LÊN MEN RƯỢU VANG VẢI THIỀU BỞI CHỦNG NẤM MEN *Saccharomyces cerevisiae* LC_3

ĐINH THỊ KIM NHUNG

Trường đại học Sư phạm Hà Nội 2

Việt Nam có khí hậu nhiệt đới gió mùa nóng ẩm, là điều kiện thuận lợi cho cây vải thiều (*Litchi chinensis* Sonn.) phát triển. Trong những năm gần đây, sản lượng vải thiều sản xuất ra rất nhiều nhưng nhu cầu sử dụng ở trong nước chỉ hết khoảng 30-35%; sản lượng còn lại cần được chế biến hoặc xuất khẩu [1, 2, 7]. Để nâng cao giá trị của loại quả này, cũng như giải quyết một phần tồn đọng trong quá trình thu hoạch, góp phần làm phong phú sản phẩm chế biến từ hoa quả, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu lên men rượu vang từ vải thiều. Quá trình lên men rượu vang vải thiều thực hiện bởi chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* LC_3 của phòng thí nghiệm Vi sinh, trường đại học Sư phạm Hà Nội 2.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng

- Quả vải thiều (*Litchi chinensis* Sonn.) được thu nhận từ 2 địa phương có trồng nhiều vải thiều ở miền Bắc Việt Nam là huyện Lục Ngạn, tỉnh Bắc Giang và huyện Thanh Hà, tỉnh Hải Dương. Xác định thành phần của dịch vải thiều.

- Chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* LC_3 của phòng thí nghiệm Vi sinh, trường đại học Sư phạm Hà Nội 2. Chủng này được tuyển chọn từ 42 mẫu nấm men *S. cerevisiae*.

2. Phương pháp

- Tuyển chọn, định loại nấm men và xác định hoạt lực lên men của nấm men.

- Xác định hàm lượng đường sót bằng phương pháp Graxinốp; xác định hàm lượng axít trong dịch lên men bằng chuẩn với NaOH 0,1N.

- Nghiên cứu một số đặc tính sinh học và ảnh hưởng của một số yếu tố tới quá trình lên men rượu vang vải thiều.

- Xử lý số liệu bằng thống kê toán học.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Thành phần hóa học cơ bản của dịch cùi vải thiều

Thành phần hóa học cơ bản của dịch cùi vải thiều (gọi tắt là dịch vải thiều) được phân tích. Kết quả được dẫn ra ở bảng 1.

Bảng 1

Thành phần hoá học cơ bản của dịch vải thiều

STT	Thành phần hóa học	Đơn vị	Nơi thu mẫu		Trung bình
			Lục Ngạn	Thanh Hà	
1	Đường tổng số	g/l	162 ± 0,02	166 ± 0,02	164 ± 0,02
2	Axit tổng số	g/l	5,2 ± 0,03	5,0 ± 0,03	5,1 ± 0,03
3	Nước	%	83,0 ± 0,02	83,0 ± 0,02	83,0 ± 0,02
4	Tro	%	0,5 ± 0,03	0,5 ± 0,03	0,5 ± 0,03
5	pH		3,8 ± 0,03	3,8 ± 0,03	3,8 ± 0,03

Các chỉ tiêu cơ bản như hàm lượng đường: 164 g/l; axít tổng số: 5,1 g/l; nước: 83,0%; tro: 0,5% và pH: 3,8, phù hợp với nguyên liệu để sản xuất rượu vang.

2. Tuyển chọn chủng nấm men

Chúng tôi dựa vào các chỉ tiêu sau đây để phân lập và tuyển chọn chủng: chịu được độ cồn và độ axít cao, có tốc độ phát triển nhanh, chu kỳ lên men ngắn, có khả năng lên men tốt trong điều kiện môi trường có hàm lượng đường cao, hương thơm tạo e-xte đặc biệt, không sinh độc tốt, dễ lắng trong, có khả năng cạnh tranh tốt với các vi sinh vật khác, ổn định lâu dài trong sản xuất.

Từ dịch vải thiều, phân lập được 42 mẫu nấm men khác nhau; đem thử hoạt lực lên men trong dịch vải thiều thông qua hàm lượng CO_2 thoát ra [3, 4, 5, 6]. Mẫu nào cho hàm lượng CO_2 thoát ra càng nhiều thì có hoạt lực lên men càng mạnh. Dựa theo khóa phân loại của Yelinov N. P., đã xác định mẫu nấm men này là chủng *S. cerevisiae* LC_3 [7]. Tiếp theo, chúng tôi tiến hành nghiên cứu khả năng phát triển của chủng. Nuôi cấy chủng nấm men này trên môi trường có dịch vải thiều với: hàm lượng đường: 100 g; giá đỗ xanh: 10 g; pH: 4,0; lượng giống ban đầu $(3,5 \pm 0,1) \times 10^6$ tế bào/ml; nhiệt độ: 28°C. Kết quả hoạt lực lên men của chủng *S. cerevisiae* LC_3 đạt giá trị cao nhất và được giữ làm đối tượng nghiên cứu khả năng lên men, ảnh hưởng của pH và động thái phát triển của chủng trong quá trình nhân giống.

a. Khả năng lên men trong môi trường nhân giống

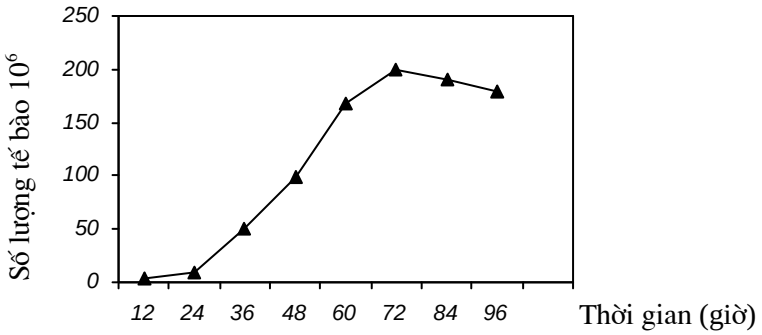
Chủng nấm men này được cấy vào môi trường dịch vải thiều có bổ sung đường saccaroza đạt 220 g/l; điều chỉnh pH ở 4,0; giữ ở nhiệt độ 28°C, số lượng giống ban đầu $(3,5 \pm 0,1) \times 10^6$ tế bào/ml. Phân tích các chỉ tiêu của chủng *S. cerevisiae* LC_3 đạt độ cồn 12% (v/v), đường sót còn 5,2 (w/v) và hiệu suất lên men tốt.

b. Khả năng lên men ở các pH khác nhau

Để xác định ảnh hưởng của pH của môi trường tới khả năng lên men của chủng *S. cerevisiae* LC_3, chúng tôi tiến hành trên môi trường lên men ở nhiệt độ: 28°C, có pH biến đổi ở các mức: 2,5; 3,0; 3,5; 3,8; 4,5 và 5,0. Xác định hàm lượng CO_2/l của môi trường sau 24 giờ nuôi cấy. Kết quả cho thấy chủng *S. cerevisiae* LC_3 có khả năng lên men mạnh ở pH: 3,5-4,5.

c. Nghiên cứu động thái phát triển của chủng S. cerevisiae LC_3

Trong công nghệ sản xuất rượu vang, giai đoạn nhân giống chiếm thời gian ngắn nhưng lại đóng vai trò hết sức quan trọng. Để nghiên cứu tốc độ phát triển của chủng nấm men trên môi trường nhân giống, chúng tôi tiến hành theo dõi sự sinh trưởng và phát triển của nấm men. Giai đoạn nhân giống chiếm thời gian ngắn, khoảng 24-48 giờ nhưng lại đóng vai trò hết sức quan trọng. Tuy vậy, việc nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng tới sự sinh trưởng và phát triển của chủng nấm men *S. cerevisiae* LC_3 là một phần trong quá trình sản xuất rượu vang (hình 1).



Hình 1. Động thái phát triển của chủng nấm men *S. cerevisiae* LC_3

Qua nghiên cứu, chúng tôi chọn chủng *S. cerevisiae* LC_3 có khả năng sinh sản và phát triển tốt ở môi trường nhân giống; sau 48-72 giờ, số lượng tế bào đạt mức cao; sau 72 giờ, số lượng tế bào giảm dần. Chủng *S. cerevisiae* LC_3 đạt các chỉ tiêu đã đề ra, được chọn làm đối tượng để lên men rượu vang vải thiều.

3. Ảnh hưởng của hàm lượng đường saccaroza trong lên men rượu vang vải thiều

Dịch lên men được bổ sung thêm đường saccaroza để đạt hàm lượng ở các mức 150, 200, 250, 280 g/l và lên men ở nhiệt độ 28°C, pH = 4,0. Kết quả được dẫn ra ở bảng 2.

Bảng 2

Ảnh hưởng của hàm lượng đường saccaroza tới quá trình lên men rượu vang vải thiều

Chỉ tiêu phân tích	Đơn vị	Hàm lượng đường (g/l)			
		150	**200**	**250**	**280**
Đường sót	% (w/v)	4,18 ± 0,03	4,6 ± 0,03	5,2 ± 0,03	6,47 ± 0,03
Cồn	% (v/v)	10,0 ± 0,02	12, 0 ± 0,03	12,5 ± 0,03	12,5 ± 0,03
pH		3,98 ± 0,03	3,86 ± 0,03	3,78 ± 0,03	3,72 ± 0,03
Cảm quan	100 điểm	55 ± 5	65 ± 5	65 ± 5	65 ± 5

Khi hàm lượng đường trong dịch lên men tăng tới 150-280 g/l, lượng đường sót cũng tăng dần nhưng hiệu suất và pH giảm dần. Hàm lượng đường trong dịch lên men tăng, làm áp suất thẩm thấu trong dịch lên men tăng, cùng với hàm lượng cồn và axít được tạo ra trong quá trình lên men đã ức chế sự trao đổi chất và hoạt động sống của nấm men, ức chế hoạt động của nhiều loại enzim, làm cho hiệu suất lên men giảm [6, 7]. Môi trường lên men rượu vang có chứa hàm lượng đường 250 g/l phù hợp với sự phát triển của chủng nấm men này, bởi lượng cồn tạo ra cao nhất và lượng đường sót còn thấp hơn so với môi trường có lượng đường 280 g/l.

4. Ảnh hưởng của pH ban đầu trong lên men rượu vang vải thiều

pH của môi trường lên men là một trong những yếu tố ảnh hưởng tới khả năng lên men của các chủng nấm men. Để khảo sát ảnh hưởng của pH ban đầu đến quá trình lên men, đã tiến hành các thí nghiệm trên môi trường dịch vải thiều có hàm lượng đường 250 g/l, ở nhiệt độ 28°C và pH ban đầu giữ ở các mức: 3,5; 3,8; 4,0; 4,2; 4,5; 5,0. Kết quả được dẫn ra ở bảng 3.

Bảng 3

Ảnh hưởng của pH đến quá trình lên men rượu vang vải thiều

Chỉ tiêuphân tích	Đơn vị	pH					
		3,5	**3,8**	**4,0**	**4,2**	**4,5**	**5,0**
Đường sót	% (w/v)	5,8 ± 0,03	5,4 ± 0,03	5,2 ± 0,03	5,4 ± 0,03	5,8 ± 0,03	6,0 ± 0,03
Cồn	% (v/v)	11,0 ± 0,03	12,5 ± 0,03	12,5 ± 0,03	12,5 ± 0,03	12,3 ± 0,03	12,0 ± 0,03
Cảm quan	100 điểm	50 ± 3	65 ± 3	65 ± 3	65 ± 3	60 ± 3	50 ± 3

Dễ dàng nhận thấy ở pH: 3,8-4,2, hàm lượng cồn đạt giá trị cao nhất, cảm quan sản phẩm cũng ở mức độ cao. Như vậy, pH của dịch lên men được chọn ở mức 3,8-4,2 là phù hợp.

5. Ảnh hưởng của hàm lượng men giống trong lên men rượu vang vải thiều

Quá trình sản xuất rượu vang phụ thuộc rất nhiều vào hàm lượng của men giống vì nó là tác nhân chính của quá trình lên men. Hàm lượng giống nhiều, quá trình lên men sẽ được thúc đẩy nhưng nếu quá nhiều, sẽ xảy ra sự cạnh tranh nguồn dinh dưỡng, ảnh hưởng tới quá trình lên men. Để lựa chọn được hàm lượng giống thích hợp, đã tiến hành thí nghiệm trên môi trường dịch lên men với các tỷ lệ giống ban đầu là: 5; 10; 15; 20 %V. Kết quả được dẫn ra ở bảng 4.

Bảng 4

Ảnh hưởng của hàm lượng men giống đến quá trình lên men rượu vang vải thiều

Chỉ tiêu phân tích	Đơn vị	Hàm lượng men giống (%V)			
		5	10	15	20
Đường sót	% (w/v)	8,5 ± 0,03	5,5 ± 0,03	5,5 ± 0,03	5,5 ± 0,03
Cồn	% (v/v)	10,0 ± 0,03	12,5 ± 0,03	12,5 ± 0,03	12,5 ± 0,03
pH		3,8 ± 0,03	3,6 ± 0,03	3,6 ± 0,03	3,6 ± 0,03
Cảm quan	100 điểm	50 ± 3	65 ± 3	65 ± 3	65 ± 3

Như vậy, ở các mẫu thí nghiệm có hàm lượng giống 10-20 %V, giá trị cảm quan đạt mức độ cao nhất bởi hàm lượng đường sót thấp và độ rượu đạt yêu cầu; nhưng nếu dùng nhiều giống sẽ là không kinh tế. Vì vậy, chúng tôi chọn giữ mức giống 10-15 %V. Qua nghiên cứu động thái phát triển, nấm men phát triển mạnh ở thời gian 48-72 giờ và để có thể lên men kiệt đường trong sản phẩm, chúng tôi tiến hành bổ sung thêm giống cấp 2 sau 72 giờ với lượng giống 5 %V để khảo sát khả năng lên men tiếp của chủng nấm men này.

6. Lên men rượu vang vải thiều bởi *S. cerevisiae* LC_3

Sau khi đã nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố tới quá trình lên men của chủng *S. cerevisiae* LC_3 khá ổn định, chúng tôi tiến hành cho chủng này vào lên men và trên cơ sở đó xây dựng quy trình công nghệ sản xuất rượu vang vải thiều với lên men chính 2 lần, nhằm mục đích lên men kiệt đường, nâng cao chất lượng của sản phẩm. Theo Nguyễn Quang Thảo, 2000 [6], chỉ lên men chính 1 lần. Kết quả phân tích rượu vang thành phẩm được dẫn ra ở bảng 5.

Bảng 5

Kết quả phân tích rượu vang thành phẩm của *S. cerevisiae* LC_3

Chỉ tiêu	Cồn % (v/v)	Đường sót % (w/v)	Axit tổng số	Cảm quan sản phẩm
Lên men chính lần thứ nhất	12,6 ± 0,03	6,0 ± 0,03	0,5 ± 0,03	65 ± 3
Lên men chính lần thứ hai	13,5 ± 0,03	4, 0 ± 0,03	0,5 ± 0,03	70 ± 3

Hình 2. Quy trình công nghệ sản xuất rượu vang vải thiều

III. KẾT LUẬN

1. Cùi vải thiều có hàm lượng đường: 164 g/l; axít tổng số: 5,1 g/l; nước: 83,0%; tro: 0,5%; pH: 3,8 là nguyên liệu phù hợp để sản xuất rượu vang.

2. Đã tuyển chọn được chủng nấm men *S. cerevisiae* LC_3 có khả năng lên men rượu vang vải thiều, chịu được độ cồn cao, có hoạt lực lên men tốt, hàm lượng đường sót trong dịch lên men thấp, khả năng kết lắng tốt, có hương vị thơm đặc trưng.

3. Qua nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố đối với chủng *S. cerevisiae* LC_3, chọn ra hàm lượng đường 250 g/l, pH: 3,8-4,2, hàm lượng men giống: 10-15 %V thích hợp với chủng nấm men này. Tiến hành lên men chính 2 lần, lần thứ 2 có bổ sung 5%, giống góp phần nâng cao chất lượng của rượu vang.

4. Đã xây dựng quy trình công nghệ lên men rượu vang vải thiều.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Nguyễn Thị Dung** và **cs.**, 2003: Báo cáo khoa học Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc: 870-874. Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
2. **Vũ Công Hậu**, 1982: Chế biến vang trái cây trong gia đình. Nxb. Nông nghiệp.
3. **Đinh Thị Kim Nhung**, 2001: Thông báo Khoa học, trường đại học Sư phạm Hà Nội 2, 1: 329-333.
4. **Nguyễn Hữu Phúc**, 1998: Các phương pháp lên men thực phẩm truyền thống ở Việt Nam và các nước trong vùng. Nxb. Nông nghiệp, tp. Hồ Chí Minh.
5. **Nguyễn Thế Trang** và **cs.**, 1999: Tạp chí Khoa học và Công nghệ, 37(2): 25-28. Hà Nội.
6. **Nguyễn Quang Thảo**, 2000: Lên men vang vải thiều. Tóm tắt luận án tiến sỹ, trường đại học Sư phạm Hà Nội.
7. **Nguyễn Thế Trang** và **cs.**, 2000: Tạp chí Nông nghiệp và Công nghiệp thực phẩm, 10: 469-470.

THE LITCHI WINE FERMENTATION PROCESS BY THE YEAST STRAIN *Saccharomyces cerevisiae* LC_3

DINH THI KIM NHUNG

SUMMARY

In the pulp composition of *Litchi chinensis* Sonn., there are sugar: 164 g/l; acid: 5.1g/l; H_2O: 83%; ash: 0.5%; pH = 3.8, optimum for the fermentation process of litchi wine. The litchi fruits are popular materials in the Bacgiang and Haiduong provinces. Every year, their yield is much larger than the consumption demand in the markets, therefore the processing techonology after harvest is an urgent need. For this purpore, we have isolated and chosen the yeast strain *Saccharomyces cerevisiae* LC_3 which was used for the fermentation process of litchi wine.

Our research was on the imvestigation of the effects of some envirormental elements on the growth and development of this yeast strain *S. cerevisiae* LC_3 in the fermentation process of litchi wine, which involved in identifying the development of motive sugar: 250 g/l, pH: 3.8-4.2: strains: 10-15%. After that, we have carried out the fermentation process in the laboratory with good results and the fermentation process of litchi wine.

Ngày nhận bài: *4-4-2005*