

	VIETTEL AI RACE NGHIÊN CỨU NẤM MEN TỪ DỊCH ÉP DÚA QUEEN	TD595
		Lần ban hành: 1

1. Phân lập và tuyển chọn chủng nấm men từ dịch ép dứa Queen

1.1 Phân lập nấm men trong môi trường dịch ép dứa Queen

Từ dịch ép dứa Queen lên men tự nhiên, chúng tôi đã phân lập được 8 chủng nấm men, ký hiệu lần lượt là D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7 và D8 có khả năng sinh trưởng và lên men ethanol trong môi trường có hàm lượng đường và acid tổng số cao. Định hướng phân lập như vậy tạo điều kiện thuận lợi cho việc tuyển chọn các chủng nấm men có khả năng sinh trưởng mạnh, lên men ethanol tốt trong điều kiện lên men tự nhiên dịch ép dứa Queen, hạn chế được sự tạp nhiễm từ các vi sinh vật khác trong tự nhiên.

1.2 Tuyển chọn chủng nấm men

a) *Dánh giá sinh trưởng của 8 chủng nấm men phân lập được trong môi trường nhân giống*

Mật độ tế bào của tám chủng nấm men mới phân lập sau 24h nuôi cấy trong môi trường Hansen dịch thể được ghi trong bảng 3.1.

Bảng 3.1. Mật độ tế bào của 8 chủng nấm men trong bình nhân giống và thể tích dịch nhân giống cần lấy để bổ sung vào bình lên men

Chỉ tiêu	Chủng nấm men							
	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8
Mật độ tế bào trong bình giống ($\times 10^6$ tế bào/ml)	130 ± 2	125 ± 2	121 ± 1	134 ± 2	131 ± 1	116 ± 1	100 ± 1	128 ± 1
Thể tích giống (ml) cần bổ sung vào môi trường lên men để đạt $13,4 \times 10^6$ tế bào/bình 100ml	10,3	10,7	11,1	10	10,2	11,6	13,4	10,5

Kết quả thể hiện trong bảng 3.1 cho thấy: Chủng nấm men D1, D4 và D5 có khả năng sinh trưởng trong môi trường Hansen tốt hơn cả, mật độ tế bào trong bình nhân giống đạt trên 130×10^6 tế bào/ml. Các chủng D2, D3 và D8 sinh trưởng kém hơn, đạt $121 - 128 \times 10^6$ tế bào/ml dịch môi

	VIETTEL AI RACE NGHIÊN CỨU NẤM MEN TỪ DÍCH ÉP DÚA QUEEN	TD595
		Lần ban hành: 1

trường nhân giống. Khả năng sinh trưởng của các chủng D6 và D7 trong môi trường nhân giống là kém nhất (đạt dưới 120×10^6 tế bào/ml).

Khảo sát hoạt lực lên men của 8 chủng nấm men phân lập được

Trong môi trường lên men (dịch nước ép dứa được bổ sung thêm đường và acid citric), các chủng lên men chậm trong 24h đầu tiên (lượng CO₂ sinh ra khoảng 4,44 – 5,79 g/100ml). Sau 72h lên men, lượng CO₂ sinh ra từ các bình tăng rõ rệt và có sự phân biệt. Các chủng D1 và D7 sinh ra lượng CO₂ khoảng 5,08 – 5,55 g/100ml; các chủng D2, D3, D6 và D8 cho lượng CO₂ khoảng 6,02 – 6,84 g/100ml; chủng D4 cho lượng CO₂ đạt 7,02 g/100 ml và cao nhất là chủng D5 (sinh ra lượng CO₂ là 8,70 g/100ml). Sau 96h lên men, sự khác biệt này càng rõ nét và chia thành 3 nhóm chính: Các chủng D1, D2, D6 và D7 có lượng CO₂ sinh ra chỉ đạt 7,32 – 7,96 (g/100ml); chủng D3 và D4 cho lượng CO₂ đạt 8,13 – 8,29 (g/100 ml); chỉ có chủng D5 và D8 lên men mạnh nhất, lượng CO₂ thoát ra đạt 9,85 - 9,89 (g/100ml). Sau 120 h lên men, lượng CO₂ thoát ra ở các bình lên men không thay đổi nhiều so với thời điểm 96 h lên men. Do vậy, chúng tôi tiến hành đánh giá cảm quan, so sánh hương thơm được tạo ra từ các chủng D1 – D8 trong các bình lên men và thấy rằng: các chủng nấm men D3, D4, D5 và D8 có hoạt lực lên men cao đồng thời hương tạo ra trong những bình lên men này cũng tốt nhất. Các chủng D3, D4, D5, D8 được lựa chọn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo (Bảng 3.2).

Bảng 3.2. Hoạt lực lên men ethanol và khả năng tạo hương của 8 chủng nấm men phân lập

Thời gian lên men (h)	Hoạt lực lên men tính bằng lượng CO ₂ sinh ra (g/100ml)							
	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8
24	4,44 ± 0,02	5,06 ± 0,02	4,88 ± 0,02	5,38 ± 0,02	5,79 ± 0,03	5,02 ± 0,02	4,63 ± 0,02	5,10 ± 0,02

	VIETTEL AI RACE						TD595		
	NGHIÊN CỨU NẤM MEN TỪ DÍCH ÉP DÚA QUEEN						Lần ban hành: 1		

		5,08 ± 0,02	6,25 ± 0,03	6,02 ± 0,01	7,0 2 ± 0,02	8,70 ± 0,03	6,84 ± 0,02	5,55 ± 0,01	6,48 ± 0,01
		7,32 ± 0,02	7,63 ± 0,03	8,13 ± 0,01	8,29 ± 0,02	9,67 ± 0,03	7,96 ± 0,02	7,82 ± 0,01	9,85 ± 0,01
		7,35 ± 0,02	7,70 ± 0,01	8,24 ± 0,03	8,32 ± 0,02	9,73 ± 0,02	7,85 ± 0,03	7,98 ± 0,02	9,89 ± 0,03
Hương thơm		++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++

Chú thích: Khả năng tạo hương thơm: +++: Thom nhiều; ++: Thom trung bình ;+: Thom ít

Dựa trên phản ứng dương tính (khả năng lên men các loại đường khác nhau của kit API C 20 AUX), chúng tôi nhận thấy: Chủng D8 có khả năng sử dụng D- glucose, D-galactose, inositol, D-maltose, D-saccharose, D-manitol và D-lactose cho quá trình sinh trưởng và phát triển tế bào. Chủng D8 không có khả năng sử dụng nguồn cacbon từ glycerol, L-arabinose, D-xylose, D-sorbitol, xylitol, D- cellobiose, D-lactose, D-trehalose, D/L-raffinose; Kết quả định danh bằng API 20 AUX trên công cụ của API – Biomerieux (<https://apiweb.biomerieux.com>) cho kết quả mã định danh của chủng D8 là 3041130. Kết quả này cho phép định danh chủng D8 là *S. cerevisiae* (100%). Chủng *S. cerevisiae* TCCY có mã định danh API là 7040130, có khả năng sử dụng các loại đường D-glucose; glycerol, D-galactose, N-acetyl- glucosamine, D-maltose; D-saccharose, thuộc loài *S. cerevisiae*; tuy nhiên, xác xuất kiểm tra lại với đường glycerol là 8%, đường D-galactose là 5% và đường rafinose 79% nên chủng này có thể thuộc loài *Candida utilis* (1,6%) [179].

Bảng 3.4. Khả năng lên men đường của chủng D8 và chủng TCCY bằng kit API C 20 AUX

Bộ 3	Loại đường	Chủng nâm men											
		Chủng D8			Chủng <i>S. cerevisiae</i> TCCY			Mẫu trắng					
		Phản ứng	Điểm	Cộng	Mã định danh API	Phản ứng	Điểm	Cộng	Mã định danh API	Phản ứng	Điểm	Cộng	Mã định danh API
I	O	+	1	3	3041130	+	1	7	7040130	-	0	0	0000000
	GLU	+	2			+	2			-	0		
	GLY	-	0			+	4			-	0		
II	2KG	-	0	0		-	0	0		-	0	0	
	ARA	-	0			-	0			-	0		
	XYL	-	0			-	0			-	0		
III	ADO	-	0	4		-	0	4		-	0	0	
	XLT	-	0			-	0			-	0		
	GAL	+	4			+	4			-	0		

	VIETTEL AI RACE	TD595
	NGHIÊN CỨU NẤM MEN TỪ DÍCH ÉP DÚA QUEEN	Lần ban hành: 1

IV	INO	+	1	1	-	0	0	-	0	0
	SOR	-	0		-	0		-	0	
	MDG	-	0		-	0		-	0	
V	NAG	+	1	1	+/-	1	1	-	0	0
	CEL	-	0		-	0		-	0	
	LAC	-	0		-	0		-	0	
VI	MAC	+	1	3	+/-	1	3	-	0	0
	SAC	+	2		+/-	2		-	0	
	TRE	-	0		-	0		-	0	
VII	MLZ	-	0	0	-	0	0	-	0	0
	RAF	-	0		-	0		-	0	
	H/pH ⁺	-	0		-	0		-	0	

Ghi chú: +/-: Phản ứng/ không phản ứng; O: không đường; GLU: D-glucose; GLY: glycerol; 2KG: calcium-2;keto-gluconate; ARA: L-arabinose; XYL: D-xylose; ADO: adonitol (ribitol); XLT: xylitol; GAL: D-galactose; INO: inositol; SOR: D-sorbitol; MDG: Methyl- α D-glucopyranoside; NAG: N-acetyl- glucosamine; CEL: cellobiose; LAC: D-lactose; MAL: D-maltose; SAC: D-saccharose; TRE: D-trehalose; MLZ: D-melezitose; RAF: D-raffinose [179].

Kết quả kiểm tra khả năng lên men của các chủng nấm men với các đường trong kit ID 32 cho thấy chủng D8 có khả năng sử dụng các loại đường D-galactose, D- saccharose, D-maltose, D-glucose; không sử dụng đường glycerol, L- arabinose, D-xylose, D-sorbitol, Methyl-D-glucopyranoside, cellobiose, D- trehalose, D-melezitose, D-raffinose...Do vậy, mã định danh API của chủng D8 là 5040000031 và chủng *S. cerevisiae* TCCY trên công cụ của API – Biomerieux đều là 5040010031(<https://apiweb.biomerieux.com>) cả hai chủng này đều thuộc loài *S. cerevisiae* (98,4%) hoặc *Candida Utilis* (1,6%) [178].

Bảng 3.5. Khả năng lên men đường của chủng D8 và chủng TCCY bằng kit API ID 32 C

Bộ 3	Đường	Chủng nấm men											
		Chủng D8				Chủng <i>S. cerevisiae</i> TCCY				Mẫu trống			
		Phản ứng	Điểm	Công	Mã định danh API	Phản ứng	Điểm	Công	Mã định danh API	Phản ứng	Điểm	Công	Mã định danh API
I	GAL	+	1	5	504000 0031	+	1	5	504001 0031	-	0	0	000000 0000
	ACT	-	0			-	0			-	0		
	SAC	+	4			+	4			-	0		
II	NAG	-	0	0	4	-	0	0	4	-	0	0	000000 0000
	LAT	-	0			-	0			-	0		
	ARA	-	0			-	0			-	0		
III	CEL	-	0	4	0	-	0	4	0	-	0	0	000000 0000
	RAF	-	0			-	0			-	0		
	MAL	+	4			+	4			-	0		
IV	TRE	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	000000 0000
	2 KG	-	0			-	0			-	0		
	MDG	-	0			-	0			-	0		
V	SOR	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	000000 0000
	SYL	-	0			-	0			-	0		
	RIB	-	0			-	0			-	0		
VI	GLY	-	0	0	1	-	+	0	1	-	0	0	000000 0000
	RHA	-	0			-	0			-	0		
	PLE	-	0			-	0			-	0		
VII	ERY	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	000000 0000
	MEL	-	0			-	0			-	0		
	GRT	-	0			-	0			-	0		
	MLZ	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0



VIETTEL AI RACE

NGHIÊN CỨU NÁM MEN TỪ DÍCH ÉP DÚA QUEEN

TD595

Lần ban hành: 1

VII	GMT	-	0	
I	LVT	-	0	
IX	MAN	+	1	3
	LAC	+	2	
	INO	-	0	
X	GLU	+	1	1
	SBE	-	0	
	GLN	-	0	
	ESC	-	0	
		-	0	
		-	0	
		+	1	3
		+	2	
		-	0	
		+	1	1
		-	0	
		-	0	
		-	0	
		-	0	
		-	0	
		-	0	
		-	0	

Ghi chú: +/-: Phản ứng/ không phản ứng; O: không đường; GAL: D-galactose; ACT: cycloheximide (actidione); SAC: D-saccharose; NAG: N-acetyl-glucosamine; LAT: lactic acid; ARA: L-arabinose; CEL: cellobiose; RAF: D- raffinose; MAL: D-maltose; TRE: D-trehalose; 2KG: potassium-2-keto-gluconate; MDG: Methyl- α D- glucopyranoside; SOR: D-sorbitol; XYL: D-xylose; RIB: D-ribose; GLY: glycerol; RHA: L-rhamnose; PLE: palatinose; ERY: erythritol; MEL: D-melibiose; GRT: sodium glucuronate; MLZ: D-melezitose; GNT: potassium gluconate; LVT: levulinic acid (levulinic acid); MAN: D-manitol; LAC: D-lactose; INO: inositol; GLU: D-glucose; SBE: L-sorbose; GLN: glucosamine; ESC: esculin ferric citrate [178].

2. Thành phần hóa học cơ bản của dịch dứa ép

Nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình lên men vang dứa, chúng tôi phân tích thành phần dinh dưỡng cơ bản của dịch dứa. Kết quả được dẫn ra ở bảng 3.7

Bảng 3.7. Thành phần hóa học cơ bản của dịch ép dừa

Thành phần	Định lượng	Đơn vị
Đường tổng	126 ± 3	g/l
Acid tổng số	3,6 ± 0,1	g/l
Vitamin C	41 ± 0,1	mg/l
pH	3,4 ± 0,01	

Kết quả phân tích ở bảng 3.7 cho thấy dịch ép dứa Queen có hàm lượng đường tổng đạt trung bình 126 g/l, hàm lượng vitamin C đạt 41 mg/l, acid tổng số 3,6 g/l, giá trị pH đạt 3,4. Kết quả này cao hơn công bố trên cơ sở dữ liệu dinh dưỡng của USDA [46], theo công bố của cơ sở dữ liệu này, hàm lượng đường trong dịch dứa là 92,6 g/l, vitamin C 36,2 mg/l. Điều này có thể được giải thích bởi thành phần hóa học của dứa phụ thuộc vào giống, đất trồng, chế độ chăm sóc, mùa vụ, thời điểm thu hoạch... Khi so sánh với tiêu chí nguyên liệu sản xuất rượu brandy,

	VIETTEL AI RACE NGHIÊN CỨU NẤM MEN TỪ DÍCH ÉP DÚA QUEEN	TD595
		Lần ban hành: 1

thành phần hóa học của dịch ép dứa vừa phân tích hoàn toàn phù hợp để lên men, chưng cất rượu brandy.

3. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men vang dứa

Hiệu quả của quá trình lên men rượu ethanol của nấm men được đánh giá thông qua hàm lượng và chất lượng của rượu, cụ thể: lượng rượu ethanol tạo ra, hàm lượng đường sót, hàm lượng acid, hiệu suất lên men và hương thơm của dịch lên men... Các yếu tố: nhiệt độ, pH, nồng độ đường, hàm lượng oxy hòa tan, tỉ lệ men giống... có ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình lên men vang. Do đó, đây là những yếu tố ảnh hưởng lớn đến hiệu quả của quá trình lên men vang.

3.1 Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men vang dứa

Nhiệt độ ảnh hưởng đến sinh trưởng, phát triển và các chuyển hóa trong quá trình lên men vang. Tuy nhiên, tùy thuộc từng giống, từng loài mà nhiệt độ phù hợp cho sinh trưởng và lên men rượu có thể có sự khác biệt. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ (trong khoảng từ 20°C - 36°C) đến quá trình lên men vang dứa Queen của chủng *S. cerevisiae* D8 được trình bày trong bảng 3.8

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men dịch dứa

Chỉ tiêu	Nhiệt độ lên men (°C)				
	20	24	28	32	36
Hàm lượng rượu (%V/V)	10,82±0,4	10,91±0,2	11,04±0,1	11,02±0,2	10,82±0,3
Đường sót (g/l)	5,82±0,03	5,69±0,05	5,28±0,02	4,97±0,03	4,63±0,07
Acid tổng số (g/l)	5,71 ±0,02	5,93 ±0,05	6,09±0,02	6,14±0,02	6,22±0,03
Hiệu suất lên men (%)	83,35±0,31	84,13±0,15	85,11±0,08	85,01±0,15	83,25±0,23
Hương thơm của dịch lên men	+++	+++	+++	++	++

	VIETTEL AI RACE NGHIÊN CỨU NẤM MEN TỪ DÍCH ÉP DÚA QUEEN	TD595
		Lần ban hành: 1

Ghi chú: Khả năng tạo hương thơm: +++: thơm nhiều; ++: Thơm trung bình ; +: Ít thơm

Kết quả ở bảng 3.8 cho thấy: Nhiệt độ lên men tăng từ 20°C đến 28°C, hàm lượng rượu tăng nhẹ từ 10,82% V/V – 11,04% V/V. Lên men ở 28°C, lượng rượu sinh ra cao hơn (11,04% V/V) và hiệu suất lên men cao (85,11%). Tăng nhiệt độ lên men từ 28°C đến 36°C, hàm lượng rượu sinh ra có xu hướng giảm nhẹ (từ 11,08% V/V xuống 10,82% V/V) có thể do ở nhiệt độ cao quá trình lên men còn tăng sinh các sản phẩm thứ cấp khác như acid hữu cơ, aldehyde [166]. Nhiệt độ lên men tăng từ 28°C đến 36°C, lượng acid tổng số sinh ra trong dịch lên men cũng tăng (từ 6,09 g/l lên 6,22 g/l) cũng có thể do nhiệt độ cao thích hợp với việc chuyển hóa đường thành acid. Đó có thể là nguyên nhân làm giảm hàm lượng rượu khi tăng nhiệt độ lên men từ 28°C đến 36°C. Do đó, nhiệt độ được lựa chọn để lên men vang dứa bởi chủng *S. cerevisiae* D8 là 28°C, nằm trong ngưỡng nhiệt độ tối thích cho lên men của hầu hết các chủng nấm men rượu lên men 20 - 33 °C [48, 139, 157] và trùng với nhiệt độ tối ưu cho sinh trưởng của chủng *S. cerevisiae* D8. Các công bố về nhiệt độ lên men vang dứa ở Việt Nam thường từ 28°C – 30°C [30]. Kết quả đó, khác biệt với một số công bố khác như: Thepkaew N, et al, 2013: nhiệt độ lên men vang dứa từ 18 – 21°C, Chanprasartsuk OO, et al, 2011 là 25°C [70, 165]. Điều đó có thể là do khí hậu từng vùng khác nhau đã tạo điều kiện để chọn lọc tự nhiên giữ lại các chủng nấm men thích hợp với từng vùng miền. Việt Nam là một nước nhiệt đới, khí hậu nóng ẩm nên chọn lọc tự nhiên đã giữ lại các chủng nấm men lên men ưa ẩm, thích nghi sinh trưởng phát triển ở nhiệt độ cao hơn 20°C, thích hợp với điều kiện môi trường và thực tế sản xuất.

3.2 Ảnh hưởng của pH ban đầu đến quá trình lên men vang dứa

Quá trình sinh trưởng và lên men của nấm men thích ứng với độ acid nhẹ

	VIETTEL AI RACE NGHIÊN CỨU NẤM MEN TỪ DÍCH ÉP DÚA QUEEN	TD595
		Lần ban hành: 1

của dịch quả. Tuy nhiên, mỗi chủng nấm men lại phù hợp với một pH nhất định trong lên men. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của pH ban đầu từ 3 - 5 đến quá trình lên men vang dứa của chủng *S. cerevisiae* D8 được trình bày trong bảng 3.9.

Bảng 3.9.Ảnh hưởng của pH ban đầu đến quá trình lên men vang dứa

Chỉ tiêu	pH ban đầu của môi trường lên men				
	3	3,5	4	4,5	5
Hàm lượng rượu (% V/V)	11,03±0,01	10,08±0,03	11,16±0,06	11,01±0,02	10,84±0,2
Đường sót (g/l)	5,57±0,07	5,03±0,09	4,48±0,03	4,64±0,05	4,80±0,04
Acid (g/l)	5,44 ±0,03	5,62±0,03	5,68±0,01	5,89±0,04	6,04±0,05
Hiệu suất lên men (%)	85,1±0,08	85,84±0,23	86,28±0,46	85,01±0,15	83,64±0,15
Hương thơm của dịch lên men	++	+++	+++	+++	++

Kết quả ở bảng 3.9 cho thấy: Trong môi trường lên men có pH ban đầu từ 3 đến 4, hàm lượng rượu tăng (từ 11,03 đến 11,16% V/V). Với pH ban đầu từ 4,5 đến 5,0 hàm lượng rượu có xu hướng giảm nhẹ. Lượng đường tiêu hao diễn biến song song với hàm lượng rượu tạo thành trong dải pH ban đầu từ 3 đến 5. Acid tổng số sinh ra tăng dần từ pH 3 đến 5, cho thấy môi trường có pH ban đầu thấp (hàm lượng acid cao), quá trình lên men sẽ sinh ra ít acid và ngược lại. Ở môi trường có pH ban đầu 4, hàm lượng rượu được sinh ra cao (11,16% V/V) và hiệu suất lên men cao (86,28% V/V), hàm lượng acid tổng số ở mức trung bình (5,68 g/l), lượng đường sót thấp nhất (4,48 g/l), dịch lên men thơm nhiều. Do đó, pH = 4 được chọn để tạo môi trường lên men vang dứa. pH này phù hợp với các công bố về *S. cerevisiae* trên thế giới [47,72].

3.3 Ảnh hưởng của hàm lượng đường đến quá trình lên men vang dứa

Saccharose được sử dụng với hàm lượng từ 126-250 g/l để khảo sát ảnh hưởng của đường đến quá trình lên men vang dứa của chủng *S.*

	VIETTEL AI RACE	TD595
	NGHIÊN CỨU NẤM MEN TỪ DÍCH ÉP DÚA QUEEN	Lần ban hành: 1

cerevisiae D8. Kết quả thể hiện trong bảng 3.11

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của hàm lượng đường đến quá trình lên men

Chỉ tiêu	Hàm lượng đường trong môi trường lên men (g/l)					
	126	150	170	200	220	250
Hàm lượng rượu (% V/V)	6,92±0,03	8,58±0,02	9,54±0,02	11,22±0,02	11,24±0,02	11,21±0,03
Đường sót (g/l)	4,12 ±0,01	5,01 ±0,02	5,08 ±0,02	5,54±0,03	8,79 ±0,02	9,86 ±0,02
Acid (g/l)	6,64±0,02	6,22±0,02	5,83±0,01	5,56±0,02	5,28±0,01	5,21±0,02
Hiệu suất lên men (%)	89,02±0,21	88,43±0,17	86,78±0,18	86,67±0,15	82,88±0,14	72,51±0,18
Hương thơm của dịch lên men	++	++	++	++	+++	+++

Trong môi trường lên men có hàm lượng đường ban đầu thay đổi từ 126 g/l đến 250g/l, hàm lượng rượu tăng đều từ 6,92 đến 11,24% V/V nhưng hiệu suất lên men lại giảm dần từ 89,2% xuống 69,26%. Điều đó chứng tỏ hàm lượng đường càng thấp, hiệu suất lên men càng cao. Nồng độ đường cao tuy cung cấp nguồn cơ chất dồi dào cho quá trình lên men rượu nhưng cũng tạo ra áp suất thẩm thấu lớn, úc chế một phần sự sinh trưởng và quá trình tạo rượu của nấm men; hàm lượng rượu tăng có thể đi kèm các sản phẩm phụ khác cũng tăng, dẫn đến hiệu suất sử dụng đường giảm. Tuy nhiên nồng độ đường ban đầu thấp (dưới 150 g/l) sẽ không kinh tế vì hiệu suất lên men cao nhưng hàm lượng rượu thấp (dưới 8,58% V/V) sẽ dẫn đến tổn công và tốn liệu khi chưng cất. Nồng độ đường của dịch lên men ban đầu 220g/l cho hiệu suất lên men cao, hương thơm tốt. Hàm lượng đường trong dịch lên men cao hơn 220g/l tạo ra lượng rượu cao nhưng hiệu suất lên men có xu hướng giảm vì hàm

	VIETTEL AI RACE NGHIÊN CỨU NẤM MEN TỪ DÍCH ÉP DÚA QUEEN	TD595
		Lần ban hành: 1

lượng đường sót lớn sẽ không kinh tế. Do vậy, nồng độ đường thích hợp để lên men dịch dứa được lựa chọn là 220 g/l, kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Chanprasartsuk OO, *et al*, 2010 [69].

3.4 Ảnh hưởng hàm lượng oxy hòa tan

Nấm men cần oxy cho sự sinh trưởng nhưng lại đòi hỏi điều kiện kị khí cho quá trình lên men rượu. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ oxy hòa tan đến quá trình lên men rượu được thực hiện trong phạm vi oxy hòa tan từ 5 mg/l – 9 mg/l. Kết quả ghi trong bảng 3.12.

Bảng 3.11. Ảnh hưởng của hàm lượng oxy hòa tan ban đầu trong dịch lên men đến quá trình lên men vang dứa

Chỉ tiêu	Hàm lượng oxy hòa tan trong dịch lên men (mg/l)				
	5	6	7	8	9
Hàm lượng rượu (% V/V)	11,29±0,02	11,81±0,02	12,37±0,02	11,88±0,02	11,36±0,02
Đường sót (g/l)	2,52±0,02	2,43±0,02	1,25±0,02	2,61±0,02	2,72±0,02
Acid(g/l)	5,1±0,02	5,2±0,02	5,3±0,02	5,3±0,02	5,4±0,02
Hiệu suất lên men (%)	87,07±0,02	91,17±0,02	95,18±0,02	91,66±0,02	86,58±0,02
Hương thơm của dịch lên men	++	++	+++	+++	+++

Dịch lên men có hàm lượng oxy hòa tan 7 mg/l cho hàm lượng rượu cao nhất (12,37%) tương ứng với hiệu suất lên men cao nhất (95,18%), đường sót thấp (1,25 g/l), lượng acid sinh ra ít (5,3 g/l) so với lên men ở các nồng độ oxy hòa tan ban đầu thấp hơn hoặc cao hơn. Kết quả này tương tự kết quả lên men vang dứa trong điều kiện yếm khí của Balogun M. A. và cộng sự [56]. Điều đó có thể giải thích như sau: Với hàm lượng oxy ban đầu dưới 7 mg/l không đủ để nấm men sinh trưởng và phát triển dẫn đến số lượng tế bào nấm men thực hiện quá trình lên men rượu thấp, hiệu suất lên men thấp (87,07% - 91,17%). Với hàm

	VIETTEL AI RACE NGHIÊN CỨU NẤM MEN TỪ DÍCH ÉP DÚA QUEEN	TD595
		Lần ban hành: 1

lượng oxy hòa tan lớn hơn 7mg/l hàm lượng oxy dư thừa nên nấm men sinh trưởng và phát triển tốt, tuy nhiên, hiệu suất lên men thấp do đường ít được sử dụng cho lên men rượu mà chủ yếu cho sinh trưởng của nấm men, oxy dư thừa cũng ức chế quá trình lên men làm hiệu suất lên men giảm (91,66 – 86,58%). Trong quá trình lên men rượu vang, giai đoạn đầu cần cung cấp đủ oxy để nấm men sinh trưởng. Sau đó, quá trình lên men cần diễn ra trong điều kiện yếm khí. Nếu trong giai đoạn này mà dư oxy, nấm men sẽ hô hấp hiếu khí oxy hóa đường thành CO₂ và nước mà không thành rượu ethanol, đến khi oxy giảm mới xảy ra quá trình lên men. Kết quả nghiên cứu ở hàm lượng oxy hòa tan 7 mg/l cho hiệu suất lên men cao nhất do lượng oxy hòa tan vừa đủ để cung cấp cho sự sinh trưởng, phát triển của tế bào nấm men trước khi chuyển sang điều kiện yếm khí để lên men rượu.

3.5 Ảnh hưởng của hàm lượng men giống đến quá trình lên men vang dứa

Hàm lượng men giống ảnh hưởng đến thời gian lên men, hương thơm dịch sau lên men, hàm lượng rượu, đường tiêu hao... Tuy nhiên, mỗi loài nấm men lại chịu những ảnh hưởng khác nhau. Nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng men giống *S. cerevisiae* D8 (từ 2 đến 10%) tương ứng với số lượng tế bào $6,84 \times 10^6$ tế bào/ml – $34,2 \times 10^6$ tế bào/ml dịch lên men đến quá trình lên men vang dứa được thể hiện trong bảng 3.11.

Bảng 3.12. Ảnh hưởng của lượng men giống đến quá trình lên men vang dứa

Chỉ tiêu	Thể tích men giống (% V/V)			
	2	5	7	10
Hàm lượng rượu (% V/V)	12,35±0,01	12,37±0,02	12,37±0,02	12,34±0,01
Đường sót (g/l)	1,84±0,02	1,25±0,03	1,52±0,01	1,69±0,03

	VIETTEL AI RACE NGHIÊN CỨU NẤM MEN TỪ DÍCH ÉP DÚA QUEEN	TD595 Lần ban hành: 1
---	---	--------------------------

Acid (g/l)	4,52±0,02	4,67±0,01	4,81±0,01	4,83±0,02
Hiệu suất lên men (%)	95,09±0,08	95,28±0,15	95,28±0,15	94,99±0,08
Thời gian kết thúc lên men chính (ngày)	5	4	3	3
Hương thơm của dịch lên men	+	+++	++	++

Kết quả thu được cho thấy: Lượng men giống thay đổi không làm ảnh hưởng nhiều đến quá trình lên men, tất cả các chỉ tiêu (độ rượu, đường sót, acid, pH, hiệu suất lên men) khác biệt không đáng kể khi hàm lượng men giống tăng từ 2 - 10% V/V. Khác biệt rõ nhất thể hiện trong kết quả của thí nghiệm này là thời gian lên men chính được rút ngắn khi tăng tỉ lệ men giống. Tuy nhiên giá trị cảm quan ở dịch lên men được bổ sung 5% giống cao hơn so với khi bổ sung giống ở các tỉ lệ khác. Điều đó cho thấy lượng men giống 5% V/V là phù hợp cho nấm men sinh trưởng, phát triển tốt, kéo theo quá trình lên men phụ trong thời gian thích hợp để tạo hương thơm đặc trưng của vang dứa. Khi lượng men giống cao (trên 7% V/V), thời gian sinh trưởng rút ngắn dẫn đến rút ngắn thời gian lên men, nhiều tế bào già sẽ tự phân hủy làm cho dịch lên men kém thơm, giá trị cảm quan thấp [33]. Tuy nhiên, tỉ lệ men giống thấp dưới 5%, thời gian sinh sản và phát triển để đạt số lượng tế bào cực đại của tế bào nấm men bị kéo dài, thời gian lên men do đó cũng bị kéo dài theo, không đảm bảo tính kinh tế cho quá trình lên men [72]. Từ kết quả và phân tích trên, lượng men giống cho lên men vang dứa được lựa chọn là 5% V/V giống (tương ứng $17,1 \times 10^6$ tế bào/ml dịch lên men).

Sau 14 ngày, dịch lên men vang dứa thu được có độ rượu là 12,37% V/V, cao hơn một số công bố [47, 69] tiệm cận kết quả lên men vang dứa của Balogun và cộng sự, 2017 [56]. Hàm lượng đường sót 1,25g/l, acid 4,67g/l và hiệu suất lên men đạt 95,28%, đạt tiêu chuẩn rượu vang

	VIETTEL AI RACE	TD595
	NGHIÊN CỨU NẤM MEN TỪ DÍCH ÉP DÚA QUEEN	Lần ban hành: 1

để chưng cất brandy [39, 47].

Nghiên cứu lần lượt từng yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men vang dứa bằng *S. cerevisiae* D8 ở quy mô thí nghiệm (thể tích lên men 500 ml), chúng tôi đã xác định được môi trường thích hợp cho lên men vang dứa Queen để sản xuất brandy là: Dịch ép dứa có pH=4, hàm lượng đường 220 g/l, lượng oxy hòa tan là 7 mg/l, hàm lượng men giống bổ sung là $17,1 \times 10^6$ tế bào/ml dịch lên men. Lên men ở 28° C trong 14 ngày đã thu được loại vang dứa đạt tiêu chuẩn rượu vang để chưng cất brandy dứa.