường: 25%; (NH₄)₂SO₄: 0,6%; MgSO₄·7H₂O: 0,07%; nhiệt độ: 28°C; pH: 4,0, kết quả phân tích sau khi kết thúc quá trình lên men về độ rượu, đường sót, axit, và pH được trình bày ở hình 3.



Hình 3. Kết quả phân tích rượu thành phẩm

Rượu vang đạt chất lượng tốt với hàm lượng rượu 13,5%; đường sót 5%; axit: 0,48%; pH: 4,2. Ngoài ra, rượu trong, có hương vị thơm đặc trưng của táo mèo, khả năng lắng trong tốt. Kết quả trên là cơ sở để xây dựng quy trình sản xuất rượu vang táo mèo.

V. KẾT LUẬN

Quả táo mèo có trọng lượng trung bình là 20,5 ± 0,5 g. Dịch táo mèo có hàm lượng nước 84,5%; đường 4,81%; axit tổng số 1,47%; pH: 2,9; protein toàn phần 0,92%; VTMC: 11,22 mg/l, phù hợp cho lên men rượu vang. Chủng *S. cerevisiae* T₂ có khả năng lên men vang táo mèo tốt. Môi trường dinh dưỡng và điều kiện lên men cho chủng nấm men được xác định gồm: đường 5%; (NH₄)₂SO₄: 0,8%; MgSO₄·7H₂O: 0,07%; nhiệt độ: 28°C; giống: 10 - 15% pH: 4,0 có ảnh hưởng tốt nhất tới sinh trưởng phát triển của chủng *S. cerevisiae* T₂. Kết quả lên men ở quy mô phòng thí nghiệm đạt kết quả tốt là cơ sở để xây dựng quy trình lên men vang táo mèo ở quy mô lớn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. D. Avram and A. T. Bakalinsky - FZF1p of *Saccharomyces cerevisiae* is a positive regulator of *SSU1* transcription and its first zinc finger is required for DNA binding, *Yeast* **15** (1999) 473-480.
2. N. J. Bria and L. V. Tinrina - Vi sinh vật học trong việc chế biến vang, Nhà xuất bản Công nghiệp thực phẩm Maxcova, 1969.
3. C. Charoenchai, G. Fleet, P. Henschke - Effects of Temperature, pH, and Sugar Concentration on the Growth Rates and Cell Biomass of Wine, Yeasts. *Am. J. Enol. Vitic* **49** (3) (1998) 283-288.
4. J. Lodder - The yeast. A taxonomic study. 2nd, ed. North Holland. Publ. Co. Amsterdam – London, 1971.
5. Kreger van Rij, N.J.W. (Ed). - The yeast: a taxonomic study. 3rd, ed. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1984.
6. M. Vilanova et al. - Influence of *S. cerevisiae* on Properties of White Wines, *Food Technol. Biotechnol* **43** (1) (2005) 79-83.
7. Nguyễn Thế Trang, Nguyễn Văn Hiếu - Nghiên cứu sử dụng bánh men để sản xuất rượu vang thích hợp ở các tỉnh vùng núi phía Bắc, *Tạp chí Nông nghiệp và công nghiệp thực phẩm* **10** (2004) 69-470.
8. T. N. Sneyd, P. J. Leske, and P. A. Dunsford - How much Sulfuro Proceedings of the 8th Wine Industry Technical Conference. Eds. C. Stockley, R. Johnstone, P. Leske and T. Lee (Winetitles: Adelaide, South Australia), 1993, pp. 161-166.
9. P. Romano and et al. - Improverment of wine *Saccharomyces cerevisiae* strain by a breeding programe, *Appl. And Environ. Microbiology* **50** (4) (1986) 1064-1067.

SUMMARY

THE EFFECT OF SOME FACTORS ON DOCYNIA INDICA WINE FERMENTATION PROCESS

Docynia indica contain sugar about: 4,81%; acid:1,47%; H₂O: 84,5%; pH: 2,9; protein: 0,92%; vitamin C: 11,22 mg/l. *Docynia indica* fruit considered are sutable source for the wine fermentation. *Docynia indica* are populated materials in the midland as Yen Bai, Son La provinces. Every year, a huge amount of them is harvested. However, this is much larger than the consumption demand in the market. That's why a posthaversting processing techonology is inquired. Wine production is one of the ways. The strain *Saccharomyces cerevisiae* T₂ has ben isolated and selected for the fermentation of *Docynia indica* wine.

The influences of medium composition, environmental condition on *S. cerevisiae* T₂ fermentation of *Docynia indica* wine have been done. It is found that the medium composition consisting of sugar: 5%, (NH₄)₂SO₄: 0,8%; MgSO₄.7H₂O: 0,07% and the fermentation run at 28°C, pH: 4,0 are demonstrated good for wine fermentation. The fermentation model at the laboratory level has been set up with good results, and it would be scaled up at production level.

Địa chỉ:

Nhận bài ngày 12 tháng 4 năm 2006

Trường Đại học Sư phạm 2, Đại học Quốc gia Hà Nội.