

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG NẤM MEN *Saccharomyces cerevisiae* TRONG CHẾ BIẾN NƯỚC QUẢ TÁO MÈO (*Docynia indica*) LÊN MEN CÓ ĐỘ CỒN THẤP

Nguyễn Đức Hanh¹, Hoàng Thị Lệ Hằng¹,
Hoàng Thị Tuyết Mai¹, Nguyễn Văn Lợi²

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này là khảo sát các yếu tố ảnh hưởng chính đến chất lượng của dịch táo mèo sau công đoạn lên men sử dụng chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae*, từ đó xác định được các thông số công nghệ phù hợp nhằm tạo ra sản phẩm nước táo mèo lên men có độ cồn thấp. Kết quả thu được khi tiến hành lên men dịch ép táo mèo đã điều chỉnh đến các hàm lượng chất khô từ 14 - 20°Bx và pH từ 3,0 - 4,2 với tỷ lệ nấm men được bổ sung ban đầu từ 0,005- 0,020% cho thấy: Dịch lên men có hàm lượng chất khô hòa tan tổng số ban đầu là 18°Bx và có pH=3,4 khi được bổ sung chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* với tỷ lệ 0,01% sẽ tạo ra sản phẩm nước táo mèo lên men đạt chất lượng tốt nhất. Sản phẩm có hàm lượng etanol đạt 5,2%v/v.

Từ khóa: Lên men, táo mèo, nấm men

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Quả táo mèo (*Docynia indica*) có vị chua chát và hương thơm rất đặc trưng, theo các nghiên cứu hiện đại cho thấy táo mèo có tác dụng kháng khuẩn, cường tim, làm giãn mạch vành, chống rối loạn nhịp tim, hạ áp, bảo vệ tế bào gan, tăng cường miễn dịch, an thần, ức chế ngưng tập tiểu cầu, điều chỉnh rối loạn lipid máu, xơ vữa động mạch, phòng ngừa đau thắt ngực, nhồi máu cơ tim, béo phì, viêm cầu thận cấp và mãn tính, hậu sản, ứ trệ, giảm kích thích ruột, tiêu chảy, lỵ (Nguyễn Thị Minh Thư, 2012). Cùng theo đà phát triển của xã hội, không chỉ có các loại đồ uống truyền thống mà ngày càng có nhiều các loại đồ uống du nhập từ nước ngoài sang mang hương vị mới lạ, một trong số đó phải kể tới đồ uống lên men có độ cồn thấp dạng cider. Việc nghiên cứu sử dụng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* trong lên men dịch ép từ quả táo mèo sẽ tạo ra một loại đồ uống mới từ nguồn nguyên liệu trong nước vừa có hương vị đặc trưng vừa có tác dụng tốt đối với sức khỏe, giúp đa dạng hóa sản phẩm chế biến, làm tăng hiệu quả kinh tế cho cây táo mèo.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu nghiên cứu

Dịch quả táo mèo: Dịch ép quả táo mèo có hàm lượng chất khô hòa tan tổng số là 9,2°Bx, hàm lượng axit là 1,45%, hàm lượng tanin là 1,84%, pH = 3,0.

Chủng nấm men: *Saccharomyces cerevisiae* được cung cấp bởi Bộ môn Công nghệ Đồ uống - Viện Công nghiệp thực phẩm.

Đường saccharose tinh luyện.

Hóa chất: HCl 15%, NaOH 10%, Xanh metylen,

NaOH 0,1N, KOH 10%, KOH 2,5N, Feri xianua 1%, indigocarmin, H₂SO₄ 25%, Dung dịch KMnO₄ 0,05N, than hoạt tính.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Xác định tỷ lệ phối trộn dịch táo mèo/ nước thích hợp: Tiến hành phối trộn dịch táo mèo/ nước với tỷ lệ: 1/1; 1/3; 1/5; 1/7; 1/9.

Xác định hàm lượng chất khô hòa tan tổng số của dịch lên men: Dịch ép táo mèo được chia thành các mẫu có cùng thể tích 300 ml và được điều chỉnh bằng đường saccharose đến hàm lượng chất khô hòa tan tổng số (TSS):14, 16, 18, 20°Bx, pH – 4,0 rồi được thanh trùng và làm nguội đến 16±1°C, tiến hành bổ sung chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* với tỷ lệ tiếp giống là 0,015%.

Xác định pH của dịch lên men: Các mẫu dịch ép táo mèo được bổ sung đường đến nồng độ cơ chất thích sau đó bổ sung nấm men *Saccharomyces cerevisiae* với tỷ lệ tiếp giống là 0,015% và sử dụng axit citric và natri acetat điều chỉnh pH đến các giá trị khác nhau 3,0; 3,2; 3,4; 3,8; 4,2. Tiến hành lên men ở nhiệt độ 16±1°C trong thời gian khảo sát 14 ngày.

Xác định tỷ lệ tiếp giống nấm men: Dịch ép táo mèo được chia thành các mẫu có cùng thể tích (V = 300ml) rồi được điều chỉnh về nồng độ cơ chất và pH thích hợp rồi được bổ sung nấm men với các tỷ lệ tiếp giống khảo sát 0,005; 0,010; 0,015; 0,020% (nấm men dạng khô đã được hoạt hóa trước khi lên men).

2.2.2. Môi trường hoạt hóa giống

Nấm men khô được hoạt hóa trước khi cấy giống bằng cách bổ sung vào dịch đường 10% với tỷ lệ nấm

¹ Viện Nghiên cứu Rau quả; ² Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

men khô là 5% so với dịch đường, thời gian hoạt hóa là 30 phút.

2.2.3. Phương pháp phân tích

Xác định pH theo TCVN 6492: 2011.

Xác định hàm lượng axit bằng phương pháp chuẩn độ NaOH 0,1N sử dụng máy chuẩn độ tự động Metrohm 702 SM Titrino.

Xác định hàm lượng chất khô hòa tan tổng số theo TCVN 5533: 1991.

Xác định hàm lượng đường bằng phương pháp Ferixianua.

Xác định hàm lượng etanol theo AOAC 983.13.

Xác định hoạt lực lên men (dựa trên tốc độ sinh CO₂) theo phương pháp cân bình.

Xác định hàm lượng tanin theo phương pháp chuẩn độ KMnO₄.

Đánh giá cảm quan bằng phép thử thị hiếu cho điểm theo thang Hedonic.

2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Xử lý số liệu bằng phần mềm Microsoft Excel và SAS 9.0.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu tỷ lệ phối chế dịch táo mèo/ nước thích hợp

Do táo mèo là loại quả có hàm lượng axit và tanin cao, vị chua chất mạnh nên trước khi lên men cần tiến hành “pha loãng” dịch nhằm giảm bớt vị chua chất mạnh và tạo ra hàm lượng tanin phù hợp với loại hình sản phẩm. Tiến hành phối trộn dịch táo mèo theo các tỷ lệ khác nhau, kết quả phân tích chất lượng và đánh giá cảm quan hương vị của dịch thu được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ phối chế dịch quả táo mèo/nước đến chất lượng dịch lên men

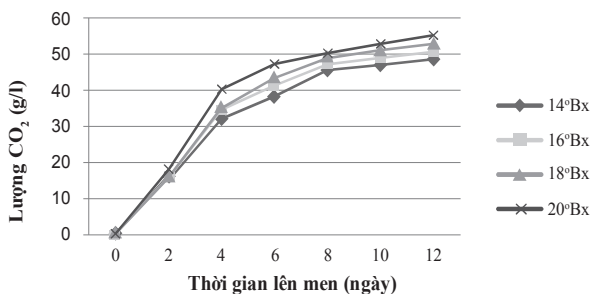
Tỷ lệ dịch táo mèo/ nước	TSS (°Bx)	Hàm lượng axit (%)	Hàm lượng tanin (%)	Điểm cảm quan	Nhận xét chung
1/1	4,6 ^a	0,73 ^a	0,94 ^a	6,2 ^c	Hương vị đặc trưng của táo mèo, vị chua chất mạnh
1/3	2,4 ^b	0,36 ^b	0,47 ^b	7,1 ^b	Hương vị đặc trưng của táo mèo, vị chua chất mạnh
1/5	1,6 ^c	0,24 ^c	0,31 ^c	8,0 ^a	Hương vị đặc trưng của táo mèo, vị chua chất vừa phải.
1/7	1,3 ^d	0,18 ^d	0,22 ^d	6,7 ^d	Hương vị nhạt, không đặc trưng
1/9	1,0 ^e	0,15 ^e	0,19 ^e	4,5 ^e	Hương vị nhạt, không đặc trưng

Ghi chú: Bảng 1-4: Những số trong cùng cột có ký hiệu chữ khác nhau là khác nhau có ý nghĩa ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

Khi tỷ lệ phối chế dịch quả táo mèo/ nước càng cao thì màu sắc, hương thơm của dịch thu được càng gần với màu sắc, hương thơm của nguyên liệu. Tuy nhiên, khi phối chế hàm lượng dịch quả/ nước với tỷ lệ $\geq 1/3$ thì trạng thái của dịch quả hơi đặc vị chua chất mạnh, khó uống. Hơn nữa trong môi trường có hàm lượng tanin cao, tanin có thể được hấp phụ lên bề mặt tế bào nấm men và gây ức chế khả năng sử dụng đường của nấm men (Wauters *et al.*, 2001a; Wauters *et al.*, 2001b). Ngược lại với mẫu có tỷ lệ phối chế dịch quả/ nước $\leq 1/7$ cho trạng thái loãng, hương vị không đặc trưng, do đó làm giảm giá trị cảm quan của sản phẩm. Qua các nhận xét trên chúng tôi chọn tỷ lệ dịch quả/nước là 1/5, với tỷ lệ phối chế này sản phẩm nước quả sẽ có hương vị, màu sắc đặc trưng.

3.2. Nghiên cứu xác định nồng độ cơ chất phù hợp cho quá trình lên men

Tiến hành lên men dịch táo mèo ở các nồng độ cơ chất khác nhau, theo dõi lượng CO₂ sinh ra và phân tích chất lượng và đánh giá cảm quan hương vị của dịch sau 14 ngày lên men. Kết quả được thể hiện ở Bảng 2 và Hình 1.



Hình 1. Ảnh hưởng của TSS đến quá trình lên men

Bảng 2. Ảnh hưởng của TSS đến chất lượng của dịch thu được sau 14 ngày lên men

Chỉ tiêu	TSS của dịch lên men (°Bx)			
	14	16	18	20
Lượng CO ₂ (g/l)	49,78 ^d	52,90 ^c	54,67 ^b	57,43 ^a
Hàm lượng etanol (%v/v)	5,23 ^{ab}	5,26 ^a	5,28 ^a	5,19 ^b
Hàm lượng Axít (theo a.malic, g/l)	3,13 ^a	3,10 ^a	3,06 ^{ab}	3,03 ^b
Hàm lượng đường sót (g/l)	30,34 ^d	49,75 ^c	69,36 ^b	91,12 ^a
Hàm lượng tanin (g/l)	2,72 ^a	2,67 ^a	2,64 ^a	2,58 ^a
Điểm cảm quan	5,5 ^d	6,2 ^c	8,1 ^a	7,2 ^c
Đánh giá cảm quan	Thơm, vị nhạt, chua	Thơm, vị nhạt, hơi chua	Thơm, vị hài hòa	Thơm, vị hài hòa

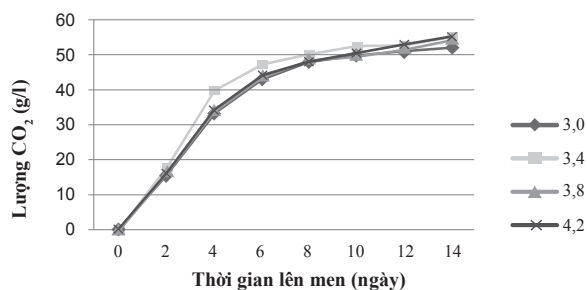
Kết quả nghiên cứu cho thấy khi TSS của dịch lên men tăng từ 14 - 18°Bx, hàm lượng etanol trong sản phẩm tăng tỷ lệ thuận với TSS của dịch lên men tuy nhiên mức tăng này không đáng kể, điều này có thể giải thích là hàm lượng đường của dịch lên men nằm trong giới hạn thích hợp cho nấm men phát triển (Beech F.W., 1972 b), ở công thức có TSS là 20°Bx có hàm lượng etanol thấp nhất có thể là do khi lên men ở nhiệt độ thấp với TSS cao làm tăng áp suất thẩm thấu lớn gây ức chế phần nào hoạt động trao đổi chất qua màng tế bào nấm men kéo theo tốc độ lên men bị hạn chế (Amerine et al, 1980). Hàm lượng axit và hàm lượng tanin giảm dần khi TSS tăng dần, điều này là do hàm lượng các chất này trong dịch quả là như nhau nên khi bổ sung thêm đường để đạt TSS theo yêu cầu đã làm “pha loãng” dịch. Về chất lượng cảm quan của dịch sau quá trình lên men thì công thức phối chế đến TSS đạt 18°Bx có chất lượng cảm quan tốt nhất.

3.3. Nghiên cứu xác định giá trị pH thích hợp cho quá trình lên men

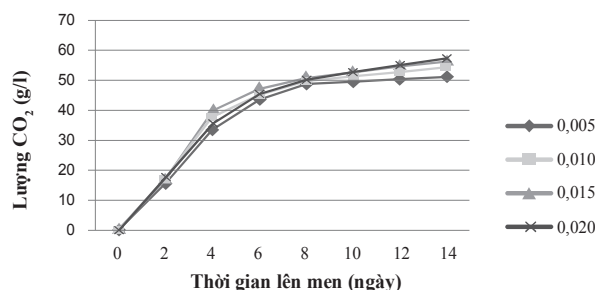
Kết quả nghiên cứu cho thấy, lượng CO₂ tạo ra tăng dần trong quá trình lên men, ở công thức có pH = 4,2 lượng CO₂ tạo ra cao nhất, ở công thức có pH= 3,4 và pH = 3,8 có hàm lượng CO₂ tạo ra tương tự nhau và không có sự khác biệt rõ rệt. Kết quả ở bảng 3 cho chúng tôi thấy khi tăng dần pH ban đầu từ 3,0 đến 4,2 sự tăng của hàm lượng etanol không tuyến tính với sự tăng của giá trị pH. Ở pH = 3,4 và pH = 3,8 hàm lượng etanol thu được cao hơn hai mẫu còn lại, trong đó mẫu có pH= 3,4 có hàm lượng etanol được là cao nhất: 5,27 %(v/v), hương vị hài hòa. Để tạo điều kiện cho nấm men phát triển tốt và sản phẩm có chất lượng tốt nhất, chúng tôi chọn mẫu có pH = 3,4. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Andrew Lea, 2015: đối với sản phẩm cider táo pH tối thích là 3,2-3,8, ở pH cao hơn có thể gây lên hư hỏng do vi sinh vật, làm giảm hương vị của sản phẩm (Andrew Lea, 2015).

Bảng 3. Ảnh hưởng của pH dịch lên men đến chất lượng của sản phẩm sau 14 ngày lên men

Chỉ tiêu	Giá trị pH của dịch lên men			
	3,0	3,4	3,8	4,2
Lượng CO ₂ (g/l)	51,79 ^c	54,32 ^b	54,23 ^b	55,19 ^a
Hàm lượng etanol (%v/v)	4,62 ^c	5,27 ^a	5,19 ^b	4,56 ^d
Hàm lượng Axít (theo a.malic, g/l)	3,22 ^a	3,11 ^b	3,07 ^b	3,25 ^a
Hàm lượng đường sót (g/l)	78,36 ^b	69,56 ^d	72,49 ^c	68,54 ^a
Hàm lượng tanin (g/l)	2,61 ^a	2,63 ^a	2,62 ^a	2,59 ^a
Điểm cảm quan	6,1 ^c	8,4 ^a	8,3 ^a	7,3 ^c
Nhận xét cảm quan	Thơm, dịu, vị hơi ngọt	Thơm đặc trưng, vị hài hòa	Thơm đặc trưng, vị hài hòa	Hương thơm kém, hơi vẫn đục



Hình 2. Ảnh hưởng của pH đến quá trình lên men



Hình 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ nấm men bổ sung đến quá trình lên men

3.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ cấy giống nấm men đến chất lượng nước quả táo mèo lên men có độ cồn thấp

Tiến hành lên men dịch táo mèo có hàm lượng chất khô hòa tan tổng số 18°Bx, pH = 3,4 với tỷ lệ giống cấy từ 0,01 đến 0,02% nấm men khô (đã được

hoạt hóa) so với thể tích dịch lên men. Theo dõi động học của quá trình lên men thông qua lượng CO₂ tạo thành và đánh giá chất lượng đánh giá cảm quan hương vị của sản phẩm sau 14 ngày lên men, kết quả được trình bày trong Hình 3 và Bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ nấm men bổ sung đến chất lượng sản phẩm

Chỉ tiêu phân tích	Tỷ lệ nấm men bổ sung (%)			
	0,005	0,010	0,015	0,020
Lượng CO ₂ (g/l)	51,14	53,92	56,31	57,43
Hàm lượng etanol (%v/v)	5,04	5,23	5,26	5,38
Hàm lượng Axít (theo a.malic) (g/l)	3,17 ^b	3,14 ^d	3,13 ^c	3,18
Hàm lượng đường sót (g/l)	74,06	70,34	69,75	67,41
Hàm lượng tanin (%)	2,63 ^a	2,65 ^a	2,62 ^a	2,61 ^a
Điểm cảm quan	6,7 ^c	8,5 ^a	8,4 ^a	7,7 ^b
Nhận xét cảm quan	Thơm, dịu, vị hơi ngọt	Thơm đặc trưng, vị hài hòa	Thơm đặc trưng, vị hài hòa	Hương vị kém đặc trưng

Kết quả ở Hình 3 và Bảng 4 cho thấy: Tỷ lệ nấm men bổ sung là 0,020% giai đoạn tiềm phát được rút ngắn, quá trình lên men nhanh, lượng cồn tạo ra nhiều hơn. Song lên men nhanh chất lượng sản phẩm kém hơn. Tỷ lệ nấm men bổ sung 0,005% có tốc độ lên men chậm, sản phẩm thu được có lượng cồn thấp, vị không hài hòa, điều này có thể giải thích các mẫu tỷ lệ giống cấy thấp thì chúng cần dùng nhiều đường cho nhu cầu tăng sinh khối, phần ít đường còn lại dùng cho quá trình lên men hoặc cũng có thể là do số lượng tế bào ít nên không đủ khả năng ức chế các tạp khuẩn khiến chúng phát triển mạnh và tạo ra các sản phẩm không phải là rượu. Với tỷ lệ nấm men bổ sung là 0,01 -0,015% sản phẩm có mùi vị tốt và lượng cồn tương đối cao (đạt 5,2%v/v). Xét về hiệu quả kinh tế chúng tôi lựa chọn tỷ lệ cấy giống nấm men vào dịch lên men trong quá trình lên men dịch quả táo mèo là 0,010%.

IV. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy dịch lên men có hàm lượng chất khô hòa tan tổng số ban đầu là 18°Bx và có pH=3,4 khi được bổ sung chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* với tỷ lệ 0,010% sẽ tạo ra sản phẩm đạt chất lượng tốt nhất với hàm lượng etanol đạt 5,2% v/v.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Thị Minh Thư, 2012. Nghiên cứu tác dụng chống lại một số vi khuẩn kháng kháng sinh (*Moraxella catarrhalis*) gây nhiễm đường hô hấp trên ở người của dịch lên men quả táo mèo (*Docynia indica*). Luận văn Thạc sỹ ngành: Vi sinh vật học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên.
- Amerine, M. S., H. W. Berg, R. E. Kunkee, C. S. Ough, V. L. Singleton and A. D. Webb, 1980. *The Technology of Wine Making*, 4th Edition, The AVI Publishing Co. Inc., Westport, CT 06881.

Andrew Lea, 2015. "The Science of Cidermaking Part 3 - Juicing and Fermenting". Truy cập ngày 12 tháng 6 năm 2016.

Wauters, T., Iserentant, D., Verachtert, H., 2001a. Impact of mitochondrial activity on the cell wall composition and on the resistance to tannic acid in *Saccharomyces cerevisiae*, *Journal Genetic and*

Applied Microbiology, Vol. 47(1), pp. 21-26.

Wauters, T., Iserentant, D., Verachtert, H., 2001b. Sensitivity of *Saccharomyces cerevisiae* to tannic acid is due to iron deprivation, *Canadian Journal of Microbiology*, Vol. 47(4), pp. 290-293.

Beech F.W., 1972 b. Cider making and cider research - a review. *J. Inst Brewing* 78 - 477.

Study on use of *Saccharomyces cerevisiae* in cider making from *Docynia indica* fruit

Nguyen Duc Hanh, Hoang Thi Le Hang,
Hoang Thi Tuyet Mai, Nguyen Van Loi

Abstract

The objective of this study was to examine the factors affecting the quality of *Docynia indica* fruit juice which was fermented by *Saccharomyces cerevisiae* in order to determine the parameters of appropriate technologies to produce cider products with the best quality. After the fermentation process of converting starch into sugar, the sugar solution was adjusted to the concentration of 14 to 20°Bx, pH from 3.0 to 4.2, and then added the yeast of 0.005 to 0.020%. The results showed that solution at 18°Bx, pH = 3.4 and 0.010% *Saccharomyces cerevisiae* produced the best quality and the alcoholic content by volume of the final product was at 5.2% v/v.

Key words: Fermentation, *Docynia indica*, *Saccharomyces cerevisiae*.

Ngày nhận bài: 2/10/2016

Người phản biện: TS. Nguyễn Tuấn Minh

Ngày phản biện: 8/10/2016

Ngày duyệt đăng: 25/10/2016

NGHIÊN CỨU TẠO CHẾ PHẨM VI SINH PHÂN GIẢI CELLULOSE ĐỂ XỬ LÝ LỤC BÌNH LÀM NGUYÊN LIỆU SẢN XUẤT PHÂN BÓN HỮU CƠ

Dương Hoa Xô¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm xây dựng quy trình ứng dụng chế phẩm vi sinh phân giải cellulose (BIMA-COMPOST) để xử lý lục bình làm nguyên liệu sản xuất phân bón hữu cơ. Kết quả sàng lọc và kiểm tra hoạt tính phân giải cellulose và lignin của các chủng vi sinh vật từ Bộ sưu tập giống vi sinh vật của Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. Hồ Chí Minh cho thấy có 12 chủng hoạt tính cao có thể sử dụng làm chế phẩm xử lý lục bình. Đã tạo được chế phẩm BIMA-COMPOST để xử lý lục bình gồm nấm đối kháng *Trichoderma* sp. (chủng B3 và B19), nấm mục trắng *P. chrysosporium* (chủng LG4 và LG17) và xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (chủng VN01 và CS30). Đã xây dựng được quy trình xử lý lục bình bằng chế phẩm BIMA-COMPOST để tạo compost với quy mô 10 tấn/mẻ với các yếu tố tối ưu về kích cỡ nguyên liệu là 5 cm, thành phần chất độn là phân bò và hàm lượng của chế phẩm BIMA-COMPOST là 4 kg/tấn lục bình héo. Sản phẩm compost sau 45 ngày xử lý có thành phần cát chất hữu cơ (16,5%), thành phần đa lượng (nitơ tổng: 1,84%, P₂O₅: 1,19 và K₂O: 1,08%), các nguyên tố trung lượng (Ca: 2,7%, Mg: 430 mg/kg và Zn: 540 mg/kg) và hàm lượng các kim loại nặng độc (As < 0,1%; Hg < 0,1%; Cd < 1% và Pb ~ 11,4%) đều đạt tiêu chuẩn làm nguyên liệu sản xuất phân bón hữu cơ theo Thông tư số 41/2014/TT-BNNPTNT.

Từ khóa: Lục bình, *Phanerochaete chrysosporium*, phân hữu cơ, *Streptomyces*, *Trichoderma*, tỷ lệ C/N

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lục bình là cây thân thảo sống thủy sinh, nổi lên mặt nước hoặc bám nơi đất bùn, có khả năng sinh sản rất nhanh nên dễ làm tắc nghẽn dòng chảy. Từ một cây mẹ có thể nảy ra nhiều cây con và tăng số lượng gấp đôi mỗi 2 tuần (Gunnarsson và Petersen, 2007; Little, 1979). Khu vực nước lợ, có nhiều

dinh dưỡng giúp lục bình phát triển rất nhanh lên đến 12,8 tấn chất khô/ha/năm. Tỷ lệ C/N trong lục bình dao động từ 15,8 đến 25,1 tùy theo khu vực, giống cây và thời tiết (Little, 1979). Hiện nay việc trực vớt và xử lý lục bình chủ yếu tập trung ở giải pháp giải pháp xử lý làm nguyên liệu sản xuất phân hữu cơ vì đây là hướng đi đúng đắn, khả thi và

¹ Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. Hồ Chí Minh