

ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM
TS. NGUYỄN VĂN HUẾ

KỸ THUẬT SẢN XUẤT RƯỢU MEN LÁ

(Sách tham khảo)

NHÀ XUẤT BẢN ĐẠI HỌC HUẾ
Huế, 2024

Biên mục trên xuất bản phẩm của Thư viện Quốc gia Việt Nam

Nguyễn Văn Huế

Kỹ thuật sản xuất rượu men lá: Sách tham khảo/Nguyễn Văn Huế. - Huế : Đại học Huế, 2024. - 116 tr. : hình vẽ, ảnh ; 27 cm
ĐTTS ghi: Trường Đại học Huế. - Trường Đại học Nông Lâm.
- Thư mục: tr. 111-116

ISBN 978-604-489-151-4

1. Rượu men lá 2. Kỹ thuật sản xuất 3. Sách tham khảo
663.55 - dc23

DUK0221p-CIP

Mã số sách: TK/177-2024

LỜI NÓI ĐẦU

Uống rượu gắn liền với nét văn hóa ẩm thực của không chỉ người dân Việt Nam. Nếu như xứ Scotland tự hào về dòng Wishky, người Pháp có rượu Cognac, Nga có rượu Vodka, Trung Quốc có rượu Mao Đài, Nhật Bản có rượu Sake, Hàn Quốc có rượu Sochou thì Việt Nam chúng ta cũng rất tự hào về loại rượu nấu theo cách cổ truyền như: rượu Nếp, rượu Cần, rượu Ngô...

Ở Việt Nam, nghề nấu rượu đã có từ lâu đời trong nhân dân. Ở miền núi, đồng bào dân tộc dùng gạo, ngô, khoai, nấu chín rồi lên men. Men giống được nuôi với một số lá rừng được gọi là men lá. Sau quá trình lên men và tiến hành cất rượu thì thu được sản phẩm là rượu trắng và nếu không qua chưng cất sản phẩm được gọi là rượu Cần, một sản phẩm nổi tiếng ở vùng núi. Nghề nấu rượu ở nước ta từ trước đến nay vẫn dùng men giống ở dạng bánh men hoặc men lá. Trong các men này là một tập hợp vi sinh vật có khả năng đường hóa tinh bột và lên men đường thành rượu. Mãi đến cuối thế kỷ XIX, các nhà sinh vật học Pháp Calmette, Boidin đã phân lập được một loài nấm mốc trong bánh men thuốc bắc, đặt tên là *Murcor rouxii*. Loài nấm mốc này phát triển tốt trên môi trường có glucid, nhất là gạo, tích lũy phức hệ enzyme tương đối hoàn chỉnh, nên không những có khả năng phân giải tinh bột đạt hiệu suất cao mà còn có khả năng lên men đường thành rượu.

Rượu được sản xuất ra theo nhiều phương pháp khác nhau, trong đó phương pháp lên men rượu truyền thống bằng

bánh men hiện nay vẫn được dân gian sử dụng nhiều, tuy nhiên hiệu suất lên men cũng như chất lượng rượu ở nhiều vùng, nhiều địa phương còn chưa ổn định. Một trong những nguyên nhân quan trọng gây nên sự không ổn định đó chính là chủng vi sinh vật lên men trong sản xuất rượu. Vì vậy, cần thiết phải tuyển chọn những chủng vi sinh vật có hoạt lực đường hóa cao, hoạt lực lên men mạnh, đồng thời bổ sung các loại lá với hàm lượng thích hợp để nâng cao hiệu suất lên men và chất lượng rượu thu được. Bên cạnh đó, việc kiểm soát các yếu tố công nghệ trong quá trình sản xuất rượu là cần thiết để sản phẩm có chất lượng ổn định và an toàn. Từ đó, có cơ sở tạo ra loại rượu truyền thống mang đậm hương vị Việt Nam và sánh tầm với các loại rượu truyền thống của các nước trên thế giới.

Cuốn sách tham khảo *Kỹ thuật sản xuất rượu men lá* được tổng hợp, phát triển từ các nghiên cứu của cán bộ giảng viên, cựu học viên và sinh viên Khoa Cơ khí và Công nghệ, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế thực hiện trong nhiều năm theo đề tài khoa học và công nghệ cấp Bộ, mã số B2019-ĐHH-06 “Nghiên cứu kỹ thuật sản xuất rượu men lá tại Bình Trị Thiên”. Nội dung cuốn sách chuyển tải các kết quả nghiên cứu chính về các kỹ thuật chế biến một số loại rượu truyền thống cũng như đánh giá thực trạng sản xuất tiêu thụ tại khu vực Bình Trị Thiên. Các kỹ thuật có thể áp dụng cho các doanh nghiệp nhỏ, hợp tác xã, cơ sở sản xuất, chế biến rượu truyền thống, nhằm nâng cao và ổn định chất lượng, góp phần nâng cao giá trị sản phẩm truyền thống của Việt Nam.

Cuốn sách được bố cục thành 5 chương:

Chương 1: Tổng quan về bánh men

Chương 2: Tổng quan về rượu

Chương 3: Tình hình sản xuất, tiêu thụ rượu truyền thống tại một số huyện miền núi khu vực Bình Trị Thiên

Chương 4: Sản xuất bánh men có bổ sung nấm mốc và nấm men phân lập từ bánh men lá truyền thống

Chương 5: Sản xuất rượu với bánh men có bổ sung nấm mốc và nấm mốc và nấm men phân lập từ bánh men lá truyền thống

Hy vọng rằng, cuốn sách sẽ là tài liệu tham khảo hữu ích đối với những người quan tâm, các nhà nghiên cứu, quản lý, các doanh nghiệp, cơ sở sản xuất chế biến rượu truyền thống, tổ nhóm, hợp tác xã và học viên, sinh viên... Nội dung cuốn sách tham khảo đặc biệt phù hợp để áp dụng chế biến các sản phẩm rượu địa phương, nâng cao và ổn định chất lượng ở quy mô vừa và nhỏ.

Mặc dù đã nỗ lực cố gắng trong quá trình biên soạn, nhưng chắc chắn không tránh khỏi những thiếu sót. Chúng tôi kính mong quý đồng nghiệp và độc giả góp ý để lần tái bản sau được hoàn thiện hơn.

Các tác giả

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

%v/v	: Phần trăm thể tích
<i>A. awamori</i>	: <i>Aspergillus awamori</i>
<i>A. flavus</i>	: <i>Aspergillus flavus</i>
<i>A. niger</i>	: <i>Aspergillus niger</i>
<i>A. usami</i>	: <i>Aspergillus flavus</i>
ADP	: Adenosine diphosphat
ANOVA	: Analysis of Variance
AOAC	: Association of Official Analytical Chemists (Hiệp hội Các nhà hóa phân tích chính thống)
APC	: Mức tiêu thụ rượu trên đầu người
ATP	: Adenosine Triphosphate
CoA	: Coenzyme A
CT	: Công thức
CTAB	: Cetyl trimethylammonium bromide
DNA	: Deoxyribonucleic acid - Phân tử mang thông tin di truyền
ĐC	: Đối chứng
EDTA	: Ethylene diamine tetra - acetic acid
EMP	: Embden - Meyerhof - Parnas
EtBr	: Ethidium bromide

ITS	: Internal transcribed spacer
<i>M. circinilloides</i>	: <i>Mucor circinilloides</i>
MEGA	: Molecular Evolutionary Genetics Analysis
MT1	: Môi trường 1
MT2	: Môi trường 2
MT3	: Môi trường 3
PCI	: Phenol chloroform isoamine
PCR	: Phản ứng chuỗi polymerase (polymerase chain reaction)
PDA	: Potato D-glucose agar
PTN	: Phòng thí nghiệm
RNA	: Ribonucleic acid
Rnase	: Ribonuclease
<i>S. cerevisive</i>	: <i>Saccharomyces cerevisive</i>
SDS	: Sodium dodecyl sulfate
TCN	: Trước công nguyên
TCVN	: Tiêu chuẩn Việt Nam
TEA 1X	: Tris - acetat EDTA 1X
VSV	: Vi sinh vật
WHO	: World Health Organization - Tổ chức Y tế thế giới

MỤC LỤC

	Trang
Chương 1. Tổng quan về bánh men	13
1.1. Khái quát về bánh men lá	13
1.2. Khái quát về bánh men thuốc bắc	18
1.3. Tổng quan về nấm men	20
1.3.1. Hình thái, kích thước của nấm men	20
1.3.2. Cấu tạo tế bào nấm men	21
1.3.3. Hình thức sinh sản	21
1.3.4. Thành phần hóa học của tế bào nấm men	23
1.3.5. Dinh dưỡng nấm men	26
1.3.6. Phân loại nấm men	28
1.3.8. Ứng dụng của nấm men	30
Chương 2. Tổng quan về rượu	33
2.1. Giới thiệu về rượu	33
2.2. Công dụng của rượu	37
2.3. Một số sản phẩm rượu	39
2.3.1. Rượu Sake	39
2.3.2. Rượu Sochu	40
2.3.3. Rượu Whisky	40

2.3.4. Rượu Nếp than	40
2.3.5. Rượu Cần	40
2.3.6. Rượu Ngô	41
2.4. Cơ sở lý thuyết quá trình lên men rượu	41
2.4.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ	42
2.4.2. Ảnh hưởng của pH môi trường	43
2.4.3. Ảnh hưởng của nồng độ dịch đường	44
2.4.4. Ảnh hưởng của oxy hòa tan - độ hiếu khí	44
2.4.5. Ảnh hưởng của các nguồn nitơ tới quá trình lên men	45
2.5. Tình hình tiêu thụ rượu trên thế giới và trong nước	46
2.5.1. Tình hình tiêu thụ rượu trên thế giới	46
2.5.2. Tình hình tiêu thụ rượu trong nước	48
Chương 3. Tình hình sản xuất, tiêu thụ rượu truyền thống tại ba huyện miền núi khu vực Bình Trị Thiên	49
3.1. Tình hình sản xuất rượu truyền thống tại ba huyện miền núi khu vực Bình Trị Thiên	49
3.1.1. Tình hình sản xuất rượu đoác	50
3.1.2. Tình hình sản xuất rượu gạo	53
3.1.3. Tình hình sản xuất rượu men lá	56

3.2. Tình hình kinh doanh rượu truyền thống tại ba huyện miền núi khu vực Bình Trị Thiên	60
Chương 4. Sản xuất bánh men có bổ sung nấm mốc và nấm men phân lập từ bánh men lá truyền thống	63
4.1. Phương pháp thực hiện	63
4.2. Sự thay đổi của hoạt lực lên men của nấm mốc, nấm men đến đường tổng và đường khử trong thời gian lên men	65
4.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung chủng nấm mốc, nấm men đến hàm lượng đường tổng, đường khử trong quá trình ủ	67
4.4. Ảnh hưởng của bánh men đến khả năng sản xuất rượu	71
4.5. Ảnh hưởng của các loại bánh men đến hàm lượng acid tổng số	71
4.6. Ảnh hưởng của các loại bánh men đến hàm lượng rượu	73
4.7. Sự biến đổi của giá trị pH sau thời gian lên men	74
4.8. Kết quả đánh giá cảm quan	75
Chương 5. Sản xuất rượu với bánh men có bổ sung nấm mốc và nấm men phân lập từ bánh men lá truyền thống	78
5.1. Khả năng sản xuất rượu ở quy mô nhỏ	78

5.1.1. Hàm lượng đường trong thời gian lên men rắn	78
5.1.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ bánh men/nguyên liệu đến khả năng sản xuất rượu	81
5.1.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men	87
5.1.4. Ảnh hưởng của thời gian đến quá trình lên men	94
5.1.5. Quy trình chế biến rượu men lá quy mô phòng thí nghiệm	104
5.2. Khảo sát khả năng sản xuất rượu quy mô pilot	109
5.3. Sản xuất thử nghiệm quy mô 30 lít sản phẩm/mẻ	110
Tài liệu tham khảo	112

Chương 1

TỔNG QUAN VỀ BÁNH MEN

Trong sản xuất rượu đặc sản dân tộc, bánh men cổ truyền đã được nhân dân ta sử dụng từ rất lâu ở các tỉnh đồng bằng để sản xuất “rượu ngang” (bằng bánh men thuốc bắc), ở các tỉnh miền núi để sản xuất rượu cần (bằng bánh men lá) từ nguyên liệu ngô, gạo, sắn. Men thuốc bắc được làm từ các vị thuốc bắc, còn men lá làm từ các cây thuốc nam.

1.1. Khái quát về bánh men lá



Hình 1.1. Bánh men lá của vùng Ba Nang, tỉnh Quảng Trị

Bánh men lá được làm từ thành phần chính là lá rừng (trung bình sử dụng 10 - 12 loài cây trong men lá gồm: Riêng nếp, Kinh giới núi, Sài đất giả, Cà, Thiên niên kiện, Hoa sói,

Nhân trần, Tu hú lá to, Lưỡi đấng bầu, Trầu không rừng, Dây dất, Bạch tu lá quế, Găng, Xuyên tiêu, Dây mật...) là những thành phần chính và cốt lõi để hình thành nên quả men. Các loại lá rừng khác nhau sẽ mang đến hệ vi sinh vật trong bánh men khác nhau và đưa đến mùi vị của sản phẩm rượu khác nhau. Chính vì thế, dù được gọi chung là “Rượu men lá” nhưng rượu được sản xuất ở các vùng miền khác nhau lại mang nét đặc trưng rất riêng của chúng.

Vi sinh vật trong bánh men là cộng đồng phong phú của hệ vi sinh thực hiện chức năng chuyển hóa đường, lên men rượu và các vi sinh vật khác (Lương Đức Phẩm, 2009; Thanh và cs., 2008; Park và cs., 2016), bao gồm:

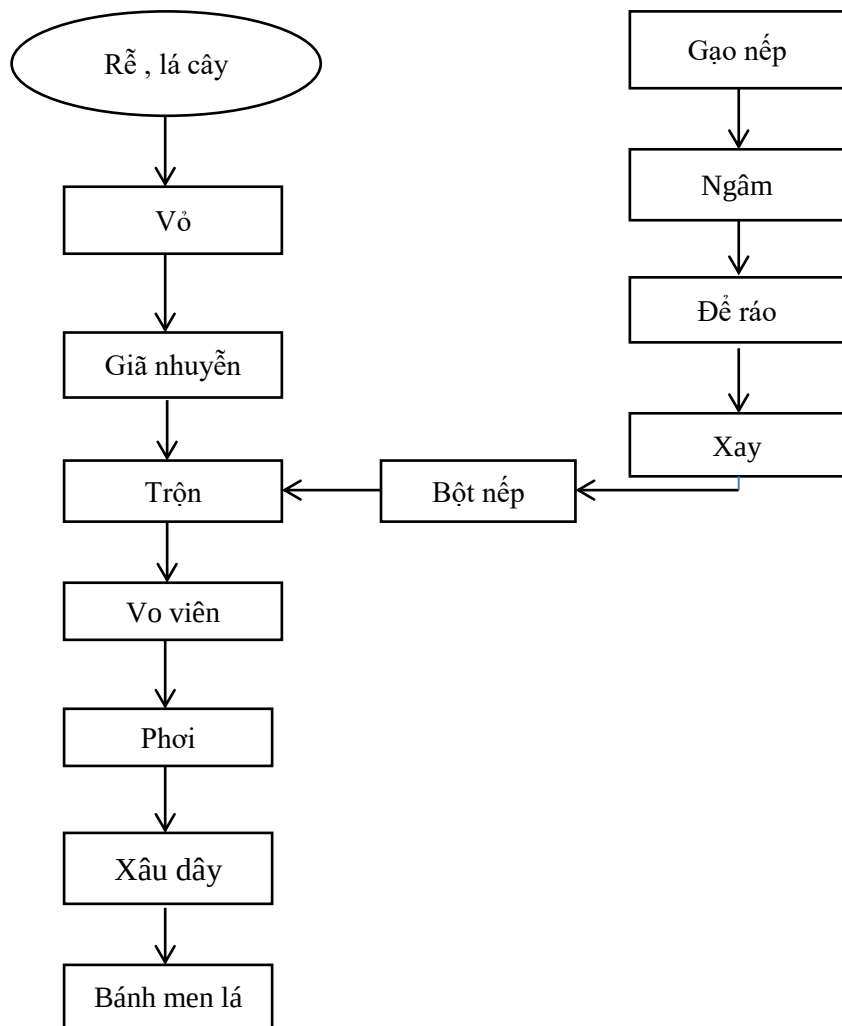
Nấm mốc gồm có *A. oryzae*, *A. flavus*, *A. awamorii*, *A. usami*, *A. niger* (giống *Aspergillus* chiếm phần lớn), *Mucor* (*M. circinilloides*), *Rhizopus*, *Penicillium* và *Amylomyces rouxii*... Nấm mốc đóng vai trò sinh amylase đường hóa tinh bột. Khi đường hóa hệ enzyme trong nấm mốc thường ít α -amylase và nhiều β -amylase, vì vậy đường tạo thành chủ yếu là maltose và các dextrin cuối (cũng có thể lên men được). Một số chủng *Mucor* có khả năng sinh tổng hợp hai hệ enzyme diastase đường hóa tinh bột và lên men rượu từ đường. Vì vậy, có thể lên men trực tiếp từ tinh bột thành rượu. *Mucor rouxii* sinh ra nhiều rượu hơn một số loài khác và được dùng nhiều trong men rượu. Hơn nữa, khi có mặt *Mucor* và *Rhizopus* thì lên men rượu có mùi thơm rất dễ chịu.

Nấm men chủ yếu là *Saccharomyces cerevisiae*. Ngoài ra, còn thấy có *Hyphopichia burtonii*, *Pichia anomada*, *Candida*... những men này coi như là men dại, men tạp có lẫn trong bánh men và không mong muốn. Nấm men rượu thực hiện chức năng chuyển hóa đường thành rượu.

Trong bánh men lá ta còn thấy có loài men giả là *Endomycopsis fibuliger*. Giống *Endomycopsis* tương tự như nấm men nhưng có thể mọc sợi, có khả năng sinh nhiều glucoamylase và thủy phân tinh bột thành đường glucose. Đặc biệt trong hệ enzyme do giống này sinh ra ưu việt hơn nấm mốc là có ít transglucosidase. Có mặt enzyme này một phần glucose chuyển thành acid gluconic. Hơn nữa, enzyme lấy từ chế phẩm nuôi *Endomycopsis* không có mùi mốc làm cho hương vị của rượu thành phẩm thơm ngon. Vì vậy, trong nghề làm rượu người ta rất mong muốn có giống này để cùng *Aspergillus*, *Mucor* và *Rhizopus* đường hóa tinh bột (Lương Đức Phẩm, 2009).

Vi khuẩn: thường thấy có mặt vi khuẩn lactic, vi khuẩn acetic... Nói chung, vi khuẩn có mặt ở đây đều là vi khuẩn tạp nhiễm, không mong muốn trong quá trình sản xuất rượu.

* Quy trình sản xuất bánh men lá:



Sơ đồ 1.1. Quy trình sản xuất bánh men lá ở Ba Nang, tỉnh Quảng Trị

*Thuyết minh quy trình

Nguyên liệu để sản xuất bánh men lá bao gồm những loại lá cây như: Riềng nếp, Kinh giới núi, Sài đất già, Cà, Thiên niên kiện, Hoa sói, Nhân trần, Tu hú lá to, Lưỡi đẵng bầu, Trầu không rừng, Dây dất, Bạch tu lá quế, Găng, Xuyên tiêu, Dây mật, Tán tiêu, Mạt cò, Piêng prase... và rễ cây như: A moi, A son, Pum loác... Bằng kinh nghiệm đúc rút qua nhiều thế hệ người dân đã đưa ra được cách lấy số lượng của các loài cây một cách phù hợp nhất để có thể làm được men lá có chất lượng tốt nhất. Theo những người có kinh nghiệm lâu năm trong việc sử dụng men lá cho biết thì tất cả các loài cây khác đều được lấy theo tỷ lệ 1:1 (tính theo khối lượng).

Các loại lá, quả, thân, vỏ của cây rừng dùng làm men lá sau khi đào hái mang về rửa thật sạch hong khô, sau đó phân loại thành từng nhóm khác nhau tùy theo bộ phận sử dụng. Sau đó, đem phơi khô dưới ánh sáng mặt trời. Sau khi đã khô một phần, người dân chọn ngày để đem băm nhỏ rồi giã nhuyễn, sau khi băm nhỏ các thành phần này sẽ được trộn đều với nhau và đem trộn với nếp đỏ cũng được giã thành bột (nếp đỏ là loại nếp được đồng bào dân tộc Pa Cô trồng trên rẫy từ tháng 5 đến tháng 11) theo tỷ lệ 1 kg lá, thân, rễ, quả tươi cây rừng trộn với 60 lon nếp đỏ. Khi đã trộn đều hỗn hợp lá, quả, thân, vỏ của cây rừng cùng bột nếp đỏ thì bắt đầu đến công đoạn vo tròn thành từng viên rồi rải lên bạt cho khô. Ba ngày sau, những viên men lá khô cứng lại thì dùng sợi lạt để khâu men lá thành từng chùm rồi treo lên giàn bếp 5 ngày mới dùng được. Men lá được xem

là đạt chất lượng khi dùng tay bẻ một miếng nhỏ cho vào bếp than hồng thì men sẽ bốc cháy và có ngọn lửa màu xanh lam. Nếu bảo quản tốt ở nơi khô ráo, men lá qua năm sau vẫn sử dụng được để chưng cất rượu.

Hiện nay, nghề sản xuất men lá đang gặp nhiều khó khăn do: Môi trường sống của các loài thực vật giảm mạnh, người dân phải đi sâu vào rừng, ở những nơi nguy hiểm mới có nguyên liệu; quy trình sản xuất rượu còn mang tính thủ công, trình độ công nghệ còn kém và thiết bị sản xuất thô sơ nên còn rất nhiều độc tố, tạp chất có tác động xấu tới hệ tiêu hóa, hệ thần kinh, ảnh hưởng xấu tới sức khỏe của người tiêu dùng; sản xuất rượu mang tính nhỏ lẻ, quy mô hộ gia đình, chưa đáp ứng nhu cầu thị trường. Như vậy, những quan tâm liên quan đến việc trồng và phát triển nhiều hơn nữa các loài cây làm men rượu, đặc biệt là những loài cây quan trọng trong quả men như: Riêng nếp, Kinh giới núi, Sài đất giả, Cà, Thiên niên kiện, Hoa sói, Nhân trần, Tu hú lá to, Trầu không rừng, Bạch tu lá quế, Găng, Xuyên tiêu, Dây mật... có thể giúp giảm sự phụ thuộc vào tài nguyên rừng, đồng thời tăng cường công tác bảo vệ tài nguyên rừng tại khu vực. Mặt khác, phát triển công nghệ sản xuất men và sử dụng men thuần chủng phân lập được từ bánh men lá sẽ giúp chủ động trong các quy trình kỹ thuật sản xuất rượu gạo nói chung và rượu men lá nói riêng.

1.2. Khái quát về bánh men thuốc bắc

Bản chất của bánh men thuốc bắc là nuôi cấy và bảo quản vi sinh vật trên môi trường tinh bột. Sau quá trình tạo

bánh, ủ và sấy đến độ ẩm khoảng 10-12% và bảo quản, các vi sinh vật chuyển từ trạng thái hoạt động sang trạng thái nghỉ ngơi. Chúng sẽ hoạt động nhanh chóng trở lại trong môi trường thích hợp (độ ẩm, chất dinh dưỡng, nhiệt độ), sinh sản, phát triển, đồng thời sinh tổng hợp hệ phức enzyme đường hóa và rượu hóa. Các vi thuốc bắc trong bánh men có vai trò quan trọng trong việc kháng khuẩn, tạo hương vị đặc trưng cho sản phẩm và là thành phần không thể thiếu được của bánh men thuốc bắc.

Trong bánh men có nhiều loại vi sinh vật khác nhau bao gồm cả nấm men, nấm mốc và vi khuẩn. Hệ vi sinh vật trong bánh men có nhiệm vụ đường hóa tinh bột và lên men đường thành rượu.

Nấm men trong bánh men thuốc bắc chủ yếu gồm 2 chi là *Endomycopsis* (chủ yếu là *Endomycopsis fibuligenes*) và *Saccharomyces* (chủ yếu là *S. cerevisiae*). *E. fibuligenes* là loại nấm men giàu amylase, glucoamylase, do đó chúng vừa có khả năng đường hóa, vừa có khả năng rượu hóa. *Saccharomyces cerevisiae* có khả năng lên men nhiều loại đường khác nhau như glucose, saccharose, maltose, fructose, galactose. Chúng có khả năng lên men ở nhiệt độ cao (36 - 40°C), có khả năng chịu được độ acid, có khả năng lên men được nhiều loại nguyên liệu khác nhau như gạo, ngô, khoai, sắn với lượng đường trong dịch từ 12 - 14% (có khi 16 - 18%). Nhiệt độ lên men thích hợp là 28 - 32°C. Trong bánh men còn thấy các loại nấm men dại, vừa có khả năng thủy phân

tinh bột, vừa có khả năng chuyển đường thành rượu tuy sự chuyển hóa này thấp. Đặc biệt là các nấm men đại này chịu được nhiệt độ rất cao (Nguyễn Thị Hiền và cs., 2006).

Các loại nấm mốc thường có trong bánh men thuộc bậc là *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, đó là các loại nấm mốc phổ biến trong không khí ở nước ta, khi thì gặp nấm mốc này, khi thì gặp loại khác, không có việc tập trung một loại tại một chỗ. Các loài nấm mốc này cùng với các loài giả nấm men *Endomycopsis* phát triển trong môi trường bột gạo và độ ẩm thích hợp của bánh men tạo ra rất nhiều enzyme amylase và glucoamylase. Các enzyme này hoạt động rất thuận lợi trong giai đoạn đầu và kéo dài trong suốt giai đoạn tiếp theo. Bản chất các enzyme này là các enzyme phản ứng, do đó nguyên liệu chứa tinh bột sẽ kích thích mạnh mẽ quá trình sinh tổng hợp. Các chủng nấm mốc và nấm men có khả năng sinh glucoamylase, khi gặp điều kiện thuận lợi trên môi trường cơ chất là tinh bột sẽ phát triển, sinh enzyme thủy phân tinh bột thành đường glucose, còn các chủng nấm men rượu sẽ tiến hành nhiệm vụ sử dụng đường lên men rượu. Cả hai quá trình này xảy ra kế tiếp nhau, chằng chéo lên nhau và ta có thể coi như đồng thời (Nguyễn Thị Hiền và cs., 2006).

1.3. Tổng quan về nấm men

1.3.1. Hình thái, kích thước của nấm men

Nấm men là nấm đơn bào, có nhân thật, thường có hình bầu dục. Tuy nhiên, tùy loại mà tế bào nấm men có thể có

hình cầu, hình trứng, hình elip,... Kích thước tế bào nấm men lớn gấp 10 lần vi khuẩn, đường kính từ 1 - 5 μ m. Loài nấm men có khuẩn ty hoặc khuẩn ty giả. Trong môi trường lỏng rất nhiều nấm men có khả năng sinh ra một lớp màng bao bọc như *Saccharomycoides*. Còn trong môi trường đặc, tế bào nấm men có nhiều dạng khác nhau, nấm men có màu trắng đục, vàng hoặc hồng nhạt, bề mặt tế bào thường khô và căng. Tế bào nấm men trong tự nhiên có thể đứng riêng lẻ hoặc sau khi nảy chồi vẫn dính với nhau tạo thành chuỗi (Nguyễn Hiền Trang, 2017).

1.3.2. Cấu tạo tế bào nấm men

Màng tế bào nấm men có chiều dày 1500 - 2800 Å. Có cấu tạo hai lớp, màng của tế bào nấm men có chứa 6 - 7% protein. Ngoài protein, màng tế bào nấm men còn có chứa lipid, đường khử, nito, các amino acid và các chất khoáng... Thành phần hóa học của màng tế bào nấm men khác nhau là khác nhau.

- Hình dạng và kích thước:

+ Ty thể có dạng hình cầu, hình que hay hình sợi nằm trong khối nguyên sinh chất.

+ Kích thước dao động 0,2 - 0,5 $\times$ 0,4 - 1 μ m, nó luôn di động và tiếp xúc với các thành phần khác của tế bào.

+ Hình dạng thay đổi theo điều kiện nuôi cấy và trạng thái sinh lý của tế bào nấm men (Nguyễn Hiền Trang, 2017).

1.3.3. Hình thức sinh sản

Nấm men sinh sản dưới hai hình thức:

- Vô tính.
- Hữu tính.

1.3.3.1. Sinh sản vô tính

Bao gồm hai hình thức: nảy chồi và phân chia.

a. Sinh sản bằng hình thức nảy chồi

Bình thường đến một giai đoạn nào đó, tế bào phân chia và tạo thành những tế bào con, lúc đầu những tế bào này nhỏ hơn những tế bào mẹ, sau đó lớn dần lên hoặc tách khỏi tế bào mẹ hoặc không tách khỏi mà tạo thành những chồi nhỏ liên kết với nhau ngay cả khi trưởng thành tạo thành chuỗi tế bào gọi là khuẩn ty giả. Đây là phương pháp sinh sản vô tính chủ yếu ở nấm men.

b. Sinh sản bằng hình thức phân chia

Một số loài phân chia tế bào thành hai tế bào con giống nhau, lúc đầu chất nhân chia làm hai phần, sau đó ở phần giữa tế bào xuất hiện thành tế bào, thành này lớn dần lên và màng nguyên sinh chất lọt vào bên trong. Lúc này thành tế bào mới phát triển hoàn thiện và chia tế bào mẹ làm hai tế bào con, mỗi tế bào con chứa $1/2$ chất nhân, dần dần hai tế bào tách khỏi nhau và trở thành hai tế bào độc lập.

1.3.3.2. Sinh sản hữu tính bằng bào tử túi

Bào tử túi của nấm men là những bào tử được sinh ra trong những túi nhỏ, gọi là túi hay nang, mỗi túi chứa từ 4 - 8 bào tử túi. Bào tử túi có hình dạng và kích thước khác tùy từng

loài nấm men. Túi hay nang bào tử có thể được sinh ra theo ba phương thức.

a. Tiếp hợp đẳng giao

Do hai tế bào nấm men giống nhau có hình thái, kích thước giống nhau kết hợp với nhau mà tạo thành.

b. Tiếp hợp dị giao

Do hai tế bào nấm men khác nhau về hình thái, kích thước mà tiếp hợp với nhau tạo thành.

c. Sinh sản đơn tính

Tạo thành bào tử trực tiếp từ một tế bào riêng rẽ.

1.3.4. Thành phần hóa học của tế bào nấm men

Cũng như các cơ thể sống khác, thành phần cơ bản và chủ yếu của tế bào nấm men là nước và khoảng 75% khối lượng chung. Thành phần sinh khối của nấm men như sau (g/100 g ck):

Protein	42,83
Lipids tổng số	1,45
Tro	1,74
Độ ẩm	0,07
Tổng carbohydrates	53,91
Hoạt độ nước	0,161

Thành phần hóa học của tế bào nấm men nếu tính theo các nguyên tố cấu thành sẽ là: C (47), H (65), O (31), N (5 -10), P (1,6 - 3,5). Hàm lượng các nguyên tố không phải đa lượng: Ca (0,3 - 0,8), K (9,5 - 2,5), Mg (0,1 - 0,4), Na (0,06 - 0,2), S (0,2). Các nguyên tố vi lượng (mg/kg): Fe (90 - 350), Cu (20 - 135), Zn (100 - 160), Mo (15 - 65). Nước trong tế bào ở 2 dạng là nước liên kết (chủ yếu) và nước tự do. Trong phần nước liên kết thì nước ở thể keo của tế bào chất chiếm tới 46 - 53% và phần giữa của tế bào là 22 - 27%.

Chất khô của tế bào nấm men gồm có 23 - 28% chất hữu cơ và 5 - 7% chất tro.

Chất hữu cơ ở đây gồm có (%): protein (13 - 14), glucogen (6 - 8), cellulose (1,8 - 2), chất béo (0,5 - 2).

- Protein: nấm men có hàm lượng protein nguyên liệu trung bình khoảng 50% (tính theo chất khô) và khoảng 45% protein hoàn chỉnh.

- Glycogen: là những chất dự trữ nguồn cacbon (hydratcacbon của nấm men).

- Tregalose: hợp chất thường kết hợp với hàng loạt hạt glycogen làm nguồn dự trữ cacbon rất cơ động. Ở cùng một pH hàm lượng tregalose tăng thì nitơ giảm.

- Chất béo: chất béo trong tế bào nấm men có các oleic acid, linoleic acid, palmitic acid. Trong chất béo có tới 30 - 40% phosphatit.

- Tro: trong tro nấm men có thấy một số oxit sau đây (%): P_2O_5 khoảng 25 - 60; CaO: khoảng 1 - 8; MgO- 4 - 6; Na₂O- 0,5 - 6; SiO₂- 1 - 2; Fe₂O₃- 0,05 - 0,7.

- Phốt pho: trong tế bào nấm men thấy ortho-, pyro-, và metaphosphat ở dạng hữu cơ và vô cơ. Chúng là thành phần của nucleic acid, phospholipid acid và coenzyme của adenosinphosphat (AMP, ADP, ATP) và tiamin.

- Lưu huỳnh: là thành phần của nhiều hợp chất quan trọng như các acid amin (Methionine, cysteine, glutathione, cysteine), các vitamin (biotin, aneurin). Trong thành phần enzyme, lưu huỳnh ở dạng gốc sulfit và tiolovic.

- Sắt: chứa trong các xitocrom, xitocrom - oxydase, perdoxydase, catalase và nhiều enzyme của quá trình hô hấp hoặc các enzyme khác như zimogenase, pyrophosphatase.

- Magie: có tác dụng hoạt hóa nhiều phosphatase và enolase. Ion magie có ảnh hưởng gìn giữ hoạt tính enzyme khi đun nóng. Magie và mangan làm tăng nhanh nhu cầu về glucose của nấm men. Ảnh hưởng của magie mạnh hơn khi nồng độ glucose thấp hơn trong môi trường. Các môi trường dinh dưỡng thường có 0,02 - 0,05% magie ở dạng sulfat.

- Kali: vừa là chất dinh dưỡng, vừa là chất kích thích sinh trưởng của nấm men. Tác dụng kích thích được giả thích bằng vai trò của ion này trong quá trình phosphoryl - oxy hóa và quá trình đường phân (glycolysis). Nó còn kích thích quá trình vận chuyển phospho vô cơ vào trong tế bào.

- Canxi: đóng vai trò hoạt hóa trong tế bào vi sinh vật nói chung, cũng như tế bào nấm men. Canxi được tìm thấy trong tế bào của vi sinh vật ở dạng tự do, nhưng chủ yếu ở dạng liên kết với protein, hydratcacbon và lipid. Nâng cao

hàm lượng muối canxi trong môi trường sẽ làm ức chế sinh sản và làm giảm tích lũy glycogen, làm tăng hàm lượng sterin của nấm men. Đối với nấm men hàm lượng Ca_2^+ đạt tới 40 mg/L có tác dụng kích thích sinh trưởng, cao hơn - kìm hãm.

- Các nguyên tố vi lượng: các nguyên tố vi lượng có vai trò quan trọng đối với sinh sản và hoạt động của nấm men. Chúng tham gia vào thành phần của nhiều enzyme. Vitamin và nhiều hợp chất khác nữa trong quá trình sinh tổng hợp các sản phẩm của tế bào. Ví dụ: coban (Co) có tác dụng kích thích sinh trưởng nấm men, nâng cao hàm lượng các chất chứa nitơ (N) phi protein trong tế bào, trước hết là ADN và ARN, các acid amin tự do. Nó còn kích thích tổng hợp vitamin, như riboflavin (vitamin B2) và ascorbic acid (vitamin C).

- Vitamin và nhân tố sinh trưởng: để cho nấm men được phát triển bình thường và lên men được bình thường cần phải có các vitamin cofacto trong nhiều enzyme của tế bào nấm men. Nấm men có thể tổng hợp được tất cả các vitamin trong chừng mực nào đó (nhiều hoặc ít), ngoại trừ biotin (vitamin H). Vì vậy, trong môi trường dinh dưỡng nhất định phải có vitamin này trong môi trường (Lương Đức Phẩm, 2009).

1.3.5. Dinh dưỡng nấm men

1.3.5.1. Dinh dưỡng Cacbon

Các hợp chất hữu cơ khác nhau như các loại đường và dẫn xuất, các rượu, acid hữu cơ, acid amin... có thể là nguồn dinh dưỡng carbon của nấm men. Nấm men không sử dụng trực

tiếp được tinh bột cũng như cellulose và hemicellulose. Đường glucose thuộc loại đường 6 (hexose) được tất cả các loài nấm men sử dụng. Glucose được coi như nguồn carbon vạn năng đối với vi sinh vật. Nhiều loài nấm men, trong đó có giống *Saccharomyces* lên men rượu, không sử dụng được pentose (thuộc loại đường 5).

1.3.5.2. Dinh dưỡng nitơ

Nguồn nitơ cần thiết cho tổng hợp các cấu tử chứa nitơ của tế bào là các hợp chất hữu cơ hoặc vô cơ có sẵn trong môi trường.

Nấm men có khả năng tổng hợp được tất cả các acid amin... thành phần protein trực tiếp từ các hợp chất vô cơ trong khi sử dụng nguồn cacbon là các chất thải rắn sinh hoạt hữu cơ - sản phẩm trung gian của quá trình dị hóa hydratcacbon trong hô hấp và lên men. Đa số nấm men không đồng hóa được nitrat. Nguồn nitơ vô cơ được nấm men sử dụng tốt là các muối amoni của acid vô cơ cũng như hữu cơ. Đó là amoni sulfate, phosphate rồi đến các muối acetate, lactate, malate và succinate.

1.3.5.3. Dinh dưỡng các chất sinh trưởng

Những chất kích thích sinh trưởng là các vitamin, các bazơ purin và pyrimidin. Những nhân tố sinh trưởng cơ bản đối với nấm men có sắc tố là 6 vitamin nhóm B: inozit (vitamin B8), botin (vitamin B7 và H), pantothenic acid (B3), tiamin (B1), pyridoxine (B6), nicotinic acid (B5 hay PP). Đối với nấm men có sắc tố đỏ cần các chất sinh trưởng là tiamin, ngoài ra còn có paraaminobenzoic acid.

1.3.5.4. Dinh dưỡng các nguyên tố vô cơ

Các nguyên tố vô cơ trong nuôi cấy vi sinh vật nói chung, trong đó có nấm men, phospho được quan tâm trước hết, sau đó là kali và magie, lưu huỳnh...

1.3.6. Phân loại nấm men

Năm 1983, Barnett và cộng sự đã xác định có 483 loài nấm men thuộc 66 chi khác nhau.

Để phân loại nấm men, người ta phải tiến hành nghiên cứu các đặc điểm sau:

- Đặc điểm hình thái: tế bào, khuẩn lạc, kiểu nảy chồi, các dạng bào tử vô tính và hữu tính, khuẩn ty và khuẩn ty giả...

- Dựa trên các đặc điểm sinh lý, sinh hóa như:

+ Lên men 13 loại đường.

+ Đồng hóa 46 nguồn cacbon.

+ Tính chống chịu với 0,01% hoặc 0,1% cycloheximide.

+ Đồng hóa 6 nguồn nitơ: nitrate, nitrite, ethylamine hydrochloride, L-lyzine, cadaverine dihydrochloride, creatine.

+ Sinh trưởng khi thiếu hụt một số vitamin.

+ Sinh trưởng tại các nhiệt độ khác nhau: 25, 30, 35, 37, 42°C.

+ Tạo thành tinh bột.

+ Sản sinh acid từ glucose.

+ Thủy phân urê.

Để xác định loài mới còn cần phân tích thành phần acid béo của tế bào, thành phần đường trong tế bào, phân tích Coenzyme Q, tỷ lệ G + C, đặc tính huyết thanh miễn dịch, giải trình tự DNA và lai DNA... (Nguyễn Hiền Trang, 2017).

1.3.7. Vai trò của nấm men

Nấm men là nhóm vi sinh vật được con người sử dụng sớm nhất trong chế biến thực phẩm, hàng nghìn năm trước công nguyên con người đã biết sử dụng quá trình lên men để sản xuất rượu, làm nở bột mì. Ngày nay, rất nhiều nhà máy với quy mô lớn đã sử dụng vi sinh vật nói chung và nấm men nói riêng để sản xuất ra các sản phẩm quan trọng như glyxerin, bia, rượu nho, các sản phẩm rượu chưng cất như rum, swuytky (Douglas & Fred, 2008).

Nấm men sinh sản nhanh chóng, sinh khối của chúng lại giàu protein và chứa nhiều loại vitamin, vì vậy được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp sản xuất thức ăn bổ sung cho người và gia súc.

Nấm men còn được sử dụng làm nở bột mì, gây hương vị nước chấm, sản xuất một số dược phẩm.

Tuy nhiên, bên cạnh những nấm men có ích cũng có một số nấm men gây hại cho người và gia súc, làm hư hỏng lương thực, thực phẩm.

Nấm men cũng đã được sử dụng làm vật chủ trong công nghệ cấy chuyển gen để tạo ra những sản phẩm rất quý giá nhờ kỹ nghệ chuyển gen và tái tổ hợp (Umesha và cs., 2016). Có thể kể đến một số kết quả cụ thể sau:

Năm 1985, hãng Suntory (Mỹ) đã tạo được giống nấm men mới bằng công nghệ gen có thể giết chết các vi khuẩn xuất hiện trong bia. Kimura năm 1980 đã tạo ra được các chủng nấm men có khả năng sản xuất insulin và interferon. Năm 1981, các thành viên bộ môn Di truyền học, Đại học Washington đã sử dụng tế bào nấm men *Saccharomyces cerevisiae* đã được tái tổ hợp để sản xuất interferon đạt hiệu suất cao... (Naoko và cs., 2005).

1.3.8. Ứng dụng của nấm men

Hơn 6.000 năm trước đây, người Ai Cập đã biết làm tăng hương vị và độ nở của bột bánh mì bằng cách để bột mì đã nhào vài ngày trước khi đem nướng. Thậm chí trước đó nữa người Summarian đã khắc lên bia đá phương pháp lên men để làm cừn. Ngày nay, chúng ta đều biết cả hai việc này dựa trên hoạt động sống của nấm men *Saccharomyces cerevisiae* và một vài loài gần gũi. Một khoa học hiện đại bắt nguồn từ kiến thức cổ điển đó đã chiếm vị trí đặc biệt trong cuộc sống loài người.

Ngoài tác dụng làm nở bột mì, làm cừn, nấm men từ lâu đã được dùng để sản xuất các loại đồ uống rất đa dạng như bia, vang, sâm banh, nước ngọt có ga; dùng để sản xuất sinh khối, giàu đạm và vitamin, nhiều dược phẩm quý đắt tiền, các chất sinh học dùng trong phòng thí nghiệm sinh học và y học hiện đại. Các sản phẩm từ nấm men chiếm gần 70% tổng số các sản phẩm công nghệ sinh học toàn thế giới (Nguyễn Văn Niềm và cs., 2018).

Trong những năm tới, số lượng và chủng loại các sản phẩm từ nấm men còn tăng lên nhanh chóng do việc sử dụng kỹ thuật di truyền đưa những gen xác định từ động vật, thực vật vào nấm men và dùng nấm men như những “nhà máy tí hon” nhưng năng suất rất cao, để sản xuất hàng loạt chất mà trước đây chỉ tách chiết được với số lượng ít ỏi và rất khó khăn từ các bộ phận thực vật, động vật như các enzyme, hormone...

Ngoài ra, chúng ta còn thấy một ứng dụng rất quan trọng của nấm men đó là sử dụng trong chăn nuôi. Bởi vì, trong tế bào nấm men chứa đầy đủ các chất cần thiết cho sự sống với hàm lượng cao. So với khối lượng khô, protein chiếm 48 - 52%, hydratcacbon 13 - 16%, lipid 2- 3%, các chất trích ly và vitamin 23 - 40%.

Việc sản xuất nấm men gia súc được thực hiện đầu tiên ở Đức vào những năm 80 của thế kỷ XX và hiện nay đã trở thành một ngành công nghiệp phổ biến ở hầu hết các nước có nền chăn nuôi phát triển.

Ngoài việc thu sinh khối nấm men ở các nhà máy bia, nhà máy rượu, ngay từ những năm 70 của thế kỷ XX người ta đã xây dựng các nhà máy chuyên sản xuất nấm men gia súc đi từ các nguồn thức ăn là rỉ đường, dịch thủy phân xenlulose từ nước thải các nhà máy giấy, phế phẩm của nhà máy đồ hộp quả, nhà máy sản xuất phomat... (Thanh và cs., 2008). Những năm đầu thập kỷ XX, người ta đặc biệt chú ý đến khả năng sản xuất nấm men đi từ metan (Artnarong và cs., 2016) và nhất là

từ parafin của dầu mỏ (Đoàn Văn Thược và cs., 2015). Một số nghiên cứu đề cập tới việc sản xuất sinh khối nấm men trực tiếp từ nguồn thức ăn là tinh bột (Mai Thị Hằng, 2011; Artnarong và cs., 2016). Trong các nguồn protein sản xuất bằng công nghệ sinh tổng hợp thì nấm men là loại được nghiên cứu sớm hơn cả. Nấm men gia súc được sản xuất đầu tiên ở Đức là *S. cerevisiae* và sau đó là loài *Torula utilis*. Từ lâu Liên Xô đã sản xuất nấm men làm thức ăn gia súc trên cơ sở phụ phẩm nông nghiệp và phế liệu công nghiệp. Ở Mỹ cũng vậy, sản phẩm nấm men gia súc từ bã rượu đã được tiến hành từ những năm 40 của thế kỷ XX. Ở nước ta, vấn đề nghiên cứu và sử dụng nấm men trong các sản phẩm thực phẩm truyền thống cũng đã tiến hành từ vài chục năm trước đây (Nguyễn Thị Hiền và cộng sự, 2006).

Chương 2

TỔNG QUAN VỀ RƯỢU

Nguyên liệu dùng để sản xuất rượu chủ yếu là tằm, gạo, bắp, khoai sắn và các loại có tinh bột khác. Ngoài ra, còn sản xuất rượu từ mật mía của nhà máy đường, từ các loại trái cây (rượu vang). Đối với sản phẩm rượu truyền thống nguyên liệu chủ yếu là gạo và nếp.

2.1. Giới thiệu về rượu

Rượu là một sản phẩm từ lâu đời, gắn liền với bản sắc văn hóa của mỗi dân tộc trên thế giới. Rượu cổ truyền ở Việt Nam rất đa dạng, mỗi vùng miền đều có những sản phẩm đặc trưng riêng, như rượu Ngũ Hành (Vân Sơn), rượu Đế, rượu Bàu Đá (Bình Định), Gò đen (Long An), rượu Cần Tây Bắc, Tây Nguyên... Ở Cao nguyên đá Đồng Văn có rượu Há Ía, Thiên Hương, Lũng Cú, Thanh Vân... được làm từ men lá cây rừng tạo ra các mùi vị riêng cho rượu, thể hiện những nét văn hóa đặc sắc của người dân.

Rượu Nếp truyền thống, hay rượu Quê, rượu Gạo là cách gọi của các loại rượu lên men từ gạo tẻ, gạo nếp có thể qua chưng cất hoặc không. Trên thế giới cũng như ở Việt Nam có rất nhiều các sản phẩm rượu gạo khác nhau: rượu Sake, rượu Sochou, rượu Mao Đài, rượu Nếp cẩm, Nếp than... Tuy nguyên liệu và cách làm rượu có khác nhau giữa các quốc gia, khu vực, vùng miền nhưng chung quy quá trình làm rượu

truyền thống đều có điểm chung giống nhau: đó là quá trình lên men chuyển hóa tinh bột thành rượu. Trong quá trình đó, bánh men rượu đóng vai trò cốt lõi, không những ảnh hưởng tới năng suất, chất lượng rượu mà quan trọng hơn nó còn ảnh hưởng tới hàm lượng độc tố (andehyde, methanol, fucfurool...) phát sinh một cách tự nhiên trong quá trình lên men.

Rượu là tên gọi chung cho những hợp chất hữu cơ có nhóm định chức hydroxyl (-OH) đính trực tiếp vào gốc ankyl (R-). Rượu etylic có tên khoa học là Spiritus - vini, có công thức phân tử C_2H_5OH . Rượu có nồng độ cao thường được gọi là cồn. Rượu uống dùng để chỉ dung dịch đồ uống có chứa cồn (ethanol) với nồng độ từ 20 - 55%v/v (Nguyễn Văn Tặng, 2017).

Theo Đông y, rượu được xem là một vị thuốc có tính ấm, vị ngọt, có tác dụng giải cảm, dẫn thuốc, kích thích hệ thần kinh trung ương, hệ tuần hoàn.

Rượu có nhiều loại khác nhau, không những khác về tên, màu sắc,... mà còn khác nhau một điểm cơ bản là độ cồn etylic và thành phần các chất có trong rượu.

Phân loại rượu theo nồng độ cồn:

- Rượu mạnh cao độ có nồng độ cồn trên 30%v/v.
- Rượu thông thường có nồng độ cồn từ 15 - 30%v/v.
- Rượu nhẹ có nồng độ cồn dưới 15%v/v .

Phân loại rượu theo đặc tính sản phẩm hay phương pháp sản xuất:

- Rượu chưng cất hay rượu trắng: rượu chưng cất là sau khi lên men, người ta tiến hành chưng cất làm cho ethanol và nước bốc hơi, ngưng tụ lại trong hệ thống làm lạnh thu được rượu trắng (Nguyễn Văn Tạng, 2017). Rượu trắng là chất lỏng dễ bay hơi, không màu, có mùi thơm đặc trưng, vị cay nồng... muốn chế được rượu trắng trước hết ta cho đường hóa một khối lượng nhất định chất bột (gạo, ngô, khoai, sắn...) đã nấu chín hoặc sử dụng dung dịch đường saccharose, glucose. Dưới tác dụng của nấm men, đường chuyển hóa thành rượu và khí CO₂. Chất khí đó được giữ lại trong thức uống đã lên men hoàn chỉnh khiến chúng sủi bọt tăm, tăm rượu càng to thì độ rượu càng nặng, đem chưng cất rượu ta được rượu trắng. Rượu trắng có độ cồn cao từ 29 - 45%v/v hay độ cồn cao hơn nữa, ngoài rượu etylic còn có các chất bay hơi khác với lượng nhỏ, vì vậy giá trị dinh dưỡng thấp hơn rượu vang. Rượu trắng nếu uống ít sẽ có tác dụng kích thích tiêu hóa, tăng cường sức khỏe nhưng nếu uống nhiều và thường xuyên có thể người uống sẽ bị nhiễm độc rượu mãn tính ảnh hưởng đến hệ thần kinh và hệ tiêu hóa. Một số loại rượu cất như: rượu Men lá, rượu Nếp Mới, rượu Lúa Mới (Hà Nội), rượu Làng Vân, rượu Nàng Hương (Bình Tây), rượu Hoàng Đế (Thanh Ba), rượu Bàu Đá (Bình Định), rượu Gò Đen (Long An), rượu Vodka của Nga, rượu Cognac của Pháp, rượu Whisky của Mỹ... (Nguyễn Văn Tạng, 2017).

- Rượu pha chế: là loại rượu sau khi chưng cất người ta bổ sung một số hương liệu vào để tăng mùi vị, tạo cảm giác dễ

uống. Rượu trắng hoặc cồn thực phẩm yêu cầu phải đảm bảo tinh khiết, không chứa các chất độc hại, đảm bảo vệ sinh an toàn thực phẩm. Phụ gia dùng để pha chế gồm:

- + Chất tạo vị: đường kính trắng, các vị thuốc...
- + Chất màu: tự nhiên hoặc tổng hợp.
- + Chất tăng mùi và thành phần dinh dưỡng.

Rượu pha chế đóng chai xong phải để vài ba tháng cho ổn định hương vị. Độ cồn của rượu thường ở mức 20 - 25%v/v. Một số loại như: rượu Sâm, Rượu cam, Chanh, Mơ, Café, Liqueur, Cocktail.

Rượu gạo là một loại thức uống có cồn rất phổ biến ở Việt Nam với thành phần nguyên liệu chính là gạo, nước và các loại bánh men. Quy trình sản xuất rượu hầu như không thay đổi trong nhiều thập niên qua với các công đoạn chính như: nấu chín nguyên liệu - làm nguội - lên men và chưng cất. Rượu men lá cũng được sản xuất theo quy trình đó và là loại rượu được lên men nhờ vào bánh men làm từ thành phần chính là lá, rễ, ngọn, dây rừng. Các loại lá, rễ rừng khác nhau sẽ mang đến hệ vi sinh vật trong bánh men khác nhau và đưa đến mùi vị của sản phẩm rượu khác nhau.

Rượu vang: vang là loại đồ uống có cồn (độ cồn như 10 - 14%v/v) thu được từ quá trình lên men dịch quả, không qua chưng cất, có hương vị đặc trưng. Thành phần hóa học của rượu vang bao gồm: cồn, acid, đường, vitamin, acid amin, các chất khoáng... do đó vang là đồ uống có giá trị dinh

duỡng cao. Về bản chất, vang là sản phẩm của quá trình biến đổi phức tạp các hợp chất hữu cơ có trong dịch quả như acid amin, vitamin... thành rượu và các hợp chất tạo hương vị đặc trưng trong quá trình lên men của nấm men. Vang theo đúng nghĩa là sản phẩm được sản xuất từ quả nho hoặc dịch ép quả nho nên “vang nho” đồng nghĩa với vang. Gần đây, người ta mở rộng khái niệm vang để chỉ tất cả các loại rượu lên men từ dịch quả như dâu, mơ, táo, café, dứa... Một số loại đặc biệt như rượu Sake, rượu Cần, rượu Nếp cẩm...

2.2. Công dụng của rượu

Rượu vốn là một món đồ uống được mặc định là "hại nhiều hơn lợi". Vì thế, trong mắt nhiều người, đây là thứ nên tránh xa để phòng hiểm họa.

Theo các chuyên gia sức khỏe, không chỉ rượu, cái gì dùng sai cách một cách quá mức đều không có lợi. Tuy nhiên, Đông y truyền thống quan niệm rằng rượu trắng vốn là thứ "tinh túy" tuyệt vời nhất đối với sức khỏe bởi có thể ứng dụng vào rất nhiều việc:

- Chữa bệnh: đẩy lùi bệnh tuyến tiền liệt: kết quả nghiên cứu của các nhà khoa học Nhật Bản cho thấy thói quen uống rượu ở một lượng nhất định trong suốt cuộc đời đã giúp đàn ông Nhật Bản đẩy lùi tỷ lệ mắc bệnh ung thư tuyến tiền liệt xuống mức thấp nhất.

Phòng chống loãng xương: một chút rượu mỗi ngày vừa đủ và đều đặn sẽ giúp tăng lượng canxi trong máu.

Trong rượu vang có chứa chất làm giảm cholesterol máu, thúc đẩy quá trình trao đổi chất, làm mềm huyết quản, tăng cường chức năng tim mạch.

Khi bị chấn thương mà trong tay không có một thứ thuốc giảm đau nào thì người ta có thể dùng ½ cốc cồn pha loãng để giảm đau.

Có thể hạ sốt cho trẻ đang bú và những bệnh nhân bị nôn mửa bằng cách xoa cồn vào phần lưng và lồng ngực. Cồn nhanh chóng bay hơi và làm giảm nhiệt da và cơ thể.

- Trẻ hóa làn da: trong rượu có chất chống oxy hóa flavonoid, giúp tế bào da trắng hồng, thúc đẩy tuần hoàn máu và trao đổi chất, khỏe và nhanh tái sinh.

- Khử trùng, xoa bóp:

Rượu có nhiều loại khác nhau, trong y học người ta sử dụng rượu etylic 96 hay 70 độ, hay còn gọi là cồn (cồn sinh học) để khử trùng. Cồn bịt kín lỗ chân lông ở da và không cho vi trùng xâm nhập từ bên ngoài vào.

Rượu có thể được dùng như một loại tinh dầu, xoa bóp vào chân tay hoặc trên toàn bộ cơ thể, có tác dụng lưu thông máu tốt, loại bỏ vi khuẩn, điều trị một số bệnh.

- Điều trị bong gân.

- Khắc phục cơm sống: nếu nấu cơm bị sống, cách khắc phục nhanh nhất là đổ một chút rượu vào trên bề mặt nồi cơm và đun lại thêm một chút.

- Khử mùi giấm, mùi tanh của cá.

- Làm mềm bánh mì: bánh mì cũ bị cứng lại, nếu cần dùng ngay thì bạn nên phun một ít rượu, sau đó nướng bánh mì lên có thể giúp mềm lại như bánh mới làm.

- Bảo quản tươi thực phẩm: các loại thực phẩm tươi như củ quả có thể nhúng qua cồn hoặc rượu cao độ để bảo quản được lâu.

- Rã đông thực phẩm nhanh: trước khi để đông lạnh thực phẩm, rắc ít giọt rượu vào thực phẩm rồi cho vào cấp đông. Thực phẩm sau khi lấy ra dùng sẽ tan giá nhanh hơn và không bị chảy nước hay có mùi lạ.

- Khử mùi cho tủ lạnh, tăng mùi thơm.

- Khử mùi hôi giày, hôi chân.

- Khử độc quần áo.

- Phòng chống sâu mọt cho các loại hạt (đỗ).

2.3. Một số sản phẩm rượu

2.3.1. Rượu Sake

Sake là rượu nhẹ truyền thống được nấu từ gạo và qua nhiều công đoạn lên men mà người Nhật gọi là Nihonshu, hoặc Luật Thuế Rượu của Nhật Bản gọi là Seishu. Đây là một loại thức uống cổ truyền được sử dụng rộng rãi ở Nhật Bản, nó là một loại vang gạo chứa từ 10 đến 20% rượu.

Những vi sinh vật chủ yếu tham gia trong quá trình lên men sake, các nhà khoa học Nhật gọi nó là nấm mốc koji và nấm men sake. Sự đường hóa trong quá trình sản xuất sake

được tiến hành nhờ nấm mốc *Aspergillus oryzae*, canh trường nấm mốc này trên gạo hoặc đậu gọi là koji. Nấm men sake được phát triển chủ yếu trong quá trình sản xuất moto. Nguyên liệu để sản xuất rượu Sake là gạo và nước.

2.3.2. Rượu Sochu

Sochu là thương hiệu quốc gia về rượu truyền thống của Hàn Quốc. Nguyên liệu để sản xuất rượu Sochu là gạo, khoai ngọt, bột mỳ, bột bắp và kê.

2.3.3. Rượu Whisky

Whisky: loại rượu phổ biến ở châu Âu và Bắc Mỹ sản xuất chủ yếu từ Scotland, Canada, Ireland và Mỹ.

Whisky sản xuất từ bất kỳ ngũ cốc nhưng ngô, lúa mì, lúa mạch đen và lúa mạch là những loại thường dùng.

2.3.4. Rượu Nếp than

Sản phẩm rượu của Việt Nam được sản xuất bằng phương pháp thủ công từ nguyên liệu là nếp than. Rượu Nếp than không qua chưng cất, điểm đặc biệt là sản phẩm cuối gồm dịch lên men lẫn bã lên men được làm nhuyễn

Thành phần của rượu ngoài một lượng đường và rượu nhất định còn có một số chất không có ở rượu chưng cất như vitamin (vitamin B1, B2, B12), amino acid (asparagine, lysine, acid glutamic). Có giá trị dinh dưỡng, giúp tiêu hóa tốt.

2.3.5. Rượu Cắn

Rượu Cắn là thức uống độc đáo mang đậm bản sắc của người dân tộc miền núi. Lên men theo phương pháp cổ truyền

không qua chưng cất, không qua hãm cồn và không sử dụng bã rượu, chỉ sử dụng dịch lên men. Rượu có mùi thơm dịu đặc trưng, vị ngọt, không cay, không đắng.

Trong sản xuất rượu cần, người ta dùng vi sinh tự nhiên từ bánh men lá. Nguyên liệu làm bánh men: Gạo và các loại cây lá đặc trưng ở mỗi dân tộc như cây Đồng và cây Me kà zút (dân tộc K'Ho) hay cây "Bơ hình ho", "Khi mắc cái", củ Riềng, lá Trầu không, quả Ổt (dân tộc Thái); vỏ, lá cây Blakda (dân tộc Banna)... Các loại lá cây này có tính kháng khuẩn, chứa tinh dầu tạo hương vị cho rượu.

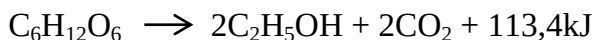
Nguyên liệu nấu rượu gồm: gạo, bắp mới giã, nấu vừa chín, để nguội và trộn thêm với trấu (Thái Lương và cs., 2003).

2.3.6. Rượu Ngô

Rượu Ngô là một loại đồ uống, đặc sản của vùng cao như: Cao Bằng, Tuyên Quang. Nguyên liệu để nấu rượu gồm có ngô hạt (ngô tẻ) sau khi được thu hái, phơi khô, ngô thường được bà con bảo quản bằng cách để trên gác nhà. Men để nấu rượu thường dùng men Hồng My.

2.4. Cơ sở lý thuyết quá trình lên men rượu

Phương trình tổng quát của quá trình lên men rượu có thể viết như sau:



Các phản ứng của quá trình lên men rượu rất phức tạp, nó phải trải qua 10 phương trình phản ứng khác nhau với sự

tham gia của nhiều hệ enzyme xúc tác, kết quả cho ra rượu etylic, CO_2 và một số sản phẩm khác (Bùi Ái, 2005).

Nấm men là cơ thể hiếu khí, chúng hô hấp như cơ thể bậc cao, khi trong môi trường hết oxy phân tử (oxy không khí hòa tan trong môi trường lên men), chúng mới tiến hành lên men, tức là chuyển sang hô hấp kỵ khí.

Trong điều kiện lên men rượu, các đường đơn như glucose, fructose sẽ được phân giải theo con đường EMP và chu trình tricacboxylic acid (ATC) lúc đầu được thực hiện, tiếp theo là chuỗi hô hấp hoạt động, nấm men thu nhiều năng lượng, sinh khối dịch lên men tăng. Môi trường sẽ dần chuyển sang lên men, sau đó sản phẩm sẽ hình thành ethanol, CO_2 sinh khối, các acid hữu cơ và sản phẩm phụ như glycerin.

Quá trình lên men rượu có 5 quá trình chủ yếu:

- Biến đổi glucose thành fructose-1,6-phosphate.
- Biến đổi fructose-1,6-phosphate thành 3-phospho glyceraldehyde và phosphodioxy-acetone.
- Biến đổi phosphodioxy-acetone thành 2-phospho glycerate rồi thành pyruvic acid.
- Hình thành pyruvic acid bị loại 1 phân tử CO_2 để thành acetaldehyde ethanol do acetaldehyde lấy hydro từ NADH.

2.4.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ

- Đối với sinh trưởng của đa số nấm men nhiệt độ tối thích vào khoảng 28 - 32°C.

- Lên men rượu thích ứng ở nhiệt độ 28 - 30°C. Khoảng 50°C và dưới 0°C thì sự lên men bị đình chỉ. Trong thực tế, tùy theo nhu cầu mà người ta tiến hành lên men ở khoảng nhiệt độ 4 - 28°C. Lên men rượu vang hay bia thì có thể tiến hành lên men ở khoảng nhiệt độ 5 - 10°C (Lê Xuân Phương, 2001).

- Nhiệt độ lên men cao ở khoảng 30 - 35°C bắt đầu tích tụ rượu etylic càng sớm, tốc độ lên men nhanh và kết thúc sớm, nhưng không lên men được hết đường. Điều này có thể nguy hiểm vì đường sót sẽ bị lên men bởi vi khuẩn lactic để tạo thành lactic acid, làm chua dịch lên men, ảnh hưởng đến mùi vị sản phẩm, kể cả rượu trắng, bia và rượu vang. Lên men ở nhiệt độ cao cũng làm cho các vi khuẩn tạp nhiễm phát triển nhanh làm biến đổi xấu về chất lượng sản phẩm.

2.4.2. Ảnh hưởng của pH môi trường

- pH của môi trường lên men hay môi trường vi sinh vật nói chung với mỗi chủng hay mỗi nhóm vi sinh vật đều có khoảng pH tối thích cho sự sinh trưởng và phát triển.

- Với men rượu và men bia thuộc giống *Saccharomyces*, pH ban đầu thích hợp cho lên men là khoảng 5,5, trong quá trình lên men pH giảm xuống 4,4 - 4,5 rồi lại tăng dần lên. Nguyên nhân giảm pH là do sự tạo thành CO₂ và các acid hữu cơ trong quá trình lên men.

- Với men rượu vang có thể lên men ở pH là: 2,8 - 3,8, so với men rượu thì men rượu vang chịu được độ acid cao hơn. Nâng cao độ acid của môi trường sẽ làm cho nấm men

thay đổi hình dáng: tế bào nhỏ hơn với dạng hình tròn nhiều hơn, trong tế bào chất tích tụ các chất béo (Huỳnh Xuân Phong và cs., 2017).

2.4.3. Ảnh hưởng của nồng độ dịch đường

- Đường là nguồn cacbon đóng vai trò quan trọng nhất trong việc tạo thành rượu (Đinh Thị Kim Nhung, 2007). Nồng độ dịch đường quá cao sẽ dẫn đến làm tăng áp suất và làm mất cân bằng trạng thái sinh lý của nấm men. Kết quả là rượu nhiều sẽ ức chế không những các tạp khuẩn mà cả nấm men. Mặt khác đường nhiều sẽ dẫn đến tổn thất hoặc phải kéo dài thời gian lên men.

- Nếu nồng độ dịch đường thấp sẽ không kinh tế vì sẽ làm giảm năng suất thiết bị lên men, mặt khác sẽ tổn hơi khi chưng cất và tăng tổn thất rượu trong bã rượu và nước thải.

- Bình thường người ta không chế nồng độ chất khô của dịch đường từ 16 - 18% tùy theo mức độ thuần khiết, tương đương 13 - 15% đường, để sau khi lên men sẽ nhận được nồng độ rượu trong giấm chín là 8,5 đến 9,5%v/v.

2.4.4. Ảnh hưởng của oxy hòa tan - độ hiếu khí

- Quá trình lên men rượu thường được thực hiện trong điều kiện kỵ khí nhưng khi nấm men mới được nhân giống thì nhất thiết phải có một lượng oxy nào đó để nấm men sử dụng. Trong thực tế sản xuất đây là thời điểm duy nhất trong quá trình lên men rượu oxy có ích cho nấm men (Lê Xuân Phương, 2001).

- Thời gian đầu nấm men sinh trưởng mạnh nhờ có lượng oxy của không khí hòa tan vào dịch lên men. Nếu lượng men giống tiếp vào ít (còn xa mới tới lượng cần để cho lên men) người ta phải thổi khí sạch để cho nấm men giống sinh trưởng, tăng sinh khối đến khi đạt đủ lượng cho lên men (Lương Đức Phẩm, 2009).

- Oxy hòa tan vào môi trường lỏng ở dạng bọt khí nhỏ làm kích thích sinh sản của nấm men và tạo điều kiện cho tế bào nấm men hô hấp. Trong lên men có khuấy trộn và thổi khí làm cho bọt khí càng phân tán nhỏ và đều hơn. Do đó, tế bào nấm men càng được tiếp xúc với chất dinh dưỡng và oxy tốt hơn (Lương Đức Phẩm, 2009; 2010).

2.4.5. Ảnh hưởng của các nguồn nitơ tới quá trình lên men

- Trong các nguồn nitơ gồm có 2 nguồn 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, thời gian mà còn bị ảnh hưởng rất nhiều từ nguồn nitơ vô cơ và nguồn nitơ hữu cơ (Đinh Thị Kim Nhung, 2007).

- Nấm men sử dụng nitơ để tổng hợp tế bào mới và các enzyme protease trong quá trình sinh trưởng và sinh sản. Trong quá trình lên men, việc cung cấp đủ lượng nitơ mà nấm men có thể đồng hóa được là rất cần thiết. Nó ảnh hưởng tới tốc độ chuyển hóa đường thành rượu và khả năng chịu cồn của nấm men. Nếu không đủ nguồn nitơ trong dịch lên men, có thể dẫn tới sinh trưởng của nấm men chậm, kéo dài thời gian lên men hoặc lên men không triệt để, giảm năng suất. Thêm vào

đó, số lượng các sản phẩm chuyển hóa có thể làm giảm chất lượng do acid amin và các peptide tạo thành H_2S , các este không bình thường và thay đổi sự tạo thành diacetyl.

- Trong công nghiệp sản xuất đồ uống có cồn, có thể khắc phục sự thiếu hụt nitơ trong môi trường lên men bằng cách thay đổi các điều kiện lên men, thêm enzyme protease để tăng quá trình thủy phân protein trong nguyên liệu hoặc bổ sung một lượng lớn nitơ để nấm men sử dụng (Nguyễn Đức Lượng, 2000; Nguyễn Đình Thường và cs., 2000; Erin và cs., 1991).

2.5. Tình hình tiêu thụ rượu trên thế giới và trong nước

2.5.1. Tình hình tiêu thụ rượu trên thế giới

Khả năng tiêu thụ rượu được thể hiện bằng mức tiêu thụ rượu trên đầu người (APC), bao gồm 2 phần là tiêu thụ rượu được ghi nhận và không được ghi nhận. Theo dữ liệu gần đây nhất của WHO, tổng số APC trong dân số thế giới từ 15 tuổi trở lên uống trung bình khoảng 6,4 lít rượu nguyên chất mỗi năm và được chuyển thành 13,9 g rượu nguyên chất mỗi ngày.

Ở châu Âu, tỷ lệ người uống rượu hiện tại là 59,9%, ở châu Phi có khoảng 32,2% người uống rượu hiện tại. Trên toàn thế giới, người tiêu dùng rượu uống khoảng 32,8 g rượu nguyên chất mỗi ngày (tương đương với 15,1 lít rượu nguyên chất hàng năm) riêng ở khu vực châu Phi là 40 g/ngày, khu vực Đông Nam Á là 26,3 g/ngày.

Một phần tư (25,5%) của tất cả các loại rượu được tiêu thụ trên toàn thế giới ở dạng rượu không được ghi nhận. Ở

một số quốc gia, đặc biệt là ở khu vực Đông Nam Á và khu vực Đông Địa Trung Hải, mức tiêu thụ rượu không được ghi nhận chiếm khoảng 50% tổng lượng tiêu thụ rượu (45,4% ở khu vực Đông Nam Á, 70,5% ở khu vực Đông Địa Trung Hải). Ở các nước có thu nhập trung bình và thu nhập thấp như ở khu vực Đông Nam Á, các loại rượu mạnh được làm tại nhà chiếm tỷ lệ cao trong tổng số rượu được tiêu thụ.

Từ năm 2000, tỷ lệ người uống rượu trên thế giới đã giảm gần 5% từ 47,6% xuống 43,0%. Ở khu vực châu Âu, khu vực châu Mỹ (hai khu vực có mức tiêu thụ bình quân đầu người cao nhất), khu vực châu Phi và khu vực Đông Địa Trung Hải, tỷ lệ người uống rượu có xu hướng giảm. Tuy nhiên, ở khu vực Tây Thái Bình Dương tăng từ 51,5% (năm 2000) đến 53,8% (năm 2016) và vẫn khá ổn định ở khu vực Đông Nam Á (năm 2000 tỷ lệ người uống rượu khoảng 33,2% và đến năm 2016 là 33,1%) (WHO, 2018).

Giai đoạn 2000 - 2005, tổng mức tiêu thụ rượu trên đầu người tương đối ổn định (năm 2000 mức tiêu thụ là 5,7 lít ethanol nguyên chất, năm 2005 là 5,5 lít). Từ năm 2005 – 2010, tổng mức tiêu thụ có xu hướng tăng từ 5,5 lít năm 2005 lên 6,4 lít năm 2010 và vẫn ở mức 6,4 lít vào năm 2016.

Ở khu vực châu Phi, khu vực châu Mỹ và khu vực Đông Địa Trung Hải, mức tiêu thụ rượu vẫn khá ổn định, ở khu vực châu Âu, mức tiêu thụ rượu đã giảm từ 12,3 lít năm 2005 xuống còn 9,8 lít vào năm 2016.

Một số quốc gia tiêu thụ rượu cao trên thế giới như: Belarus (17,5 lít/năm), Cộng hòa Moldova (16,8 lít/năm),

Litva (15,4 lít/năm), Liên bang Nga (15,1 lít/năm), Rumani (14,4 lít/năm).

Tiêu thụ rượu trên đầu người tăng ở khu vực Tây Thái Bình Dương và Đông Nam Á. Các khu vực này bao gồm các quốc gia đông dân của Trung Quốc và Ấn Độ (Trung Quốc: 4,1 lít, 7,1 lít và 7,2 lít vào năm 2005, 2010 và 2016; Ấn Độ: 2,4 lít, 4,3 lít và 5,7 lít vào năm 2005, 2010 và năm 2016) (WHO, 2018).

Danh sách 10 quốc gia uống nhiều rượu nhất, theo số liệu sơ bộ của OIV năm 2022. Mỹ: tăng 2,8% so với năm 2021; Pháp: tăng 1,5%; Ý: giảm 5%; Đức: giảm 2,5%; Anh: giảm 2,2%; Nga: tăng 3,3%; Tây Ban Nha: giảm 0,1%; Trung Quốc: giảm 16%; Argentina: giảm 1,3%; Bồ Đào Nha: tăng 14,3% (theo số liệu sơ bộ của OIV năm 2022).

2.5.2. Tình hình tiêu thụ rượu trong nước

Theo Hiệp hội Máy móc Chế biến Thực phẩm và Đóng gói công bố số liệu thị trường đồ uống toàn cầu cho biết: doanh số bán hàng toàn cầu của đồ uống có cồn của khu vực châu Á - Thái Bình Dương đạt 89.984 triệu lít năm 2016. Trong đó, đứng đầu danh sách tiêu thụ đồ uống có cồn trên thế giới là Trung Quốc với 59.022 triệu lít.

Tại Việt Nam, năm 2016 đã bán được 3.918 triệu lít đồ uống có cồn, bao gồm 3.822 triệu lít bia và 41 triệu lít rượu - xếp thứ 16 trên thế giới về mức độ tiêu thụ đồ uống có cồn trên thế giới.

Chương 3

TÌNH HÌNH SẢN XUẤT, TIÊU THỤ RƯỢU TRUYỀN THỐNG TẠI BA HUYỆN MIỀN NÚI KHU VỰC BÌNH TRỊ THIÊN

3.1. Tình hình sản xuất rượu truyền thống tại ba huyện miền núi khu vực Bình Trị Thiên

Nhìn chung, sản phẩm rượu trắng chưng cất đều được sản xuất và tiêu thụ phổ biến trên địa bàn huyện miền núi khu vực Bình Trị Thiên. Bên cạnh đó, sản phẩm đặc trưng của vùng núi Quảng Bình và Thừa Thiên Huế là rượu đoác, đối với Quảng Trị là rượu men lá Ba Nang. Thực trạng sản xuất và kinh doanh rượu truyền thống trên địa bàn huyện A Lưới (Thừa Thiên Huế), huyện Đakrông (Quảng Trị), huyện Minh Hóa (Quảng Bình) đã được điều tra ngẫu nhiên những hộ trên địa bàn khảo sát, huyện A Lưới (Thừa Thiên Huế) 58 hộ, huyện Đakrông (Quảng Trị) 50 hộ, huyện Minh Hóa (Quảng Bình) 54 hộ. Kết quả thể hiện ở bảng 3.1.

Bảng 3.1. Sản lượng rượu qua điều tra tại ba huyện miền núi của khu vực Bình Trị Thiên

Địa phương	Sản lượng rượu gạo (lít/tháng)	Sản lượng rượu đoác (lít/tháng)	Sản lượng rượu men lá
A Lưới (Thừa Thiên Huế)	14.349	7.505	-
Đakrông (Quảng Trị)	5.109		6.593
Minh Hóa (Quảng Bình)	8.360	6.310	-

Trên địa bàn ba huyện đều có hoạt động sản xuất rượu ở quy mô hộ gia đình và cơ sở sản xuất. Trong 58 hộ được điều tra liên quan đến sản xuất rượu tại địa bàn huyện A Lưới (Thừa Thiên Huế) có 41 hộ sản xuất rượu trắng chưng cất, 17 hộ còn lại làm rượu đoác. Tương tự ở tỉnh Quảng Bình, huyện Minh Hóa có 31 hộ sản xuất rượu trắng chưng cất và 23 hộ làm rượu đoác. Trong khi đó, trên địa bàn huyện Đakrông (Quảng Trị), đa số các hộ làm rượu trắng chưng cất (20 hộ) và 30 hộ làm rượu men lá.

3.1.1. Tình hình sản xuất rượu đoác

Rượu đoác ở Quảng Bình và Thừa Thiên Huế được người dân khu vực miền núi làm theo phương thức truyền thống. Khác với rượu gạo, rượu đoác là rượu được lấy trực tiếp trên cây mang về uống, không cần qua chế biến. Đây là thức uống truyền thống có từ ngàn xưa của dân tộc Tà Ôi sống trên dãy Trường Sơn. Rượu đoác được lấy từ thân cây đoác và cây đùng đình, rồi ngâm với vỏ cây chuồn để lên men thành rượu. Cây đoác hay còn gọi là cây Tà Vạt, cây đùng đình hay còn gọi là cây Tr'đin có nhiều ở khu vực ẩm ướt, thường mọc hai bên suối trong rừng. Thông thường, mỗi cây đoác, cây đùng đình mọc trong rừng phải từ 5 - 7 năm tuổi mới bắt đầu khai thác rượu. Các công đoạn lấy rượu cũng đơn giản. Để lấy được nước cây trước hết người dân phải làm thang bắc lên, tại nơi thân cây giáp với cành sẽ đục lỗ, khoét sâu vào. Khi đến chỗ thân mềm, có màu trắng thì để ống nứa dẫn ra can nhựa hoặc chai, trong chai đã có sẵn vỏ chuồn phơi khô. Vị trí thích

hợp để lấy nước cây được tính từ ngọn xuống, trừ lại bốn cuống lá già. Nếu những cây đoác đã có trái thì cắt ở cuống buồng rồi hứng nước. Mỗi buổi chiều người dân vào rừng lấy rượu đổ sang can nhựa mang theo và dùng rựa khoét một lỗ nhỏ vào thân cây, giúp nước ra nhiều. Mỗi cây có thể lấy rượu liên tục trong vòng 1 - 2 tháng, nếu cây có buồng quả có thể lấy trong vòng 3 tháng, khoảng 80 - 100 lít, mới hết rượu. Sau đó cho cây nghỉ ngơi 2 - 3 tháng mới khai thác tiếp. Rượu đoác chỉ tập trung khai thác từ tháng 11 đến tháng 4 hàng năm là chủ yếu. Làm nghề rượu đoác phải đi liên tục, càng đi sâu vào rừng, gập cây đoác to càng lấy được nhiều rượu. Giá một lít rượu đoác hiện nay, khoảng 16.000 đồng. Đối với bà con, số tiền thu nhập từ nghề làm rượu đoác cũng ít nhiều làm thay đổi cuộc sống của họ. Ngoài khai thác từ các cây tự nhiên, hiện nay, người dân đã mang hạt giống của hai loại cây này từ rừng về trồng trong vườn nhà để lấy rượu cho thuận tiện. Tuy nhiên, diện tích rất hạn chế, không nhiều hộ trồng mà chủ yếu vào rừng để lấy. Bên cạnh đó, vỏ cây chuồn vẫn chưa trồng tại vườn, người dân phải vào rừng sâu lấy mang về phơi khô, để trên giàn bếp dùng dần.

Đối với đồng bào dân tộc Tà Ôi sinh sống ở khu vực huyện A Lưới, rượu đoác không chỉ là một loại đồ uống đơn thuần. Đó còn là một nét văn hóa mang đậm bản sắc vùng miền nơi đây. Trong các dịp lễ hội, cưới hỏi, mừng lúa mới... của người dân Tà Ôi không thể thiếu hương vị loại rượu này. Ngoài việc gìn giữ, hiện nay người dân Tà Ôi cũng tâm huyết

và mong muốn phát triển nghề rượu đoác truyền thống. Việc làm này không chỉ giúp bảo tồn được một đặc sản hiếm có của người Tà Ôi mà còn gìn giữ được một nét đẹp văn hóa độc đáo.



(a)



(b)

Hình 3.1. (a) Cây đèn đình (*Caryota urens* L.)

(b) Cây đoác (*Arenga pinnata*)

Một số chỉ tiêu chất lượng rượu đoác trên địa bàn khảo sát. Kết quả thể hiện ở bảng 3.2 và 3.3.

Bảng 3.2. Bảng mô tả cảm quan rượu đoác

Chỉ tiêu	Rượu từ cây đoác	Rượu từ cây đèn đình
Màu sắc	Màu trắng ngả vàng	Màu trắng đục
Mùi	Mùi đặc trưng	Men nồng thơm dịu nhẹ
Vị	Ngọt ngọt, có chút đắng chát thanh thanh nơi đầu lưỡi	
Trạng thái	Dạng lỏng, có vẩn đục, có cặn	

Rượu đoác làm từ cây đoác và cây đùng đình đều có vị ngọt nhẹ, đắng chát thanh thanh ở đầu lưỡi. Về mặt cảm quan, rượu đoác thực tế cần nâng cao chất lượng, loại bỏ cặn và làm trong sản phẩm.

Bảng 3.3. Kết quả phân tích hàm lượng ethanol, methanol và aldehyde

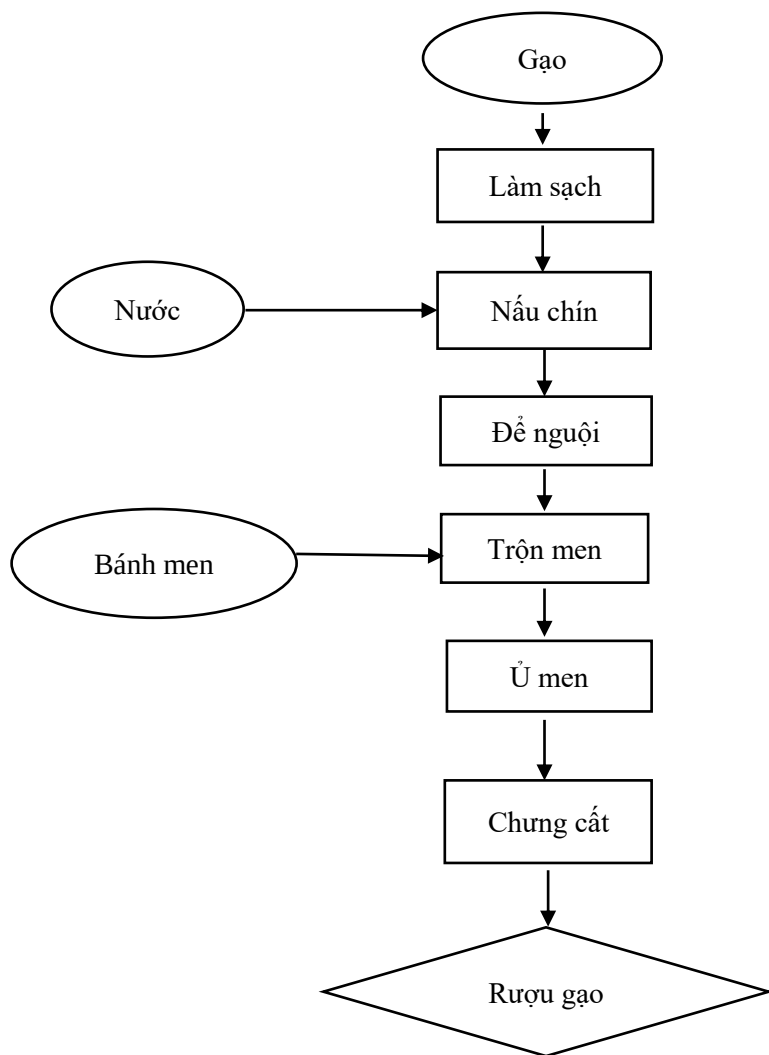
Tên chỉ tiêu	Rượu từ cây đoác	Rượu từ cây đùng đình
Hàm lượng ethanol ở 20°C, tính theo % (v/v)	29,20	27,40
Hàm lượng methanol, mg/L ethanol 100°	4,40	10,90
Hàm lượng aldehyde tính theo axetaldehyde, mg/L ethanol 100°	292,80	143,50

Sản phẩm từ hai loại cây đều có hàm lượng ethanol nhỏ hơn 30%,(v/v). Hàm lượng methanol nằm trong mức cho phép theo tiêu chuẩn (TCVN 7045:2013). Hàm lượng aldehyde của rượu từ nước cây đoác và cây methanol đùng đình lần lượt là 292,8 mg/L và 143,5 mg/L, đây là nguyên nhân gây ra đau đầu sau khi sử dụng sản phẩm rượu đoác. Để tránh gây sốc, đau đầu khi sử dụng dòng sản phẩm này, cần tiến hành nghiên cứu loại bỏ aldehyde trong sản phẩm (có thể để tàng trữ sản phẩm sau khi lên men trong một thời gian, sử dụng máy khử aldehyde...).

3.1.2. Tình hình sản xuất rượu gạo

Các hộ gia đình tham gia sản xuất rượu gạo tại địa bàn các huyện trên địa bàn ba tỉnh nhìn chung nguyên liệu gạo dùng để nấu rượu gạo được mua tại các đại lý trên địa phương hoặc do người dân tự trồng. Bánh men cũng được mua tại các

cửa hàng trên địa phương. Nước giếng tại nhà hoặc nước do nhà máy nước cung cấp. Quy trình sản xuất rượu gạo được thể hiện ở sơ đồ 3.1.



Sơ đồ 3.1. Quy trình sản xuất rượu gạo

- *Làm sạch*: gạo do chính người dân trồng tại địa phương hoặc mua tại các cửa hàng trên địa bàn huyện. Gạo sẽ được vo với nước sạch từ 2 - 3 lần.

- *Nấu chín*: lượng nước được cho vào com phải được tính toán làm sao cho khi com chín không quá nhão cũng không quá sũng. Tỷ lệ gạo:nước khoảng 1:1 theo thể tích. Thiết bị được sử dụng thường là nồi nấu thông thường.

- *Để nguội*: gạo sau khi nấu chín được vớt ra để nguội. Thường người dân trải mỏng com trên lưới có khay phía dưới. Với 1 nồi 30 lon thì phơi 30 phút với diện tích 2 m².

- *Trộn men*: bánh men trước khi phối trộn phải nghiền mịn. Com được cho vào khay, mâm và rắc đều bánh men lên com. Dùng tay hoặc đũa trộn đều để đảm bảo bánh men phân bố đều trong com. Qua điều tra cho thấy, các hộ đều sử dụng men có nguồn gốc, xuất xứ rõ ràng. Các men được sử dụng nhiều là men Phúc Hưng hay là men Nàng Hương.

- *Ủ men*: sau khi trộn men, com được đưa vào trong các xô (thùng) nhựa lớn có nắp để tiến hành lên men. Ủ khoảng 8-10 ngày thì có thể chưng cất rượu. Nhiệt độ ủ rượu khoảng 25 - 35°C. Do mỗi hộ có kinh nghiệm và cách sản xuất khác nhau nên thời gian ủ men của mỗi hộ gia đình là không giống nhau. Có hộ sẽ lên men từ 8 - 10 ngày, nhưng cũng có hộ sẽ lên men 10 - 12 ngày mới bắt đầu chưng cất.

- *Chưng cất*: thiết bị chưng cất đơn giản được sử dụng. Thời gian chưng cất từ 2-3 giờ. Đa phần các hộ và cơ sở sản xuất sẽ bổ sung thêm nước vào nồi chưng cất, sau đó khuấy kỹ và tiếp tục chưng cất sẽ thu được các nước hai, ba. Những nước rượu này sẽ được đem trộn lẫn với nước rượu đầu, khi đó sẽ thu được loại rượu có nồng độ vừa phải (thành phẩm).

Rượu thành phẩm sau khi chưng cất được người dân sử dụng còn kể đo độ rượu để kiểm tra nồng độ cồn. Về cơ bản thì công thức nấu rượu gạo thủ công tại địa bàn khảo sát là tương đồng nhau, nhưng nguyên liệu gạo và bánh men sử dụng có thể khác nhau, điều đó tạo nên hương vị khác nhau giữa các loại rượu gạo truyền thống.

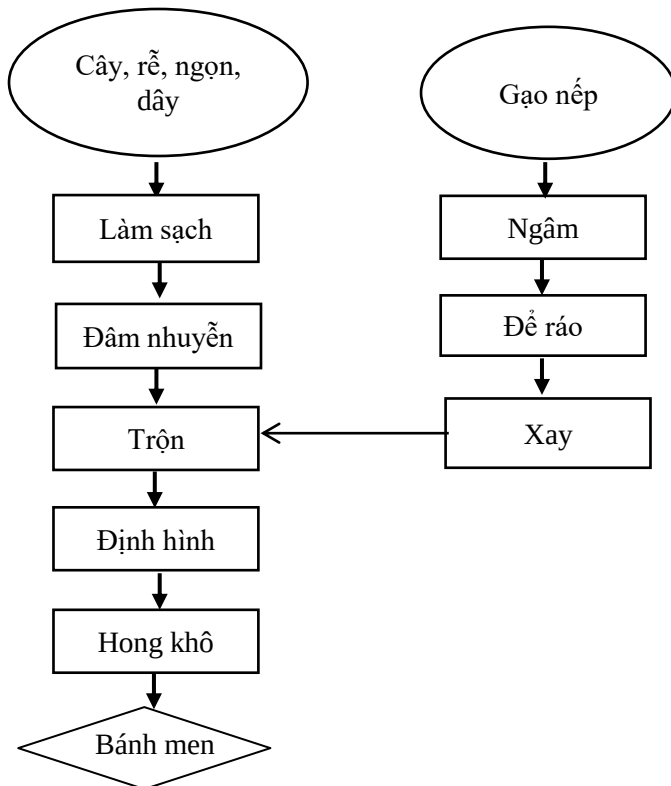
3.1.3. Tình hình sản xuất rượu men lá

Ba tỉnh Quảng Bình, Quảng Trị và Thừa Thiên Huế chỉ có duy nhất huyện Đakrong, tỉnh Quảng Trị có sản xuất rượu men lá. Địa bàn huyện Đakrong có 30 hộ sản xuất rượu men lá trong đó có 10 hộ tham gia sản xuất liên kết với doanh nghiệp để đưa sản phẩm rượu men lá tiêu thụ trên thị trường. Trong 10 hộ tham gia thì có 5 hộ là thành viên thường trực, còn 5 hộ là thành viên không thường trực. Ngoài rượu men lá người dân còn làm rượu từ men Trung Quốc, do rượu men lá chỉ ủ được vào những tháng có nhiệt độ cao, nếu làm vào những tháng có nhiệt độ thấp thì lượng rượu thu được thấp dẫn tới thua lỗ. Thời gian sản xuất nhiều nhất từ tháng 3 đến tháng 9 trong năm vì trong thời gian này nhiệt độ thích hợp cho việc ủ men. Người dân thường làm ra và lưu lại để dùng vào các dịp lễ, tết. Đối với rượu để lại thời gian dài sẽ có hương vị thơm ngon hơn rượu vừa sản xuất ra.

Bánh men được chế biến theo phương pháp thủ công. Nguyên liệu là gạo nếp và các loại cây, lá, rễ, dây trong rừng. Có thể dùng tới 30 loại cây, rễ, dây, thường dùng 9 loại. Khi phối trộn các loại cây, rễ dây này thì sử dụng với tỷ lệ bằng

nhau. Vai trò của các loại cây, lá, rễ, quả, dây là để chống tạp khuẩn, tạo cho rượu mùi đặc trưng đồng thời cung cấp dinh dưỡng. 9 loại cây, rễ, dây thường sử dụng làm bánh men ở địa phương gồm: cây Tần tiêu, cây Đau câu đau, cây Ka luôi, Ngọn tà mài, Dây ô môi, Ót Trái, cây Thuốc lá (sử dụng lá), cây La nghê, cây Pliêm căn yang.

Quy trình làm bánh men lá của người dân



Sơ đồ 3.2. Sản xuất bánh men lá của người dân

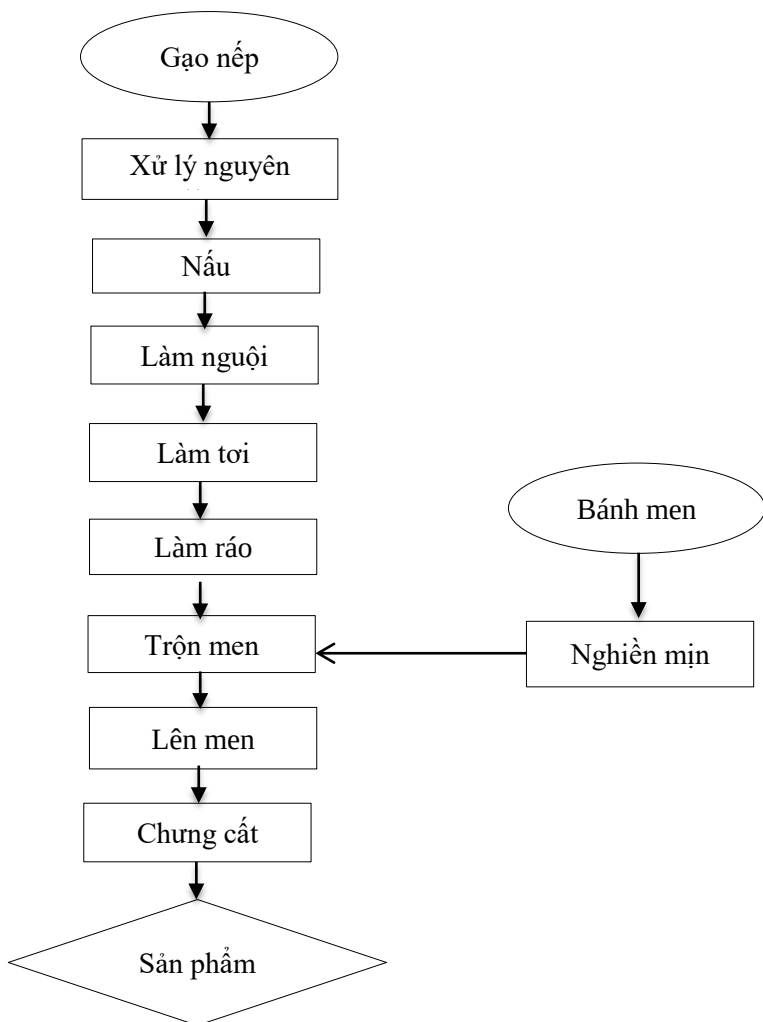
Các loại cây, lá, dây rừng sau khi được thu hái về sẽ được làm sạch sau đó tiến hành ngâm nhuyển để chuẩn bị cho công đoạn phối trộn. Gạo nếp dùng làm bánh men ngâm 2 đêm và vớt ra đưa đi làm ráo. Sau khi làm ráo tiến hành giã nhỏ, gạo sẽ không bị vón cục. Gạo sau khi giã được trộn đều với bột của các loại rế, ngon, cây rừng theo tỷ lệ 3:1, tỷ lệ giữa các loại cây, rế, lá, dây rừng là như nhau. Khi đã trộn đều tiến hành định hình dạng viên có đường kính khoảng 3 - 3,5cm. Sau khi định hình bánh men được xếp vào khay đã lót trấu và đưa đi hong khô. Sau 3 ngày thì tiến hành xâu lại thành một chuỗi bằng lạt tre, mỗi chuỗi 5 bánh men. Sau đó, bảo quản bánh men bằng cách treo giàn bếp. Sau khoảng 1 tháng bánh men có thể đưa đi nấu rượu.

Quy trình sản xuất rượu men lá của người dân

Gạo nếp được trồng tại địa phương hoặc mua ở các đại lý trên địa bàn huyện. Bánh men lá được sản xuất tại địa phương. Gạo được vo với nước sạch 2 - 3 lần. Gạo nếp sau khi vo được cho vào lưới buộc lại và cho vào nồi nấu. Đáy nồi lót gỗ mỏng hình chữ thập để đảm bảo gạo nếp không bị cháy. Sau đó, cho nước ngập gạo nếp và tiến hành đun đến khi gạo nếp chín. Dùng nồi nấu bình thường. Tỷ lệ gạo nếp:nước là 1:1. Thời gian nấu 1 giờ. Gạo nếp sau khi nấu được vớt ra để nguội, trải mỏng cơm nếp trên lưới lưới và làm ráo tự nhiên. Bánh men trước khi phối trộn phải nghiền mịn. Cơm nếp được cho vào khay, mâm và rắc đều bánh men lên cơm nếp. Dùng tay hoặc đũa trộn đều để đảm bảo bánh men phân bố đều trong

com nếp. Tỷ lệ trộn bánh men là 18 - 20 viên men/60 lon gạo nếp. Sau khi trộn men, com nếp được đưa vào trong các xô (thùng) nhựa lớn có nắp để tiến hành lên men trong điều kiện yếm khí. Ủ khoảng 3 - 5 ngày cho đến khi ấn tay vào thấy bọt nước nổi lên thì cho nước tinh khiết vào rồi tiếp tục ủ kín, giai đoạn này ủ khoảng 10 - 15 ngày thì có thể chưng cất rượu trong thiết bị chưng cất đơn giản với thời gian 2 - 3 giờ sẽ thu được thành phẩm.

Quy trình sản xuất rượu men gạo và rượu men lá cơ bản là giống nhau. Nét đặc trưng của bánh men lá tạo nên sự khác biệt, đặc biệt qua phân tích chỉ tiêu hóa học trong sản phẩm rượu men lá không có chứa methanol. Do việc nấu rượu truyền thống mang tính “cha truyền con nối”, các hộ đều nấu rượu theo kinh nghiệm nên có không ít hộ cho ra sản phẩm rượu chất lượng thấp. Có sự sai khác nhiều về chất lượng giữa các mẻ nấu vì phụ thuộc vào nhiều yếu tố như thời tiết, nhiệt độ, kinh nghiệm của người nấu rượu, lượng bánh men sản xuất theo từng mẻ cũng khác nhau, hệ thống chưng cất còn thô sơ, sản phẩm rượu dễ bị tạp nhiễm...



Sơ đồ 3.3. Sản xuất rượu men lá của người dân

3.2. Tình hình kinh doanh rượu truyền thống tại ba huyện miền núi khu vực Bình Trị Thiên

Huyện Đakrông có 30 hộ sản xuất rượu men lá trong đó có 10 hộ tham gia sản xuất liên kết với doanh nghiệp để đưa

sản phẩm rượu men lá tiêu thụ trên thị trường. Trong 10 hộ tham gia thì có 5 hộ là thành viên thường trực, còn 5 hộ là thành viên không thường trực. Đối với các hộ không tham gia sản xuất liên kết với doanh nghiệp thì thị trường tiêu thụ chủ yếu là tại chỗ. Dẫn đến việc lượng rượu bán ra không nhiều. Đối với các hộ tham gia sản xuất liên kết với doanh nghiệp là thành viên không thường trực chỉ cung cấp rượu cho doanh nghiệp khi lượng rượu làm ra của 5 hộ kia không đáp ứng đủ. Dẫn đến việc lượng rượu tiêu thụ của 5 hộ này cũng không được cao. Giá bán 1 lít rượu men lá với nồng độ cồn 45 - 50° là 70 nghìn đồng.

Đối với rượu gạo, các hộ sản xuất mang tính tự phát, không có quy mô định hướng nên thị trường tiêu thụ sản phẩm chủ yếu là ở tại địa bàn thôn, xã, huyện và lân cận. Giá rượu gạo bán tại mỗi hộ và giá bán buôn, bán lẻ là khác nhau, giá bán lẻ từ 12.000 - 15.000 đ/lít, còn giá bán buôn từ 10.000 - 13.000 đ/lít. Nguyên nhân dẫn đến sự chênh lệch giá giữa các hộ gia đình là chất lượng rượu, các gia đình ủ men và sản xuất rượu với nồng độ khác nhau để đáp ứng nhu cầu của người tiêu dùng là khác nhau.

Với sản phẩm rượu đoác đã được nhiều người biết đến với “rượu trời” đây là sản phẩm được nhiều người tìm kiếm và tin dùng từ các hộ sản xuất ra sản phẩm, sau đó chính những người chủ hộ sẽ là những lái buôn đem sản phẩm của mình đến các xã để giao cho chủ các cửa hàng, là thành phần trung gian, từ đó rượu qua trung gian sẽ đến tay người tiêu dùng. Các hộ sẽ phân phối sản phẩm tại nhà khi có các lái buôn đến tận nhà thu mua, hoặc những người dân trong cùng xã, cùng thôn đến để mua lẻ. Giá bán rượu đoác có sự ổn định hơn

16.000 đ/lít. Hiện nay, chính phủ có chủ trương, chính sách phát triển du lịch nông nghiệp, nông thôn. Đây là cơ hội cho sản phẩm rượu đoác truyền thống có thể phát triển, nâng cao giá trị thu nhập cho địa phương. Để chuẩn bị tốt và phát triển thương mại hóa, cần xây dựng niềm tin, quảng bá hình ảnh, kết nối xúc tiến thương mại... Thông qua một số đề xuất cụ thể:

- Cần lập kế hoạch sản xuất, kinh doanh để chủ động trong thị trường.

- Cần kiểm tra, công bố chất lượng, xây dựng thương hiệu để có uy tín với người tiêu dùng.

- Xây dựng kênh phân phối, bán lẻ, chiến lược phát triển sản phẩm.

- Giới thiệu sản phẩm thông qua marketing, truyền thông, quảng bá, tiếp thị,... để tăng thêm sức mạnh thương hiệu, sức cạnh tranh trên thị trường (như lập website, facebook, tham gia lễ hội làng nghề truyền thống...).

- Đăng ký thương hiệu cho sản phẩm làng nghề để bảo vệ quyền lợi cho người sản xuất.

- Tổ chức phát triển và xúc tiến đưa sản phẩm của các hộ nông dân ra thị trường toàn quốc.

Chương 4

SẢN XUẤT BÁNH MEN CÓ BỔ SUNG NẤM MỐC VÀ NẤM MEN PHÂN LẬP TỪ BÁNH MEN LÁ TRUYỀN THỐNG

4.1. Phương pháp thực hiện

Nấm mốc *Mucor circinelloides* BN3 và nấm men *Saccharomces cerevisiae* 1(2) (được phân lập từ bánh men lá truyền thống tại huyện Đakrông tỉnh Quảng Trị). Các chủng nấm được lựa chọn cho việc tạo ra bánh men mới bao gồm nấm mốc *Mucor circinelloides* BN3 đã được xác định là có hoạt tính amylase cao nhất và nấm men *Saccharomyces cerevisiae* 1(2) được xác định là nấm men có khả năng lên men cao. Cả 02 chủng được nuôi cấy tăng sinh trong môi trường Hansen lỏng ở $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ với tốc độ lắc 180 vòng/phút trong 48 giờ. Tế bào được thu bằng cách lọc qua giấy lọc Whatman No.1 trong điều kiện vô trùng và hòa tan trở lại trong môi trường Hansen lỏng đã tiệt trùng. Mật độ tế bào được đo và điều chỉnh đến khi lượng tế bào đạt khoảng 3×10^7 tế bào/mL, tương đương với $\text{OD}_{600}=1$ (Treco và cs., 2008) trước khi sử dụng cho các công thức nghiên cứu.

Phương pháp tạo bánh men được thực hiện theo những mô tả của Yang và cộng sự năm 2013, khi nghiên cứu tạo koji từ nấm men phân lập từ bánh men nuruk (Hàn Quốc) (Yang và cs., 2013), công bố của Ngô Thị Phương Dung và cộng sự (2011) khi sản xuất men rượu từ chủng *S. cerevisiae* và

amylase từ lúa. Theo đó, 100 g gạo nếp được ủ với nước theo tỷ lệ 1:1 (w/v) ở 25°C trong 48 giờ và được đồ chín ở 121°C trong 15 phút. Cơm chín được hong trên khay để giảm nhiệt độ xuống khoảng 35±2°C và trộn đều với dung dịch chứa nấm mốc và nấm men.

Dung dịch nấm được chuẩn bị bằng cách bổ sung dịch chứa nấm mốc, nấm men vào trong 5 mL dung dịch có chứa MgSO₄ (0,05%), (NH₄)₂SO₄ 0,2%, CaSO₄ 0,02%, KH₂PO₄ 0,1%, glucose 1%, lactose 1%. Các công thức nghiên cứu gồm CT1: bánh men lá của người dân không bổ sung nấm men, nấm mốc; CT2: bánh men lá tự làm không bổ sung nấm men, nấm mốc đã phân lập; các công thức có bổ sung nấm men đã phân lập là CT3: 1 mL nấm mốc + 1,5 mL nấm men; CT4: 1,5 mL nấm mốc + 2 mL nấm men; CT5: 2 mL nấm mốc + 2,5 mL nấm men. Bánh men theo các công thức trên sẽ được tạo hình và đưa đi ủ ở nhiệt độ 30 - 31°C trong 24 giờ sau đó sấy khô ở 42°C. Bánh men thành phẩm được quan sát và đánh giá thông qua mô tả các dấu hiệu phát triển của nấm mốc, nấm men được mô tả cảm quan và kết quả thể hiện trong bảng 4.1.

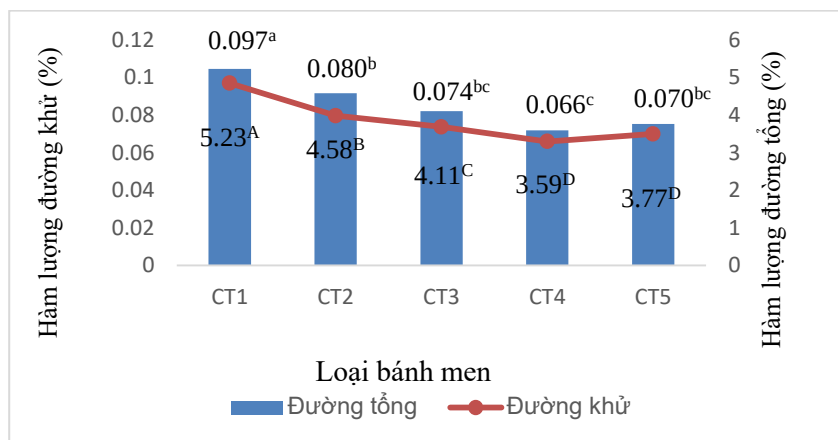
Bảng 4.1. Mô tả cảm quan bánh men

Tỷ lệ chế phẩm (mL)		Đánh giá cảm quan bánh men
Nấm mốc	Nấm men	
1	1,5	Bề mặt bánh men khô, cứng, hệ sợi mốc ít phát triển.
1,5	2	Bề mặt có màu trắng, hệ sợi phát triển tốt, đẹp. Bánh men bông, có độ xốp. Có mùi thơm đặc trưng.
2	2,5	Bánh men có màu vàng nhạt, có hệ sợi trắng phát triển, có mùi thơm đặc trưng, bề mặt bánh men bông ít.

Từ kết quả đánh giá cảm quan cho thấy mẫu bánh men sử dụng 1,5 mL chế phẩm nấm mốc kết hợp 2 mL chế phẩm nấm men có cảm quan đẹp nhất: bề mặt có màu trắng, hệ sợi phát triển tốt, bánh men phồng và xốp, có mùi thơm đặc trưng.

4.2. Sự thay đổi của hoạt lực lên men của nấm mốc, nấm men đến đường tổng và đường khử trong thời gian lên men

Bánh men CT1, CT2, CT3, CT4, CT5 được phối trộn với cơm theo tỷ lệ 8 g bánh men cho 1.000 g cơm, sau đó được ủ khô ở 30°C trong 4 ngày. Sau khi đủ thời gian ủ, khối ủ được bổ sung nước và lên men trong điều kiện ở 25°C trong 9 ngày. Kết quả phân tích sự thay đổi đường tổng, đường khử thể hiện ở biểu đồ 4.1.



Sơ đồ 4.1. Hàm lượng đường tổng, đường khử sau 9 ngày lên men lỏng

Ghi chú: - A, B, C, D: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

- a, b, c, d, e: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

Hàm lượng đường sót được xem là chỉ tiêu quan trọng và ảnh hưởng đến chất lượng thành phẩm sau khi kết thúc quá trình lên men. Kết quả thể hiện ở hình 4.1 cho thấy, cùng một thời gian lên men, cùng nhiệt độ lên men nhưng với ba loại bánh men bổ sung lượng nấm mốc, nấm men khác nhau thì hàm lượng đường sót lại trong dịch lên men ở các mẫu là khác nhau. Nhìn chung, hàm lượng đường tổng số và đường khử còn sót lại tỷ lệ nghịch với tỷ lệ bổ sung nấm mốc, nấm men vào từng loại bánh men.

Đối với mẫu CT1 (bánh men lá mua từ người dân Quảng Trị), sau 9 ngày lên men thì hàm lượng đường tổng số còn lại nhiều nhất (5,23%) và có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê so với hàm lượng đường ở các loại bánh men khác. Khi ta tăng tỷ lệ nấm mốc, nấm men thì lượng đường sót lại càng ít, bánh men CT3, CT4, CT5 lượng đường còn sót lại lần lượt là 4,11%, 3,59% và 3,77%. Với mẫu CT4 thì hàm lượng đường tổng còn sót lại ít nhất (3,59%) nhưng không có sự sai khác về mặt thống kê với mẫu bánh men CT5 ($p < 0,05$).

Hàm lượng đường khử ở mẫu CT1 kết thúc quá trình lên men đạt giá trị cao nhất (0,097%) và có sự sai khác có ý nghĩa so với hàm lượng đường khử ở các loại bánh men CT2 (0,08%), CT3 (0,074%), CT4 (0,066%), CT5 (0,07%). Tuy nhiên, hàm lượng đường khử của hỗn hợp men - gạo ở CT3, CT4 và CT5 thì không có sự sai khác về mặt thống kê với $p < 0,05$. Nguyên nhân là do trong bánh men, tỷ lệ nấm men quá ít sẽ không phân hủy hết đường thành rượu dẫn đến đường sót lại còn nhiều làm

ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm và ngược lại khi tăng tỷ lệ nấm men thì đường sót lại sẽ càng giảm, điều này chứng tỏ được việc chuyển hóa đường thành rượu đang diễn ra tốt. Kết quả này tương tự như kết quả nghiên cứu của Ngô Thị Phương Dung về sản xuất và ứng dụng men thuần trong lên men rượu nếp than (Ngô Thị Phương Dung, 2009).



CT3

CT4

CT5

Hình 4.1. Các loại bánh men

4.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung chủng nấm mốc, nấm men đến hàm lượng đường tổng, đường khử trong quá trình ủ

Trong quá trình chế biến rượu, giai đoạn quan trọng là ủ cơm và lên men. Ủ cơm chính là giai đoạn tiền đề, là quá trình đường hóa tinh bột để tạo ra nguyên liệu cho quá trình lên men.

Ở bánh men, luôn tồn tại cả vi khuẩn, nấm mốc và nấm men, chúng ở trạng thái ngủ nghỉ. Trong giai đoạn này, các loài nấm mốc cùng với các loài nấm men phát triển trong môi trường bột gạo và độ ẩm thích hợp của bánh men tạo ra rất nhiều amylase và glucoamylase. Các enzyme này hoạt động

rất thuận lợi trong giai đoạn đầu và kéo dài trong suốt giai đoạn tiếp theo. Các chủng nấm mốc và nấm men có khả năng sinh glucoamylase, khi gặp điều kiện thuận lợi trên môi trường cơ chất là tinh bột sẽ phát triển, sinh enzyme thủy phân tinh bột thành đường glucose, còn các chủng nấm men rượu sẽ tiến hành nhiệm vụ sử dụng đường lên men rượu (Đặng Kim Vui và cs., 2013). Cả hai quá trình này xảy ra kế tiếp nhau, chồng chéo lên nhau và ta có thể coi như đồng thời. Tuy nhiên, trong giai đoạn ủ cơm thì hoạt động của nấm mốc sẽ chiếm ưu thế hơn vì nguồn nguyên liệu ban đầu chủ yếu là tinh bột (Lê Xuân Phương, 2001).

Tiến hành trộn bánh men với cơm gạo theo tỷ lệ 8/1000 g, cho vào hũ nhựa, đậy nắp hờ và đem đi ủ ở nhiệt độ khoảng 30 - 32°C (Nguyễn Thị Hiền và cs., 2006) với thời gian ủ là 5 ngày. Để theo dõi khả năng hoạt động của nấm mốc, nấm men trong giai đoạn ủ, tiến hành xác định hàm lượng đường tổng số và đường khử sau mỗi 24 giờ ủ. Trong đó CT1 là bánh men lá truyền thống, CT2 là bánh men lá truyền thống được làm tại phòng thí nghiệm. Kết quả theo dõi của hàm lượng đường tổng số và đường khử được thể hiện ở bảng 4.2 và bảng 4.3.

Bảng 4.2. Sự biến đổi của hàm lượng đường khử trong giai đoạn ủ

Ngày lên men	CT1	CT2	CT3	CT4	CT5
1	0,72 ^e	0843 ^e	0,91 ^e	1,07 ^e	1,18 ^e
2	1,75 ^d	2,14 ^d	2,25 ^d	2,52 ^d	2,33 ^d

3	3,44 ^c	4,08 ^c	4,32 ^c	4,72 ^c	4,05 ^c
4	6,934 ^a	7,25 ^a	7,8 ^a	8,31 ^a	8,25 ^a
5	6,05 ^b	8,18 ^b	6,36 ^b	6,55 ^b	6,12 ^b

Ghi chú: a, b, c, d, e: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Từ bảng 4.2 và bảng 4.3 cho thấy, thời gian ủ càng lâu thì hàm lượng đường khử càng tăng, ban đầu nó tăng chậm sau đó thì tăng nhanh dần và đến thời điểm ngày thứ 5 giảm xuống. Điều này là hợp lý, khi gặp điều kiện môi trường mới, nấm mốc và nấm men cần phải có thời gian để có thể thích ứng với môi trường trở về trạng thái hoạt động. Nhiệt độ khối cơm sẽ tăng dần, ở ngày ủ đầu tiên, bào tử nấm mốc sẽ bắt đầu mọc mầm, sau đó mốc sẽ phát triển dần ở ngày thứ 2, đến ngày thứ 3 thì nó phát triển mạnh, lan khắp bề mặt và có xu hướng ăn sâu vào trong hạt cơm ở ngày thứ 4. Lúc này, các loài nấm mốc sinh trưởng và phát triển mạnh, chúng tiết các loại enzyme α -amylase, β -amylase, γ -amylase để chuyển hóa tinh bột thành đường khử (glucose, maltose), tạo nguồn nguyên liệu cho nấm men sử dụng (Huỳnh Trần Toàn và cs., 2014). Từ kết quả cho thấy CT4 cho hàm lượng đường khử cao nhất trong các công thức.

Bảng 4.3. Sự biến đổi của hàm lượng đường tổng trong giai đoạn ủ

Ngày lên men	CT1	CT2	CT3	CT4	CT5
1	26,5 ^a	27,33 ^a	26,89 ^a	34,71 ^a	33,47 ^a

2	24,46 ^b	25,27 ^b	25,19 ^b	31,97 ^b	31,04 ^b
3	21,37 ^c	23,50 ^c	20,29 ^c	29,23 ^c	27,08 ^c
4	18,48 ^d	21,65 ^d	18,45 ^d	24,62 ^d	22,69 ^d
5	17,39 ^e	19,27 ^e	17,03 ^e	23,85 ^e	21,16 ^e

Ghi chú: a, b, c, d, e: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Cùng với sự tăng của đường khử thì hàm lượng đường tổng số giảm, ban đầu thì nó giảm chậm và sau đó thì nhanh dần. Hàm lượng đường tổng số của CT4 giảm ở hai ngày đầu từ 34,71% xuống 31,97%. Qua ngày thứ 3 và thứ 4, hàm lượng đường tổng giảm nhanh mạnh mẽ và đạt giá trị 23,85% ở ngày thứ 5. Các loại bánh men từ CT2 tới CT5 lượng đường tổng cũng giảm theo thời gian. Nguyên nhân của việc giảm này là do hoạt động đường hóa của nấm mốc, hoạt động sinh acid của vi khuẩn và một phần lên men của nấm men. Theo nghiên cứu của Nguyễn Kim Đông và cộng sự (2012), khi tiến hành ủ cơm ở nhiệt độ 30 - 40°C, sau 48 giờ ủ hiệu khí hàm lượng glucose tạo thành cao nhất. Sau đó, kéo dài thời gian ủ đến 72 giờ và 96 giờ thì hàm lượng đường khử giảm xuống. Một nghiên cứu khác của Đỗ Tiến Thành (2011), khi nghiên cứu cải tiến quy trình sản xuất rượu đặc sản từ nguyên liệu gạo với bánh men thuốc bắc đã cho kết quả thời gian ủ cơm là 2 - 3 ngày, hàm lượng đường khử tăng lên và hàm lượng đường tổng số (đường sót) giảm xuống theo thời gian ủ).

Năm 2014, Huỳnh Trần Toàn và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng rượu

gạo, trong giai đoạn ủ đã bổ sung chủng nấm mốc *A. oryzae* vào theo tỷ lệ. Kết quả nghiên cứu cho thấy, sau hai ngày ủ thì hoạt tính của enzyme amylase tăng cao, nhưng khi qua ngày thứ ba thì hoạt tính của nó bắt đầu giảm. Từ kết quả nghiên cứu, cho thấy được tỷ lệ bổ sung chủng nấm mốc, nấm men có ảnh hưởng đường khử và đường tổng. Nấm mốc có vai trò xúc tác cho quá trình chuyển hóa tinh bột thành đường. Nhưng ở bánh men CT3 thì tỷ lệ nấm men thêm vào còn ít, dẫn đến quá trình chuyển hóa tinh bột thành đường xảy ra lâu hơn. CT4, CT5 cho hàm lượng đường tổng số là cao nhất so với các công thức còn lại.

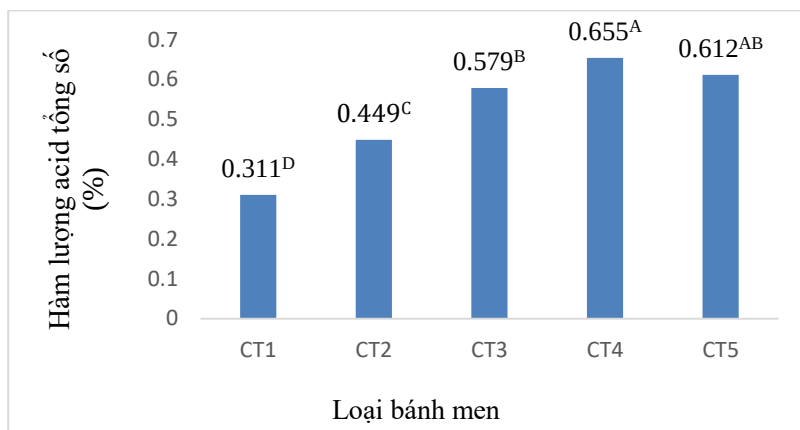
4.4. Ảnh hưởng của bánh men đến khả năng sản xuất rượu

Tỷ lệ phối trộn nấm mốc và nấm men trong bánh men nguyên liệu là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến khả năng lên men trong sản xuất rượu. Nếu tỷ lệ phối trộn thích hợp sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho nấm men phát triển và tạo mùi vị hài hòa cho sản phẩm. Sau quá trình ủ cơm, tiến hành quá trình lên men lỏng ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 9 ngày với các tỷ lệ phối trộn nấm mốc và nấm men theo các công thức rồi tiến hành xác định các chỉ tiêu của dịch lên men, độ rượu và đánh giá cảm quan để chọn ra tỷ lệ phối trộn thích hợp

4.5. Ảnh hưởng của các loại bánh men đến hàm lượng acid tổng số

Dịch lên men không chỉ là một môi trường dinh dưỡng tốt cho nấm men mà còn cho các vi sinh vật khác. Trong nước, trong không khí cũng như trong các nguồn nguyên liệu tham

gia vào thành phần môi trường luôn chứa một lượng vi sinh vật có hại cho lên men rượu. Các vi sinh vật nếu lẫn vào dung dịch đường, chúng sẽ biến đường thành các sản phẩm khác và do đó làm giảm hiệu suất lên men rượu.



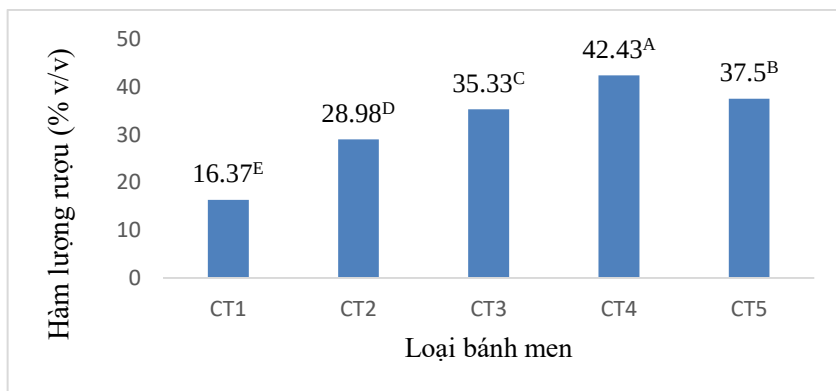
Biểu đồ 4.2. Hàm lượng acid tổng của các loại bánh men

Ghi chú: - A, B, C, D, : các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

Hình 4.1 đã thể hiện rõ sự tạo thành acid tổng của dịch lên men rượu sau 9 ngày lên men. Cụ thể là mẫu bánh men CT4 và CT5 không có sự sai khác về mặt thống kê với $p < 0,05$ nhưng lại có sự sai khác về mặt thống kê với $p < 0,05$ so với 2 loại bánh men truyền thống là CT1, CT2. Hàm lượng acid tăng khi tăng tỷ lệ bổ sung nấm mốc và nấm men tương ứng hàm lượng acid tăng từ 0,579% lên 0,655%. Hàm lượng acid cao nhất ở CT4 và thấp nhất ở CT1. Trong quá trình lên men rượu có rất nhiều loại acid hữu cơ khác nhau được tạo thành. Acetic acid xuất hiện trong quá trình lên men rượu do thành phần của hạt gạo có polysacharides, protein và chất béo. Tuy nhiên, nếu hàm lượng acid nhiều quá lại không có lợi.

4.6. Ảnh hưởng của các loại bánh men đến hàm lượng rượu

Trong sản xuất rượu, độ cồn là một trong những chỉ tiêu quan trọng đối với lên men rượu. Với thời gian lên men 9 ngày ở các mức tỷ lệ bổ sung chủng nấm mốc, nấm men khác nhau thì đều có sự tạo thành rượu, tuy nhiên hàm lượng rượu có sự biến động giữa các tỷ lệ bổ sung đó. Tất cả các mẫu rượu sẽ được đưa đi chưng cất sau đó được đo độ rượu và được thể hiện ở biểu đồ 4.3.



Biểu đồ 4.3. Hàm lượng rượu của các loại bánh men

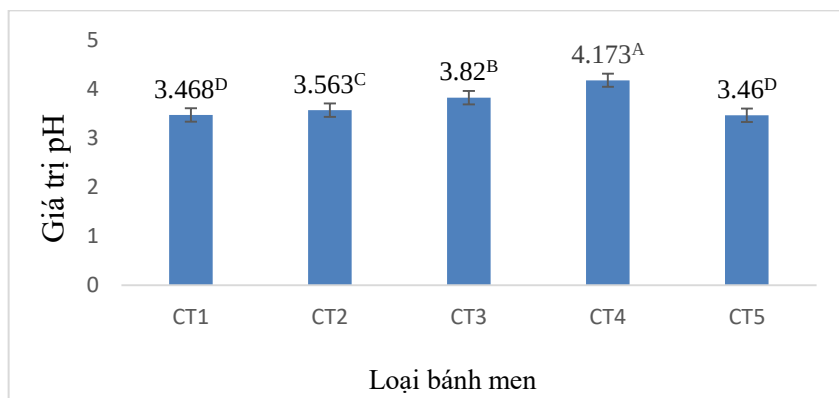
Ghi chú: A, B, C, D, E : các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

Trong dịch đường hóa có chứa nhiều loại đường khác nhau như: glucose, maltose, fructose... nhưng chủ yếu là glucose. Nấm men *S. cerevisiae* chủ yếu sử dụng đường glucose để chuyển hóa thành rượu, vì vậy có sự tương quan giữa hàm lượng glucose còn lại với nồng độ cồn sinh ra. Hàm lượng glucose còn lại nhiều thì nồng độ cồn thấp và ngược lại (Ngo

Thị Phương Dung, 2009). Kết quả thể hiện ở hình 4.4 cho thấy hàm lượng rượu sau 9 ngày lên men ở mẫu bánh men với các tỷ lệ bổ sung chủng nấm mốc, nấm men khác nhau là tăng dần từ mẫu CT1 (16,37 %v/v) đến mẫu CT4 (42,43 %v/v) và giảm xuống ở mẫu CT5 (37,5%v/v). Nguyên nhân dẫn đến có sự khác nhau về độ rượu dù khi cho lên men cùng một thời gian, cùng lượng bánh men sử dụng cho quá trình lên men là 8 g/1 kg gạo, nhưng khác nhau về tỷ lệ bổ sung chủng nấm mốc, nấm men nên dẫn đến hàm lượng rượu khác nhau. Nấm men có công dụng là chuyển hóa đường thành rượu, cho nên tỷ lệ nấm men càng nhiều thì quá trình lên men diễn ra nhanh hơn, ngược lại nếu tỷ lệ nấm men ít nên khả năng chuyển hóa đường tạo rượu không cao nên nồng độ rượu thấp.

4.7. Sự biến đổi của giá trị pH sau thời gian lên men

Ngoài các chỉ tiêu đã phân tích ở trên, thì pH cũng là một trong những yếu tố chính thể hiện khả năng đường hóa, lên men của quá trình lên men rượu. Sự biến đổi của giá trị pH trong suốt thời gian lên men được thể hiện ở biểu đồ 4.4.



Biểu đồ 4.4. Giá trị pH của các loại bánh men khác nhau

Kết quả phân tích ở hình 4.5 cho thấy pH trong các khối ủ lên men của các loại bánh men có sự khác nhau nhất định. Trong đó, pH của mẫu bánh men CT4 là cao nhất 4,17, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$. Hai mẫu bánh men CT1 và CT2 lần lượt có giá trị pH là 3,47 và 3,56. Hai giá trị này phù hợp với nghiên cứu của Đoàn Văn Thước và cộng sự (2015), khi định loại và nghiên cứu khả năng lên men rượu của chủng nấm men *Candida tropicalis* MN2 phân lập từ quả bầu chua đã cho kết quả là tại giá trị pH = 3,5 thích hợp cho quá trình lên men của nó.

4.8. Kết quả đánh giá cảm quan

Để đánh giá sản phẩm, tiến hành thực hiện đánh giá cảm quan giữa các sản phẩm thí nghiệm bằng phương pháp cho điểm thị hiếu (Hà Duyên Tư, 2006) để so sánh về các chỉ tiêu và đánh giá xem người dùng ưa thích sản phẩm nào hơn.

Bảng 4.4. Kết quả đánh giá cảm quan

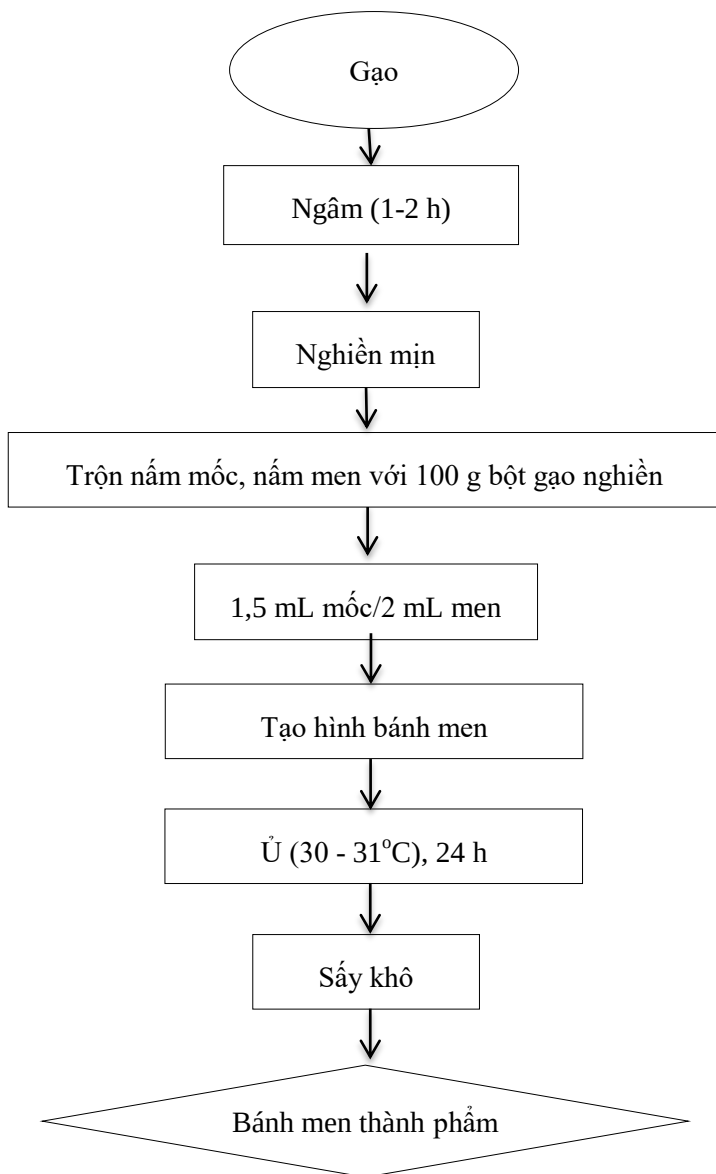
Mẫu	Màu sắc và độ trong	Mùi	Vị
CT1	5.16 ^{BC}	5.2 ^B	5.1 ^{BC}
CT2	4.97 ^C	5.60 ^B	5.43 ^B
CT3	5.53 ^B	5.23 ^B	4.87 ^C
CT4	6.13 ^A	6.23 ^A	5.97 ^A
CT5	5.07 ^{BC}	5.50 ^B	5.00 ^{BC}

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

Dựa vào bảng 4.4 ta thấy giữa sản phẩm ở các loại bánh men khác nhau có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê ở chỉ tiêu màu sắc và độ trong. Còn về mùi và vị thì sản phẩm ở CT4 được đánh giá có chất lượng mùi cao hơn và có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

Nhận xét:

Các loại bánh men được làm từ việc phân lập, bổ sung nấm mốc, nấm men thuần chủng có các chỉ tiêu khảo sát tốt hơn so với các loại bánh men đối chứng (CT1, CT2). Bánh men CT3, CT5 có kết quả của các chỉ tiêu gần với bánh men CT4; tuy nhiên, bánh men CT4 về mặt cảm quan bánh men đẹp hơn, độ rượu cao 42,43%v/v, các chỉ tiêu đánh giá cảm quan sản phẩm rượu cũng tốt hơn, hài hòa hơn so với CT3, CT5. Do đó, chọn tỷ lệ bổ sung nấm mốc, nấm men phân lập được từ bánh men lá Ba Nang, huyện Đakrông, tỉnh Quảng Trị để tạo ra chế phẩm bánh men rượu ứng dụng vào quy trình sản xuất rượu là 1,5 mL nấm mốc và 2 mL nấm men cho 100 g bột gạo. Quy trình đề xuất sản xuất bánh men như trình bày ở sơ đồ 4.1.



Sơ đồ 4.1. Quy trình sản xuất bánh men bổ sung chủng vi sinh vật

Chương 5

SẢN XUẤT RƯỢU VỚI BÁNH MEN CÓ BỔ SUNG NẤM MỐC VÀ NẤM MEN PHÂN LẬP TỪ BÁNH MEN LÁ TRUYỀN THỐNG

5.1. Khả năng sản xuất rượu ở quy mô nhỏ

5.1.1. Hàm lượng đường trong thời gian lên men rắn

Trong quá trình sản xuất rượu, thì giai đoạn lên men rắn thực chất là quá trình trao đổi chất nhờ tác dụng của enzyme tương ứng gọi là chất xúc tác sinh học. Trong quá trình lên men rượu, nguyên liệu là tinh bột cần phải qua quá trình đường hóa bằng hệ amylase để chuyển tinh bột thành đường glucose. Vì vậy, giai đoạn này là quan trọng nhất là tiền đề cho quá trình lên men diễn ra một cách thuận lợi.

Trong giai đoạn này, các loài nấm mốc cùng với các loài nấm men phát triển trong môi trường bột gạo và độ ẩm thích hợp của bánh men tạo ra rất nhiều enzyme amylase và glucoamylase. Các enzyme này hoạt động rất thuận lợi trong giai đoạn đầu và kéo dài trong suốt giai đoạn tiếp theo. Bản chất các enzyme này là các enzyme phản ứng, do đó nguyên liệu chứa tinh bột sẽ kích thích mạnh mẽ quá trình sinh tổng hợp. Các chủng nấm mốc và nấm men có khả năng sinh glucoamylase, khi gặp điều kiện thuận lợi trên môi trường cơ chất là tinh bột sẽ phát triển, sinh enzyme thủy phân tinh bột thành đường glucose, còn các chủng nấm men rượu sẽ tiến

hành nhiệm vụ sử dụng đường lên men rượu. Cả hai quá trình này xảy ra kế tiếp nhau, chồng chéo lên nhau và ta có thể coi như đồng thời (Đoàn Văn Thước và cs., 2015).

Tiến hành trộn đều bánh men và cơm gạo cho lên men rắn hay còn gọi là ủ cơm ở nhiệt độ 30-32°C trong thời gian 5 ngày. Hàm lượng đường trong quá trình lên men rắn của các tỷ lệ phối trộn bánh men được phân tích và thể hiện ở bảng 5.1 và biểu đồ 5.1.

Bảng 5.1. Hàm lượng đường khử theo thời gian của các công thức (%)

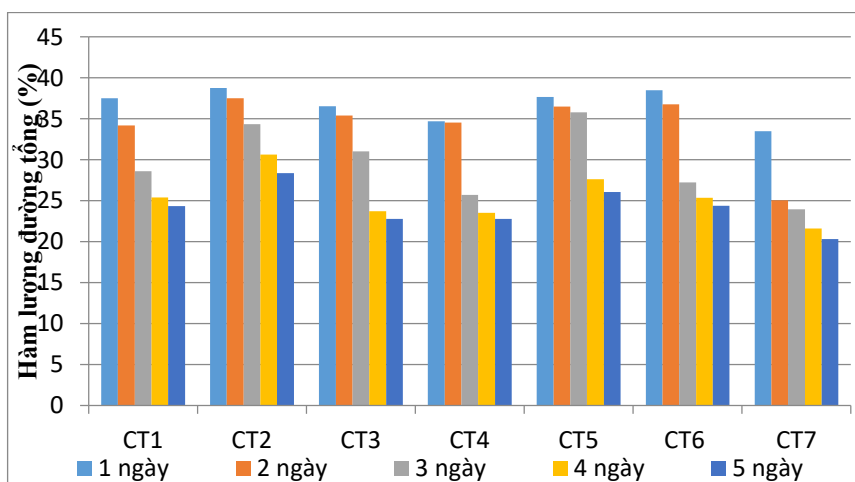
Ngày lên men	CT1	CT2	CT3	CT4	CT5	CT6	CT7
1	0,98 ^e	0,93 ^e	0,89 ^e	0,88 ^e	0,85 ^e	0,85 ^e	0,83 ^e
2	2,86 ^d	2,63 ^d	2,56 ^d	2,45 ^d	2,36 ^d	2,26 ^d	2,2 ^d
3	4,56 ^c	4,46 ^c	4,33 ^c	4,23 ^c	4,16 ^c	3,97 ^c	3,86 ^c
4	8,64 ^a	8,47 ^a	8,37 ^a	8,27 ^a	8,2 ^a	7,86 ^a	7,78 ^a
5	7,3 ^b	7,18 ^b	6,69 ^b	6,46 ^b	6,23 ^b	6,2 ^b	5,96 ^b

Ghi chú: CT1: 6g/1kg; CT2: 7g/1kg; CT3: 8g/1kg; CT4: 9g/1kg; CT5: 10g/1kg; CT6: 11g/1kg; CT7: 12g/1kg.

a, b, c, d, e: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 5.1 cho thấy thời gian lên men ủ càng lâu thì hàm lượng đường khử càng tăng, ban đầu nó tăng chậm sau đó thì tăng nhanh dần và đến một thời điểm nào đó thì nó sẽ giảm

xuống. Ở công thức 1, sau 2 ngày ủ hàm lượng đường khử tăng chậm lên 2,86%. Từ ngày ủ com thứ 3 đến ngày thứ 4, hàm lượng đường khử tăng nhanh đột biến đạt giá trị 4,56% ở ngày thứ 3 và 8,64% ở ngày thứ 4, nhưng qua ngày thứ 5 thì hàm lượng đường khử lại giảm xuống còn 7,3%. Sự tăng và giảm hàm lượng đường khử tương tự nhau ở mỗi công thức. Điều này là hợp lý, vì nấm mốc khi gặp điều kiện môi trường thuận lợi nó cần phải có thời gian để có thể thích ứng với môi trường trở về trạng thái hoạt động. Nhiệt độ khối lên men sẽ tăng dần, do các loài nấm mốc sinh trưởng và phát triển mạnh, chúng tiết các loại enzyme α -amylase, β -amylase, γ -amylase để chuyển hóa tinh bột thành đường khử (glucose, maltose), tạo nguồn nguyên liệu cho nấm men sử dụng.



Biểu đồ 5.1. Thể hiện hàm lượng đường tổng trong quá trình lên men lỏng

Biểu đồ 5.1 cho thấy hàm lượng đường ở mỗi công thức giảm dần trong 5 ngày lên men ươm, ở nhiệt độ 30 - 32°C. Ở công thức 1, hàm lượng đường tổng ở 3 ngày đầu giảm nhanh. Qua ngày thứ 4 đến thứ 5 thì hàm lượng đường giảm chậm. Nguyên nhân của việc giảm này là do hoạt động đường hóa của nấm mốc và một phần glucose tiếp tục lên men yếm khí để chuyển hóa thành rượu ethylic. Quá trình hàm lượng đường giảm trong thời gian lên men tương tự nhau ở mỗi công thức.

Từ kết quả phân tích trên, chọn thời gian lên men ươm là 4 ngày, ở nhiệt độ 30 - 32°C và phát triển của nấm men và nấm mốc.

Một nghiên cứu khác của Đỗ Tiến Thành (2011), khi nghiên cứu cải tiến quy trình sản xuất rượu đặc sản từ nguyên liệu gạo với bánh men thuộc bắc thì kết quả thời gian ủ cơm là 2 - 3 ngày là thích hợp nhất.

Theo nghiên cứu của Nguyễn Kim Đông và cộng sự (2012), khi tiến hành ủ cơm ở nhiệt độ 30 - 40°C, sau 48 giờ ủ hiếu khí hàm lượng glucose tạo thành cao nhất. Sau đó kéo dài thời gian ủ đến 72 giờ và 96 giờ thì hàm lượng đường khử giảm xuống. Theo những nghiên cứu đã công bố thì kết quả nghiên cứu này không có sự khác biệt nhiều.

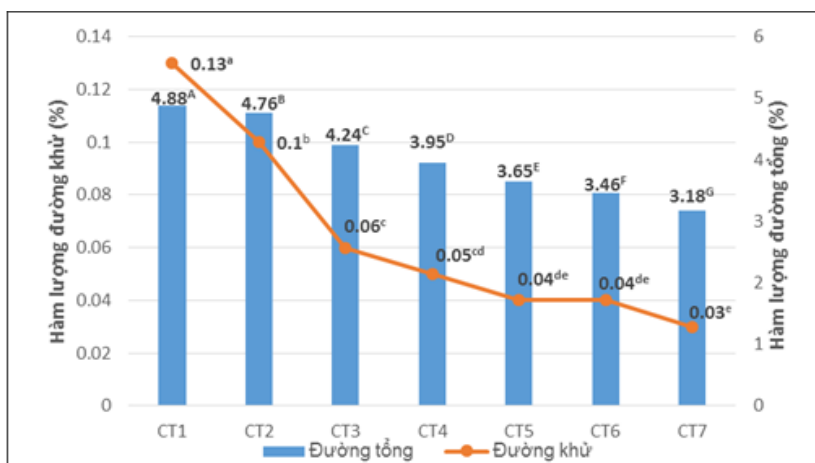
5.1.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ bánh men/ nguyên liệu đến khả năng sản xuất rượu

Tỷ lệ phối trộn bánh men/ nguyên liệu là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến khả năng lên men trong sản xuất rượu. Nếu tỷ lệ phối trộn bánh men thích hợp sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho nấm men phát triển và mùi vị hài hòa cho sản phẩm.

Sau quá trình lên men rắn, tiến hành quá trình lên men lỏng ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 9 ngày với các tỷ lệ phối bánh men/ nguyên liệu rồi tiến hành xác định các chỉ tiêu của dịch lên men, độ rượu và đánh giá cảm quan để chọn ra tỷ lệ phối trộn thích hợp.

5.1.2.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn bánh men đến hàm lượng đường tổng, đường khử và nồng độ rượu

Hàm lượng đường sót được xem là chỉ tiêu quan trọng và ảnh hưởng đến chất lượng thành phẩm sau khi kết thúc quá trình lên men.



Biểu đồ 5.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ bánh men đến sự thay đổi hàm lượng đường tổng và đường khử

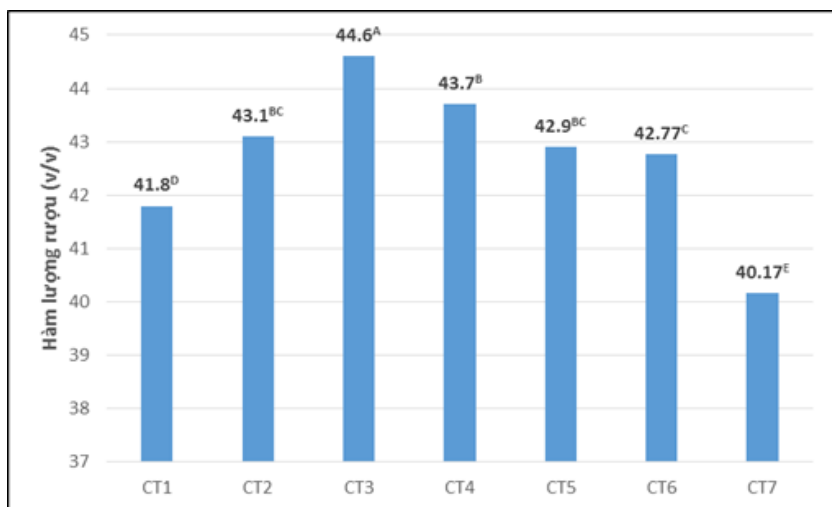
Ghi chú: - A, B, C, D, E, F, G: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

- a, b, c, d, e: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

Để khảo sát ảnh hưởng tỷ lệ phối trộn bánh men đến khả năng lên men rượu với các tỷ lệ: 6 g; 7 g; 8 g; 9 g; 10 g; 11 g; 12 g với 1 kg gạo. Sau thời gian 9 ngày lên men lỏng, xác định hàm lượng đường tổng, đường khử tạo thành. Kết quả phân tích được thể hiện trong biểu đồ 5.2.

Biểu đồ 5.2 cho thấy khi tăng tỷ lệ bánh men từ 6 g đến 12 g (công thức 1 đến công thức 7) thì hàm lượng đường tổng và đường khử giảm. Hàm lượng đường tổng cao nhất là 4,88% ở tỷ lệ bánh men là 6 g (công thức 1), hàm lượng đường tổng thấp nhất là 3,18% ở tỷ lệ 12 g (công thức 7). Bên cạnh đó, hàm lượng đường khử cũng giảm, hàm lượng đường khử cao nhất là 0,13% ở tỷ lệ 6 g (công thức 1) và thấp nhất là 0,03% ở tỷ lệ 12 g (công thức 7). Nguyên nhân là do lượng bánh men dùng quá nhiều, môi trường lên men không đủ cơ chất cho nấm men phát triển. Mặt khác, khi tỷ lệ bánh men ít quá thì hàm lượng đường còn sót lại quá nhiều ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm. Vì vậy, hàm lượng đường tổng, khử tạo thành có xu hướng giảm xuống một cách rõ rệt.

Nồng độ rượu là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hiệu suất của quá trình sản xuất rượu. Bên cạnh đó nồng độ rượu cũng chịu ảnh hưởng của hàm lượng đường còn sót lại trong quá trình kết thúc thời gian lên men. Ảnh hưởng của tỷ lệ bánh men/ nguyên liệu đến nồng độ rượu được thể hiện ở biểu đồ 5.3.



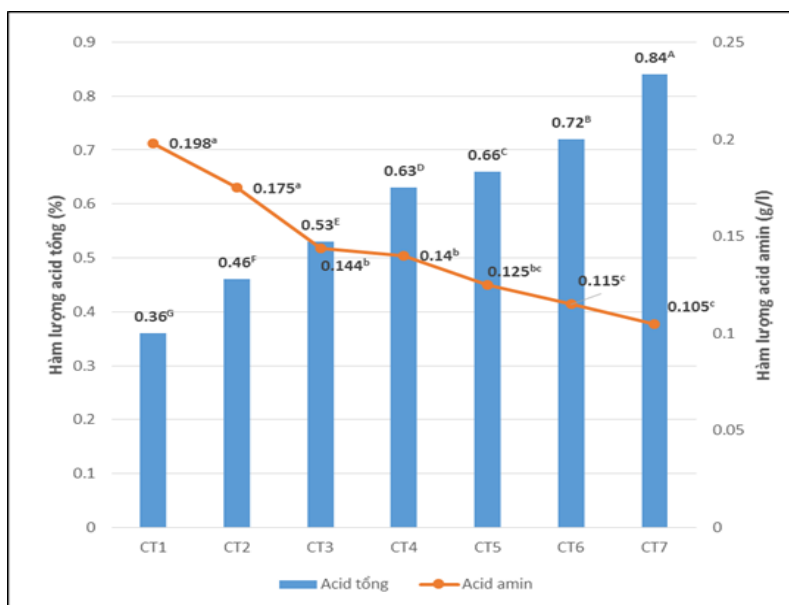
Biểu đồ 5.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ bánh men đến sự thay đổi nồng độ rượu

Ghi chú: A, B, C, D, E: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

Nhìn vào biểu đồ hình 5.3 cho thấy khi tăng tỷ lệ bánh men từ 6 g đến 8 g (công thức 1, 2, 3) thì nồng độ rượu tăng từ 41,8 v/v lên 44,6 v/v. Tuy nhiên khi tăng tỷ lệ 9 g đến 12 g (công thức 4, 5, 6, 7) thì nồng độ rượu giảm từ 43,7 v/v xuống 40,17 v/v. Nguyên nhân là do khi cùng một thời gian lên men, ở tỷ lệ bánh men nhiều thì quá trình lên men diễn ra nhanh hơn, kéo theo đó là hàm lượng cơ chất sẽ giảm nhanh hơn, thêm vào đó là một phần nhỏ ethanol bị vi khuẩn oxy hóa thành các acid nên độ rượu sẽ giảm. Còn nếu lượng bánh men ít thì quá trình nấm men ít nên khả năng chuyển hóa đường tạo rượu không cao nên nồng độ rượu thấp.

5.1.2.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn bánh men đến lượng acid tổng và acid amin

Trong quá trình lên men rượu có rất nhiều loại acid hữu cơ khác nhau được tạo thành. Acetic acid xuất hiện trong quá trình lên men rượu do thành phần của hạt gạo có polysaccharides, protein và chất béo. Tuy nhiên, nếu hàm lượng acid nhiều quá lại không có lợi. Bên cạnh đó, thì hàm lượng acid amin là yếu tố ảnh hưởng đến mùi vị của sản phẩm. Kết quả xác định hàm lượng acid và acid amin được thể hiện ở biểu đồ 5.4.



Biểu đồ 5.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn bánh men đến sự thay đổi acid và acid amin

Ghi chú: - A, B, C, D, E, F, G: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

- a, b, c, d, e, f, g: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

Biểu đồ 5.4 cho thấy hàm lượng acid tăng khi tăng tỷ lệ bánh men từ 6 g đến 12 g tương ứng hàm lượng acid tăng từ 0,36% lên 0,84%. Hàm lượng acid cao nhất ở tỷ lệ bánh men 12 g (công thức 7) và thấp nhất ở tỷ lệ 6 g (công thức 1). Nguyên nhân là do các loại nấm như *Aspergillus* spp. và *Rhizopus* spp. là nhân tố giúp tạo ra acid hữu cơ, trong quá trình lên men rượu có sự gia tăng nồng độ acid tổng số và thay đổi thành phần acid hữu cơ của môi trường lên.

Biểu đồ 5.4 cho thấy hàm lượng acid amin giảm khi tăng tỷ lệ bổ sung bánh men. Hàm lượng acid amin nhiều nhất ở tỷ lệ 6 g là 0,198% và thấp nhất ở tỷ lệ bánh men 12 g là 0,105. Nguyên nhân hình thành acid amin là do các acid amin thường gặp trong phân tử protein, tham gia vào việc tạo mùi vị cho những sản phẩm. Ở nhiệt độ cao, trong môi trường acid sẽ làm phân hủy hoàn toàn Trp và một phần Thr, Ser, Met, Cys tạo vị ngọt và đắng cho rượu thành phẩm. Khi tỷ lệ bánh men tăng thì sẽ tạo ra môi trường acid tạo điều kiện cho acid amin phản ứng tạo ra các thành phần khác làm acid amin giảm. Điều này phù hợp với tính chất hóa học của acid amin theo (Lê Ngọc Tú, 2002).

Để khảo sát tỷ lệ bánh men phù hợp nhất cho quá trình lên men, tiến hành cảm quan để cho sản phẩm có chất lượng tốt nhất.

Bảng 5.2 cho thấy tỷ lệ bánh men 8 g (công thức 3) cho kết quả cảm quan tốt nhất. Tỷ lệ bánh men 9 g (công thức 4) cũng có kết quả cảm quan tương đối tốt. Còn các tỷ lệ bánh men còn lại thì kết quả cảm quan không được tốt.

Bảng 5.2. Kết quả đánh giá cảm quan của sản phẩm rượu

Tỷ lệ bánh men/nguyên liệu	Đặc điểm màu sắc, độ trong, mùi và vị của sản phẩm
CT1	Chất lỏng trong, màu hơi khác một ít so với màu sản phẩm, vị hơi đắng, nồng.
CT2	Chất lỏng trong, màu hơi khác so với màu sản phẩm, vị ngọt, hơi nồng.
CT3	Chất lỏng trong suốt, không vẩn đục và vật thể lạ, màu hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm, có vị ngọt ở hậu vị, êm dịu.
CT4	Chất lỏng trong suốt, không vẩn đục và vật thể lạ, màu hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm, vị ngọt và hơi nồng.
CT5	Chất lỏng hơi đục, màu không đặc trưng cho sản phẩm, có vị đắng, nồng.
CT6	Chất lỏng hơi đục, màu không đặc trưng cho sản phẩm, có vị hơi đắng, nồng.
CT7	Chất lỏng đục nhiều, màu không đặc trưng cho sản phẩm, có vị đắng nồng.

Vì vậy, kết hợp các chỉ tiêu phân tích và đánh giá cảm quan trên, chọn công thức tỷ lệ phối trộn bánh men là 8 g/1 kg gạo là công thức thích hợp nhất cho quá trình lên men và cũng là cơ sở để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

5.1.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men

Nhiệt độ có ảnh hưởng rất lớn đến quá trình lên men, nhiệt độ thích hợp sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho nấm men

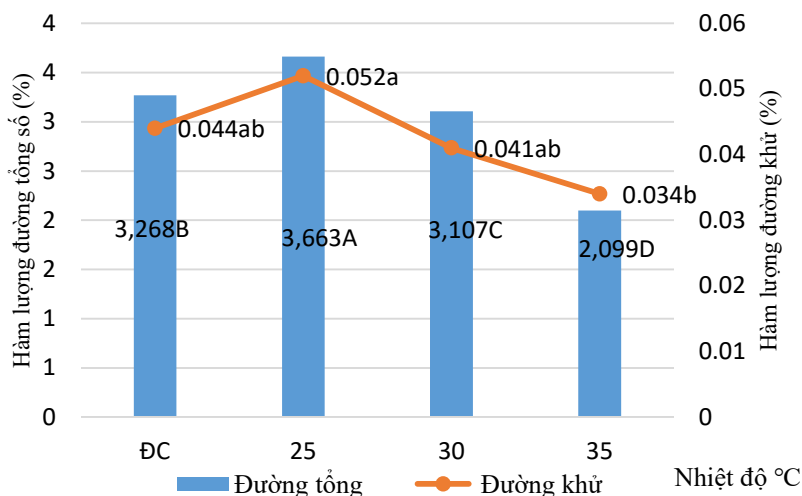
phát triển để thực hiện quá trình lên men rượu, ngược lại nếu nhiệt độ không thích hợp sẽ làm đình chỉ hoạt động của nấm men và tạo điều kiện cho các chủng vi sinh vật đại phát triển.

Cơm sau khi ủ đã đạt yêu cầu thì sẽ được bổ sung thêm nước vào theo tỷ lệ gạo:nước là 1:2. Để khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men, tôi tiến hành lên men ở các mức nhiệt độ khác nhau: 25°C, 30°C, 35°C và mẫu ĐC với thời gian lên men được cố định là 15 ngày. Xác định các chỉ tiêu của dịch lên men và độ rượu để so sánh khả năng lên men giữa các mức nhiệt độ nhằm chọn ra nhiệt độ thích hợp.

5.1.3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng đường tổng số và đường khử

Trong sản xuất rượu, độ rượu là chỉ tiêu quan trọng hàng đầu đối với chất lượng của các sản phẩm rượu trong quá trình lên men. Tuy nhiên, để đánh giá chất lượng và hiệu suất của quá trình lên men ngoài hàm lượng ethanol sinh ra, lượng đường sót được xem là chỉ tiêu quan trọng và ảnh hưởng đến chất lượng thành phẩm sau khi kết thúc quá trình lên men (Huỳnh Trần Toàn và cs., 2014).

Sự thay đổi hàm lượng đường tổng số và đường khử theo các mức nhiệt độ khác nhau sau 15 ngày lên men được trình bày ở biểu đồ 5.5.



Biểu đồ 5.5. Hàm lượng đường tổng số và đường khử ở các mức nhiệt độ

Ghi chú: - A, B, C, D: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

- a, b: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

Kết quả thể hiện ở biểu đồ 5.5 cho thấy: cùng một thời gian lên men như nhau nhưng với các mức nhiệt độ khác nhau thì hàm lượng đường còn sót lại trong dịch lên men ở các mẫu là khác nhau. Nhìn chung, hàm lượng đường tổng số và đường khử còn sót lại tỷ lệ nghịch với nhiệt độ.

Tại nhiệt độ 25°C, sau 15 ngày lên men thì hàm lượng đường tổng số còn sót lại nhiều nhất (3,663%) và có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê so với hàm lượng đường ở các nhiệt độ còn lại. Khi nhiệt độ lên men càng tăng thì hàm

lượng đường sót lại càng ít, ở nhiệt độ 35°C thì hàm lượng đường tổng số còn sót lại là thấp nhất (2,099%).

Tương tự, hàm lượng đường khử ở mức nhiệt độ 25°C cũng đạt giá trị cao nhất (0,052%), tuy nó không có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê so với hàm lượng đường khử ở nhiệt độ 30°C và ĐC, nhưng nó có sự sai khác có ý nghĩa so với hàm lượng đường khử ở mức nhiệt độ 35°C (0,034%).

Nguyên nhân là do trong dịch lên men vẫn tồn tại cả nấm mốc và nấm men, hệ vi sinh vật này khá đa dạng với nhiều loài khác nhau, một số loài nấm men còn có khả năng vừa thực hiện chức năng đường hóa, vừa lên men. Khi ở nhiệt độ thấp thì hoạt động của nấm men sẽ chậm hơn, ở nhiệt độ cao thì quá trình đường hóa và lên men đều diễn ra mạnh mẽ và nhanh chóng do đó hàm lượng đường tổng số còn sót lại và đường khử tạo ra sẽ ít hơn ở nhiệt độ thấp (Lê Xuân Phương, 2001).

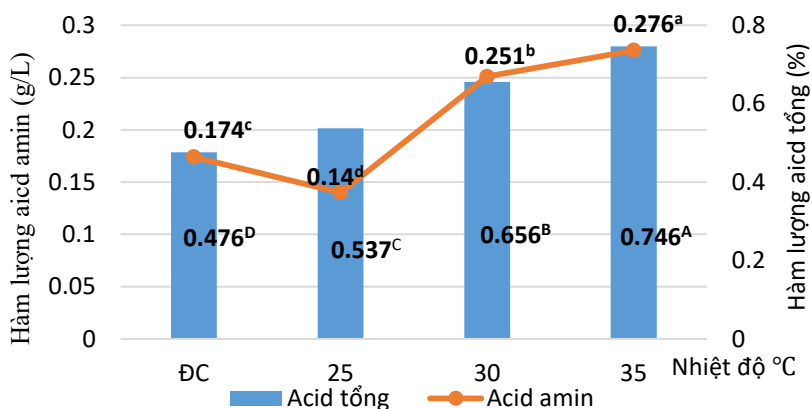
Theo Lương Đức Phẩm (2010) thì nhiệt độ tối thích của các loài nấm men thường ở 28 - 32°C, nấm men ở nhiệt độ trên 32°C thì phát triển nhanh nhưng lại tạo ra nhiều sản phẩm phụ làm giảm chất lượng rượu và ở nhiệt độ cao (đặc biệt trên 35°C) thì các tạp khuẩn sẽ phát triển rất nhanh, làm hỏng quá trình lên men. Nấm men sinh trưởng ở nhiệt độ tương đối thấp (22 - 26°C) có thể thực hiện các quá trình lên men tốt hơn, thời gian lên men kéo dài, ít sinh ra tạp chất là các sản phẩm phụ.

5.1.3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng acid tổng số và acid amin

Dịch lên men không chỉ là một môi trường dinh dưỡng tốt cho nấm men mà còn cho các vi sinh vật khác. Trong nước,

trong không khí cũng như trong các nguồn nguyên liệu tham gia vào thành phần môi trường luôn chứa một lượng vi sinh vật có hại cho lên men rượu. Các vi sinh vật nếu lẫn vào dung dịch đường, chúng sẽ biến đường thành các sản phẩm khác và do đó làm giảm hiệu suất lên men rượu.

Biểu đồ 5.6 thể hiện rõ sự tạo thành acid tổng và acid amin của dịch lên men rượu sau 15 ngày lên men ở các mức nhiệt độ khác nhau:



Biểu đồ 5.6. Hàm lượng acid tổng và acid amin ở các mức nhiệt độ

Ghi chú: - A, B, C, D: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

- a, b, c, d: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

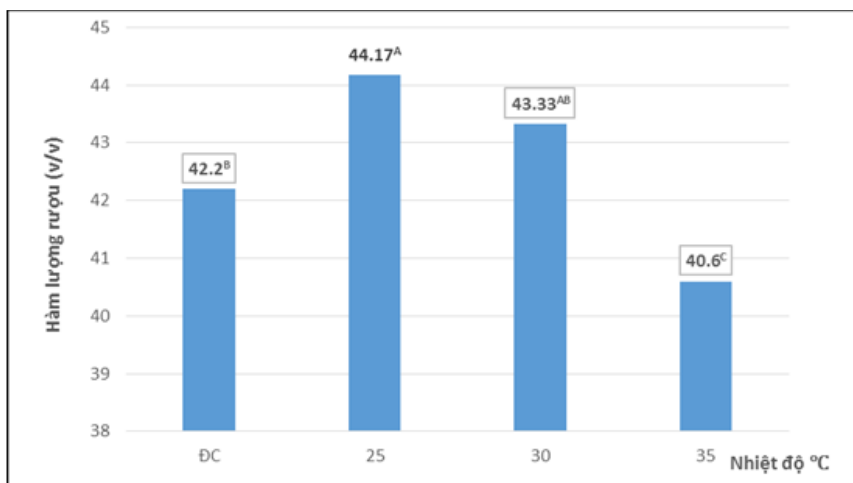
Kết quả thể hiện ở biểu đồ 5.6 cho thấy: Sau 15 ngày lên men, nhiệt độ lên men càng cao thì khả năng sinh acid càng tăng. Cụ thể, ở các mức nhiệt độ ĐC, 25°C, 30°C và 35°C thì hàm lượng acid thu được tương ứng là 0,476%; 0,537%;

0,656%; 0,746%. Trong đó, hàm lượng acid tổng tạo thành đạt giá trị thấp nhất là ở nhiệt độ ĐC (0,476%), hàm lượng acid tổng tạo thành đạt giá trị cao nhất là ở 35°C (0,746%) và các giá trị acid tổng ở các mức nhiệt độ khác nhau đều có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$. Sự tăng hàm lượng acid tổng này là do trong dịch lên men luôn tồn tại các loại vi khuẩn lactic và vi khuẩn acetic. Nhiệt độ tối thích của vi khuẩn acetic là 20 - 35°C, dịch lên men có độ alcohol thấp là môi trường thuận lợi cho vi khuẩn acetic phát triển, chúng oxy hóa alcohol thành acid acetic; vi khuẩn lactic có khoảng nhiệt độ tối ưu là 35 - 38°C, do đó nó cũng góp phần vào quá trình hình thành acid, chuyển hóa rượu thành acid lactic (Lê Xuân Phương, 2001). Khi nhiệt độ cao kết hợp với thời gian lên men dài (15 ngày) thì sẽ tạo điều kiện cho vi khuẩn hoạt động sinh acid, làm nồng độ acid trong dịch lên men tăng.

Hàm lượng acid amin sinh ra cũng có chiều hướng tăng theo mức tăng của nhiệt độ như ở chỉ tiêu acid tổng. Tại nhiệt độ 25°C, hàm lượng acid amin có giá trị thấp nhất là 0,14 g/L và đạt giá trị cao nhất là 0,28 g/L ở mức nhiệt độ 35°C (nhiều gấp 2 lần hàm lượng acid amin ở nhiệt độ 25°C). Nguyên nhân là do khi nhiệt độ lên men cao thì quá trình lên men nhanh và sẽ dẫn đến nhanh kết thúc mặc dù lượng cơ chất còn lại nhiều. Bình thường thì nấm men sẽ sử dụng acid amin từ môi trường để tổng hợp nên protein làm thành phần cho các cấu tử cũng như enzyme của tế bào (Lương Đức Phẩm, 2009). Nhưng khi quá trình lên men kết thúc thì acid amin được thủy phân ra không được VSV sử dụng mà cứ tích tụ dần làm cho nồng độ acid amin trong dịch lên men tăng.

5.1.3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng rượu

Trong sản xuất rượu, độ cồn là chỉ tiêu quan trọng hàng đầu đối với chất lượng của các sản phẩm rượu trong quá trình lên men. Với thời gian lên men 15 ngày ở các mức nhiệt độ khác nhau thì đều có sự tạo thành rượu, tuy nhiên hàm lượng rượu có sự biến động giữa các nhiệt độ và được thể hiện ở biểu đồ 5.7.



Biểu đồ 5.7. Hàm lượng rượu ở các mức nhiệt độ

Ghi chú: A, B, C: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

Kết quả thể hiện ở hình 5.7 cho thấy hàm lượng rượu sau 15 ngày lên men ở nhiệt độ 35°C là thấp nhất (40,6% v/v) và khác biệt có ý nghĩa với hàm lượng rượu ở các mức nhiệt độ khác với mức ý nghĩa 5%. Hàm lượng rượu của rượu lên men ở nhiệt độ 25°C là cao nhất (44,17% v/v) nhưng nó không có sự khác biệt có nghĩa ý nghĩa về mặt thống kê với hàm lượng

rượu của rượu lên men ở nhiệt độ 30°C. Hàm lượng rượu của rượu được lên men ở nhiệt độ 30°C và ĐC cũng không có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê. Điều này là do khi cùng một thời gian lên men, ở nhiệt độ cao hơn thì quá trình lên men diễn ra nhanh và kết thúc nhanh mặc dù lượng cơ chất vẫn còn. Trong môi trường dịch lên men tồn tại hệ vi sinh vật rất đa dạng, quá trình lên men kết thúc nhưng những loại vi khuẩn khác vẫn hoạt động, chúng sẽ oxy hóa rượu để tạo thành acid và các chất không mong muốn khác, kết quả là làm cho độ rượu giảm (Lê Xuân Phương, 2001). Mặt khác, theo Navarro và cộng sự (1978) khi nhiệt độ tăng cao thì lượng rượu tích lũy nội bào trong tế bào nấm men tăng cao làm ngưng trệ sự phát triển của nấm men. Vì vậy, lượng rượu sinh ra giảm khi nhiệt độ môi trường tăng.

Với các kết quả khảo sát ở trên, nhận thấy rằng nhiệt độ thích hợp cho quá trình lên men rượu men lá là 25 - 30°C, nhưng để cho quá trình lên men được hiệu quả, ít sinh các tạp chất, thu được rượu có nồng độ cao và đồng thời dễ kiểm soát và điều chỉnh nhiệt độ, chọn mức nhiệt độ là 25°C. Nhiệt độ này sẽ được áp dụng để khảo sát ảnh hưởng của thời gian đến quá trình lên men và chất lượng rượu thành phẩm.

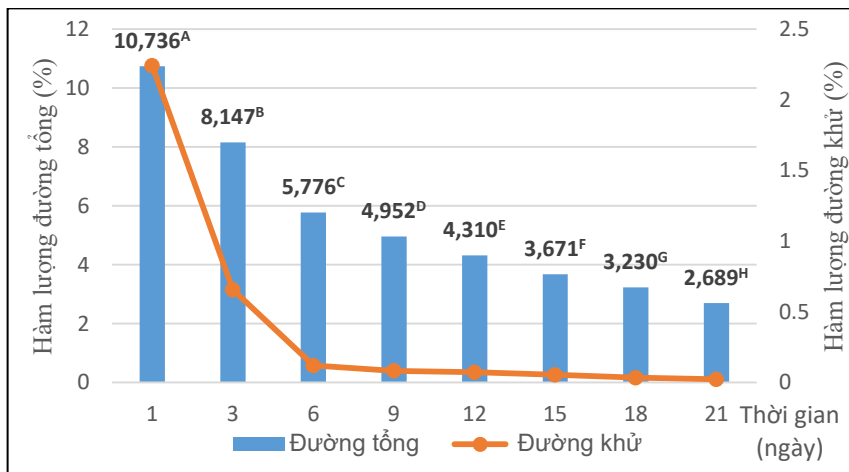
5.1.4. Ảnh hưởng của thời gian đến quá trình lên men

Để quá trình lên men rượu đạt hiệu quả, ngoài việc xác định được tỷ lệ phối trộn giữa gạo và bánh men, nhiệt độ lên men, thì thời gian cũng là yếu tố quan trọng để quyết định chất lượng của rượu thành phẩm trong quá trình lên men sản xuất rượu (Vailiant và cs., 1995).

Tiến hành lên men rượu ở nhiệt độ 25°C đã khảo sát được ở trên với các thời gian lên men khác nhau là: 6 ngày, 9 ngày, 12 ngày, 15 ngày, 18 ngày và 21 ngày. Các chỉ tiêu được theo dõi trong suốt quá trình lên men đối với dịch lên men là: hàm lượng đường tổng số, đường khử, pH, acid tổng số, acid amin, nồng độ rượu.

5.1.4.1. Sự biến đổi của hàm lượng đường tổng số và đường khử

Quá trình lên men là quá trình thực hiện các hoạt động sống của các vi khuẩn, nấm mốc, nấm men có trong bánh men ở môi trường sống. Biểu đồ 5.8 thể hiện sự giảm của hàm lượng đường trong suốt thời gian lên men.



Biểu đồ 5.8. Sự biến đổi của hàm lượng đường tổng số và đường khử

Ghi chú: - A, B, C, D, E, F, H, G: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

- a, b, c, d,: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

Kết quả ở biểu đồ 5.8 cho thấy: hàm lượng đường tổng số và đường khử của dịch lên men có xu hướng giảm dần theo thời gian lên men.

Lượng đường tổng số (đường sót) còn lại ở trong dịch lên men giảm nhanh ở 6 ngày đầu, từ 10,736% ở ngày thứ 1, ngày thứ 3 giảm còn 8,147% và đến ngày thứ 6 hàm lượng đường tổng số còn là 5,776%. Nguyên nhân là do trong bánh men có hệ VSV đa dạng với nhiều loài nấm mốc, nấm men, khác nhau, có nhiều loài vừa có khả năng đường hóa, vừa có khả năng lên men (*Mucor*, *Rhizopus*) (Lê Xuân Phương, 2001). Thời kỳ đầu của quá trình lên men, hoạt động lên men của vi sinh vật sẽ diễn ra mạnh mẽ do lượng cơ chất dồi dào và đa dạng. Các ngày về sau hàm lượng đường tổng số giảm có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê $p < 0,05$ nhưng tốc độ chậm dần. Đến ngày thứ 21, hàm lượng đường tổng số còn lại là 2,689%. Điều này là do thời gian lên men dài, hoạt động của nấm men yếu dần do lượng cơ chất dần cạn kiệt.

Cùng với sự hao hụt của hàm lượng đường tổng số thì hàm lượng đường khử cũng thể hiện sự suy giảm một cách rõ rệt ở 9 ngày đầu của quá trình lên men. Từ hàm lượng 2,242% ở ngày thứ nhất, đến ngày lên men thứ 9 thì hàm lượng đường khử còn lại là 0,081%, sự suy giảm này có sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê. Từ ngày thứ 9 đến ngày 15 thì hàm lượng đường khử có giảm nhưng xét về mặt ý nghĩa thống kê thì nó không có sự sai khác. Khi thời gian lên men đạt từ 18 - 21 ngày thì hàm lượng đường khử còn lại khá ít với giá trị là 0,021%.

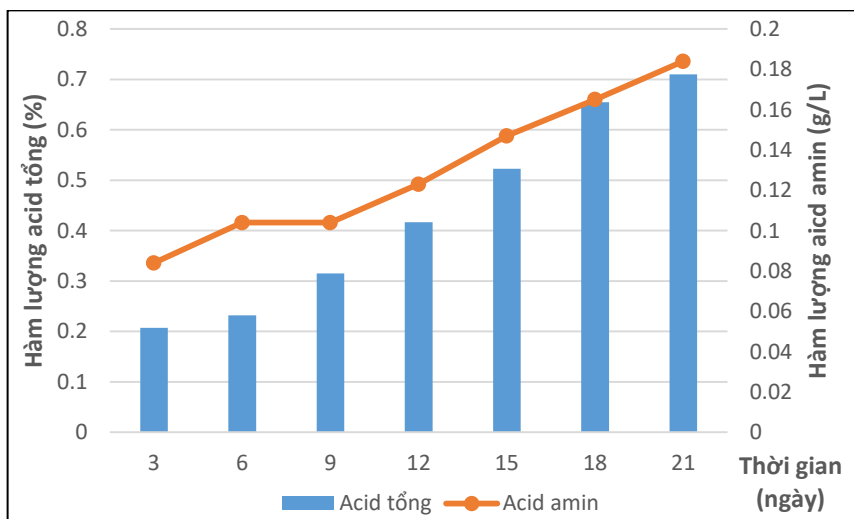
Nguyên nhân là nấm mốc tiết ra các enzyme cảm ứng α -amylase, γ -amylase để chuyển hóa tinh bột thành đường glucose. Bình thường thì glucose sẽ ức chế phản ứng thủy phân tinh bột, nhưng hệ vi sinh vật ở trong bánh men lá rất đa dạng, các loài nấm mốc *Mucor*, *Rhizopus* vừa có khả năng đường hóa, vừa có khả năng rượu hóa, đồng thời nấm men cũng sẽ tích cực chuyển hóa đường thành rượu. Kết quả là lượng đường glucose tạo thành bao nhiêu ngay lập tức sẽ chuyển hóa thành rượu, một phần sử dụng cho hoạt động sống của chính các loài vi sinh vật. Vì vậy mà hàm lượng đường trong dịch lên men giảm dần theo thời gian (Nguyễn Thị Hiền và cs., 2006).

Kết quả nghiên cứu này tương tự với (Đỗ Tiến Thành, 2011) khi nghiên cứu cải tiến quy trình sản xuất rượu đặc sản từ nguyên liệu gạo với bánh men thuốc bắc đã cho kết quả là khi tiến hành lên men ở 72 giờ thì hàm lượng đường tổng số và đường khử ít hơn khi lên men ở thời gian 48 giờ. Điều này chứng tỏ thời gian lên men càng dài thì hàm lượng đường tổng số và đường khử còn lại trong dịch lên men càng ít.

5.1.4.2. Sự biến đổi của hàm lượng acid tổng và acid amin

Trong quá trình lên men rượu gạo có rất nhiều loại acid hữu cơ khác nhau được tạo thành (các acid acetic, citric, malic, lactic và succinic), trong đó, acid acetic chiếm một phần đáng kể. Thời gian đầu của quá trình lên men, sự tạo thành acid là có lợi vì nó tạo môi trường có độ pH thích hợp cho nấm men phát triển, tuy nhiên nếu hàm lượng acid nhiều quá lại không có lợi.

Sự thay đổi hàm lượng acid tổng, acid amin của dịch lên men trong suốt thời gian lên men được thể hiện ở biểu đồ 5.9.



Biểu đồ 5.9. Sự biến đổi của hàm lượng acid tổng số và acid amin

Ghi chú: - A, B, C, D, E, F: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

- a, b, c, d, e, f: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

Kết quả phân tích ở hình 5.9 cho thấy, trong suốt quá trình lên men, hàm lượng acid tổng số và acid amin tăng theo thời gian.

Trong khoảng thời gian từ ngày thứ nhất đến ngày thứ 6, hàm lượng acid tổng số có tăng nhẹ nhưng không có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê. Sau ngày thứ 6, hàm lượng acid tăng nhanh rõ rệt và đạt giá trị lớn nhất vào ngày thứ 21 với giá trị là 0,71%, tăng gấp 3,43 lần so với hàm lượng acid

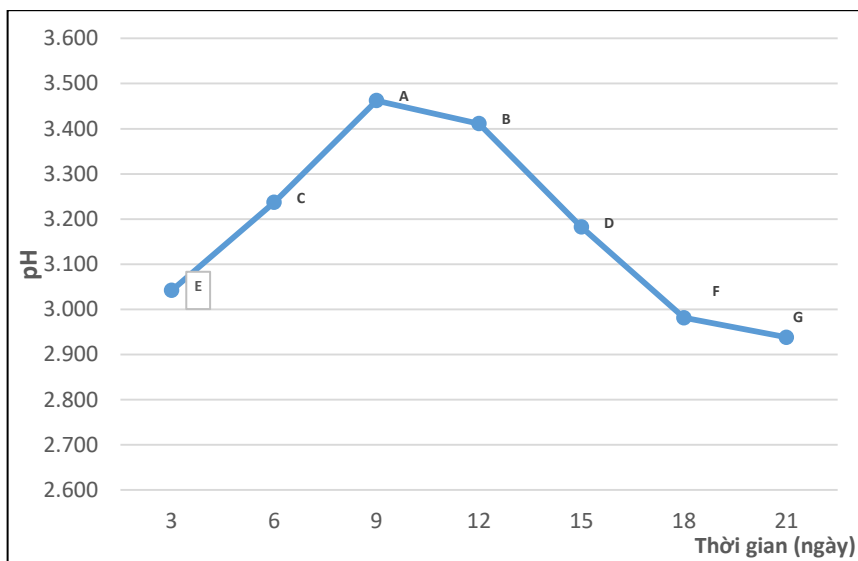
ban đầu. Nguyên nhân là do trong quá trình lên men, song song với việc tạo ra rượu etylic thì còn tạo ra các sản phẩm phụ, một trong những sản phẩm tiêu biểu đó là acid. Ngay giai đoạn đầu của quá trình lên men đã có sự hình thành của acid do hoạt động của các loại vi khuẩn như: vi khuẩn acetic, lactic... chúng sẽ tạo ra môi trường thuận lợi cho nấm men phát triển. Sau đó, trong suốt quá trình lên men với điều kiện môi trường có độ alcohol thấp thì vi khuẩn sẽ oxy hóa alcohol tạo thành acid, đồng thời trong quá trình lên men của nấm men thì cũng có tạo ra sản phẩm phụ là acid (Nguyễn Thị Hiền và cs., 2006).

Hàm lượng acid amin cũng có sự tăng nhẹ nhưng chuyển biến chưa rõ rệt ở 9 ngày đầu, từ ngày thứ 6 đến ngày thứ 9, lượng acid amin hầu như không thay đổi, có giá trị 0,104 %. Sau ngày thứ 9, hàm lượng acid amin tăng nhanh và đạt giá trị lớn nhất ở ngày lên men thứ 21 với giá trị là 0,184%, gấp hơn 2 lần so với lượng acid amin ban đầu của dịch lên men. Trong lên men sản xuất rượu, hàm lượng acid amin cao sẽ làm ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu, lên men không triệt để, ảnh hưởng đến mùi vị, làm rượu không thơm ngon, là nguyên nhân chính tạo ra các loại rượu bậc cao (dầu fusel), chỉ cần một lượng nhỏ lẫn vào trong rượu etylic cũng gây ra mùi hôi khó chịu nên các rượu bậc cao còn được gọi là dầu khét (Lê Xuân Phương, 2001).

5.1.4.3. Sự biến đổi của giá trị pH theo thời gian lên men

Ngoài các chỉ tiêu đã phân tích ở trên, thì pH cũng là một trong những yếu tố chính thể hiện khả năng đường hóa,

lên men của quá trình lên men rượu. Sự biến đổi của giá trị pH trong suốt thời gian lên men được thể hiện ở hình 5.10.



Biểu đồ 5.10. Sự biến đổi của giá trị pH theo thời gian lên men

Ghi chú: A, B, C, D, E, F, G: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

Kết quả phân tích ở biểu đồ 5.10 cho thấy, trong suốt thời gian lên men, giá trị pH luôn có sự tăng giảm rõ rệt. Trước khi bắt đầu quá trình lên men thì nấm men cần phải có một giá trị pH thích hợp để phát triển, lúc này pH của môi trường giảm xuống do hoạt động của vi khuẩn sinh acid (Nguyễn Thị Hiền và cs., 2006; Lê Xuân Phương, 2001). Ở 9 ngày đầu của quá trình lên men, pH tăng nhanh theo thời gian, từ giá trị 3,042 ở ngày thứ 3, đến ngày thứ 9 thì pH tăng lên 3,462 và đạt giá trị cực đại. Đây là khoảng thời gian nấm men sinh trưởng, sinh sản

mạnh mẽ để phát triển về số lượng và khối lượng, song song với đó là quá trình chuyển hóa rượu, do đó pH môi trường tăng lên. Từ ngày thứ 9 đến ngày 12, pH của dịch lên men có giảm nhưng không đáng kể. Lúc này hoạt động của nấm men đang ở trạng thái cân bằng, lượng rượu tạo ra nhiều làm cho pH môi trường ổn định. Sau ngày 12 thì giá trị pH bắt đầu giảm nhanh chóng và có giá trị thấp nhất là 2,938 vào ngày lên men thứ 21. Điều này là do môi trường dịch lên men dần dần cạn chất dinh dưỡng nên hoạt động của nấm men chậm lại, bên cạnh quá trình tạo ra rượu thì còn có hoạt động tạo ra các chất khác như acid, rượu bậc cao... làm cho pH hạ thấp xuống.

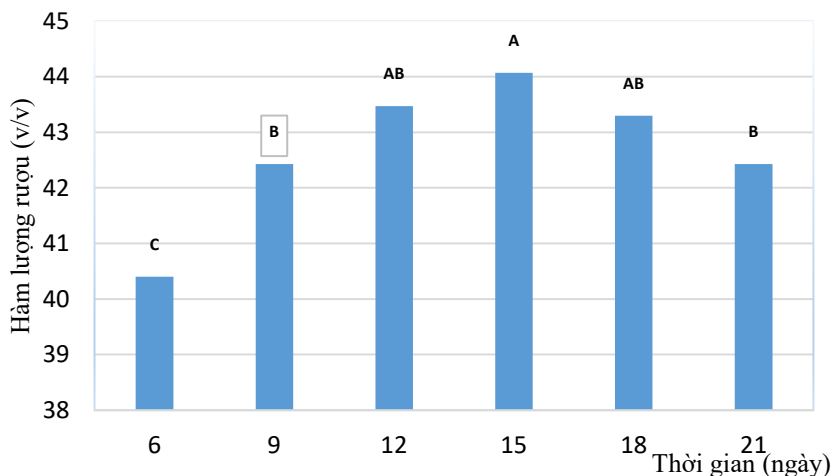
Như vậy, nấm men trong bánh men lá thực hiện quá trình lên men mạnh mẽ tại giá trị pH là 3,5.

Theo Đoàn Văn Thước và cộng sự (2015), khi định loại và nghiên cứu khả năng lên men rượu của chủng nấm men *Candida tropicalis* MN2 phân lập từ quả bần chua đã cho kết quả là tại giá trị pH 3,5 thích hợp cho quá trình lên men của nó.

5.1.4.4. Sự biến đổi hàm lượng rượu theo thời gian lên men

Để xác định được thời gian lên men thích hợp, tiến hành lên men rượu ở nhiệt độ 25°C và chưng cất rượu ở các khoảng thời gian lên men khác nhau, độ rượu thu được ở các thời gian lên men khác nhau được thể hiện ở biểu đồ 5.11.

Kết quả ở biểu đồ 5.11 cho thấy, thời gian lên men càng dài thì độ rượu thu được càng cao, nhưng đến một thời điểm nào đó thì độ rượu sẽ giảm xuống do quá trình lên men đã dần kết thúc.



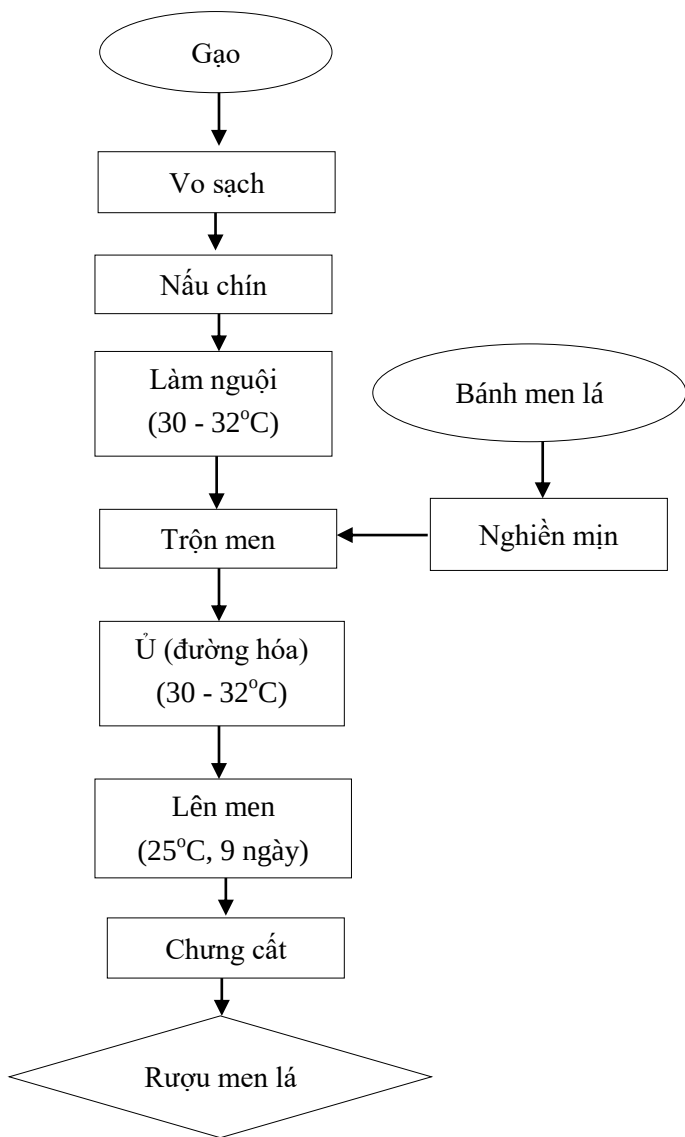
Biểu đồ 5.11. Sự biến đổi hàm lượng rượu theo thời gian lên men

Ghi chú: A, B, C: các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$.

Khi tăng thời gian lên men từ 6 - 15 ngày thì độ rượu tăng theo thời gian, tại thời điểm 6 ngày lên men độ rượu thu được là 40,4%v/v, 9 ngày lên men độ rượu thu được là 42,43 %v/v, 12 ngày lên men có độ rượu là 43,47%v/v, sau 15 ngày lên men thu được rượu có độ rượu là 44,07%v/v và đạt giá trị lớn nhất. Lúc này, do môi trường dịch lên men có hàm lượng cơ chất dồi dào nên hoạt động lên men diễn ra mạnh mẽ, hàm lượng rượu tăng lên theo thời gian. Sau đó, kéo dài thời gian lên men thì độ rượu lại giảm xuống, có thể do tại thời điểm này, lượng dinh dưỡng trong dịch lên men bắt đầu cạn, quá trình trao đổi chất bắt đầu ngừng lại, hoạt động lên men dần

kết thúc và các quá trình chuyển hóa rượu thành các hợp chất không mong muốn (Bauer và cs., 2007). Nhưng nhìn chung tại thời điểm 12 ngày và 18 ngày thì độ rượu lại không có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê so với 15 ngày, tương tự ở thời điểm 9 ngày lên men thì độ rượu thu được cũng không có sự sai khác so với 12 ngày. Mặc dù độ rượu ít có sự sai khác, nhưng khi lên men dài ngày thì sẽ tạo ra nhiều sản phẩm phụ như: rượu bậc cao, furfural, aldehyde, methanol, acid, acid amin... sẽ làm cho mùi vị của rượu không thơm ngon và không kinh tế, do đó nên ưu tiên chọn thời gian lên men ngắn ngày (Nguyễn Thị Hiền và cs., 2003, 2006; Lê Xuân Phương, 2001).

5.1.5. Quy trình chế biến rượu men lá quy mô phòng thí nghiệm



Sơ đồ 5.1. Quy trình sản xuất rượu men lá

5.1.5.1. Thuyết minh quy trình

- Nguyên liệu: gạo Khang Dân được mua của người dân ở xã Phú Mỹ, huyện Phú Vang, tỉnh Thừa Thiên Huế. Yêu cầu: gạo trắng sáng, không bị mốc, không có mùi lạ, lượng tạp chất nhỏ. Độ ẩm từ 12 - 12,5%.

- Bánh men lá: bánh men được sản xuất từ phòng thí nghiệm Khoa Cơ khí và Công nghệ trên cơ sở các chủng vi sinh vật đã được phân lập, tuyển chọn.



(a)



(b)

Hình 5.1. Nguyên liệu chính trong sản xuất rượu gạo

a. Gạo Khang Dân, b. Bánh men lá

- Vo sạch gạo: mục đích để làm sạch các tạp chất (vỏ trấu, đầu hạt thóc...), bụi bẩn, loại bỏ lớp cám bám trên bề mặt gạo để làm giảm lượng dầu cám có trong rượu thành phẩm. Vo khoảng 3 - 4 lần, đến khi nào thấy nước vo gạo trong là được.

- Nấu: mục đích để làm chín gạo, mềm gạo, làm hạt tinh bột trương nở và giải phóng amylose và amylopectin, chuyển hạt tinh bột từ trạng thái không hòa tan thành trạng thái hòa

tan trong nước, nhằm tạo điều kiện cho enzyme amylase dễ dàng tấn công. Do đó, nấu 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.

- Làm nguội: cơm sau khi nấu chín thì cần phải được làm tơi cơm và làm nguội ở dưới quạt đến nhiệt độ khoảng 30 - 32°C. Vì đó là nhiệt độ thích hợp để cho nấm mốc, nấm men sống và phát triển, nếu nhiệt độ cao quá thì hệ vi sinh vật trong bánh men sẽ bị tiêu diệt, khi đó quá trình lên men không còn ý nghĩa.

- Trộn men: cơm sau khi đã được làm nguội đến nhiệt độ 30 - 32°C, bánh men đã được nghiền mịn, ta tiến hành trộn cơm và bánh men với nhau theo tỷ lệ gạo: bánh men là 1000:8 (g). Quá trình trộn cần phải thực hiện đều tay để nguyên liệu phân bố đều vào nhau, hệ vi sinh vật trong bánh men được phân bố đồng đều thì quá trình đường hóa và lên men được diễn ra đồng đều và hiệu quả.

- Ủ cơm: sau khi phối trộn xong thì ta cho cơm vào thùng hoặc hũ nhựa, duy trì nhiệt độ ở 30 - 32°C, thời gian ủ cơm khoảng 4 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 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 được.

- Lên men: sau khi ủ đã đạt yêu cầu thì ta cho nước vào, nước phải đạt chỉ tiêu an toàn thực phẩm, lượng nước cho vào là khoảng 2lít/1kg gạo. Tiến hành lên men ở nhiệt độ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ với thời gian lên men là 9 ngày. Trong suốt quá trình lên men, nấm men sẽ chuyển hóa đường thành rượu etylic và CO_2 , ngoài ra có một số sản phẩm phụ như methanol, aldehyde, acid, glycerin, furfural,... cũng do quá trình lên men tạo ra.

- Chưng cất: kết thúc quá trình lên men, tiến hành chưng cất bằng hệ thống chưng cất rượu để thu được rượu men lá thành phẩm. Sau khi chưng cất thì cần phải có thời gian trữ rượu để rượu ổn định các chất và thành phần, tiến hành quá trình lọc rượu để rượu đạt được độ trong tốt. Sau đó rót chai theo thể tích và dán nhãn sản phẩm.



Hình 5.2. Rượu thành phẩm

5.1.5.2. Phân tích, đánh giá chất lượng rượu thành phẩm

Tiến hành đánh giá cảm quan và phân tích rượu thành phẩm của người dân sản xuất (CT1), rượu được làm từ bánh men lá của người dân (CT2) và rượu được làm từ bánh men mới.

Bảng 5.3. Kết quả phân tích hàm lượng methanol, aldehyde, ethanol

Tên mẫu	Methanol (%v/v Ethanol 100°)	Aldehyde (mg/L Ethanol 100°)	Ethanol (theo (%v/v ở 20°C))
CT1	96,3 ^c	596,4 ^c	46,2 ^a
CT2	85,8 ^b	579,2 ^b	38,4 ^c
CT3	22,5 ^a	102,3 ^a	42,6 ^b

Ghi chú: các ký tự a, b, c, d thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê các mẫu với mức ý nghĩa 5%.

Từ kết quả phân tích một số chỉ tiêu chất lượng rượu, nhận thấy rằng, mặc dù hàm lượng ethanol trong rượu do người dân sản xuất cao hơn rượu được làm từ bánh men mới, tuy nhiên các chỉ tiêu chất lượng khác lại kém hơn. Đặc biệt hàm lượng methanol trong rượu được làm từ bánh men mới thấp hơn rất nhiều so với hai loại rượu còn lại. Điều này khẳng định thêm chất lượng và an toàn của rượu thành phẩm được làm từ bánh men mới.

Kết quả đánh giá cảm quan

Bảng 5.4. Kết quả đánh giá cảm quan

Mẫu	Màu sắc và độ trong	Mùi	Vị
CT1	5,44 ^c	4,63 ^b	4,63 ^b
CT2	6,13 ^b	5,28 ^b	5,53 ^a
CT3	6,84 ^a	6,03 ^a	5,91 ^a

Ghi chú: các ký tự a, b, c, d thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê các mẫu với mức ý nghĩa 5%.

Từ kết quả trên bảng 5.4, ta thấy rượu được sản xuất từ bánh men mới có các chỉ tiêu cảm quan tốt hơn so với các sản phẩm còn lại. Đặc biệt chỉ tiêu màu sắc và độ trong tốt hơn hẳn so với rượu do người dân sản xuất.

Nhận xét: Từ những kết quả phân tích, đánh giá cảm quan chất lượng rượu, có thể khẳng định, rượu được làm từ bánh men mới có chất lượng, an toàn hơn cũng như được đánh giá yêu thích hơn về mặt cảm quan.

5.2. Khảo sát khả năng sản xuất rượu quy mô pilot

Tiến hành nghiên cứu thử nghiệm trên quy mô 8 kg gạo với các thông số như sau:

- Gạo : 8 (kg).
- Bánh men lá : 64 (g).
- Nhiệt độ ủ : 30 - 32°C.
- Thời gian ủ : 4 (ngày).

- Lượng nước cho vào lên men : 16 (lít).
- Nhiệt độ lên men : $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- Thời gian lên men : 9 (ngày).
- Tiến hành chưng cất trên thiết bị chưng cất đơn giản.

Bảng 5.5. Kết quả thử nghiệm mẫu 8 kg gạo so với mẫu ở phòng thí nghiệm

Các chỉ tiêu	Cỡ mẫu		Đơn vị
	6400 (A)	200 (B)	mL
Độ rượu	42,00	42,50	%v/v
Hàm lượng methanol	26,10	23,80	%v/v Ethanol 100°
Hàm lượng aldehyde	254,66	100,00	mg/L Ethanol 100°
Hàm lượng furfural	2,00	2,54	mg/L Ethanol 100°

Kết quả ở bảng 5.5 cho thấy:

- Độ rượu ở mẫu A có giảm đi nhưng ở mức chấp nhận được.
- Hàm lượng aldehyde ở mẫu A lớn hơn mẫu B 2,5 lần, hàm lượng furfural ở mẫu A thấp hơn mẫu B.

Với 8 kg nguyên liệu gạo, thu được 6400 mL rượu ở 42 %v/v. Sản phẩm thu được đáp ứng tiêu chuẩn Việt Nam về rượu trắng chưng cất. Như vậy hiệu suất thu hồi rượu nguyên chất là lớn đạt 75% so với nguyên liệu gạo, đáp ứng yêu cầu về hiệu suất thu hồi và hiệu quả trên thực tế.

5.3. Sản xuất thử nghiệm quy mô 30 lít sản phẩm/ mẻ

Trên cơ sở quy mô 8 kg gạo nguyên liệu. Tiến hành nghiên cứu thử nghiệm trên quy mô 40 kg gạo với các thông số như sau:

- Gạo : 40 (kg).
- Bánh men lá : 320 (g).
- Nhiệt độ ủ : 30 - 32°C.
- Thời gian ủ : 4 (ngày).
- Lượng nước cho vào lên men : 80 (lít).
- Nhiệt độ lên men : $25 \pm 2^\circ\text{C}$.
- Thời gian lên men : 9 (ngày).
- Tiến hành chưng cất trên thiết bị chưng cất có bộ phận kiểm soát nhiệt độ.

Bảng 5.6. Kết quả phân tích hàm lượng ethanol, methanol và aldehyde

Tên chỉ tiêu	Rượu trắng chưng cất
Hàm lượng ethanol ở 20°C, tính theo % (v/v)	43,3
Hàm lượng Methanol, mg/L ethanol 100°	44,4
Hàm lượng Aldehyde tính theo axetaldehyde, mg/L ethanol 100°	192,8
Lượng sản phẩm (L)	34

Với 40 kg nguyên liệu gạo đầu vào, các thông số theo quy trình công nghệ sản xuất rượu men lá, đã thu được 34 lít rượu thành phẩm. Sản phẩm về mặt cảm quan có màu trong suốt, mùi vị hài hòa, đặc biệt các chỉ tiêu về hóa học đáp ứng tiêu chuẩn Việt Nam về rượu trắng chưng cất. Hiệu suất thu hồi rượu thành phẩm lớn, đáp ứng về mặt hiệu quả kinh tế thực tiễn do vậy có tiềm năng ứng dụng vào thực tiễn sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

1. Bùi Ái (2005), *Công nghệ lên men ứng dụng trong công nghệ thực phẩm*, NXB Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.

2. Ngô Thị Phương Dung (2009), "Sản xuất và ứng dụng men thuần trong lên men rượu nếp than", *Tạp chí Hoạt động khoa học*.

3. Ngô Thị Phương Dung, Lý Huỳnh Thiên Hương và Huỳnh Xuân Phong (2011), "Phân lập, tuyển chọn nấm men và xác định điều kiện ảnh hưởng đến quy trình lên men rượu vang dưa hấu", *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 18b, tr. 137 - 145.

4. Nguyễn Kim Đông, Phan Văn Thơm và Lý Nguyễn Bình (2012), "Nghiên cứu quá trình sản xuất rượu đế quy mô hộ trên địa bàn tỉnh Vĩnh Long", *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 24a, tr. 153 - 166.

5. Mai Thị Hằng (2011), *Thực hành vi sinh vật học*, NXB Đại học Sư phạm Hà Nội.

6. Nguyễn Thị Hiền, Nguyễn Đức Lượng và Giang Thế Bính (2003), *Công nghệ sản xuất mì chính và các sản phẩm lên men truyền thống*, NXB Khoa học và kỹ thuật.

7. Nguyễn Thị Hiền, Nguyễn Đức Lượng và Giang Thế Bính (2006), *Công nghệ sản xuất mì chính và các sản phẩm lên men cổ truyền*, NXB Đại học Bách khoa Hà Nội.

8. Nguyễn Đức Lượng (2000), *Công nghệ vi sinh*, Vol. tập 1, NXB Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

9. Thái Lương, Nguyễn Lâm Dũng và Nguyễn Đức Kiệt (2003), *Văn hóa Rượu*, NXB Văn hóa Thông tin, tr. 303.

10. Đinh Thị Kim Nhung (2007), "Ảnh hưởng của một số yếu tố tới quá trình lên men vang táo mèo (*Docynia Indica*)", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*. 45(2), tr. 87 - 92.

11. Nguyễn Văn Niêm, Huỳnh Ngọc Thanh Tâm và Nguyễn Đức Độ (2018), "Phân lập và tuyển chọn dòng nấm men (*Sacchromyces sp.*) lên men rượu cà na (*Canarium album*)", *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 54(1B), tr. 44 - 49.

12. Lương Đức Phẩm (2009), *Nấm men công nghiệp*, NXB khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

13. Lương Đức Phẩm (2010), *Giáo trình Công nghệ lên men*, NXB Giáo dục Việt Nam.

14. Huỳnh Xuân Phong, Danh Minh Lợi, Nguyễn Ngọc Thanh, Lê Phan Đình Qui, Bùi Hoàng Đăng Long, Pornthap Thanonkeo, Mamoru Yamada và Ngô Thị Phương Dung (2017), "Tuyển chọn nấm men chịu nhiệt và nghiên cứu điều kiện lên men rượu vang khóm", *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 51(B), tr. 7 - 15.

15. Lê Xuân Phương (2001), *Vi sinh vật công nghiệp*, NXB Xây dựng.

16. Nguyễn Văn Tặng (2017), *Công nghệ rượu, bia và nước giải khát*, Trường Đại học Nha Trang.

17. Đỗ Tiến Thành (2011), *Nghiên cứu cải tiến quy trình sản xuất rượu đặc sản từ nguyên liệu gạo*, Luận văn thạc sỹ khoa học công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội.

18. Nguyễn Hữu Thanh, Nguyễn Thị Kỳ Duyên, Bằng Hồng Lam và Nguyễn Quang Thạch (2012), "Khảo sát một số đặc tính sinh học và định danh nấm men được phân lập từ bánh men rượu ở đồng bằng sông Cửu Long", *Tạp chí Khoa học và Phát triển - Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội*. 10(2), tr. 340 - 349.

19. Đoàn Văn Thuộc và Đinh Thị Hồng Duyên (2015), "Định loại và nghiên cứu khả năng lên men rượu của chủng nấm men NH_2 phân lập từ quả bần chua", *Tạp chí Sinh học Trường Đại học Sư phạm Hà Nội*. 37, tr. 69 - 75.

20. Nguyễn Đình Thường và Nguyễn Thanh Hằng (2000), *Công nghệ sản xuất và kiểm tra cồn etylic*, NXB Khoa học và Kỹ thuật.

21. Nguyễn Đình Thường và Nguyễn Thanh Hằng (2007), *Công nghệ sản xuất và kiểm tra cồn etylic*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

22. Nguyễn Minh Thủy, Nguyễn Văn Thành và Bùi Thúy Ngân (2011), "Tuyển chọn các dòng nấm men được phân lập từ nước thốt nốt", *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 18b, tr. 117 - 126.

23. Huỳnh Trần Toàn, Nguyễn Minh Thủy và Nguyễn Văn Thành (2014), "Ảnh hưởng của các yếu tố đến chất lượng rượu gạo (giống Một bụi đỏ, Hồng Dân - Bạc Liêu)", *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 1, tr. 92 - 99.

24. Nguyễn Hiền Trang (2017), *Vi sinh vật thực phẩm*, NXB Đại học Huế.

25. Lê Ngọc Tú (2002), *Độc tố và an toàn thực phẩm*, NXB Khoa học và Kỹ thuật.

26. Lê Ngọc Tú, Lê Doãn Diên, Phạm Quốc Thăng và La Văn Chứ (1977), *Hóa sinh học công nghiệp*, NXB Đại học và Trung học chuyên nghiệp, Hà Nội.

27. Hà Duyên Tư (2006), *Kỹ thuật phân tích cảm quan thực phẩm*, NXB Khoa học và Kỹ thuật.

28. Đặng Kim Vui, Trần Quốc Hưng, Ngô Xuân Bình, Nguyễn Văn Duy, Trần Trung Kiên, Lương Hùng Tiến (2013), "Nghiên cứu định danh các loài nấm men từ cây men lá Cao Bằng và Bắc Kạn", *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*. 1 + 2, tr. 131 - 134.

29. TCVN 4589:1988, "Đồ hộp - Phương pháp xác định hàm lượng acid tổng số và acid bay hơi".

30. TCVN 7043:2013, "Rượu trắng".

31. TCVN 7886:2009, "Rượu chưng cất - Xác định hàm lượng FurFural".

32. TCVN 8009:2009, "Rượu chưng cất - Xác định hàm lượng andehyt".

33. TCVN 8010:2009, "Rượu chưng cất - Xác định hàm lượng methanol".

34. TCVN 3217-79, "Rượu - Phân tích cảm quan - Phương pháp cho điểm".

Tài liệu tiếng Anh

35. Artnarong S., P. Masniyom và J. Maneesri (2016), "Isolation of yeast and acetic acid bacteria from palmyra palm fruit pulp (*Borassus flabellifer* Linn.)", International Food Research Journal. 23(3).

36. Bauer F.F. and M. Du Toit S. Maiherbe (2007), "Understanding Problem Fermentations - A Review", Institute for Wine Biotechnology.

37. Brooks AA (2008), "Ethanol production potential of local yeast strains isolated from ripe banana peels", African Journal of Biotechnology. 7(20), pp. 3749-3752.

38. Erin S. C. O'Connor-Cox và W. M. Ingledew (1991), "Alleviation of the effects of nitrogen limitation in high gravity worts through increased inoculation rates", Journal of Industrial Microbiology. 7(2), pp. 89-95.

39. Kailash N. Bhardwaj, Kavish Kumar Jain, Sandeep Kumar và Ramesh Chander Kuhad (2016), "Microbiological Analyses of Traditional Alcoholic Beverage (Chhang) and its Starter (Balma) Prepared by Bhotiya Tribe of Uttarakhand, India", Indian Journal of Microbiology. 56(1), pp. 28 - 34.

40. Navarro J.M. and G. Durand (1978), "Alcohol fermentation: effect of temperature on ethanol accumulation within yeast cells, Annals of Microbiology", Annals of Microbiology. 129B, pp. 215-224.

41. Naoko Tsuyoshi, Ryosuke Fudou, Shigeru Yamanaka, Michio Kozaki, Namrata Tamang, Saroj Thapa và Jyoti P. Tamang (2005), "Identification of yeast strains isolated from marcha in Sikkim, a microbial starter for amylolytic fermentation", *International Journal of Food Microbiology*. 99(2), pp. 135 - 146.

42. Treco DA and Winston F (2008) Growth and manipulation of yeast. *Curr Protoc Mol Biol* Chapter 13:Unit 13.2

43. Vailiant H., P. Formisyn và V. Gerbaux (1995), "Malolactic fermentation of wine: study of the influence of some physico-chemical factors by experimental design assays", *Journal of Applied Bacteriology*. 79(6), pp. 640-650.

44. World Health Organizatio (2018), Global status report on alcohol and health 2018.

45. Zahida Nasreen, Shaista Jabeen, Muafia Shafique, Shumaila Usman, Tehseen Yaseen, Ammara Yasmeen và Saima Nazir (2014), "Production of Alcohol by Yeast Isolated from Apple, Orange and Banana", *International Journal of Food and Nutrition Sciences*. 1(2), pp. 16 - 19.

46. Siyoung Yang, Seung Jun Choi, Jungki Kwak, Kihyun Kim, Minjae Seo, Tae Wha Moon, and Yin-Won Lee (2013), *Aspergillus oryzae* Strains Isolated from Traditional Korean Nuruk: Fermentation Properties and Influence on Rice Wine Quality, *Food Sci. Biotechnol*. 22(2): 425-432.

NHÀ XUẤT BẢN ĐẠI HỌC HUẾ

07 Hà Nội, TP. Huế - Điện thoại: 0234.3834486;

Website: <http://huph.hueuni.edu.vn>

Chịu trách nhiệm xuất bản

Giám đốc - Tổng biên tập: Trần Bình Tuyên

Thẩm định nội dung

PGS.TS. Nguyễn Hiền Trang

Biên tập viên: Ngô Văn Cường

Biên tập kỹ thuật: Nguyễn Thị Ái Quỳnh

Sửa bản in: Hồng Vân

Đối tác liên kết xuất bản

Nguyễn Văn Huế, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

102 Phùng Hưng, thành phố Huế

KỸ THUẬT SẢN XUẤT RƯỢU MEN LÁ

(Sách tham khảo)

In 50 bản, khổ 14.5x20.5cm tại Công ty TNHH MTV in và Dịch vụ Thanh Minh, 99 Phan Văn Trường, thành phố Huế. Số xác nhận đăng ký xuất bản: 884-2024/CXBIPH/5-13/ĐHH. Quyết định xuất bản số: 177/QĐ-NXB, cấp ngày 26 tháng 3 năm 2024. In xong và nộp lưu chiểu năm 2024.

ISBN: 978-604-489-151-4