



NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA TỶ LỆ BỔ SUNG CHUNG NẤM MEN NML04 VÀ NML02 PHÂN LẬP ĐƯỢC TỪ BÁNH MEN LÁ “BA NANG” ĐẾN KHẢ NĂNG LÊN MEN VÀ CHẤT LƯỢNG RƯỢU THÀNH PHẨM

Nguyễn Văn Huế^{1*}, Nguyễn Đức Chung¹, Trần Thị Phương Nga²,
Trần Thanh Quỳnh Anh¹, Võ Thị Thu Hằng¹

¹ Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 102 Phùng Hưng, Huế, Việt Nam

² Trung tâm Y tế huyện Chư Pah, tỉnh Gia Lai, 12 Phan Đình Phùng, Phú Hòa,
Chư Păh, Gia Lai, Việt Nam

* Tác giả liên hệ: Nguyễn Văn Huế <nguyenvanhue@hueuni.edu.vn>
(Ngày nhận bài: 13-5-2021; Ngày chấp nhận đăng: 6-9-2021)

Tóm tắt. Nghiên cứu này nhằm khảo sát khả năng lên men và chất lượng rượu thành phẩm khi bổ sung hai chủng nấm men NML02 và NML04 được phân lập, tuyển chọn từ bánh men lá truyền thống “Ba Nang” của người đồng bào Vân Kiều ở bản Đá Bàn, xã Ba Nang, huyện Dakrong, Tỉnh Quảng Trị. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi bổ sung kết hợp hai chủng nấm men với tỷ lệ NML04 (0,2 g) và NML02 (0,2 g) vào 1 kg gạo ở giai đoạn lên men lỏng (tại 25 °C và sau 9 ngày lên men) đã cho kết quả rượu thành phẩm có chất lượng cảm quan cao hơn so với mẫu đối chứng của người dân ở tất cả các chỉ tiêu về màu sắc, độ trong, mùi, vị. Tất cả các mẫu đều không có sự hiện diện của thành phần methanol. Ngoài ra, thành phần aldehyde và furfural trong mẫu rượu thành phẩm từ thí nghiệm thu được là 86,25 và 0,86 mg/L Etanol 100° thấp hơn so với mẫu đối chứng của người dân là 138,65 và 2,09 mg/L Etanol 100°. Kết quả nghiên cứu khẳng định chất lượng rượu thu được phụ thuộc nhiều vào tỉ lệ bổ sung nấm men. Với tỉ lệ nấm men phù hợp, chất lượng rượu nghiên cứu được tốt hơn nhiều so với chất lượng rượu truyền thống.

Từ khóa: Bánh men lá, rượu men lá, chất lượng rượu, NML02, NML04

Study on the effect of the addition rate of yeast strains NML04 and NML02 isolated from rice starter "Ba Nang" on fermentation ability and rice wine quality

Nguyen Van Hue^{*}, Nguyễn Đức Chung¹, Trần Thị Phương Nga²,
Trần Thanh Quỳnh Anh¹, Võ Thị Thu Hằng¹

¹ University of Agriculture and Forestry, Hue University, 102 Phung Hung St., Hue, Vietnam

² Medical Center Chu Pah District, Gia Lai, 12 Phan Đình Phùng St., Phu Hoa,
Chư Păh, Gia Lai, Vietnam

* Correspondence to Nguyen Van Hue <nguyenvanhue@hueuni.edu.vn>

(Submitted: May 13, 2021; Accepted: September 6, 2021)

Abstract. This study aimed to investigate the fermentation ability and the quality of the rice wine when adding two yeast strains NML02 and NML04 isolated and selected from the traditional yeast starters "Ba Nang" of the Van Kieu people in Da Ban, Ba Nang Commune, Dakrong District, Quang Tri Province. The results showed that when adding these two yeast strains with the ratio of NML04 (0,2 g) and NML02 (0,2 g) to 1 kg of rice at the liquid fermentation stage (at 25 °C and after 9 days of fermentation), the rice wine was obtained with higher organoleptic quality than that of the control samples in all criteria including color, clarity, smell and taste. Methanol component was not found in these rice wine samples. In addition, aldehyde and furfural compositions in the rice wine samples from the experiment were 86,2 and 0,86 mg/L Etanol 100^o, respectively, lower than that of control samples (138,65 and 2,09 mg/L Etanol 100^o) made by local people. The results of confirmed that the quality of the wine obtained was highly dependent on the yeast addition rate. With the right yeast ratio, the quality of the studied wine is much better than that of the traditional wine.

Keywords: wine cake starters, "men la" wine, rice wine quality, NML02, NML04

1 Đặt vấn đề

Bánh men là một dạng của men rượu, là một hỗn hợp bao gồm các vi sinh vật có khả năng thủy phân tinh bột thành đường và lên men dịch đường thành rượu. Các vi sinh vật này có thể là nấm mốc, nấm men và vi khuẩn. Bánh men được dùng trong nấu rượu truyền thống của ông cha ta được cho là bắt nguồn từ Trung Quốc rồi lan rộng dần sang các nước châu Á. Ở các quốc gia khác nhau thì bánh men có những tên gọi khác nhau, như: Chu ở Trung Quốc, Koji ở Nhật Bản, Nuruk ở Hàn Quốc, Murcha ở Ấn Độ, Ragi ở Indonesia, Ragi tapai ở Malaysia, Bubod ở Philippine [1]. Ở Việt Nam, bánh men được sản xuất theo phương pháp cổ truyền, được truyền lại từ đời này qua đời khác, là một bí quyết riêng của mỗi vùng miền địa phương. Mỗi vùng miền khác nhau thì có những loại bánh men khác nhau: như ở vùng đồng bằng sông Cửu Long thì có

bánh men thuốc bắc, ở các vùng núi cao như Lạng Sơn lại có bánh men lá là sự kết hợp các loại lá, củ quả rừng; rượu làng Vân- Bắc Giang lại nổi tiếng bởi được nấu từ gạo nếp kết hợp với các vị thuốc quý...

Theo công bố của Vu Nguyen Thanh và cs. [2], khi nghiên cứu trên 52 mẫu bánh men được thu trên cả nước Việt Nam phát hiện ra sự có mặt của 13 chủng nấm (kể cả nấm men) và 23 chủng vi sinh vật khác. Đối với bánh men lá thì đến nay, có một số nghiên cứu về các loài thảo được được sử dụng trong bánh men lá cũng như các thông số công nghệ trong quy trình sản xuất rượu men lá đã và đang được thực hiện. Các loài thảo được khi thêm vào bánh men, thường có hoạt tính chống oxy hóa hoặc kháng khuẩn hoặc có cả hai đặc tính, nhằm ức chế sự phát triển của các chủng vi sinh vật không hữu ích cho quá trình lên men.

Các loại rượu men lá thường êm dịu, thơm nồng và là nét văn hóa riêng của từng cộng đồng dân tộc. Rượu men lá Ba Nang là đặc sản của vùng đồng bào miền núi phía tây tỉnh Quảng Trị, tuy nhiên chưa có nhiều công bố liên quan đến các chủng vi sinh vật trong bánh men cũng như chất lượng rượu được sản xuất từ bánh men lá Ba Nang, Quảng Trị. Từ bánh men lá Ba Nang chúng tôi đã phân lập, định danh, tuyển chọn một số chủng có khả năng ứng dụng trong lên men rượu. Chủng nấm NML02 nằm cùng nhánh với loài nấm men *Pichia guilliermondii* thuộc chi *Pichia* với mã số AY939792.1 và EF190233.1; chủng nấm NML04 có sự tương quan di truyền với chi nấm *Candida sp.* và có mức độ trùng lặp nucleotide và độ tương đồng nucleotide cao (từ 98 đến 100%) với loài *Candida metapsilosis*. Đây là hai chủng được phân lập định danh và có khả năng lên men rượu tốt được tuyển chọn để nghiên cứu bổ sung vào quá trình lên men lỏng trong quá trình sản xuất rượu men lá.

2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Vật liệu

Bánh men lá thu nhận từ người đồng bào Vân Kiều ở bản Đá Bàn, xã Ba Nang, huyện Dakrong, tỉnh Quảng Trị. Nguyên liệu gạo Khang Dân sử dụng được trồng tại xã Phú Mỹ, huyện Phú Vang, tỉnh Thừa Thiên Huế. Chủng nấm NML02 và NML04 được phân lập từ bánh men lá Ba Nang tiến hành tại phòng thí nghiệm khoa Cơ khí và Công nghệ, Trường ĐH Nông Lâm, ĐH Huế.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Bố trí thí nghiệm

Chúng tôi đã điều chỉnh quy trình truyền thống để làm rượu men lá sử dụng ở quy mô phòng thí nghiệm như sau: Bước 1 (S1) Gạo Khang Dân được vò làm sạch trong nước cất từ 3–4 lần đến khi nước vò gạo trong là kết thúc. (S2) Gạo sau khi vò được nấu với mục đích để làm chín

gạo, mềm gạo, còn gọi là quá trình hồ hóa tinh bột để tạo môi trường thuận lợi cho nấm mốc phát triển. Yêu cầu là cơm phải chín đều, mềm và không bị sống, không được quá khô hay quá ướt, không bị vón cục và kết dính vào nhau. Tỷ lệ gạo: nước khoảng 1:1,2 mL (S3). Gạo sau khi hồ hóa được làm lạnh đến nhiệt độ 30–32 °C (S4). Sau đó cấy và trộn đều với bánh men lá theo tỷ lệ 8g/1kg gạo, quá trình ủ cơm được tiến hành ở nhiệt độ từ 30–32 °C, thời gian ủ cơm khoảng 3 ngày để nấm mốc sinh trưởng và phát triển, chuyển hóa tinh bột thành đường nhờ enzyme amylase của nấm mốc tiết ra. Vi khuẩn sinh acid hoạt động tạo môi trường có pH thuận lợi cho nấm men hoạt động. Cũng trong giai đoạn này, nấm men cũng bắt đầu phát triển và chuyển hóa một ít đường thành rượu. Khi toàn bộ nấm mốc bao lấy hạt cơm, ăn sâu vào trong lõi cơm, dùng tay ấn vào cơm thấy có nước thoát ra, có mùi thơm nồng của rượu, cơm ăn có vị ngọt mạnh, cay và tan nhanh trong miệng là đạt yêu cầu (S5). Sau khi lên men hiếu khí ở trạng thái rắn trong 3 ngày ở 30–32 °C, nước tiệt trùng đã được thêm vào cho ngập khối gạo (tỷ lệ 2 lít nước/1 kg gạo) (S6) và tiến hành lên men lỏng trong 9 ngày tại 25 °C. Trong giai đoạn này, chúng tôi khảo sát tỷ lệ bổ sung chủng nấm men NML04 với tỷ lệ 0,1;0,2;0,4 g/1kg gạo tương ứng với CT1, CT2 và CT3 (S7), tiến hành kiểm tra các chỉ tiêu hàm lượng đường tổng số, acid amin, acid tổng số của dịch lên men. Bên cạnh đó, chúng tôi tiến hành đánh giá cảm quan, xác định độ rượu, hàm lượng methanol, aldehyde, furfurool của rượu thành phẩm. Mỗi mẫu được lặp lại 3 lần.

Xác định độ rượu

Sử dụng rượu kế thủy tinh, còn gọi là từ kế hay thước đo độ rượu. Thước đo độ rượu cũng được thiết lập theo định luật Acsimet, dựa trên nguyên lý tỉ trọng của nước càng thấp khi độ rượu trong nước càng cao, độ chìm của côn kế trong dung dịch sẽ cho biết độ rượu của dung dịch. Có nhiều loại, loại dùng để đo nồng độ từ 0 đến 50 %, 50 đến 100 %, mỗi vạch trên thước đo tương ứng với 1% thể tích. Đối với loại cần đo chính xác lại chia thành vạch nhỏ hơn 0,1 % (0–10 %), thường dùng để đo độ rượu trong giấm sau khi cất [3].

Xác định hàm lượng đường tổng số

Hàm lượng đường tổng số được xác định theo phương pháp Bertrand [4, 5].

Xác định hàm lượng acid tổng số

Dùng dung dịch kiềm chuẩn NaOH (0,1N) để trung hòa hết acid có trong thực phẩm với phenolphtalein 0,1 % làm chất chỉ thị màu [6].

Xác định hàm lượng Nitơ acid amin

Xác định hàm lượng nitơ acid amin bằng phương pháp chuẩn độ focmol. Các aldehyde dễ kết hợp với nhóm amin. Khi cho formaldehyde tác dụng với acid amin, nhóm amin bị methylen hóa tạo thành dẫn xuất methylen imino acid. Hợp chất tạo thành có tính acid mạnh hơn acid amin

tự do, các nhóm carboxyl của chúng dễ dàng định phân bằng kiềm, qua đó gián tiếp tính được lượng nitơ amin của các acid amin có trong dung dịch [5].

Xác định hàm lượng aldehyde

Hàm lượng aldehyde xác định bằng phương pháp so màu. Cho phần mẫu thử tác dụng với thuốc thử fuchsin sulfite và rượu có hàm lượng aldehyde chuẩn. So màu của dung dịch thu được với màu của dung dịch chuẩn [7].

Xác định hàm lượng methanol

Hàm lượng methanol được xác định bằng phương pháp sắc ký khí [8].

Xác định hàm lượng furfural

Phương pháp xác định hàm lượng furfural trong rượu chưng cất bằng cách chưng cất hơi nước và đo quang phổ [9].

Phương pháp cảm quan

Sử dụng phương pháp phép thử cho điểm thị hiếu [10]. Mỗi thành viên sau khi nếm sẽ đánh giá mức độ ưa thích của mình đối với các mẫu thử theo thang điểm từ 1–9 trên cả bốn chỉ tiêu cảm quan: màu sắc, mùi, vị và độ trong. Các phiếu cho điểm của mỗi thành viên sẽ được tập hợp lại để xử lý thống kê cho từng chỉ tiêu ghi trên mẫu. Mẫu nào đạt số điểm cao nhất thì coi như ưa thích nhất.

Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả thí nghiệm được quản lý và xử lý trên phần mềm Excel, phân tích phương sai một nhân tố ANOVA (One - way ANOVA) và so sánh các giá trị trung bình bằng kiểm định Tukey (Tukey test) với mức ý nghĩa 95% trên phần mềm thống kê Minitab, phiên bản 18.0.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Ảnh hưởng của tỷ lệ chủng nấm men NML04 đến khả năng lên men và chất lượng rượu thành phẩm

Tỷ lệ nấm men được cho vào dịch lên men ảnh hưởng rất lớn đến quá trình lên men. Nếu tỷ lệ nấm men cho vào thích hợp thì quá trình lên men diễn ra tốt và hiệu suất thu hồi cao, chất lượng sản phẩm tốt hơn. Nếu tỷ lệ nấm men cho vào quá ít thì tốc độ lên men chậm. Nếu tỷ lệ nấm men nhiều thì sinh khối tế bào nấm men quá nhiều thì môi trường dịch lên men không đủ cho nấm men phát triển, tế bào nấm men sẽ chết dần, sản phẩm sinh ra mùi vị lạ, phí một lượng nấm men đáng kể.

Bảng 1. Hàm lượng đường tổng, acid tổng, acid amin sau 9 ngày lên men lỏng ở các tỷ lệ chủng nấm men NML04 khác nhau

Công thức	Hàm lượng đường tổng (%)	Hàm lượng acid tổng (%)	Hàm lượng acid amin (g/l)
ĐC	3,052 ^c	0,656 ^d	0,251 ^b
CT1	2,250 ^b	0,806 ^c	0,375 ^c
CT2	2,220 ^b	0,844 ^b	0,194 ^a
CT3	2,020 ^a	0,876 ^a	0,176 ^a

Ghi chú: a, b, c: các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$. CT1, CT2 và CT3 là công thức tương ứng với tỷ lệ bổ sung chủng nấm men NML04 tại 0,1;0,2;0,4 g/1kg gạo. ĐC: là mẫu đối chứng không bổ sung nấm men NML04.

Kết quả thu được từ Bảng 1 cho thấy khi tăng tỷ lệ bổ sung chủng nấm men NML04 lên thì hàm lượng đường giảm. Ngoài mẫu đối chứng, hàm lượng cao nhất ở tỷ lệ bổ sung 0,1 g (CT1) là 2,25 %, thấp nhất là tỷ lệ bổ sung 0,4 g (CT3) là 2,03 %. Nguyên nhân do khi hàm lượng đường cao làm tăng áp suất, mất cân bằng trạng thái sinh lý của nấm men còn khi hàm lượng đường thấp không đủ cơ chất cho nấm men phát triển. Nghiên cứu này tương tự nghiên cứu của Đỗ Tiến Thành khi bổ sung chủng nấm men để cải thiện quá trình sản xuất rượu [11].

Hàm lượng acid và acid amin là hai yếu tố quyết định đến chất lượng của sản phẩm rượu vì vậy cần tìm ra tỷ lệ bổ sung chủng cho hàm lượng acid và acid amin tốt nhất để tạo ra sản phẩm có chất lượng cao. Hàm lượng acid cao nhất ở tỷ lệ bổ sung 0,4 g (CT3) là 0,876 % và thấp nhất ở tỷ lệ bổ sung 0,1 g (CT1). Trong quá trình lên men tạo ra nhiều acid hữu cơ nếu tỷ lệ nấm men càng nhiều thì acid sẽ càng tăng. Nhưng nếu hàm lượng acid cao quá sẽ ảnh hưởng đến mùi vị của sản phẩm. Bên cạnh đó, hàm lượng acid amin giảm dần khi tăng tỷ lệ nấm men. Hàm lượng cao nhất là 0,375 % ở tỷ lệ bổ sung 0,1 g và thấp nhất là 0,176 % ở tỷ lệ bổ sung 0,4 g. Điều này đúng với tính chất của acid amin trong môi trường acid [12].

Để có thêm cơ sở khoa học xác định tỷ lệ bổ sung chủng nấm men chúng tôi tiến hành đánh giá cảm quan. Kết quả đánh giá cảm quan được thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả đánh giá cảm quan và độ rượu của sản phẩm

Tỷ lệ bổ sung nấm men (%)	Độ rượu	Điểm đánh giá		
		Độ trong và màu sắc	Mùi	Vị
ĐC	42,2 ^d	6,1 ^c	5,2 ^c	5,5 ^c
CT1	45,3 ^b	7,7 ^{ab}	7,4 ^b	7,9 ^{ab}
CT2	46,8 ^a	8,1 ^a	8,3 ^a	8,3 ^a
CT3	43,9 ^c	7,3 ^b	7,5 ^a	7,6 ^b

Ghi chú: Các kí tự a, b, c thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các mẫu trong cùng một cột, với $p < 0,05$. CT1, CT2 và CT3 là công thức tương ứng với tỷ lệ bổ sung chủng nấm men NML04 tại 0,1; 0,2; 0,4 g/kg gạo. ĐC: là mẫu đối chứng không bổ sung nấm men NML04.

Từ kết quả đánh giá cảm quan ở Bảng 2 cho thấy điểm cảm quan về độ trong và màu sắc của tỷ lệ bổ sung nấm men là 0,2 g (CT2) cho điểm cao nhất là 8,1 cao hơn so với hai tỷ lệ còn lại và có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê giữa CT2 và CT3. Điểm cảm quan về mùi và vị của tỷ lệ bổ sung chủng nấm men 0,2 g (CT2) cũng cho điểm cao nhất là 8,3 cao hơn hai tỷ lệ còn lại và có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê giữa CT2 và CT3. Vì vậy, về mặt đánh giá cảm quan thì tỷ lệ bổ sung chủng nấm men NML04 là 0,2 g cho điểm cao nhất. Độ rượu cao nhất ở tỷ lệ bổ sung 0,2 g (CT2) là 46,8°, ở hai tỷ lệ bổ sung còn lại độ rượu thấp hơn. Nguyên nhân là do lượng tế bào nấm men càng cao thì quá trình phát triển sinh khối, chuyển hoá đường thành rượu của tế bào nấm men càng mạnh. Tuy nhiên, sự gia tăng này không hoàn toàn đồng biến, đến một mức giới hạn nào đó ở đó hàm lượng nấm men thích hợp, sự phát triển sinh khối của tế bào nấm men đạt cực đại. Lúc này tế bào nấm men không còn khả năng sinh sản, bắt đầu chết từ từ và chìm xuống đáy bình lên men. Đến ngày cuối của quá trình lên men số lượng nấm men giảm và chất dinh dưỡng còn ít dẫn đến lượng rượu sinh ra ít hơn. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự với kết quả nghiên cứu của Ngô Thị Phương Dung về sản xuất và ứng dụng men thuần trong lên men rượu nếp than [13].

Từ những kết quả phân tích trong quá trình lên men, sản phẩm và cảm quan chúng tôi quyết định chọn tỷ lệ bổ sung chủng nấm men NML04 là 0,2 g thích hợp cho quá trình lên men và làm tiền đề cho quá trình nghiên cứu tiếp theo.

3.2 Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung hai chủng nấm men NML04 và NML02 đến khả năng lên men rượu và chất lượng rượu thành phẩm

Dựa vào kết quả nghiên cứu ở thí nghiệm trên, chúng tôi tiến hành bổ sung kết hợp chủng nấm men NML04 cố định là 0,2 g với các tỷ lệ bổ sung chủng nấm men NML02 là 0,1 g (CT4); 0,2 g (CT5); 0,4 g (CT6). Thí nghiệm được tiến hành trong điều kiện như ở thí nghiệm trên, chúng tôi tiến hành khảo sát các chỉ tiêu để tìm ra được tỷ lệ kết hợp hai chủng thích hợp nhất.

Bảng 3. Hàm lượng đường tổng, acid tổng, acid amin sau 9 ngày lên men lỏng ở các tỷ lệ bổ sung chủng nấm men NML04 (0,2 g) và NML02 khác nhau

Công thức	Hàm lượng đường tổng (%)	Hàm lượng acid tổng (%)	Hàm lượng acid amin (g/l)
ĐC	2,195 ^d	0,814 ^c	0,208 ^a
CT4	1,660 ^c	0,410 ^b	0,202 ^a
CT5	1,540 ^b	0,430 ^b	0,171 ^b
CT6	1,430 ^a	0,540 ^a	0,148 ^c

Ghi chú: a, b, c: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$. CT4, CT5 và CT6 là công thức với tỷ lệ bổ sung kết hợp (0,2 g) chủng nấm men NML04 với tương ứng 0,1;0,2;0,4 g/kg gạo. ĐC: là mẫu đối chứng không bổ sung nấm men NML02.

Khi tăng tỷ lệ bổ sung chủng nấm men NML02 kết hợp với chủng nấm men NML04 cố định tỷ lệ 0,2 g thì hàm lượng đường giảm trong quá trình lên men. Hàm lượng đường cao nhất là 1,66 % ở tỷ lệ bổ sung 0,1 g (CT4) và thấp nhất ở tỷ lệ bổ sung 0,4 g (CT6) là 1,43 %. Nghiên cứu này gần giống nghiên cứu của Ngô Thị Phương Dung năm 2009 khi bổ sung 0,4% bột men *S. cerevisiae* là thích hợp cho qui trình sản xuất rượu nếp than. [13]. Bên cạnh đó, khi bổ sung hai chủng nấm men thì hàm lượng acid giảm nhiều so với bổ sung một chủng (từ 0,844 % chỉ còn 0,41 %; 0,43 %; 0,54 %), hàm lượng acid trong thí nghiệm này tăng chậm, hàm lượng acid cao nhất ở tỷ lệ 0,4 g (CT6) và thấp nhất ở tỷ lệ bổ sung 0,1 g (CT4). Ngược lại, hàm lượng acid amin giảm chậm, hàm lượng acid amin cao nhất ở tỷ lệ bổ sung 0,1 g (CT4) và thấp nhất là ở tỷ lệ bổ sung 0,4 g (CT6). Để có thêm cơ sở khoa học xác định tỷ lệ bổ sung hai chủng nấm men chúng tôi tiến hành đánh giá cảm quan rượu thành phẩm. Kết quả đánh giá cảm quan thể hiện ở Bảng 4.

Điểm cảm quan của tỷ lệ bổ sung hai chủng (0,2 g NML04 và 0,2 g NML02) (CT5) cho điểm cao nhất về mùi và vị là 9,0; điểm cảm quan về độ trong và màu sắc là 8,2 cao hơn rất nhiều cao hơn hai tỷ lệ còn lại. Bên cạnh đó, khi kết hợp hai chủng nấm men thì nồng độ rượu thay đổi không đáng kể so với bổ sung 1 chủng, tương ứng 46,6° và 46,4°.

Bảng 4. Kết quả đánh giá cảm quan và độ rượu của sản phẩm

Tỷ lệ bổ sung nấm men	Độ rượu	Điểm đánh giá		
		Độ trong và màu sắc	Mùi rượu	Vị rượu
ĐC	46,6 ^a	7,5 ^b	7,4 ^c	7,3 ^c
CT4	45,3 ^b	7,7 ^{ab}	8,4 ^b	8,3 ^b
CT5	46,4 ^a	8,2 ^a	9,0 ^a	9,0 ^a
CT6	45,5 ^b	7,6 ^b	8,3 ^b	8,3 ^b

Ghi chú: Các kí tự a,b,c thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các mẫu trong cùng một cột, với mức ý nghĩa 5%

Từ những kết quả phân tích trên kết hợp với nồng độ rượu và cảm quan chúng tôi nhận thấy công thức CT5 với tỷ lệ bổ sung 0,2 g nấm men NML02 và 0,2 g nấm men NML04 với tỷ lệ bánh men 8 g/1kg gạo lên men trong thời gian 9 ngày ở nhiệt độ 25 °C cho ra chất lượng sản phẩm tốt nhất với quá trình sản xuất rượu.

3.3 Kết quả phân tích hàm lượng methanol, aldehyde, furfurool

Methanol là alcohol đơn giản nhất có công thức CH_3OH [3]. Trong rượu chưng cất, methanol có nguồn gốc từ sự phân giải các đại phân tử trong quá trình lên men như hemicellulose, pectin, lignin và xylan. Bản thân methanol ít độc nhưng các chất chuyển hóa của nó lại rất độc. Khi vào cơ thể, methanol được chuyển hóa bởi ADH tạo ra formaldehyde (độc gấp 33 lần methanol). Hàm lượng methanol vượt quá chỉ tiêu cho phép có thể dẫn đến ngộ độc cho người sử dụng [14].

Các aldehyde được sinh ra trong quá trình lên men, bay hơi trước etanol và nằm trong dịch cất đầu của quá trình chưng cất. Sự có mặt của aldehyde trong rượu sẽ làm tăng độ tính cho sản phẩm. Khi vào cơ thể, aldehyde có khả năng gắn kết với các protein và DNA của tế bào gan gây tổn thương tế bào, làm tăng quá trình tạo xơ và dẫn tới xơ gan [14]. Aldehyde là tạp chất luôn có mặt trong các sản phẩm rượu và có thể điều chỉnh được trong quá trình chế biến.

Furfurool trong rượu được tạo ra từ quá trình dehydrate các pentose, chủ yếu là xylose khi lên men (xylose là sản phẩm phân hủy của hemicellulose và là sản phẩm chuyển hóa của glucose qua nhiều bước) [15]. Nhiệt độ sôi của furfurool là 161,7 °C, là chất gây ung thư. Sự hiện diện của furfurool trong rượu chưng cất có thể do dịch lên men có hàm lượng furfurool cao, quá trình chưng cất diễn ra dài, nhiệt độ chưng cất cao... [16].

Kết quả phân tích hàm lượng các chất trong rượu thành phẩm của sản phẩm người dân (ĐC), mẫu rượu CT được tiến hành với tỷ lệ bổ sung 0,2 g nấm men NML02 và 0,2 g nấm men NML04 được thể hiện ở Bảng 5.

Qua kết quả được trình bày ở Bảng 5, nhận thấy tất cả các sản phẩm rượu đều không phát hiện sự có mặt của methanol, điều này phù hợp với TCVN về rượu trắng chưng cất. Theo TCVN 7043:2013 quy định hàm lượng methanol có trong 1 lít etanol 100° không lớn hơn 2000 mg [17].

Bảng 5. Kết quả phân tích các chỉ tiêu rượu thành phẩm

Tên mẫu	Methanol (%V/V Etanol 100°)	Aldehyde (mg/L Etanol 100°)	Furfurool (mg/L Etanol 100°)
ĐC	Không phát hiện	138,65 ^b	2,09 ^b
CT	Không phát hiện	86,25 ^a	0,86 ^a

Ghi chú: a, b: các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$

Tuy nhiên, lại có sự hiện diện của aldehyde và furfurool, theo TCVN thì hàm lượng aldehyde trong rượu trắng chung cất là tự công bố, nhưng theo rượu trắng pha chế thì hàm lượng aldehyde không được lớn hơn 5 mg/L etanol 100° tính theo acetaldehyde [17]. Trong các mẫu rượu được phân tích ở trên thì hàm lượng aldehyde và furfurool trong mẫu được làm theo CT là thấp hơn nhiều so với mẫu đối chứng của người dân. Điều này có thể khẳng định, khi bổ sung kết hợp hai chủng nấm men thuần chủng NML02 và NML04 vào giai đoạn lên men lỏng sẽ góp phần nâng cao chất lượng rượu thành phẩm, từ đó có thể nghiên cứu phát triển sản phẩm và bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng.

3.4 Kết quả đánh giá cảm quan

Để đánh giá chất lượng sản phẩm, chúng tôi tiến hành thực hiện đánh giá cảm quan giữa sản phẩm thí nghiệm với sản phẩm của người dân bằng phương pháp cho điểm thị hiếu [18], để so sánh về các chỉ tiêu và đánh giá xem người dùng ưa thích sản phẩm nào hơn. Kết quả đánh giá được trình bày ở Bảng 6.

Từ kết quả ở Bảng 6 ta thấy rượu thành phẩm được làm theo nghiên cứu có điểm đánh giá cảm quan cao hơn nhiều so với sản phẩm đối chứng của người dân trên tất cả các chỉ tiêu về màu sắc và độ trong, mùi, vị và có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 6. Kết quả đánh giá cảm quan

Mẫu	Màu sắc và độ trong	Mùi	Vị
ĐC	7,5 ^b	8,1 ^b	7,8 ^b
CT	9,2 ^a	9,3 ^a	8,6 ^a

Ghi chú: a, b: các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$

4 Kết luận

Khi tiến hành bổ sung chủng nấm men NML04 vào giai đoạn lên men lỏng, với tỷ lệ 0,2 g/1kg gạo cho kết quả rượu thành phẩm có độ rượu (46,8°) cao hơn các tỷ lệ bổ sung còn lại, các chỉ tiêu cảm quan màu sắc, độ trong và mùi vị cũng được đánh giá tốt hơn. Với tỷ lệ bổ sung kết hợp hai chủng NML04, NML02, gạo (0,2g:0,2g:1kg) cho kết quả cảm quan tốt hơn các tỷ lệ còn lại. Tuy nhiên, khi bổ sung kết hợp hai chủng nấm men thì độ rượu thay đổi không đáng kể so với bổ sung 1 chủng, tương ứng 46,8° và 46,4°. Tất cả các sản phẩm rượu đều không phát hiện sự có mặt của methanol nhưng lại có sự hiện diện của aldehyde và furfurool. Tuy nhiên, hàm lượng aldehyde và furfurool trong sản phẩm rượu thí nghiệm thấp hơn nhiều so với mẫu đối chứng của người dân. Có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê ở tất cả các chỉ tiêu màu sắc, độ trong, mùi, vị giữa sản phẩm của người dân và sản phẩm thí nghiệm. Điều này có thể khẳng

định, khi bổ sung kết hợp hai chủng nấm men thuần chủng NML02 và NML04 vào giai đoạn lên men lỏng sẽ góp phần nâng cao chất lượng rượu thành phẩm, từ đó có thể nghiên cứu phát triển sản phẩm và bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng.

Thông tin về tài trợ

Những nội dung nghiên cứu trong bài báo này được hỗ trợ bởi đề tài cấp Bộ mã số B2019-DHH-06.

Tài liệu tham khảo

1. Das A. J., Deka S. C; Miyaji T. (2012), Methodology of rice beer preparation and various plant materials used in starter culture preparation by some tribal communities of North-East India: A survey, *International Food Research Journal*, 101–107.
2. Vu Nguyen Thanh, Le Thuy Mai và Duong Anh Tuan (2008), Microbial diversity of traditional Vietnamese alcohol fermentation starters (banh men) as determined by PCR-mediated DGGE, *International Journal of Food Microbiology*, 128(2), 268–273.
3. Nguyễn Đình Thành (2010), *Cơ sở hóa học hữu cơ*, Nxb. Đại học Quốc gia Hà Nội.
4. Nguyễn Minh Chon, Phan Thị Bích Trâm và Nguyễn Thị Thu Thủy (2005), *Giáo trình thực tập hóa sinh*, Trường Đại học Cần Thơ.
5. Nguyễn Văn Mùi (2001), *Thực hành hóa sinh*, Nxb. Đại học quốc gia Hà Nội.
6. Bộ Khoa học và Công nghệ, TCVN 4589:1988, *Đồ hộp - Phương pháp xác định hàm lượng acid tổng số và acid bay hơi*.
7. Bộ Khoa học và Công nghệ, TCVN 8009:2009, *Rượu chung cất - Xác định hàm lượng andehyt*.
8. Bộ Khoa học và Công nghệ, TCVN 8010:2009, *Rượu chung cất - Xác định hàm lượng methanol*.
9. Bộ Khoa học và Công nghệ, TCVN 7886:2009, *Rượu chung cất - Xác định hàm lượng FurFural*.
10. Bộ Khoa học và Công nghệ, TCVN 3217-79, *Rượu - Phân tích cảm quan - Phương pháp cho điểm*.
11. Đỗ Tiến Thành (2011), *Nghiên cứu cải tiến quy trình sản xuất rượu đặc sản từ nguyên liệu gạo, Luận văn thạc sĩ khoa học công nghệ thực phẩm*, Trường Đại học Bách Khoa Hà Nội.
12. Lê Ngọc Tú, Lê Doãn Diên, Phạm Quốc Thăng và La Văn Chứ (1977), *Hóa sinh học công nghiệp*, Nxb. Đại học và THCN, Hà Nội.
13. Ngô Thị Phương Dung (2009), Sản xuất và ứng dụng men thuần trong lên men rượu nếp than, *Tạp chí khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, 11, 392–403.

14. Phan Thị Xuân (2010), *Ngộ độc ethanol và ngộ độc methanol*, Bộ môn Hồi sức cấp cứu chống độc, Bệnh viện Chợ Rẫy.
15. Nguyễn Minh Thảo (2004), *Hóa học các hợp chất dị vòng*, Nxb. Giáo Dục.
16. Zeitsch, K.J. (2000), *The Chemistry and Technology of Furfural and its Many By-Products*, Elsevier Science B.V. 13.
17. Bộ Khoa học và Công nghệ, TCVN 7043:2013, Rượu trắng.
18. Hà Duyên Tư (2006), *Kỹ thuật phân tích cảm quan thực phẩm*, Nxb. Khoa học & Kỹ thuật.