



## ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC YẾU TỐ ĐẾN CHẤT LƯỢNG RƯỢU GẠO (GIỐNG MỘT BỤI ĐỎ, HỒNG DÂN - BẠC LIÊU)

Huỳnh Trần Toàn<sup>1</sup>, Nguyễn Minh Thủy<sup>2</sup> và Nguyễn Văn Thành<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Học viên Cao học CNSTH K19, Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>3</sup> Viện Nghiên cứu & Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 26/9/2014

Ngày chấp nhận: 07/11/2014

### Title:

Factors affecting the quality of rice wine ("Một bụi đỏ" rice variety, Hong Dan - Bac Lieu)

### Từ khóa:

Rượu gạo, tỷ lệ phối chế, nếp, koji, chất lượng

### Keywords:

Rice wine, blending ratio, sticky rice, koji, quality

### ABSTRACT

An experiment was conducted to study the preparation of wine using locally available "Một bụi đỏ" rice varieties. The standard yeast strain as *Saccharomyces cerevisiae* was used for wine preparation after koji incubation by *Aspergillus oryzae* from 0.4±0.8% during 1 to 3 days in order to achieve the maximum amount of sugar, ready for fermentation. The experiment was also arranged with the blending of 5 ratios of moto: boiled rice and additional water, along with complementary sticky rice with the content from 5-20% and control sample.

The study results showed that high activity  $\alpha$ -amylase enzyme could be obtained by koji incubation with 0.6 to 0.8% of *Aspergillus oryzae* in 2 days. The ratios mixing of Moto: rice: water are 1: 2: 1 and 1: 2: 2 (by weight) could be used to produce rice wine with high ethanol concentrations and low residual sugar concentrations (an average of 12.5% v/v and 2.3%, respectively). Additional sticky rice in rice wine production potentially increase the sensory value of the product, especially smell and taste. Chemical analysis showed that the methanol concentration (48-65 mg/l) in wine was much lower than the National Technical Regulations for alcohol products (QCVN 6-3: 2010/BYT).

### TÓM TẮT

Thí nghiệm được tiến hành nghiên cứu sản xuất rượu gạo từ giống gạo "Một bụi đỏ" có sẵn tại địa phương (Hồng Dân, Bạc Liêu). Chủng nấm men thuần *Saccharomyces cerevisiae* được sử dụng cho quá trình lên men rượu sau khi ủ koji với chủng mốc *Aspergillus oryzae* 0,4±0,8% và thời gian ủ Koji 1÷3 ngày, nhằm có được lượng đường tối đa, sẵn sàng cho quá trình lên men rượu. Thí nghiệm tiếp tục được bố trí với 5 tỷ lệ phối chế moto: cơm và nước chan khác nhau và hàm lượng nếp bổ sung 5-20% cùng với mẫu đối chứng.

Kết quả nghiên cứu cho thấy rượu gạo "Một bụi đỏ" có chất lượng tốt khi ủ koji với *Aspergillus oryzae* từ 0,6 đến 0,8% trong 2 ngày, khuẩn ty xuất hiện tốt và hoạt tính enzyme  $\alpha$ -amylase cao. Tỷ lệ phối trộn moto: cơm: nước chan 1: 2: 1 và 1: 2: 2 (tính theo khối lượng) cho rượu sau lên men đạt hàm lượng ethanol cao và đường sót thấp (trung bình khoảng 12,5% v/v và 2,3%, tương ứng). Bổ sung nếp trong quy trình sản xuất rượu gạo "Một bụi đỏ" có khả năng làm tăng giá trị cảm quan của sản phẩm, đặc biệt là mùi và vị. Phân tích hóa học cho thấy hàm lượng methanol trong rượu (48-65 mg/l), thấp hơn nhiều so với Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với các sản phẩm đồ uống có cồn (QCVN 6 -3: 2010/BYT).

## 1 GIỚI THIỆU

Rượu gạo là đồ uống có cồn được chế biến từ gạo. Không giống như rượu vang Châu Âu, được thực hiện bởi quá trình lên men các loại đường tự nhiên có trong nho và trái cây khác, rượu gạo được làm từ quá trình lên men tinh bột gạo đã được chuyển đổi thành đường. Quá trình này tương tự như quá trình nghiền được sử dụng trong sản xuất bia, rượu whisky nhưng khác ở chỗ là nguồn các enzyme chuyển đổi tinh bột thành đường. Trong gạo và rượu ngũ cốc khác, vi khuẩn là nguồn gốc của các enzyme trong khi rượu bia và sản xuất rượu whisky sử dụng các enzyme tự nhiên trong hạt ngũ cốc đã nảy mầm (Huang, 2000).

Trong sản xuất rượu gạo, đường hóa là một trong hai giai đoạn chủ yếu trong quy trình sản xuất rượu. Ở giai đoạn này, một quá trình biến đổi hóa học xảy ra, chuyển tinh bột thành dạng đường dễ lên men nhờ hoạt động thủy phân của các enzyme amylase sẵn có trong nguyên liệu hay sản sinh từ vi sinh vật. Hệ vi sinh vật trong men rượu giữ vai trò quan trọng trong quá trình sản xuất rượu, ảnh hưởng trực tiếp đến năng suất và chất lượng sản phẩm.

Koji là một trong những thành phần quan trọng được coi là giống khởi động để sản xuất một số thực phẩm lên men truyền thống của Nhật Bản. Nếu không có koji, sẽ không có được rượu gạo ngon. Koji có chứa một hệ các enzyme thủy phân được tạo thành trong nấm mốc sinh trưởng trên các cơ chất chứa tinh bột. Các enzyme thủy phân này (glucoamylase,  $\alpha$ -amylase, protease...) để thủy phân tinh bột và protein thành các chất có trọng lượng phân tử thấp. Có rất nhiều chủng nấm mốc khác nhau được sử dụng để sản xuất Koji như *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamoki*, *Aspergillus kawachi*, *Aspergillus niger*... Trong đó, giống nấm mốc *Aspergillus oryzae* được sử dụng rộng rãi và phổ biến. *Aspergillus oryzae* là một vi sinh vật quan trọng được dùng trong công nghệ lên men rượu nhờ vào khả năng sản sinh ra nhiều loại enzyme như protease, amylase, glucoamylase, cellulase, pectinase, hemicellulase. *Aspergillus oryzae* được công nhận là an toàn (có trong danh sách GRAS—Generally Regconized As Safe) của cơ quan quản lý thuốc và thực phẩm (FDA—Food and Drug Administration). *Aspergillus oryzae* có cường độ sinh sản cực kỳ mạnh và tổng hợp amylase với tốc độ rất nhanh. Trong một thời gian ngắn có thể thu được một lượng enzyme rất lớn. *Aspergillus oryzae* có cấu tạo hình sợi phân nhánh, những hình sợi này sinh trưởng ở đỉnh và

phát triển rất nhanh, tạo thành một đám chằng chịt các sợi, từng sợi được gọi là các khuẩn ty hay sợi nấm; còn cả sợi được gọi là khuẩn ty thể hay hệ sợi nấm (Luong Đức phẩm, 2002). *Aspergillus oryzae* chỉ phát triển được trong điều kiện hoàn toàn hiếu khí và khả năng sinh trưởng của nấm chịu ảnh hưởng bởi rất nhiều yếu tố như âm độ, thời gian, nhiệt độ (Nguyễn Đức Lương, 2004).

Nước là thành phần quan trọng trong sản xuất rượu. Chất lượng của nước ảnh hưởng trực tiếp đến rượu. Trong quá trình chế biến rượu thì nước được sử dụng trong các công đoạn xử lý nguyên liệu, nấu nguyên liệu, pha loãng dung dịch... Do đó, để đảm bảo chất lượng rượu thì chất lượng nước cũng như tỷ lệ nước bổ sung cho quá trình sản xuất phải thích hợp. Ngoài ra trong quá trình sản xuất rượu hiện nay, ngoài nguyên liệu là gạo, gạo nếp cũng được sử dụng. Sản phẩm rượu nếp có hương vị đặc trưng và được nhiều người ưa thích. Mục tiêu nghiên cứu nhằm chọn tỷ lệ nấm mốc *Aspergillus oryzae* và thời gian ủ thích hợp để thu được mốc Koji cho hoạt tính enzyme amylase thủy phân tinh bột thành đường tốt, thuận lợi cho quá trình lên men rượu. Nghiên cứu cũng chọn ra tỷ lệ nước chan, koji, lượng gạo nếp bổ sung thích hợp quy trình sản xuất rượu gạo “Một bụi đỏ” cùng với giống nấm men *Sacchromyces cerevisiae* thuần chủng sẵn có, đảm bảo nhu cầu của người tiêu dùng và rượu sau lên men đạt Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với các sản phẩm đồ uống có cồn (QCVN 6-3:2010/BYT).

## 2 PHƯƠNG PHÁP THÍ NGHIỆM

### 2.1 Nguyên vật liệu

Giống gạo “Một bụi đỏ” được nhận từ Trung tâm Thực nghiệm & Chuyển giao Khoa học Công nghệ huyện Hồng Dân, tỉnh Bạc Liêu).

Mốc giống *Aspergillus oryzae* có nguồn gốc từ ngân hàng giống của Hoa Kỳ ATCC (American Type Culture Collection) và đang tồn trữ giống tại Viện Nghiên cứu & Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

Nấm men *Sacchromyces cerevisiae* phân lập từ nước thốt nốt (Nguyễn Minh Thủy và ctv., 2011).

### 2.2 Phương pháp thí nghiệm

2.2.1 *Khảo sát ảnh hưởng tỷ lệ nấm mốc Aspergillus oryzae và thời gian ủ đến chất lượng mốc Koji gạo “Một bụi đỏ”*

*Phương pháp thực hiện:* gạo sau khi được nấu chín cho vào đĩa petri, mỗi đĩa có khối lượng là 40 g cơm, độ ẩm 55–65%. Thanh trùng mẫu cơm và

để nguội, chủng nấm mốc *Aspergillus oryzae* với các nồng độ từ 0,4 đến 0,8% (cách nhau 0,1%), ủ và theo dõi sau 1 đến 3 ngày. Ủ tất cả các mẫu trong dụng cụ đã được vệ sinh thật sạch. Quá trình ủ mốc Koji được thực hiện ở nhiệt độ phòng và trong điều kiện hiếu khí.

**Dữ liệu thu nhận:** sự xuất hiện khuẩn ty, hoạt tính enzyme  $\alpha$ -amylase (đv/g) (theo phương pháp so màu quang điện của Rukhliadeva, 1985).

**2.2.2 Khảo sát ảnh hưởng tỷ lệ (Moto: com bổ sung: nước chan) trong quá trình lên men rượu**

**Phương pháp thực hiện:** sau khi phối trộn được thực hiện với 100 g mốc Koji, nấm men *Saccharomyces cerevisiae* (phân lập từ nước thốt nốt với mật số  $10^6$  CFU/ml và tỷ lệ nước chan là 100 mL. Ủ trong thời gian 48 giờ sẽ thu được khối lượng Moto. Tiến hành phối trộn Moto, com hấp, nước chan ở các tỷ lệ như sau: ((1: 1: 1, 2: 1: 1, 1: 2: 1, 1: 2: 2 và 1: 2: 3) (được tính theo phần trăm khối lượng, g)).

**Dữ liệu thu nhận:** hàm lượng ethanol (% v/v ở 20°C) (phương pháp chưng cất), methanol (mg/L cồn 100°) (phương pháp  $KMnO_4$ ,  $H^+$ ) và hàm lượng đường sót (phương pháp Bertrand).

**2.2.3 Khảo sát ảnh hưởng tỷ lệ nếp bổ sung trong quá trình lên men rượu gạo “Một bụi đỏ”**

**Phương pháp thực hiện:** sau khi chọn được tỷ lệ (Moto: com: nước chan) thích hợp ở thí nghiệm 2, lượng com nếp được bổ sung vào quy trình chế biến rượu với hàm lượng từ 5, 10, 15 và 20% (cùng với mẫu đối chứng) với mục đích nâng cao chất lượng và giá trị cảm quan sản phẩm (đặc biệt về mùi và vị).

**Dữ liệu thu nhận:** hàm lượng đường sót (%), ethanol (% v/v ở 20°C) và methanol (mg/l cồn 100°).

**Đánh giá cảm quan sản phẩm:** theo phương pháp mô tả định lượng QDA (Quantitative Descriptive Analysis) với số cảm quan viên khoảng 20 người/lần đánh giá.

### 2.3 Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm Excel và Statgraphics 16.0 tính toán, thống kê số liệu và vẽ đồ thị.

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 Ảnh hưởng tỷ lệ nấm mốc *Aspergillus oryzae* và thời gian ủ đến chất lượng mốc Koji gạo “Một bụi đỏ”

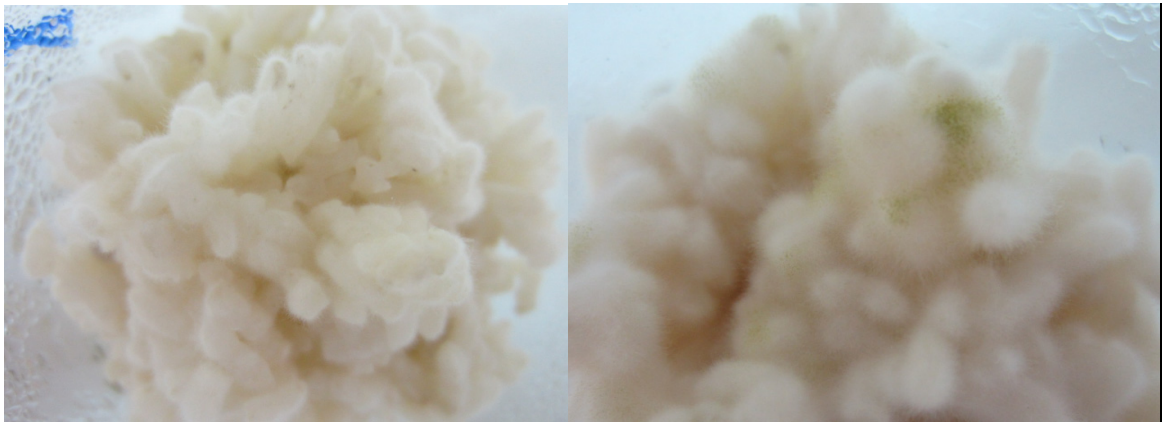
Nấm mốc *Aspergillus oryzae* thuộc vi sinh vật đa bào, khi gặp điều kiện thuận lợi nấm mốc phát triển tạo thành khối sợi có nhánh gọi là khuẩn ty. Khả năng sản sinh enzyme nhiều hay ít đồng nghĩa với việc phát triển của khuẩn ty (Lương Đức Phẩm, 2002). Trong quá trình ủ Koji, với tỷ lệ nấm mốc *Aspergillus oryzae* từ 0,4÷0,8% cho thấy ở ngày thứ nhất thì sự xuất hiện khuẩn ty là như nhau và ít hơn so với ngày thứ 2 và 3. Theo Nguyễn Đức Lượng (2004) thì chu kỳ sinh trưởng của nấm mốc trên cám có thể chia làm ba thời kỳ, thời kỳ sinh trưởng và nảy mầm của đỉnh bào tử (10–11 giờ đầu tiên), thời kỳ sinh trưởng nhanh của hệ sợi (kéo dài 4–18 giờ) và thời kỳ tạo enzyme amylase mạnh mẽ (kéo dài từ 10–20 giờ). Do vậy, khuẩn ty xuất hiện ít và sợi nấm ngắn hơn. Kết quả khảo sát cho thấy khuẩn ty của tỷ lệ nấm mốc 0,4 và 0,5% phát triển ít hơn so với các tỷ lệ từ 0,6, 0,7, 0,8% ở ngày thứ 2 (Bảng 1).

**Bảng 1: Ảnh hưởng tỷ lệ nấm mốc *Aspergillus oryzae* và thời gian ủ Koji đến sự xuất hiện khuẩn ty**

Tỷ lệ nấm mốc <i>Aspergillus oryzae</i> (%)	Thời gian ủ Koji (ngày)		
	1	2	3
0,4	+	++	++++
0,5	+	++	++++
0,6	+	+++	++++
0,7	+	+++	++++
0,8	+	+++	++++

Ghi chú: Dấu “+” thể hiện mức độ xuất hiện khuẩn ty trên khối com

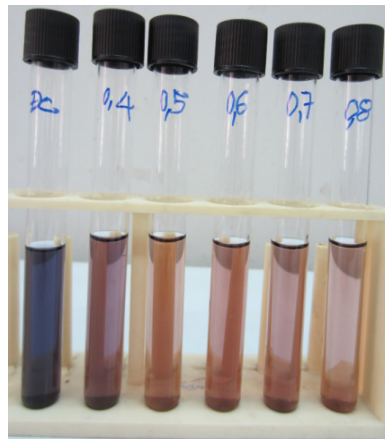
Các chủng nấm mốc của loài *Aspergillus oryzae* đa số tạo ra nhiều enzyme  $\alpha$ -amylase (Nguyễn Đức Lượng và ctv, 2004). Màu sắc của sợi nấm xuất hiện ở ngày thứ 2 và 3 (Hình 1). Hoạt tính enzyme  $\alpha$ -amylase được xác định dựa trên sự giảm cường độ màu xanh từ kết quả thủy phân tinh bột của enzyme amylase với iodine làm chất chỉ thị màu (Hình 2).



Sợi nấm phát triển tốt (ngày thứ 2)

Sợi nấm có màu vàng xanh (ngày thứ 3)

**Hình 1: Sợi nấm phát triển trong quá trình ủ Koji**



**Hình 2: Quá trình thủy phân tinh bột của enzyme  $\alpha$ -amylase với iodine làm chất chỉ thị màu**

**Bảng 2: Ảnh hưởng tỷ lệ nấm mốc *Aspergillus oryzae* và thời gian ủ Koji đến hoạt tính enzyme  $\alpha$ -amylase (đv/g)**

Tỷ lệ nấm mốc (%)	Thời gian ủ Koji (ngày)			Trung bình
	1	2	3	
0,4	2,03	2,41	3,72	2,72 <sup>b</sup>
0,5	2,38	3,91	3,32	3,20 <sup>ab</sup>
0,6	2,47	4,40	3,37	3,41 <sup>a</sup>
0,7	2,65	4,39	3,27	3,44 <sup>a</sup>
0,8	2,56	4,47	3,68	3,57 <sup>a</sup>
<b>Trung bình</b>	2,41 <sup>c</sup>	3,92 <sup>a</sup>	3,47 <sup>b</sup>	3,27

Ghi chú: Các nghiệm thức đi kèm với các chữ cái giống nhau trên cùng một cột hoặc một hàng thì khác biệt không ý nghĩa với mức ý nghĩa 5%

Kết quả thống kê thể hiện ở Bảng 2 cho thấy có sự khác biệt ý nghĩa của hoạt tính enzyme  $\alpha$ -amylase (đv/g) trong thời gian ủ mốc Koji. Hoạt tính enzyme  $\alpha$ -amylase còn thấp (ở tất cả các hàm lượng) khi ủ ngày thứ nhất (2–2,65 đv/g) và tăng lên cao nhất vào ngày thứ 2 (3,92 đv/g). Theo

Nguyễn Đức Lượng (2004), thời gian thu nhận enzyme vào khoảng 30–60 giờ. Quá trình ủ mốc Koji với chủng nấm mốc *Aspergillus oryzae* ở nhiệt độ 30°C thì thời gian tốt nhất 40 đến 45 giờ (Kitamoto, 1991) hoặc có thể ủ mốc Koji với bào tử *Aspergillus oryzae* trong 36 giờ (Nguyễn Hữu Phúc, 1998). Enzyme  $\alpha$ -amylase và  $\beta$ -amylase có

hoạt tính cao nhất từ 30–50 giờ trong quá trình ủ mốc Koji (Yong, 1971, Goel, 1974). Kết quả thống kê cũng cho thấy khi tỷ lệ hàm lượng nấm mốc sử dụng tăng thì hoạt tính enzyme cũng tăng. Hoạt tính enzyme  $\alpha$ -amylase khi phối trộn bột mốc *Aspergillus oryzae* ở tỷ lệ 0,4% khác biệt ý nghĩa so với các tỷ lệ bột mốc *Aspergillus oryzae* sử dụng từ 0,6 đến 0,8%, có lẽ do khi lượng mốc phối trộn nhiều thì sự phân bố đồng đều ở các khối com làm các sợi nấm phát triển tốt. Nghiên cứu đã công bố của Nguyễn Văn Thành (2013) cũng cho thấy khi chủng mốc giống *Aspergillus oryzae* trên đậu nành ở tỷ lệ  $10^6$  bào tử/gck cho hoạt tính enzyme cao hơn so với mật số  $10^4$  và  $10^5$  bào tử/gck.

Thời gian ủ mốc càng tăng khoảng 3 ngày thì hoạt tính enzyme  $\alpha$ -amylase giảm, lúc đó khuẩn ty phát triển dài ở ngày thứ 2 và biến đổi màu sắc không có lợi. Họ nấm *Aspergillus* có hơn 200 loài. Khuẩn ty có vách ngăn, trên đầu tế bào hình thành chai mọc các cuống sinh bào tử dính. Các bào tử xòe ra như bông hoa cúc và mang màu sắc đặc

trung cho từng loài (màu hoa cau, màu xanh lục, màu đen...). Trong số đó mốc vàng *Aspergillus oryzae* hay còn gọi là mốc vàng hoa cau. Khi thời gian ủ kéo dài màu hoa cau càng tăng và bào tử nấm chết dần. Theo Đồng Thị Thanh Thu (2003), thời gian nuôi mốc từ 40–48 giờ thì mốc có màu vàng xanh.

**3.2 Ảnh hưởng tỷ lệ Moto: com bổ sung và nước chan trong quá trình lên men rượu gạo**

**3.2.1 Hàm lượng ethanol và đường sót**

Moto là tên gọi của người Nhật trong giai đoạn sản xuất rượu Sake (Kitamoto *et al.*, 1991) và được thực hiện bằng cách phối trộn com, nấm Koji, nước và men rượu *Saccharomyces cerevisiae*. Ủ Moto là quá trình biến đổi sinh hóa của hệ enzyme và nấm men. Moto được xem là thành phần quan trọng của quá trình lên men rượu Sake. Sau khi com nấm Koji được ủ 2 ngày thì bước kế tiếp là giai đoạn ủ Moto.

**Bảng 3: Hàm lượng ethanol và đường sót của rượu gạo sau quá trình lên men với các tỷ lệ Moto: com: nước chan**

Tỷ lệ Moto: com: nước chan	Hàm lượng ethanol (% v/v)	Hàm lượng đường sót (%)
1: 1: 1	11 <sup>bc</sup>	3,93 <sup>a</sup>
2: 1: 1	12,2 <sup>ab</sup>	1,94 <sup>b</sup>
1: 2: 1	12,6 <sup>a</sup>	2,25 <sup>b</sup>
1: 2: 2	12,58 <sup>a</sup>	2,19 <sup>b</sup>
1: 2: 3	10,2 <sup>c</sup>	2,24 <sup>b</sup>

Ghi chú: Các nghiệm thức đi kèm với các chữ giống nhau trên cùng một cột thì khác biệt không ý nghĩa với mức ý nghĩa 5%

Trong sản xuất rượu, độ cồn là chỉ tiêu quan trọng hàng đầu đối với chất lượng của các sản phẩm rượu trong quá trình lên men. Tuy nhiên, đánh giá chất lượng và hiệu suất của quá trình lên men ngoài hàm lượng ethanol sinh ra, lượng đường sót được xem là chỉ tiêu quan trọng và ảnh hưởng đến chất lượng thành phẩm sau khi kết thúc quá trình lên men. Quá trình lên men rượu thường kết thúc trong khoảng 18 ngày. Kết quả phân tích hàm lượng ethanol và đường sót của rượu gạo “Một bụi đò” sau khi kết thúc quá trình lên men với các tỷ lệ Moto: com: nước chan khác nhau được thể hiện ở Bảng 3.

Kết quả thống kê ở Bảng 3 cho thấy hàm lượng ethanol ở tỷ lệ phối chế Moto: com: nước chan là 1: 2: 3 thấp nhất (10% v/v) và khác biệt ý nghĩa với các tỷ lệ phối chế (2: 1: 1, 1: 2: 1, 1: 2: 2) với mức ý nghĩa 5%. Hàm lượng ethanol cao nhất 12% v/v ở tỷ lệ (1: 2: 1, 1: 2: 2). Nguyên nhân do lượng nước chan chiếm tỷ lệ lớn nên làm loãng dịch lên men, lượng cơ chất lên men ít không đủ để

nấm men hoạt động sinh ethanol. Ngoài ra, chất lượng sản phẩm không đậm đặc, hài hòa (chất lượng kém).

Sau khi kết thúc quá trình lên men, hàm lượng đường sót cao nhất (3,9%) ở mẫu bố trí các tỷ lệ Moto: com: nước chan là 1: 1: 1 và khác biệt ý nghĩa so với các tỷ lệ phối trộn còn lại. Ở tỷ lệ này, enzyme không đủ để thực hiện quá trình thủy phân tinh bột thành đường. Ngoài ra do lượng com phối trộn vào với tỷ lệ thấp nên cơ chất cho quá trình đường hóa ít, không đủ lượng đường cho nấm men phát triển sinh khối để tạo ra ethanol. Lúc đó nấm men sẽ cạnh tranh dinh dưỡng và kết quả là hàm lượng đường sót còn lại cao mặc dù quá trình lên men đã kết thúc.

**3.2.2 Hàm lượng methanol**

Quá trình lên men rượu kết thúc khoảng 18 ngày. Sau đó lọc và phân tích hàm lượng methanol được kết quả ở Bảng 4.

**Bảng 4: Hàm lượng methanol sau quá trình lên men rượu gạo với các tỷ lệ Moto: com: nước chan**

Tỷ lệ Moto: com: nước chan	Hàm lượng methanol (mg/l)
1: 1: 1	54,4 <sup>a</sup>
2: 1: 1	53,4 <sup>a</sup>
1: 2: 1	56,1 <sup>a</sup>
1: 2: 2	51,2 <sup>a</sup>
1: 2: 3	48,5 <sup>a</sup>

Ghi chú: Các nghiệm thức đi kèm với các chữ cái giống nhau trên cùng một cột thì khác biệt không ý nghĩa với mức ý nghĩa 5%

Methanol không phải là một sản phẩm bình thường của quá trình lên men rượu. Kiểm soát hàm lượng methanol trong các loại đồ uống có cồn là đặc biệt quan trọng do khi vào cơ thể người, methanol được chuyển hóa ở gan và chuyển đổi đầu tiên với chất formaldehyde, sau đó là formate (Lamiabile *et al.*, 2004). Methanol cũng được xem là chất độc đối với cơ thể người có thể gây mù hoặc tử vong (Lê Thanh Mai và *ctv.*, 2005). Kết quả phân tích trên sản phẩm rượu gạo sau khi kết thúc quá trình lên men cho thấy hàm lượng methanol không thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với các tỷ lệ Moto: com: nước chan (%) khác nhau, dao động trong khoảng 48,5 đến 56,1 mg/lít cồn 100° (dữ liệu không trình bày đầy đủ ở đây). So với Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với các sản phẩm

đồ uống có cồn (QCVN 6-3:2010/BYT) thì hàm lượng này thấp hơn rất nhiều (Quy chuẩn là hàm lượng methanol (mg/l cồn 100°) không lớn hơn 2,000 mg/l). Hàm lượng methanol hiện diện trong rượu chủ yếu được hình thành từ pectin tồn tại trong nguyên liệu (Hang, 2008). Dưới tác dụng của enzyme methylesterase (PME) có sẵn trong nguyên liệu thì pectin chuyển hóa thành acid pectinic và methanol. Do trong gạo lượng pectin rất thấp nên rượu sau quá trình lên men có hàm lượng methanol thấp.

**3.3 Ảnh hưởng tỷ lệ nếp bổ sung trong quá trình lên men rượu**

**3.3.1 Hàm lượng ethanol và đường sót**

Nguyên liệu sản xuất lên men rượu chủ yếu là nguồn tinh bột. Gạo nếp là nguồn nguyên liệu chứa lượng tinh bột phong phú và đa dạng cho sản xuất rượu truyền thống của Việt Nam. Gạo nếp (Hình 3) dùng làm rượu nếp nguyên thủy là loại gạo nếp hạt ngắn, màu trắng đục. Thành phần tinh bột của gạo nếp chủ yếu là amylopectin rất dễ hồ hóa và kết dính sau khi chín. Một số vùng miền ở Việt nam có các giống nếp đặc sản như nếp than, nếp cái hoa vàng (vùng núi phía Bắc), nếp thái thơm (Phú Tân-An Giang) thì thường được dùng để làm loại thức uống có cồn không qua chưng cất như rượu nếp than, rượu nếp đục. Tuy nhiên, rượu làm từ gạo nếp cho mùi vị thơm, đặc trưng hơn và được đa số người tiêu dùng yêu thích.



**Hình 3: Gạo nếp trước và sau khi hồ hóa**

Kết quả khảo sát cho thấy ở tất cả các tỷ lệ nếp bổ sung (5, 10, 15, 20%) trong giai đoạn ủ Moromi và không có bổ sung com nếp đều cho sản phẩm cuối có hàm lượng ethanol khá cao (12,5% v/v) và đường sót thấp (khoảng 1,22-1,6%) (Bảng 5).

Gạo và gạo nếp là thành phần chính cung cấp tinh bột trong quá trình lên men (hàm lượng glucid khoảng (74-76%). Do đó, bổ sung nếp nhiều hay ít hoặc không bổ sung thì chênh lệch hàm lượng

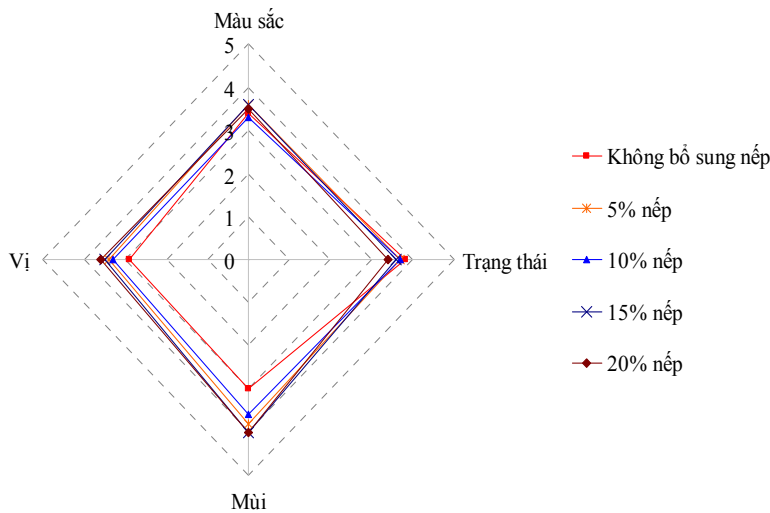
ethanol và đường sót sau khi lên men rượu không thể hiện rõ. Ngoài ra, thành phần hóa học của gạo và gạo nếp chỉ khác nhau giữa lượng amylose và amylopectin. Gạo nếp chứa amylopectin cao hơn gạo nên thường dẻo hơn sau khi nấu chín. Tuy nhiên, bổ sung nếp cải thiện được mùi và vị của rượu. Đánh giá cảm quan cho kết quả cao nhất với rượu gạo bổ sung 15% nếp (Hình 4).

**Bảng 5: Hàm lượng ethanol và đường sót của rượu gạo được bổ sung gạo nếp ở các tỷ lệ khác nhau**

Tỷ lệ gạo nếp bổ sung (%)	Ethanol (% v/v)	Đường sót (%)
0	12,6*±0,29**	1,26±0,7
5	12,3±0,58	1,39±0,1
10	12,5±0,87	1,45±0,04
15	12,3±1,04	1,22±0,21
20	12,4±0,14	1,25±0,26

Ghi chú: \* Giá trị trung bình được lặp lại 3 lần, \*\* Độ lệch chuẩn của giá trị trung bình

Khi bổ sung hay không bổ sung nếp thì màu sắc và trạng thái của rượu không có sự khác biệt rõ. Mùi và vị mẫu không bổ sung gạo nếp có điểm cảm quan thấp nhất (trung bình khoảng 2,95 điểm). Trong khi đó, điểm cảm quan mùi vị của rượu có bổ sung nếp đạt được cao hơn. Mẫu bổ sung nếp 15 và 20% cho điểm cảm quan cao hơn (mùi trung bình 4 điểm và vị khoảng 3,5 điểm). Tuy nhiên không có sự khác biệt rõ về đặc tính cảm quan giữa các mẫu sử dụng hai tỷ lệ nếp bổ sung trong thí nghiệm này.



**Hình 4: Giản đồ mạng nhện (QDA) biểu thị điểm cảm quan rượu gạo “Một bụi đờ” theo tỷ lệ gạo nếp bổ sung**

**3.3.2 Hàm lượng methanol (mg/l cồn 100°)**

Hàm lượng methanol của rượu gạo với các tỷ lệ nếp bổ sung không khác biệt có ý nghĩa (dao động trong khoảng 45–65 mg/l và không vượt quá mức tối đa chấp nhận - nhỏ hơn 2.000 mg/l cồn 100°) theo tiêu chuẩn Việt Nam (QCVN 6–3:2010/BYT) (dữ liệu đầy đủ không trình bày ở đây).

**4 KẾT LUẬN**

Quá trình ủ Koji bằng chủng nấm mốc *Aspergillus oryzae* với các tỷ lệ 0,6 đến 0,8% và thời gian 2 ngày khuẩn ty phát triển tốt nhất và hoạt tính enzyme α-amylase cao hơn khoảng 3–4 đv/g, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình lên men rượu gạo “Một bụi đờ” đạt chất lượng cao và hiệu suất thu hồi tốt.

Tỷ lệ phối trộn Moto: cơm: nước chan là 1: 2: 1 và 1: 2: 2 cho rượu có hiệu suất thu hồi cao và

lượng đường sót thấp. Hàm lượng ethanol ở hai tỷ lệ trên trung bình khoảng 12,5% v/v và lượng đường sót là 2,3%.

Bổ sung nếp trong quy trình sản xuất rượu gạo “Một bụi đờ” đã cải thiện được chất lượng, đặc biệt là mùi vị của sản phẩm. Hàm lượng methanol trong rượu thấp hơn rất nhiều so với Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với các sản phẩm đồ uống có cồn (QCVN 6 – 3: 2010/BYT), trung bình khoảng 48–65 mg/l.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Đồng Thị Thanh Thu, 2003. Sinh học ứng dụng. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia, Tp. Hồ Chí Minh. 270 trang.
2. Goel, S. K., 1974. Studies on microbiological and biochemical aspects of

- soy sauce fermentation, Ph. D. Thesis, University of Strathclyde.
3. Hang Y. D., 2008. Limiting the formation of methanol in wine and brandy. Food Science & Technology Cornell University.
  4. Huang, H. T., 2000. Science and civilisation in China. Volume 6. Biology and biological technology. Part V: Fermentations and Food Science.
  5. Kitamoto, K., Oda, K., Gomi, K. and Takaihashi, K. 1991. Genetic engineering of Sake yeast producing no urea by successive disruption of arginase gene. Applied and Environmental Microbiology. p: 301 – 306.
  6. Lamiable, D., Hoizey, G., Marty, H., Vistelle, R., 2004. Acute methanol intoxication. EMC-Toxicol. Pathol, 1:7–12.
  7. Lương Đức Phẩm, 2002. Vi sinh học và an toàn vệ sinh thực phẩm. Nhà xuất bản Nông Nghiệp, Hà Nội. 423 trang.
  8. Lương Đức Phẩm, 2005. Nấm men công nghiệp. Nhà xuất bản Khoa học Kỹ thuật, Hà Nội. 331 trang.
  9. Lê Thanh Mai, Nguyễn Thị Hiền, Phạm Thu Thủy, 2009. Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội. 331 trang.
  10. Nguyễn Đức lượng, 2004. Công nghệ enzyme. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia, Thành phố Hồ Chí Minh. 534 trang.
  11. Nguyễn Hữu Phúc, 1998. Các phương pháp lên men thực phẩm truyền thống ở Việt Nam và các nước trong vùng, Nhà xuất bản Nông nghiệp, Thành phố Hồ Chí Minh.
  12. Nguyễn Minh Thủy, Nguyễn Văn Thành, Bùi Thị Thúy Ngân và Nguyễn Phú Cường, 2011. Tuyển chọn môi trường dinh dưỡng và định danh nấm men phân lập từ nước thối nổi thu hoạch tại Tịnh Biên, An Giang. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, Vol. 19 a, trang 166–175. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ. ISSN 1859-2333.
  13. Nguyễn Văn Thành, 2013. Ứng dụng vi sinh vật và enzyme protease để cải thiện chất lượng nước tương lên men truyền thống, Tạp chí Khoa học 26 (2013): 205 – 212, Trường Đại học Cần Thơ.
  14. Yong, F. M., 1971. Studies on soy sauce fermentation, M. Sc. Thesis, University of Strathclyde, Scotland.