

Bộ khoa học và công nghệ
Viện công nghiệp thực phẩm

**BÁO CÁO TỔNG KẾT
KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT**

Đề tài cấp nhà nước:

**NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ ENZYM
TRONG CHẾ BIẾN MỘT SỐ NÔNG SẢN THỰC PHẨM**

Mã số: KC 04-07

Chủ nhiệm đề tài cấp nhà nước: PGS. TS Ngô Tiến Hiến

Đề tài nhánh:

***Hoàn thiện công nghệ và thiết bị sản xuất rượu
vang chất lượng cao***

Chủ nhiệm đề tài nhánh: ThS. Nguyễn Thuý Hương

HÀ NỘI, 10/ 2004

MỤC LỤC

Mở đầu	1
I. Tổng quan	2
1.1. Tình hình sản xuất và tiêu thụ rượu vang trên thế giới	2
1.2. Tình hình phát triển ngành công nghiệp vang Việt Nam	2
1.3. Phân loại rượu vang	3
1.4. Nguyên liệu để sản xuất rượu vang	4
1.4.1. Thành phần hoá học của một số loại quả	4
1.4.2. Chất màu antoxyanin	5
1.4.3. Các hợp chất tanin	5
1.4.4. Các hợp chất tanol	6
1.4.5. Phản ứng tạo chất thơm	7
1.5. Vi sinh vật tham gia vào quá trình lên men rượu vang	8
1.6. Các quá trình cơ bản trong sản xuất rượu vang	9
1.6.1. Nghiền và ép	9
1.6.2. Lên men	10
1.6.3. Quá trình lắng trong và tàng trữ	13
1.7. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang	14
1.7.1. ảnh hưởng của nhiệt độ	14
1.7.2. ảnh hưởng của nồng độ rượu	15
1.7.3. ảnh hưởng của pH	15
1.7.4. ảnh hưởng của oxi	15
1.7.5. ảnh hưởng của nồng độ đường	16
1.7.6. ảnh hưởng của tỷ lệ men giống	16
1.7.7. ảnh hưởng của các chất chứa nitơ	16
II. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu	17
2.1. Nguyên liệu	17
2.2. Chủng vi sinh vật	17

2.3. Phương pháp	17
2.4. Môi trường	19
2.5. Phương pháp tính các thông số của quá trình lên men	20
2.6. Công thức tính tốc độ bổ sung dịch vào bình lên men	20
III. Kết quả và bàn luận	22
3.1. Tuyển chọn chủng giống nấm men	22
3.2. Khả năng tạo cồn và sinh hương của của 5 chủng chọn lựa	23
3.3. ảnh hưởng của tỷ lệ men giống đến quá trình lên men	23
3.4. ảnh hưởng của nồng độ đường đến quá trình lên men	25
3.5. ảnh hưởng của pH đến quá trình lên men	27
3.6. ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men	28
3.7. ảnh hưởng của tỷ lệ dịch quả đến quá trình lên men	29
3.8. Động học của quá trình lên men rượu của chủng 7043	30
3.9. Lên men bổ sung	31
3.10. Kết quả thực nghiệm ở quy mô 5.000 lít	33
3.11. Quy trình sản xuất vang quả	34
IV. Kết luận	35
Tài liệu tham khảo	36

Danh sách người thực hiện đề tài

MỞ ĐẦU

Rượu vang là một thuật ngữ dùng để chỉ đồ uống lên men có rượu từ dịch ép quả nho không qua chưng cất. Ngày nay, khái niệm rượu vang đã được mở rộng hơn, dùng để chỉ các loại rượu lên men từ dịch ép trái cây và không qua quá trình chưng cất [3].

Rượu vang là loại đồ uống có giá trị dinh dưỡng cao. Ngoài hai thành phần chính là nước và etanol với nồng độ vừa phải (10-14%), trong vang còn có hầu hết các axit amin cần thiết không thể thay thế như lisin, treonin, leusin, iso-leusin, valin, arginin, histidin, phenylalanin, các vitamin, các nguyên tố vi lượng và nhiều axit hữu cơ khác như axit lactic, axit malic, axit citric, axit tartaric và các chất màu tự nhiên [5].

Loài người đã biết ủ men làm rượu vang khoảng 5000 năm trước đây. Thoạt đầu đó chỉ là cách bảo quản nước ép quả. Sau đó rượu vang đã trở thành một loại đồ uống có cồn không thể thiếu được trong các dịp lễ tết, hội hè. Theo thời gian kỹ thuật sản xuất rượu vang trên thế giới ngày càng hoàn thiện, chất lượng rượu vang dần được ổn định.

Hiện nay trên thế giới đã có hàng trăm loại rượu vang, đặc trưng cho mỗi vùng nguyên liệu và mỗi quốc gia.

Việt Nam nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới, hoa trái bốn mùa, nhiều về số lượng và phong phú về chủng loại. Tuy nhiên, kỹ thuật sản xuất rượu vang ở nước ta còn rất mới mẻ, sản xuất với quy mô nhỏ, công nghệ chưa hoàn chỉnh, thiết bị còn thô sơ. Để có những giải pháp đúng đắn nhằm sử dụng một cách hiệu quả tiềm năng nguyên liệu và tạo ra những sản phẩm có chất lượng cao, việc đầu tư nghiên cứu hoàn thiện công nghệ và thiết bị sản xuất rượu vang là rất cần thiết.

PHẦN I. TỔNG QUAN

1.1 Tình hình sản xuất và tiêu thụ rượu vang trên thế giới

Trải qua lịch sử 5000 năm ra đời và phát triển, ngày nay công nghiệp sản xuất rượu vang thế giới đã thực sự trở thành một ngành sản xuất mang tính thương mại, đem lại hiệu quả kinh tế rất cao, đặc biệt là ở các quốc gia như: Pháp, Ý, Mỹ, Tây Ban Nha, Argentina.

Bảng 1. Sản lượng vang tại một số quốc gia trên thế giới (1990-2000)

(triệu hectolit)

Quốc gia	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000
Thế giới	285,1	255,9	290,3	255,67	253,85	252,25	270,15	265,39	267,62	282,23	279,5
Pháp	65,52	42,67	64,93	53,31	54,64	55,60	60,03	55,10	54,45	63,76	57,04
Ý	54,87	59,76	68,67	59,28	59,28	56,20	58,78	50,56	56,91	57,00	58,06
Tây Ban Nha	39,69	31,39	33,83	20,78	20,78	21,04	30,40	33,22	33,72	32,98	37,60
Mỹ	18,45	17,22	15,22	17,55	17,55	18,67	18,67	26,18	22,86	23,10	24,00
Đức	9,51	10,70	13,48	9,92	10,40	8,36	8,64	8,50	10,83	11,89	12,28
Trung Quốc	2,54	3,00	2,66	2,70	2,89	3,00	3,40	4,20	4,75	5,20	5,75
Uc	4,25	3,94	4,59	4,62	5,87	5,03	6,30	6,17	7,01	7,22	7,42

(Nguồn: Theo số liệu thống kê của Tổ chức lương thực thế giới FAO)

1.2. Tình hình phát triển ngành công nghiệp vang Việt Nam

Vang du nhập vào Việt nam từ đầu thế kỷ 20 theo chân của những người nước ngoài, đặc biệt là người Pháp thời thực dân. Từ đó, việc sản xuất vang đã được tiến hành, nhưng chủ yếu vẫn trong qui mô gia đình. Ngành sản xuất vang Việt Nam mới thực sự được khai sinh vào khoảng những năm 80. Năm 1984, vang Thăng Long đứng đầu trong ngành sản xuất vang non trẻ với sản lượng 10.000 lít/năm. Đến năm 1986, một số cơ sở sản xuất vang Hồng Hà, vang Gia lâm tiếp tục ra đời nâng sản lượng vang cả nước đạt 100.000 lít. Từ năm 1992 đến 1996 là sự ra đời của một loạt các cơ sở sản xuất vang qui mô vừa và nhỏ với những thương hiệu vang mới như HaBa, Hà Nội, Đông Đô, Tây Đô, Hoàn Kiếm v.v. Tổng sản lượng vang của Việt Nam đã đạt 7.000.000 lít năm vào năm 1996. Từ năm 1997 đến 2002, nhiều dòng rượu vang mới của cả hai miền Nam Bắc Việt Nam đã bắt đầu khẳng

định tên tuổi như vang Ninh Thuận, Bắc Đô, Hùng Vương, Vang Đà Lạt, vang Vải Thanh Hà, vang Nho của Viện RB&NGK, vang Quốc Pháp v.v góp phần nâng tổng sản lượng rượu vang Việt Nam lên con số ước tính 12.500.000 lít rượu vang được sản xuất vào năm 2002. Trong số đó, 2.500.000 lít thuộc về nhóm các cơ sở tư nhân, hộ kinh tế gia đình sản xuất vang (ước khoảng 100 hộ) sử dụng trang thiết bị công nghệ thô sơ để sản xuất ra loại vang có chất lượng thấp, giá rẻ, phục vụ chủ yếu cho các dịp lễ Tết, cưới hỏi tại các vùng nông thôn.

So sánh tổng sản lượng rượu vang của năm 2002 với năm 1996 cho thấy: *ngành sản xuất rượu vang Việt Nam hiện đang trên đà phát triển rất nhanh chóng.*

Theo khảo sát thị trường, mức tiêu thụ vang tại Việt Nam tăng bình quân khoảng 5.0% năm. Lượng tiêu thụ vang tại Việt Nam năm 1990 mới đạt được 300.000 lít/năm, năm 2002 đạt khoảng 8,5 đến 9 triệu lít/năm (bình quân 0.1 lít/người/năm) và được dự đoán đang tiếp tục tăng nhanh trong những năm tới. Với mức bình quân đầu người về tiêu thụ vang là 0,1 lít rượu vang/ người/ năm, Việt Nam còn cách xa mức tiêu thụ rượu vang tại các quốc gia khác trong và ngoài khu vực (tại Thái Lan, một nước phát triển của khối ASEAN, mức tiêu thụ vang hiện tại khoảng 8 đến 10 lít/ người/ năm; tại Trung Quốc, bình quân đầu người đạt 0,28 lít/ người/ năm; mức tiêu thụ vang hiện nay của các nước phát triển như Pháp, Anh, Italia là 55,0 lít/ người/ năm).

Triển vọng phát triển thị trường tiêu thụ rượu vang tại Việt Nam là rất khả quan do các yếu tố như: Kinh tế Việt Nam đang phát triển nhanh với mức 7-8%/ năm làm tăng thu nhập của dân cư, người Việt Nam đã và đang chuyển dần từ thói quen uống rượu mạnh sang rượu vang, dân số Việt Nam đến năm 2010 sẽ đạt khoảng 90 triệu người. Việt Nam nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới, trái cây rất đa dạng, phong phú và là nguồn nguyên liệu dồi dào để phát triển ngành công nghiệp sản xuất rượu vang.

1.3 Phân loại rượu vang

Trên thế giới có tới hàng trăm loại rượu vang khác nhau. Mỗi loại được đặc trưng bởi một phương thức sản xuất riêng tùy theo đặc điểm của rượu và tính chất của công nghệ. Nhìn chung việc phân loại rượu vang dựa vào các chỉ tiêu như: Độ cồn, độ đường dư, màu sắc, lượng CO₂ và kỹ thuật sản xuất.

Bảng 2. Phân loại rượu vang [8]

Nhóm, hạng của rượu vang	Độ cồn (% v/v)	Độ đường (% w/v)
1. Rượu vang không gaz (still wine)		
1.1 <i>Rượu vang bàn ăn (table wines)</i>		
1.1.1 Cay	9-14	<0,3
1.1.2 Nửa cay	9-12	0,5-0,3
1.1.3 Nửa ngọt	9-12	3-8
1.2 <i>Rượu vang nặng (fortified wines)</i>		
1.2.1 Nặng	17-20	1-14
1.2.2 Điểm tâm		
a. Nửa ngọt	14-16	5-20
b. Ngọt	15-17	14-20
c. Rượu nặng (liqueur)	12-17	21-35
1.1.3 Tạo hương	16-18	6-16
2. Rượu vang có gaz		
2.1 <i>Sâm banh (chambagne)</i>		
2.1.1 Brut	10,5-12,5	<0,3
2.1.2 Rất cay	10,5-12,5	0,8
2.1.3 Cay	10,5-12,5	3,0
2.1.4 Nửa cay	10,5-12,5	5,0
2.1.5 Ngọt	10,5-12,5	8,0
2.2 <i>Rượu vang bọt</i>		
2.2.1 Đỏ	11-13,5	7-8
2.2.2 Hồng	10,5-12,5	6-7
2.2.3 Muxcat	10,5-12,5	9-12
2.2.4 Rượu vang bọt	9-12	3-8

1.4 Nguyên liệu để sản xuất rượu vang

1.4.1 Thành phần hoá học của một số loại quả

Nguyên liệu để sản xuất rượu vang là các loại quả. Tất cả các loại quả đều có chứa đường (hầu hết ở dạng glucoza và fructoza),

vitamin, các chất khoáng, các axit hữu cơ [1]. Thành phần hoá học của quả có ảnh hưởng lớn đến chất lượng rượu vang. Điều kiện đất đai, khí hậu, kỹ thuật canh tác cũng ảnh hưởng đến rượu vang vì chúng quy định hợp chất hữu cơ nào sẽ có mặt trong quả. Thành phần hoá học của một số quả hay dùng trong sản xuất rượu vang được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Thành phần hoá học của một số loại quả [2, 4, 11]

Tên quả	Thành phần hoá học (g%)					Muối khoáng (mg%)			Vitamin (mg%)			
	Nước	Protein	Axit hữu cơ	Gluxit	Tro	Ca	P	Fe	B ₁	B ₂	PP	C
Nho ngọt	73,1	0,4	0,8	14,8	0,4	15,3	19,8	0,5	0,05	0,04	0,2	3
Nho ta	79,7	0,4	1,7	2,7	0,4	34,8	18,3	1,2	-	-	-	-
Dâu tằm	84,71	0,3	1,8	9,19	-	-	-	-	-	-	-	-
Chuối tiêu	51,8	1,0	0,3	15,7	0,6	5,6	19,6	0,4	0,03	0,04	0,5	4
Dứa ta	54,3	0,5	0,6	3,9	0,2	9,0	10,2	0,3	0,05	0,01	0,1	14
Mận	-	0,5	1,1	3,3	0,4	23,8	17,0	Vết	0,05	0,03	0,4	3
Mơ	73,8	0,8	1,1	9,0	0,6	24,1	22,4	1,8	0,03	0,05	0,6	6

Ghi chú: (-) không xác định

1.4.2 Chất màu antoxyanin

Antoxyanin là những chất glucozit có màu và có trong dịch ép tế bào của quả. Tất cả các antoxyanin đều hoà tan trong nước, không tan trong ete, benzen, axeton và formaldehyt. Các chất antoxyanin tạo thành kết tủa trong các dung dịch nước hoặc rượu ở dạng muối chì màu xanh, muối này tan trong axit axetic và tạo thành dung dịch màu đỏ tối. Độ sáng của màu xanh hoặc màu đỏ của các antoxyanin phụ thuộc vào sự phân bố điện tích dương trong hệ thống aryl hoá của croman và phụ thuộc vào sự hydrat hoá. Sự có mặt của các muối vô cơ và độ pH của môi trường cũng ảnh hưởng đến đặc tính của hệ thống cộng hưởng. Các chất xyanin khác nhau được phân biệt bằng số lượng và vị trí các nhóm hydroxyl. Có năm loại antoxyanin là xyanidin, peonidin, delphinidin, petunidin và malvidin.

1.4.3. Các hợp chất tanin

Tanin thực vật là hỗn hợp của các hợp chất phenon và các hợp chất polyphenol. ở dạng tinh khiết, tanin là chất kết tinh, có vị chát,

đắng. Các tanin thực vật đều tan trong nước, rượu, ete etyl, axeton và etylaxetat. Tanin tác dụng với gelatin, protein, alcaloit và một số hợp chất hữu cơ khác có tính kiềm tạo thành các hợp chất kết tủa tương ứng. Trong sản xuất nước quả hoặc rượu vang quả thường gặp hiện tượng tanin kết hợp với protein và cùng với các chất có tính keo khác có tác dụng lắng trong dịch quả. Trong quá trình tàng trữ vang quả, nhờ có tanin bị oxy hoá thành các hợp chất quinon và các hợp chất quinon này tác dụng với một loạt chất khác có tính khử để tạo nên hương thơm độc đáo cho sản phẩm. Tanin là nhóm chất có tính khử mạnh, trong không khí nó dễ bị oxy hoá, đặc biệt trong môi trường kiềm tính. Các sản phẩm oxy hoá của tanin là những chất có màu đỏ hoặc nâu.

1.4.4 Các hợp chất phenol

Các hợp chất phenol thực vật giữ vai trò quyết định hương vị và màu sắc của sản phẩm rượu vang. Chúng tham gia vào quá trình tạo các cấu tử thơm mới góp phần tạo nên hương thơm đặc biệt cho sản phẩm.

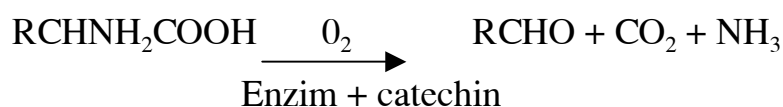
Hàm lượng các phenol trong rau quả không cao nhưng chúng ảnh hưởng đến hương vị, màu sắc của sản phẩm rất lớn. Chúng tạo vị chát đắng khác nhau, tạo màu đen xám hoặc nâu đỏ, làm mất màu tự nhiên của sản phẩm. Các hợp chất phenol trong rau quả thuộc nhóm chất flavanon ở dạng glucosit. Chính dạng glucosit này của các chất phenol tạo ra vị đắng.

Hợp chất phenol là những chất dễ bị oxy hoá, dưới tác dụng của enzyme oxy hoá với sự có mặt của oxy không khí hoặc oxy nguyên tử, hợp chất phenol bị oxy hoá rất mãnh liệt. Sản phẩm oxy hóa đầu tiên của các hợp chất phenol là các chất octoquinon tương ứng, những chất octoquinon này hoặc là ngưng tụ với nhau để tạo ra các sản phẩm có màu và không có màu, tan, không tan trong nước hoặc là kết hợp với các protein để tạo thành các chất kết tủa có màu hoặc không màu.

Do tham gia vào các phản ứng trên, nên hàm lượng các hợp chất phenol giảm xuống kéo theo làm giảm đáng kể một loạt các hợp chất hữu cơ khác. Trong quá trình biến đổi bên cạnh việc làm giảm hàm lượng còn có sự thay đổi lớn cả về chất, tức là làm thay đổi thành phần tổ hợp của hỗn hợp các hợp chất phenol: các hợp chất phenol đơn giản (polyhydroxyl phenol monome) giảm xuống còn các hợp chất phenol phân tử cao (polyphenol hay tanin kết hợp) lại tăng lên. Nhờ đó có sự thay đổi về vị của sản phẩm: từ vị đắng chát khó chịu thành vị chát dịu hợp khẩu vị.

1.4.5 Phản ứng tạo chất thơm

Trong quá trình chế biến quả và lên men rượu vang, dưới tác dụng của các enzyme oxy hoá ở các giai đoạn lên men, các hợp chất phenol bị oxy hoá và chuyển thành các octoquinon tương ứng. Nếu trong hệ thống phản ứng có mặt các axit amin, các octoquinol sẽ thực hiện phản ứng cộng với các axit amin đó. Sản phẩm của phản ứng cộng, một lần nữa lại bị oxy hoá thành các octoquinol tương ứng. Chính dạng octoquinon này tiếp tục tác dụng với các axit amin còn lại để tiến hành các quá trình de amin hoá, khử CO₂ và giải phóng ra các andehyt bay hơi có mùi thơm tương ứng. Phản ứng rút gọn của sự tác dụng tương hỗ này như sau:



1.5 Vi sinh vật tham gia vào quá trình lên men rượu vang

Vi sinh vật có vai trò đặc biệt quan trọng trong quá trình lên men rượu vang, chúng có thể tạo ra hương vị hài hòa cho rượu vang cũng có thể làm hỏng rượu vang. Vi sinh vật trong rượu vang thuộc hai nhóm lớn: Nấm men và vi khuẩn trong đó nấm men giữ vai trò quyết định tạo độ cồn, cũng như hương vị cho rượu vang.

Nấm men thường gặp trong sản xuất rượu vang thuộc giống *Saccharomyces* [3]. Phổ biến nhất và quan trọng nhất là những loài *Saccharomyces cerevisiae* [13, 10].

Tiêu chuẩn để đánh giá một chủng rượu vang tốt là:

- Sinh trưởng nhanh, Năng lực lên men tốt. Chịu được cồn và nồng độ CO₂ cao, nhu cầu oxy thấp, có khả năng lên men ở nhiệt độ thấp.
- Có khả năng kết chum cao và tốc độ lắng chậm.
- Chịu sulfite.
- Tạo ra hàm lượng cồn cao ở nhiệt độ và pH thấp.
- Tạo ra ít axit axetic, aldehyt, cồn bậc cao.
- Có khả năng tạo ra nhiều ester thơm.
- Cho vị ngon.
- Có khả năng lên men dịch quả có nồng độ đường cao và pH thấp.

Các vi sinh vật tham gia vào quá trình lên men rượu vang được sử dụng ở hai dạng: Hệ vi sinh vật có sẵn trong tự nhiên và vi sinh vật thuần chủng. Tương ứng với chúng là hai phương pháp lên men rượu vang: Lên men tự nhiên và lên men nhờ các chủng nấm men thuần khiết

****Lên men tự nhiên:*** Là quá trình lên men sử dụng các nấm men có sẵn từ vỏ quả, cuống quả, đất, không khí cho nên chất lượng rượu vang không ổn định, dễ bị nhiễm khuẩn.

****Lên men nhờ chủng nấm men thuần khiết:*** Các chủng nấm men này được phân lập, chọn lọc từ một tế bào nấm men có sẵn trong tự nhiên. Khi lên men rượu vang nhờ các chủng nấm men thuần khiết chất lượng rượu vang thu được ổn định hơn, quá trình lên men nhanh, rượu dễ lắng trong, không bị tạp nhiễm.

Bên cạnh những vi sinh vật có lợi cho quá trình lên men rượu, một số vi sinh vật khi có mặt trong rượu sẽ làm hỏng rượu vang. Quá

trình làm hồng rượu vang thường xảy ra khi rượu tiếp xúc với không khí. Nấm men dạng màng và vi khuẩn axetic phát triển và sử dụng cồn biến đổi thành axit axetic làm chua rượu vang. Để bảo quản rượu vang người ta có thể sử dụng phương pháp thanh trùng Pasteur, vi lọc hay dùng các chất bảo quản (SO₂) [8].

Bảng 4. Vi sinh vật thường gặp trong lên men rượu vang [12]

Vi sinh vật	Vai trò	Hiệu quả biến đổi hoá, lý
<i>S. cerevisia</i> var. <i>ellipsoideus</i>	1. Lên men rượu chính 2. Cacbonat hoá rượu vang có gaz bằng sự lên men thứ cấp. 3. Làm vẩn đục rượu vang ngọt.	Glcoza và/ hoặc Fructoza Etanol + CO ₂ .
<i>Pediococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactobacillus</i> ,	Lên men malo-lactic	1. axit malic axit lactic + CO ₂ 2. Làm giàu hương vị.
Hệ nấm men Sherry (<i>S.beticus</i> , <i>S.cheresiensis</i> , <i>S.fermenti</i>)	Phát triển lớp bề mặt dày để tạo hương Sherry.	1. Oxi hoá etanol thành axetaldehyt. 2. Tạo thành phần hương vị
<i>Botrytis cinerea</i>	Sinh trưởng trên bề mặt quả nho, dùng để sản xuất vang ngọt.	1. Làm khô quả nho. 2. Oxi hoá a.malic thành CO ₂ và H ₂ O. 3. Thêm hương và màu.
Vi khuẩn axetic và những nấm men tạo màng	Làm hồng rượu vang do tiếp xúc với không khí.	Oxi hoá rượu thành a.axetic
Vi khuẩn lactic, nổi bật là <i>Lactobacillus</i>	Làm hồng rượu vang trong điều kiện yếm khí.	Tạo mùi “hôi chuột”.

1.6 Các quá trình cơ bản trong sản xuất rượu vang.

1.6.1 Nghiền và ép

Bước đầu tiên trong sản xuất rượu vang là thu hái quả và thu nhận dịch quả. Tùy thuộc vào từng loại rượu vang người ta thu hái quả ở các độ chín khác nhau sao cho độ đường trong dịch quả nằm trong khoảng 20,5-24% để độ rượu sau lên men đạt được 11-13%. Trong quá trình nghiền nho, SO₂ thường được thêm vào để ức chế enzym oxy hoá polyphenoloxydaza. Để tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình ép một số enzym thủy phân pectin được thêm vào với hàm lượng 0,1- 0,5%[6, 9].

Dịch ép quả có thể được dùng trực tiếp để lên men rượu vang hoặc được bảo quản để sản xuất quanh năm. Người ta thường thêm vào một số chất bảo quản (thường dùng là SO_2). Liều lượng SO_2 sử dụng ở quy mô sản xuất công nghiệp cũng khác nhau đáng kể và thường trong giới hạn từ 400 - 1200 mg/l tùy thuộc vào thời gian bảo quản [6]. Trước khi lên men dịch ép quả phải được sục khí hoặc làm ấm lên để loại bỏ SO_2 ra khỏi khối dịch quả.

Một quá trình đặc trưng để sản xuất rượu vang quả là làm ngọt khối dịch quả trước khi lên men. Đây là quá trình rất cần thiết bởi vì hàm lượng đường trong quả nói chung là thấp. Đường saccharoza được thêm vào dịch quả với hàm lượng từ 150 - 300 g/l. Đường có thể được thêm trực tiếp vào dịch quả hoặc dưới dạng siro.

Nước ép quả đặc biệt là quả dâu thường có hàm lượng nitơ thấp, không đủ cho sự sinh trưởng của nấm men nên các muối amoni như $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ thường được thêm vào như là nguồn dinh dưỡng. Hàm lượng của muối $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ thường dùng là 0,1 - 0,3 g/l dịch quả [6].

1.6.2 Lên men

Trước khi lên men, dịch quả được sục khí để cung cấp oxy cho nấm men sinh trưởng. Sau đó điều kiện yếm khí được thiết lập để xúc tiến quá trình lên men rượu và sinh CO_2 . CO_2 thoát ra dưới dạng khí phủ trên bề mặt chất lỏng, bảo vệ cho dịch lên men không bị tiếp xúc với các vi sinh vật và không khí.

Để sản xuất rượu vang đỏ nước quả nho được lên men cùng với xác quả. Trong vỏ quả giàu thức ăn về đạm và về khoáng và một quần thể vi sinh vật bám trên vỏ quả làm cho quá trình lên men dễ dàng hơn. Đồng thời trên vỏ quả có nhiều chất màu, tanin, chất gây mùi thơm khi lên men ở nhiệt độ cao 25-30°C trong 3-5 ngày các chất màu, chất thơm và tanin được hoà vào rượu tạo nên màu đỏ, hương thơm và vị chất đặc trưng cho vang đỏ.

Khác với vang nho đỏ, rượu vang trắng chỉ được lên men bằng dịch quả trong ở nhiệt độ thấp 15-20°C kéo dài từ 7-14 ngày để giữ hương cho rượu. Rượu vang trắng thường ít có vị chát, có độ chua cao hơn, độ cồn cao hơn vang đỏ. Hương vị của vang trắng chủ yếu là do nước quả.

Ngay khi quá trình lên men rượu được hoàn tất, sunfit được thêm vào, hạt và vỏ quả phải được tách ra khỏi rượu để ngăn ngừa sự tạo thành hydrosunfit.

Nhìn chung quá trình lên men rượu vang chia thành hai giai đoạn: Giai đoạn lên men rượu và giai đoạn lên men malolactic.

*** *Lên men rượu Giai đoạn lên men chính*):**

Đây là giai đoạn quan trọng trong quá trình sản xuất vang. Giai đoạn này thường tiến hành ở nhiệt độ tương đối cao thường từ 18 - 30°C (tùy thuộc vào từng loại rượu vang), trong 10 ngày hoặc dài hơn. Lên men rượu là quá trình trao đổi chất, qua đó các hợp chất hữu cơ trước hết là đường bị biến đổi thành các sản phẩm tích tụ trong môi trường dưới tác dụng của các enzym vi sinh vật. Trong quá trình lên men rượu vang, ở giai đoạn đầu, môi trường dịch quả còn oxi, nấm men bắt đầu phát triển. Sau đó điều kiện yếm khí được hình thành, đường glucoza được lên men thành rượu êtylic và CO₂. Trong giai đoạn lên men cồn, nấm men chuyển đường thành cồn và ngoài ra cũng tạo một lượng lớn các sản phẩm phụ. Nếu như cồn có thể coi là một yếu tố quyết định chất lượng vang thì các sản phẩm phụ (glixerol, axit bay hơi, rượu bậc cao, este) là những thành phần chủ yếu tạo hương.

Theo Gaylussac, sự lên men rượu etylic được biểu diễn bằng phương trình hoá học:



Bảng 5. Các sản phẩm phụ của quá trình lên men rượu [9]

Các sản phẩm phụ	Hàm lượng
Glyxerin (g/l)	6 – 10
Sucxinic (g/l)	0,6 – 1,5
Axit axetic (g/l)	0,3 – 1,2
Lactic (g/l)	1 – 2
Axetaldehyt (g/l)	0,03 – 0,3
Etylaxetat (g/l)	0,08 – 0,22
Metanol (g/l)	0,2 – 0,4

Kết thúc quá trình lên men cồn, các thành phần cơ bản của dịch quả bị biến đổi:

- Nồng độ đường lên men giảm và nồng độ cồn tăng dần có thể đạt từ 13-15%v/v
- pH của dịch lên men giảm do có sự tạo thành các axit hữu cơ: axetic, sucxinic
- CO₂ tăng lên và tích trữ trong rượu vang.
- Thành phần môi trường lúc này nghèo nàn còn khoảng vài trăm mg đường, các thành phần vi lượng như khoáng và vitamin từ dịch quả cũng đều giảm nhiều hoặc ít.
- Các sản phẩm phụ tăng lên (diacetyl, rượu bậc cao, axit béo).
- Tế bào nấm men bắt đầu chuyển sang pha suy giảm, lắng nhiều xuống đáy thiết bị và một số tế bào bị tự phân tạo ra các protein và các axit amin tự do.
- Các muối bitartrat lắng xuống cùng với sự tăng lên của nồng độ cồn.
- Màu sắc của vang non có phần đậm hơn do sự chiết tách màu nhờ cồn, este và các sản phẩm sinh ra trong quá trình lên men.

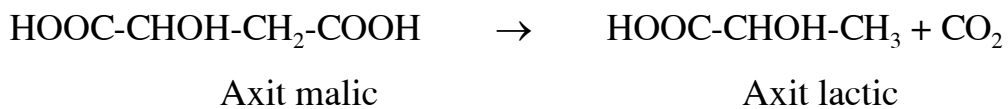
* **Lên men malolactic** (giai đoạn lên men phụ).

Quá trình lên men malolactic lần đầu tiên được phát hiện ở những vùng sản xuất vang có khí hậu lạnh, ít ánh sáng mặt trời, hàm lượng axit malic ở trong quả nho cao. Khi quá trình lên men malolactic

không được thực hiện thì vang có độ chua gắt gần như không thể uống được và không thể trở thành hàng hoá. Lên men malolactic là một quá trình thuần tuý sinh học có sự tham gia của hệ vi khuẩn lactic (*Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*). Vai trò của hệ vi khuẩn này trong vang là chuyển hoá diacid malic thành mono acid lactic trong vang.

Phương trình tổng quát như sau:

Vi khuẩn lactic



Quá trình lên men malolactic mang lại rất nhiều lợi ích cho vang thành phẩm.

Trước hết quá trình lên men malolactic làm biến đổi chất lượng cảm quan của vang. Khi acid malic được chuyển hoá thành acid lactic thì vang thay vì vị chua gắt của malic sẽ trở nên dịu hơn và có cảm giác mát của lactic.

- ❖ Sự phân giải acid malic có tác dụng quyết định tính ổn định sinh học của rượu vang.
- ❖ Sự phát triển của vi khuẩn lactic làm nghèo nguồn dinh dưỡng của môi trường và loại khỏi môi trường hai acid hữu cơ quan trọng là malic và citric. Ngoài ra trong giới hạn nào đó, quá trình lên men malolactic góp phần tạo nên mùi thơm cho vang.
- ❖ Acid citric của quả và acid citric được tạo thành trong giai đoạn lên men rượu được enzym chuyển hoá thành 2,3 butylen - glycol, acetoin và diacetyl là những tiền chất tạo nên hương thơm đặc trưng cho vang [6].

1.6.3 Quá trình lắng trong và tàng trữ

Quá trình lên men kết thúc, hầu hết đường được chuyển thành rượu và các sản phẩm phụ khác ta gọi là rượu non. Tuy nhiên rượu

chưa được trong và chưa đạt đến hương vị mong muốn. Do đó cần tiến hành lắng trong và tàng trữ rượu.

Lắng trong rượu nhằm tách hết những cặn bẩn, cặn men và một số protein kết tủa trong rượu. Cặn men lắng làm trong dịch rượu nhưng nếu để lâu men chết và tự phân huỷ giải phóng các axit béo làm cho rượu vang bị đắng và kém phẩm chất. Quá trình lắng trong rượu tiến hành ở nhiệt độ thấp và yên tĩnh. Thời gian lắng trong thường phụ thuộc vào thành phần các chất có trong rượu. Rượu vang đỏ chứa nhiều tanin thì quá trình lắng trong tốt hơn, rượu vang ít đường lắng trong nhanh hơn do độ nhớt thấp.

Sau khi lắng trong người ta thường thay thùng, tách rượu ra khỏi cặn trong điều kiện hở nhằm hoà tan oxi vào rượu tạo cho rượu chóng chín.

Tiếp theo là quá trình tàng trữ. Thực chất đây là quá trình lên men từ từ, cường độ nhỏ nhằm phân huỷ thêm một lượng đường sót trong rượu, đồng thời ổn định hương vị và tạo điều kiện thuận lợi cho sự kết lắng protein và pectin làm cho chất lượng rượu tốt hơn. Quá trình tàng trữ có ảnh hưởng lớn đến chất lượng của rượu. Nó phụ thuộc vào nhiều yếu tố, thời gian tàng trữ, nhiệt độ, oxi, thiết bị tàng trữ. Có những nơi người ta tàng trữ rượu trong thùng và thay thùng nhiều lần, tàng trữ nhiều năm. Có những cơ sở tàng trữ rượu sau khi đóng chai.

Mục đích chính của quá trình tàng trữ vang trong nhiều năm là tạo điều kiện cho quá trình lên men malolactic xảy ra một cách tự nhiên nhờ hệ vi khuẩn lactic có mặt trong vang qua nguyên liệu hoặc thiết bị. Nhờ quá trình lên men malolactic này mà vang bớt chua hơn, vị dịu mát hơn.

1.7 Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu

Lên men rượu là một quá trình biến đổi sinh hoá rất phức tạp, phụ thuộc vào nhiều yếu tố như: nhiệt độ, pH, nồng độ đường, tỷ lệ men giống.

1.7.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Nhiệt độ là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự phát triển và lên men của nấm men. Thông thường nhiệt độ phát triển của nấm men tối thích là 28 - 30⁰C, dưới 8⁰C hoặc trên 45⁰C, nấm men không sinh sản được hoặc chết. Nhiệt độ càng cao thì ảnh hưởng của cồn đến hoạt động của nấm men càng lớn. Nhiệt độ cao cũng gây ra một số ảnh hưởng xấu cho quá trình lên men như:

- Các hợp chất thơm và cồn bị tiêu hao do bốc hơi mạnh cùng với CO₂.
- Tăng tỷ lệ chết của tế bào nấm men. Tăng sự tự phân tế bào tạo thành các axit amin làm cho vang dễ bị vẩn đục.
- Dễ gây nhiễm trùng vì nhiều vi khuẩn và nấm men đại thích hợp với nhiệt độ cao.
- Nhiệt độ cao không chỉ ảnh hưởng tới sự lên men mà còn ảnh hưởng tới chất lượng rượu vang do tạo ra những sản phẩm phụ như diacetyl, aldehyt, metanol.

Bảng 6. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới độ cồn etylic trong dịch lên men [8]

Nhiệt độ (°C)	Hàm lượng cồn (% v/v)
<22	16,5
25	13
28	13,1
31	11,9
34	9,0
37	6,2

1.7.2 Ảnh hưởng của nồng độ rượu

Trong quá trình lên men nhờ tác dụng của hệ enzym trong tế bào nấm men đường sẽ được chuyển thành rượu. Khi độ rượu tăng sẽ ức chế sự phát triển của nấm men. Nồng độ cồn cao ức chế và kìm hãm quá trình đồng hoá hydratcacbon và nitơ. Mỗi loại nấm men khác nhau chịu được độ rượu khác nhau. Khả năng chịu cồn và lên men trong môi

trường có nồng độ cồn hợp lý là một tiêu chuẩn cần có đối với nấm men sản xuất rượu vang.

1.7.3 Ảnh hưởng của pH

pH của môi trường ảnh hưởng lớn đến quá trình trao đổi chất của tế bào nấm men. Với mỗi pH khác nhau thì sự sinh sản và phát triển của nấm men cũng khác nhau. pH thích hợp cho sinh trưởng của nấm men từ 4-6. Trong quá trình lên men pH ban đầu của dịch lên men thường giảm do sự hình thành một số axit hữu cơ, axit axetic, sau đó pH tăng dần lên sau quá trình lên men malolactic. pH thích hợp cho vi khuẩn phát triển từ 4,2 - 7,0 do vậy để tránh nhiễm khuẩn người ta thường khống chế pH của môi trường lên men từ 3,8 - 4,0.

1.7.4 Ảnh hưởng của oxi

Trong điều kiện môi trường không có oxi, nấm men lên men đường thành rượu và giải phóng năng lượng. Tuy nhiên để có thể lên men trong giai đoạn đầu cần đảm bảo đủ oxi để nấm men có thể sinh sản và phát triển. Số lượng tế bào tăng, quá trình lên men diễn ra nhanh chóng. Giai đoạn sau là giai đoạn lên men yếm khí, nếu lượng oxi nhiều sẽ hạn chế quá trình lên men, đồng thời trong rượu vang sẽ tạo ra nhiều aldehyt, rượu bậc cao làm giảm chất lượng sản phẩm [7].

1.7.5 Ảnh hưởng của nồng độ đường

Hàm lượng đường có các chất hoà tan trong dịch quả tạo ra sự chênh lệch áp suất thẩm thấu giữa môi trường và tế bào nấm men. Sự chênh lệch này làm cho các chất dinh dưỡng được khuếch tán vào trong tế bào. Đường cung cấp năng lượng và nguồn cacbon cho tế bào nấm men. Đường glucoza là loại đường tốt nhất cho nấm men vì chúng dễ đồng hoá. Nếu nồng độ đường quá cao thì nấm men ngừng sinh sản và lên men. Ngược lại, nếu nồng độ đường quá thấp, môi trường thiếu dinh dưỡng thì tế bào nấm men ngừng phát triển. Thông thường nồng độ đường trong môi trường lên men khoảng 20% thì quá trình lên men

không bị ức chế. Để tránh ảnh hưởng của áp suất thẩm thấu lên tế bào nấm men và thu được loại rượu vang có độ rượu trên 12% người ta cho lên men theo kiểu thêm dần đường vào dịch, gọi là lên men bổ sung đường (Walgepb, 1967)

1.7.6 Ảnh hưởng của tỷ lệ men giống

Tác nhân chính của quá trình lên men là nấm men. Khi tăng lượng men giống quá trình lên men xảy ra nhanh, sự cạnh tranh của nấm men trong việc sử dụng môi trường và CO₂ tạo ra sẽ ức chế sự phát triển của các vi sinh vật tạp nhiễm. Trong sản xuất rượu vang, lượng men giống sử dụng thường từ 3 - 10% so với lượng dịch quả lên men.

1.7.7 Ảnh hưởng của các chất chứa nitơ

Trong lên men rượu vang, hàm lượng các hợp chất nitơ quá thừa sẽ dẫn tới vang bị vẩn đục và dễ bị nhiễm. Trong điều kiện đủ oxi, các hợp chất nitơ dễ bị oxi hoá tạo cho rượu có mùi khó chịu. Nhiệt độ lên men ảnh hưởng đến hàm lượng các chất chứa nitơ. Ở nhiệt độ thấp (14 - 18⁰C) hàm lượng các hợp chất nitơ trong dịch lên men là thấp nhất và các hợp chất chứa nitơ được tạo ra thường là polypeptit, pepton và protit. Nhiệt độ cao sẽ làm tăng sự tạo thành các hợp chất chứa nitơ dạng amin. [7]

PHẦN II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguyên liệu

- Dâu tằm (Quảng Ninh)
- Nho tươi Ninh Thuận (Bình Thuận)

2.2 Chủng vi sinh vật

Sử dụng 14 chủng nấm men trong bộ sưu tập giống của Viện công nghiệp thực phẩm thuộc loài *Saccharomyces cerevisiae* có ký hiệu: 7028, 7029, 7043, 7052, 7053, 7061, 7066, 7076, 7077, 7078, R, V, M và HP.

2.3 Phương pháp

2.3.1 Phương pháp thu nhận dịch quả

Nho tươi (dâu tằm), không dập nát, loại bỏ cuống, rửa sạch sau đó quả được đem nghiền, sử lý enzym pectinaza. Tiếp theo khối quả nghiền được ép lọc. Dịch quả sau ép được bổ sung đường đến nồng độ cần thiết để lên men rượu vang.

2.3.2 Sơ tuyển năng lực lên men rượu bằng phương pháp bình elgon

Phân vào mỗi bình elgon đã vô trùng 4,5ml môi trường sơ tuyển và 0,5ml giống đã hoạt hoá 24 giờ. Theo dõi sự đẩy cột dịch dựa trên các vạch chia trên thành bình theo thời gian để đánh giá năng lực lên men của chủng nghiên cứu.

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

Khả năng lên men của chủng giống nghiên cứu được xác định dựa trên tốc độ giảm trọng lượng bình lên men theo thời gian. Đó là lượng CO₂ tạo thành trong quá trình lên men.

2.3.4 Xác định hàm lượng glucoza dư trong dịch lên men theo 2 phương pháp

- Đo bằng máy đo gluco Precision.

- Xác định theo phương pháp Kali ferixyanua(Graxianop).

***Tiến hành:** Dùng pipet hút 20ml dung dịch $K_3Fe(CN)_6$ 1% cho vào bình tam giác dung tích 100ml, sau đó thêm 5 ml KOH 2,5N và 3-4 giọt xanh metylen. Lắc đều và đun sôi trên bếp điện. Dùng dung dịch cần chuẩn, chuẩn tới mất màu xanh metylen, màu của hỗn hợp phản ứng sẽ thay đổi từ xanh sang tím hồng và cuối cùng là màu da cam thì kết thúc. Nếu để nguội màu của dung dịch sẽ trở lại màu tím hồng

***Hàm lượng đường trong dung dịch được tính theo công thức:**

$$x = \frac{a}{m} \cdot 1000 \text{ (g/l)}$$

Trong đó:

a: Lượng đường glucoza chứa trong m ml dịch pha loãng và tương ứng với 20 ml $K_3Fe(CN)_6$ 1%.

m: Số ml dịch đường tiêu hao khi chuẩn 20 ml $K_3Fe(CN)_6$ 1%.

*** Cách tính a:** Cân 0,5 g đường gluco tinh khiết trên cân phân tích và pha thành 100 ml dung dịch ta thu được dịch đường nồng độ 0,5%(1 ml chứa 5 mg). Dùng dung dịch này làm chuẩn để xem xét 20 ml dung dịch $K_3Fe(CN)_6$ 1% tương ứng với bao nhiêu mg đường.

2.3.5 Nồng độ chất khô đo bằng chiết quang kế ($^{\circ}Bx$)

2.3.6 Hàm lượng axit được xác định bằng phương pháp chuẩn NaOH 0,1N chỉ thị phenolphthalein

Lấy 10 ml dịch lên men cho vào bình tam giác 100ml, thêm vào đó 20 ml nước cất 2-3 giọt phenolphthalein. Dùng NaOH 0,1N chuẩn đến khi dung dịch có màu hồng bền trong 30 giây. Độ axit được tính theo công thức:

$$x = \frac{k.V}{10} \cdot 1000 = 100.k.V$$

Trong đó:

x : Lượng axit trong mẫu phân tích (g/l)

V : Lượng NaOH 0,1N tiêu tốn khi định phân (ml)

k : Hệ số đặc trưng cho từng loại axit, với axit lactic $k = 0,009$

2.3.7 Độ cồn (%v/v) trong dịch lên men được xác định theo 2 phương pháp

- Chứng cất.
- Sắc ký khí.

2.3.8 Rượu bậc cao và các ester: izoamylic, izoaxetat, etylaxetat, aldehyt, axeton được xác định bằng sắc ký khí

2.3.9. Độ trong được xác định bằng khả năng hấp thụ ánh sáng (ABS) do trên máy so màu OD tại bước sóng 510 nm

Phương pháp đo:

- + Cắm điện, bật máy, chọn bước sóng của nguồn sáng thích hợp.
- + Dùng 2 cuvet để đo, một cuvet đựng nước cất, một cuvet đựng dịch đo. Lắp cuvet nước cất vào máy, ấn call để ABS = 0 ở bước sóng đã chọn, bỏ cuvet nước cất ra và cho cuvet chứa dịch cần đo vào ta được giá trị ABS cần đo.

2.4 Môi trường

***Môi trường 1:** Môi trường hoạt hoá giống

Nước malt 11⁰Bx, thanh trùng bằng nồi hấp áp lực ở nhiệt độ 115⁰C trong 30 phút.

***Môi trường 2:** Môi trường sơ tuyển giống (g/l).

Saccaroza:	200
Cao nấm men:	1
KH ₂ PO ₄ :	2
Urê:	5
pH	5

Thanh trùng bằng nồi hấp áp lực ở nhiệt độ 115⁰C trong 30 phút.

***Môi trường 3:** Môi trường nhân giống

50% nước malt	: 14 ⁰ Bx
50% dịch nho	: 14 ⁰ Bx
pH	: 5

Thanh trùng bằng nồi hấp áp lực ở nhiệt độ 115⁰C trong 15 phút.

2.5 Phương pháp tính các thông số của quá trình lên men

Trong lên men rượu cồn, các thông số cần xác định dựa trên các thông số đo được là tốc độ sử dụng đường, tốc độ sinh CO_2 , tốc độ sinh cồn.

Tốc độ sử dụng đường ($Q_{\text{đường}}$) là lượng đường được sử dụng bởi một đơn vị thể tích của hệ lên men trong một đơn vị thời gian.

$$Q_{\text{đường}} = d c_{\text{đường}} / dt \quad (\text{g/lit/giờ})$$

$Q_{\text{đường}}$ có giá trị âm trong giai đoạn lên men gián đoạn. Để tiện theo dõi chúng tôi sử dụng giá trị $-Q_{\text{đường}}$ để đo giá trị dương

Tốc độ sinh cồn ($Q_{\text{cồn}}$) là lượng cồn được sinh trong một đơn vị thể tích của hệ lên men trong một đơn vị thời gian.

$$Q_{\text{cồn}} = d c_{\text{cồn}} / dt \quad (\text{độ/giờ})$$

Tốc độ sinh CO_2 (Q_{CO_2}) là lượng CO_2 được sinh từ một đơn vị thể tích của hệ lên men trong một đơn vị thời gian.

$$Q_{\text{CO}_2} = d c_{\text{CO}_2} / dt \quad (\text{g/lit/giờ})$$

2.6 Công thức tính tốc độ bổ sung dịch vào bình lên men

Duy trì bình lên men ở một trạng thái “ổn định tương đối” thực chất là duy trì bình lên men luôn ổn định tại một điểm tương ứng trên đường cong động học của quá trình lên men gián đoạn (batch fermentation). Do đó trước tiên ta phải xác định được điểm đó. Phương trình của hệ lên men ứng với điểm đó như sau:

$$r_i = \frac{V_R \cdot dc_{iR}}{dt}$$

Theo công thức số 7, chúng ta có

$$r_i = -F_{in} \cdot c_{iF}$$

Do đó :

$$-F_{in} \cdot c_{iF} = \frac{V_R \cdot dc_{iR}}{dt}$$

Tiếp đến :

Trong trường hợp đường là nguồn carbon kiểm soát sự “ổn định tương đối” của bình lên men thì dc_{iR}/dt chính là $Q_{\text{đường}}$. Do đó F_{in} được tính

$$F_{in} = - \frac{V_R}{c_{iF}} \frac{dc_{iR}}{dt}$$

bằng công thức

mà c_{iF} là nồng độ đường trong dịch bổ sung.

$$\begin{aligned} F_{in} &= - \frac{V_R \cdot Q_{\text{đường}}}{c_{iF}} \\ &= \frac{V_R \cdot |Q_{\text{đường}}|}{C_{iF}} \quad (\text{lít/ giờ}) \end{aligned}$$

Do quá trình bổ sung dịch được tiếp thủ công nên thể tích dịch được tiếp mỗi lần được tính bằng công thức:

$$\Delta V = F_{in} \cdot \Delta t \quad (\text{lít})$$

ΔV : là thể tích dịch được tiếp

Δt : khoảng thời gian giữa lần tiếp dịch này và lần tiếp dịch sau

PHẦN III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1 Tuyển chọn chủng giống nấm men

Thí nghiệm được tiến hành trên bình engol dung tích 5ml, dùng pipet vô trùng hút 4,5ml môi trường sơ tuyển giống (2) vào bình engol vô trùng, tiếp 0,5ml giống đã được hoạt hoá bằng môi trường nhân giống (1) trong 24 giờ ở 28°C.

Năng lực lên men của 14 chủng nghiên cứu được đánh giá dựa trên thời gian tạo ra 5ml CO₂. Theo dõi thời gian tạo 5ml CO₂ trong bình engol. Kết quả ghi ở bảng 7.

Bảng 7. Năng lực lên men của 14 chủng nghiên cứu.

Thời gian (giờ)	Chủng nghiên cứu													
	7029	7043	7052	7053	7061	7066	7076	7077	7078	HP	R	V	M	7028
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	Bọt khí	-	-	-	-	Bọt khí	-	-	-	-	-	-	Bọt khí	-
2	0.6	0.4	-	-	Bọt khí	0.4	-	-	-	-	-	Bọt khí	0.5	0.3
3	1.8	1.6	0.1	0.5	1.7	2.1	0.5	0.7	Bọt khí	1.1	0.5	1.4	2.6	1.4
3.30	2.5	3.1	0.4	1	3.3	2.8	1.1	1.8	0.2	2	1.3	2.5	3.9	2.8
4	3.5	4.1	1.3	2.3	4.3	4.2	2.4	3.4	0.5	3	2.3	4	5	4.5
4.15	4	-	1.7	2.9	-	4.8	3.2	4.1	1	3.8	2.9	-	-	-
4.30	4.5	-	2.5	3.7	-	-	4.2	4.7	2	4.5	3.6	-	-	-
5	-	-	3.7	4.6	-	-	4.9	-	2.8	-	4.4	-	-	-
6	-	-	4.8	-	-	-	-	-	3.9	-	-	-	-	-

Kết quả bảng 7 cho thấy trong cùng một điều kiện lên men 5 chủng: 7061, 7043, M, V, 28 có thời gian tạo ra 5ml CO₂ là nhanh nhất. Vì vậy, đã được chọn để tiếp tục nghiên cứu khả năng lên men cồn và hương vị.

3.2 Khả năng tạo cồn và sinh hương của 5 chủng chọn lựa

Thí nghiệm được tiến hành trong bình tam giác dung tích 500ml. Mỗi bình chứa 300ml dịch nho nồng độ 20⁰Bx, pH=5. Tiếp 10% giống đã được hoạt hoá 24 giờ trong môi trường nhân giống (3). Lên men ở nhiệt độ 28⁰C. Theo dõi tốc độ lên men của 5 chủng **7028, 7061, 7043, M, V** phân tích độ cồn, độ đường và axit sau lên men. Kết quả ghi ở bảng 8.

Bảng 8. Khả năng lên men và tạo cồn của chủng chọn lựa

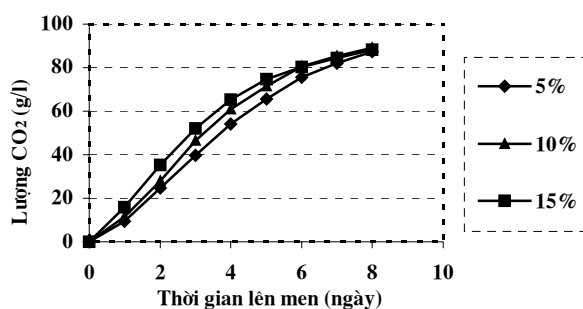
Thời gian lên men (ngày)	Lượng CO ₂ sinh ra (g/l)				
	M	V	7028	7043	7061
0	0	0	0	0	0
1	15.6	16.33	17.33	16.33	15.67
2	26.67	20.33	30.33	29.33	24.67
3	15.67	17.0	18.0	18.33	20.33
4	9.67	11.33	6.67	8.0	9.67
5	7.0	6.67	6.33	7.33	6.67
6	4.33	5.0	6.0	5.0	4.0
7	3.67	4.67	3.0	4.67	3.0
8	3.0	4.67	2.33	2.0	2.33
9	1.33	2.67	1.67	0.67	1.67
10	1.33	1.0	0.67	0.67	1.33
CO ₂ sinh ra (g/l)	88.34	89.67	92.33	92.33	89.34
Độ cồn (% v/v)	9.9	10.9	12.3	11.7	10.6
Axit a.lactic (g/l)	4.22	3.94	4.1	3.9	4.4
Đường dư (g/l)	11.1	9.17	7.67	7.9	10.44
Etylaxetat (mg/l)	30	40	50	52	32
Cảm quan	ít thơm, vị dịu	Thơm, dịu	Hương thơm, vị hơi đắng	Hương thơm, vị hài hoà	Dịu, ít thơm

Kết quả ở bảng 8 cho thấy: Chủng 7028 lên men mạnh, giai đoạn tiềm phát ngắn, có khả năng sinh cồn cao nhất tuy nhiên có vị hơi đắng. Chủng 7043 tuy độ rượu kém hơn chủng 7028 nhưng sản phẩm rượu sau lên men có mùi thơm đặc trưng, độ ngọt và độ chua hài hoà và không có vị đắng. Vì vậy chủng 7043 được lựa chọn cho những nghiên cứu tiếp theo.

3.3 Ảnh hưởng của tỉ lệ men giống đến quá trình lên men rượu vang

Thí nghiệm được tiến hành trong bình tam giác dung tích 500ml. Mỗi bình chứa 300ml dịch nho nồng độ 20⁰Bx, pH=5. Giống được hoạt

hoá bằng môi trường nhân giống (3) trong 24 giờ. Tiếp giống với tỉ lệ: 5%, 10%, 15%. Lên men ở nhiệt độ 28⁰C. Theo dõi khả năng lên men của các chủng nghiên cứu và phân tích độ cồn, độ đường và axit sau lên men. Kết quả nghiên cứu được thể hiện ở hình 1 và bảng 9.



Hình 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ men giống đến tốc độ lên men

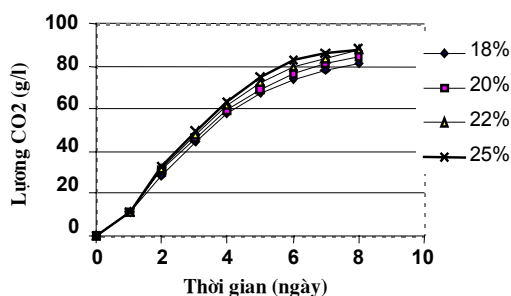
Bảng 9. Ảnh hưởng của tỉ lệ men giống đến quá trình lên men

Thời gian (ngày)	Tỷ lệ men giống (%)					
	5		10		15	
	Tốc độ sinh CO ₂	Lượng CO ₂ sinh ra (g/l)	Tốc độ sinh CO ₂	Lượng CO ₂ sinh ra (g/l)	Tốc độ sinh CO ₂	Lượng CO ₂ sinh ra (g/l)
0	0	0	0	0	0	0
1	9.33	9.33	11.33	11.33	16.0	16
2	15.33	24.66	16.67	28	19.33	35.33
3	15.0	39.66	18.33	46.33	16.67	52
4	14.33	53.99	14.67	61	13.33	65.33
5	11.66	65.65	10.4	71.4	9.33	74.66
6	10.0	75.65	9.33	80.73	5.67	80.33
7	6.33	81.95	4.67	85.4	4.0	84.33
8	5.33	87.28	3.67	89.07	4.0	88.33
Độ cồn (% v/v)	11.0		11.15		11.4	
Axit (g/l) theo a. lactic	4.43		4.27		4.15	
Đường dư (g/l)	13.3		12.5		11.1	
Cảm quan	Thơm, vị hài hoà		Thơm, vị hài hoà		Ít thơm, vị hơi nhạt	

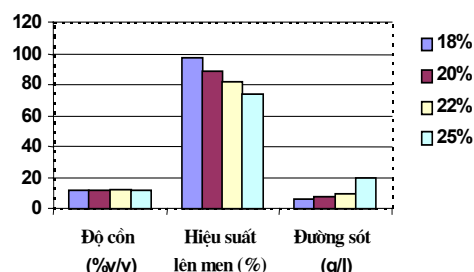
Kết quả ở hình 1 và bảng 9 cho thấy: Tỷ lệ giống 15% giai đoạn tiềm phát được rút ngắn, quá trình lên men nhanh, lượng cồn tạo ra nhiều hơn. Song lên men nhanh rượu vang kém thơm. Tỷ lệ giống 5% và 10% rượu vang có mùi, vị tốt. Tuy nhiên với tỷ lệ men giống 10% tốc độ lên men nhanh hơn cũng phần nào hạn chế được nhiễm trùng. Do vậy, điều kiện tiếp giống 10% là tối ưu nhất.

3.4 Ảnh hưởng của nồng độ đường đến quá trình lên men

Ảnh hưởng của nồng độ đường đến quá trình lên men được tiến hành trong bình tam giác 500ml có chứa 300ml dịch nho nồng độ: 18%, 20%, 22% và 25%, pva 4,5. Tiếp 10% giống đã được hoạt hoá bằng môi trường nhân giống (3) trong 24 giờ. Lên men ở nhiệt độ 28°C. ảnh hưởng của nồng độ đường đến quá trình lên men rượu được xác định dựa trên sự giảm trọng lượng bình lên men theo thời gian. Phân tích độ cồn, đường sót và axit sau lên men. Kết quả nghiên cứu thể hiện ở hình 2, 3 và bảng 10.



Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ đường đến quá trình lên men



Hình 3. Ảnh hưởng của nồng độ đường đến độ cồn, đường dư và hiệu suất lên men

Bảng 10. Ảnh hưởng của nồng độ đường đến quá trình lên men

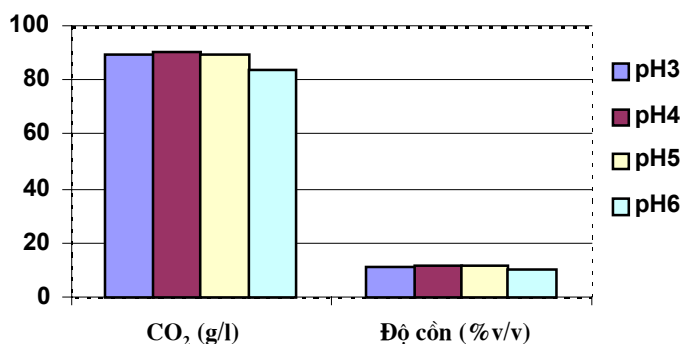
Chỉ tiêu phân tích	Nồng độ dịch nho (°Bx)			
	18	20	22	25
Lượng CO ₂ (g/l)	81.63	84.65	87.67	87.66
Độ cồn (% v/v)	11.0	11.7	12.3	11.6
Axit theo a. lactic (g/l)	3.6	4.14	4.05	4.5
Đường dư (g/l)	5.95	7.69	9.5	20
Hiệu suất lên men (%)	97.3	88.7	82.1	73.8
Cảm quan	Thơm, dịu, hơi nhạt	Thơm, dịu, vị hài hoà	Thơm, dịu, vị hài hoà	Thơm, ngọt

Kết quả ở hình 2, 3 và bảng 10 cho thấy: Khi tăng nồng độ dịch nho từ 18% - 22%, độ cồn trong rượu tăng tỷ lệ thuận với nồng độ dịch nho. Tuy nhiên xét về mặt hiệu suất lên men, khi nồng độ chất khô của dịch đường tăng thì hiệu suất lên men giảm. Điều này có thể giải thích nồng độ đường cao đã gây ức chế đến trao đổi chất qua màng tế bào nấm men. Nồng độ đường trong dịch nho là 22% cho độ rượu cao,

rượu có hương thơm, chua dịu, vị hài hoà. Vì vậy nồng độ dịch nho 22% được lựa chọn.

3.5 Ảnh hưởng của pH đến quá trình lên men

Thí nghiệm được tiến hành trong bình tam giác dung tích 500ml. Mỗi bình chứa 300ml dịch nho 20⁰Bx, pH lần lượt thay đổi là: 3, 4, 5 và 6. Giống được hoạt hoá trong môi trường nhân giống (3) trong 24 giờ. Tiếp giống 10%, lên men ở nhiệt độ 28⁰C. Tốc độ lên men được đánh giá dựa trên sự giảm trọng lượng bình theo thời gian. Phân tích độ cồn, đường sót axit sau lên men. Kết quả nghiên cứu thể hiện ở hình 4 và bảng 11.



Hình 4. Ảnh hưởng của pH đến quá trình lên men của chủng Y-7043

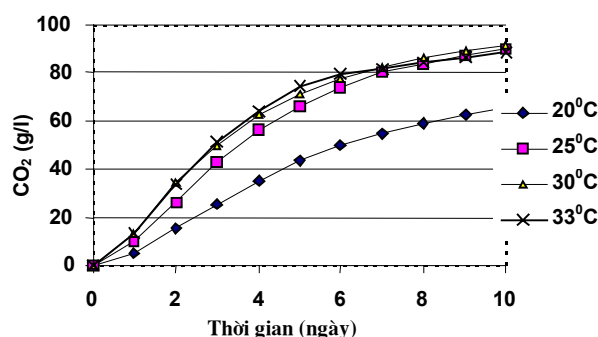
Bảng 11. Ảnh hưởng của pH đến quá trình lên men của chủng 7043

Thời gian (ngày)	Lượng CO ₂ sinh ra (g/l)							
	pH = 3		pH = 3		pH = 3		pH = 3	
	Tốc độ sinh CO ₂	Lượng CO ₂ (g/l)	Tốc độ sinh CO ₂	Lượng CO ₂ (g/l)	Tốc độ sinh CO ₂	Lượng CO ₂ (g/l)	Tốc độ sinh CO ₂	Lượng CO ₂ (g/l)
0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	9.33	9.33	9.67	9.67	10.0	10.0	8.67	8.67
2	16.33	25.66	16.67	26.34	16.33	26.33	16.33	25
3	15.67	41.33	15.67	42.01	16.33	42.66	15.67	40.67
4	14.0	55.33	14.0	56.01	14.0	56.66	10.67	51.34
5	9.33	64.66	9.0	65.01	9.33	65.99	8.67	60.01
6	7.0	71.66	7.33	72.34	7.67	73.66	7.0	67.01
7	6.0	77.66	5.67	78.01	6.33	79.99	6.67	73.68
8	5.33	82.99	5.33	83.34	4.0	83.99	4.33	78.01
9	3.67	86.66	4.33	87.67	3.33	87.32	3.0	81.01
10	3.33	89.99	3.0	90.67	2.33	89.65	3.0	84.01
Độ cồn (% v/v)	11.2		11.8		11.5		10.3	
Axit lactic (g/l)	4.7		4.1		3.8		3.42	
Đường dư (g/l)	8.44		7.94		8.17		15.74	
Cảm quan	Thơm, chua rõ		Thơm, dịu, vị hài hoà		Thơm, dịu ít chua		Thơm, ngọt, độ rượu thấp	

Kết quả ở hình 4 và bảng 11 cho thấy: Chủng 7043 có khả năng lên men dịch quả có pH từ 3-6. Tuy nhiên ở pH 3 rượu có độ chua cao, không đạt giá trị cảm quan. ở pH 5 và 6 rượu kém chua. pH 4 cho sản phẩm rượu tốt nhất về mặt cảm quan, đồng thời ở pH này sự phát triển của vi khuẩn cũng bị ức chế. Vì vậy pH 4 được lựa chọn là tối ưu cho quá trình lên men bằng chủng 7043.

3.6 Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men

Thí nghiệm được tiến hành trong bình tam giác dung tích 500ml. Mỗi bình chứa 300ml dịch nho 22% đường, pH 4. Tiếp 10% giống đã được hoạt hoá trong môi trường nhân giống (3) trong 24 giờ. Lên men ở các nhiệt độ: 20⁰C, 25⁰C, 30⁰C và 33⁰C. Theo dõi quá trình lên men bằng cách xác định sự giảm trọng lượng bình lên men theo thời gian. Phân tích độ cồn, đường sót và axit sau lên men. Kết quả nghiên cứu thể hiện ở hình 5 và bảng 12.



Hình 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men của chủng Y-7043

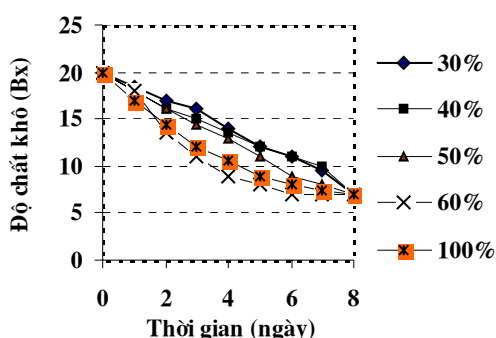
Bảng 12. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men

Chỉ tiêu phân tích	Nhiệt độ			
	20 ⁰ C	25 ⁰ C	30 ⁰ C	33 ⁰ C
Lượng CO ₂ (g/l)	65.41	90.32	91.35	88.67
Độ cồn (% v/v)	8.3	12.2	11.8	9.3
Axit a. lactic (g/l)	2.97	3.79	3.7	4.1
Đường dư (g/l)	22	8.17	4.44	18.88
Etylaxetat (mg/l)	32	50	48	37
Cảm quan	Thơm, ngọt	Thơm, dịu vị hài hoà	Thơm, có mùi men, vị hài hoà	Thơm, ngọt

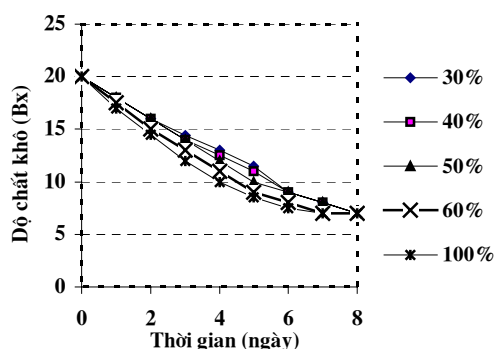
Kết quả ở hình 5 và bảng 12 cho thấy: Khi tăng nhiệt độ từ 25⁰C - 30⁰C tốc độ lên men và độ cồn sinh ra tăng lên. Tuy nhiên, khi tăng nhiệt độ đến 33⁰C thì độ cồn sinh ra giảm, điều này có thể được giải thích một mặt là do nhiệt độ cao đã gây ức chế hoạt động sống của nấm men, mặt khác nhiệt độ cao làm bay cồn trong dịch lên men. Nhiệt độ thích hợp cho quá trình lên men là từ 25⁰C - 30⁰C. Về mặt cảm quan, rượu vang lên men ở 25⁰C cho hương thơm không có mùi men. Vì vậy nhiệt độ 25⁰C được lựa chọn.

3.7 Ảnh hưởng của tỷ lệ dịch quả đến chất lượng rượu vang

Thí nghiệm được tiến hành với hai loại dịch quả: dịch ép dâu và dịch ép nho với các tỷ lệ: 30%, 40%, 50%, 60% và 100% dịch quả. Kết quả ghi ở hình 6, 7 và bảng 13 và 14.



Hình 7. Ảnh hưởng của tỷ lệ dịch dâu đến quá trình lên men



Hình 8. Ảnh hưởng của tỷ lệ dịch nho đến quá trình lên men

Bảng 13. Ảnh hưởng của tỷ lệ dịch ép dâu đến chất lượng rượu vang

Chỉ tiêu phân tích	Tỷ lệ dịch ép quả dâu (%)				
	30	40	50	60	100
Cồn (%v/v)	11	11	11.5	12	12.5
Đường dư (g/l)	9.3	9.2	7.9	7.4	7.18
Axit tổng (g/l) theo a.lactic	3.6	3.8	4.5	4.3	4.5
Màu sắc (λ 510nm)	1.67	1.8	1.98	2.22	2.5
Cảm quan	Màu nhạt, không rõ mùi dâu, vị nhạt, kém chua.	Màu nhạt, không rõ mùi dâu, vị nhạt, kém chua.	Màu đỏ đẹp, hương dâu rõ, chất kém, hương vị hài hoà	Màu đỏ đẹp, hương dâu rõ, hương vị hài hoà.	Thơm mùi dâu, màu đỏ sẫm, vị đậm và chất rõ, hương vị hài hoà.

Bảng 14. Ảnh hưởng của tỷ lệ dịch ép nho đến màu sắc và chất lượng rượu vang

Chỉ tiêu phân tích	Tỷ lệ dịch ép quả nho (%)				
	30	40	50	60	100
Cồn (%v/v)	11	11.3	11.6	12	12.5
Đường dư (g/l)	8.3	7.9	7.2	6.4	5.5
Axit tổng (g/l) theo a.lactic	3.6	3.8	4.3	4.6	5.5
Màu sắc (λ 510nm)	0.98	0.13	0.14	0.19	0.2
Cảm quan	Màu nhạt, không thơm, vị nhạt, kém chua.	Màu nhạt, không thơm, không chất vị nhạt, kém chua.	Màu vàng đẹp, chất kém, hương vị hài hoà	Màu vàng đẹp, chất, hương vị hài hoà.	Màu vàng sẫm, vị đậm, chất rõ, hơi chua.

Kết quả bảng 13 và 14 cho thấy: Khi tăng tỷ lệ dịch quả sản phẩm rượu có vị đậm và vị chất tốt hơn, hương thơm hơn. Khi lên men dịch quả nguyên chất quá trình lên men diễn ra mạnh hơn, có lẽ do hàm lượng vitamin và đường khử trong quả lớn hơn làm cho nấm men phát triển tốt hơn. Tuy nhiên ở cả hai mẫu rượu lên men bằng dịch quả nguyên chất đều cho màu sắc của rượu xấu và độ chua cao hơn. Vì thế tỷ lệ 50-60% dịch quả là tốt hơn cả.

3.8 Nghiên cứu động học của quá trình lên men rượu của chủng

7043 Từ những nghiên cứu trên điều kiện tối ưu nhất cho quá trình lên men rượu vang được xác định như sau:

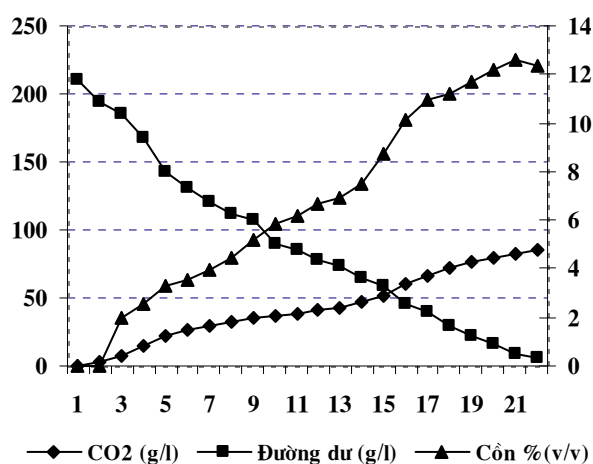
- Tỷ lệ giống: 10%
- Nồng độ chất khô : 22%
- Tỷ lệ dịch nho: 60%
- pH dịch lên men: 4
- Nhiệt độ lên men: 25⁰C

Thí nghiệm được tiến hành trong bình tam giác 500 ml. Tiếp 10% giống đã được hoạt hoá trong môi trường nhân giống (3) và nuôi cấy lắc trong 24 giờ. Lên men ở nhiệt độ 25⁰C. Kết quả ở hình 8 và bảng 15.

**Bảng 15. Động học của quá trình lên men rượu
của chủng 7043 ở 25°C**

Thời gian (giờ)	CO ₂ (g/l)	Đường dư (g/l)	Cồn %(v/v)	Q _{CO2} (g/l/giờ)	Q _{đường} (g/l/giờ)	Q _{cồn} (độ/giờ)
0	0	210	-	0	0	0
6	2,28	194	-	0,81	2,7	0
12	7,14	185	1,95	1,31	1,5	0,098
18	14,99	168	2,54	1,18	2,83	0,13
24	22,08	143	3,33	1,3	4,17	0,07
27	25,98	131	3,54	1,05	4,0	0,14
30	29,12	120	3,96	1,0	3,7	0,17
33	32,01	112	4,46	0,86	2,7	0,25
36	34,58	107	5,22	0,71	1,7	0,2
39	36,72	90	5,82	0,7	5,7	0,13
42	38,72	85	6,20	0,7	1,7	0,15
45	40,72	78	6,64	0,62	2,3	0,09
48	42,57	73	6,90	0,42	1,7	0,05
60	47,57	65	7,52	0,38	0,7	0,1
72	52,14	59	8,75	0,35	0,5	0,06
96	60,64	46	10,13	0,25	0,54	0,04
120	66,78	39	10,96	0,2	0,29	0,01
144	71,64	30	11,24	0,18	0,38	0,02
168	76,07	22	11,66	0,15	0,33	0,02
192	79,64	16	12,15	0,13	0,25	0,02
216	82,78	9,5	12,57	0,06	0,27	0,018
264	85,49	6,6	12,36	-	0,06	-

Ghi chú: (-) là không xác định



Hình 8. Động học lên men rượu của chủng 7043 ở 25°C

3.9 Lên men bổ sung

Kết quả bảng 15 cho thấy chủng Y- 7043 khi lên men ở 25°C tại thời điểm 24 giờ tốc độ sinh CO₂ đạt cực đại (1.3 g/l/giờ) và tốc độ sử dụng đường khử đạt cũng đạt cực đại (4.17 g/l/giờ), tốc độ sinh cồn đạt

cực đại (0.25 độ/giờ) tại thời điểm 33 giờ. Điều đó cho thấy quá trình lên men diễn ra mạnh nhất trước khi nguồn cơ chất carbon cạn kiệt.

Để tiến hành lên men bổ sung, trước tiên chúng tôi xác định thời điểm “ổn định tương đối” (queasy- steady- state) mà chúng tôi muốn duy trì đối với sự lên men. Để xác định thời điểm “ổn định tương đối” mà ở đó sự lên men có thể cho độ rượu cao nhất, chúng tôi chọn ra 3 thời điểm ở gần thời điểm $Q_{\text{cồn}}$ maximum. Tiến hành lên men bổ sung tương ứng với trạng thái $Q_{\text{cồn}}$ lựa chọn. Khi kết thúc quá trình lên men, dựa vào kết quả phân tích độ cồn của rượu thu được mà xác định chế độ bổ sung dịch cho phù hợp. Dịch lên men được bổ sung dịch với tốc độ không đổi.

Căn cứ vào bảng 15 chúng tôi chọn ra $Q_{\text{cồn}}$ tại 24, 30 và 36 giờ có các giá trị gần với $Q_{\text{cồn}}$ maximum là 0.25 (độ/giờ). ở thời điểm này hệ lên men có các giá trị $-Q_{\text{đường}}$ tương ứng là 4.17, 3.7 và 1.7 (g/l/giờ).

Thí nghiệm lên men bổ sung được tiến hành trong bình 2 lít, có chứa 1,5 lít dịch lên men. Nhiệt độ lên men 25°C, pH 4, siro nho có nồng độ đường là 480 g/l. Khoảng thời gian giữa 2 lần tiếp dịch là 6 giờ.

Bảng 16. Dặt thí nghiệm cho lên men có bổ sung

Các chỉ số lên men bổ sung	Bình1	Bình2	Bình 3
Thể tích dịch ban đầu, (lit)	1.5	1.5	1.5
Thời điểm bắt đầu bổ sung	24 giờ	30 giờ	36 giờ
Trạng thái ổn định tương đối với $Q_{\text{đường}}$ (g/l/ giờ)	1,7	3,7	4,17
Tốc độ tiếp dịch ban đầu (l/giờ)	0,005	0,012	0,013
Thể tích dịch tiếp lần 1, $\Delta V1$ (lit)	0,032	0,069	0,078
Thể tích dịch tiếp lần 2, $\Delta V2$ (lit)	0,032	0,069	0,078
Thể tích dịch tiếp lần 3, $\Delta V3$ (lit)	0,032	0,069	0,078
Thể tích dịch tiếp lần 4, $\Delta V4$ (lit)	0,032	0,069	0,078
Thể tích dịch tiếp lần 5, $\Delta V5$ (lit)	0,032	0,069	0,078
Thể tích dịch tiếp lần 6, $\Delta V6$ (lit)	0,032	0,069	0,078
Tổng thể tích dịch bổ sung (lit)	0,192	0,414	0,468

Bảng 17. Ảnh hưởng của lên men bổ sung đến lượng cồn trong rượu

Thời điểm sau khi lên men bổ sung bắt đầu (giờ)	Nồng độ cồn (%v/v)					
	Lần thí nghiệm thứ nhất			Lần thí nghiệm thứ hai		
	Bình 1	Bình 2	Bình 3	Bình 1	Bình 2	Bình 3
0	11.28	11.14	11.12	11.17	10.85	10.95
6	11.05	10.26	11.04	10.49	11.19	11.33
12	10.24	10.08	9.63	9.15	10.46	9.89
18	11.28	10.86	10.76	9.91	11.70	10.73
24	12.72	12.41	11.82	11.01	13.00	12.54
30	13.56	14.07	13.00	11.43	14.02	12.95
36	13.88	14.21	13.56	11.11	14.22	12.68

Kết quả bảng 17 cho thấy: Trong 2 đợt thí nghiệm độ cồn ở bình 2 (bổ sung dịch quả sau 30 giờ lên men) luôn đạt giá trị cao nhất (14.21 - 14,22% v/v). Nếu lên men theo mẻ ở độ cồn trong rượu chỉ đạt cao nhất là 12,57% v/v thì phương pháp lên men bổ sung cho phép tăng độ cồn lên 14,22%v/v. Vậy thời điểm bổ sung thích hợp nhất là sau 30 giờ lên men.

Bảng 18. Các chỉ số phân tích rượu vang lên men

Mẫu lên men	Cồn (% v/v)	Đường dư (g/l)	Axit tổng (g/l) theo a. lactic	Màu sắc OD ($\lambda = 420\text{nm}$)	Cảm quan
Bổ sung	14,2	9,2	4,82	0,2	Hương thơm, vị hài hoà
Tinh	12,57	6,6	4,43	0,18	Hương thơm, vị hài hoà

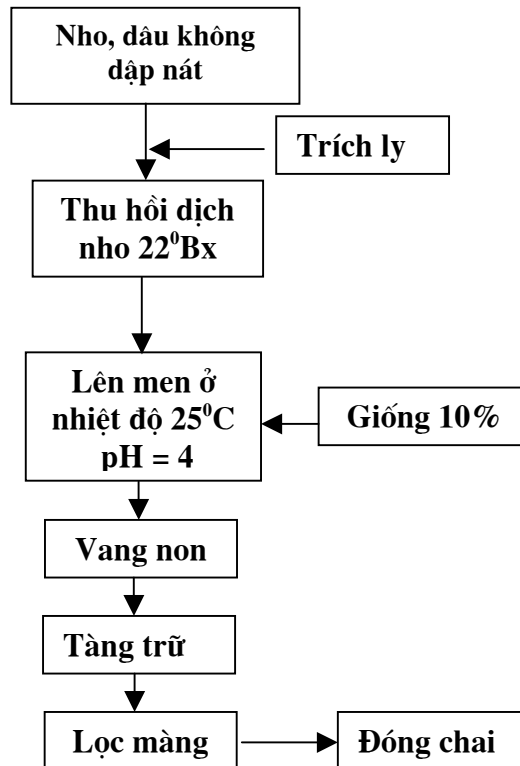
3.10 Kết quả thực nghiệm ở quy mô 5000 lít

Thực nghiệm được tiến hành với hai loại dịch quả là dịch dâu và dịch nho. Dịch nho (hoặc dịch dâu) sau ép pha về 22⁰Bx, pH 4, tỷ lệ giống tiếp 10%, lên men ở 25⁰C, sau 30 giờ lên men bổ sung dịch quả. Sau khi kết thúc lên men, tách men. Rượu sau khi lên men chính được phân tích các chỉ số về độ cồn, hàm lượng đường dư, axit tổng và cảm quan. Kết quả ở bảng 19 và 20.

Bảng 19. Đánh giá chất lượng rượu vang

Các chỉ tiêu	Vang dâu	Vang nho
Hàm lượng cồn (% v/v)	14,2	14,9
Hàm lượng đường (g/l)	9,2	9,2
Axit tổng (g/l) (tính theo a. lactic)	4,8	4,91
Aldehyt (mg/l)	26	24
Etylaxetat (mg/l)	45	50
Màu sắc	Màu đỏ hơi sẫm	Màu vàng sáng
Độ trong ($\lambda = 510\text{ nm}$)	ABS = 1,18	ABS = 0,58
Cảm quan	Hương thơm, vị hài hoà	Hương thơm, vị hài hoà, chất rõ.

3.11 Quy trình sản xuất vang quả



PHẦN IV. KẾT LUẬN

1. Từ 14 chủng nấm men: 7028, 7029, 7043, 7052, 7053, 7061, 7066, 7076, 7077, 7078, R, V, M và HP chúng tôi đã chọn ra được chủng 7043 có khả năng lên men mạnh, khả năng sinh cồn cao cũng như có hương vị hài hoà dùng để lên men rượu vang quả.
2. Đã xác định được điều kiện thích hợp cho lên men rượu vang quả là:
 - Tỷ lệ men giống: 10%
 - Nồng độ chất khô: 22%
 - pH dịch lên men: 4
 - Nhiệt độ lên men: 25°C
3. Đã nghiên cứu động học của quá trình lên men rượu của chủng lựa chọn 7043 ở 25°C và xác định được thời điểm bổ sung thích hợp là sau 30 giờ lên men.
4. Đã lên men thử nghiệm quy mô 5000 lít và phân tích chất lượng rượu thành phẩm với hai loại quả là dâu và nho.
5. Xây dựng quy trình công nghệ lên men vang quả chất lượng cao bằng chủng chọn lựa 7043.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. **Vũ Công Hậu.** 1983. Chế rượu vang trái cây trong gia đình, NXB Nông Nghiệp.
2. **Đỗ Tất Lợi,** Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXB KHKTHN, 1977, tr 72
3. **Lê Thanh Mai.** 2001. Công nghệ sản xuất rượu vang và các loại rượu khác, Bộ môn công nghệ sinh học thực phẩm, ĐHBKHN.
4. **Sổ P.V., Thuận B.T.N., Giầy, T., Đức, B.N.,** 1972. Bảng thành phần hoá học thức ăn Việt Nam, NXB Y học, tr 63 - 64,
5. **Giang Thế Việt** - Đồ án tốt nghiệp "Nghiên cứu cố định tế bào nấm men trong hạt Ca-alginat dùng trong sản xuất vang phòng thí nghiệm", 1998

Tiếng ANH

6. **A.H.Rose** , 1977, Alcoholic beverages. Vol 1. Academic press London, Newyork, Sanfrancisco.
7. **Armerine M.A and Kunkee,** 1968, Microbiology of wine making. Vol 22, p 323 – 358
8. **Baluico G.G.** Tekhnologia xtolovux vino. Izdatelxtvo: "Picevaja promuslenox". Moskva 1969, p 80 – 90 (tiếng Nga)
9. **Byong H.Lee,** 1996, Fundamentals of food biotechnology. VCH publishers. Inc, p. 191
10. **Covalxcaja, L.P., Agronromijidat, M.,** 1988. Tekhnologija pisevukh proijvodxtv. Moskva, 212 – 216 (Tiếng Nga)
11. **Nudel P.S.** Osnovui microbiologii brodilnuc proizvodstv. Pisevaja promushlenost Moskva 1973

12. **Pak-Lamyo**. Fermentation technology: Industrial application,
Palmerston North, New Zealand.
13. **Perlman, D.**, 1974. Advances in applied microbiology. Academic
press New York and London, p 254-256
14. **Stanier, R.Y. , Ingraham, J.L. , Wheelis, M.L. , Painter, P.R. ,**
1987. General microbiology, 5thed. Macmillan education. Hong Kong.
15. **W. Roman**. Yeasts. Nethterlands, W. Tunk, Publ. 1957.