

	VIETTEL AI RACE	TD594
	NGHIÊN CỨU NẤM MEN TRONG LÊN MEN RƯỢU	Lần ban hành: 1

1. Nấm men

1.1 Lịch sử nghiên cứu và sử dụng nấm men trong lên men rượu

Trên thế giới

Lịch sử ngành lên men đã có từ khoảng 6.000 năm trước Công nguyên. Rượu và rất nhiều loại đồ uống làm từ hoa quả lên men, sản xuất theo quy mô gia đình, dòng tộc đã được sử dụng như thứ đồ uống do thượng đế ban tặng. Mãi đến năm 1854, Louis Pasteur mới phát hiện nấm men là tác nhân thực sự gây nên quá trình lên men rượu, mở đầu cho các nghiên cứu về tuyển chọn nấm men trong sản xuất vang.

Cuối thế kỷ XVIII, đầu thế kỷ XIX, các nghiên cứu trên thế giới về nấm men đã được quan tâm và thu được nhiều thành tựu. Các kết quả tập trung vào nghiên cứu về: (1) các enzyme tham gia quá trình lên men trong nấm men; (2) cơ chế của quá trình lên men từ đường; (3) làm sáng tỏ vai trò của các enzyme nấm men trong ngành lên men rượu [169].

Nhờ thành tựu của các công trình nghiên cứu trên, các chủng nấm men được ứng dụng nhiều, nhanh chóng được đưa ra thị trường dưới dạng thương mại, trở thành đối tượng quan trọng trong sản xuất rượu [88]. Năm 1780, dịch nấm men *S. cerevisiae* đã xuất hiện trên thị trường Hà Lan. Năm 1800, ở Đức

S. cerevisiae được sản xuất dưới dạng kem. Từ năm 1825 đến năm 1867 ngành công nghiệp sản xuất sinh khối nấm men được tăng cường mở rộng ở Châu Âu. Năm 1872, tại Baron de Max Springer (Pháp), quá trình sản xuất men hạt phát triển, thuận tiện hơn trong vận chuyển và sử dụng. Năm 1876, tại Hoa Kỳ, trong triển lãm thương mại Centennial, Philadelphia, nhiều loại chế phẩm nấm men đã được Fleischmann trưng bày và bán trên thị trường phục vụ sản xuất bánh mì và rượu vang [107].

	VIETTEL AI RACE	TD594
	NGHIÊN CỨU NẤM MEN TRONG LÊN MEN RƯỢU	Lần ban hành: 1

Đầu năm 1980, việc sử dụng sinh khối nấm men *S. cerevisiae* dạng khô đã được nghiên cứu và phổ biến rộng rãi. Ngày nay, phần lớn các cơ sở sản xuất rượu vang dựa trên việc sử dụng nấm men khô, đảm bảo cho quá trình lên men nhanh, làm giảm nguy cơ bị tạp nhiễm do vi sinh vật lạ. Hầu hết, các chủng nấm men rượu vang dạng thương mại hiện nay đã được tuyển chọn theo những đặc tính quý như hiệu suất lên men cao, chịu độ rượu cao, không tạo hương vị lạ và các chất chuyển hóa không mong muốn. Điều này đã góp phần cải thiện chất lượng của rượu vang, tăng khả năng kiểm soát quá trình lên men để đạt được hiệu suất lên men cao. Đến nay, quy trình sản xuất rượu vang đã khá ổn định, các sản phẩm rượu vang ngày càng đa dạng, chất lượng ngày càng cao.

Tác giả Legras và các cộng sự (2007) cho biết trong vài thập kỷ qua, việc áp dụng các đặc điểm di truyền, sinh lý học và công nghệ tái tổ hợp ADN đối với nấm men *S. cerevisiae* đã tạo ra các chủng nấm men rượu vang có khả năng chịu nhiệt, chịu acid, tăng chất lượng cảm quan, tăng hiệu suất quá trình lên men, nâng cao chất lượng rượu [115].

Một số chế phẩm nấm men thương phẩm dùng cho sản xuất rượu có bán trên thị trường hiện nay như: Pasteur Champagne (Pháp), Wyeast (Pháp), Montrachet (Pháp), Pasteur red (Mỹ), Pasteur white (Mỹ)... Nhìn chung các nghiên cứu về nấm men trên thế giới là vô cùng phong phú và đa dạng, tạo ra nhiều loại chế phẩm nấm men cung cấp cho lên men rượu chất lượng cao, ngày càng đáp ứng được nhu cầu sản xuất rượu trên thế giới [169].

Ở Việt Nam

Văn hóa rượu đã có ở các nước Châu Á và Việt Nam từ hàng nghìn năm trước công nguyên cùng với ngành lên men và nấu rượu bằng men lá, bánh men thuốc bắc. Tuy nhiên, các nghiên cứu về men rượu và nấm men *S. cerevisiae* ở Việt Nam trong thời kì chiến tranh trước 1975 không được

	VIETTEL AI RACE	TD594
	NGHIÊN CỨU NẤM MEN TRONG LÊN MEN RƯỢU	Lần ban hành: 1

lưu giữ có hệ thống.

Sau năm 1975, các nghiên cứu và ứng dụng nấm men trong sản xuất, đặc biệt là các nấm men sử dụng trong lên men vang, sản xuất brandy được báo cáo chủ yếu là phân lập, tuyển chọn, nghiên cứu đặc điểm sinh học, xác định tên khoa học và ứng dụng của nấm men trong sản xuất vang [18, 28, 30]. Nghiên cứu đầu tiên về nấm men trong lên men vang được công bố là của Nguyễn Quang Hào và cộng sự (1983) trên các loại quả dâu, mơ... Áp dụng kết quả nghiên cứu đó, các sản phẩm vang mang nhãn hiệu vang “Thăng Long” được xuất hiện trên thị trường vào năm 1983 [16]. Nghiên cứu nấm men sản xuất brandy đầu tiên ở Việt Nam là trên quả nho (2008)

[21] nhưng sản phẩm brandy đầu tiên xuất hiện trên thị trường là brandy Blue Star của Công ty cổ phần Rượu rượu Hà Nội (2010) [28]. Những năm gần đây nhiều chủng nấm men được nhập nội để đáp ứng nhu cầu sản xuất vang trong nước. Do nấm men có vai trò quan trọng, quyết định đến chất lượng thành phẩm rượu vang nên nhu cầu về nấm men có chất lượng tốt ở Việt Nam ngày càng tăng. Trong khi đó, chỉ có rất ít cơ sở sản xuất rượu (các viện nghiên cứu, công ty rượu lớn...) đảm bảo được nguồn giống. Các cơ sở sản xuất tư nhân, hộ gia đình... với trang thiết bị thô sơ, quy trình công nghệ lạc hậu chủ yếu sử dụng nguồn nấm men tự nhiên (có trong không khí, trên vỏ quả, trên các dụng cụ lên men) hoặc có thể lấy dịch lên men mẻ trước để làm giống trong lên men mẻ sau hoặc nhân giống từ các ống giống nấm men thuần.

1.2 Đặc điểm sinh học của nấm men

Đặc điểm hình thái và cấu tạo

Khuẩn lạc đặc trưng của nấm men rượu có màu trắng sữa, tròn, nhẵn bóng; kích thước khuẩn lạc thay đổi theo thời gian nuôi cấy. Hình thái tế bào nấm men khá đa dạng; có thể hình tròn, hình trứng hay bầu dục, hình

	VIETTEL AI RACE	TD594
	NGHIÊN CỨU NẤM MEN TRONG LÊN MEN RƯỢU	Lần ban hành: 1

dài hoặc hình elip... (tùy loài).

Tế bào nấm men có thể thay đổi hình dạng trong các giai đoạn phát triển và điều kiện môi trường xung quanh. Hình thái của tế bào nấm men không thay đổi chỉ khi tế bào còn non trong các điều kiện dinh dưỡng tiêu chuẩn [49]. Các nấm men *Saccharomyces* sử dụng trong công nghiệp thường có kích thước tế bào $(3 - 5) \times (5 - 10) \mu\text{m}$, nặng $10 - 12\text{pg}$ ($1\text{pg}=10^{-12}\text{g}$). Các chồi được hình thành từ bề mặt của tế bào, có kích thước nhỏ hơn hoặc bằng kích thước tế bào mẹ [137], [142]. Hình thái, kích thước khuẩn lạc, chồi, tế bào nấm men tế bào, được phân loại trực tiếp thông qua đối chiếu với các khóa phân loại [115, 119]. Các đặc điểm kiểu hình này cũng đã được xây dựng thành phần mềm, các website để chụp ảnh, phân tích định lượng, các công cụ tính toán, phân tích tự động hình thái khuẩn lạc, chồi và tế bào nấm men [73, 150].

Nấm men có cấu tạo điển hình của một tế bào nhân chuẩn (Eucaryote). Thành phần các chất hữu cơ cơ bản trong tế bào nấm men được ghi lại trong bảng 1.1 [145].

Bảng 1.1. Thành phần các chất hữu cơ cơ bản trong tế bào nấm men [145]

Thành phần các chất hữu cơ cơ bản trong tế bào nấm men	
Độ ẩm	2-5%
Protein thô	50-52%
Protein tinh	42-46%
Acid Nucleic	6-8%
Khoáng	7-8%
Lipid	4-7%
Cacbonhydrat	30-37%

Các nghiên cứu về đa dạng hình thái tế bào nấm men được giải thích từ góc độ di truyền và môi trường. Họ enzyme Rho của GTPases hiện diện trong tất cả các tế bào nhân thực, từ nấm men đến động vật có vú có vai trò điều hòa các enzyme liên quan đến quá trình phát sinh hình thái và

	VIETTEL AI RACE	TD594
	NGHIÊN CỨU NẤM MEN TRONG LÊN MEN RƯỢU	Lần ban hành: 1

phân bố actin trên thành tế bào [53]. Hình thái và thể tích thực của tế bào nấm men có thể thay đổi bởi tỷ lệ các liên kết glucosid trong glucan trên thành tế bào. Nghiên cứu của Jamas và cộng sự (1986) cho thấy sự tăng liên kết β (1 \rightarrow 6) glucoside trong thành tế bào nấm men làm tăng hệ số hình dạng và độ nén của tế bào và thành tế bào [102].”

Đặc điểm sinh lý

Chu kỳ sống của nấm men *Saccharomyces* có hai loại hình phổ biến [98]: ưu thế đơn bội và ưu thế lưỡng bội (tùy loài). Các tế bào dinh dưỡng đơn bội (n) có thể kết hợp với nhau để tạo ra tế bào dinh dưỡng lưỡng bội (2n). Sau quá trình giảm phân, các tế bào lưỡng bội sẽ sinh ra các bào tử túi (thường là 4 bào tử túi). Bình thường, khi không có sinh sản hữu tính, chúng vẫn tiếp tục sinh sản vô tính bằng nảy chồi. Nếu nấm men sinh sản vô tính từ tế bào đơn bội là chủ yếu (thời gian tồn tại chủ yếu ở dạng đơn bội), chúng tuân theo chu kỳ sống ưu thế đơn bội. Nếu nấm men sinh sản vô tính từ tế bào lưỡng bội là chủ yếu (thời gian tồn tại chủ yếu ở dạng lưỡng bội), chúng tuân theo chu kỳ sống ưu thế lưỡng bội. Đặc điểm sinh học và thành phần dinh dưỡng của dứa

1.3 Đặc điểm sinh học và thành phần sinh dưỡng của dứa

Dứa là cây một lá mầm, có lá hình mũi mác, mép có gai, mọc thành cụm hình hoa thị. Hoa mọc từ phần trung tâm của cụm lá hình hoa thị, mỗi hoa có các đài hoa riêng, mọc thành cụm hình hoa thị trên thân cây ngắn và mập. Quả dứa có dạng quả giả, mọng nước, phát triển từ trục của hoa. Các lá bắc mọng nước tụ hợp lại còn quả thật là các "mắt dứa". Kích thước, màu sắc, hình dạng của quả dứa thay đổi tùy theo giống và điều kiện trồng trọt. Trừ phần chồi và cuống, từ ngoài vào trong quả dứa có 3 phần: vỏ quả, thịt quả và lõi [38].

1.3.1 Thành phần dinh dưỡng của dứa

Quả dứa có thành phần dinh dưỡng cao, hương vị thơm ngon xúng

	VIETTEL AI RACE	TD594
	NGHIÊN CỨU NẤM MEN TRONG LÊN MEN RƯỢU	Lần ban hành: 1

đáng là “hoa hậu” của các loại trái cây. Thành phần hóa học của dứa biến động nhiều tùy theo giống, theo độ chín, ngoài ra còn phụ thuộc vào điều kiện canh tác, theo vùng phát triển (Bảng 1.3).

Bảng 1.3. Thành phần hoá học của một số giống dứa chủ yếu ở nước ta [10]

Giống dứa	Độ khô (%)	Acid tổng số (g/100 ml)	pH	Đường khử (%)	Saccharose(%)
Dứa hoa Vĩnh Phú	18	0,51	3,8	4,19	11,59
Dứa hoa Tuyên Quang	18	0,57	3,8	3,56	12,22
Dứa độc bình Nghệ An	13	0,49	4,0	3,20	7,60
Dứa độc bình Vĩnh Phú	13,5	0,49	4,0	3,65	6,50
Dứa ta Hà Tĩnh	12	0,63	3,6	2,87	6,27
Dứa mật Vĩnh Phú	11	0,56	3,9	2,94	6,44
Dứa Victoria nhập nội	17	0,50	3,8	3,20	10,90
Dứa Đồng Nai	15,2	0,31	4,5	3,40	9,80
Dứa Long An	14,8	0,37	4,0	3,30	8,60
Dứa Kiên Giang	13,5	0,34	4,1	2,80	7,50

Dứa có độ ẩm 81,2 đến 86,2% và tổng chất rắn 13-19%.

Carbonhydrate chiếm tới 85% tổng chất rắn; trong đó, chất xơ chiếm 2-3%, còn lại là đường saccharose, glucose và fructose là những thành phần chính. Trong số các acid hữu cơ, acid citric là phong phú nhất. Bột dứa có hàm lượng tro, hợp chất nitơ và lipid rất thấp (0,1%). Trong các hợp chất nitơ, protein chiếm 25 – 30%; trong số các protein hoạt động, có tới 80% protease gọi là Bromelain [99].

Bảng 1.4. Thành phần dinh dưỡng trong 100 g thịt quả dứa trồng ở Trung Mỹ [99]

Các thành phần	Giá trị/Đơn vị đo
Carbohydrate	13,7 g
Chất xơ thực phẩm	1,4 g

	VIETTEL AI RACE	TD594
	NGHIÊN CỨU NẤM MEN TRONG LÊN MEN RƯỢU	Lần ban hành: 1

Chất béo	0,12 g
Protein	0,54 g
Sắt	0,28 mg
Magnesium 12 mg	12 mg
Calcium 16 mg	16 mg
Potassium 150 mg	150 mg
Phosphorus 11 mg	11 mg
Kẽm	0.10 mg
Vitamin A	130 I.U
Vitamin B ₁	0.079 mg
Vitamin B ₂	0.031 mg
Vitamin B ₃	0.489 mg
Vitamin B ₆	0.110 mg
Vitamin C	24 mg
Năng lượng	52 calories

Dứa Queen có hàm lượng dinh dưỡng vượt trội, có 10% tổng chất rắn hòa tan 14,84% đường tổng số và 1,59% đường không khử. Dứa Queen có hàm lượng vitamin C cao (22,5-33,5 mg/100g quả tươi) và đầy đủ các nguyên tố kim loại, đặc biệt Ca và các vi lượng thiết yếu đối với cơ thể người như sắt, magie, kẽm [99].

Quả dứa Queen có nhiều ưu điểm thích hợp cho sản xuất rượu brandy như: (1) có dinh dưỡng phù hợp (độ đường và acid cao, khoáng chất đầy đủ); (2) có hương thơm hấp dẫn (hoa hậu của các loài trái cây); (3) sản lượng thu hoạch lớn, giá thành rẻ; (4) được trồng tập trung và thu hoạch quanh năm ở nhiều nông trường từ Bắc vào Nam. Thành phần lý hóa của dứa Queen thay đổi tùy thuộc vào đất trồng, mùa vụ, chế độ chăm sóc, độ chín của quả. Tại nông trường dứa Đồng Giao – Tam Điệp – Ninh Bình, dứa Queen được trồng, chăm sóc theo quy trình, chất lượng, sản

	VIETTEL AI RACE	TD594
	NGHIÊN CỨU NẤM MEN TRONG LÊN MEN RƯỢU	Lần ban hành: 1

lượng ổn định, thuận lợi cho việc sử dụng làm nguyên liệu cho sản xuất brandy. Ở Việt Nam các nghiên cứu sản xuất rượu từ quả dứa chủ yếu dừng lại ở quy mô sản xuất vang dứa. Brandy dứa trong đề tài cấp nhà nước của Vũ Văn Côn (2016) được chưng cất từ tháp dễ bị mất hương đặc trưng, chất lượng chưa có khả năng cạnh tranh với brandy nhập ngoại [10]. Việc sản xuất brandy dứa theo quy trình chưng cất truyền thống là một hướng mới ở Việt Nam nhằm đáp ứng nhu cầu của người tiêu dùng trong nước và hướng tới xuất khẩu ra nước ngoài..

2. Công nghệ sản xuất rượu Brandy

2.1 Lịch sử nghiên cứu và sản xuất rượu brandy

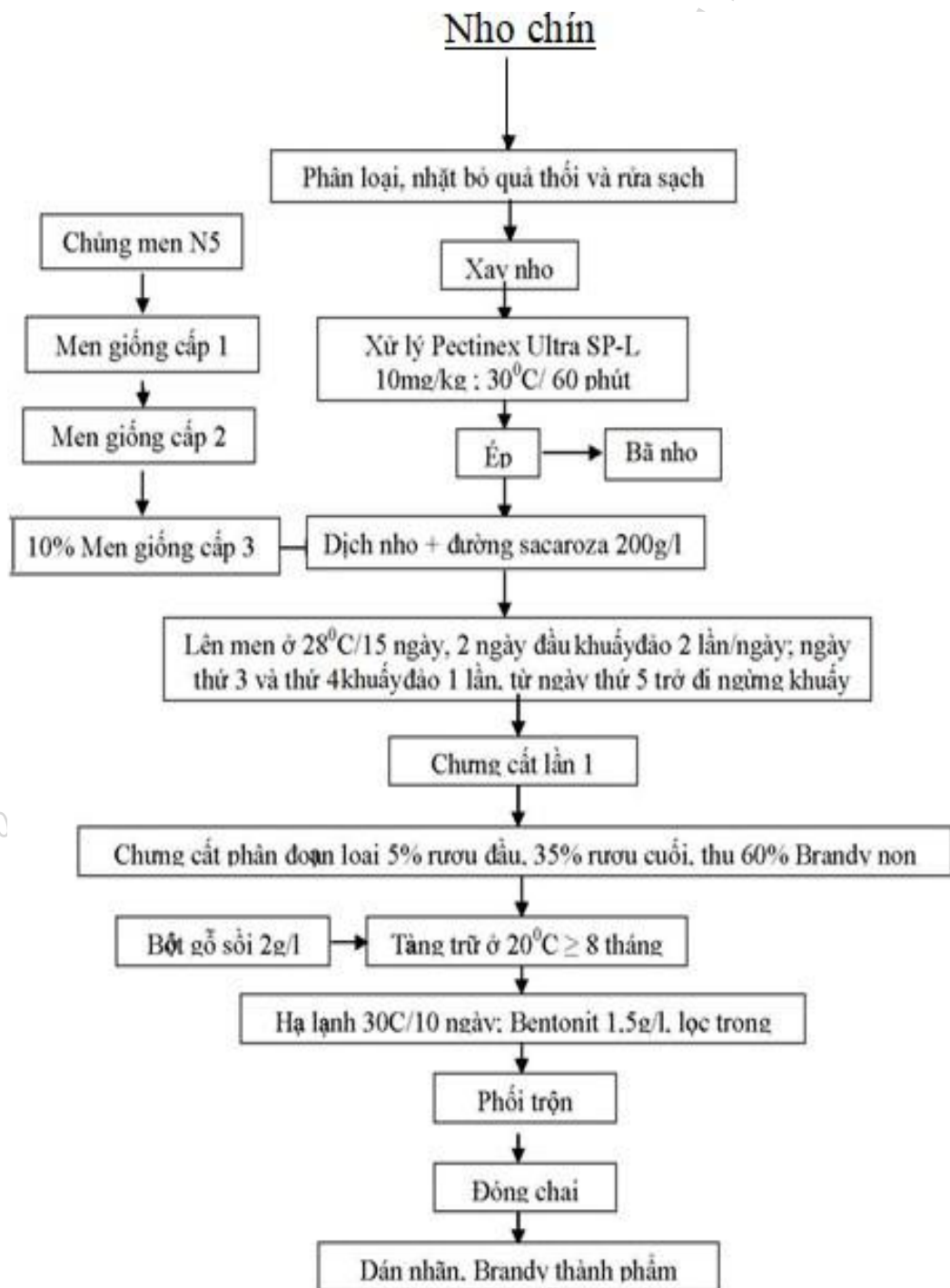
Lịch sử nghiên cứu và sản xuất brandy trên thế giới

Rượu brandy xuất hiện lần đầu tiên vào thế kỉ XII và trở nên phổ biến vào thế kỉ

XIV. Brandy được đặt tên theo gốc tiếng Hà Lan brandewijin (burned-wine) nghĩa là rượu đã cháy. Cái tên này xuất phát từ một thương gia người Hà Lan, gốc Đức tên là Den Helkewijk, người chuyên buôn rượu vang chất từ Pháp sang Hà Lan. Ông đã sáng tạo ra cách chưng cất cách thủy rượu vang chất để tạo nên một loại rượu mạnh hơn về nồng độ, có thể tích ít hơn và vì vậy giảm bớt chi phí cho vận chuyển [80, 109].

Rượu brandy là loại rượu mạnh được chưng cất từ nước ép quả hoặc thịt quả và vỏ quả lên men. Độ rượu của rượu brandy cao, luôn trong khoảng từ 40 – 60% V/V ethanol. Căn cứ vào nguyên liệu, brandy được chia thành 3 loại chính: (1) brandy nho (grape brandy), brandy bã nho (pomace brandy) và brandy quả fruit brandy.

	VIETTEL AI RACE	TD594
	NGHIÊN CỨU NẤM MEN TRONG LÊN MEN RƯỢU	Lần ban hành: 1



Hình 1.1. Quy trình sản xuất brandy nho (Viện Nghiên cứu Bông và phát triển nông nghiệp Nha Hố) [21]

Hiện mới có duy nhất dự án “Hoàn thiện công nghệ sản xuất brandy trái cây (vải, dứa) ở quy mô công nghiệp” do Công ty TNHH MTV Bia rượu Eresson chủ trì [10] tạo ra được sản phẩm brandy dứa bằng chưng cất tháp cao

	VIETTEL AI RACE	TD594
	NGHIÊN CỨU NẤM MEN TRONG LÊN MEN RƯỢU	Lần ban hành: 1

công nghiệp. Thành phần hóa lý và cảm quan của brandy dứa 41% và 29% từ dự án này được mô tả trong bảng 1.5 và 1.6. Cả hai loại brandy dứa này đều có hàm lượng aldehyde, ester, methanol, furfural, acid tổng số và rượu bậc cao đạt tiêu chuẩn quy định. Tuy nhiên, cảm quan của hai sản phẩm này mới dừng ở mô tả màu sắc, mùi vị và trạng thái chưa được chấm điểm theo phương pháp cảm quan TCVN 3217-1979; các thành phần hương chưa được phân tích cụ thể.

Dự án “Hoàn thiện công nghệ sản xuất rượu brandy trái cây (vải, dứa) ở quy mô công nghiệp” đã được tiến hành trên cơ sở kế thừa các kết quả của các nghiên cứu rượu Brandy trước đây, tiếp tục hoàn thiện công nghệ và phát triển sản xuất một số loại rượu Brandy từ vải và dứa có chất lượng cao ở quy mô lớn, có khả năng cạnh tranh được với hàng nhập ngoại.

Bảng 1.5. Thành phần hóa lý và cảm quan của brandy dứa 41% [10]

STT	Chỉ tiêu	Đơn vị	Hàm lượng
1	Ethanol	%v/v	41,5
2	Acetaldehyde	mg/L cồn 100°	32,05
		mg/L	13,3
3	Este theo ethyl acetate	mg/L cồn 100°	440,28
		mg/L	182,72
4	Methanol	mg/L cồn 100°	95,45
		mg/L	39,61
5	Rượu bậc cao	mg/L cồn 100°	1.647,82
		mg/L	683,85
6	Acid tổng số (acid acetic)	mg/L cồn 100°	328,59
		mg/L	136,37
7	Độ màu	A470 nm	0,65
8	Màu sắc		Hồ phách
9	Mùi vị		Mùi dứa đặc trưng, rõ mùi hoa hồi, vani, gỗ sồi nướng. Rượu êm dịu, ngọt nhẹ
10	Trạng thái		Trong suốt, không có vẩn, cặn.
11	Fufural	Định tính	Không có

Bảng 1.6. Thành phần hóa lý và cảm quan của brandy dứa 29% [10]

	VIETTEL AI RACE	TD594
	NGHIÊN CỨU NẤM MEN TRONG LÊN MEN RƯỢU	Lần ban hành: 1

STT	Chỉ tiêu	Đơn vị	Hàm lượng
1	Ethanol	%v/v	29,3
2	Acetaldehyde	mg/L còn 100°	30,46
		mg/L	8,92
3	Este theo ethyl acetate	mg/L còn 100°	440,51
		mg/L	129,07
4	Methanol	mg/L còn 100°	95,89
		mg/L	28,1
5	Rượu bậc cao	mg/L còn 100°	1.639,34
		mg/L	480,33
6	Axit tổng số (axit acetic)	mg/L còn 100°	325,65
		mg/L	95,42
7	Độ màu	A470nm	0,60
8	Màu sắc		Hồ phách
9	Mùi vị		Mùi dứa đặc trưng, rõ mùi hoa hồi. vani, gỗ sồi nướng. Rượu êm dịu, ngọt nhẹ
10	Trạng thái		Trong suốt, không có vẩn, cặn.

2.2 Sản xuất vang để chưng cất thu brandy

Lịch sử nghiên cứu về cơ chế lên men rượu

Đầu thế kỷ 17, Jan Baptist van Helmont quan sát thấy cặn của dịch ép quả có hiện tượng sủi bọt và sinh mùi rượu, ông gọi tên loại cặn này là "fermentum". Thuật ngữ "fermentum" có xuất xứ La tinh, có thể là "*fervere*" nghĩa là sôi, cũng có thể là "*ferveo*" nghĩa là sủi bọt (vì khi lên men rượu, bề mặt của dịch lên men xuất hiện rất nhiều bọt như sôi). Ông nhận xét rằng: chất khí thoát ra trên bề mặt dịch lên men cũng chính là chất khí tạo ra khi đốt than [163].

	VIETTEL AI RACE	TD594
	NGHIÊN CỨU NẤM MEN TRONG LÊN MEN RƯỢU	Lần ban hành: 1

Năm 1789, Lavoisier đã phân tích sản phẩm lên men rượu và nhận thấy: đường không những bị biến thành rượu và CO₂ mà còn tạo thành acid acetic. Năm 1810, Gay Lussac nghiên cứu thấy: cứ 45 phần trọng lượng glucose, tạo ra 23 phần trọng lượng rượu và 22 phần CO₂, trên cơ sở đó, ông đã viết phương trình của sự lên men rượu như sau:



Năm 1836, Theodore Schwann, đã khám phá ra nguyên nhân của lên men rượu là do sinh vật đơn bào sử dụng đường, mà ông gọi tên là nấm đường (Saccharomyces). Sau đó, Charles Caignard de Latour xác định loại sinh vật đơn bào này là nấm men, sử dụng đường để sinh ra rượu và CO₂, sinh sản bằng cách nảy chồi [1634].

Năm 1854, Louis Pasteur, tìm ra mối liên hệ giữa lên men và nấm men. Ông kết luận rằng loại vi sinh vật này đã sử dụng cơ chất là đường có sẵn trong nho để chuyển hóa thành rượu và trong điều kiện kỵ khí. Từ đó thuật ngữ fermentation còn có một nghĩa khác là sự sống trong điều kiện kỵ khí [136].

Cơ chế quá trình lên men rượu đã được làm sáng tỏ khi nghiên cứu các chủng nấm men thuộc giống *Saccharomyces* trong quá trình lên men vang. Môi trường lên men lúc đầu vẫn còn O₂, kích thích sự sinh trưởng phát triển của nấm men. Sau khi lượng O₂ hòa tan trong môi trường lên men được nấm men sử dụng hết, điều kiện kỵ khí cho lên men rượu được nhanh chóng thiết lập. Quá trình lên men rượu ethanol bao gồm một chuỗi các phản ứng phức tạp diễn ra với sự tham gia của một hệ enzyme do nấm men tiết ra, có thể chia thành 2 giai đoạn. Đầu tiên acid pyruvic được tạo thành qua chu trình đường phân Embden-Mayerhoff-Parnas, sau đó acid pyruvic bị decarboxyl hoá tạo thành acetaldehyde rồi bị khử thành rượu ethanol. *Tiêu chuẩn về nguyên liệu*

Tiêu chuẩn đầu tiên về nguyên liệu trong sản xuất brandy là bất kì

	VIETTEL AI RACE	TD594
	NGHIÊN CỨU NẤM MEN TRONG LÊN MEN RƯỢU	Lần ban hành: 1

một loại quả nào có đường, acid, vitamin, khoáng... và không độc hại đều có thể dùng làm nguyên liệu sản xuất.

Theo quy định TCVN 7043 : 2013 về nguyên liệu khi pha chế yêu cầu nước dùng để pha chế, dùng sản xuất cũng như ethanol dùng pha chế đều phải đạt tiêu chuẩn sau:

Nước dùng để pha chế: theo QCVN 01:2009/BYT, *Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về chất lượng nước ăn uống [9]*

Ethanol dùng để pha chế: theo QCVN 6-3:2010/BYT, *Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với các sản phẩm đồ uống có rượu [7]*

Tiêu chuẩn cảm quan

Đánh giá chất lượng rượu dựa trên phương pháp cảm quan cho điểm (trình bày trong phần phương pháp) và bảng xếp hạng chất lượng sản phẩm theo TCVN 3217-1979 (bảng 1.7).

Bảng 1.7. Xếp hạng chất lượng sản phẩm - TCVN 3217 – 1979 [1]

STT	Mức chất lượng	Số điểm chung	Yêu cầu tối thiểu về điểm trung bình có trọng lượng của hội đồng cảm quan
1	Loại tốt	18,6 – 20,0	Mùi : 4,8 Vị: 4,8
	Loại khá	15,2 – 18,5	Mùi : 3,8 Vị: 3,8
3	Loại trung bình	11,2 – 15,1	Mùi : 2,8 Vị: 2,8
4	Loại kém	7,2 – 11,1	Mùi : 1,8 Vị: 1,8
5	Loại rất kém	4,0 – 7,1	Mùi : 1,0 Vị: 1,0
6	Loại hỏng	0,0 – 3,9	Mùi <1 Vị <1

Tiêu chuẩn về thành phần hóa học

Brandy là một loại đồ uống cao cấp, cần đạt được các chỉ tiêu hóa học của rượu chưng cất từ dịch lên men theo TCVN 7043 : 2013 (bảng

	VIETTEL AI RACE	TD594
	NGHIÊN CỨU NẤM MEN TRONG LÊN MEN RƯỢU	Lần ban hành: 1

1.8).

Bảng 1.8. Các chỉ tiêu hóa học của rượu chưng cất – TCVN 7043:2013 [3]

Tên chỉ tiêu	Mức quy định
1. Hàm lượng ethanol (rượu) ở 20°C, tính theo % (V/V),	Theo tiêu chuẩn đã được công bố của nhà sản xuất
2. Hàm lượng aldehyde, tính bằng miligam aldehyde acetic trong 1lít rượu 100%V/V, không lớn hơn mức công bố	Theo tiêu chuẩn đã được công bố của nhà sản xuất
3. Hàm lượng ester, tính bằng miligam ester etylaxetat trong 1 l rượu 100%V/V, không lớn hơn mức quy định	200 (mg/l rượu 100%V/V)
4. Hàm lượng methanol, mg/l cồn, không lớn hơn mức quy định	2000 (mg/l cồn)
5. Hàm lượng rượu bậc cao tính theo tỉ lệ hỗn hợp izopentanol và izobutanol, hỗn hợp 3:1, tính bằng miligam trong 1 lít ethanol 100%V/V	Theo tiêu chuẩn đã được công bố của nhà sản xuất

Tiêu chuẩn giới hạn hàm lượng kim loại nặng

Cũng theo TCVN 7043:2013, giới hạn tối đa hàm lượng kim loại nặng trong rượu được ghi rõ trong bảng 1.9

Bảng 1.9. Giới hạn tối đa hàm lượng kim loại nặng đối với đồ uống có cồn - TCVN 7043:2013 [3]

Tên chỉ tiêu	Giới hạn tối đa (mg/l)
1. Asen (As)	0,2
2. Chì (Pb)	0,5
3. Thủy ngân (Hg)	0,05
4. Cadimi (Cd)	1,0
5. Đồng (Cu)	5,0
6. Kẽm (Zn)	2,0

Phụ gia thực phẩm

Trong lên men hoặc quá trình pha chế brandy có thể sử dụng một số

	VIETTEL AI RACE	TD594
	NGHIÊN CỨU NẤM MEN TRONG LÊN MEN RƯỢU	Lần ban hành: 1

phụ gia thực phẩm. Các phụ gia thực phẩm này cũng phải nằm trong "Quy định danh mục các chất phụ gia được phép sử dụng trong thực phẩm" ban hành kèm theo Quyết định 3742/2001/QĐ-BYT [8].

Bao gói, ghi nhãn, bảo quản và vận chuyển

Bao gói: brandy phải được đựng trong các chai kín, chuyên dùng cho thực phẩm và không ảnh hưởng đến chất lượng của rượu.

Ghi nhãn: Theo "Qui chế ghi nhãn hàng hoá lưu thông trong nước và hàng hoá xuất khẩu, nhập khẩu" ban hành kèm theo Quyết định số 178/1999/QĐ – TTg [29].

Bảo quản: Các thùng đựng rượu trắng phải để nơi khô ráo, bảo đảm vệ sinh và tránh ánh nắng trực tiếp.

Vận chuyển: Phương tiện vận chuyển rượu trắng phải khô, sạch, không có mùi lạ và không ảnh hưởng đến chất lượng của rượu .