

TÁC ĐỘNG CỦA 8 VỊ THUỐC BẮC ĐẾN TÍNH CHẤT ĐƯỜNG HÓA CỦA BỘT NẤM MỐC

NGUYỄN THỊ HẰNG*, BÙI HỮU THUẬN**

Tóm tắt

Nấm mốc có khả năng đường hóa tốt nhất được tuyển chọn từ các loại men ở thị trường tỉnh Vĩnh Long. Dòng nấm khảo sát có khả năng thủy phân tinh bột của cơm trong quá trình lên men rượu.

Tác động của các vị thuốc Bắc nhục đầu khấu, tế tân, cam thảo, thảo quả, tiêu hồi, bạch hà, bạch truật, nhục quế trên hoạt động thủy phân tinh bột của nấm mốc được sàng lọc theo phương pháp hoạch định thí nghiệm Plackett-Burman.

Kết quả cho thấy tế tân có ảnh hưởng tốt hơn các loại thuốc bắc khác về gia tăng khả năng đường hóa của tinh bột của bột nấm mốc. Khảo sát ảnh hưởng của các mức bổ sung tế tân vào bột nấm mốc cho thấy mức bổ sung 4,5 g tế tân vào 10 g bột nấm mốc cho hoạt tính đường hóa của nấm mốc mạnh nhất.

Từ khóa: Nấm mốc, thủy phân tinh bột, đường hóa, men rượu.

Abstract

The best mold variety was selected from alcohol fermentation starters in Vinh Long market. The mold could hydrolyse rice starch during alcohol fermentation.

The effect of the Northern medical Herbs “nhuc dau khau, te tan, cam thao, thao qua, tieu hoi, bac ha, bach truat, nhuc que” on starch hydrolysis was evaluated by a Plackett-Burman experimentation design.

The result showed that the te tan affected better than others on starch hydrolysis of the starter. Study on effect of te tan supply level showed that the treatment 4,5 g te tan/ 10 g rice gave strongest saccharification activity.

Keyword: mold, starch hydrolyse, saccharification, alcohol starter.

1. GIỚI THIỆU

Đồng bằng sông Cửu Long nhiều loại rượu gạo được sản xuất. Rượu gạo nếp, cơm

rượu đã trở thành các đặc sản làng quê. Sản xuất rượu từ gạo, nếp trở thành nghề truyền thống, một đặc sản của nhiều vùng miền.

Trong quá trình lên men rượu, tinh bột hồ hóa của cơm sẽ chuyển đổi thành các dextrin, các loại đường maltose, glucose... tạo vị ngon

* Sinh viên Trường Đại học Cửu Long

** Tiến sĩ, Trường Đại học Cửu Long

ngọt cho sản phẩm. Song song với quá trình này, các đường được lên men yếm khi sinh ra rượu. Các sản phẩm tạo thành của quá trình lên men làm cho sản phẩm hương vị đặc biệt (Dung *et al.*, 2006; Dung and Phong, 2011).

Sản phẩm cơm rượu vừa có phần cái, vừa có phần nước vị cay ngọt thơm tạo thành hương vị rất riêng của sản phẩm. Hai loại vi sinh vật chính yếu mang đến lợi ích của quá trình này là nấm mốc và nấm men. Trong đó nấm mốc có vai trò quan trọng tạo thành dịch ngọt và nấm men tạo thành vị rượu đóng góp trong hương vị sản phẩm (Dung *et al.*, 2006; Dung and Phong, 2011).

Trong các loại men rượu truyền thống mà nhân dân sử dụng hiện nay, ba nhóm vi sinh vật luôn hiện diện và tác động nhau trong hoạt động lên men rượu là nấm mốc, nấm men và vi khuẩn (Nguyễn Đức Lượng, 2004; Trần Thị Thanh, 2001). Nấm mốc giữ vai trò quan trọng trong quá trình thủy phân tinh bột thành đường và nấm men chuyển hóa đường thành rượu, do đó chất lượng của sản phẩm phụ thuộc vào hoạt tính lên men của các vi sinh vật này (Nguyễn Đức Lượng, 2004; Trần Thị Thanh, 2001).

Nấm mốc là tác nhân mở đầu cho quá trình lên men thể hiện bằng cách sản sinh ra các enzyme như α - amylase, glucoamylase ... phân giải tinh bột thành dextrin, maltose và glucose tiếp theo đó, nấm men lên men yếm khí sinh ra rượu. Quá trình thủy phân này còn phá vỡ liên kết gel do tinh bột hồ hóa khi nấu cơm làm cho cơm trở nên trạng thái tươm nước ngọt, cay ngon miệng.

Dân gian dùng bánh men thuốc Bắc để làm cơm rượu. Bánh men là nguồn cung cấp vi sinh vật lên men có lợi cũng có vi sinh vật

gây hại. Ở bánh men này một số cây cỏ được sử dụng để hỗ trợ quá trình lên men do vi sinh vật có lợi, làm được sản phẩm tốt (nhiều nước, ngọt, thơm...) và tạo thêm hương vị riêng.

Nhà sản xuất sử dụng rất nhiều loại thuốc Bắc trong sản xuất bánh men dựa theo kinh nghiệm. Tuy nhiên vai trò của các loại thuốc bắc này trong quá trình lên men chưa được biết một cách khoa học (Nguyễn Văn Phước, 1979).

Khảo sát sơ bộ này đánh giá vai trò của 8 loại thuốc bắc phổ biến trong nhiều công thức làm bánh men rượu của dân gian là nhục đậu khấu, bạch truật, nhục quế, thảo quả, cam thảo, bạc hà, té tân và tiểu hồi để tìm hiểu loại vi thuốc nào mang đến lợi ích tốt nhất cho sản phẩm này theo quan điểm tạo ra dịch ngọt của sản phẩm.

Sử dụng giống vi sinh vật thuần chủng có hoạt tính cao là việc làm khoa học cần thiết để cải tiến, tăng phẩm chất và hiệu quả của nghề sản xuất rượu gạo. Vi sinh vật được sử dụng trong nghiên cứu này đã được phân lập tuyển chọn từ men rượu Hải Quang Anh được mua trên thị trường men Vĩnh Long dựa trên năng lực phát triển và đường hóa tinh bột gạo.

Phương pháp hoạch định Plackett-Burman được sử dụng như phương pháp thí nghiệm để sàng lọc nhanh tìm ra các loại thuốc Bắc thật sự làm gia tăng lợi ích, kích thích nấm mốc phát triển tốt và tạo được nhiều dịch ngọt cho sản phẩm (Sirilux and Mouthung, 2011).

2. Phương tiện và phương pháp

2.1 Vật liệu

Sử dụng 1 loại nấm mốc thuần chủng được phân lập và tuyển chọn dựa trên đánh giá tốt nhất cho hoạt động đường hóa tinh bột gạo.

Tám loại thuốc bắc được khảo sát là nhục đậu khấu, bạch truật, nhục quế, thảo quả, cam thảo, bạc hà, tế tân và tiêu hồi được mua ở tiệm thuốc bắc.

2.2 Thiết bị

Các thiết bị được sử dụng trong nghiên cứu gồm có

- Tủ ủ vi sinh, MIR-262, JAPAN
- Máy ly tâm, HETTICH-ZENTRIFLIGEN, 4810, GERMANY
- pH kế $\pm 0,1$ pH, MARTI NIMI 151, ROMANIA
- Máy xác định độ ẩm nhanh dùng đèn hồng ngoại ± 4 %, AND MX-50, JAPAN
- Tủ sấy AAH15035K, KOREA
- Chiết quang kế đo đường ± 1 Bx, ATAGO, JAPAN

2.3 Phương pháp

2.3.1 Phương pháp làm bột nấm mốc

Gạo (20g) được rửa 1 lần nước rồi ngâm 3-4 giờ ở nhiệt độ thường. Sau đó gạo được vớt ra để ráo nước, tiếp theo gạo được nghiền mịn bằng máy xay sinh tố. Gạo được phối trộn với thuốc bắc theo tỉ lệ xác định theo các nghiệm thức bên trong các bình tam giác 100ml. Độ ẩm môi trường nuôi cấy được điều chỉnh về 55-60% theo cách tính toán để bổ sung nước. Khối gạo trong các bình tam giác được nút bông gòn không thấm nước rồi mang đi tiệt trùng ở nhiệt độ 120 °C, 15 phút. Sau khi tiệt trùng, các bình tam giác được để nguội 35-40°C rồi cấy huyền phù bào tử nấm mốc giống vào. Mật số bào tử nấm mốc chủng vào cỡ 10^5 cfu/g bột. Khối bột được ủ ở tủ giữ nhiệt 30°C, 3 ngày để phát triển nấm mốc. Khối mốc sau khi ủ được đem sấy ở nhiệt độ ($45 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$)

và sấy đến độ ẩm xác định (10 %). Sau đó khối bột được xay nhỏ thành dạng bột để sử dụng lên men. Các qui trình làm mốc giống chỉ khác ở lượng thuốc bắc theo các nghiệm thức thực nghiệm.

2.3.2 Thí nghiệm lên men đường hóa

Khảo sát khả năng đường hóa của bột mốc bằng cách cho 20 g gạo và 24 ml nước cất vào bình tam giác 100 ml, đậy bình tam giác bằng nút gòn không thấm nước. Giữ ngâm gạo trong thời gian 3-4 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó bình tam giác được hấp ở nhiệt độ 100 °C trong 1 giờ. Khối cơm chín được làm nguội đến nhiệt độ $35 \div 40 \text{ °C}$ thích hợp cho việc trộn mốc. Cho 2 g bột mốc vào khối cơm, trộn đều, để khối có khoảng trống giữa các hạt cơm. Cơm đã trộn mốc được ủ ở nhiệt độ 30°C trong 3 ngày để mốc phát triển và lên men. Dịch đường sinh ra được thu nhận bằng cách ly tâm khối cơm ở máy ly tâm 7000 vòng/phút, trong 20 phút. Dịch ly tâm được đo thể tích, đo độ Brix, phân tích đường khử.

2.3.3 Phương pháp đo lường, phân tích

- Thể tích dịch ly tâm thu được bằng cách cho khối cơm sau khi ủ qua máy ly tâm tốc độ 7000 vòng/phút trong 20 phút, dịch rỉ sinh ra được xác định bằng ống đong 50 ml.

- Độ Brix của dịch ly tâm được xác định bằng chiết quang kế cầm tay ($0 \approx 32 \text{ °Brix}$) ở nhiệt độ phòng.

- Hàm lượng đường khử của dịch rỉ tạo thành được xác định bằng phương pháp thể tích định phân đường khử Lane- Eynon (Lê Thanh Mai và ctv., 2009)

- Lượng đường khử sinh ra trong dịch ly tâm được xác định bằng tích số thể tích dịch rỉ \times hàm lượng đường khử của dịch rỉ.

2.3.4 Hoạch định thí nghiệm

Bố trí thí nghiệm sàng lọc tác động của 8

vị thuốc Bắc theo hoạch định Plackett-Burman, hoàn toàn ngẫu nhiên với 8 yếu tố là 8 loại thuốc Bắc và 2 lần lặp lại.

Bảng 1: Bố trí thí nghiệm Plackett-Burman

Lặp lại	Nhục đầu khấu (g)	Bạch truật (g)	Nhục quế (g)	Thảo quả (g)	Cam thảo (g)	Bạc hà (g)	Tế tân (g)	Tiêu hồi (g)
1	3	0	2	0	0	0	3	3
1	0	2	2	3	0	2	3	0
1	3	0	2	3	0	2	0	0
1	0	2	2	0	3	0	0	0
1	0	0	0	3	3	2	0	3
1	3	2	0	3	3	0	3	0
1	3	2	2	0	3	2	0	3
1	3	2	0	3	0	0	0	3
1	0	0	2	3	3	0	3	3
1	3	0	0	0	3	2	3	0
1	0	2	0	0	0	2	3	3
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	3	0	2	0	0	0	3	3
2	0	2	2	3	0	2	3	0
2	3	0	2	3	0	2	0	0
2	0	2	2	0	3	0	0	0
2	0	0	0	3	3	2	0	3
2	3	2	0	3	3	0	3	0
2	3	2	2	0	3	2	0	3
2	3	2	0	3	0	0	0	3
2	0	0	2	3	3	0	3	3
2	3	0	0	0	3	2	3	0
2	0	2	0	0	0	2	3	3
2	0	0	0	0	0	0	0	0

Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của hàm lượng thuốc bắc chọn lựa trong bột nấm được hoạch định theo phương pháp bố trí một nhân tố, 5 mức, hoàn toàn ngẫu nhiên, ba lần lặp lại.

Thống kê và phân tích dữ liệu

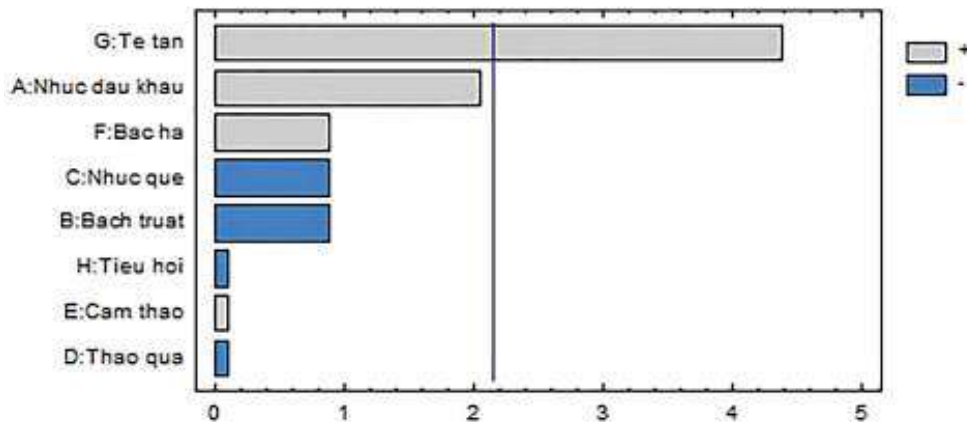
Số liệu kết quả thí nghiệm được phân tích thống kê, đánh giá sự khác biệt kết quả trung bình các mức nghiên cứu của yếu tố bằng chương trình Statgraphics Centurion XV.

3. Kết quả và thảo luận

Ảnh hưởng của 8 vị thuốc bắc đến khả năng đường hóa tinh bột của bột mốc.

Kết quả thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của 8 vị thuốc bắc đến thể tích dịch ly tâm ra trong quá trình lên men, đường hóa tinh bột của bột mốc được thể hiện trong giản đồ Pareto chuẩn hóa.

Kết quả phân tích thống kê ở bảng 3.1 cho thấy 2 lần lặp lại cho kết quả không khác. Đồ thị ở hình 1 cho thấy các vị thuốc bắc tế tân, nhục đậu khấu, bạc hà làm gia tăng dịch đường so với đối chứng, các loại thuốc bắc còn lại tác dụng làm giảm lượng dịch. Tuy nhiên trong các khuynh hướng này chỉ có tế tân làm gia tăng dịch ri khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất rất có ý nghĩa.



Hình 3.1 : Hiệu ứng chuẩn hóa của 8 loại thuốc bắc đến thể tích dịch ri

Bảng 3.1: Bảng Anova phân tích biến lượng của dịch ly tâm

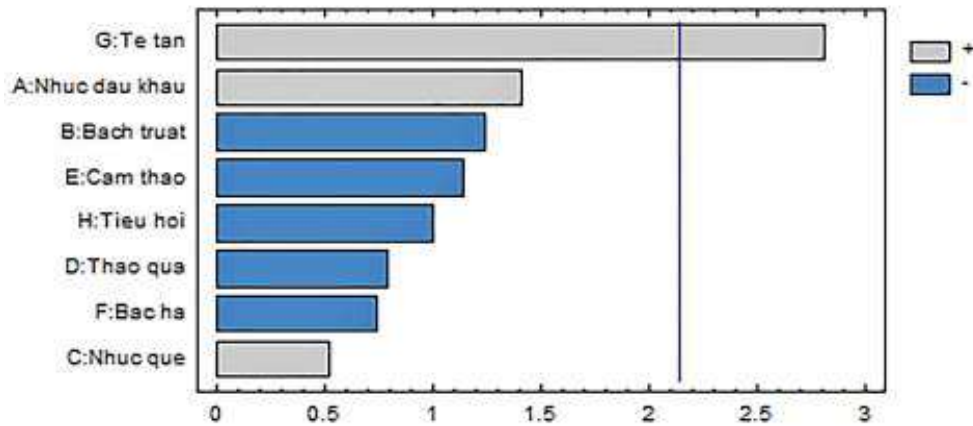
Nguồn tác động	Tổng bình phương	Df	Trung bình bình phương	Giá trị F	Giá trị P
A:Nhục đậu khấu	459375	1	4,59375	4,18	0,0603
B:Bạch truật	0,84375	1	0,84375	0,77	0,3958
C:Nhục quế	0,84375	1	0,84375	0,77	0,3958
D:Thảo quả	0,0104167	1	0,0104167	0,01	0,9238
E:Cam thảo	0,0104167	1	0,0104167	0,01	0,9238
F:Bạc hà	0,84375	1	0,84375	0,77	0,3958
G:Tế tân	21,0937	1	21,0937	19,18	0,0006
H:Tiểu hồi	0,0104167	1	0,0104167	0,01	0,9238
Khối	0,84375	1	0,84375	0,77	0,3958
Tổng sai số	15,3958	14	1,0997		
Tổng (điều chỉnh.)	44,4896	23			

Tổng chất khô hòa tan trong dịch ly tâm

Bảng 3.2 cho thấy kết quả phân tích biến lượng. Theo kết quả này hai lần lặp lại không khác biệt ở mức 5% và tế tân tạo được khác biệt ở mức xác suất thống kê 0,014.

Kết quả phân tích thống kê cho thấy lượng tổng chất khô hòa tan trong dịch ly tâm

do bổ sung Tế tân, nhục đậu khấu và nhục quế có khuynh hướng gia tăng tổng hàm lượng chất khô hòa tan (Hình 3.2). Tuy nhiên chỉ có tế tân tạo được khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các vị thuốc bắc khác. Các vị thuốc bắc còn lại cam thảo, thảo quả, bạch truật, tiêu hồi, bạc hà hình như không làm tăng hàm lượng đường khử của nấm mốc.



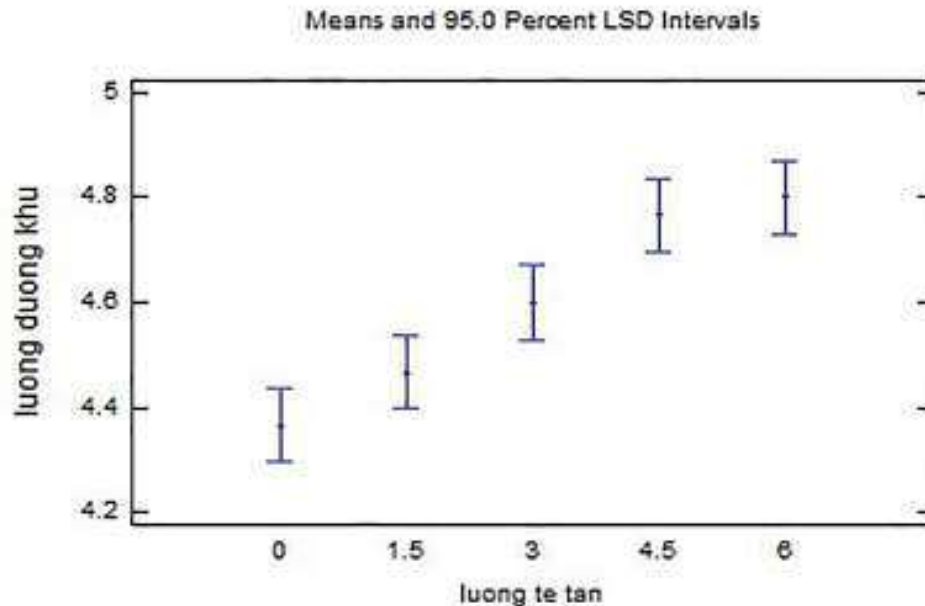
Hình 3.2: Ảnh hưởng của 8 vị thuốc bắc đến tổng chất khô hòa tan

Bảng 3.2 : Phân tích biến lượng của các vị thuốc bắc đến lượng chất khô hòa tan

Nguồn tác động	A:Nhục đậu khấu	Tổng bình phương	Df	Trung bình bình phương	Giá trị F	Giá trị P
A:Nhục đậu khấu	B:Bạch truật	0,129067	1	0,129067	1,99	0,1798
B:Bạch truật	C:Nhục quế	0,100104	1	0,100104	1,55	0,2341
C:Nhục quế	D:Thảo quả	0,0176042	1	0,0176042	0,27	0,6102
D:Thảo quả	E:Cam thảo	0,0408375	1	0,0408375	0,63	0,4403
E:Cam thảo	F:Bạc hà	0,0840167	1	0,0840167	1,30	0,2738
F:Bạc hà	G:Tế tân	0,0352667	1	0,0352667	0,54	0,4727
G:Tế tân	H:Tiêu hồi	0,510417	1	0,510417	7,88	0,0140
H:Tiêu hồi	Khôi	0,0651042	1	0,0651042	1,01	0,3330
Khôi	Tổng sai số	0,237208	1	0,237208	3,66	0,0763
Tổng sai số	Tổng (điều chỉnh.)	0,906456	14	0,0647468		
Tổng (điều chỉnh.)	A:Nhục đậu khấu	2,12608	23			

Khảo sát hàm lượng của thuốc bắc đến hoạt lực đường hóa của bột mốc.

Kết quả thí nghiệm về ảnh hưởng của hàm lượng tế tân được sử dụng trong làm bột nấm mốc được trình bày trong hình 3.3.



Hình 3.3: Ảnh hưởng của hàm lượng tế tân đến lượng đường khử trong dịch ri

Kết quả cho thấy khi gia tăng hàm lượng tế tân khi sản xuất bột mốc, hàm lượng đường khử trong dịch ly tâm gia tăng đáng kể như trong đồ thị. Ở mức 4,5 g tế tân trong 10 g bột mốc, hàm lượng đường khử đạt cao nhất. Nghiệm thức gia tăng thêm tế tân mức 6 g không làm gia tăng thêm lượng đường khử. Tổng lượng đường khử đạt được khi lên men 20 g gạo là 4,8 g trong 20 ml dịch ly tâm tạo nên độ ngọt của sản phẩm.

4. Kết luận

Khảo sát hoạt tính đường hóa của nấm mốc từ các vị thuốc bắc theo phương pháp hoạch định thí nghiệm Plackett-Burman cho thấy trong số 8 vị thuốc bắc chỉ có tế tân ảnh hưởng tốt có ý nghĩa thống kê so với các loại thuốc bắc khác về mặt tăng khả năng thủy phân sinh dịch đường và tạo vị ngọt.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng hàm lượng tế tân khi bổ sung 1,5 g, 3 g, 4,5 g và 6 g vào 10 g bột nấm mốc cho thấy khi bổ sung mức 4,5 g tế tân, hoạt tính đường hóa của bột nấm cao nhất. Khi dùng bột nấm này để lên men, 20 g gạo có thể sinh ra 20,8 ml dịch ly tâm có hàm lượng đường khử trong dịch 4,8 g.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Dung N.T.P, F.M. Rombouts, and M.J.R. Nout, 2006. "Functionality of selected strains of moulds and yeasts from Vietnamese rice wine starters". *Food Microbiology* 23, pp.331-340.

Dung, N.T.P. and Phong, H.X., 2011. "Application prospects for the innovation of defined fungal starter in rice wine fermentation". *Journal of Life Sciences* 5 (4), pp. 255-263.

Lượng Nguyễn Đức (2004), *Công nghệ vi*

sinh vật - tập 1, NXB Đại học Kỹ thuật TP. Hồ Chí Minh.

Mai Lê Thanh, Nguyễn Thị Hiền, Phạm Thu Thủy, Nguyễn Thanh Hằng, Lê Thị Lan Chi (2009), *Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men*, NXB Khoa học và Kỹ thuật.

Phước Nguyễn Văn (1979), *Công nghệ sản xuất cồn*, Bộ môn cung cấp thực phẩm, Hà Nội.

Sirilux Chaijamrus and Buncha Mouthung, “Selection of Thai starter components for ethanol production utilizing malted rice from waste paddy”, *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 33 (2), 163-170, Mar. - Apr. 2011

Thanh Trần Thị (2001), *Công nghệ vi sinh*, NXB Giáo dục, TP. Hồ Chí Minh.

Ngày nhận bài: 9/1/2020

Ngày gửi phản biện: 30/1/2020