

# PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN CHỦNG NẤM MEN CHO SẢN XUẤT RƯỢU VANG CAM (*Citrus sinensis*)

Lý Thị Thanh Thảo<sup>1</sup>, Trần Thị Chúc Linh<sup>2</sup>

Mục tiêu của nghiên cứu là phân lập và tuyển chọn chủng nấm men từ nguồn cam được thu mua ở chợ Mỹ Xuyên – thành phố Long Xuyên - tỉnh An Giang, tìm những chủng nấm men có khả năng sản xuất rượu vang cam chất lượng cao. Sáu chủng nấm men đã được phân lập từ mẫu cam lên men tự nhiên. Sau khi phân lập tiến hành quan sát mô tả đặc tính hình thái của các dòng nấm men. Tuyển chọn được dòng C4 thuộc chi *Saccharomyces* có thời gian lên men nhanh và cho độ cồn cao (11,5% Vol.). Điều kiện lên men rượu vang cam thích hợp của chủng C4 với thời gian lên men 12 ngày, hàm lượng chất khô ban đầu 22 °Brix, hàm lượng ethanol đạt 11,67% Vol.

**Từ khóa:** *Phân lập, tuyển chọn, rượu vang cam, quá trình lên men rượu, chủng nấm men.*

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay việc tiêu thụ rượu vang đang được người tiêu dùng ưa chuộng do có độ cồn nhẹ, hương vị thơm tự nhiên, có tác dụng kích thích tiêu hoá. Rượu vang dần dần được chọn thay cho các loại rượu mạnh trong các dịp lễ tết vì thế nghiên cứu nâng cao chất lượng rượu vang là vấn đề rất được quan tâm hiện nay. Một trong những phương pháp cải tiến chất lượng là sử dụng nguồn nấm men tự nhiên được phân lập từ nguyên liệu cho quá trình sản xuất rượu vang sẽ cho rượu có độ cồn cao, chất lượng rượu ổn định và mùi vị đặc trưng. Do vậy, mục tiêu là phân lập và tuyển chọn các chủng nấm men có hoạt lực cao từ nguồn nguyên liệu để sử dụng hiệu quả cho tiến trình sản xuất rượu vang. Hoạt động này giúp cải thiện và tăng cường chất lượng rượu vang, góp phần đa dạng hóa sản phẩm, nâng cao giá trị kinh tế và phần nào đáp ứng nhu cầu sử dụng các dạng nước uống có cồn đa dạng hiện nay.

Một khía cạnh khác, diện tích trồng

cây có múi tại các tỉnh Nam Bộ chiếm khoảng 84,964 ha (Cục bảo vệ thực vật, 2016). Trong đó, cây Cam là một loại cây trồng có chất lượng tốt và có giá trị kinh tế cao được trồng nhiều ở Bến Tre, Vĩnh Long, Hậu Giang và Đồng Tháp... Trái cam trong điều kiện bình thường thì chỉ sau 5 - 7 ngày là vỏ trái bắt đầu mềm, nhăn da, màu sắc thay đổi, mùi vị và hàm lượng vitamin C giảm. Do đó, cần thiết phải có biện pháp tiêu thụ hợp lý sau khi thu hoạch và tồn trữ thích hợp để một phần nhằm hấp dẫn người tiêu dùng, tăng thêm giá trị sản phẩm và ổn định thị trường đầu ra cho nông dân đó là vấn đề cần thiết. Vì thế, đề tài “Phân lập và tuyển chọn chủng nấm men cho sản xuất rượu vang Cam (*Citrus sinensis*)” được thực hiện nhằm tuyển chọn được các dòng nấm men phù hợp khi lên men rượu vang Cam, đồng thời xác định các điều kiện ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang cam và từ đó cho chất lượng rượu vang tốt nhất.

<sup>1</sup>ThS. Trường ĐH An Giang, ĐHQG-HCM  
E-mail: lttthao@agu.edu.vn

<sup>2</sup>Trường Đại học An Giang, ĐHQG-HCM  
E-mail: ttclinh141217@gmail.com

Ngày gửi bài: 1/6/2020

Ngày phản biện đánh giá: 1/7/2020

Ngày đăng bài: 25/9/2020

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng và vật liệu nghiên cứu

**Đối tượng:** Nấm men phân lập từ dịch quả Cam và quy trình lên men rượu vang Cam.

**Vật liệu:** Cam được mua ở chợ Mỹ Xuyên, thành phố Long Xuyên, tỉnh An Giang và vận chuyển về phòng thí nghiệm bộ môn Công nghệ Sinh học, Trường Đại học An Giang.

### 2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.1. Phân lập nấm men từ dịch cam lên men (Phương pháp vi sinh vật)

**Quy trình phân lập:** Cam (xử lý sơ bộ) → ép lọc → điều chỉnh dịch lên men, dùng acid citric 10% và NaHCO<sub>3</sub> điều chỉnh pH dịch cam lên men và dùng đường Saccharose để điều chỉnh nồng độ chất khô (pH=4,5; 22 °Brix) → lên men 4 ngày ở nhiệt độ phòng → nuôi cấy khuẩn lạc trên môi trường PDA (Potato extract 4 g/L, dextrose 20 g/L, agar 15 g/L) → để lên men ở 28-30°C, trong 24-48 giờ → phân lập → tách dòng và làm thuần khuẩn lạc → kiểm tra độ thuần khiết (quan sát hình dạng, kích thước, màu sắc) → bảo quản giống ở 4°C.

#### 2.2. Khảo sát khả năng lên men sinh khí CO<sub>2</sub> của các chủng nấm men phân lập

Nuôi sinh khối nấm men trong 24 giờ ở 30°C, lấy nửa vòng que cấy nấm men trong ống thạch nghiêng chủng vào 100 ml môi trường PG có bổ sung khoáng (đã khử trùng ở 115°C trong 10 phút). Chủng men giống lấy 1 mL dung dịch nấm men cho vào ống nghiệm có chứa 9 ml dung dịch đường glucose 2% đã khử trùng ở 115°C trong 10 phút. Lắc thật đều để dung dịch đường tràn đầy vào ống Durham úp ngược nằm bên trong

ống nghiệm chứa dung dịch đường glucose 2% duy trì ở 30°C.

Khả năng lên men của nấm men là đo chiều cao cột khí CO<sub>2</sub> sinh ra trong ống Durham úp ngược tại các thời điểm 4, 6, 8, 16 và 23 giờ lên men. Chủng nấm men có hoạt tính cao là chủng nấm men có chiều cao cột khí CO<sub>2</sub> sinh ra nhanh và cao nhất.

#### 2.3. Khảo sát khả năng lên men rượu của các chủng nấm men phân lập

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với một nhân tố là các chủng nấm men phân lập được, thí nghiệm được lặp lại 3 lần, số nghiệm thức 1x3x3=9 nghiệm thức.

Khảo sát khả năng lên men: Giống nấm men phân lập được ở thí nghiệm 1 đem tăng sinh trong môi trường PG → lắc và duy trì trong 48 h ở nhiệt độ phòng → bổ sung vào dịch cam (pH = 4,5; 22 °Brix) → lên men 5 ngày ở 28-30°C. Tỷ lệ nấm men bổ sung: 7% theo thể tích dịch ép, với mật độ 2,5 x 10<sup>7</sup> tế bào/mL.

Chỉ tiêu theo dõi: So sánh độ rượu % Vol bằng phương pháp chưng cất (Nguyễn Thị Thu Vân, 2010), sự thay đổi pH (sử dụng máy đo pH), °Brix trước và sau quá trình lên men (đo nồng độ chất khô hòa tan (°Brix) bằng Brix kế). Từ kết quả thí nghiệm trên tuyển chọn được dòng nấm men có khả năng lên men rượu đạt chất lượng cao.

#### 2.4. Khảo sát sự ảnh hưởng của nồng độ chất khô tan (°Brix) ban đầu đến quá trình lên men rượu vang

Từ các thí nghiệm trên chọn được dòng nấm men có khả năng lên men tối ưu nhất, để tiến hành xác định nồng độ chất khô tan ban đầu thích hợp nhất cho quá trình lên men rượu vang Cam.

Tiến hành bố trí thí nghiệm 1 nhân tố (nồng độ chất khô hòa tan ban đầu ở 3 mức độ: 20 °Bx, 22 °Bx và 24 °Bx), kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, thí nghiệm được lặp lại 3 lần, số nghiệm thức:  $1 \times 3 \times 3 = 9$  đơn vị thí nghiệm.

Dịch cam (pH = 4,5; 20 °Brix -22 °Brix -24 °Brix) → thanh trùng dịch lên men NaHSO<sub>3</sub> (100 mg/L) → cấy giống men chuẩn bị sẵn (tỉ lệ 7%, 2,5 x 10<sup>7</sup> tế bào/mL) → lên men chính 28-30 °C trong 5 ngày → lắng loại bỏ cặn → lên men phụ 10-15 °C trong 7 ngày → lắng, lọc, tách bã làm rượu trong → chiết rót → sản phẩm → phân tích.

Chỉ tiêu theo dõi: So sánh độ rượu, pH, oBrix trước và sau quá trình lên men. Kết quả thí nghiệm: xác định nồng độ chất khô hòa tan ban đầu thích hợp nhất cho quá trình lên men rượu vang cam.

## 2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm trên được lặp lại 3 lần và số liệu được xử lý trên phần mềm Excel 2010, phân tích thống kê ANOVA ( $p < 0,05$ ) xác định ý nghĩa sự khác biệt của mỗi yếu tố.

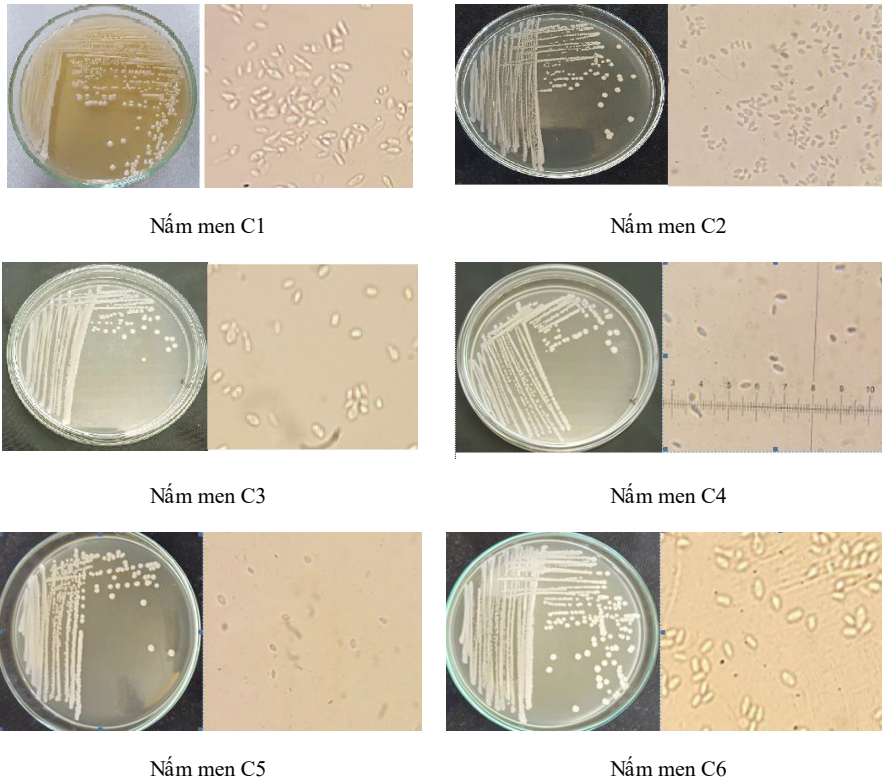
## III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

### 1. Kết quả phân lập và tuyển chọn các chủng nấm men từ dịch cam lên men tự nhiên

Từ mẫu Cam mua ở chợ Mỹ Xuyên, Long Xuyên, An Giang phân lập được 6 chủng nấm men có hình dạng và kích thước khác nhau. Khi khuẩn lạc phát triển riêng lẻ sẽ cấy truyền sang ống thạch nghiêng PDA và bảo quản ở 4 °C để chuẩn bị cho các thí nghiệm tiếp theo. Sáu chủng nấm men được kí hiệu lần lượt là C1, C2, C3, C4, C5, C6.

**Bảng 1. Mô tả đặc điểm khuẩn lạc và tế bào của 6 chủng nấm men phân lập**

Chủng nấm men	Kích thước khuẩn lạc (mm)	Đặc điểm khuẩn lạc	Kích thước tế bào (µm)	Hình dạng tế bào
C1	3	Không tròn, rìa răng cưa, màu trắng sữa, lồi, bề mặt trơn bóng.	0,2 – 0,6	Elip dài, sinh sản bằng hình thành vách ngăn
C2	2	Dạng hình tròn, rìa tròn đều, màu trắng trong, lồi, bề mặt khô.	0,2 - 0,4	Elip, sinh sản bằng nảy chồi 1 cực hoặc 2 cực.
C3	2,5	Dạng hình tròn, rìa trong đều, màu trắng ngà, bề mặt nhô cao và khô.	0,3 - 0,4	Bầu dục, sinh sản bằng nảy chồi.
C4	2,5 – 3	Tròn, rìa răng cưa, màu trắng đục, lồi, bề mặt trơn và khô.	0,2 – 0,3	Oval nhỏ, sinh sản bằng nảy chồi.
C5	3	Dạng hình tròn, rìa nguyên, màu trắng đục, nhô cao, bề mặt trơn, bóng và khô.	0,3 - 0,5	Elip ngắn, sinh sản bằng nảy chồi
C6	2	Dạng hình tròn, rìa nguyên, màu trắng sữa, nhô cao, bề mặt trơn, bóng.	0,2-0,5	Elip, nảy chồi 1 cực



**Hình 1. Hình dạng khuẩn lạc (bên trái) và hình dạng tế bào (bên phải) của 6 chủng nấm men**

Dựa vào khóa phân loại của Kreger-van Rij (1984), có thể phân loại sơ bộ 5 chủng (C2 - C3 - C4 - C5 - C6) phân lập được thuộc chi *Saccharomyces*, chủng C1 thuộc chi *Schizosaccharomyce*.

Theo Huỳnh Xuân Phong và cs. (2017) đã phân lập và tuyển chọn được 7 chủng nấm men từ dịch khóm lên men. Đoàn Thị Kiều Tiên (2018) đã phân lập được chủng nấm men thuộc chi *Saccharomyces* sp. HG1.3 có khả năng lên men trái giấm ở nhiệt độ 37 °C, nồng độ chất khô ban đầu đạt 22 °Brix, pH = 3,6.

## **2. Kết quả khảo sát khả năng lên men sinh khí CO<sub>2</sub> của các dòng nấm men phân lập**

Từ 6 chủng nấm men phân lập được

chưa xác định dòng nào có khả năng lên men tốt, nên tiến hành thí nghiệm khảo sát khả năng sinh khí CO<sub>2</sub> của các dòng nấm men để làm cơ sở đầu tiên nhằm xác định nấm men nào có hoạt lực cao. Trong quá trình lên men rượu có hai sản phẩm chính là rượu ethanol và CO<sub>2</sub>, để xác định hoạt lực lên men của nấm men có thể dựa vào khả năng sinh khí CO<sub>2</sub> trong quá trình lên men (Nguyễn Đức Lượng và cs., 2003). Vì vậy, có thể dựa vào thời gian đầy hết ống Durham sớm nhất để xác định có hoạt lực lên men mạnh nhất. Chiều cao cột khí CO<sub>2</sub> trong ống Durham ở bảng 2 cho thấy cường độ lên men của các dòng nấm men ở từng thời điểm khác nhau

**Bảng 2. Chiều cao cột khí CO<sub>2</sub> trong ống Durham (cm) của 6 chủng nấm men phân lập**

Dòng nấm men	Chiều cao cột khí CO <sub>2</sub> trong ống Durham (cm)									
	4 giờ	6 giờ	8 giờ	10 giờ	12 giờ	14 giờ	16 giờ	18 giờ	20 giờ	22 giờ
C1	0,13 <sup>a</sup>	0,43 <sup>b</sup>	0,97 <sup>bc</sup>	1,83 <sup>b</sup>	2,67 <sup>cd</sup>	2,80 <sup>bc</sup>	2,87 <sup>bc</sup>	2,87 <sup>bc</sup>	2,90 <sup>bc</sup>	2,93 <sup>b</sup>
C2	0,27 <sup>b</sup>	0,47 <sup>b</sup>	0,67 <sup>ab</sup>	1,30 <sup>a</sup>	2,33 <sup>ab</sup>	2,67 <sup>b</sup>	2,70 <sup>ab</sup>	2,77 <sup>ab</sup>	2,80 <sup>ab</sup>	2,93 <sup>b</sup>
<b>C3</b>	<b>0,17<sup>ab</sup></b>	<b>0,47<sup>b</sup></b>	<b>1,07<sup>c</sup></b>	<b>2,27<sup>b</sup></b>	<b>2,70<sup>cd</sup></b>	<b>2,80<sup>bc</sup></b>	<b>2,80<sup>abc</sup></b>	<b>2,90<sup>bc</sup></b>	<b>2,93<sup>c</sup></b>	<b>2,97<sup>b</sup></b>
<b>C4</b>	<b>0,47<sup>c</sup></b>	<b>0,87<sup>d</sup></b>	<b>1,40<sup>d</sup></b>	<b>2,07<sup>b</sup></b>	<b>2,53<sup>bc</sup></b>	<b>2,70<sup>bc</sup></b>	<b>2,80<sup>abc</sup></b>	<b>2,83<sup>bc</sup></b>	<b>2,87<sup>bc</sup></b>	<b>3,00<sup>b</sup></b>
<b>C5</b>	<b>0,27<sup>b</sup></b>	<b>0,70<sup>c</sup></b>	<b>1,23<sup>cd</sup></b>	<b>2,17<sup>b</sup></b>	<b>2,87<sup>d</sup></b>	<b>2,93<sup>c</sup></b>	<b>2,97<sup>c</sup></b>	<b>2,97<sup>c</sup></b>	<b>2,97<sup>c</sup></b>	<b>2,97<sup>b</sup></b>
C6	0,20 <sup>ab</sup>	0,30 <sup>a</sup>	0,60 <sup>a</sup>	1,37 <sup>a</sup>	2,13 <sup>a</sup>	2,40 <sup>a</sup>	2,63 <sup>a</sup>	2,63 <sup>a</sup>	2,70 <sup>a</sup>	2,77 <sup>a</sup>

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình 3 lần lặp lại, trong cùng một cột các giá trị có mẫu tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%.

Cụ thể sau 4 giờ đầu lên men, hầu hết các dòng nấm men bắt đầu thích nghi với môi trường, khả năng hoạt động chưa cao, sinh khí khá chậm. Sau 22 giờ lên men dòng C4 có chiều cao cột khí trong ống Durham đạt tối đa (3,00 cm). Dòng C6 có chiều cao cột khí thấp hơn các dòng còn lại (2,77 cm) có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê với các dòng còn lại ở mức tin cậy 95%.

Sau kết quả khảo sát khả năng lên men sinh khí CO<sub>2</sub> của các dòng nấm men phân lập, dòng nấm men C4 là dòng có khả năng sinh khí nhanh nhất và tạo được chiều cao cột khí tối đa (3,00 cm) so với các dòng còn lại.

Kết quả khảo sát phù hợp với nghiên

cứu của Lý Nguyễn Bình và cs. (2015), sau 4 giờ lên men, đa số các dòng nấm men lên men rất yếu, sau 22 giờ chiều cao cột khí sinh ra trong ống Durham đạt tối đa (3,00 cm).

### **3. Kết quả khảo sát khả năng lên men rượu của các chủng nấm men phân lập (so sánh độ rượu, pH, oBrix trước và sau lên men)**

Dịch lên men tự nhiên có Brix = 9,8 và pH = 3,75 tiến hành điều chỉnh Brix = 22, pH = 4,5. Sau quá trình lên men 5 ngày thì Brix và pH giảm mạnh do nấm men sử dụng đường để chuyển hóa thành rượu, CO<sub>2</sub> và một số chất khác. Kết quả thể hiện ở bảng 3.



**Bảng 3. Nồng độ chất khô tan, pH và hàm lượng rượu sau khi lên men của 6 dòng nấm men.**

Chủng nấm men	pH		Độ Brix		Độ rượu (%Vol)
	Trước lên men	Sau lên men	Trước lên men	Sau lên men	
C1	4,5	3,19 <sup>c</sup>	22	12,00 <sup>cd</sup>	9,67 <sup>b</sup>
C2	4,5	3,14 <sup>ab</sup>	22	8,33 <sup>a</sup>	11,17 <sup>d</sup>
C3	4,5	3,18 <sup>bc</sup>	22	11,33 <sup>bc</sup>	9,17 <sup>b</sup>
<b>C4</b>	<b>4,5</b>	<b>3,10<sup>a</sup></b>	<b>22</b>	<b>8,33<sup>a</sup></b>	<b>11,50<sup>d</sup></b>
C5	4,5	3,14 <sup>ab</sup>	22	10,17 <sup>b</sup>	10,33 <sup>c</sup>
C6	4,5	3,21 <sup>c</sup>	22	12,83 <sup>d</sup>	8,17 <sup>a</sup>

Ghi chú: Số liệu trong bảng là trung bình của 3 lần lặp lại. Các ký hiệu trên các số liệu giống nhau thì không khác biệt với độ tin cậy 95%.

Sau 5 ngày lên men, pH của tất cả các mẫu dịch lên men đều giảm mạnh so với ban đầu (dịch lên men ban đầu có pH = 4,5). Nấm men hoạt động mạnh mẽ sinh nhiều khí CO<sub>2</sub> và các chất hữu cơ nên dẫn đến việc pH giảm mạnh. Dòng nấm men C4 có pH giảm nhiều nhất (còn 3,10) so với các dòng còn lại có sự khác biệt ở mức tin cậy 95%. Theo Lương Đức Phẩm (2006), giá trị pH giảm là do hoạt động của nấm men trong quá trình lên men kị khí sinh ra CO<sub>2</sub> và một số acid hữu cơ.

Sau 5 ngày lên men, nồng độ Brix giảm đáng kể so với brix ban đầu do đường trong dịch lên men chuyển hóa thành rượu. Dòng nấm men C2 và C4 có Brix giảm nhiều và khác biệt có ý

nghĩa ở mức tin cậy 95% so với các dòng còn lại. 6 dòng nấm men đều tạo ra độ cồn khác nhau. Dòng nấm men C2 và C4 tạo ra cồn cao nhất và không có sự khác biệt ở mức tin cậy 95% nhưng có sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 95% so với các dòng còn lại.

Qua bảng 3 cho thấy kết quả sau quá trình lên men thì dòng nấm men C4 có pH và Brix giảm đáng kể, độ rượu tạo thành cao hơn các dòng nấm men khác (12,5% Vol) và có khả năng tạo cột khí CO<sub>2</sub> trong ống Durham tối đa (3,00 cm) chứng tỏ dòng C4 có hoạt lực lên men cao hơn các dòng còn lại nên C4 được thử giống sử dụng cho thí nghiệm tiếp theo.

#### 4. Sự ảnh hưởng của nồng độ chất khô tan ( $^{\circ}$ Brix) ban đầu đến quá trình lên men rượu vang.

Quá trình lên men chịu ảnh hưởng của rất nhiều yếu tố như tỷ lệ nấm men, hàm lượng đường, pH,... Vì vậy, để quá trình lên men diễn ra tốt cần phải xác định các thông số trên cho tối ưu.

Điều chỉnh độ Brix của Cam ban đầu acid citric 10% từ 9  $^{\circ}$ Brix lên 20  $^{\circ}$ Brix,

22  $^{\circ}$ Brix và 24  $^{\circ}$ Brix. Điều chỉnh pH của Cam ban đầu từ 3,75 lên 4,5. Sau khi tăng sinh dòng nấm men C4 có mật số khoảng  $2,5 \times 10^7$ , bổ sung 7% dịch tăng sinh vào bình chứa 250mL nguyên liệu, tiến hành lên men 6 ngày, sau 6 ngày tiến hành lọc lên men phụ 12 ngày và ghi nhận kết quả. Sau 2 ngày sẽ tiến hành đo pH,  $^{\circ}$ Brix và cồn. Kết quả thu được ở bảng 4, 5 và 6.

#### 4.1. Sự thay đổi nồng độ chất khô tan ( $^{\circ}$ Brix) trong thời gian lên men

*Bảng 4. Sự thay đổi nồng độ chất khô trong thời gian lên men*

Thời gian (ngày)	Nồng độ chất khô tan ( $^{\circ}$ Brix)		
0	20	22	24
2	18,23 <sup>a</sup>	20,07 <sup>b</sup>	21,97 <sup>c</sup>
4	17,53 <sup>a</sup>	19,73 <sup>b</sup>	21,33 <sup>c</sup>
6	16,90 <sup>a</sup>	18,90 <sup>b</sup>	20,17 <sup>c</sup>
8	10,83 <sup>a</sup>	12,37 <sup>b</sup>	16,00 <sup>c</sup>
10	6,67 <sup>a</sup>	9,67 <sup>b</sup>	11,50 <sup>c</sup>
12	5,23 <sup>a</sup>	6,40 <sup>a</sup>	8,45 <sup>b</sup>

*Ghi chú: Số liệu trong bảng là trung bình của 3 lần lặp lại. Các ký hiệu trên các số liệu giống nhau thì không khác biệt với độ tin cậy 95%.*

Kết quả bảng 4 cho thấy nồng độ chất khô tan ban đầu ở các mẫu 20  $^{\circ}$ Brix, 22  $^{\circ}$ Brix, 24  $^{\circ}$ Brix đều giảm đáng kể là do nấm men hoạt động chuyển hóa đường thành rượu. Lượng rượu được tạo ra nhiều đồng nghĩa hàm lượng chất khô giảm mạnh. Mẫu 24  $^{\circ}$ Brix có hàm lượng chất khô còn lại khá cao

(8,45  $^{\circ}$ Brix) là do nồng độ chất khô ban đầu khá cao ức chế sự sinh trưởng và hoạt động của nấm men, giảm khả năng chuyển hóa đường thành rượu. Mẫu 22  $^{\circ}$ Brix nồng độ chất khô tan giảm nhiều chứng tỏ nấm men hoạt động mạnh.

## 4.2. Ảnh hưởng của Brix đến pH trong quá trình lên men

*Bảng 5. Sự thay đổi pH trong thời gian lên men*

Thời gian (ngày)	pH		
	Mẫu 20 °Brix	Mẫu 22 °Brix	Mẫu 24 °Brix
0	4,5	4,5	4,5
2	3,88 <sup>a</sup>	4,09 <sup>b</sup>	4,11 <sup>b</sup>
4	3,78 <sup>a</sup>	3,91 <sup>b</sup>	4,03 <sup>b</sup>
6	3,42 <sup>b</sup>	3,39 <sup>a</sup>	3,41 <sup>b</sup>
8	3,43 <sup>b</sup>	3,41 <sup>a</sup>	3,42 <sup>ab</sup>
10	3,47 <sup>b</sup>	3,45 <sup>a</sup>	3,44 <sup>a</sup>
12	3,49 <sup>b</sup>	3,45 <sup>a</sup>	3,46 <sup>a</sup>

*Ghi chú: Số liệu trong bảng là trung bình của 3 lần lặp lại. Các ký hiệu trên các số liệu giống nhau thì không khác biệt với độ tin cậy 95%.*

Dựa vào kết quả từ bảng 5, trong quá trình lên men, pH giữa các mẫu có tỉ lệ Brix khác nhau có sự thay đổi theo thời gian. Đa số pH ở các mẫu giảm mạnh ở thời gian 4 đến 6 ngày điều này chứng tỏ nấm men hoạt động mạnh mẽ. Sau khi quá trình lên men kết thúc pH có tăng nhưng không đáng kể.

### 4.3. Ảnh hưởng của nồng độ chất khô tan (°Brix) ban đầu đến độ cồn sau lên men

Độ Brix sau khi lên men cao thì hàm lượng rượu ethanol tạo ra trong dịch lên

men thấp và ngược lại. Từ bảng 6 cho thấy, sau 12 ngày lên men tại nồng độ chất khô tan ban đầu 22 °Brix tạo ra lượng rượu ethanol cao hơn các nồng độ khác. Đường là cơ chất của quá trình lên men nên nồng độ đường bổ sung ảnh hưởng khá lớn đến độ rượu sinh ra sau lên men. Nếu nồng độ đường ban đầu quá cao sẽ làm thay đổi áp suất thẩm thấu, các tế bào nấm men sẽ bị co nguyên sinh và chết, ngược lại, khi nồng độ đường thấp, môi trường không đủ nguồn carbon cho nấm men phát triển thì hiệu suất lên men rượu cũng giảm (Bùi Ái, 2003).

*Bảng 6. Ảnh hưởng của nồng độ chất khô tan đến độ cồn sau quá trình lên men*

Nồng độ chất khô tan (°Brix)	Độ cồn (%Vol ở 20 °C)
20 ° Brix	7,83 <sup>a</sup>
<b>22 ° Brix</b>	<b>11,67<sup>b</sup></b>
24 ° Brix	8,67 <sup>a</sup>

*Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình 3 lần lặp lại, trong cùng một cột các giá trị có mẫu tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%.*



Từ các kết quả của thí nghiệm trên cho thấy ở nồng độ chất khô tan ban đầu là 22 °Brix thì pH sau lên men không những giảm đi mà lượng chất khô tan còn sót lại sau lên men cũng ít hẳn và độ cồn sau lên men cao nhất so với các nồng độ chất khô tan ban đầu khác.

#### 4.4. Đánh giá chất lượng cảm quan

Để xác định được tỉ lệ Brix có ảnh hưởng như thế nào đến cảm quan của sản phẩm nên tiến hành đánh giá cảm quan với sự tham gia của 5 kiểm nghiệm viên.

Chất lượng cảm quan sản phẩm được đánh giá theo tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN 7045:2009). Tiêu chuẩn này sử dụng hệ số 20 điểm, xây dựng trên một thang thống nhất có 6 bậc (từ 0 - 5) và điểm 5 là điểm cao nhất cho một chỉ tiêu. Đối với sản phẩm đồ uống có cồn nói chung và sản phẩm nước uống lên men nói riêng thì các chỉ tiêu cảm quan quan trọng cần đánh giá gồm: mùi, vị, độ trong và màu sắc. Thực hiện đánh giá cảm quan 5 người, và kết quả trung bình được thể hiện trong bảng 7

**Bảng 6. Ảnh hưởng của nồng độ chất khô tan đến độ cồn sau quá trình lên men**

Tỉ lệ Brix	Điểm cảm quan
20 °Brix	10,24 <sup>a</sup>
<b>22 °Brix</b>	<b>18,16<sup>c</sup></b>
24 °Brix	14,48 <sup>b</sup>

*Ghi chú: Số liệu trung bình của 5 lần lặp lại. Những số có cùng kí tự trong cùng một cột biểu thị sự không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua phép thử LSD.*

Từ kết quả đánh giá cảm quan, điểm cảm quan ở 3 mẫu có tỉ lệ Brix khác nhau 20 °Brix, 22 °Brix, 24 °Brix đều có sự khác biệt có ý nghĩa ở mức tin cậy 95%.

Mẫu có tỉ lệ Brix ban đầu là 22 °Brix có điểm cảm quan cao nhất (18,16 điểm) có mùi thơm nhẹ, đặc trưng của sản phẩm, thơm mùi rượu và tương đối hài hòa, vị đắng đặc trưng và có hậu vừa phải, có màu vàng nhạt, trong ít vẩn đục, rót chảy đều. Mẫu có tỉ lệ Brix ban đầu là 24 °Brix có điểm cảm quan là 14,48 điểm do rượu có màu vàng sậm, hơi đục, hơi đắng. Mẫu có

tỉ lệ Brix ban đầu là 20 °Brix có điểm cảm quan là 10,24 điểm do mùi cồn không cao, thiếu vị đậm đà, màu vàng hơi nhạt.

Dựa vào tất cả các chỉ tiêu: pH, Brix, độ cồn và đặc biệt là đánh giá cảm quan rút ra kết luận rằng: Ở nồng độ chất khô tan ban đầu là 22 °Brix chủng nấm men C4 cho độ cồn sau khi lên men cao nhất, nồng độ chất khô tan giảm nhiều nhất và cho điểm chất lượng cảm quan cao nhất nên ở giá trị 22 °Brix nấm men hoạt động mạnh mẽ và phù hợp nhất cho quá trình lên men rượu vang Cam.

#### IV. KẾT LUẬN

Từ mẫu Cam mua ở chợ Mỹ Xuyên, Thành phố Long Xuyên, tỉnh An Giang phân lập được 6 chủng nấm men khác nhau là C1, C2, C3, C4, C5, C6. Trong đó, chủng C4 (định danh sơ bộ thuộc chi *Saccharomyces*) là chủng ưu thế nhất, có khả năng sinh khí CO<sub>2</sub> nhanh và khả năng lên men tạo cồn cao. Từ chủng C4 khi tiến hành lên men chính dịch Cam trong 5 ngày ở 28-30<sup>0</sup>C và lên men phụ 7 ngày ở 10-15<sup>0</sup>C, qua kết quả khảo sát được nồng độ chất khô tan ban đầu thích hợp nhất cho quá trình lên men để sản xuất rượu vang Cam là 22 oBrix. Rượu vang Cam thành phẩm có nồng độ cồn khoảng 11,67% Vol có mùi thơm nhẹ, đặc trưng của sản phẩm, vị đắng và có hậu vừa phải, có màu vàng nhạt, ít vẩn đục với các chỉ tiêu cảm quan phù hợp với tiêu chuẩn chất lượng của TCVN 7045:2009.

*Lời cảm tạ:* Chân thành cảm ơn Trường Đại học An Giang đã tạo điều kiện thuận lợi cho nghiên cứu. Gửi lời cảm ơn đến sinh viên ngành Công nghệ Sinh học khóa 16, Đại học An Giang đã hỗ trợ cho nghiên cứu.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cục bảo vệ thực vật. (2016). *Thông báo tình hình dịch hại chủ yếu 7 ngày trên một số cây trồng*. Hà Nội: Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn.
2. Nguyễn Thị Thu Vân. (2010). *Phân tích định lượng*. Nhà xuất bản Đại quốc gia TP Hồ Chí Minh. Phần 2: 95-144.
3. Kreger-van Rij, N.J.W. (1984). *The yeasts: a taxonomic study*. Amster-

dam. Elsevier science Publishers B.V. 1-1082.

4. Huỳnh Xuân Phong, Danh Minh Lợi, Nguyễn Ngọc Thanh, Lê Phan Đình Quý, Bùi Hoàng Đăng Long, Pornthap Thanonkeo, Mamoru Yamada và Ngô Thị Phương Dung. (2017). *Tuyển chọn nấm men chịu nhiệt và nghiên cứu điều kiện lên men rượu vang khóm*. Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ. 51B:7-15.
5. Đoàn Thị Kiều Tiên, Viên Thị Hải Yến, Huỳnh Xuân Phong, Bùi Hoàng Đăng Long, Hà Thanh Toàn và Ngô Thị Phương Dung. (2018). *“Tuyển chọn nấm men chịu nhiệt và ứng dụng lên men rượu vang trái giắc (*Cayratia trifolia* l.) từ tỉnh Hậu Giang”*. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(4B):64-71.
6. Nguyễn Đức Lượng, Phan Thị Huyền, Nguyễn Ánh Tuyết. (2003). *Thí nghiệm công nghệ sinh học tập 2, Thí nghiệm vi sinh vật học*. Hồ Chí Minh: Nhà xuất bản Đại quốc gia TP Hồ Chí Minh, tr 260 – 291.
7. Lý Nguyễn Bình, Trần Văn Khánh, Hà Phương Thảo, Nguyễn Văn Thành. (2015). *Phân lập và tuyển chọn nấm men có hoạt lực cao từ men rượu*. Tạp chí khoa học Trường ĐH Cần Thơ. 39B:18-28.
8. Bùi Ái. (2003). *Công nghệ lên men ứng dụng trong công nghệ thực phẩm*. Hồ Chí Minh: Nhà xuất bản Đại học quốc gia TP Hồ Chí Minh. Chương 3: 190-218.
9. TCVN 7045:2009. (2009). *Rượu vang – quy định và kỹ thuật*. Hà Nội.

**Abstract****ISOLATION AND SELECTION OF YEAST STRAINS FOR ORANGE WINE  
FERMENTATION (CITRUS SINENSIS)**

The objectives of this study were to isolate and select the yeast strain from *Citrus sinensis* bought in My Xuyen market, Long Xuyen city in An Giang province which exposed the yeast strains from orange to high quality orange wine. There were six strains of yeast were isolated from natural fermented *Citrus sinensis* samples. After isolation, observe and describe the morphology of the yeast strains. One selected strain are *Saccharomyces*, symbol as C4. C4 has showed the best fermenting activity such as fast fermentation by Durham test (12 hrs) and highest ethanol content 11,5% Vol. The optimum fermentation conditions for orange wine production by C4 were as follows: 12 days of fermentation, 22 °Brix of initial total dry matter with ethanol content of 11,67 % Vol.

**Keywords:** *Isolation, selection, orange wine, wine fermentation, yeast strain.*