

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN NẤM MEN CÓ HOẠT LỰC CAO TỪ MEN RƯỢU

Lý Nguyễn Bình¹, Trần Văn Khánh¹, Hà Phương Thảo¹ và Nguyễn Văn Thành²

¹ Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

² Viện Nghiên cứu & Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 01/12/2014

Ngày chấp nhận: 19/08/2015

Title:

Isolating and screening strongly active yeast strains from local alcoholic fermentation starters

Từ khóa:

Nấm men, phân lập, lên men rượu, *Saccharomyces cerevisiae*, rượu gạo

Keywords:

Yeast, isolation, fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*, rice alcohol

ABSTRACT

With the purpose of screening yeast for improving fermentation performance and quality of rice alcohol products, the study was carried out based on the investigation of six kinds of local fermentation starters (men), namely Hoang Anh, Hai Anh Quang, Nang Thom, Nang Huong, Nep Thom, and Thuoc Bac Ha Noi. The isolated yeast strains of strong activity were selected for further investigation. As results, 17 isolates were collected from the local fermentation starters including HA1, HA2, HA3, HAQ1, HAQ2, HAQ3, NT1, NT2, NT3, NG1, NG2, NG3, NH1, NH2, TB1, TB2, and TB3. Among those, NT3 and NH2 are potential isolates for fermentation.

TÓM TẮT

Với mục đích tuyển chọn dòng nấm men thuần để tăng hiệu suất lên men rượu và nâng cao chất lượng sản phẩm rượu gạo, nghiên cứu được tiến hành dựa trên việc phân lập các dòng nấm men từ sáu loại men rượu được sử dụng phổ biến trên thị trường là men Hoàng Anh, Hải Anh Quang, Nàng Thom, Nàng Hương, Nếp Thom và men thuốc bắc Hà Nội. Các dòng nấm men có hoạt lực cao được chọn để khảo sát hoạt tính. Kết quả 17 dòng men đã được phân lập, bao gồm HA1, HA2, HA3, HAQ1, HAQ2, HAQ3, NT1, NT2, NT3, NG1, NG2, NG3, NH1, NH2, TB1, TB2, và TB3. Trong đó, hai dòng nấm men NH2 và NT3 thích hợp là nguồn nấm men thuần để ứng dụng vào quá trình lên men rượu gạo.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở nước ta, rượu là một thức uống có cồn rất phổ biến, mang đậm tính truyền thống, gắn bó lâu đời và không thể thiếu được trong cuộc sống tinh thần và văn hóa dân tộc. Trên thị trường hiện nay có rất nhiều loại rượu nổi tiếng như rượu ngô Bản Phố, một loại rượu đặc sản của người Mông ở Bản Phố, cao nguyên Bắc Hà, Lào Cai; rượu Làng Vân, đặc sản cô truyền Bắc Giang; rượu Bầu Đá, đặc sản của miền đất võ Bình Định; rượu Gò Đen của quê hương Long An; rượu Phú Lễ của miền đất Đồng khởi Bến Tre; rượu Xuân Thạnh của Trà Vinh (Nguyễn Kim Đông và *ctv.*, 2012; Ngô Thị Phương

Dung và *ctv.*, 2012; Hà Phương Thảo, 2013). Tuy nhiên, khi nhìn vào điều kiện sản xuất hiện tại có thể dễ dàng nhận thấy năng suất và chất lượng rượu còn ở mức thấp. Có rất nhiều yếu tố ảnh hưởng đến năng suất và chất lượng rượu như nguyên liệu, hệ thống chưng cất rượu, nhiệt độ, pH, hệ vi sinh vật lên men,... Trong các yếu tố trên, hệ vi sinh vật lên men rượu là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến chất lượng và năng suất rượu tạo thành. Việc sử dụng nguồn vi sinh vật thuần chủng và có hoạt tính cao trong quá trình lên men là rất cần thiết (Karuwanna, 2002; Nguyễn Đức Lượng, 2002; Hoàng Vĩ Tài, 2006).

Mục tiêu của nghiên cứu này là phân lập các dòng nấm men có trong các loại men rượu truyền thống và tiến hành đo đặc hoạt tính của từng dòng nấm men phân lập được nhằm tuyển chọn ra dòng nấm men có hoạt lực cao và phù hợp cho quá trình lên men rượu gạo.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Phương tiện

Thí nghiệm được tiến hành tại phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học thực phẩm thuộc Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ. Nguyên liệu là các loại men rượu truyền thống được sử dụng phổ biến trên thị trường, cụ thể: (1) men rượu Nàng Hương, Cơ

sở Tây Đô, 188/54 Nguyễn Văn Cừ, phường An Hòa, quận Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ; (2) men rượu Nếp Thơm, Cơ sở Tấn Phát, ấp Đông Hậu, xã Bình Đông, thị xã Bình Minh, tỉnh Vĩnh Long; (3) men rượu Hoàng Anh, Cơ sở Ngọc Khai, 232E ấp Tân Vĩnh Thuận, xã Tân Ngãi, thành phố Vĩnh Long, tỉnh Vĩnh Long; (4) men rượu Thuốc Bắc Hà Nội, Cơ sở Tấn Phát, 044 tổ 5, ấp Mỹ Thuận, thị trấn Mỹ Thọ, huyện Cao Lãnh, tỉnh Đồng Tháp; (5) men rượu Hải Anh Quang, 75/50, ấp 3, xã Thới Thượng, huyện Hóc Môn, thành phố Hồ Chí Minh; và (6) men rượu Nàng Thơm, Cơ sở Hoàng Sơn, tổ 2, khối 8, phường Tân Tiến, thành phố Buôn Mê Thuột, tỉnh Đắk Lắk (Hình 1).



Hình 1: Các loại men rượu được sử dụng phổ biến trên thị trường

(a) Men Nếp Thơm (b) Men thuốc bắc Hà Nội (c) Men Nàng Thơm

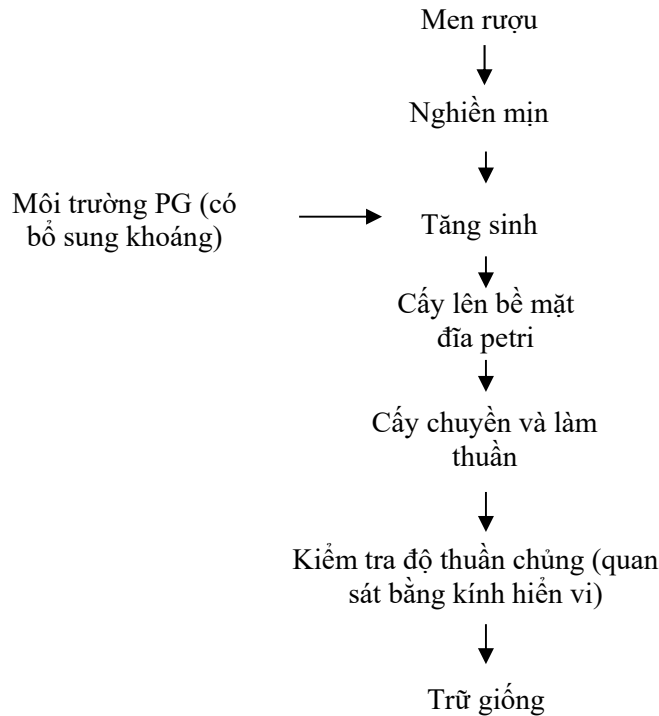
(d) Men Hoàng Anh (e) Men Hải Anh Quang (f) Men Nàng Hương

2.2 Phương pháp

2.2.1 Phân lập các dòng nấm men từ sáu loại men trên thị trường

Men rượu sau khi mua về, được nghiền mịn, lấy 1 g thực hiện tăng sinh trong 100 ml môi trường PG (Potato Glucose) có bổ sung khoáng (khoai tây 200 g, glucose 20 g, (NH₄)₂SO₄ 2 g, KH₂PO₄ 1 g, nước cất vừa đủ 1000 ml) trong bình tam giác 250 ml, để trên máy lắc 150 vòng/ phút trong 48 giờ. Sau đó pha loãng mẫu theo các mức độ pha loãng 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, và 10⁻⁵. Lấy 0,1 ml từ hai mẫu pha loãng ở mức 10⁻⁴ và 10⁻⁵ cấy lên bề mặt đĩa petri có môi trường PGA (Potato

Glucose Agar) bổ sung khoáng (khoai tây 200 g, glucose 20 g, agar 20 g, (NH₄)₂SO₄ 2 g, KH₂PO₄ 1 g, nước cất vừa đủ 1000 ml). Sau 24 giờ nấm men phát triển thành khuẩn lạc, chọn những khuẩn lạc rời để cấy chuyển. Quan sát bằng mắt thường, chọn những khuẩn lạc riêng lẻ, khác nhau về hình dạng, kích thước và màu sắc. Tiếp tục cấy chuyển vào từng đĩa môi trường, cuối cùng quan sát dưới kính hiển vi để xác định độ rỗng và trĩ giống trong ống nghiệm trên môi trường thạch nghiêng PGA bảo quản ở nhiệt độ 4°C (Rose và Harrison, 1987; Hoàng Vĩ Tài, 2006; Ngô Thị Phương Dung và ctv., 2012; Nguyễn Văn Thành và ctv., 2012; Hà Phương Thảo, 2013) (Hình 2).



Hình 2: Quy trình phân lập các dòng nấm men từ men rượu

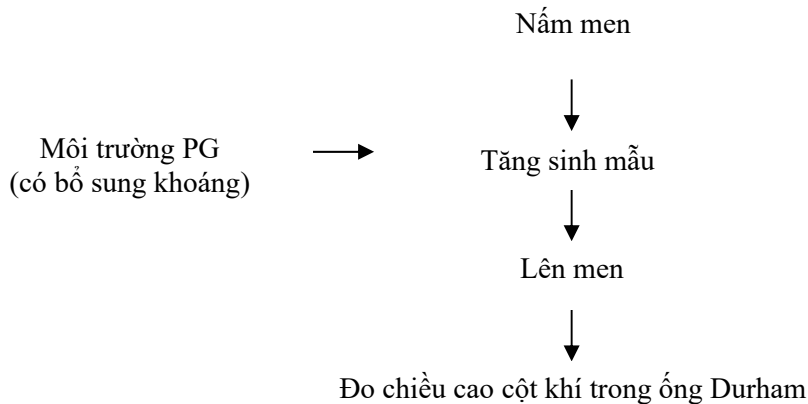
2.2.2 *Khảo sát hoạt tính các dòng nấm men đã phân lập*

a. *Khảo sát hoạt tính của 17 dòng nấm men đã phân lập (đo chiều cao cột khí sinh ra trong ống Durham)*

Nuôi sinh khối nấm men trong 24 giờ ở 30°C, lấy nửa vòng kim cây nấm men trong ống thạch nghiêng chủng vào 100 ml môi trường PG có bổ sung khoáng (đã khử trùng ở 115°C trong 10 phút). Chủng men giống lấy 1 ml dung dịch nấm men cho vào ống Durham có chứa 9 ml dung dịch đường

glucose 2% đã khử trùng ở 115°C trong 10 phút. Lắc thật đều để dung dịch đường tràn đầy vào ống thủy tinh úp ngược nằm bên trong ống Durham ú ở 30°C (Hình 3).

Chỉ tiêu đánh giá khả năng lên men của nấm men là đo chiều cao cột khí CO₂ sinh ra trong ống thủy tinh úp ngược tại các thời điểm 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, và 22 giờ ú. Dòng nấm men có hoạt tính cao là dòng nấm men có chiều cao cột khí CO₂ sinh ra là cao nhất.

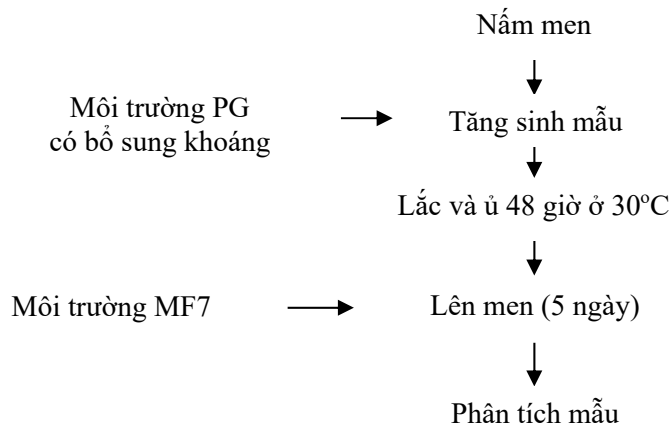


Hình 3: Quy trình thí nghiệm đo chiều cao cột khí sinh ra trong ống Durham

b. *Khảo sát hoạt tính của 17 dòng nấm men đã phân lập (so sánh độ Brix, pH, độ cồn sau quá trình lên men)*

Từ 17 dòng nấm men đã phân lập, lấy nửa vòng kim cây nấm men trong ống thạch nghiêng chủng vào 100 ml môi trường PG có bổ sung khoáng (đã khử trùng ở 115°C trong 10 phút). Nuôi sinh khối nấm men trong 24 giờ ở 30°C. Đếm mật số tế bào nấm men pha loãng mẫu sao cho đạt mật số 10^5 tế

bào/ml. Lấy 100 ml môi trường MF7 (môi trường có chứa glucose, yeast extract và peptone) cho vào bình tam giác 250 ml, đậy nút bông gòn và nắp giấy, khử trùng ở 115°C trong 10 phút, làm nguội đến 30 - 40°C. Chủng 1 ml dịch huyền phù nấm men vào bình, thay nắp giấy bằng waterlock, ủ ở 30°C trong 5 ngày. Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm mật số tế bào nấm men/ml, pH dịch đường hóa trước và sau lên men, lượng đường trước và sau khi lên men và hàm lượng rượu ethylic (Hình 4).

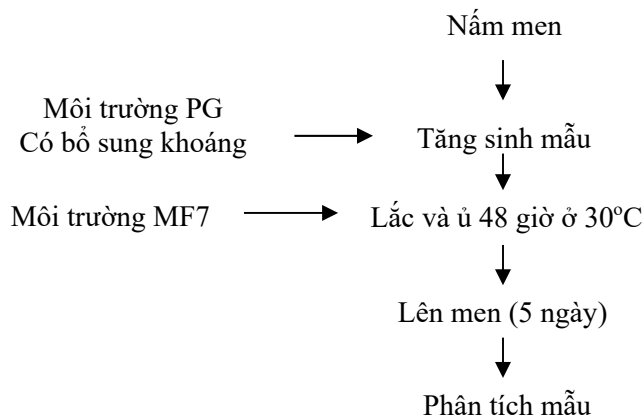


Hình 4: Quy trình thí nghiệm so sánh độ Brix, pH, và độ cồn các dòng nấm men đã phân lập

2.2.3 *So sánh những dòng nấm men có hoạt tính mạnh ở thí nghiệm trên với nấm men thị trường Saccharomyces cerevisiae*

Chọn năm dòng nấm men (HA3, HAQ1, NH2, NT3 và TB3) có hoạt lực cao từ kết quả thí nghiệm trên. Lấy nửa vòng kim cây nấm men trong ống thạch nghiêng chủng vào 100 ml môi trường PG có bổ sung khoáng (đã khử trùng ở 115°C trong 10 phút). Đếm mật số tế bào nấm men pha loãng mẫu

sao cho đạt mật số 10^5 tế bào/ml. Cho 100 ml môi trường MF7 cho vào bình tam giác 250 ml, đậy nút bông gòn và nắp giấy, đem khử trùng ở 115°C trong 10 phút, làm nguội đến 30 - 40°C. Chủng 1 ml dịch huyền phù nấm men vào bình, thay nắp giấy bằng waterlock, ủ ở 30°C trong 5 ngày. Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm mật số tế bào nấm men/ml, pH dịch đường hóa trước và sau lên men, lượng đường trước và sau khi lên men, hàm lượng rượu ethylic (Hình 5).



Hình 5: Quy trình so sánh nấm men có hoạt tính cao so với nấm men thị trường (Saccharomyces cerevisiae)

2.3 Phân tích dữ liệu

Thí nghiệm được bố trí với 2-3 lần lặp lại. Sử dụng phần mềm Excel và Statgraphics XV để xử lý số liệu.

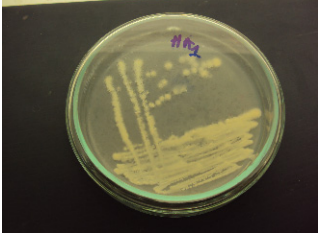


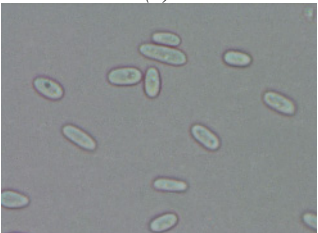

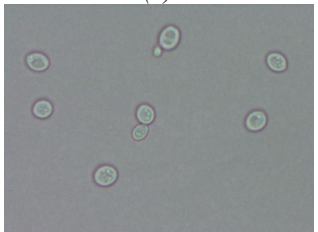
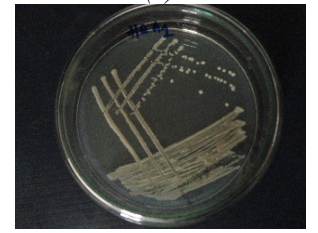
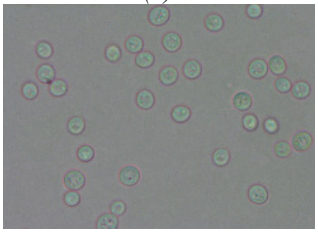
3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN




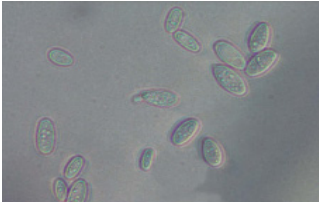

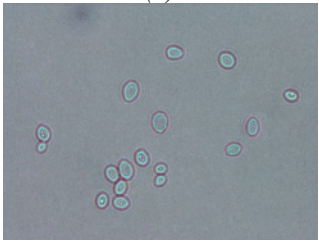
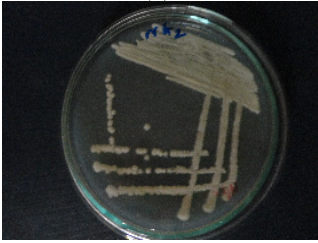
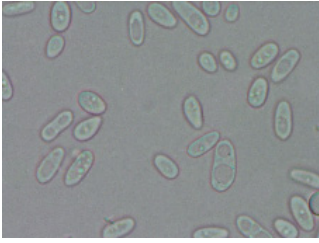
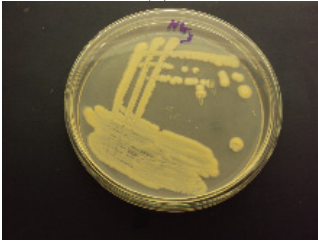
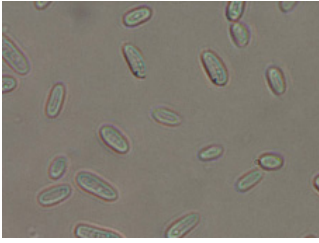
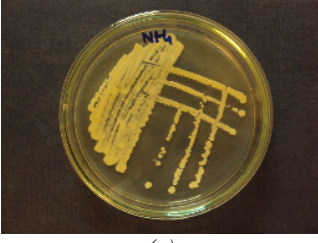
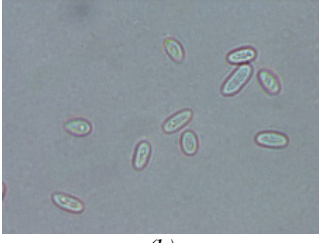
3.1 Phân lập các dòng nấm men từ sáu loại men trên thị trường


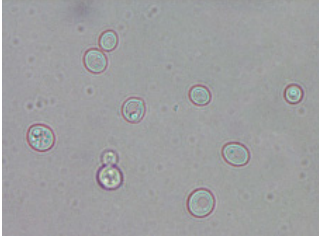

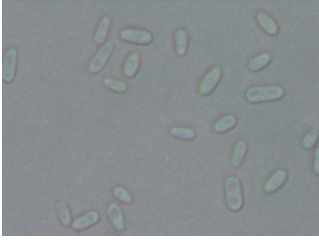
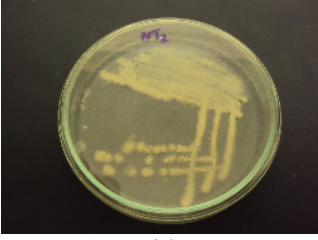
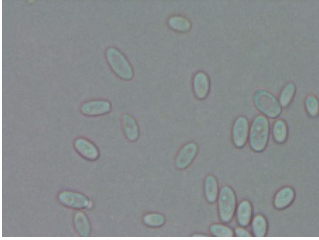
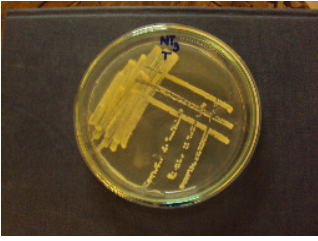
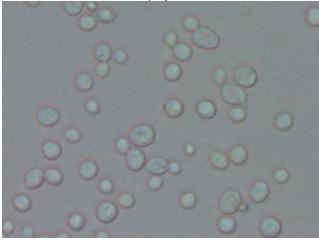
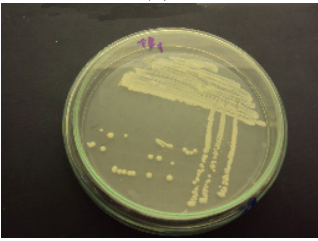
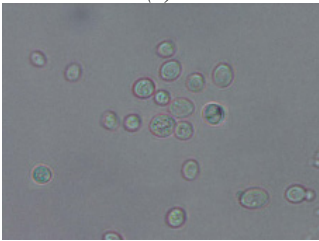

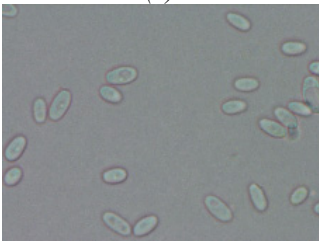
Mỗi gam men rượu có chứa vài chục triệu đến vài trăm triệu tế bào nấm men. Chúng gồm 2 giống

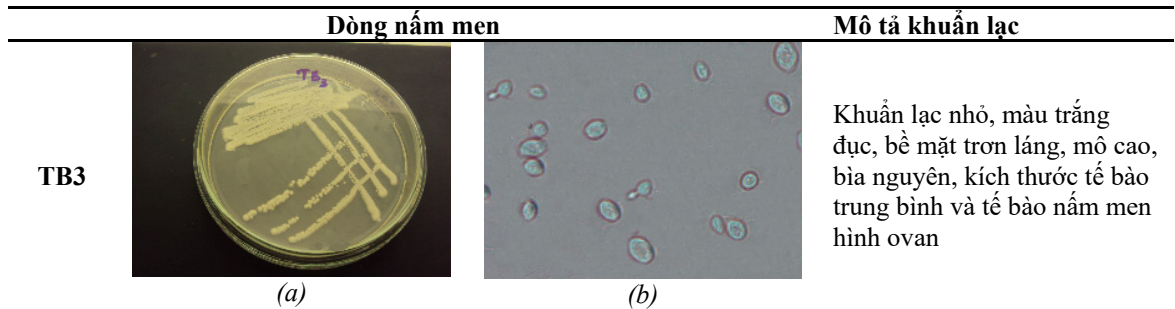
là *Endomycopsis* (chủ yếu là *Endomycopsis fibuligenes*) và *Saccharomyces* (chủ yếu là *Saccharomyces cerevisiae*). Từ sáu loại men phổ biến trên thị trường qua quá trình phân lập đã tìm ra 17 dòng men được ký hiệu HA1, HA2, HA3, HAQ1, HAQ2, HAQ3, NT1, NT2, NT3, NG1, NG2, NG3, NH1, NH2, TB1, TB2, TB3 được mô tả ở Bảng 1 (Rose và Harrison, 1987; Lee và Fujio, 1998; Ngô Thị Phương Dung và ctv., 2011, 2012; Nguyễn Văn Thành và ctv., 2012; Hà Phương Thảo, 2013).

Bảng 1: Mô tả đặc điểm của các dòng nấm men được phân lập từ men rượu trên thị trường

	Dòng nấm men	Mô tả khuẩn lạc
HA1	 (a)	 (b) Khuẩn lạc trung bình, màu trắng sữa, bề mặt khô, bìa nguyên và lồi, kích thước tế bào trung bình và tế bào nấm men hình elip
HA2	 (a)	 (b) Khuẩn lạc trung bình, màu trắng đục, bề mặt khô, bìa răng cưa, mô cao, kích thước tế bào trung bình và tế bào nấm men hình elip
HA3	 (a)	 (b) Khuẩn lạc trung bình, màu trắng đục, bề mặt trơn láng, mô cao, bìa nguyên, kích thước tế bào trung bình và tế bào nấm men hình cầu
HAQ1	 (a)	 (b) Khuẩn lạc nhỏ, màu trắng đục, bề mặt trơn láng, bìa nguyên, mô cao, kích thước tế bào trung bình và tế bào nấm men hình cầu

	Dòng nấm men	Mô tả khuẩn lạc	
HAQ2	 (a)	 (b)	Khuẩn lạc trung bình, màu trắng đục, bề mặt khô, bìa răng cưa, mô cao, kích thước tế bào trung bình và tế bào nấm men hình ovan
HAQ3	 (a)	 (b)	Khuẩn lạc trung bình, màu trắng đục, bề mặt khô, mô cao, bìa răng cưa, kích thước tế bào trung bình và tế bào nấm men hình elip
NG1	 (a)	 (b)	Khuẩn lạc nhỏ, màu trắng sữa, bề mặt trơn láng, bìa nguyên, mô cao, kích thước tế bào nhỏ và tế bào nấm men hình ovan
NG2	 (a)	 (b)	Khuẩn lạc trung bình, màu trắng đục, bề mặt khô, bìa răng cưa, mô thấp, kích thước tế bào trung bình và tế bào nấm men hình elip
NG3	 (a)	 (b)	Khuẩn lạc lớn, màu trắng đục, bề mặt khô, bìa răng cưa, mô cao, kích thước tế bào trung bình và tế bào nấm men hình elip
NH1	 (a)	 (b)	Khuẩn lạc trung bình, màu trắng đục, bề mặt khô, bìa răng cưa, mô cao, kích thước tế bào trung bình và tế bào nấm men hình elip

	Dòng nấm men	Mô tả khuẩn lạc
NH2	 <p>(a)</p>	 <p>(b)</p> <p>Khuẩn lạc nhỏ, màu trắng đục, bề mặt trơn láng, bìa nguyên, mô cao, kích thước tế bào lớn và tế bào nấm men hình cầu</p>
NT1	 <p>(a)</p>	 <p>(b)</p> <p>Khuẩn lạc trung bình, màu trắng sữa, bề mặt khô, bìa răng cưa và lồi, mô cao, kích thước tế bào trung bình và tế bào nấm men hình elip</p>
NT2	 <p>(a)</p>	 <p>(b)</p> <p>Khuẩn lạc lớn, màu trắng đục, bề mặt khô, bìa nguyên, mô cao, kích thước tế bào trung bình và tế bào nấm men hình elip</p>
NT3	 <p>(a)</p>	 <p>(b)</p> <p>Khuẩn lạc nhỏ, màu trắng đục, bề mặt trơn láng, bìa nguyên, mô thấp, kích thước tế bào lớn và tế bào nấm men hình cầu</p>
TB1	 <p>(a)</p>	 <p>(b)</p> <p>Khuẩn lạc trung bình, màu trắng sữa, bề mặt trơn láng, mô cao, bìa nguyên, kích thước tế bào trung bình và tế bào nấm men hình cầu</p>
TB2	 <p>(a)</p>	 <p>(b)</p> <p>Khuẩn lạc to, màu trắng đục, bề mặt khô, mô cao, bìa răng cưa, kích thước tế bào trung bình và tế bào nấm men hình elip</p>



a: Khuẩn lạc nấm men b: Khuẩn lạc nấm men X100

3.2 Hoạt tính các dòng nấm men đã phân lập

3.2.1 Hoạt tính của 17 dòng nấm men đã phân lập (qua đo chiều cao cột khí CO₂)

Trong quá trình lên men rượu có hai sản phẩm chính là rượu ethylic và CO₂, để xác định hoạt lực lên men của nấm men có thể dựa vào khả năng thoát khí CO₂ trong quá trình lên men. Vì vậy, có thể dựa vào thời gian đầy hết ống Durham sớm nhất để xác định có hoạt lực lên men mạnh nhất (Nguyễn Đức Lượng và *ctv.*, 2003). Tuy nhiên, do thời gian lên men trong ống Durham ngắn trong

khí quá trình lên men rượu có thời gian dài (5 ngày). Vì vậy, phương pháp đo chiều cao cột khí CO₂ bằng ống Durham chỉ là cơ sở ban đầu để xác định dòng nấm men có hoạt tính cao.

Chiều cao cột khí CO₂ thể hiện khả năng lên men rượu của các dòng nấm men. Tại các thời điểm đo khác nhau, chiều cao cột khí CO₂ trong ống Durham cũng khác nhau cho thấy cường độ lên men của các dòng nấm men cũng khác nhau (Bảng 2).

Bảng 2: Chiều cao cột khí CO₂ (cm) trong ống Durham của 17 dòng nấm men đã phân lập

Dòng nấm men	Chiều cao cột khí CO ₂ trong ống Durham (cm)									
	4 giờ	6 giờ	8 giờ	10 giờ	12 giờ	14 giờ	16 giờ	18 giờ	20 giờ	22 giờ
HA1	-	-	0,10	0,37	1,13	2,63	2,83	3,00	3,00	3,00^a
HA2	-	-	-	0,10	0,30	0,53	0,73	1,07	1,57	2,13 ^{bc}
HA3	0,33	1,40	2,27	2,50	2,67	2,77	2,87	3,00	3,00	3,00^a
HAQ1	-	0,03	0,20	0,20	1,07	2,30	2,67	2,83	3,00	3,00^a
HAQ2	-	-	0,03	0,03	0,13	0,37	0,53	0,83	1,23	1,57 ^c
HAQ3	0,20	1,17	1,50	1,77	1,90	2,00	2,13	2,30	2,60	2,60 ^{ab}
NG1	-	-	-	-	0,07	0,20	0,30	0,47	0,73	0,87 ^d
NG2	-	-	0,20	0,43	0,73	1,43	1,77	1,90	2,30	2,47 ^{ab}
NG3	-	0,07	0,50	0,67	1,30	1,57	1,80	2,10	2,43	2,60 ^{ab}
NH1	-	-	-	0,07	0,20	0,63	0,93	1,17	1,73	2,07 ^{bc}
NH2	0,38	0,83	2,83	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00^a
NT1	-	-	0,03	0,10	0,23	0,60	0,83	1,03	1,23	1,70 ^c
NT2	-	-	0,07	0,20	0,40	0,73	0,93	1,10	1,57	1,73 ^c
NT3	0,30	1,13	1,63	2,03	2,27	2,47	2,70	3,00	3,00	3,00^a
TB1	0,17	0,87	1,73	2,33	2,83	2,93	3,00	3,00	3,00	3,00^a
TB2	-	0,07	0,13	0,17	0,67	1,27	1,43	1,67	1,90	2,00 ^{bc}
TB3	0,03	0,57	1,17	1,40	2,23	2,57	3,00	3,00	3,00	3,00^a

Ghi chú:

(-) chưa có khí CO₂ sinh ra trong ống Durham

Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình 3 lần lặp lại

Trong cùng một cột các giá trị có mẫu tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%

Ở thời điểm 4 giờ đầu lên men, đa số các dòng nấm men đều lên men rất yếu. Các dòng nấm men HA3, NH2, và NT3 tạo chiều cao cột khí cao hơn các dòng còn lại, cho thấy các dòng này có khả

năng lên men nhanh. Sau 22 giờ lên men, chiều cao cột khí trong ống Durham ít thay đổi do quá trình lên men đã kết thúc. Sau 22 giờ lên men, các dòng nấm men HA1, HA3, HAQ1, NH2, NT3, TB1 và

TB3 tạo chiều cao cột khí trong ống Durham đạt tối đa (3,00 cm). Trong các dòng nấm men trên thì dòng nấm men NH2 có thời gian lên men ngắn và chiều cao cột khí sinh ra trong ống Durham đạt tối đa (3,00 cm).

3.2.2 Hoạt tính của 17 dòng nấm men đã phân lập (so sánh pH, độ Brix, độ rượu sau quá trình lên men)

Bảng 3 cho thấy sau quá trình lên men giá trị pH rượu được tạo ra bởi 17 dòng nấm men đều giảm so với pH 4,80 của dịch lên men ban đầu. Giá trị pH giảm là do hoạt động của nấm men trong quá trình lên men kị khí sinh ra CO₂ và một số acid hữu cơ (Luong Đức Phẩm, 2006). Trong đó, pH rượu được tạo ra bởi các dòng HA3, TB1, HA1, HAQ1, NG1, NT3 và NH2 giảm ít hơn so với các dòng còn lại. Với các mẫu rượu được tạo ra bởi các dòng

nấm men HA3, TB1, HA1, HAQ1, NG1, NT3 và NH2 pH giảm không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%.

Độ Brix giảm đáng kể sau quá trình lên men do nấm men chuyển đường thành rượu. Trong đó, có các dòng HA3, HAQ1, NH2, NT3 và TB1 hoạt động làm độ Brix giảm mạnh sau quá trình lên men, sự giảm độ Brix này là khác biệt có ý nghĩa thống kê so với sự giảm độ Brix bởi các dòng còn lại. Độ Brix sau khi lên men cao thì hàm lượng rượu ethylic trong dịch lên men thấp và ngược lại. Sau năm ngày lên men, các dòng nấm men từ HA3, HAQ1, NH2, NT3, và TB1 tạo ra lượng rượu ethylic cao hơn các dòng nấm men khác và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% (Bảng 3) (Rose và Harrison, 1987; Walker, 1998).

Bảng 3: Khả năng lên men của 17 dòng nấm men phân lập được

Dòng	pH		Độ Brix		Độ rượu ở 20°C
	Trước lên men	Sau lên men	Trước lên men	Sau lên men	
HA1	4,80	3,87 ^{ab}	18,20	14,00 ^{bc}	3,42 ^{cd}
HA2	4,80	3,69 ^{bc}	18,20	13,50 ^{bc}	3,49 ^{cd}
HA3	4,80	3,97^a	18,20	6,00^d	9,29^{ab}
HAQ1	4,80	3,87^{ab}	18,20	6,20^d	8,77^b
HAQ2	4,80	3,70 ^{bc}	18,20	14,20 ^{abc}	3,16 ^{cd}
HAQ3	4,80	3,56 ^c	18,20	13,30 ^c	4,43 ^{cd}
NG1	4,80	3,80 ^{ab}	18,20	14,60 ^{abc}	2,76 ^d
NG2	4,80	3,67 ^{bc}	18,20	15,50 ^a	2,71 ^d
NG3	4,80	3,68 ^{bc}	18,20	14,50 ^{abc}	3,92 ^{cd}
NH1	4,80	3,77 ^{abc}	18,20	13,30 ^c	3,69 ^{cd}
NH2	4,80	3,86^{ab}	18,20	5,80^d	10,61^a
NT1	4,80	3,65 ^{bc}	18,20	13,80 ^{bc}	3,37 ^{cd}
NT2	4,80	3,77 ^{abc}	18,20	15,50 ^a	2,87 ^d
NT3	4,80	3,84^{ab}	18,20	5,90^d	10,16^{ab}
TB1	4,80	3,87^{ab}	18,20	5,90^d	9,80^{ab}
TB2	4,80	3,83 ^{ab}	18,20	14,80 ^{ab}	2,60 ^d
TB3	4,80	3,78 ^{abc}	18,20	13,90 ^{bc}	4,88 ^c

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị của 2 lần lặp lại

Trong cùng một cột các giá trị có mẫu tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%

Do không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% của các dòng nấm men HA3, HAQ1, NH2, NT3 và TB1 về phương diện lên men rượu, các dòng nấm men này được sử dụng để thực hiện thí nghiệm 3 (kết quả được trình bày ở mục 3.3) so sánh các dòng nấm men có hoạt lực cao so với nấm men thị trường (*Saccharomyces cerevisiae*).

3.3 So sánh hoạt lực của các dòng nấm men phân lập với nấm men thị trường

Năm dòng nấm men mạnh được phân lập trong khuôn khổ nghiên cứu này gồm HA3, HAQ1,

NH2, NT3, và TB1 và dòng nấm men thị trường *Saccharomyces cerevisiae* (MT) được sử dụng để so sánh hoạt lực lên men của chúng. Kết quả đo đạt các thông số hóa lý của các mẫu lên men được thể hiện ở Bảng 4. Kết quả cho thấy giá trị pH của các mẫu sau lên men không có sự khác biệt, trong khi độ Brix của các mẫu sau lên men đều giảm mạnh, trong đó hai dòng nấm men NH2 và NT3 tác động làm độ Brix giảm nhiều hơn so với các dòng còn lại và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%. Quá trình lên men cho thấy, độ rượu của các mẫu lên men bởi hai dòng nấm men NH2 và

NT3 là cao hơn so với độ rượu của mẫu lên men bởi các dòng nấm men khác (khác biệt có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%) cho thấy hai dòng nấm men này có hoạt lực khá cao.

Bảng 4: Khả năng lên men của 5 dòng nấm men có hoạt tính cao so với men thị trường (*Saccharomyces cerevisiae*)

Dòng	pH		Độ Brix		Độ rượu ở 20°C
	Trước lên men	Sau lên men	Trước lên men	Sau lên men	
HA3	4,86	3,88 ^a	18,20	5,33 ^a	8,73 ^b
HAQ1	4,86	3,91 ^a	18,20	5,53 ^a	8,71 ^b
MT	4,86	3,92 ^a	18,20	5,33 ^a	9,05 ^b
NH2	4,86	3,93^a	18,20	5,27^a	10,60^a
NT3	4,86	3,93^a	18,20	4,93^b	10,55^a
TB1	4,86	3,95 ^a	18,20	5,53 ^a	9,04 ^b

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị của 3 lần lặp lại

Trong cùng một cột các giá trị có mẫu tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%

4 KẾT LUẬN

Từ 6 loại nấm men phổ biến trên thị trường đã phân lập được 17 dòng nấm.

– Men Hoàng Anh được ba dòng nấm men được kí hiệu là HA1, HA2, HA3

– Men Hải Anh Quang được ba dòng nấm men được kí hiệu là HAQ1, HAQ2, HAQ3

– Men Nàng Thơm phân lập được ba dòng nấm men được kí hiệu là NG1, NG2, NG3

– Men Nàng Hương phân lập được hai dòng nấm men được kí hiệu là NH1, NH2

– Men Nếp Thơm phân lập được ba dòng nấm men là NT1, NT2, NT3

– Men Thuốc Bắc phân lập được ba dòng nấm men là TB1, TB2 và TB3.

Trong số 17 dòng nấm men phân lập được thì có năm dòng nấm men (HA3, HAQ1, NH2, NT3, TB1) có hoạt tính khá cao, lên men độ cồn cao và thể hiện được sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% so với các dòng nấm men còn lại.

Kết quả so sánh năm dòng nấm men có hoạt lực cao so với nấm men thị trường (*Saccharomyces cerevisiae*) đã chọn được hai dòng nấm men NH2 và NT3 là hai dòng nấm men có hoạt tính cao và cho độ cồn cao nhất (10,60 và 10,55) và có khác biệt ý nghĩa thống kê so với các dòng nấm men còn lại.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả chân thành cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Vĩnh Long đã cung cấp kinh phí và hỗ trợ về mặt tinh thần để chúng tôi hoàn thành đề tài nghiên cứu. Xin cảm ơn Hợp tác xã rượu đế Cái Sơn (số 189, ấp Thanh Mỹ 2, xã Thanh Đức,

huyện Long Hồ, tỉnh Vĩnh Long) đã phối hợp khảo nghiệm chế phẩm men giống và hoàn thiện công nghệ sản xuất sản phẩm rượu đế Cái Sơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hà Phương Thảo. 2013. Phân lập, tuyển chọn và sản xuất thử nghiệm men rượu thuần để lên men rượu gạo. Luận văn Thạc sĩ ngành Công nghệ thực phẩm. Trường Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.
- Hoàng Vĩ Tài. 2006. Nghiên cứu sản xuất nấm mốc và nấm men thuần lên men rượu. Luận văn Thạc sĩ ngành Công nghệ sinh học. Trường Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.
- Karuwanna P. 2002. Wine, sciences and arts. Institute of Food Research and Product Development (IFRPD), Bangkok, Kasetsart University.
- Lee AC, Fujio Y. 1998. Microflora of “Banh men”, a fermentation starter from Vietnam. World Journal of Microbiology and Biotechnology 15:51-55.
- Lương Đức Phẩm. 2006. Nấm men công nghiệp. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật TP. Hồ Chí Minh.
- Ngô Thị Phương Dung, Lý Huỳnh Liên Hương, Huỳnh Xuân Phong. 2011. Phân lập, tuyển chọn nấm men và xác định điều kiện ảnh hưởng quy trình lên men rượu vang dưa hấu. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ 18b:137-145.
- Ngô Thị Phương Dung, Bùi Duy Nhân, Huỳnh Xuân Phong. 2012. Sản xuất men rượu từ *Saccharomyces cerevisiae* và enzyme amylase trong mầm lúa. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ 21a:11-18.

8. Nguyễn Đức Lượng. 2002. Công nghệ vi sinh, tập 3 – Thực phẩm lên men truyền thống. Nhà xuất bản Đại học Quốc Gia TP. Hồ Chí Minh.
9. Nguyễn Đức Lượng, Phan Thị Huyền, Nguyễn Ánh Tuyết. 2003. Thí nghiệm công nghệ sinh học, tập 2 – Thí nghiệm vi sinh vật học. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh.
10. Nguyễn Kim Đông, Phan Văn Thom, Lý Nguyễn Bình. 2012. Nghiên cứu quá trình sản xuất rượu đế quy mô hộ trên địa bàn tỉnh Vĩnh Long. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ 24a:153-166.
11. Nguyễn Văn Thành, Nguyễn Minh Thủy, Neáng Thơi. 2012. Phân lập và tuyển chọn nấm men từ nước thối nổi thu hoạch ở Tri Tôn, tỉnh An Giang. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ 22a:203-212.
12. Rose AH, Harrison JS .1987. Yeast, biology of yeast. Academic Press Ltd., London, 423 pp.
13. Walker GM. 1998. Yeast physiology and biotechnology, John Wiley & sons, Chichester, 353 pp.