

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ ĐẾN QUÁ TRÌNH LÊN MEN RƯỢU CỦA CHỦNG *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* MS42 TỪ MALT ĐẠI MẠCH

Nguyễn Văn Quyên^{1,✉}, Nguyễn Quang Thảo², Nguyễn Thảo Anh³, Nguyễn Thành Đạt¹

¹Trường Đại học Sư phạm Hà Nội

²Bộ Công thương Việt Nam

³Viện Công nghệ sinh học và Công nghiệp thực phẩm, Đại học Bách khoa Hà Nội

✉ Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: vanquyengv@gmail.com

Ngày nhận bài: 05.10.2016

Ngày nhận đăng: 18.7.2018

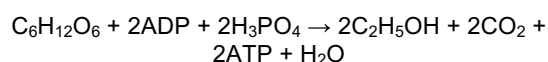
TÓM TẮT

Lên men rượu là quá trình phức tạp bao gồm nhiều chuỗi phản ứng để chuyển hóa đường thành rượu, CO₂, các sản phẩm phụ và năng lượng. Quá trình lên men và sản phẩm tạo ra phụ thuộc nhiều vào các điều kiện lên men. Để quá trình lên men rượu đạt hiệu suất cao, quá trình lên men tạo ít độc tố và tạp chất để thu được sản phẩm có chất lượng tốt thì việc xác định được các điều kiện lên men phù hợp là rất cần thiết. Hiện nay, trên thế giới và ở Việt Nam có rất nhiều kỹ thuật khác nhau trong công nghệ sản xuất rượu, bia để tạo sản phẩm tối ưu. Mỗi công nghệ lại phụ thuộc vào quy mô sản xuất, đặc thù khí hậu vùng, nguyên liệu, chủng giống sử dụng trong lên men... Trong phạm vi nghiên cứu, chúng tôi đã thực hiện phân tích ảnh hưởng của một số yếu tố chính (độ pH, nhiệt độ, hàm lượng SO₂ trong dịch lên men, số lượng tế bào nấm men giống ban đầu, hàm lượng đường), xác định động học của quá trình lên men rượu trên môi trường malt đại mạch của chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* MS42. Thực hiện phân tích hiệu suất lên men, hàm lượng đường sót, hàm lượng cồn tạo ra, một số thành phần độc tố, tạp chất, cảm quan sản phẩm để xác định các điều kiện tối ưu. Các sản phẩm tạo ra đều thực hiện hội đồng cảm quan để đánh giá, kết hợp phân tích sắc ký về các thành phần độc tố và tạp chất theo tiêu chuẩn TCVN 7043:2013. Thực hiện các lên men thí nghiệm ở 1000ml dịch để xác định các điều kiện tối ưu, sau đó thực hiện lên men thực nghiệm theo các điều kiện của sản xuất công nghiệp ở quy mô 500 lít. Kết quả đã xác định được dịch lên men từ malt đại mạch có pH = 4,5 - 5,0; T°C = 25 - 30°C; hàm lượng K₂S₂O₅: 0,2 - 0,3 (g/l); tỷ lệ tiếp giống ban đầu: 7 - 10%; hàm lượng đường: 140 - 160 g/l và thời gian lên men: 132 - 138 giờ là phù hợp cho quá trình lên men sản xuất rượu của chủng *S. cerevisiae* MS42.

Từ khóa: Dịch malt, malt đại mạch, lên men, MS42, pH

MỞ ĐẦU

Bản chất của lên men rượu là sự chuyển hóa đường thành rượu thực hiện bằng con đường EMP (Embden-Meyerhof-Parnas pathway), giải phóng CO₂, các sản phẩm phụ và giải phóng năng lượng (117,6 KJ) (D'Amato *et al.*, 2006). Quá trình lên men rượu bởi nấm men *Saccharomyces cerevisiae* trải qua 5 giai đoạn và được khái quát bằng phương trình tổng quát sau (Ivanov *et al.*, 1973):



Việc xác định được các điều kiện phù hợp lên men sẽ giúp chủ động kiểm soát quá trình lên men, tăng hiệu suất lên men, tạo ít độc tố, tạp chất để thu

được rượu có chất lượng tốt và ổn định, đây là điều kiện tiên quyết của quá trình sản xuất. Trong phạm vi nghiên cứu, chúng tôi đã thực hiện phân tích ảnh hưởng của độ pH, nhiệt độ, hàm lượng SO₂ trong dịch lên men, số lượng tế bào nấm men giống ban đầu, hàm lượng đường, xác định động học của quá trình lên men rượu trên môi trường malt đại mạch. Thực hiện phân tích hiệu suất lên men, hàm lượng đường sót, hàm lượng cồn tạo ra, một số thành phần độc tố và tạp chất, cảm quan sản phẩm để xác định các điều kiện tối ưu trong lên men rượu của chủng nấm men *S. cerevisiae* MS42 ở môi trường malt đại mạch. Khi nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố đến lên men, các sản phẩm tạo ra đều thực hiện hội đồng cảm quan để đánh giá, kết hợp phân tích sắc ký về các thành phần độc tố và tạp chất. Kết quả điểm cảm

quan cao nhất, các thành phần độc tố và tạp chất thấp trong phạm vi cho phép theo tiêu chuẩn TCVN 7043:2013 sẽ được lựa chọn để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo để xác định các điều kiện tối ưu cho quá trình lên men.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Chủng nấm men *S. cerevisiae* MS42 được phân lập từ bánh men truyền thống ở Mẫu Sơn (tỉnh Lạng Sơn).

- Malt nhập khẩu từ Sebastian, Pháp

- Hóa chất: Các hoá chất tinh khiết, đường glucose, pepton, cao men, agar (hãng sản xuất Merk, Đức); Các loại muối: NaCl, KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (là hóa chất phân tích loại PA)... Enzyme *Termamyl*®; *Dextrozyme*® GA (hãng sản xuất Novozymes, Đan Mạch)...

Phương pháp

Môi trường lên men (ký hiệu là M) 100% malt đại mạch được làm với các bước: Trộn malt đã nghiền nhỏ với nước theo tỷ lệ tương ứng là 1 : 2,5, bổ sung enzyme và tiến hành đường hóa. Dịch malt thu được có hàm lượng đường 255 g/l dùng làm môi trường cơ bản được sử dụng để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo (Lê Thanh Mai *et al.*, 2006).

Đánh giá khả năng tạo hương, vị đặc trưng theo tiêu chuẩn và điểm cảm quan theo thang 20 (TCVN 3215 – 79) kết hợp phân tích sắc kí khí xác định định

Bảng 1. Ảnh hưởng của hàm lượng đường trong lên men.

Chi số	Môi trường/ lượng đường (g/l)					
	120	140	160	180	200	220
Thời gian lên men	90 ± 2	96 ± 2	108 ± 2	140 ± 3	152 ± 3	168 ± 3
Hàm lượng cồn (%V)	6,75	7,88	9,00	9,91	10,88	11,70
Hiệu suất (%)	90,87	90,60	90,34	89,30	88,29	86,81
Đường sót (g/l)	4,5 ± 0,2	4,9 ± 0,2	5,2 ± 0,2	7,6 ± 0,2	8,5 ± 0,2	10,6 ± 0,2

Kết quả cho thấy khi hàm lượng đường tăng dần từ 120 đến 180 g/l thì hiệu suất lên men cũng giảm dần do áp suất thẩm thấu và độ cồn tạo ra trong quá trình lên men đã ức chế nấm men sinh trưởng. Hàm lượng đường 120 g/l có hiệu suất lên men cao nhất (90,87%) nhưng độ cồn tạo ra thấp (6,75%V) trong khi lượng dinh dưỡng vẫn còn. Độ rượu thấp làm tăng nguy cơ nhiễm khuẩn.

tính, định lượng một số chất thu được trong sản phẩm.

Đếm số lượng tế bào bằng buồng đếm (Lê Thanh Mai *et al.*, 2006).

Xác định độ chua theo phương pháp trung hòa acid tổng số (TCVN 4589:1988).

Xác định pH của dịch lên men bằng thiết bị pH meter (Lê Thanh Mai *et al.*, 2006).

Hàm lượng đường trong dịch xác định theo phương pháp DNS ứng với đường mantose và đường glucose và so sánh đối chứng với phương pháp Bectran (Lê Thanh Mai *et al.*, 2006; Nguyễn Quang Thảo, 2000).

KẾT QUẢ - THẢO LUẬN

Ảnh hưởng của hàm lượng đường trong quá trình lên men tạo rượu

Hàm lượng đường khác nhau có ảnh hưởng lớn đến quá trình lên men, quy trình công nghệ sản xuất. Việc xác định được môi trường lên men có hàm lượng đường phù hợp có ý nghĩa lớn về chất lượng và giá trị kinh tế của sản phẩm.

Chúng tôi sử dụng môi trường malt (M) được bổ sung nước để điều chỉnh lượng đường trong dịch ở các mức khác nhau: 120 – 140 – 160 – 180 – 200 – 220 (g/l), điều chỉnh pH=5,0, bổ sung nấm men 7%V (tương đương 15×10^6 tb/ml) để lên men. Tiến hành xác định hiệu suất lên men, thời gian lên men, đánh giá cảm quan sản phẩm, thu được kết quả như sau:

Hàm lượng đường ở 140 g/l đến 160 g/l cho hiệu suất lên men thấp hơn so với 120 g/l nhưng vẫn đạt mức cao và hàm lượng rượu cũng cao hơn sẽ hạn chế được khả năng nhiễm khuẩn. Khi hàm lượng đường đạt 180 - 220 g/l thì hiệu suất lên men thấp hơn, lượng đường sót lớn hơn. Chúng tôi chọn dịch có hàm lượng đường từ 140 - 160 g/l để lên men sản xuất rượu whisky vì thời gian lên men ngắn, hiệu

suất lên men cao, dịch sau lên men đạt độ cồn 7,88 - 9,00%V có khả năng chống nhiễm tốt. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu đã công bố vì khi hàm lượng đường càng tăng và hàm lượng cồn tạo ra tăng cao dần thì áp suất thẩm thấu lên màng tế bào nấm men cũng cao hơn nên hạn chế khả năng sinh trưởng và lên men tạo rượu của nấm men (Nguyễn Quang Thảo, 2000; D'Amato *et al.*, 2006; Lương Đức Phẩm, 2006). Để đảm bảo hiệu suất lên men, hạn chế tạp nhiễm trong quá trình lên men và hiệu suất thu hồi rượu sau khi chưng cất, môi trường có hàm lượng đường của dịch lên men 160 g/l được lựa chọn để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo. Phân tích một số thành phần chính của dịch malt có hàm lượng đường 160g/l, cho thấy dịch malt có protein: 8,66 g/l; FAN:192,5 mg/l.

Ảnh hưởng của pH đến quá trình lên men tạo rượu

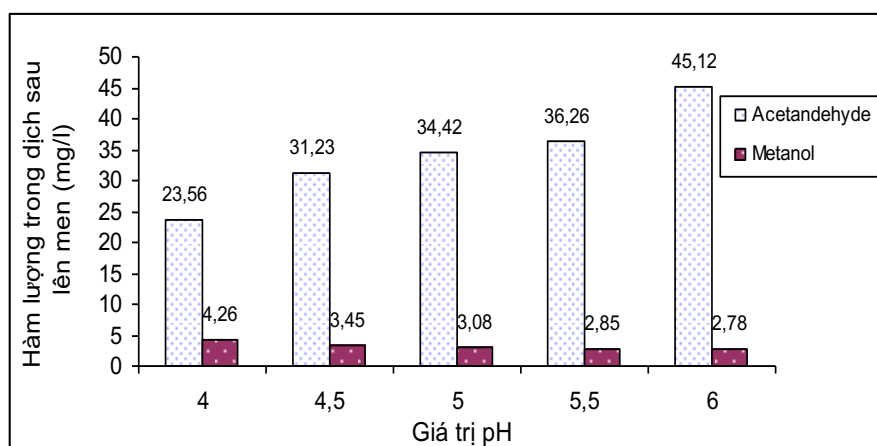
Chủng *Saccharomyces. cerevisiae* MS42 được sử dụng để lên men tạo rượu trên môi trường dịch malt có hàm lượng đường 160 g/l trong các bình

thủy tinh (loại 500 ml), dùng acid citric và NaHCO₃ để điều chỉnh pH ở các mức 4,0 ÷ 4,5 ÷ 5,0 ÷ 5,5 ÷ 6,0; tỷ lệ tiếp giống ban đầu 7%V; nhiệt độ lên men 25 – 28°C. Kết quả thu được như sau (Bảng 2 và Hình 1).

Kết quả cho thấy: Môi trường dịch malt 100% có pH = 4,5 – 5,5 có hàm lượng cồn, hiệu suất lên men và điểm cảm quan đều đạt mức cao trong khi hàm lượng Metanol thấp hơn so với môi trường có pH = 4,0. Kết quả tốt nhất là dịch lên men có pH= 5,0. Khi pH tăng đến 6,0 thì lượng Acetandehyde, rượu cao phân tử tăng mạnh và hiệu suất lên men giảm. Theo một số tác giả thì dịch lên men có pH= 5,0 không chỉ phù hợp với sinh trưởng của nấm men mà còn phù hợp với hoạt hóa của nhiều loại enzyme thực hiện quá trình chuyển hóa đường thành rượu (Nguyễn Thành Đạt, 2012; Arroyo-López *et al.*, 2006; Teodora Emila Coldea *et al.*, 2014). Căn cứ kết quả trên, chúng tôi chọn dịch lên men có pH= 5,0 để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 2. Ảnh hưởng của pH đến quá trình lên men rượu.

Chỉ số phân tích	Giá trị pH				
	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0
Thời gian lên men (h)	144 ± 6	144 ± 6	144 ± 6	144 ± 6	144 ± 6
Hàm lượng cồn (°V)	8,9	9,0	9,0	9,0	8,8
Hiệu suất lên men(%)	89,39 ± 0,1	90,34 ± 0,1	90,28 ± 0,1	90,28 ± 0,1	88,27 ± 0,1
Đường sót (g/l)	5,3 ± 0,1	5,2 ± 0,1	5,1 ± 0,1	5,1 ± 0,1	5,1 ± 0,1
Acetandehyde (mg/l)	23,56 ± 1,0	31,23 ± 1,0	34,42 ± 1,0	36,26 ± 1,0	45,12 ± 1,0
Metanol (mg/l)	4,26 ± 0,1	3,25 ± 0,1	3,08 ± 0,1	2,85 ± 0,1	2,78 ± 0,1
Rượu bậc cao (mg/l)	213,8 ± 2,0	235,6 ± 2,0	237,1 ± 2,0	287,2 ± 2,0	291,7 ± 2,0
Fucfurol (mg/l)	1,12 ± 0,1	1,26 ± 0,1	1,21 ± 0,1	1,34 ± 0,1	1,51 ± 0,1
Điểm cảm quan	16,2	16,3	16,8	16,1	15,6



Hình 1. Sự biến đổi acetandehyde và metanol trong lên men dịch malt ở pH khác nhau.

Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men rượu

Để nghiên cứu tác động của nhiệt độ đến quá trình lên men, chúng tôi tiến hành lên men dịch malt có hàm lượng đường 160 g/l, pH = 5,0 với các điều kiện nhiệt độ khác nhau 16 - 20 - 25 - 30 - 35°C trong các bình tam giác, lượng tiếp giống 8%V, thời gian lên men 6 - 7 ngày. Kết quả thu được như sau (Bảng 3).

Ở các ngưỡng nhiệt độ thấp, thời gian lên men chậm hơn nhưng sản phẩm tạo ra có chất lượng tốt hơn, hàm lượng độc tố và tạp chất (đặc biệt metanol và acetandehyde) tạo ra ít hơn. Khi nhiệt độ lên men

tăng dần thì thời gian lên men ngắn hơn nhưng sản phẩm lại tạo ra nhiều acetandehyde, rượu cao phân tử hơn và lượng metanol cũng cao hơn đã làm giảm chất lượng của sản phẩm. Kết quả cho thấy, mặc dù nhiệt độ dịch lên men 16°C - 20°C cho kết quả tốt nhất, tuy nhiên việc lên men ở 16°C - 20°C sẽ không đạt hiệu quả kinh tế mong muốn khi sản xuất ở quy mô lớn (do phải sử dụng nhiệt độ lạnh) trong khi việc sử dụng kỹ thuật và thiết bị cất phù hợp chắc chắn sẽ hạn chế được nhiều loại độc tố nên theo chúng tôi nhiệt độ lên men phù hợp với điều kiện sản xuất là 25 - 30°C. Điều này cũng phù hợp với nhận định của một số tác giả nghiên cứu trước đó (Torija *et al.*, 2003).

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men rượu.

Chi số	Môi trường /T°				
	16	20	25	30	35
Thời gian lên men (h)	152 ± 6	148 ± 6	144 ± 6	144 ± 6	140 ± 6
Hàm lượng cồn (°V)	9,08	9,05	8,99	8,94	8,68
Hiệu suất lên men (%)	91,13 ± 0,1	90,87 ± 0,1	90,34 ± 0,1	89,82 ± 0,1	87,29 ± 0,1
Đường sót (g/l)	5,14 ± 0,1	5,17 ± 0,1	5,29 ± 0,1	5,41 ± 0,1	5,53 ± 0,1
Acetandehyde (mg/l)	18,51 ± 1,0	25,22 ± 1,0	28,45 ± 1,0	39,28 ± 1,0	51,23 ± 1,0
Metanol (mg/l)	1,85 ± 0,2	2,15 ± 0,2	3,12 ± 0,2	4,26 ± 0,2	5,34 ± 0,2
Rượu bậc cao (mg/l)	191,26 ± 2,0	205,63 ± 2,0	235,24 ± 2,0	306,46 ± 2,0	391,72 ± 2,0
Fucfurool (mg/l)	1,18 ± 0,1	1,21 ± 0,1	1,26 ± 0,1	1,31 ± 0,1	1,65 ± 0,1
Điểm cảm quan	16,8	16,8	16,6	16,2	15,6

Ảnh hưởng của SO₂ trong lên men tạo rượu

SO₂ thường được sử dụng để ức chế các hoạt động của nhiều loại vi khuẩn trong dịch lên men, tuy nhiên việc sử dụng SO₂ không phù hợp sẽ làm giảm hiệu suất lên men, giảm chất lượng sản phẩm.

Để nghiên cứu ảnh hưởng của SO₂ đến quá trình lên men rượu, chúng tôi sử dụng SO₂ từ K₂S₂O₅. Tiến hành lên men dịch malt có hàm lượng đường 160 g/l; pH5,0; nhiệt độ lên men: 25°C; lượng tiếp giống 7%V có bổ sung hàm lượng K₂S₂O₅ (g/l) ở các mức khác nhau: 0,15 ÷ 0,20 ÷ 0,25 ÷ 0,30 ÷ 0,40 (g/l). Kết quả thu được (Bảng 4).

Kết quả cho thấy: Khi sử dụng K₂S₂O₅ ở mức

thấp hơn 0,2 g/l mặc dù rượu có hàm lượng methanol thấp hơn nhưng hiệu suất lên men giảm có thể do bị nhiễm, khi ở mức 0,4 g/l thì hiệu suất lên men và chất lượng rượu đều giảm là do khi hàm lượng K₂S₂O₅ trong dịch lên men cao đã ức chế sinh trưởng và khả năng lên men tạo rượu của nấm men. Theo chúng tôi, sử dụng hàm lượng K₂S₂O₅ ở mức 2,0 - 3,0 g/l phù hợp với khả năng lên men của chủng MS42, đồng thời cũng hạn chế được nhiễm khuẩn trong quá trình lên men. Kết quả này cũng phù hợp với công bố của nhiều tác giả khi nghiên cứu sử dụng SO₂ nồng độ tối đa SO₂ không nên vượt quá 490 ppm (Nguyễn Quang Thảo, 2000). Chúng tôi chọn K₂S₂O₅ ở mức 0,3 g/l (tương ứng với nồng độ SO₂ từ 110 - 150 ppm) để tiếp tục các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 4. Ảnh hưởng của SO₂ đến quá trình lên men rượu từ dịch malt.

Chi số	Môi trường		M		
	0,15	0,20	0,25	0,30	0,4
Thời gian lên men (h)	144 ± 6	144 ± 6	144 ± 6	144 ± 6	144 ± 6
Hàm lượng cồn (°V)	8,86	9,01	9,02	9,02	8,93
Hiệu suất lên men (%)	88,79 ± 0,1	90,50 ± 0,1	90,50 ± 0,1	90,50 ± 0,1	89,82 ± 0,1
Đường sót (g/l)	5,01 ± 0,1	5,22 ± 0,1	5,16 ± 0,1	5,21 ± 0,1	5,45 ± 0,1
Acetandehyde (mg/l)	18,56 ± 1,0	26,58 ± 1,0	32,52 ± 1,0	42,26 ± 1,0	65,28 ± 1,0
Metanol (mg/l)	2,02 ± 0,1	2,89 ± 0,1	3,56 ± 0,1	4,82 ± 0,1	6,58 ± 0,1
Rượu bậc cao (mg/l)	195,36 ± 2,0	208,65 ± 2,0	245,26 ± 2,0	312,33 ± 2,0	395,78 ± 2,0
Fucfurol (mg/l)	1,08 ± 0,1	1,19 ± 0,1	1,25 ± 0,1	1,36 ± 0,1	1,32 ± 0,1
Điểm cảm quan	16,3	16,5	16,5	16,2	15,5

Ảnh hưởng của số lượng tế bào nấm men khi tiếp giống đến quá trình lên men rượu

Số lượng tế bào nấm men có ảnh hưởng trực tiếp tới quá trình lên men rượu. Để nghiên cứu ảnh hưởng của lượng giống tiếp đến quá trình lên men, chúng tôi tiến hành thí nghiệm tương tự với mức bổ sung lượng men giống khác nhau theo thể tích: 5% ÷ 7% ÷ 10% ÷ 12%V (tương ứng: 10; 14; 20; 24 x 10⁶ tế bào/ml dịch lên men) lên men trên môi trường M đã được tối ưu hóa các điều kiện pH = 5,0; hàm lượng đường 160 g/l; nhiệt độ lên men 25°C; K₂S₂O₅= 0,3 g/l (Nguyễn Quang Thảo, 2000). Kết quả thu được như sau (Bảng 5).

Kết quả trên cho thấy: Tỷ lệ men giống khi tiếp vào dịch lên men có ảnh hưởng rất rõ và tỷ lệ

ngược với thời gian lên men, còn các chỉ tiêu khác như: Hiệu suất lên men, hàm lượng cồn, đường sót cũng có sai khác nhưng không đáng kể. Điều này là phù hợp vì khi bổ sung men giống vào dịch lên men, nấm men vẫn đang trong giai đoạn sinh trưởng (tăng sinh khối) nên khi bổ sung số lượng tế bào nấm men giống vào dịch lên men càng cao thì thời gian để nấm men sinh trưởng và đạt tỷ lệ tế bào cao nhất sẽ ít hơn so với mẫu bổ sung tỷ lệ nấm men giống ban đầu ít hơn. Tuy nhiên khi bổ sung nấm men ở tỷ lệ 15% thì thời gian và hiệu suất lên men cũng không tốt hơn. Để đảm bảo an toàn quá trình lên men, rút ngắn thời gian lên men, hạn chế nhiễm khuẩn nhưng vẫn đảm bảo chất lượng sản phẩm, căn cứ vào kết quả thu được chúng tôi chọn bổ sung giống ban đầu ở tỷ lệ 7-10% là phù hợp.

Bảng 5. Ảnh hưởng của số lượng tế bào nấm men đến quá trình lên men rượu.

Chi số	Môi trường/% V giống		M	
	5%	7%	10%	15%
Thời gian lên men (h)	148 ± 3	140 ± 3	132 ± 3	126 ± 3
Hàm lượng cồn (°V)	8,97	9,07	9,13	9,03
Hiệu suất lên men (%)	89,82 ± 0,1	90,87 ± 0,1	91,40 ± 0,1	90,34 ± 0,1
Đường sót (g/l)	4,87 ± 0,1	4,85 ± 0,1	4,81 ± 0,1	4,76 ± 0,1

Nghiên cứu động thái quá trình lên men

Để xác định động thái của quá trình lên men trong quá trình lên men, chúng tôi đã sử dụng dịch lên men là dịch malt đại mạch (100%) và điều chỉnh các điều kiện lên men phù hợp theo kết quả

các thí nghiệm đã nghiên cứu (Hàm lượng đường tổng số 160 (g/l), pH: 5,5; K₂S₂O₅: 0,3 (g/l); tỷ lệ tiếp giống 8%; nhiệt độ lên men ở 25-28°C trên thiết bị có dung tích 15 l). Tiến hành phân tích mẫu lên men 12 giờ/lần. Kết quả thu được như sau (Bảng 6).

Bảng 6. Sự biến đổi đường, cồn, acid và số lượng tế bào nấm men trong quá trình lên men rượu.

Thành phần Thời gian (giờ)	Hàm lượng đường (g/l)	Hàm lượng cồn (%V)	Số lượng tb ($\times 10^6$ tb/ml)	Acid tổng số (qui về acid acetic) mg/l
0	160,0	0,2	17 \pm 1	422,6 \pm 2
12	150,6	1,2	105 \pm 2	426,5 \pm 2
24	132,5	2,1	196 \pm 3	427,8 \pm 2
36	110,1	3,2	218 \pm 3	455,9 \pm 2
48	80,4	4,8	216 \pm 3	461,8 \pm 2
60	55,8	6,2	205 \pm 3	463,8 \pm 3
72	35,2	7,4	185 \pm 3	482,3 \pm 3
84	20,6	8,2	160 \pm 3	484,5 \pm 3
96	16,8	8,5	122 \pm 2	486,9 \pm 3
108	13,3	8,7	82 \pm 1	490,5 \pm 3
120	8,6	8,9	65 \pm 1	509,8 \pm 1
132	5,2	9,2	48 \pm 1	510,9 \pm 1
144	5,1	9,1	45 \pm 1	511,7 \pm 1

Kết quả cho thấy: Các chỉ tiêu về hàm lượng đường, hàm lượng cồn, độ chua, số lượng tế bào có liên quan chặt chẽ với nhau trong quá trình lên men.

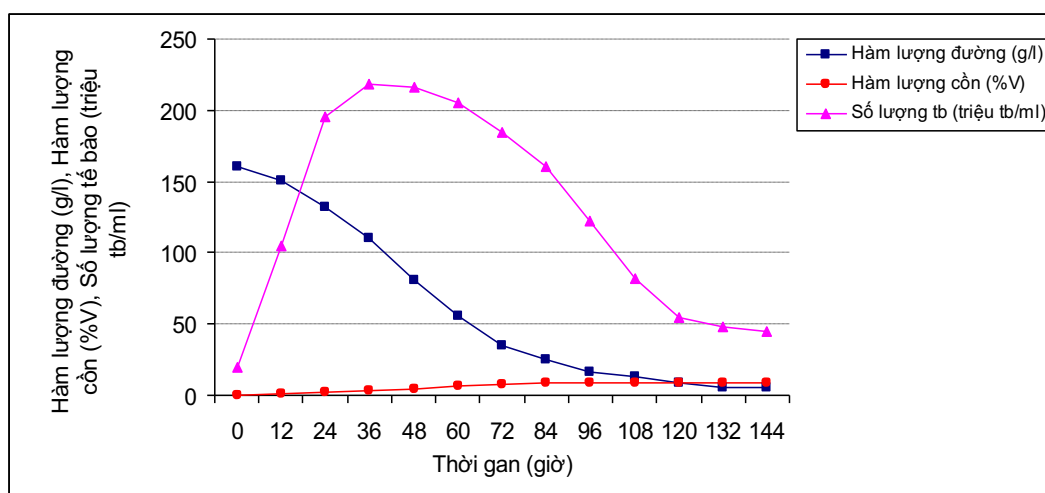
Ở 36 giờ đầu (kể từ khi tiếp giống) nấm men sinh sản nhanh nhất và đạt mức cực đại (218×10^6 tb/ml). Số lượng tế bào được duy trì khá ổn định ở giai đoạn 24 - 72 giờ với số tế bào trung bình đạt (205×10^6 tb/ml) và giảm dần trong thời gian tiếp theo. Sau 108 giờ lên men, số lượng tế bào đã giảm rất nhanh và khá ổn định sau 132 giờ lên men. Sự biến đổi về số lượng tế bào có thể được giải thích như sau: 24 giờ đầu tiên nấm men đang trong giai đoạn sinh trưởng mạnh, môi trường còn giàu dinh dưỡng, lượng cồn sinh ra ít nên không gây ảnh hưởng tới sinh trưởng của nấm men. Sau 60 giờ kể từ khi tiếp giống, nguồn dinh dưỡng giảm dần trong khi lượng cồn tăng dần và môi trường yếm khí nên đã ức chế sự sinh trưởng của nấm men, ngoài ra khi thời gian lên men kéo dài nên một lượng tế bào nấm men cũng bị kết lắng đã làm cho số tế bào trong dịch lên men giảm mạnh.

Hàm lượng đường trong dịch lên men giảm dần theo thời gian lên men nhưng hàm lượng cồn tạo ra lại tăng dần. Tại thời điểm sau 96 giờ lên men, hàm lượng đường có sự giảm chậm lại và hầu như không đổi sau 144 giờ. Hàm lượng cồn đạt được cực đại ở giai đoạn 96 giờ -144 giờ, sau đó có sự tăng nhẹ và

ổn định ở giai đoạn cuối của quá trình lên men và một phần nhỏ lượng rượu được chuyển thành các hợp chất khác như acid, tạo este, etc,...ngay trong quá trình lên men chính.

Acid tổng số trong dịch lên men tăng dần nên độ pH có sự giảm dần nhưng sự thay đổi không quá lớn. Hàm lượng acid tăng là do trong quá trình lên men ngoài sự chuyển hóa đường thành rượu còn có một phần chuyển thành một số loại acid hữu cơ (như: acetic, succinic, malic,...) ngay cả khi quá trình lên men kết thúc thì quá trình hình thành các acid vẫn tiếp tục một thời gian nữa nhờ sự có mặt của các enzyme có trong môi trường. Sự biến đổi của nấm men, đường và cồn trong quá trình lên men thể hiện qua các đồ thị (Hình 4).

Các kết quả nghiên cứu động thái lên men thu được phù hợp với những nghiên cứu của nhiều tác giả trước đó (Nguyễn Quang Thảo, 2000; D'Amato *et al.*, 2006; Torija *et al.*, 2003). Quá trình lên men trong sản xuất với các điều kiện như trên, thời gian thực hiện lên men tối ưu nhất là từ 6 - 7 ngày. Khi hàm lượng đường đã giảm đến mức thấp và ổn định, hàm lượng cồn tăng lên cao và độ pH giảm xuống (pH = 4,3 - 4,2) cần chiết tách dịch lên men để thực hiện quá trình chưng cất. Nếu pH xuống nhanh và thấp (pH < 4,0) cho thấy khả năng dịch lên men có thể đã bị nhiễm khuẩn và cần có biện pháp xử lý kịp thời.



Hình 2. Đồ thị động thái lên men rượu trong dịch malt.

KẾT LUẬN

Điều kiện lên men phù hợp đối với chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* MS42 để sản xuất rượu cao độ từ dịch lên men 100% malt đại mạch gồm: dịch malt có hàm lượng đường 140 - 160 g/l; pH = 4,5 - 5,0; T°C: 25 - 30°C; K₂S₂O₅: 0,2 - 0,3 (g/l); tỷ lệ tiếp giống ban đầu: 7 - 10%; thời gian lên men: 132 - 138 giờ.

Lời cảm ơn: Để thực hiện được các nghiên cứu trên chúng tôi xin chân thành cảm ơn Bộ môn Công nghệ sinh học – Vi sinh, các nhóm nghiên cứu tại phòng thí nghiệm Vi sinh thuộc khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội, Công ty TNHH MTV Rượu Eresson, Trung tâm bảo tồn giống vi sinh vật thuộc Viện Công nghiệp thực phẩm đã tận tình và tạo điều kiện cho chúng tôi về thời gian cơ sở vật chất và trang thiết bị phục vụ quá trình nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Lương Đức Phẩm (2006). *Nấm men công nghiệp*. NXB Khoa học Kỹ thuật (5 - 10, 29 - 35, 79 - 91, 129 - 141).

Lê Thanh Mai, Nguyễn Thị Hiền, Phạm Thu Thủy, Nguyễn Thanh Hương, Lê Thị Lan Chi (2006). *Các*

phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men. NXB Khoa học kỹ thuật 28: 42-51.

Nguyễn Thành Đạt (2012). *Cơ sở sinh học vi sinh vật*. Tập 1. NXB Đại học Sư phạm (28-42, 116, 197-205, 233-240).

Nguyễn Quang Thảo (2000). *Nghiên cứu lên men vang vài thiêu*. Luận án Tiến sĩ sinh học (94-100).

AOAC (2012) *Official Methods of Analysis*. 19th Edition. (210 - 235).

Arroyo-López, FN, Durán Quintana MC, Garrido Fernández A (2006) Use of the generalized z-value concept to study the effects of temperature, NaCl concentration and pH on *Pichia anomala*, a yeast related to table olive fermentation. *Int J Food Microbiol* 106: 45-51.

D'Amato D, Corbo MR, Del Nobile MA, Sinigaglia M (2006) Effects of temperature, ammonium and glucose concentrations on yeast growth in a model wine system. *Int J Food Sci Technol* 41: 1152-1157.

Torija MJ, Rozès N, Poblet M, Guillamón JM, Mas A (2003) Effects of fermentation temperature on the strain population of *Saccharomyces cerevisiae*. *Int J Food Microbiol* 80: 47-53.

Coldea TE, Mudura E, Sibotean C, Coma E (2014) The brewing process: optimizing the Fermentation. *Bull UASVM Food Sci Technol* 71: 2-5.

THE INFLUENCE OF SOME FACTORS ON THE PRODUCTION OF ALCOHOL WHISKY BY *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* MS42 FROM BARLEY MALT

Nguyen Van Quyên¹, Nguyen Thao Anh³, Nguyen Thanh Dat¹, Nguyen Quang Thao²

¹Hanoi National University of Education

²Ministry of Industry and Trade of socialist republic of Vietnam

³Dept. for Science & Technology, Ministry of Industry and Trade

SUMMARY

Fermented wine is a complex process including many chain reactions to convert sugar into alcohol, CO₂, the byproduct and energy. Fermentation processes and product quality depend on the fermentation conditions. The objective of this study is to find the a good condition for effective fermentation to produce good quality distillation and less toxins and impurities. Currently, the production technology of wine or beer in the world and in Vietnam is diverse, there are many different techniques to optimize production in order to create optimal products. Each technology depends on the scale of production, climatic characteristics, materials, strains used in fermentation,.... On this topic we focus on some basic factors affect on fermentation alcohol use barley malt, yeast *Saccharomyces cerevisiae* MS42 include: pH, temperature, concentration SO₂ in the fluid of fermentation, the yeast cell count to the initial seed, sugar, kinetics of fermentation alcohol barley malt on the medium. The criteria for selection of optimal factors is based on the production of alcohol, toxic compounds, contaminants, cell biomass. The products produced sensory board for evaluation, combined analysis of chromatography on toxin components and impurities according to standard TCVN 7043: 2013. Carry out the fermentation experiments in 1000ml of fluid to determine optimal conditions, then perform experimental fermentation under the conditions of industrial production on a 500 liter scale. The optimal conditions for barley malt fermentaion by *S. cerevisiae* MS42 was: medium pH= 4.5-5.0; T^o= 25-30°C; K₂S₂O₅: 0.2 - 0.3 (g/l); the starting seed: 7-10%; sugar content: 140 – 160 g/l; fermentation time for 132 to 138 hours.

Keywords: *Barley malt, malt services, MS42, pH, fermentation*