



DOI:10.22144/ctu.jsi.2019.017

LÊN MEN RƯỢU VANG KHOAI LANG TÍM NHẬT (*Ipomoea batatas*)

Nguyễn Văn Thành^{1*}, Nguyễn Minh Nhật² và Nguyễn Ngọc Thạnh¹

¹Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

²Học viên ngành Công nghệ Sinh học Khoá 21, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Văn Thành (email: nvthanh@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 13/11/2018

Ngày nhận bài sửa: 15/03/2019

Ngày duyệt đăng: 12/04/2019

Title:

Wine fermentation from Japanese purple sweet potato (*Ipomoea batatas*)

Từ khóa:

Alpha-amylase, glucoamylase, khoai lang, lên men rượu, *Saccharomyces cerevisiae*

Keywords:

Alcohol fermentation, alpha-amylase, glucoamylase, *Saccharomyces cerevisiae*, sweet potato

ABSTRACT

This study was conducted to analyze the effect of alpha amylase concentration (0.015-0.035%) and time (1-4 hours) to the liquefaction of potato starch and the effect of glucoamylase concentration (0.05-0.085%) and time (70-90 hours) to the saccharification of sweet potato starch. At the same time, the effects of yeast inoculum density (10^3 - 10^7 cells/mL), pH (4-5), °Brix (22-26), temperature (20°C and 30°C) and supplemented yeast extract content (0.1-0.4%) on the ethanol fermentation of Japanese sweet potato were investigated. As a result, in the liquefaction stage, 0.03% (w/v) alpha amylase concentration in 2 hours could produce 27.8 mg/mL reducing sugar. In the saccharification stage, 0.075% (w/v) glucoamylase concentration in 80 hours could yield 61.02 mg/mL. The yeast *Saccharomyces cerevisiae* was inoculated in ethanol fermentation stage. The result showed that the fermentation could produce 14.16-14.27% (v/v) alcohol from 24°Brix, pH 4.5 and 10^5 cell/mL with 0.2% (w/v) yeast extract at 30°C in a 10-day fermentation.

TÓM TẮT

Nghiên cứu thực hiện trên cơ sở khảo sát ảnh hưởng của nồng độ enzyme alpha amylase (0,015-0,035%), thời gian (1-4 giờ) đến khả năng dịch hóa tinh bột khoai lang và glucoamylase (0,05-0,085%), thời gian 70-90 giờ đến khả năng đường hóa tinh bột khoai lang. Đồng thời, khảo sát ảnh hưởng của mật số nấm men (10^3 - 10^7 tb/mL), pH (4-5), °Brix (22-26), nhiệt độ (20 và 30°C) và hàm lượng yeast extract bổ sung (0,1-0,4%) đến khả năng lên men rượu vang khoai lang tím Nhật. Kết quả cho thấy ở giai đoạn dịch hóa, nồng độ enzyme alpha amylase 0,03% và sau 2 giờ thủy phân, hàm lượng đường khử sinh ra 27,8 mg/mL. Ở giai đoạn đường hóa, với nồng độ enzyme glucoamylase 0,075% và sau 80 giờ, hàm lượng đường khử sinh ra 61,02 mg/mL. Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* được sử dụng ở giai đoạn lên men rượu, kết quả cho thấy lên men rượu vang khoai lang tím Nhật với hàm lượng chất khô hoà tan 24 °Brix, pH 4,5 mật số nấm men 10^5 tế bào/mL, có bổ sung 0,2% yeast extract và lên men ở nhiệt độ 30°C trong 10 ngày đạt hàm lượng ethanol 14,16-14,27% (v/v).

Trích dẫn: Nguyễn Minh Nhật, Nguyễn Ngọc Thạnh và Nguyễn Văn Thành, 2019. Lên men rượu vang khoai lang tím Nhật (*Ipomoea batatas*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(Số chuyên đề: Công nghệ Sinh học)(1): 125-133.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Khoai lang (*Ipomoea batatas*) là cây lương thực phổ biến đứng thứ bảy trên thế giới (Kays *et al.*, 2005), có sản lượng đứng thứ tư sau lúa, bắp và lúa mì (Ukpabi, 2009; Calvo *et al.*, 2010). Ở Việt Nam, khoai lang là cây lương thực truyền thống đứng thứ ba sau lúa, bắp và đứng thứ hai về giá trị kinh tế sau khoai tây (Vu *et al.*, 2000). Củ khoai lang là thực phẩm phổ biến, hữu ích cho sức khỏe con người do chứa nhiều tinh bột, protein, các acid amin, vitamin A, B, C, E và hơn 10 loại nguyên tố vi lượng cần thiết khác như: calci, kẽm, sắt, magiê, kali, natri, phosphor... Đặc biệt, khoai lang tím còn chứa nhiều hợp chất chống oxy hóa mạnh như: phenol, anthocyanin, anthocyanidin... giúp bảo vệ các lipoprotein tỷ trọng thấp khỏi các quá trình oxy hóa, loại bỏ các gốc tự do, ngăn ngừa ung thư, cải thiện chức năng thị giác, ức chế kết tụ tiểu cầu và nhiều chức năng sinh lý khác (Kano *et al.*, 2005).

Tại Đồng bằng sông Cửu Long, huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long là vùng chuyên canh trồng khoai lớn với các giống khoai như: khoai Dương Ngọc, khoai bí đường, khoai sữa, đặc biệt là khoai lang tím Nhật. Diện tích khoai của Vĩnh Long dao động từ 10.000-14.500 héc ta; năng suất bình quân đạt 25-30 tấn/héc ta; sản lượng từ 300.000-400.000 tấn/năm (Kinh tế Sài Gòn online, 2018). Khoai lang được thu hoạch với lượng lớn nhưng giá cả không ổn định, phụ thuộc rất nhiều vào sự biến động của thị trường đôi khi trúng mùa thì cung vượt cầu, thương nhân ép giá khi mua củ khoai lang tươi. Bên cạnh đó, củ khoai lang tím giá rất rẻ nếu khoai bị gãy vỡ do thu hoạch, do vận chuyển hoặc do không đạt kích cỡ (Nhan Minh Trí, 2015). Lượng khoai không đạt này một phần người dân sẽ làm thức ăn cho vật nuôi, một lượng lớn sẽ bỏ đi và không đem lại lợi ích kinh tế. Do đó, vấn đề đặt ra là phải tận dụng nguồn nguyên liệu không đạt chuẩn này để lên men rượu. Đến thời điểm hiện tại có một số nghiên cứu về rượu khoai lang chưng cất như nghiên cứu của Võ Thị Tú Trinh (2012), nghiên cứu của Hồ Minh Thuận (2013). Tuy nhiên, rượu khoai lang trong quá trình chưng cất sẽ không giữ được một số hợp chất có lợi như phenol, anthocyanin, anthocyanidin... Vì thế, tiến hành sản xuất rượu khoai lang tím Nhật không qua quá trình chưng cất để giữ lại những chất chống oxy hóa có lợi cho sức khỏe là điều cần thiết. Mục tiêu của đề tài này là xác định được điều kiện thủy phân và lên men rượu vang khoai lang tím Nhật, sử dụng nguồn nguyên liệu sẵn có ở địa phương, tạo ra sản phẩm có giá trị kinh tế và giải quyết đầu ra cho loại nguyên liệu này.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Chuẩn bị nguyên vật liệu

– Khoai lang tím giống Nhật Bản được mua ở các hộ dân trồng khoai tại huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long.

– Sử dụng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* (LU 1250) đã được lưu trữ lại ở phòng Công nghệ Sinh học Thực phẩm, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2 Chuẩn bị hóa chất

– Enzyme chịu nhiệt α -amylase (từ vi khuẩn *Bacillus licheniformis*, 135 KNU/g, tên thương mại là Termamyl 120L), glucoamylase (từ *Aspergillus niger*, 300 AGU/g, tên thương mại là Dextrozyme GA), là những chế phẩm thương mại của Novozymes (Đan Mạch).

– Yeast extract, CaCl₂, NaOH, HCl, citric acid, dinitrosalicylic acid (DNS), muối tartrat kép KNaC₄H₄O₆.4H₂O.

2.3 Quy trình xử lý

Củ khoai lang tím Nhật → Gọt vỏ → Rửa sạch → Hấp chín → Nghiền mịn → Cân vào bình tam giác → Bổ sung nước cất → Dịch hóa bằng α -amylase → Đường hóa bằng glucoamylase → Lên men → Rượu vang khoai lang tím Nhật.

2.4 Các thí nghiệm được thực hiện

2.4.1 *Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ enzyme α -amylase và thời gian thủy phân đến khả năng dịch hóa tinh bột khoai lang*

Củ khoai lang tím được gọt vỏ, rửa sạch, hấp chín trong 1 giờ và sau đó nghiền mịn bằng cối inox. Tiếp theo, cân 80 g khoai lang đã hấp chín cho vào bình tam giác, bổ sung thêm 320 g nước, điều chỉnh dịch thủy phân pH = 5,2. Sau đó, sử dụng enzyme α -amylase ở các nồng độ 0,015; 0,02; 0,025; 0,03; 0,035% để dịch hóa khoai lang tím Nhật với thời gian 1, 2, 3, 4 giờ ở nhiệt độ cố định là 95°C (Paul *et al.*, 2014).

Chỉ tiêu theo dõi: Lượng đường khử tạo thành.

2.4.2 *Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ enzyme glucoamylase và thời gian thủy phân đến khả năng đường hóa tinh bột khoai lang*

Khoai lang sau khi dịch hóa được chỉnh về pH 4,2, tiến hành bổ sung enzyme glucoamylase lần lượt với các nồng độ: 0,05; 0,055; 0,06; 0,065; 0,07; 0,075; 0,08 và 0,085% để tiến hành đường hóa với thời gian 70, 80 và 90 giờ ở nhiệt độ cố định 61°C (Paul *et al.*, 2014). Sau đường hóa, tiến hành vô hoạt enzyme ở 85°C trong 5 phút.

Chỉ tiêu theo dõi: Lượng đường khử tạo thành.

2.4.3 Khảo sát ảnh hưởng của mật số nấm men, pH và độ Brix đến khả năng lên men tinh bột khoai lang

Sau khi thu được dịch đường tiến hành đo °Brix và bổ sung đường cát trắng vào dịch đường để tăng °Brix 22; 24; 26, chuẩn độ pH 4; 4,5; 5. Tiến hành rót 100 mL dịch đường khoai vào các bình tam giác loại 250 mL; khử trùng bằng lò vi sóng trong thời gian 3 phút; chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* với mật số 10³; 10⁵; 10⁷ tb/mL. Cho các bình tam giác vào tủ ủ 30°C để lên men trong khoảng 10 ngày đến khi không còn xuất hiện bọt khí.

Chỉ tiêu theo dõi: Hàm lượng rượu ethanol, pH sau lên men và hàm lượng đường sót.

2.4.4 Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ và hàm lượng yeast extract bổ sung đến khả năng lên men rượu khoai lang

Dịch đường thu được từ khoai lang được tiến hành bổ sung thêm yeast extract vào dịch đường

khoai lang lần lượt theo 4 mức nồng độ: 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4% trước khi khử trùng và lên men. Đặt các bình tam giác vào hai tủ ủ 20°C và 30°C (Paul *et al.*, 2014). Quan sát quá trình lên men trong khoảng 10 ngày, nếu thấy không còn xuất hiện bọt khí di chuyển từ dưới lên bề mặt thì coi như quá trình lên men kết thúc.

Chỉ tiêu theo dõi: Hàm lượng rượu ethanol, pH sau lên men và hàm lượng đường sót.

2.4.5 Lên men rượu vang khoai lang tím Nhật ở quy mô 2 lít

Tiến hành lên men rượu khoai lang tím Nhật theo các thông số tốt nhất đã tìm được và sản xuất ra 2 lít rượu. Sau khi lên men tiến hành lọc, trích lấy rượu, lên men phụ (bảo quản ở nhiệt độ 4-10°C, 2-3 tuần). Mẫu rượu được gửi đến Trung tâm Y tế Dự phòng Cần Thơ để phân tích. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu theo dõi và đánh giá cảm quan sản phẩm được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1: Phương pháp phân tích các chỉ tiêu theo dõi và đánh giá cảm quan sản phẩm

Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp
Độ Brix	Được xác định bằng khúc xạ kế.
pH	Được xác định bằng pH kế
Mật số tế bào nấm men	Đếm trực tiếp bằng buồng đếm hồng cầu
Độ rượu	Độ rượu được xác định bằng phương pháp chưng cất. Sử dụng cồn kế đo độ rượu ở 20°C.
Hàm lượng đường	Xác định hàm lượng đường bằng phương pháp acid dinitro-salicylic (DNS)
Các chỉ tiêu hóa lý (ethanol, methanol, acid tổng, ester, aldehyde)	Đánh giá chất lượng rượu bằng phương pháp hóa lý theo TCVN 7045:2002. Mẫu rượu thành phẩm được tiến hành phân tích các chỉ tiêu hóa lý tại Trung tâm Y tế Dự phòng Cần Thơ
Đánh giá cảm quan	Đánh giá cảm quan bằng phương pháp cho điểm Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3217-79

Xử lý thống kê: Kết quả được xử lý bằng chương trình Statgraphic Centurion 15.1.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng của nồng độ enzyme α – amylase và thời gian thủy phân đến khả năng dịch hóa tinh bột khoai lang

Kết quả khảo sát lượng đường khử sinh ra khi dịch hóa tinh bột khoai lang ở điều kiện pH 5,2 và nhiệt độ 95°C với các mức nồng độ (0,015%; 0,02%; 0,025%; 0,03%; 0,035%) và thời gian (1 giờ; 2 giờ; 3 giờ; 4 giờ) được trình bày ở Bảng 2.

Kết quả cho thấy khi nồng độ enzyme tăng từ 0,015% đến 0,035% với thời gian dịch hóa 1 giờ hàm lượng đường khử sinh ra tăng dần. Vì khi nồng độ enzyme alpha amylase tăng kéo theo khả năng phân cắt các liên kết α-1,4 amylase bên trong phân tử tinh bột khoai lang thành đường sẽ tăng, kết quả lượng đường khử sinh ra tăng.

Tuy nhiên, cũng với nồng độ enzyme tăng từ 0,015% đến 0,035% và thời gian dịch hóa lần lượt là 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ lại cho kết quả khác. Cụ thể ở những mức nồng độ enzyme thấp lượng đường khử sinh ra tăng dần, nhưng đến mức nồng độ enzyme 0,03% sau 2 giờ lượng đường khử đạt mức cao nhất 27,8 mg/mL và không tăng nữa, mặc dù nồng độ enzyme có tăng và thời gian dịch hóa kéo dài thêm. Nguyên nhân có thể là do với nồng độ enzyme 0,03% và sau 2 giờ thì enzyme α-amylase đã phân cắt gần như hoàn toàn các liên kết α-1,4 amylase bên trong phân tử tinh bột khoai lang thành các dextrin và oligosaccharide. Do đó dù có tăng nồng độ enzyme hay thời gian dịch hóa thì lượng đường khử vẫn không tăng lên.

Từ kết quả phân tích ở Bảng 2, có nhiều tổ hợp nghiệm thức cho kết quả hàm lượng đường khử cao như nghiệm thức 9 (27,80 mg/mL), 10 (27,20 mg/mL), 14 (27,00 mg/mL), 15 (27,03 mg/mL), 19

(27,30 mg/mL), 20 (27,10 mg/mL). Tuy nhiên, để tiết kiệm thời gian và có hiệu quả kinh tế thì nghiệm thức 9 với nồng độ enzyme 0,03% và thời gian dịch hóa 2 giờ là nghiệm thức thích hợp nhất cho cho kết quả hàm lượng đường khử cao 27,80 mg/mL.

Bảng 2: Nồng độ đường khử sinh ra khi dịch hóa tinh bột khoai lang với nồng độ enzyme α – amylase và thời gian khác nhau

Nghiệm thức	Tổ hợp nghiệm thức [thời gian (giờ) – nồng độ enzyme (%)]	Đường khử sinh ra (mg/mL)
1	1 – 0,015	5,38 ⁱ
2	1 – 0,020	5,90 ⁱ
3	1 – 0,025	6,98 ^h
4	1 – 0,030	23,20 ^b
5	1 – 0,035	23,50 ^b
6	2 – 0,015	6,02 ^h
7	2 – 0,020	8,79 ^{fg}
8	2 – 0,025	9,51 ^f
9	2 – 0,030	27,80 ^a
10	2 – 0,035	27,20 ^a
11	3 – 0,015	8,24 ^g
12	3 – 0,020	19,00 ^d
13	3 – 0,025	21,20 ^c
14	3 – 0,030	27,00 ^a
15	3 – 0,035	27,03 ^a
16	4 – 0,015	16,40 ^e
17	4 – 0,020	19,10 ^d
18	4 – 0,025	22,10 ^c
19	4 – 0,030	27,30 ^a
20	4 – 0,035	27,10 ^a
CV (%)		0,015

Số liệu trong bảng thể hiện giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Các chữ số mũ trên các số liệu giống nhau, thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% ($p < 0,05$)

Kết quả nghiên cứu của Jagatee *et al.* (2015), với nồng độ enzyme alpha-amylase (0,02%) và thời gian (45 phút), sau quá trình dịch hóa lượng đường khử đạt mức cao nhất 26,71 mg/mL nhỏ hơn so với kết quả thí nghiệm là 27,8 mg/mL. Nguyên nhân là do trong thí nghiệm đã sử dụng nồng độ enzyme alpha-amylase (0,03%) và thời gian dịch hóa (2 giờ) cao hơn so với nghiên cứu Jagatee *et al.* (2015). Cả hai thí nghiệm đều được thực hiện với điều kiện pH và nhiệt độ như nhau.

Kết quả thí nghiệm đã chọn được nồng độ enzyme alpha amylase (0,03%) và thời gian dịch hóa (2 giờ) sẽ thủy phân tinh bột khoai lang cho hàm lượng đường khử cao nhất (27,80 mg/mL).

3.1.1 Ảnh hưởng của nồng độ enzyme glucoamylase và thời gian thủy phân đến khả năng đường hóa tinh bột khoai lang

Kết quả khảo sát lượng đường khử sinh ra khi đường hóa dịch khoai lang ở điều kiện pH 4,2 và nhiệt độ 61°C với các mức nồng độ enzyme glucoamylase (0,05; 0,055; 0,06; 0,065; 0,07; 0,075; 0,08; 0,085%) và thời gian (70; 80; 90 giờ) được trình ở Bảng 2. Hàm lượng đường khử tăng nhanh từ 70 giờ, đạt giá trị cao nhất ở 80 giờ và không tiếp tục tăng khi thời gian thủy phân đến 90 giờ. Nguyên nhân có thể do khi tăng thời gian đường hóa sẽ gia tăng sự tiếp xúc giữa enzyme và tinh bột do đó lượng đường khử sinh ra tăng, tuy nhiên từ mốc 80 giờ đến 90 giờ thì lượng tinh bột đã bị phân giải gần như hoàn toàn do đó dù tăng thời gian thì đường khử sinh ra vẫn không thay đổi (Dutta *et al.*, 2006).

Khi nồng độ enzyme glucoamylase tăng từ 0,05% đến 0,075% lượng đường khử sinh ra gia tăng dần, nguyên nhân có thể là do khi nồng độ enzyme glucoamylase tăng sự tiếp xúc giữa enzyme và tinh bột tăng, quá trình phân cắt các liên kết α -1,4 và α -1,6 glucose trong tinh bột, các oligosaccharide diễn ra mạnh, kết quả đường khử tăng. Permanasari *et al.* (2018) đã nghiên cứu về tác động của nồng độ enzyme và cơ chất lên tốc độ chuyển hoá cơ chất và kết luận khi tăng nồng độ enzyme, tốc độ phản ứng tăng đến mức giới hạn. Ở mức giới hạn, tăng nồng độ enzyme không làm tăng tốc độ chuyển hoá. Nhưng khi đạt đến nồng độ enzyme 0,075% sau 80 giờ lượng đường khử sinh ra cao nhất 61,02 mg/mL và không tăng thêm, có thể do tinh bột đã được phân giải gần như hoàn toàn thành đường, do đó nếu có gia tăng thêm nồng độ thì lượng đường sinh ra vẫn không thay đổi.

Từ kết quả Bảng 3 nhận thấy có nhiều tổ hợp nghiệm thức cho kết quả hàm lượng đường khử cao như nghiệm thức 14 (61,02 mg/mL), 15 (60,88 mg/mL), 16 (60,95 mg/mL), 22 (60,89 mg/mL), 23 (60,83 mg/mL), 24 (60,84 mg/mL). Tuy nhiên để tiết kiệm thời gian, có hiệu quả kinh tế và có hiệu suất cao thì thí nghiệm thức 14 với nồng độ enzyme 0,075% và thời gian dịch hóa 80 giờ là nghiệm thức thích hợp nhất cho kết quả hàm lượng đường khử cao 61,02 mg/mL.

Kết quả nghiên cứu của Jagatee *et al.* (2015), với nồng độ enzyme glucoamylase (0,224%) và thời gian (24 giờ), sau quá trình đường hóa lượng đường khử đạt mức cao nhất 64,61 mg/mL cao hơn so với kết quả thí nghiệm là 61,02 mg/mL. Nguyên nhân là do trong thí nghiệm đã sử dụng nồng độ enzyme (0,075%) thấp hơn nhiều so với nghiên cứu Jagatee *et al.*, (2015) tuy nhiên thời gian dịch hóa (80 giờ) kéo dài sẽ tạo điều kiện để tăng lượng đường khử. Cả hai thí nghiệm đều được thực hiện với điều kiện pH và nhiệt độ như nhau.

Bảng 3: Nồng độ đường khử sinh ra khi đường hóa tinh bột khoai lang với nồng độ enzyme glucoamylase và thời gian khác nhau

Nghiệm thức	Tổ hợp nghiệm thức [thời gian (giờ)–nồng độ enzyme (%)]	Đường khử sinh ra (mg/mL)
1	70 - 0,050	53,18 ^t
2	70 - 0,055	56,04 ^e
3	70 - 0,060	56,09 ^e
4	70 - 0,065	56,47 ^e
5	70 - 0,070	56,48 ^e
6	70 - 0,075	57,88 ^d
7	70 - 0,080	59,02 ^c
8	70 - 0,085	60,46 ^{ab}
9	80 - 0,050	58,22 ^d
10	80 - 0,055	59,12 ^c
11	80 - 0,060	59,67 ^{bc}
12	80 - 0,065	60,27 ^{ab}
13	80 - 0,070	60,52 ^{ab}
14	80 - 0,075	61,02 ^a
15	80 - 0,080	60,88 ^a
16	80 - 0,085	60,95 ^a
17	90 - 0,050	59,34 ^c
18	90 - 0,055	59,86 ^{bc}
19	90 - 0,060	59,64 ^{bc}
20	90 - 0,065	60,31 ^{ab}
21	90 - 0,070	60,38 ^{ab}
22	90 - 0,075	60,89 ^a
23	90 - 0,080	60,83 ^a
24	90 - 0,085	60,84 ^a
CV (%)		0,152

Số liệu trong bảng thể hiện giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Các chữ số mũ trên các số liệu giống nhau, thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% ($p < 0,05$)

Kết quả thí nghiệm đã chọn được nồng độ enzyme glucoamylase (0,075%) và thời gian đường hóa (80 giờ) sẽ thủy phân dịch khoai lang cho hàm lượng đường khử cao nhất (61,02 mg/mL).

3.2 Ảnh hưởng của mật số nấm men, pH, và độ Brix đến khả năng lên men

Kết quả lên men được tổng hợp ở Bảng 4, ở điều kiện pH lên men ban đầu là 4,5 cho ra rượu có độ cồn (8,19 – 13,27% v/v), cao hơn so với pH ban đầu là 4 cho ra rượu có độ cồn (7,17 – 10,49% v/v) và 5 cho ra rượu có độ cồn (7,5 – 10,16% v/v). Kết quả tương đồng với kết quả nghiên cứu của Paul *et al.* (2014) xác định điều kiện pH tối ưu cho quá trình lên men rượu khoai lang là 4,5 tạo ra rượu có độ cồn cao nhất là 9,6%.

Độ Brix của dung dịch sau lên men giảm đáng kể (còn trong khoảng 13-19% w/v). Kayikci and Nelsen (2015) khẳng định đường cung cấp nguồn carbon là cơ chất chính cho nấm men hoạt động và đồng thời là tín hiệu kiểm soát biểu hiện gene điều hoà chuyển hoá. Khi lên men cùng điều kiện pH và mật số nấm men, độ rượu cao nhất khi môi trường lên men ở °Brix 24, độ rượu thấp hơn khi môi trường

lên men ở °Brix 22 và 26. Kết quả Bảng 3, cho thấy độ cồn của rượu tạo thành ở °Brix 24 (9,84 – 13,27% v/v) cao hơn so với độ cồn của rượu tạo thành ở °Brix 22 (7,17 – 9,65% v/v) và °Brix 26 (7,32 – 10,39% v/v). Nghiên cứu của Paul *et al.* (2014) cũng kết luận °Brix 24 là tối ưu cho quá trình lên men rượu khoai lang tương đồng với kết quả thí nghiệm. Đường cung cấp nguồn carbon là cơ chất chính cho nấm men hoạt động. Nếu hàm lượng đường thấp không đủ cơ chất cho nấm men hoạt động, sẽ giảm hiệu suất lên men, không tạo được độ rượu mong muốn trong rượu vang. Hàm lượng đường quá cao sẽ làm tăng áp suất thẩm thấu và làm mất cân bằng trạng thái sinh lý của nấm men (Kayikci and Nelsen, 2015).

Quá trình sản xuất rượu vang phụ thuộc nhiều vào mật số nấm men giống, do đây chính là tác nhân quan trọng của quá trình lên men. Trong cùng điều kiện pH và độ Brix ban đầu, độ cồn của rượu tạo thành phụ thuộc chủ yếu vào mật số nấm men sử dụng. Kết quả cho thấy độ cồn của rượu tạo thành ở mật số nấm men 10^3 tế bào/mL (7,17 – 10,64% v/v) và mật số nấm men 10^7 tb/mL (7,37 – 10,86 % v/v) thấp hơn so với độ cồn của rượu tạo thành ở mật số nấm men 10^5 tb/mL (8,66 – 13,27% v/v). Nguyên nhân có thể là do hàm lượng giống ít (10^3 tb/mL) không đủ để tăng nhiều sinh khối mặc dù nguồn carbon được bổ trí đủ nhiều, vì vậy lượng rượu tạo thành thấp. Tuy nhiên, khi lượng men giống nhiều (10^7 tb/mL) có thể sẽ xảy ra sự cạnh tranh nguồn dinh dưỡng, ảnh hưởng đến quá trình lên men. Như vậy, mật số nấm men ban đầu 10^5 tb/mL có thể xem là phù hợp cho hoạt động lên men rượu vang khoai lang. Kết quả cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của Paul *et al.* (2014) đã xác định điều kiện mật số nấm men tối ưu cho quá trình lên men rượu khoai lang là 10^5 tb/mL.

Kết quả thí nghiệm đã chọn được mật số nấm men 10^5 tb/mL, °Brix 24, và pH 4,5 là những chỉ số tốt nhất để lên men rượu vang khoai lang với độ cồn cao nhất 13,27% v/v ở 20°C. Kết quả thu được là các kết quả thực nghiệm. Với mong muốn đạt được kết quả tốt hơn thì các thông số pH, độ Brix và mật số tối ưu được tìm thông qua phân tích hồi quy dựa trên số liệu thu thập được bằng chương trình Statgraphics Centurion XV.I với độ chính xác 95% được phương trình hồi quy sau:

$$Z = -422,952 + 50,1175*X + 26,2818*Y + 1,42208*E - 5,53333*X*X + 0,225833*X*E - 0,0202083*X*Y - 0,269722*E*E + 0,0487153*E*Y - 0,545556*Y*Y - 0,00729167*X*E*Y$$

(với Z: độ cồn, X: pH, Y: Brix, E: mật số nấm men)

Có định E = 5, có phương trình hồi quy sau:

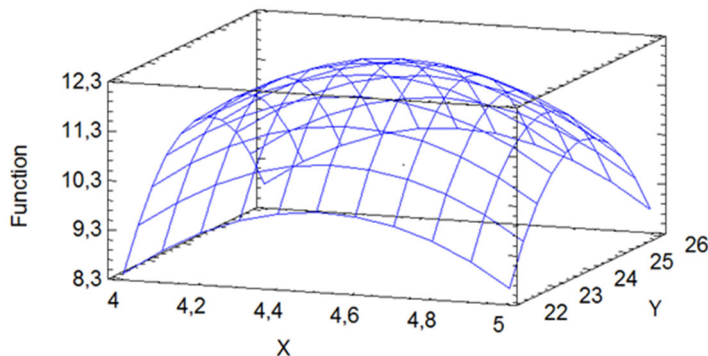
$$Z = -422,952 + 50,1175 * X + 26,2818 * Y + 1,42208 * 5 - 5,53333 * X * X + 0,225833 * X * 5 -$$

$$0,0202083 * X * Y - 0,269722 * 5 * 5 + 0,0487153 * 5 * Y - 0,545556 * Y * Y - 0,00729167 * X * 5 * Y$$

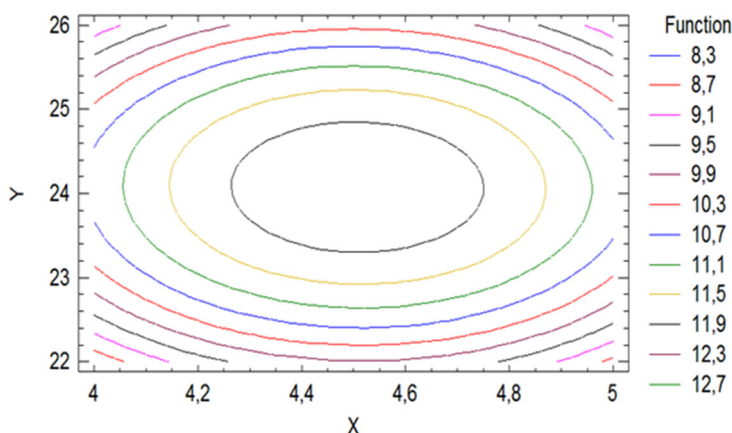
Bảng 4: Ảnh hưởng của mật số nấm men, pH, và độ Brix đến khả năng lên men

Nghiệm thức	Tổ hợp nghiệm thức (pH – °Brix – mật số)	pH sau lên men	Độ Brix sau lên men (% w/v)	Độ cồn ở 20°C (% v/v)
1	4,0 – 22 – 10 ³	3,17	14,50	7,17 ^j
2	4,0 – 22 – 10 ⁵	3,15	13,20	8,66 ^h
3	4,0 – 22 – 10 ⁷	3,17	14,23	7,37 ^j
4	4,0 – 24 – 10 ³	2,97	17,37	9,87 ^{fg}
5	4,0 – 24 – 10 ⁵	2,86	15,80	10,49 ^{cd}
6	4,0 – 24 – 10 ⁷	2,92	16,97	10,12 ^{ef}
7	4,0 – 26 – 10 ³	3,27	21,00	7,32 ^j
8	4,0 – 26 – 10 ⁵	3,21	19,37	8,76 ^h
9	4,0 – 26 – 10 ⁷	3,26	20,13	7,86 ⁱ
10	4,5 – 22 – 10 ³	3,51	15,13	8,19 ⁱ
11	4,5 – 22 – 10 ⁵	3,32	11,43	9,65 ^g
12	4,5 – 22 – 10 ⁷	3,40	15,27	8,90 ^h
13	4,5 – 24 – 10 ³	3,44	17,13	10,64 ^{bc}
14	4,5 – 24 – 10 ⁵	3,35	13,40	13,27 ^a
15	4,5 – 24 – 10 ⁷	3,39	15,07	10,86 ^b
16	4,5 – 26 – 10 ³	3,49	19,40	8,82 ^h
17	4,5 – 26 – 10 ⁵	3,38	15,93	10,39 ^{cde}
18	4,5 – 26 – 10 ⁷	3,44	18,13	9,74 ^g
19	5,0 – 22 – 10 ³	3,69	15,20	7,50 ^j
20	5,0 – 22 – 10 ⁵	3,45	12,90	8,55 ^h
21	5,0 – 22 – 10 ⁷	3,56	14,00	8,12 ⁱ
22	5,0 – 24 – 10 ³	3,58	19,13	9,84 ^{fg}
23	5,0 – 24 – 10 ⁵	3,42	13,67	10,16 ^{def}
24	5,0 – 24 – 10 ⁷	3,48	15,97	9,98 ^{fg}
25	5,0 – 26 – 10 ³	3,57	19,87	7,35 ^j
26	5,0 – 26 – 10 ⁵	3,44	15,77	8,70 ^h
27	5,0 – 26 – 10 ⁷	3,52	19,20	8,19 ⁱ
CV (%)				0,127

Số liệu trong bảng thể hiện giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Các chữ số mũ trên các số liệu giống nhau, thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% (p<0,05)



Hình 1: Biểu đồ mặt đáp ứng thể hiện sự tương quan giữa nồng độ đường lên men và pH đến quá trình lên men rượu



Hình 2: Biểu đồ đường mức thể thể hiện sự tương quan giữa nồng độ đường lên men và pH đến quá trình lên men rượu khoai lang

Từ phương trình hồi quy, rút gọn được:

$$Z = -422,58465 + 51,246665X + 26,4615765Y - 5,53333 X^2 - 0,545556Y^2 - 0,01625005XY$$

Lần lượt lấy đạo hàm theo từng biến số:

$$Z'(X) = - 11,06666X - 0,01625005Y + 51,246665$$

$$Z'(Y) = - 0,01625005X - 1,091112Y + 26,4615765$$

Cho $Z'(X)$ và $Z'(Y) = 0$, giải hệ phương trình thu được nghiệm: $X = 4,5$; $Y = 24$ và $Z = 14,9$

Như vậy, độ cồn tối đa có thể đạt được vào khoảng 14,9, khi tiến hành thí nghiệm với các chỉ số ban đầu của dịch lên men lần lượt là: pH 4,5; 24 độ Brix và mật số nấm men là 10^5 tb/mL.

3.2.1 Ảnh hưởng của nhiệt độ và hàm lượng yeast extract bổ sung đến khả năng lên men rượu khoai lang

Yeast extract được bổ sung vào dịch đường khoai lang lần lượt theo 4 mức nồng độ (0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4%), lên men ở 20°C và 30°C trong 10 ngày, kết quả tổng hợp ở Bảng 5.

Bảng 5: Ảnh hưởng của nhiệt độ và hàm lượng yeast extract bổ sung đến khả năng lên men rượu khoai lang

Nghiệm thức	Tổ hợp nghiệm thức (nhiệt độ (°C) - yeast extract (%))	pH sau lên men	°Brix sau lên men (% w/v)	Độ cồn ở 20°C (% v/v)
1	20 - 0,1	3,56	18,00	9,27 ^g
2	20 - 0,2	3,45	16,35	10,44 ^f
3	20 - 0,3	3,37	15,15	11,13 ^e
4	20 - 0,4	2,27	13,55	11,81 ^d
5	30 - 0,1	3,31	13,3	13,49 ^b
6	30 - 0,2	3,19	12,35	14,16 ^a
7	30 - 0,3	3,16	12,3	14,27 ^a
8	30 - 0,4	3,34	9,32	12,87 ^c
CV (%)				1,495

Số liệu trong bảng thể hiện giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Các chữ số mũ trên các số liệu giống nhau, thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% ($p < 0,05$)

Từ Bảng 5 cho thấy quá trình lên men ở 30°C hàm lượng cồn sinh ra cao hơn so với quá trình lên men ở 20°C. Nguyên nhân có thể do ở 30°C là nhiệt độ thích hợp cho nấm men hoạt động, nấm men sẽ tăng nhanh mật số, quá trình lên men diễn ra nhanh và mạnh, lượng cồn sinh ra cao. Ngược lại ở 20°C là ở nhiệt độ thấp, quá trình này chồi nấm men diễn ra chậm, tăng mật số chậm, quá trình lên men kéo

dài, lượng cồn sinh ra sau 10 ngày sẽ thấp hơn so với lên men 30°C.

Khi bổ sung yeast extract vào dịch lên men sẽ tạo ra môi trường giàu dinh dưỡng giúp nấm men sinh trưởng nhanh, tăng nhanh mật số, kéo theo quá trình lên men mạnh và lượng cồn sinh ra cao. Điều này cũng được thể hiện qua kết quả thí nghiệm lên men ở 20°C, tăng dần hàm lượng yeast extract độ

cồn của rượu sẽ tăng dần (nghiệm thức 1 (9,27% v/v), 2 (10,44% v/v), 3 (11,13% v/v), 4 (11,81% v/v)).

Khi lên men ở 30°C và tăng lượng yeast extract bổ sung, kết quả lượng cồn sinh ra tăng dần ở nghiệm thức 5 (13,49% v/v), 6 (14,16% v/v), 7 (14,27% v/v) sau đó giảm lại ở nghiệm thức 8 (12,87% v/v). Điều này có thể do khi yeast extract bổ sung quá cao làm cho mật số nấm men tăng sử dụng một lượng đường lớn trong dịch lên men để tăng mật số và khi đến giai đoạn lên men lượng đường còn lại trong dịch lên men sẽ thấp, lúc này mật số nấm men thì cao mà lượng đường trong dịch lên men thấp nên quá trình lên men với lượng cồn sinh ra thấp. Trong nghiên cứu lên men ethanol từ họ khoai, Duhan *et al.* (2013) đã ghi nhận tác động của yeast extract lên khả năng tạo ethanol. Trong đó, ethanol đạt cao nhất khi hàm lượng yeast extract tăng từ 0,1-0,2% và giảm khi tiếp tục bổ sung yeast extract.

Hai nghiệm thức sinh ra rượu có độ cồn cao là nghiệm thức 6 (14,16% v/v) và 7 (14,27% v/v), hai nghiệm thức này khác biệt không có ý nghĩa về mật thống kê với ở độ tin cậy 95% (Bảng 5). Để đạt hiệu quả kinh tế nên chọn nghiệm thức 6 sẽ giảm chi phí yeast extract nhưng hiệu quả lên men vẫn cao. Kết quả thí nghiệm đã chọn được điều kiện nhiệt độ 30°C và hàm lượng yeast extract bổ sung 0,2% cho quá trình lên men sẽ tạo ra rượu có độ cồn cao 14,16% (v/v) ở 20°C.

3.2.2 Lên men rượu vang khoai lang tím Nhật ở quy mô 2 lít

Rượu khoai lang tím Nhật được thử nghiệm sản xuất ở quy mô 2 lít để xác định các chỉ tiêu hóa học và đánh giá cảm quan. Sản phẩm được gửi xét nghiệm các chỉ tiêu hóa lý tại Trung tâm Y tế Dự phòng thành phố Cần Thơ (Bảng 6).

Bảng 6: Kết quả đánh giá các chỉ tiêu hóa học rượu vang khoai lang tím Nhật

STT	Chỉ tiêu	Kết quả	TCVN-7045:2002	Nhận xét
1	Ethanol	14% (V/V) ở 20°C	6 – 18% (V/V) ở 20°C	Đạt
2	Methanol	3,311 mg/L rượu 100°	3000 mg/L rượu 100°	Đạt
3	Acid tổng	0,19 g/L	1,5 g/L	Đạt
4	Ester	3850 mg/L rượu 100°	Theo tiêu chuẩn đã được công bố của nhà sản xuất	Tự công bố
5	Aldehyde	970 mg/L rượu 100°	Theo tiêu chuẩn đã được công bố của nhà sản xuất	Tự công bố

So sánh kết quả các chỉ tiêu xét nghiệm với TCVN-7045:2002 về đánh giá chất lượng rượu vang, các chỉ tiêu đạt các yêu cầu đề ra. Sản phẩm

rượu vang khoai lang tím thành phẩm được đánh giá cảm quan gồm 7 người (A, B, C, D, E, F, G, H) bằng phương pháp cảm quan cho điểm theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN-3217:79.

Bảng 7: Kết quả đánh giá cảm quan rượu vang khoai lang tím với 7 thành viên

Chỉ tiêu chất lượng	Điểm chưa có trọng lượng của							Tổng điểm chưa có trọng lượng	Điểm trung bình chưa có trọng lượng	Hệ số quan trọng	Điểm đã được hiệu chỉnh
	A	B	C	D	E	F	G				
Độ trong và màu sắc	5	4	4	4	5	4	4	30	4,3	0,8	3,4
Mùi	5	5	4	5	4	5	5	33	4,7	1,2	5,6
Vị	5	4	5	4	5	4	5	32	4,6	2,0	9,2

Số điểm chung: 18,2

Đối chiếu với bảng đánh giá chất lượng rượu theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN-3217:79, rượu vang khoai lang tím được xếp loại khá.

4 KẾT LUẬN

Nồng độ enzyme alpha amylase 0,03% và thời gian 2 giờ để dịch hóa khoai lang tím Nhật cho hàm lượng đường khử 27,8 mg/mL. Nồng độ enzyme glucoamylase 0,075% và sau 80 giờ, hàm lượng

đường khử sinh ra 61,02 mg/mL. Nấm men *S. cerevisiae* được sử dụng lên men rượu vang khoai lang tím Nhật ở 24 °Brix, pH 4,5, mật số nấm men 10⁵ tb/mL, có bổ sung 0,2% yeast extract và lên men ở nhiệt độ 30°C trong 10 ngày cho hàm lượng rượu 14,16-14,27%, có giá trị cảm quan tốt. Kết quả nghiên cứu có thể ứng dụng trong thực tế để sản xuất rượu vang khoai lang tím Nhật nhằm đa dạng hóa sản phẩm và có thể góp phần giải quyết đầu ra cho vùng trồng khoai lang.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Calvo, P., Ormeño-Orrillo, E., Martínez-Romero, E., Zúñiga, D., 2010. Characterisation of *Bacillus* isolates of potato rhizosphere from Andean soils of Peru and their potential PGPR characteristics. *Brazilian Journal of Microbiology*. 41(4): 899-906.
- Duhan, J., Kumar, A., Tanwar, S.K., 2013. Bioethanol production from starchy part of tuberous plant (potato) using *Saccharomyces cerevisiae* MTCC-170. *African Journal of Microbiology Research*. 7: 5253-5260.
- Dutta, T. K., Jana, M., Pahari, P. R., Bhattacharya, T., 2006. *Turkish Journal of Zoology*. 30:187-195.
- Hồ Minh Thuán, 2013. Thử nghiệm sản xuất rượu đế từ khoai lang. Luận văn tốt nghiệp thạc sĩ. Trường Đại học Cần Thơ.
- Jagatee, S., Pradhan, C., Dash, P. K., Sahoo, S., and Mohanty, R. C., 2015. Optimization for saccharification of sweet potato (*Ipomoea batatas*) flour for enhanced ethanol production. *International Journal of Science, Technology & Management*. 4: 2394-1537.
- Kano, M., Takayanagi, T., Harada K., Makino K. and Ishikawa F., 2005. Antioxidative activity of anthocyanins from purple sweet potato, *Ipomoea batatas* cultivar Ayamurasaki. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 69(5): 979-988.
- Kayikci, Ö., And Nielsen, J., 2015. Glucose repression in *Saccharomyces cerevisiae*. *Federation of European Microbiological Society (FEMS) Yeast Research yeast research*, 15(6): 1-8.
- Kays, S.J., Wang, Y., McLaurin, W.J., 2005. Chemical and geographical assessment of the sweetness of the cultivated sweetpotato clones of the world. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 130(4): 591-597.
- Kinh tế Sài Gòn online, 2018. Khoai lang Bình Tân kêu cứu. Truy cập ngày 26/4/2019. Địa chỉ: <https://www.thesaigontimes.vn/281616/Khoai-lang-Binh-Tan-keu-cuu.html>
- Nhan Minh Trí, 2015. Các biến đổi chất lượng bánh trắng sữa khoai lang tím trong quá trình chế biến. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*: 39 (2015): 29-35
- Paul, S. K., Dutta, H., Mahanta, C. L., and Kumar, P., 2014. Process standardization, characterization and storage study of a sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) wine. *International Food Research*. 21: 1149-1156.
- Permanasari, A. R., Yulistiani, F., Purnama, R. W., Widjaja, T., and Gunawan, S., 2018. The effect of substrate and enzyme concentration on the glucose syrup production from red sorghum starch by enzymatic hydrolysis. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. 160: 1-6.
- Ukpabi, U.J., 2009. Root and tubers in Nigeria as sources of industrial raw materials. In: Onwualu, P.A., Obasi, S.C., Ukpabi, U.J. (Eds.). *Nigeria Agro Raw Materials Development Some Industrial Crops and Salient Issues*. RMDRC Publications. Abuja, Nigeria: 1-19.
- Võ Thị Tú Trinh. 2012. Nghiên cứu quy trình sản xuất rượu đế từ khoai lang. Luận văn tốt nghiệp đại học, Trường Đại học Cần Thơ.
- Vu, D.H., Loc, D.T., Ho, T.V., and Kim, H., 2000. Sweet potato in the postrice areas of Vietnam. In: Rasco Jr., E.T., Amante, V.d.R. (Eds.). *Sweet Potato in Tropical Asia*. Philippine Council for Agriculture, Forestry, and Natural Resources Research and Development. Los Baños, Laguna, The Philippines: 189-220.
- Tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN-3217:79). 1979. Quy định kỹ thuật về Sản phẩm thực phẩm - phân tích cảm quan - phương pháp cho điểm. Ủy ban Khoa học và Kỹ thuật Nhà nước ban hành
- Tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN-7045:2002). 2002. Quy định kỹ thuật về Rượu vang. Bộ Khoa học và Công nghệ ban hành.