

## Isolation and selection of potential phosphate solubilizing bacterial strains from soil of Xuan Lien National park

Nguyen Van Giang, Nguyen Duc Thai

### Abstract

This study was conducted to isolate and select microbial strains that can solubilize phosphate from soil of Xuan Lien National park. 25 bacterial strains which could solubilize phosphate from soil samples of Xuan Lien National park were isolated. Based on concentration of  $PO_4^{3-}$  released in cultivation media, two strains XL3.1 and RL4 were selected. Strains XL3.1 and RL4 exhibited  $N_2$ -fixing and IAA producing ability. When culturing at 25-30°C, pH7 in medium with suitable carbon and nitrogen sources such as glucose, lactose, maltose, peptone, yeast extract and  $KNO_3$ , these two strains developed well and expressed the highest capability of phosphate solubilization.

**Key words:** Phosphate solubilizing microorganisms (PSM),  $N_2$ -fixing, IAA production

Ngày nhận bài: 6/6/2017

Ngày phản biện: 13/6/2017

Người phản biện: PGS.TS. Lê Như Kiều

Ngày duyệt đăng: 25/6/2017

## TUYỂN CHỌN CHỦNG NẤM MEN, NẤM MỐC TỪ BÁNH MEN LÁ ỨNG DỤNG TRONG NÂNG CAO CHẤT LƯỢNG RƯỢU LÀNG NGHỀ TẠI HÀ GIANG

Phạm Anh Tuấn<sup>1</sup>, Hoàng Văn Đạt<sup>1</sup>, Hồ Tuấn Anh<sup>2</sup>

### TÓM TẮT

Nghiên cứu tiến hành tuyển chọn chủng nấm men, nấm mốc từ các vi sinh vật có trong các loại bánh men của các làng nghề sản xuất rượu tại các huyện Hoàng Su Phì và Quản Bạ, tỉnh Hà Giang. Kết quả đã tuyển chọn được chủng nấm mốc *Aspergillus niger* NLN.218 hỗ trợ thủy phân tinh bột và chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* RLN.168 có hiệu suất lên men đạt 93,07% ở nồng độ đường 18,14%, nồng độ cồn đạt 11,2% v/v. Kết quả đánh giá cảm quan cho thấy tất cả các mẫu thử nghiệm có điểm cảm quan thị hiếu cao hơn mẫu đối chứng được sản xuất từ loại bánh men truyền thống. Triển khai sản xuất thử nghiệm ở quy mô rộng hơn, kết quả đạt được cho thấy hiệu suất trung bình đạt từ 1,29 - 1,514 kg nguyên liệu/ lít rượu 30% v/v, tăng 6,5 - 24% so với bánh men lá truyền thống.

**Từ khóa:** Nấm mốc, nấm men, rượu làng nghề, bánh men lá, đánh giá cảm quan

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo thống kê của sở Công thương tỉnh Hà Giang, đến năm 2014, toàn tỉnh có 17 cơ sở tham gia sản xuất kinh doanh rượu chủ yếu theo mô hình Hợp tác xã với năng lực sản xuất khoảng 160.000 lít/năm. Các thương hiệu rượu truyền thống đã đạt được nhiều giải thưởng chất lượng bao gồm rượu Nàng Đôn xã Nàng Đôn, huyện Hoàng Su Phì, rượu Thanh Vân xã Thanh Vân, huyện Quản Bạ. Tuy nhiên do điều kiện sản xuất thủ công chủ yếu dựa trên kinh nghiệm của người sản xuất nên chất lượng rượu cũng như hiệu suất thu hồi chưa ổn định (HABECO, 2103).

Đối với sản phẩm rượu làng nghề, chất lượng bánh men quyết định hiệu suất lên men và hương, vị rượu sản phẩm. Bánh men là môi trường nuôi dưỡng và bảo quản hệ vi sinh vật có lợi trong sản xuất rượu thủ công. Nấm mốc sinh tổng hợp enzyme  $\alpha$ -amylase

và glucoamylase xúc tác quá trình thủy phân tinh bột tạo thành dextrin và các loại đường có khả năng lên men. Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* có vai trò quan trọng trong quá trình chuyển hóa đường thành cồn, tạo các thành phần hương và các sản phẩm phụ khác của quá trình lên men (Lương Đức Phẩm, 2009). Nghiên cứu thành phần vi sinh vật có trong bánh men rượu tại các làng nghề Hà Giang, nhóm nghiên cứu của Viện Kỹ thuật Bia - Rượu - Nước giải khát đã xác định được 4 chủng nấm mốc là *Aspergillus oryzae* NLN.216, *Aspergillus niger* NLN.217, *Aspergillus niger* NLN.218, *Mucor sp.* NLN.219 và 05 chủng nấm men là *Saccharomyces cerevisiae* RLN.168, RLN.169, RLN.170, RLN.171, RLN.172. Nhằm nâng cao chất lượng và duy trì được các tính chất cảm quan đặc trưng của rượu làng nghề, việc tuyển chọn chủng nấm men, nấm mốc từ các vi sinh vật từ nguồn bánh men lá của các làng nghề, ứng dụng sản xuất bánh men giống là cần thiết.

<sup>1</sup> Viện kỹ thuật Bia - Rượu - Nước giải khát, Tổng Công ty cổ phần Bia - Rượu - Nước giải khát Hà Nội

<sup>2</sup> Trường Đại học Kinh tế Kỹ thuật Công nghiệp

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các loại bánh men của các làng nghề sản xuất rượu tại Hà Giang; Các loại thảo dược truyền thống của các làng nghề sản xuất rượu; Các loại nguyên liệu ngô hoặc thóc được sử dụng làm lương thực và sản xuất rượu tại các làng nghề.

Trang thiết bị chuyên dụng trong phòng nghiên cứu của Viện kỹ thuật Bia - Rượu - Nước giải khát. Các thiết bị và hóa chất phân tích được sử dụng đáp ứng theo yêu cầu các phương pháp phân tích chuyên ngành, mô tả trong mục 2.3.

Trang thiết bị, dụng cụ sản xuất bánh men, rượu được đầu tư phục vụ sản xuất tại các làng nghề sản xuất rượu của huyện Hoàng Su Phì và Quản Bạ, tỉnh Hà Giang.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Tuyển chọn chủng vi sinh vật

Từ bộ sưu tập chủng giống vi sinh vật của Viện Kỹ thuật Bia - Rượu - Nước giải khát Hà Nội tiến hành đánh giá, tuyển chọn chủng nấm mốc, nấm men trên cơ sở phân tích các đặc tính công nghệ của chủng. Khả năng sinh amylase của 4 chủng nấm mốc được đánh giá dựa trên hiệu số đường kính vòng phân giải tinh bột và đường kính khuẩn lạc trên môi trường Czapek's Dox bằng cách thay thế đường sucrose bằng 1% tinh bột và sử dụng chỉ thị Lugol. Để đánh giá khả năng thủy phân cellulose sử dụng môi trường Czapek's Dox với nồng độ CMC là 1%.

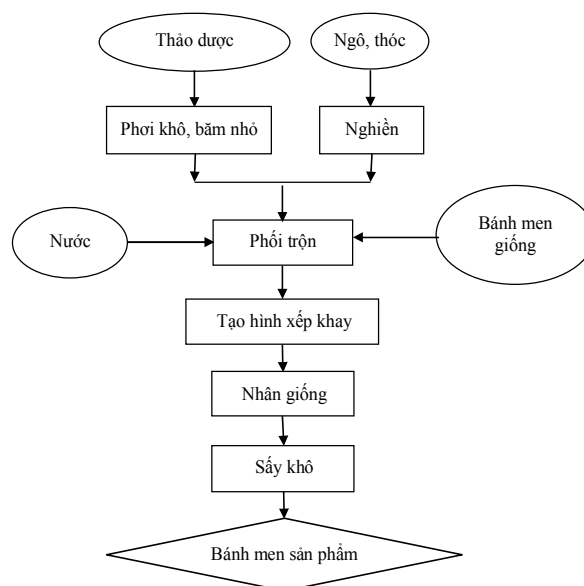
Hoạt lực lên men của 5 chủng nấm men được đánh giá thông qua lượng CO<sub>2</sub> sinh ra từ bình Engol Smith có cột CO<sub>2</sub> 10 ml, chứa 25 ml dịch chiết malt 8°S đã thanh trùng, sử dụng 1ml canh trường nấm men thuần chủng được nuôi cấy trên môi trường Hansen lỏng.

Khả năng lên men của chủng nấm men được đánh giá thông qua chất lượng rượu theo cách xác định nồng độ cồn (v/v) và hàm lượng các sản phẩm phụ của quá trình lên men. Môi trường lên men được

tạo ra bằng cách dịch hóa gạo với enzyme Termamyl SC 0,025%, dịch lên men sau khi được thanh trùng, làm nguội, bổ sung enzyme glucoamylase 0,1% và canh trường nấm men (Nguyễn Văn Thường, 2000).

#### 2.2.2. Quy trình sản xuất bánh men lá

Để đảm bảo mục tiêu của nhiệm vụ là lưu giữ được những tính chất cảm quan đặc trưng của vùng Hoàng Su Phì và Quản Bạ, nhóm thực hiện đã sử dụng chính quy trình sản xuất bánh men lá truyền thống để sản xuất bánh men giống. Sử dụng các chủng nấm mốc, nấm men được tuyển chọn để thu được bánh men giống nhằm đưa đi sản xuất bánh men sản phẩm. Bánh men sản phẩm dùng để thử nghiệm sản xuất rượu được tạo thành từ các công thức bổ sung bánh men giống và thảo dược khác nhau (Bảng 1). Quy trình sản xuất bánh men sản phẩm để nghiên cứu sản xuất rượu tại các làng nghề được thể hiện trên hình 1.



**Hình 1.** Quy trình sản xuất bánh men sản phẩm

Rượu được sản xuất thử nghiệm với các bánh men sản phẩm theo các công thức thể hiện trong bảng 1 được so sánh, đối chứng với sản phẩm rượu truyền thống của người dân địa phương.

**Bảng 1.** Công thức bổ sung bánh men giống và lượng thảo dược, tính theo % so với khối lượng bánh men

CT1: 2% bánh men giống, 0,2% thảo dược	CT4: 2% bánh men giống, 0,8% thảo dược
CT2: 2% bánh men giống, 0,4% thảo dược	CT5: 4% bánh men giống, 0,4% thảo dược
CT3: 2% bánh men giống, 0,6% thảo dược	CT6: 4% bánh men giống, 0,6% thảo dược

### 2.2.3. Sản xuất rượu tại làng nghề

Các thí nghiệm được thực hiện tại chính các hộ dân sản xuất rượu bằng cách cung cấp bánh men giống, quá trình sản xuất do chính người dân tự thực hiện từ khâu nấu, ủ men đến chưng cất sản phẩm. Phương pháp sản xuất rượu tại làng nghề bao gồm: Ngâm, thóc rửa sạch, hấp chín; Làm nguội; Trộn bánh men; Ủ hơ; Ủ kín (Lên men); Chưng cất; Rượu thành phẩm.

## 2.3. Các phương pháp phân tích

### 2.3.1. Xác định các chỉ tiêu hóa - lý và vi sinh

- Xác định nồng độ đường ban đầu, đường sót, hàm lượng cồn và hiệu suất lên men bằng máy phân tích tự động Anton Par- Thụy Sĩ.

- Phương pháp phân tích các chất thơm bằng sắc ký khí theo phương pháp AOAC.972.10. Sử dụng máy sắc ký khí (GC) ThermoQuest.

- Xác định hàm lượng axit bằng phương pháp chuẩn độ với NaOH, xác định mật độ tế bào nấm men bằng buồng đếm Neubauer (Lê Thanh Mai và ctv., 2007).

### 2.3.3 Phương pháp đánh giá cảm quan rượu

- Chỉ tiêu: Viện dẫn tiêu chuẩn TCVN 7043:2013. Rượu trắng chưng cất. Yêu cầu đối với nguyên liệu và đối với sản phẩm.

- Phép thử cho điểm thị hiếu: Viện dẫn Kỹ thuật

phân tích cảm quan thực phẩm (Hà Duyên Tú, 2006). Mẫu thử được sắp xếp thứ tự theo sơ đồ đường chéo sao cho nhưng người thử ngồi kế tiếp nhau sẽ không nhận được mẫu thử có thứ tự sắp xếp giống nhau nhằm tránh hiện tượng thảo luận kết quả. Người thử nhận được các mẫu sản phẩm được đánh số theo thứ tự và phiếu đánh giá cảm quan thị hiếu bao gồm các chỉ tiêu để nghị đánh giá, người thử cho điểm thị hiếu các chỉ tiêu bằng cách ngồi và nếm mẫu rượu sau đó đánh dấu vào mức cảm nhận từ mức 1 (cực kỳ không thích) đến mức 9 (cực kỳ thích) như được đề xuất trong mẫu thử. Người tổng hợp, xử lý số liệu cảm quan sẽ quy đổi điểm đánh giá ở các mức cảm nhận thành từ 1 đến 9, sau đó tiến hành xử lý thống kê số liệu.

## 2.4. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

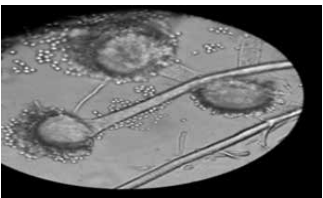
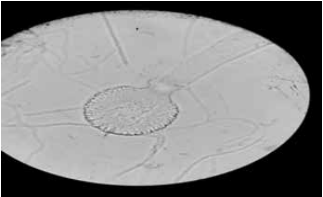

Các thí nghiệm được tiến hành từ tháng 5 - 12/2014 tại các làng nghề sản xuất rượu thuộc các huyện Hoàng Su Phì và Quản Bạ, Hà Giang và Viện Kỹ thuật Bia - Rượu - Nước giải khát, Tổng Công ty cổ phần Bia - Rượu - Nước giải khát Hà Nội.

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Tuyển chọn chủng nấm mốc

Một số đặc điểm hình thái của các loài nấm mốc đã được phân lập từ các mẫu nấm men lá của các làng nghề thể hiện trên bảng 2.

**Bảng 2.** Đặc điểm hình thái các loài nấm mốc phân lập từ bánh men truyền thống

STT	Loại nấm	Đặc điểm hình thái	Hình ảnh
1	<i>Aspergillus oryzae</i>	Khuẩn ty phân nhánh, có vách ngăn, cuống bào tử dài 1mm, bong bào tử hình tròn, thể bình một tầng, bào tử đính màu vàng, bông nấm hình chùy.	
2	<i>Aspergillus niger</i>	Khuẩn ty phân nhánh, có vách ngăn, cuống bào tử dài 1mm, bong bào tử hình tròn, thể bình một tầng hay hai tầng, bào tử đính màu đen, bông nấm hình cầu giống hoa cúc	
3	<i>Mucor sp.</i>	Khuẩn ty phân nhánh không có vách ngăn, bào tử túi, bào tử hình thoi có vân dọc theo , bào tử màu đen	

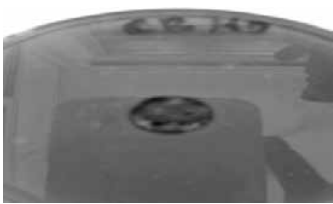
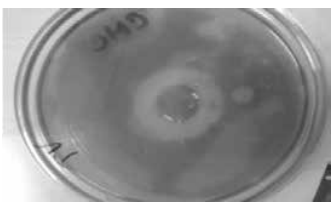
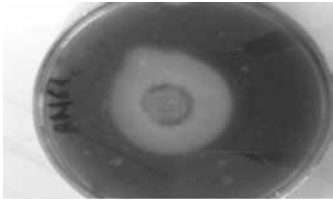
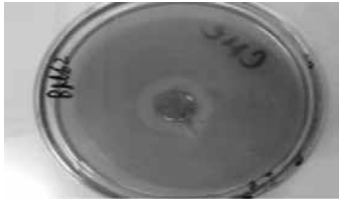




Các chi tiết mô tả trong bảng 1 phù hợp về đặc điểm vách ngăn, dạng bào tử, màu sắc của các loài tương ứng (Nguyễn Lân Dũng, 2006).

Do đặc điểm sử dụng phương pháp lên men khô tại các làng nghề sản xuất rượu truyền thống, ngoài việc tuyển chọn chủng nấm mốc sinh enzyme thủy phân tinh bột cao còn có yêu cầu thủy phân cellulose. Kết quả thử nghiệm khả năng phân giải tinh bột và cellulose của 4 chủng nấm mốc *Aspergillus oryzae* NLN.216, *Aspergillus niger* NLN.217, *Aspergillus*

*niger* NLN.218, *Mucor sp.* đã được phân lập và định danh được thể hiện trên bảng 3.

Khi thử nghiệm trên cơ chất tinh bột, chủng *Aspergillus niger* NLN.218 có hiệu số đường kính vòng phân giải và đường kính khuẩn lạc  $D-d = 10$  mm lớn nhất, trên môi trường CMC hiệu số  $D-d = 6$  mm cũng lớn nhất so với các chủng còn lại. Phân tích các kết quả đạt được, chủng *Aspergillus niger* NLN.218 được tuyển chọn do có khả năng phân giải tinh bột và cellulose cao nhất.

**Bảng 3.** Khả năng phân giải tinh bột và cellulose của chủng nấm mốc

STT	Chủng	Khả năng phân giải tinh bột (mm/mm)	Khả năng phân giải cellulose (mm/mm)
1	<i>Aspergillus oryzae</i> NLN.216	 d/D=2/3	 d/D =2/5
2	<i>Aspergillus niger</i> NLN.217	 5/15	 2/4
3	<i>Aspergillus niger</i> NLN.218	 5/17	 2/8
4	<i>Mucor sp.</i> NLN.219	 2/3	 2/5

### 3.2. Tuyển chọn chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae*

Kết quả nghiên cứu đặc điểm hình thái của 05 chủng nấm men đã được phân lập và định danh từ các mẫu bánh men truyền thống *Saccharomyces cerevisiae* RLN.168, RLN.169, RLN.170, RLN.171, RLN.172 được mô tả trong bảng 4.

Theo các kết quả đạt được, các chủng nấm men có sự khác biệt không nhiều về các đặc điểm hình thái. Chủng *Saccharomyces cerevisiae* RLN.168 có nổi trội hơn so với các chủng còn lại về kích thước tế bào, kích thước khuẩn lạc.

Kết quả đánh giá hoạt lực lên men của 5 chủng nấm men được thể hiện trên bảng 5.

**Bảng 4.** Đặc điểm hình thái các chủng nấm men phân lập từ bánh men truyền thống

TT	Đặc điểm hình thái	Chủng nấm men <i>Saccharomyces cerevisiae</i>				
		RLN.168	RLN.169	RLN.170	RLN.171	RLN.172
1	Kích thước khuẩn lạc (KL), mm	5,4	5,0	4,8	4,85	4,6
2	Hình dạng chung KL	Tròn, to	Tròn, to	Tròn	Tròn	Tròn, nhỏ
3	Bề mặt KL	Trơn, bóng	Trơn, bóng	Nhăn	Trơn, bóng	Trơn, bóng
4	Mép KL	Không có răng cưa	Không có răng cưa	Có răng cưa	Không có răng cưa	Không có răng cưa
5	Chiều dày KL, mm	1,2	1,2	1,15	1,20	1,10
6	Màu sắc KL	Trắng đục	Trắng đục	Trắng	Trắng, đục	Trắng
7	Hình dạng tế bào (TB)	Elip, cầu, trứng	Elip, cầu, trứng	Cầu, ovan, trứng	Cầu, ovan, trứng	Cầu, ovan, trứng
8	Hình thức nảy chồi	Nhiều phía	Nhiều phía	Nhiều phía	Nhiều phía	Nhiều phía
9	Kích thước TB, $\mu\text{m}$	$5,7 \div 6,2$	$5,6 \div 6,2$	$5,2 \div 6,0$	$5,3 \div 5,8$	$5,4 \div 6,0$

**Bảng 5.** Hoạt lực lên men của các chủng nấm men từ bánh men truyền thống, ml CO<sub>2</sub>

Thời gian, giờ	Chủng nấm men				
	RLN.168	RLN.169	RLN.170	RLN.171	RLN.172
1	0,4	0,5	0,4	0,3	0,3
2	0,9	1,1	0,8	0,7	0,7
3	1,7	2,3	1,5	1,2	1,3
4	2,6	3,7	2,4	1,9	2,1
5	4,1	5,5	3,6	2,8	3,5
6	6,3	7,9	5,1	3,9	5,2
7	8,5	9,9	7,2	5,3	7,1
8	10	>10	9,5	6,7	9,3

Kết quả đạt được trong bảng 5 cho thấy, sau 8h quan sát, số ml CO<sub>2</sub> sinh ra từ quá trình lên men với các chủng nấm men đã xác định là không đồng nhất do sự khác biệt về hoạt lực lên men. Chủng RLN.171 có hoạt lực lên men thấp hơn, các chủng RLN.168 và RLN.169 có hoạt lực lên men cao nhất.

Khả năng lên men của chủng nấm men được đánh giá thông qua khả năng tạo nồng độ cồn cao, nhiều chất thơm tương tự như ethylacetate, tạo ít các sản phẩm phụ có ảnh hưởng tiêu cực đến tính chất cảm quan cũng như an toàn vệ sinh thực phẩm. Kết quả thử nghiệm được thể hiện trên bảng 6.

**Bảng 6.** Đánh giá khả năng lên men của 5 chủng nấm men từ bánh men truyền thống

Thành phần	Chủng nấm men				
	RLN.168	RLN.169	RLN.170	RLN.171	RLN.172
Nồng độ đường ban đầu, %	18,14	18,23	18,03	18,09	17,93
Hàm lượng cồn, % v/v	11,20	10,87	10,08	8,73	9,16
Hiệu suất lên men, %	93,07	88,9	83,04	70,90	67,28
Acetaldehyde, mg/l	91,5	97,6	103,7	99,5	103,7
Ethylacetate, mg/l	62,987	47,723	57,38	58,385	66,313
Methanol, mg/l	18,55	30,67	78,901	98,665	92,717
Iso-propanol, mg/l	93,5	106,53	107,92	113,78	113,78
n-propanol, mg/l	10,72	14,063	59,929	62,068	57,43
iso-butanol, mg/l	83,587	120,157	785,608	66,579	57,715
iso-amyllic, mg/l	172,135	357,39	348,266	285,67	317,75
Furfural, mg/l	22,656	45,42	30,206	41,18	61,286
Hàm lượng axit, g/l	5,62	5,85	6,48	7,2	8,74

Phân tích, so sánh các kết quả nghiên cứu từ các bảng 4, 5, và 6, chủng *Saccharomyces cerevisiae* RLN.168 được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo do có một số đặc điểm nổi trội như sau: Khả năng tạo độ cồn cao nhất (11,2% v/v) và hiệu suất lên men đạt cao nhất (93,07%); Các sản phẩm phụ của quá trình lên men do chủng này sinh ra phù hợp nhất trong số các chủng được nghiên cứu; Khả năng lên men tương đối nhanh do có hoạt lực lên men cao sẽ hạn chế được sự nhiễm tạp trong quá trình lên men ở điều kiện sản xuất thủ công thực tế; Tạo ít axit, sản phẩm ít mùi vị chua.

### 3.3. Nghiên cứu xác định nồng độ đường lên men cho chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* RLN.168

Khả năng lên men của chủng nấm men ở điều kiện nồng độ đường ban đầu từ 14 - 22% được khảo sát nhằm đánh giá khả năng tạo cồn. Kết quả thử nghiệm tại phòng nghiên cứu thể hiện trên bảng 7.

Kết quả nghiên cứu tại phòng thí nghiệm cho thấy chủng nấm men được lựa chọn có khả năng lên men tạo hàm lượng cồn lớn hơn 12% v/v ở hàm lượng đường ban đầu 20,06% và hiệu suất lên men đạt 87,06%. Tuy nhiên hiệu suất lên men của chủng nấm men đạt cao nhất là 93,07% ở nồng độ đường 18,14%, nồng độ cồn 11,2% v/v ở mức khá tốt trong công nghệ sản xuất rượu. Tại các vùng sản xuất rượu truyền thống của huyện Hoàng Su Phì và Quản Bạ nồng độ đường dao động trong khoảng 16 - 18%.

Như vậy, chủng nấm men được tuyển chọn phù hợp với điều kiện sản xuất tại vùng sản xuất rượu.

**Bảng 7.** Khả năng tạo cồn của chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* RLN.168

STT	Độ đường (%)	Đường sót (%)	Nồng độ cồn (% v/v)	Hiệu suất lên men (%)
1	13,59	1,37	7,95	90,52
2	15,09	1,38	9,03	91,50
3	18,14	1,38	11,20	93,07
4	20,06	2,94	12,03	87,06
5	22,15	4,54	12,18	81,42

### 3.4. Kết quả sản xuất thử nghiệm tại làng nghề

Các sản phẩm rượu làng nghề luôn có những tính chất cảm quan đặc trưng của từng vùng, tính đặc trưng đó có được không chỉ bởi số lượng, chủng loại vi sinh vật có trong bánh men hay điều kiện khí hậu mà còn bởi do nguồn thảo dược được sử dụng. Các thử nghiệm lên men sản xuất rượu được thực hiện tại chính các hộ dân sản xuất rượu bằng cách cung cấp bánh men giống, quá trình sản xuất do người dân tự thực hiện từ khâu nấu, ủ men cho đến chưng cất sản phẩm. Kết quả đánh giá cảm quan thị hiếu rượu lên men với các bánh men tạo thành theo bảng 1 và mẫu rượu đối chứng (CT7) là rượu truyền thống không sử dụng các chủng vi sinh vật tuyển chọn được thể hiện trong bảng 8.

**Bảng 8.** Tổng hợp kết quả đánh giá cảm quan rượu

Chỉ tiêu	Điểm trung bình của mẫu rượu theo công thức bánh men						
	CT 1	CT 2	CT3	CT4	CT5	CT 6	CT7 (đối chứng)
Độ trong	5,38	6,25	5,0	5,18	7,5	5,17	5,1
Mùi thơm rượu	6,25	5,11	5,4	5,78	7,2	5,8	4,5
Mùi thơm lá	5,86	6,0	5,57	5,71	7,0	5,56	4,0
Vị ngọt	5,25	6,0	5,78	6,11	7,09	5,5	3,67
Vị chua	5,67	6,11	6,11	6,11	7,0	6,1	3,11
Vị đắng	5,88	6,38	5,88	6,38	6,8	6,0	3,38
Sở thích	5,67	5,44	4,89	6,0	6,6	5,4	3,22

Ghi chú: Vị chua: điểm càng cao rượu càng ít chua.

Từ kết quả đánh giá cảm quan cho thấy tất cả các mẫu thử nghiệm có điểm cảm quan thị hiếu cao hơn so với mẫu đối chứng (CT7) được sản xuất từ loại bánh men truyền thống. Như vậy, việc ứng

dụng chủng vi sinh vật thuần khiết vào bánh men lá truyền thống đã nâng cao được chất lượng cảm quan của sản phẩm. Các chỉ tiêu đánh giá cảm quan rượu đạt giá trị cao nhất tại CT5.

Cũng từ kết quả thử nghiệm trên, nhóm thực hiện đã tiếp tục triển khai sản xuất ở quy mô rộng hơn. Bánh men được sản xuất theo công thức CT5 của bảng 1. Kết quả thống kê từ các hộ gia đình tham gia sản xuất thử cho thấy hiệu suất lên men trung bình (kg nguyên liệu/lít rượu 30% v/v) đạt từ 1,29 - 1,514 kg/lít, tăng từ 6,5 - 24% so với bánh men lá truyền thống.

#### IV. KẾT LUẬN

- Đã tuyển chọn được chủng nấm mốc *Aspergillus niger* NLN.218 và chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* RLN.168 từ các vi sinh vật có trong bánh men truyền thống để ứng dụng sản xuất men lá phục vụ sản xuất rượu làng nghề tại Hoàng Su Phi và Quản Bạ, Hà Giang;

- Đã thử nghiệm thành công việc bổ sung chủng vi sinh vật thuần khiết vào quy trình sản xuất bánh men lá truyền thống. Rượu sản phẩm được sản xuất từ bánh men lá thử nghiệm đáp ứng được yêu cầu nâng cao giá trị cảm quan của sản phẩm rượu truyền thống và nâng cao được hiệu suất lên men từ 6,5 - 24%.

#### LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Tổng Công

ty Cổ phần Bia - Rượu - Nước giải khát Hà Nội đã tạo điều kiện về tài chính và cơ sở vật chất cho các nghiên cứu đã tiến hành.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Lâm Dũng**, 2002. *Vi sinh vật học*. NXB Giáo dục.
- Lê Thanh Mai, Nguyễn Thị Hiền, Phạm Thu Thủy, Nguyễn Thanh Hằng, Lê Thị Lan Chi**, 2007. *Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men*. NXB Khoa học và Kỹ thuật. Hà Nội.
- Lương Đức Phẩm**, 2009. *Nấm men công nghiệp*. NXB Khoa học và Kỹ thuật.
- TCVN 7043:2013**. Rượu trắng chung cất. Yêu cầu đối với nguyên liệu và đối với sản phẩm: Chỉ tiêu cảm quan, chỉ tiêu hóa học.
- Hà Duyên Tư**, 2006. *Kỹ thuật phân tích cảm quan thực phẩm*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật. Hà Nội.
- Tổng công ty CP Bia –Rượu – Nước giải khát Hà Nội (HABECO)**, 9/2103. Báo cáo khảo sát hiện trạng sản xuất rượu làng nghề tại tỉnh Hà Giang do HABECO phối hợp thực hiện với Cục công nghiệp Địa phương – Bộ Công thương và Sở Công thương tỉnh Hà Giang thực hiện theo Thông báo số 367/TB-BCT.
- AOAC.972.10**, Alcohols (Higher) and Ethyl Acetate in Distilled Liquors, Alternative Gas Chromatographic Method.

### **Selection of mold and yeast strains from yeast cake for improving the quality of velves alcohol in Ha Giang**

Pham Anh Tuan, Hoang Van Dat, Ho Tuan Anh

#### Abstract

This study presents steps for selecting mold and yeast strains from microorganisms found in the yeast cakes of the wineries in Hoang Su Phi and Quan Ba districts. The mold strain *Aspergillus niger* NLN.218 for starch hydrolysis and yeast strain *Saccharomyces cerevisiae* RLN.168 with fermentation efficiency of 93.07% at 18.14% sugar concentration and alcohol concentration of 11.2% v/v were selected. The results of sensory evaluation showed that all samples had higher scores than that of the control samples produced from traditional yeast cake. The results of larger scale production showed that the average fermentation efficiency was 1.29 - 1.514 kg of raw material per liter of alcohol at 30% v/v, increasing by 6.5 - 24% compared to the traditional yeast cake.

**Key words:** Mold, yeast, velves alcohol, yeast cake, sensory analysis.

Ngày nhận bài: 4/6/2017  
Ngày phản biện: 10/6/2017

Người phản biện: TS. Trần Danh Sửu  
Ngày duyệt đăng: 25/6/2017

## PHÂN TÍCH SO SÁNH HÀM LƯỢNG CÁC HỢP CHẤT SINH HỌC CỦA CÂY THUỐC DÒI THÂN TÍM ĐỎ VÀ THÂN XANH ĐƯỢC THU THẬP TRÊN ĐỊA BÀN TỈNH AN GIANG

Nguyễn Duy Tân<sup>1</sup>, Võ Thị Xuân Tuyền<sup>1</sup>, Nguyễn Minh Thủy<sup>2</sup>

### TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân tích so sánh hàm lượng các hợp chất sinh học (anthocyanin, flavonoid, polyphenol và tannin) của 04 mẫu cây thuốc dòi, trong đó có 03 mẫu cây thuốc dòi thân tím đỏ được thu thập từ các hộ dân trồng khác nhau: (M1) hộ dân trồng trong vườn nhà, khu vực chân Núi Cấm thuộc xã An Hào, huyện Tịnh Biên; (M2) hộ dân trồng xen canh trong vườn xoài, khu vực Cù lao thuộc xã Hòa Bình, huyện Chợ Mới; (M3) nghiên cứu trồng ở khu thực nghiệm Trường Đại học An Giang, khu vực Đồng bằng thuộc thành phố Long Xuyên và 01 mẫu cây thuốc dòi thân xanh mọc tự nhiên trong khu viên trường (M4). Kết quả cho thấy, hàm lượng các hợp chất sinh học trong các mẫu thu thập được có sự khác nhau ở mức ý nghĩa  $P < 0,05$ . Cụ thể, hàm lượng anthocyanin cao nhất (41,55 mgCE/100g FW) ở mẫu M1, kể đến là  $M3 > M2 > M4$ ; ngược lại hàm lượng flavonoid cao nhất (2,71 mgQE/g FW) ở mẫu M4, kể đến là  $M3 > M2 > M1$ ; trong khi đó, hàm lượng polyphenol và tannin cao nhất lần lượt là 4,26 mgGAE/g FW và 3,78 mgTAE/g FW ở mẫu M3, kể đến là  $M2 > M1 > M4$ .

**Từ khóa:** Cây thuốc dòi (*Pouzolzia zeylanica* L. Benn), anthocyanin, flavonoid, polyphenol, tannin

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây thuốc dòi có tên khoa học là *Pouzolzia zeylanica* L. Benn, thuộc họ Gai (Urticaceae), là một trong những loài thực vật có tác dụng trị bệnh. Theo Đông y, cây thuốc dòi có vị ngọt nhạt, tính mát, có tác dụng chỉ khát, tiêu đờm, dùng chữa ho lâu ngày, ho lao, viêm họng, viêm thanh phế quản (Võ Văn Chi, 2012). Bên cạnh đó, nhiều nghiên cứu cho thấy trong cây thuốc dòi có chứa một số chất có hoạt tính sinh học cao như: isoflavone, alkaloid, polyphenol, tannin, flavonoid, glycoside. Những chất này có khả năng kháng khuẩn, kháng nấm, ức chế sự phát triển của tế bào, ngăn ngừa ung thư (Lê Thanh Thủy, 2007; Paul and Saha, 2012).

Cây thuốc dòi có một vị trí khá quan trọng đối với người dân ở khu vực Đồng bằng sông Cửu Long, được người dân sử dụng như một loại rau để ăn sống, nấu canh hoặc phối hợp với các loại nguyên liệu khác như mã đề, rễ tranh, lá dứa, mía lau để nấu nước uống bồi bổ cơ thể, thanh nhiệt, trị ho. Ngày nay, cùng với sự phát triển nhanh về kinh tế, thì con người cũng phải đối mặt với rất nhiều áp lực trong công việc cũng như nhiều căn bệnh mới do đó yêu cầu ngày càng phải có nhiều dược liệu mới với số lượng lớn cung cấp cho ngành công nghiệp sản xuất thuốc. Vì vậy, trong những năm gần đây các nhà khoa học đã không ngừng nghiên cứu và đẩy mạnh việc ứng dụng cây thuốc mới vào sản xuất thực phẩm chức năng và dược phẩm.

Tuy nhiên, việc nghiên cứu trên cây thuốc dòi hiện nay còn rất ít, kỹ thuật canh tác hầu như chưa

được nghiên cứu. Phần lớn cây thuốc dòi được trồng xen canh trong các vườn cây ăn trái với diện tích nhỏ và chỉ xem là cây trồng phụ, mỗi hộ trồng với phương pháp khác nhau nên cây thuốc dòi được bày bán trên thị trường với những màu thân cây tím đỏ khác nhau. Một số cây thuốc dòi mọc tự nhiên thì có thân cây màu xanh. Cho đến nay chưa có nghiên cứu nào công bố về hàm lượng các thành phần hóa học có trong cây thuốc dòi. Do đó, đây là nghiên cứu đầu tiên được thực hiện để phân tích hàm lượng một số hợp chất sinh học hiện diện trong cây thuốc dòi thân tím đỏ được trồng từ các hộ dân và cây thuốc dòi thân xanh mọc tự nhiên trên địa bàn tỉnh An Giang. Để từ đó trả lời câu hỏi được đặt ra là cây thuốc dòi nào có chứa các hợp chất sinh học nhiều hơn, vì ở khu vực Đồng bằng sông Cửu Long hiện nay có 2 loại cây thuốc dòi: loại cây thân tím đỏ và cây thân xanh, người dân chỉ trồng loại cây thân tím đỏ vì cho là có tác dụng trị bệnh tốt hơn và cây thân xanh thì chỉ mọc trong môi trường tự nhiên. Điều này rất có ý nghĩa cho các nghiên cứu tiếp theo về quy trình trồng cây thuốc dòi (khảo sát điều kiện trồng trọt và chăm sóc). Nhằm có sự khuyến cáo cho người dân trồng loại cây thuốc này một cách hiệu quả nhất trong tương lai.

### II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Hóa chất và thiết bị phân tích

- Hóa chất chuẩn sử dụng: Acid gallic, acid tannic, quercetin, thuốc thử Folin-Cioalteau, Folin Denis (Sigma/Aldrich, Hoa Kỳ và Merck, Đức). Các

<sup>1</sup> Khoa Nông nghiệp và Tài nguyên thiên nhiên, Trường Đại học An Giang

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