

TÁC ĐỘNG ENZYME PECTINASE ĐẾN KHẢ NĂNG TRÍCH LY DỊCH QUẢ VÀ CÁC ĐIỀU KIỆN LÊN MEN ĐẾN CHẤT LƯỢNG RƯỢU VANG XOÀI SAU THỜI GIAN LÊN MEN CHÍNH

Nguyễn Nhật Minh Phương¹, Chế Văn Hoàng¹, Lý Nguyễn Bình¹ và Châu Trần Diễm Ái²

ABSTRACT

Applying a commercial enzyme (pectinase) to increase juice yield and investigating optimal fermentation conditions (yeast concentration, pH, temperature) for mango wine production were addressed to this research. A pectinase preparation was used at a level of 0.15% to facilitate the extraction of mango juice. The incubation time was 20 minute at pH 4.5 and 40°C. Results indicated that the use of enzyme was beneficial as it gave the highest juice yield (over 75 ml/100g). Mango juice was best fermented at pH 4.5 and temperature of 20°C for 12 days with a dilution factor of 2, using 0.3g/l of yeast. The ethanol concentration ranging from 10 to 11% was obtained.

Keywords: *enzyme pectinase, mango (Mangifera indica), pectinase treatment, wine production, fermentation*

Title: *Effect of pectinase enzyme treatment to juice yield and fermentation conditions to the quality of mango wine (Mangifera indica)*

TÓM TẮT

Khảo sát khả năng thu hồi dịch quả nhằm gia tăng hiệu suất lên men trong sản xuất rượu vang từ nguyên liệu xoài cát chu (Mangifera indica) được quan tâm trong nghiên cứu. Chế phẩm enzyme pectinase thể hiện hoạt tính tối ưu ở pH 4,5 và nhiệt độ 40°C. Với nồng độ enzyme pectinase bổ sung vào dịch quả là 0,15% và thời gian thủy phân 20 phút, lượng dịch quả thu hồi là cao nhất trong điều kiện khảo sát (75ml/100g). Trong quá trình lên men, tỉ lệ pha loãng giữa dịch quả so với nước thích hợp nhất là 1:1 và hàm lượng nấm men bổ sung tối ưu là 0,3g/l. Quá trình lên men cần được tiến hành ở nhiệt độ khoảng 20°C, pH 4,5 trong thời gian 12 ngày, hàm lượng ethanol thu được khoảng 10-11%.

Từ khóa: *enzyme pectinase, xoài cát chu, xử lý pectinase, sản xuất rượu vang, lên men*

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Xoài là một loại trái cây giàu dinh dưỡng và có giá trị kinh tế cao, được trồng phổ biến ở vùng đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL), Việt Nam. Bên cạnh hình thức sử dụng ở dạng tươi, xoài còn được chế biến thành các sản phẩm giá trị gia tăng như: mứt xoài, nước xoài, xoài sấy... Việc nâng cao giá trị của trái xoài để mang lại hiệu quả kinh tế cao bằng việc đa dạng hóa các sản phẩm là điều cần được quan tâm. Bên cạnh các sản phẩm rượu vang nho, rượu vang táo, rượu vang dâu... thì rượu vang được sản xuất từ trái xoài còn rất ít phổ biến ở Việt Nam. Hầu như việc nghiên cứu để sản xuất rượu vang xoài chưa thấy được công bố bởi các tạp chí

¹ Khoa Nông nghiệp & SHUD, Trường Đại học Cần Thơ

² Bộ môn Công nghệ Thực phẩm, Khoa Kỹ thuật Hóa học, Trường Đại học Bách Khoa TP HCM

khoa học trong nước. Các kết quả khoa học công bố gần đây trên các tạp chí khoa học ngoài nước chủ yếu tập trung vào mảng nghiên cứu ảnh hưởng điều kiện lên men đến chất lượng rượu vang xoài (Reddy, 2005), nghiên cứu các hợp chất thơm trong rượu vang xoài (Pino, 2010)... đã góp phần tạo nên hướng nghiên cứu sản phẩm rượu vang xoài trong nước.

Việc trích ly dịch quả trong quá trình sản xuất rượu vang nói chung là vấn đề được quan tâm rất nhiều vì nó ảnh hưởng đến hiệu suất và chất lượng của sản phẩm sau khi lên men. Có nhiều nghiên cứu sử dụng enzyme pectinase phục vụ cho mục đích này. Enzyme pectinase thuộc nhóm enzyme thủy phân. Nó sử dụng cơ chất là pectin và sản phẩm sau khi thủy phân là acid pectic và methanol. Enzyme pectinase được sử dụng nhiều trong công nghiệp chế biến trái cây nhằm mục đích gia tăng hiệu suất thu hồi dịch quả, cải thiện chất lượng dịch quả và có tác dụng làm trong (Nilay Demir *et al*, 2000). Salmah Yusof (1994) cho rằng sử dụng enzyme pectinase để trích ly dịch quả của măng cầu xiêm làm hiệu suất trích ly gia tăng 41%. Cùng với nhiều nghiên cứu khác về khả năng ly trích của enzyme pectinase trên các loại quả khác như chuối (Lê Mỹ Hồng, 2005), chà là (Al-Hooti, 2002),... khả năng ly trích dịch xoài từ xoài là rất cao.

Nhằm cải thiện chất lượng rượu vang xoài thông qua việc khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu tạo ra sản phẩm có chất lượng cao và an toàn, mục tiêu của nghiên cứu này là (i) khảo sát khả năng sử dụng enzyme pectinase trong công đoạn thu hồi dịch quả qua quá trình thủy phân dịch purê xoài tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình lên men; đồng thời (ii) khảo sát các yếu tố chính ảnh hưởng đến quá trình lên men và tìm ra những thông số tối ưu cho quá trình này nhằm đạt hiệu suất lên men cao, hạn chế sự hình thành các sản phẩm phụ không có lợi trong quá trình lên men.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP THÍ NGHIỆM

2.1 Phương tiện thí nghiệm

Xoài Cát chu chín thương mại được thu hoạch tại huyện Cao Lãnh, tỉnh Đồng Tháp, vận chuyển về phòng thí nghiệm Bộ môn Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ, tách lấy purê và trữ đông (-80°C) dành cho các thí nghiệm. Chế phẩm enzyme pectinase (Pectinex Ultra SP-L, Thụy Sĩ), do giai đoạn đầu chưa có nấm men phân lập từ rượu xoài nên sử dụng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* (nấm men bánh mì, Pháp).

2.2 Phương pháp thí nghiệm

Mỗi thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Số liệu thu thập được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và Statgraphics Centurion 15.2.11.0.

Các thí nghiệm lần lượt được bố trí và tiến hành như sau:

Thí nghiệm 1: Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ và pH lên hoạt tính của enzyme pectinase đến hiệu suất thu hồi dịch quả trên nguyên liệu xoài.

Lấy purê xoài cấp đông đem đi ra rã đông ở nhiệt độ phòng, pha loãng purê xoài với nước cất theo tỷ lệ 1:1 (50g purê xoài và 50g nước). Chính pH của dịch quả từ 4,0 đến 5,5 bằng acid citric và Na₂CO₃, bổ sung 0,1% enzyme pectinase và đem ủ

ở các khoảng nhiệt độ: 30; 40; 50 và 60°C trong thời gian 120 phút. Sau đó vô hoạt enzyme pectinase ở 89°C và trong thời gian 13 phút. Tiến hành lọc và xác định thể tích thu được.

Thí nghiệm 2: Khảo sát nồng độ enzyme pectinase và thời gian thủy phân đến hiệu suất thu hồi dịch quả.

Chuẩn bị mẫu giống thí nghiệm trên và lấy thông số nhiệt độ, pH tối ưu của enzyme pectinase từ thí nghiệm 1. Sau đó bổ sung enzyme pectinase theo các tỷ lệ 0,1, 0,15, 0,2 và 0,25% và theo dõi hoạt tính của pectinase trong khoảng thời gian từ 10-40 phút. Vô hoạt enzyme pectinase ở 85-90°C trong thời gian 10 phút (Saimah Yusof, 1994). Tiến hành lọc và xác định thể tích thu được.

Thí nghiệm 3: Khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ pha loãng dịch quả với nước và hàm lượng nấm men bổ sung đến chất lượng rượu vang xoài sau khi kết thúc quá trình lên men.

Cân purê xoài đã được rửa đông (500g/mẫu) và pha loãng theo các tỉ lệ 1:1, 1:2, 1:3 và 1:4 cho vào các bình lên men khác nhau. Mẫu đối chứng không pha loãng không được khảo sát vì purê rất đậm đặc không thu được dịch quả cho quá trình lên men. Điều chỉnh pH của dịch quả sau khi pha loãng về pH thích hợp cho hoạt động thủy phân của enzyme pectinase. Bổ sung enzyme pectinase vào các bình lên men, khuấy đều và đặt vào waterbath (bể điều nhiệt) để điều chỉnh nhiệt độ về nhiệt độ thích hợp cho hoạt động của pectinase trong khoảng thời gian thích hợp (kết quả tối ưu từ thí nghiệm 2). Sau khi hoàn tất quá trình thủy phân, bổ sung nấm men đã hoạt hóa với các tỉ lệ khác nhau từ 0,1 đến 0,4% vào, đậy kín bình lên men và đặt ở nhiệt độ phòng.

Thí nghiệm 4: Khảo sát ảnh hưởng của điều kiện lên men đến chất lượng rượu vang xoài.

Thí nghiệm được tiến hành dựa trên các thông số tối ưu từ các thí nghiệm trước. Tuy nhiên trước khi bổ sung nấm men, tiến hành điều chỉnh pH dịch quả từ 4,0 đến 5,0. Sau đó đặt các bình lên men ở điều kiện nhiệt độ phòng và nhiệt độ 20°C.

2.3 Các chỉ tiêu theo dõi và phương pháp phân tích

Các chỉ tiêu theo dõi cho các thí nghiệm và phương pháp đánh giá các chỉ tiêu được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1: Các chỉ tiêu theo dõi và phương pháp phân tích

| Stt | Chỉ tiêu | Phương pháp |
|-----|-------------------------------------|---|
| 1 | Hàm lượng dịch quả thu hồi, ml/100g | Đo thể tích |
| 2 | Hàm lượng ethanol, v/v | Chung cất ¹ (Lê Thanh Mai, 2007) |
| 3 | Hàm lượng đường sót, mg/100ml | Phương pháp Bertrand |
| 4 | Hàm lượng methanol, g/L | Đo độ hấp thụ ở bước sóng 575nm (William Horwitz, 2000) |

¹ Thiết bị chung cất: bộ chung cất tự lắp ráp tại Bộ môn Công nghệ Thực phẩm, Khoa Nông nghiệp & SHUD, Trường Đại học Cần Thơ

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng của nhiệt độ, pH lên hoạt tính của enzyme pectinase đến hiệu suất thu hồi dịch quả trên nguyên liệu xoài

Ảnh hưởng của nhiệt độ và pH đến khả năng xử lý purê xoài bằng enzyme pectinase thông qua hàm lượng dịch quả thu nhận được trình bày ở bảng 2.

Kết quả thống kê cho thấy hoạt động thủy phân của enzyme pectinase ở 40 và 50°C cho lượng dịch quả cao nhất. Khi tăng hoặc giảm nhiệt độ thủy phân thì lượng dịch quả thu hồi giảm thể hiện qua lượng dịch quả thu hồi ở 30 và 60°C. Như vậy, ở nhiệt độ 40 và 50°C enzyme hoạt động tốt và cho lượng dịch quả thu hồi cao nhất.

Bảng 2: Lượng dịch quả thu được sau quá trình xử lý purê xoài bằng enzyme pectinase ở các nhiệt độ và pH khác nhau

| Nhiệt độ (°C) | pH | Lượng dịch quả thu được (ml/100g) |
|---------------|-----|-----------------------------------|
| Phòng | 4,0 | 71,67 ^{ef} |
| | 4,5 | 73,33 ^{cd} |
| | 5,0 | 72,67 ^{de} |
| | 5,5 | 74,00 ^{bcd} |
| 40 | 4,0 | 73,00 ^{de} |
| | 4,5 | 77,67 ^a |
| | 5,0 | 74,67 ^{bc} |
| | 5,5 | 73,67 ^{cd} |
| 50 | 4,0 | 74,67 ^{bc} |
| | 4,5 | 74,67 ^{bc} |
| | 5,0 | 74,67 ^{bc} |
| | 5,5 | 74,67 ^{bc} |
| 60 | 4,0 | 72,67 ^{de} |
| | 4,5 | 75,33 ^b |
| | 5,0 | 73,00 ^{de} |
| | 5,5 | 70,67 ^f |

Các chữ cái a,b,c... khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (5%) giữa các giá trị trung bình trong cùng một cột.

Bên cạnh nhiệt độ, pH cũng ảnh hưởng khá rõ đến lượng dịch quả thu hồi sau quá trình thủy phân, lượng dịch quả thu hồi cao nhất khi khảo sát ở giá trị pH 4,5 và lượng dịch quả giảm ở các pH còn lại (4,0, 5,0 và 5,5). Kết quả thống kê (bảng 2) cho thấy hoạt động thủy phân của enzyme pectinase trên purê xoài ở pH 4,5 khác biệt so với các pH còn lại ở mức ý nghĩa 5%. Như vậy, pH 4,5 là tối ưu cho quá trình thủy phân với lượng dịch quả thu hồi cao nhất (75,25 ml/100g). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Veeranjaneya Reddy (2005) với pH 4,5 là thích hợp cho hoạt động của enzyme pectinase trên nguyên liệu xoài.

3.2 Ảnh hưởng của nồng độ và thời gian thủy phân của enzyme pectinase đến hiệu suất thu hồi dịch quả

Lượng dịch quả trung bình thu được ứng với các mức nồng độ enzyme pectinase không khác biệt rõ, kết quả từ bảng 3 cho thấy lượng dịch quả thu được cao nhất ứng với mức nồng độ enzyme sử dụng dao động trong khoảng từ 0,15 đến 0,2%. Lượng dịch quả có xu hướng giảm dần khi nồng độ enzyme thấp hơn hoặc cao hơn. Theo Phạm Ngọc Tuấn (2009), khi thừa cơ chất, vận tốc phản ứng tăng khi

nồng độ enzyme tăng nhưng khi nồng độ enzyme bão hòa với nồng độ cơ chất thì vận tốc phản ứng không thay đổi hoặc không tăng thêm khi tăng nồng độ enzyme.

Phản ứng thủy phân xúc tác bởi enzyme cần có một khoảng thời gian tối thiểu đối với từng loại enzyme. Việc kéo dài thời gian cho hoạt động thủy phân là cần thiết để tạo ra lượng sản phẩm (dịch quả) nhiều. Tuy nhiên, thời gian thủy phân quá kéo dài cũng không tạo ra lượng sản phẩm nhiều hơn mà lại mất nhiều thời gian. Tuy nhiên, kết quả từ bảng 3 cho thấy ở thời gian lên men dài hơn 20 phút lượng dịch quả thấp hơn. Ngược lại thời gian thủy phân quá ngắn là không đủ cho phản ứng thủy phân nên lượng dịch quả thu được thấp (bảng 3).

Vì vậy, nồng độ enzyme tối ưu cho hoạt động thủy phân nên là 0,15 hoặc 0,2% và thời gian tối ưu là 20 phút. Dựa vào yếu tố kinh tế và để hạn chế hàm lượng methanol trong sản phẩm (do sự thủy phân pectin methyl ester của pectin methylesterase) nồng độ pectinase ở mức 0,15% được đề nghị cho xử lý nguyên liệu xoài.

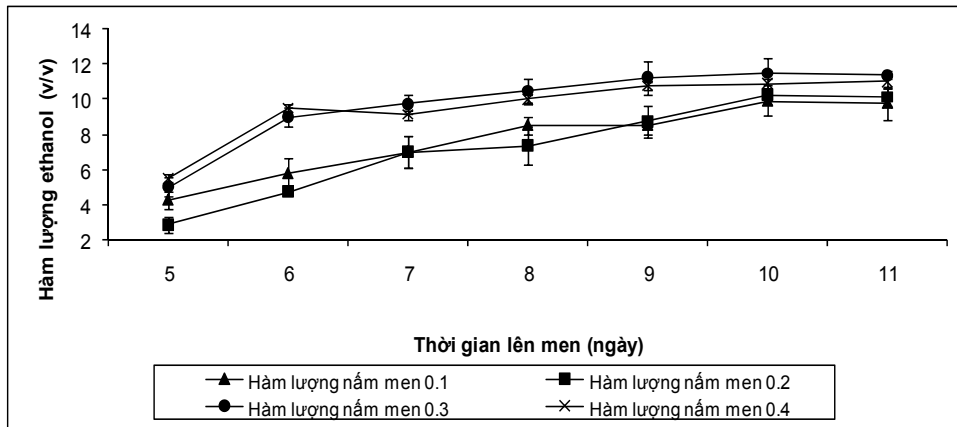
Bảng 3: Lượng dịch quả thu được sau quá trình thủy phân ở nồng độ và thời gian khác nhau

| Thời gian (phút) | Nồng độ enzyme pectinase (%) | Lượng dịch quả thu được (ml/100g) |
|------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| 10 | 0,10 | 75,00 ^{de} |
| | 0,15 | 75,00 ^{de} |
| | 0,20 | 75,67 ^d |
| | 0,25 | 78,00 ^a |
| 20 | 0,10 | 77,67 ^a |
| | 0,15 | 78,00 ^a |
| | 0,20 | 78,67 ^a |
| | 0,25 | 77,33 ^{ab} |
| 30 | 0,10 | 75,33 ^{de} |
| | 0,15 | 78,67 ^a |
| | 0,20 | 77,67 ^a |
| | 0,25 | 74,67 ^{de} |
| 40 | 0,10 | 75,33 ^{de} |
| | 0,15 | 76,00 ^{cd} |
| | 0,20 | 77,33 ^{ab} |
| | 0,25 | 74,00 ^e |

Các chữ cái a,b,c.. khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (5%) giữa các giá trị trung bình trong cùng một cột.

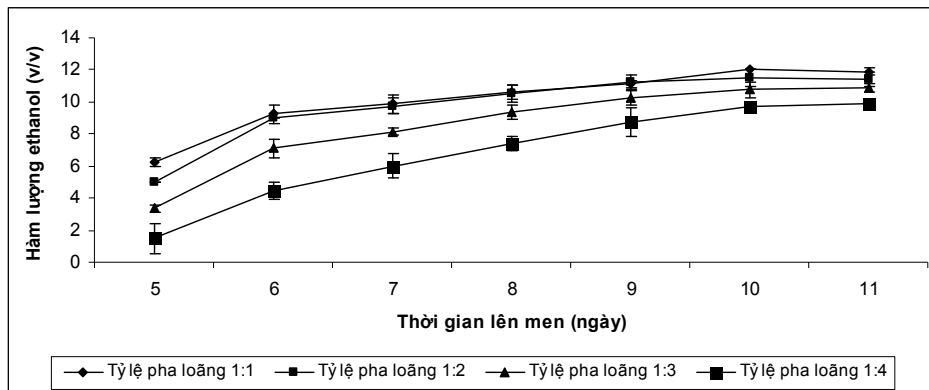
3.3 Ảnh hưởng của tỉ lệ pha loãng dịch quả và hàm lượng nấm men bổ sung đến chất lượng rượu vang xoài sau khi kết thúc quá trình lên men

Trong quá trình lên men, việc xác định thời điểm kết thúc quá trình lên men sao cho hợp lý là một bước quan trọng. Với thí nghiệm này, quá trình lên men được tiến hành ở nhiệt độ phòng, pH tự nhiên của dịch quả. Lượng ethanol sinh ra trong suốt quá trình lên men ứng với các tỷ lệ pha loãng và hàm lượng nấm men khác nhau được khảo sát.



Hình 1: Đồ thị biểu diễn hàm lượng ethanol sinh ra theo thời gian lên men ở tỉ lệ pha loãng 1:2 và hàm lượng nấm men (g/l) khác nhau

Kết quả được ghi nhận là hầu như lượng ethanol sinh ra tăng theo thời gian lên men và đạt điểm cao nhất từ ngày thứ 10 và không thay đổi ở các ngày tiếp theo. Kết quả này được chứng minh qua hai đồ thị đặc trưng là đồ thị biểu diễn hàm lượng ethanol sinh ra theo thời gian lên men ở tỉ lệ pha loãng 1:2 với các hàm lượng nấm men khác nhau (hình 1) và đồ thị biểu diễn hàm lượng ethanol theo thời gian lên men ở hàm lượng nấm men 0,3g/l với tỉ lệ pha loãng khác nhau (hình 2). Nguyên nhân là do trong môi trường dinh dưỡng, tế bào nấm men phát triển nhanh và sử dụng các chất dinh dưỡng để sinh ra ethanol, gần cuối giai đoạn lên men hàm lượng dinh dưỡng không còn nhiều nên quá trình sản sinh ethanol xảy ra hạn chế. Vì thế quá trình lên men sẽ được kết thúc ở ngày thứ 10 và trên cơ sở đó sẽ tiến hành khảo sát và so sánh các chỉ tiêu còn lại của dịch lên men ở ngày thứ 10 để chọn ra tỷ lệ pha loãng và tỷ lệ nấm men tối ưu nhất.



Hình 2: Đồ thị biểu diễn hàm lượng ethanol theo thời gian lên men ở hàm lượng nấm men 0,3g/l và tỉ lệ pha loãng khác nhau

Hàm lượng ethanol

Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng ethanol sinh ra ở thời điểm kết thúc quá trình lên men là khác nhau ứng với các tỷ lệ nấm men sử dụng và tỷ lệ pha loãng khác nhau. Kết quả từ bảng 4 cho thấy hàm lượng ethanol sinh ra là cao nhất ứng

với hàm lượng nấm men bổ sung là 0,3 và 0,4g/l và khác biệt có ý nghĩa so với các nồng độ khác.

Bảng 4: Kết quả thống kê hàm lượng ethanol và hàm lượng methanol trong quá trình lên men ứng với các tỉ lệ pha loãng và hàm lượng nấm men sử dụng khác nhau

| Tỷ lệ pha loãng | Hàm lượng nấm men (g/L) | Hàm lượng ethanol (v/v) | Hàm lượng methanol (g/L) |
|-----------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| 1 : 1 | 0,1 | 11,00 ^{bcd} | 0,010 ^b |
| | 0,2 | 11,00 ^{bcd} | 0,019 ^{ab} |
| | 0,3 | 12,00 ^a | 0,010 ^b |
| | 0,4 | 11,38 ^{bc} | 0,013 ^b |
| 1 : 2 | 0,1 | 9,88 ^e | 0,017 ^b |
| | 0,2 | 9,88 ^e | 0,012 ^b |
| | 0,3 | 11,50 ^{ab} | 0,014 ^b |
| | 0,4 | 10,88 ^{cd} | 0,014 ^b |
| 1 : 3 | 0,1 | 9,63 ^{ef} | 0,012 ^b |
| | 0,2 | 10,50 ^d | 0,008 ^b |
| | 0,3 | 10,75 ^d | 0,012 ^b |
| | 0,4 | 11,00 ^{bcd} | 0,012 ^b |
| 1 : 4 | 0,1 | 10,50 ^{fg} | 0,012 ^b |
| | 0,2 | 9,00 ^g | 0,038 ^a |
| | 0,3 | 9,75 ^e | 0,014 ^b |
| | 0,4 | 9,75 ^e | 0,007 ^b |

Các chữ cái a,b,c... khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (5%) giữa các giá trị trung bình trong cùng một cột.

Hàm lượng ethanol sinh ra càng giảm khi tỉ lệ pha loãng càng cao. Tỷ lệ pha loãng giữa dịch quả và nước ở mức 1:1 cho hàm lượng ethanol sinh ra cao nhất và có khác biệt ý nghĩa so với các tỷ lệ pha loãng khác (Bảng 4). Nguyên nhân là do thành phần dinh dưỡng như đạm, khoáng, vitamin, các chất kích thích sinh trưởng cho tế bào nấm men trong dịch lên men giảm dần khi tỉ lệ pha loãng càng cao nên nấm men hoạt động yếu. Nấm men cần có nguồn dinh dưỡng để phát triển, trong đó đường và khoáng đóng vai trò quan trọng trong sự trao đổi chất để duy trì sự sinh trưởng và phát triển của nấm men. Vì vậy, quá trình lên men chính kết thúc ở ngày thứ 10 là do môi trường lên men hết chất dinh dưỡng để nấm men phát triển. Do đó, tỉ lệ pha loãng càng cao thì nguồn dinh dưỡng khoáng và các vitamin cung cấp cho sự phát triển nấm men bị hạn chế nên hiệu suất lên men không cao.

Hàm lượng ethanol cao ứng với hàm lượng nấm men 0,3 và 0,4g/l. Khi lượng nấm men sử dụng ít (0,1 hoặc 0,2g/l) quá trình lên men diễn ra chậm, sinh khối của tế bào nấm men thấp, là điều kiện thuận lợi cho vi khuẩn phát triển. Ngược lại, lượng tế bào nấm men quá nhiều thì môi trường dịch lên men không đủ chất dinh dưỡng cho tế bào nấm men phát triển, tế bào nấm men chết, làm sản phẩm có mùi vị lạ do xác nấm men bị phân hủy, đồng thời cũng làm lãng phí đi một lượng nấm men. Do đó, hàm lượng nấm men 0,3g/l là thích hợp cho ra sản phẩm có hàm lượng ethanol cao. Như vậy hàm lượng nấm men 0,3g/l và tỉ lệ pha loãng dịch quả 1:1 là tối ưu để tạo ra sản phẩm rượu vang có hàm lượng ethanol cao.

Hàm lượng methanol

Hàm lượng methanol là một chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng rượu vang và nó có ảnh hưởng tiêu cực đến sức khỏe người tiêu dùng. Do đó, khảo sát quá

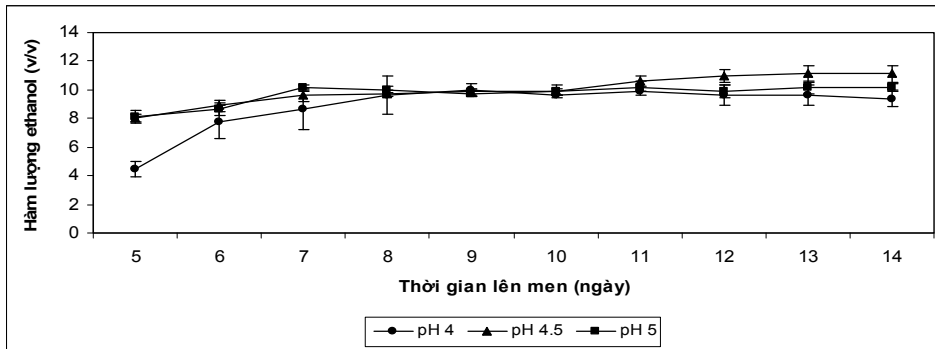
trình lên men để lựa chọn những thông số thích hợp về hàm lượng methanol đạt tiêu chuẩn cho phép là vấn đề cần được quan tâm.

Kết quả cho thấy không có sự khác biệt về hàm lượng methanol sinh ra ứng với hàm lượng nấm men và tỉ lệ pha loãng dịch quả trong các thí nghiệm (mức ý nghĩa 5%) (Bảng 4). Hàm lượng methanol tồn tại trong sản phẩm sau lên men như được thống kê ở bảng 4 là khá thấp, thấp hơn so với hàm lượng cho phép của tiêu chuẩn Việt Nam về hàm lượng methanol trong rượu vang nhiều lần (TCVN 7045: 2002).

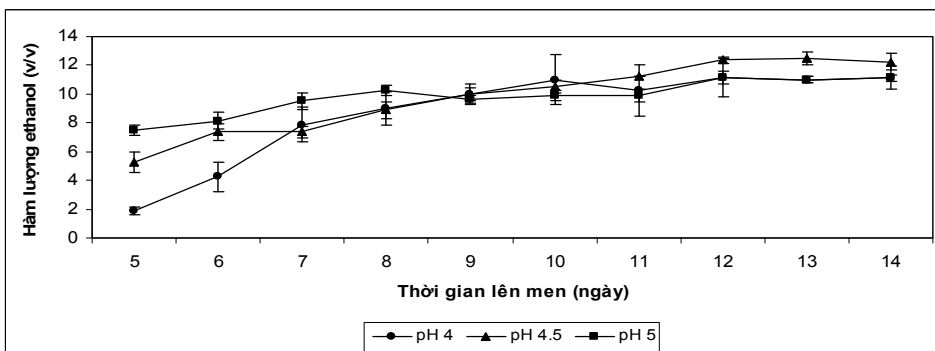
3.4 Ảnh hưởng của nhiệt độ và pH lên men đến chất lượng rượu vang xoài sau khi kết thúc quá trình lên men

Hàm lượng ethanol

Quá trình lên men ở nhiệt độ phòng ứng với các mức pH khác nhau cho kết quả khác nhau (Hình 3). Ở điều kiện pH 4,0, lượng ethanol sinh ra cao nhất tại ngày lên men thứ 9, trong khi ngày thứ 7 là đỉnh điểm của việc sản sinh ethanol của điều kiện lên men pH 5,0. Riêng đối với điều kiện lên men pH 4,5, lượng ethanol sinh ra đạt cao nhất ở ngày thứ 12 (Hình 3). Sau thời điểm đạt cực đại thì hàm lượng ethanol có khuynh hướng giảm hoặc không tăng thêm nữa. Ngược lại với sự lên men mạnh mẽ ở nhiệt độ phòng, hàm lượng ethanol sinh ra ở nhiệt độ mát ở các pH khác nhau kết thúc chậm hơn, khoảng từ ngày thứ 10 (pH 4,0) đến ngày thứ 12 (pH 4,5 và 5,0) (Hình 4).



Hình 3: Đồ thị biểu diễn hàm lượng ethanol theo thời gian lên men của các giá trị pH khác nhau ở nhiệt độ phòng



Hình 4: Đồ thị biểu diễn hàm lượng ethanol theo thời gian lên men của các giá trị pH khác nhau ở nhiệt độ mát

So sánh hàm lượng ethanol sinh ra ứng với các điều kiện lên men ở bảng 5 cho thấy ethanol sinh ra ở điều kiện nhiệt độ mát cao hơn so với nhiệt độ phòng ở hầu hết các pH tương ứng được khảo sát trong thí nghiệm này và có sự khác biệt ý nghĩa thống kê giữa hai điều kiện nhiệt độ lên men này. Hàm lượng ethanol sinh ra giữa các điều kiện pH khác nhau cũng khác nhau (Bảng 5). Hàm lượng ethanol sinh ra cao nhất ở pH 4,5 và thấp hơn ở các pH còn lại. Theo Nguyễn Đình Thường *et al.* (2007), pH thích hợp nhất cho quá trình lên men rượu là 4,5 ÷ 5,0. Nhưng ở pH 5,0 có thể cũng không thích hợp cho nấm men phát triển trong trường hợp này nên làm giảm hiệu suất lên men và hàm lượng ethanol sau lên men cũng thấp hơn. Còn đối với lên men ở pH quá thấp (pH 4,0), mặc dù pH thấp ức chế được tạp khuẩn nhưng lên men ở pH thấp là điều kiện không tốt cho nấm men hoạt động mạnh, do đó nấm men đã bị ức chế một phần ngay từ giai đoạn đầu của quá trình lên men nên không phát triển mạnh hơn ở các giai đoạn tiếp theo.

Bảng 5: Kết quả thống kê hàm lượng ethanol sau quá trình lên men (10 ngày) ở nhiệt độ và pH lên men khác nhau

| Nhiệt độ lên men | pH lên men | Hàm lượng ethanol (v/v) | Hàm lượng đường sót (mg/100 ml) |
|----------------------------|------------|-------------------------|---------------------------------|
| Nhiệt độ phòng | 4,0 | 9,63 ^d | 1,10 ^d |
| | 4,5 | 11,00 ^b | 0,42 ^b |
| | 5,0 | 10,13 ^{cd} | 0,64 ^c |
| Nhiệt độ mát (khoảng 20°C) | 4,0 | 10,25 ^c | 1,10 ^{ab} |
| | 4,5 | 12,38 ^a | 0,35 ^a |
| | 5,0 | 10,63 ^b | 0,35 ^a |

Các chữ cái a,b,c.. khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (5%) giữa các giá trị trung bình trong cùng một cột.

Hàm lượng đường sót

Hàm lượng đường khử trước khi lên men ở các mẫu là 4,37 mg/100ml. Sau thời gian lên men chính, hàm lượng đường còn sót lại trong mẫu lên men được ghi nhận ở bảng 7. Kết quả thống kê về hàm lượng đường sót (bảng 5) cho thấy hàm lượng đường sót thấp và không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê giữa lên men ở pH 4,5 và 5,0. Khi lên men ở pH 4,0 hàm lượng đường sót có giá trị cao và khác biệt ý nghĩa thống kê so với hàm lượng đường sót khi lên men ở hai điều kiện pH còn lại ở mức ý nghĩa 5%. Như đã được đề cập ở trên, lên men ở pH 4,0 là điều kiện không tốt cho nấm men hoạt động, hiệu suất lên men giảm vì thế hàm lượng đường sót còn lại trong rượu cao sau khi kết thúc quá trình lên men. Khi lên men ở nhiệt độ mát hàm lượng đường còn lại rất thấp so với lên men ở nhiệt độ phòng (bảng 5). Điều này cho thấy lên men ở nhiệt độ mát thích hợp cho hoạt động của nấm men và hiệu suất lên men cao.

Như vậy, lên men ở điều kiện nhiệt độ mát và pH 4,5 cho hàm lượng ethanol cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lên men ở pH 4,0 và 5,0 và cũng khác biệt có ý nghĩa thống kê so với điều kiện nhiệt độ phòng của cả 3 mức pH đã bố trí (bảng 5). Đồng thời kết hợp kết quả thống kê về hàm lượng đường sót thấp (bảng 5) ở điều kiện lên men nhiệt độ mát và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lên men nhiệt độ phòng. Vì vậy, điều kiện lên men ở nhiệt độ mát và pH lên men 4,5 là thích hợp cho quá trình lên men rượu vang xoài thông qua hàm lượng ethanol cao và đường sót thấp trong sản phẩm sau lên men.

4 KẾT LUẬN

Nhiệt độ tối ưu cho hoạt động thủy phân pectin của chế phẩm enzyme pectinase là 40°C tại pH 4,5. Nồng độ enzyme tối ưu cho quá trình thủy phân pectin của chế phẩm enzyme pectinase là 0,2% trong thời gian 20 phút. Hàm lượng nấm men bổ sung là 0,3g/l và tỉ lệ pha loãng dịch quả với nước là 1:1, cùng với lên men trong điều kiện nhiệt độ mát (khoảng 20°C) và pH 4,5 cho quá trình lên men với hiệu suất lên men cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Jorge A. Pino and Oscar Queris. 2010. Analysis of volatile compounds of mango wine. *In: Journal of Food Chemistry*. 125 (4): 1141-1146.
- Lê Mỹ Hồng. 2005. Sử dụng enzyme trong chế biến nước chuối. Hội thảo quốc gia cây có múi, xoài và khóm. Nhà xuất bản Nông nghiệp. 405-414.
- Lê Thanh Mai. 2007. Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men. Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật.
- L V A Reddy and O Vijaya Sarathi Reddy. 2005. Production and characterization of wine from mango fruit (*Mangifera indica* L). *In: Journal of Microbiology & Biotechnology*. 21: 1345-1350.
- Nguyễn Đình Thương và Nguyễn Thanh Hằng. 2007. Công nghệ sản xuất và kiểm tra cồn etylic. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
- Nilay Demir *, Jale Acar, Kemal Sarđo_glu, Mehmet Mutlu. 2001. The use of commercial pectinase in fruit juice industry. Part 3: Immobilized pectinase for mash treatment. *In: Journal of Food Engineering*. 47: 275-280.
- Salmah Yusof. 1994. Quality of soursop juice after pectinase enzyme treatment. *In: Journal of Food Chemistry*. 51: 83-88.
- Suad N. Al-Hooti. 2002. Chemical composition and quality of date syrup as affected by pectinase/cellulase enzyme treatment. *In: Journal of Food Chemistry*. 79 (2): 215-220.
- TCVN 7045:2002. Rượu vang - Quy định kỹ thuật.
- William Horwitz. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC international. 2 (26): 15-16.