

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP.HỒ CHÍ MINH
BỘ MÔN CÔNG NGHỆ SINH HỌC**



KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP

**NGHIÊN CỨU THỬ NGHIỆM CHẾ BIẾN
RƯỢU VANG CHUỐI**

Ngành học: CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Niên khoá: 2003 – 2007

Sinh viên thực hiện: HỒ THỊ KIM NGÂN

Thành phố Hồ Chí Minh
Tháng 9/2007

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP.HỒ CHÍ MINH
BỘ MÔN CÔNG NGHỆ SINH HỌC**



**NGHIÊN CỨU THỬ NGHIỆM CHẾ BIẾN
RƯỢU VANG CHUỐI**

**Giáo viên hướng dẫn:
ThS. VƯƠNG THỊ VIỆT HOA**

**Sinh viên thực hiện:
HỒ THỊ KIM NGÂN**

Thành phố Hồ Chí Minh
Tháng 9/2007

LỜI CẢM TẠ

Con xin gửi lòng biết ơn đến cha mẹ, Người đã nuôi dạy con nên người, tạo điều kiện về vật chất cũng như tinh thần để con có được như ngày hôm nay.

Em xin chân thành cảm ơn:

Ban giám hiệu trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh, Ban chủ nhiệm Bộ Môn Công nghệ sinh học, cùng tất cả quý thầy cô đã truyền đạt kiến thức cho em trong suốt quá trình học tại trường.

Ths Vương Thị Việt Hoa đã hết lòng hướng dẫn, giúp đỡ em trong suốt thời gian thực tập tốt nghiệp.

Ks Nguyễn Minh Hiền đã tận tình giúp đỡ, tạo điều kiện thuận lợi cho em trong thời gian thực tập tốt nghiệp.

Các bạn bè thân yêu của lớp Công nghệ sinh học 29 và Bảo quản 29 đã chia sẻ cùng tôi những vui buồn trong thời gian học cũng như hết lòng hỗ trợ, giúp đỡ tôi trong thời gian thực tập.

Sinh viên Hồ Thị Kim Ngân.

TÓM TẮT

Đề tài “**Nghiên cứu thử nghiệm chế biến rượu vang chuối**” được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Vi sinh, Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại Học Nông Lâm Tp.HCM từ tháng 03/07 đến tháng 07/07 dưới sự hướng dẫn của Thạc sĩ Vương Thị Việt Hoa nhằm xây dựng quy trình sản xuất rượu vang chuối phục vụ cho nhu cầu con người và nâng cao giá trị kinh tế của quả chuối thông qua khảo sát và chọn lựa các yếu tố thích hợp nhất cho quá trình lên men rượu vang.

Cây chuối được trồng nhiều ở vùng nhiệt đới và có nhiều loại khác nhau, giá thành của chuối cũng tương đối rẻ, vì vậy, chuối được sử dụng như một loại trái cây lý tưởng trong bữa ăn hằng ngày do rất tốt đối với những người bệnh về đường tiêu hóa. Trong thành phần quả chuối có chứa nhiều đường, ngoài ra còn có một lượng đáng kể protein, muối khoáng, hợp chất thơm,... rất thích hợp để chế biến rượu vang như các loại trái cây khác.

Đề tài khảo sát phương pháp xử lý nguyên liệu, loại đường bổ sung, các thông số của quá trình lên men, lượng mật ong sử dụng để cho sản phẩm đạt chất lượng cao.

Kết quả đạt được:

* Phương pháp nấu được chọn là phương pháp tối ưu với đường sử dụng là đường vàng, tỉ lệ giữa khối lượng chuối và thể tích nước là 1:3.

* Chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* 3 (SC.3) cho kết quả tốt nhất với tỉ lệ 3% và mật độ nấm men gieo cấy là 10^8 tế bào/ml, nồng độ chất khô thích hợp là 22 % cùng với 4 ngày lên men chính.

* Sản phẩm rượu vang không có phôi chế mật ong cho kết quả tốt nhất.

Tp.HCM, ngày 20 tháng 8 năm 2007

Bộ môn Công nghệ sinh học

ABSTRACT

Project “**Study in producing banana wine**” is practiced at microorganism laboratory, faculty of food industry, Nong Lam University from March to July, 2007 with guide is MSc.Vuong Thi Viet Hoa to set up production process banana wine to serve people needs and raise economics value from bananas by study and choice the best factors for the processing of wine fermentation.

Bananas are grown in tropical areas and have many species, the prices is relatively cheap, so, bananas are used as an ideal fruit in meal every day because good for digestive system patient. Bananas have much glucose; in addition, have amount considerable protein, mineral salt, aroma compound... appropriate to produce wine as other fruits.

Project study the method of material processing, sugar type to add, parameters of fermentation processing, and amount of honey is added for high quality product.

Results:

* Boil is optimal method with yellow sugar, ratio between banana and water is 1:3.

* *Saccharomyces cerevisiae* 3 yeast with 3 percents and density cultivate is 10^8 cells/ milliliter are suitable; in addition, substance concentration is 22 percents and 4 days for major fermentation.

* Wine product with no honey is suitable.

Ho Chi Minh City, 20th, August, 2007

Faculty of biotechnology

MỤC LỤC

CHƯƠNG	TRANG
TRANG TỰA	
LỜI CẢM TẠ	iii
TÓM TẮT	iv
ABSTRACT	v
MỤC LỤC	vi
DANH SÁCH CÁC CHỮ VIẾT TẮT	viii
DANH SÁCH CÁC HÌNH, SƠ ĐỒ, ĐỒ THỊ	ix
DANH SÁCH CÁC BẢNG	x
1. MỞ ĐẦU	1
2. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
2.1. Cây chuối	3
2.1.1. Giới thiệu	3
2.1.2. Nguồn gốc và phân bố	3
2.1.3. Thành phần hóa học của chuối	4
2.1.4. Giá trị dinh dưỡng và ý nghĩa kinh tế	4
2.2. Mật ong	5
2.3. Rượu vang	5
2.3.1. Định nghĩa	5
2.3.2. Nguyên liệu trong sản xuất rượu vang	5
2.3.3. Thành phần và giá trị dinh dưỡng của rượu vang	6
2.3.4. Phân loại rượu vang	6
2.4. Nấm men dùng trong sản xuất	8
2.4.1. Định nghĩa	8
2.4.2. Hình dáng và cấu tạo tế bào nấm men	8
2.4.3. Sinh sản của nấm men	8
2.4.4. Đặc điểm của nấm men vang	9
2.5. Lên men rượu vang	10
2.5.1. Cơ chế	10
2.5.2. Cơ sở lý luận của quá trình lên men rượu	10
2.5.3. Cơ sở sinh hóa của quá trình lên men rượu	11
2.5.4. Quy trình cơ bản trong sản xuất rượu vang	13
2.5.5. Chất lượng rượu vang	14
2.5.6. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu	15
2.5.6.1. Nhiệt độ	15
2.5.6.2. pH	15
2.5.6.3. Oxy	16
2.5.6.4. Đường	16
2.5.6.5. Etanol	17
2.5.6.6. Khí cacbonic (CO ₂)	18

2.5.6.7. Thời gian lên men	18
3. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP THÍ NGHIỆM	19
3.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu	19
3.2. Nguyên liệu, hóa chất, thiết bị	19
3.3. Nội dung và phương pháp tiến hành	20
3.3.1. Thí nghiệm 1: Khảo sát phương pháp xử lý nguyên liệu và loại đường bổ sung	20
3.3.2. Thí nghiệm 2: Khảo sát 3 chủng nấm men (SC.3, SC.4, SC.5)	21
3.3.3. Thí nghiệm 3: Khảo sát 3 tỉ lệ men (3%, 5%, 7%)	22
3.3.4. Thí nghiệm 4: Khảo sát 3 nồng độ chất khô (20%, 22%, 24%)	23
3.3.5. Thí nghiệm 5: Khảo sát 4 mức thời gian lên men (3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày)	24
3.3.6. Thí nghiệm 6: Khảo sát quá trình lên men phụ của vang chuối có bổ sung mật ong (2%, 5%)	25
3.4. Phương pháp xác định các chỉ tiêu	25
3.5. Kiểm tra chất lượng sản phẩm	26
3.6. Xử lý số liệu	26
4. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	27
4.1. Khảo sát phương pháp xử lý nguyên liệu và loại đường bổ sung	27
4.1.1. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu hóa lý	27
4.1.2. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu cảm quan	28
4.2. Khảo sát khả năng lên men của các chủng nấm men	29
4.2.1. Ảnh hưởng của các chủng nấm men đến sự thay đổi mật độ tế bào nấm men	30
4.2.2. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu hóa lý	31
4.2.3. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu cảm quan	33
4.3. Khảo sát tỉ lệ nấm men ảnh hưởng đến quá trình lên men	33
4.3.1. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu hóa lý	33
4.3.2. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu cảm quan	35
4.4. Khảo sát nồng độ chất khô ảnh hưởng đến quá trình lên men	36
4.4.1. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu hóa lý	36
4.4.2. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu cảm quan	37
4.5. Khảo sát thời gian lên men chính ảnh hưởng đến quá trình lên men	38
4.5.1. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu hóa lý	38
4.5.2. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu cảm quan	40
4.6. Khảo sát lượng mật ong cho vào sản phẩm trong quá trình lên men phụ	40
4.6.1. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu hóa lý	41
4.6.2. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu cảm quan	42
4.7. Kiểm tra chất lượng sản phẩm	44
5. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ	46
TÀI LIỆU THAM KHẢO	48
PHỤ LỤC	50

DANH SÁCH CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Tp. HCM: Thành phố Hồ Chí Minh

SC: *Saccharomyces cerevisiae*

Ctv: cộng tác viên

TCVN 3215 – 79: Tiêu chuẩn Việt Nam 3215 – 79

NT: nghiệm thức

NXB: Nhà xuất bản

KH&KT: Khoa học và Kỹ thuật

DANH SÁCH CÁC HÌNH, SƠ ĐỒ, ĐỒ THỊ

HÌNH	TRANG
Hình 4.1. Các mẫu rượu vang	45
Hình 4.2. Sản phẩm cuối cùng được chọn	45

SƠ ĐỒ	TRANG
Sơ đồ 2.1. Quy trình cơ bản trong sản xuất rượu vang	13
Sơ đồ 3.1. Quy trình tiến hành thí nghiệm	20
Sơ đồ 4.1. Quy trình thử nghiệm chế biến rượu vang chuối	44

ĐỒ THỊ	TRANG
Đồ thị 4.1. Sự phát triển của các chủng nấm men	30
Đồ thị 4.2. Sự thay đổi nồng độ chất khô của các chủng nấm men	32
Đồ thị 4.3. Sự thay đổi độ cồn của các chủng nấm men.	32
Đồ thị 4.4. Sự thay đổi nồng độ chất khô theo các tỉ lệ men	34
Đồ thị 4.5. Sự thay đổi độ cồn của các tỉ lệ men	35
Đồ thị 4.6. Sự thay đổi lượng đường sót của các nồng độ chất khô khác nhau	37
Đồ thị 4.7. Sự thay đổi nồng độ chất khô sau các ngày lên men khác nhau	39
Đồ thị 4.8. Sự thay đổi độ cồn sau các ngày lên men khác nhau	39
Đồ thị 4.9. Sự thay đổi nồng độ chất khô giữa các nghiệm thức	41
Đồ thị 4.10. Sự thay đổi độ chua giữa các nghiệm thức	42
Đồ thị 4.11. Sự thay đổi độ cồn giữa các nghiệm thức	42

DANH SÁCH CÁC BẢNG

BẢNG	TRANG
Bảng 2.1. Năm loại cây ăn quả có diện tích lớn nhất nước ta	3
Bảng 2.2. Thành phần dưỡng chất của chuối già (tính trên 100 g ăn được)	4
Bảng 4.1. Giá trị trung bình của các chỉ tiêu hóa lý theo phương pháp xử lý nguyên liệu	27
Bảng 4.2. Giá trị trung bình của các chỉ tiêu hóa lý theo loại đường bổ sung	28
Bảng 4.3. Kết quả đánh giá cảm quan bằng phương pháp so hàng đã được chuyển điểm theo phương pháp	29
Bảng 4.4. Kết quả đánh giá cảm quan bằng phương pháp so hàng đã được chuyển điểm theo loại đường	29
Bảng 4.5. Biến thiên số lượng tế bào nấm men theo thời gian	30
Bảng 4.6. Giá trị trung bình các chỉ tiêu hóa lý của các nghiệm thức	31
Bảng 4.7. Kết quả đánh giá cảm quan bằng phương pháp so hàng đã được chuyển điểm của thí nghiệm 2	33
Bảng 4.8. Giá trị trung bình các chỉ tiêu hóa lý của các nghiệm thức	34
Bảng 4.9. Kết quả đánh giá cảm quan bằng phương pháp so hàng đã được chuyển điểm của thí nghiệm 3	35
Bảng 4.10. Giá trị trung bình các chỉ tiêu hóa lý của các nghiệm thức sau 4 ngày lên men	36
Bảng 4.11. Kết quả đánh giá cảm quan bằng phương pháp so hàng đã được chuyển điểm của thí nghiệm 4	38
Bảng 4.12. Giá trị trung bình các chỉ tiêu hóa lý của các nghiệm thức sau các ngày lên men khác nhau.	38
Bảng 4.13. Kết quả đánh giá cảm quan bằng phương pháp cho điểm đã nhân hệ số quan trọng.	40
Bảng 4.14. Giá trị trung bình các chỉ tiêu của các nghiệm thức sau 6 tuần lên men phụ.	41
Bảng 4.15. Kết quả đánh giá cảm quan bằng phương pháp so hàng đã được chuyển điểm của thí nghiệm 6	43
Bảng 4.16. Kết quả đánh giá cảm quan sản phẩm rượu vang chuối theo phương pháp cho điểm.	43
Bảng 4.17. Kết quả kiểm tra sản phẩm đối với chỉ tiêu vi sinh	44
Bảng 4.18. Kết quả kiểm tra sản phẩm đối với chỉ tiêu hóa lý	45

Chương 1

MỞ ĐẦU

1.1. Đặt vấn đề

Hiện nay, chất lượng cuộc sống của mọi người ngày càng được nâng cao, nhu cầu ăn uống cũng được quan tâm nhiều hơn. Xu hướng hiện nay là không những ăn uống ngon mà còn phải đảm bảo đầy đủ dưỡng chất cung cấp cho cơ thể hoạt động.

Các loại nước quả là những loại nước giải khát có lợi đối với sức khỏe, được nhiều người ưa thích, do trong các loại nước này có chứa nhiều đường fructose, glucose...là những loại đường dễ tiêu hóa. Ngoài ra, nó còn chứa các acid hữu cơ như acid ascorbic (vitamin C), acid citric, acid tartaric là những chất tham gia quá trình chuyển hóa nói chung, tăng khả năng miễn dịch. Mặt khác, các loại nước này còn chứa một lượng không nhỏ các vi khoáng có lợi cho sức khỏe. Như vậy, việc sử dụng nước trái cây là rất cần thiết vì có thể vừa cung cấp năng lượng, cung cấp đủ lượng nước cần thiết cho cơ thể, còn cung cấp vitamin và khoáng chất, làm tăng hương vị và giá trị dinh dưỡng trong bữa ăn hằng ngày.

Từ các loại trái cây khác nhau, có thể chế biến thành các dạng nước uống khác nhau: sinh tố, nước ép, nước quả ngâm đường, nước trái cây lên men, rượu vang...tạo sự đa dạng về chủng loại giúp người tiêu dùng có nhiều cơ hội lựa chọn sản phẩm tùy theo nhu cầu và thị hiếu của mình.

Khi nói đến rượu vang, người ta nghĩ ngay đến nho, nhưng ngày nay, không chỉ nho mà có rất nhiều loại trái cây khác có thể được sử dụng để lên men rượu vang: mơ, dưa, sơ ri, chuối,... Do làm từ các loại trái cây nên trong rượu vang có nhiều dưỡng chất, góp phần làm ngon miệng trong bữa tiệc hay bữa ăn hằng ngày, lượng CO₂ sinh ra tạo gas sẽ tạo cảm giác khoan khoái khi uống, chính vì vậy rượu vang trở thành sản phẩm được ưa chuộng hiện nay.

Chuối là trái cây rất được ưa thích ở nước ta. Chuối rất phong phú về khoáng chất, chứa nhiều đường bột nhưng lại dễ tiêu hóa. Chuối được dùng như một loại thức ăn bổ sung thêm dinh dưỡng trong khẩu phần ăn của người Việt Nam. Chuối có sản lượng lớn, nhưng điều kiện sau thu hoạch gặp nhiều khó khăn làm cho chuối mau chín, mềm, dễ dập, hư hỏng, khó vận chuyển, bảo quản, dẫn đến xảy ra tình trạng ứ đọng sản phẩm. Do đó, cần có nhiều biện pháp để không làm lãng phí nguồn quả dồi dào này, và chế biến rượu vang từ chuối cũng là một cách để nâng cao giá trị của quả chuối. Chính vì vậy, tôi đã tiến hành thực hiện đề tài **“Nghiên cứu thử nghiệm chế biến rượu vang chuối”**.

1.2. Mục đích đề tài

Xây dựng quy trình chế biến rượu vang chuối thông qua khảo sát và chọn lựa các yếu tố thích hợp nhất cho quá trình lên men rượu vang.

1.3. Yêu cầu thực hiện

- * Xác định phương pháp xử lý nguyên liệu và loại đường bổ sung.
- * Xác định các thông số ảnh hưởng đến quá trình lên men: chủng nấm men, tỉ lệ nấm men, nồng độ chất khô, thời gian lên men.
- * Xác định tỉ lệ phối chế giữa mật ong và rượu vang sau quá trình lên men chính.
- * Đánh giá chất lượng sản phẩm bằng phương pháp cảm quan.

1.4. Giới hạn đề tài

- * Chỉ thực hiện ở quy mô phòng thí nghiệm.
- * Thời gian lên men phụ: 45 ngày.

Chương 2

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

2.1. Cây chuối

2.1.1. Giới thiệu

Chuối có tên khoa học là *Musa paradisiaca* L., thuộc họ *Musaceae*, gồm rất nhiều giống chuối (ước tính có khoảng 300 giống chuối hiện được trồng trên thế giới). Chuối là cây trồng nhiệt đới, yêu cầu ánh sáng mạnh và nhiệt độ cao để hoàn thành các giai đoạn sinh trưởng và phát triển.

Theo Nguyễn Văn Kế (2001), chuối là một trong năm loại cây ăn quả có diện tích lớn nhất ở nước ta.

Bảng 2.1. Năm loại cây ăn quả có diện tích lớn nhất ở nước ta (1999)

Cây ăn quả	Diện tích (ha)	Sản lượng (tấn)
Nhãn, vải, chôm chôm	131200	545400
Chuối	94600	1242600
Họ cam quýt	63400	405100
Xoài	40700	188600
Thơm	32300	262800

(Nguyễn Văn Kế, 2001)

2.1.2. Nguồn gốc và phân bố

Cây chuối có nguồn gốc ở Đông Nam Á, trong đó có Việt Nam. Chuối trồng chủ yếu ở các nước nhiệt đới, nhiều nhất là ở Châu Á và Trung Mỹ, trong đó đáng kể là Philippines, Malaysia, Trung Quốc, Việt Nam, Panama,... Ở Việt Nam, chuối được trồng nhiều ở các tỉnh phía Nam.

Một số giống chuối có ở Việt Nam như: già lùn, già (tiêu) hương, già (tiêu) cúi, cau mẳn, cau quảng, cau tây (bom), chuối ngự (dong), chuối xiêm đen, chuối Ximon.

2.1.3. Thành phần hóa học của chuối

Theo Nguyễn Thị Ngọc Ân (1999), thành phần hóa học chính của chuối gồm:

- Độ ẩm: 80,36%
- Glucid thô: 14,315%
- Lipid thô: 0,25%
- Protid thô: 4,23%
- Xơ thô: 0,37%
- Vitamin C: 122,80 mg
- K: 340 mg
- Ca: 6,49 mg

2.1.4. Giá trị dinh dưỡng và ý nghĩa kinh tế

* Giá trị dinh dưỡng

Quả chuối có giá trị dinh dưỡng khá cao so với nhiều loại quả khác, quả chuối chứa nhiều đạm, đường bột, cho nhiều năng lượng nhưng lại dễ tiêu hóa. Rất phong phú về khoáng chất và vitamin. Đó là một loại thức ăn quý cho người ở bất kể lứa tuổi nào. Chuối được coi là loại quả lý tưởng cho người già, yếu, suy dinh dưỡng, mệt mỏi, người có bệnh về đường tiêu hóa. Quả chuối cũng có vị trí đặc biệt trong khẩu phần ăn giảm mỡ, cholesterol và muối Na^+ (quả chuối chứa ít Na^+ và giàu K^+). (Trần Thế Tục, 1998).

Quả chuối không những ăn chín mà còn có thể ăn xanh dùng nấu canh như một loại rau. Hoa chuối và thân cây chuối non cũng là một thứ rau tốt.

Bảng 2.2. Thành phần dưỡng chất của chuối già (tính trên 100 g ăn được)

Thành phần	Trọng lượng	Thành phần	Trọng lượng
Protein	1,8 g	Na	18 mg
Lipid	0,2 g	K	435 mg
Glucid tổng số (kể cả cellulose)	18 g	Vitamin A	80 mg
Cellulose	0,2 g	Vitamin B1	0,02 mg
Tro	0,8 g	Vitamin B2	0,04 mg
Ca	10 mg	Vitamin PP	0,6 mg
P	24 mg	Vitamin C	8 mg
Fe	1,9 mg		
Nước: 79,2		Năng lượng: 72 calo	

*** Ý nghĩa kinh tế**

So với nhiều loại cây trồng khác, toàn bộ sản phẩm của cây chuối có thể sử dụng làm lương thực, thực phẩm, thức ăn gia súc, thuốc nhuộm, công nghiệp chế biến thực phẩm, làm rượu, làm mứt,... Và vì một lý do nào đó trong sản xuất kinh doanh việc xuất quả tươi gặp trở ngại thì cũng dễ dàng sử dụng vào những mục đích khác với trang thiết bị không cao như sấy khô, làm bột, ủ chua,... (Trần Thế Tục, 1998).

2.2. Mật ong

Mật ong là một thực phẩm giàu năng lượng, trong mật ong 75 – 80% là đường (35% glucose, 35% fructose và saccharose nhỏ hơn 5%). Ngoài ra, trong mật ong còn chứa nhiều vitamin nhóm B (B₁, B₆, B₁₂, PP), vitamin C, vitamin E, nhiều khoáng chất (kali chiếm đáng kể), một số enzym và hormon sinh trưởng. (Ngô Đắc Thắng, 2000; Nguyễn Quang Tấn, 2003).

Mật ong thích hợp cho mọi lứa tuổi, một kg mật ong cho từ 3150 – 3350 kcal dùng để bồi bổ cơ thể con người, ngoài ra nó còn là một dược phẩm quý trong y học (diệt trùng, diệt mốc, chữa vết thương, bệnh phổi, bệnh đường tiêu hóa, bệnh ngoài da,...). (Ngô Đắc Thắng, 2000).

2.3. Rượu vang

2.3.1. Định nghĩa

Rượu vang là loại rượu được sản xuất từ nho, xuất phát từ các nước châu Âu. Ngày nay, từ rượu vang được hiểu theo nghĩa rộng hơn: tất cả các loại rượu được sản xuất từ nguồn nguyên liệu là trái cây đều được gọi là rượu vang (wine). (Nguyễn Đức Lượng, 2002).

2.3.2. Nguyên liệu trong sản xuất rượu vang

Nguyên liệu làm rượu vang là các loại quả. Quả chín (có thể chưa thật chín) sau khi thu hoạch chọn loại quả tươi, chất lượng tốt, đem ép lấy nước hoặc ngâm với đường để thu được dịch nước quả dùng cho lên men. Tất cả các loại quả có chứa đường, vitamin, acid hữu cơ, các chất khoáng và một lượng protein đáng kể đều thích hợp cho lên men. (Lương Đức Phẩm, 2005).

2.3.3. Thành phần và giá trị dinh dưỡng của rượu vang

Thành phần đầu tiên phải kể đến là etanol – là một trong những thành phần quan trọng nhất của rượu vang. Etanol có được do lên men tự nhiên từ dịch trái cây, do đó nó là thứ cồn tinh khiết, không lẫn aldehyt, este. Độ cồn của rượu vang từ 10% – 12% nếu dưới 10% rượu sẽ hơi nhạt, 12% trở lên là độ cồn hơi cao, uống mau say. Có thể nói rượu vang chứa một lượng cồn trung bình, không nhẹ quá như bia, không nặng quá như rượu trắng. Do vậy, nhiều người uống được, kể cả phụ nữ và người cao tuổi.

Cùng với etanol, rượu vang còn chứa nhiều các chất bổ dưỡng khác. Đường trong rượu vang vào khoảng 62 – 132 g/l, chủ yếu là đường fructose, glucose, và một ít galactose.

Trong rượu vang còn chứa một lượng các acid như acid tartaric, acid malic, acid oxalic,.... Tuy có độ chua cao, nhưng rượu vang vẫn dễ uống, vì vị chua của acid được cân đối với vị ngọt của đường, cồn, glycerin, vị chát của polyphenol.

Trong rượu vang chứa một lượng phong phú các loại muối – tuy với hàm lượng rất thấp – đó là muối của các nguyên tố: P, S, K, Na, Ca, Fe, Cu, Mn,.... Chất muối trong rượu vang giữ vai trò rất quan trọng là làm tăng hương vị của rượu và làm tăng giá trị dinh dưỡng cung cấp nguồn vi lượng cho cơ thể.

Một giá trị dinh dưỡng đáng kể của rượu vang là giàu vitamin các loại. Lên men rượu vang là một quá trình điều chỉnh lại thành phần vitamin của nước quả. Có một số vitamin được lưu giữ lại tốt trong nước quả qua lên men, một số vitamin lại được bổ sung thêm, ngược lại có một số bị mất đi trong quá trình lên men. (Trần Thị Thanh, 2000).

2.3.4. Phân loại rượu vang

Theo Bùi Ái (2003), về mặt công nghệ, sản phẩm vang được chia ra hai nhóm lớn: nhóm vang có gas (CO_2) và nhóm vang không có gas (CO_2).

* Nhóm rượu vang không có gas

Có thể gồm những nhóm nhỏ sau:

- Nhóm rượu vang phổ thông: Hoàn toàn lên men, không được bổ sung cồn etylic trong quá trình công nghệ, bao gồm hai loại:

+ Vang khô (lên men cạn kiệt) chứa hàm lượng etanol tích tụ do lên men có thể từ 9 – 14% thể tích, và hàm lượng đường sót không quá 0,3%.

+ Vang bán ngọt: chứa hàm lượng etanol do lên men tự nhiên từ 9 – 12% thể tích và đường sót từ 3 – 8%.

- Nhóm rượu vang cao độ là những loại rượu vang có hàm lượng etanol cao hơn so với nhóm vang phổ thông. Có thể dùng cồn tinh luyện để nâng cao hàm lượng etanol trong quá trình công nghệ. Nhóm này cũng gồm có hai loại:

+Vang nặng: Có hàm lượng etanol từ 17 – 20% thể tích, trong đó etanol tích lũy do lên men không ít hơn 3%. Hàm lượng đường trong sản phẩm có thể từ 1 – 4%.

+Vang khai vị: Hàm lượng etanol từ 12 – 17% thể tích, trong đó etanol tích lũy do lên men không ít hơn 1,2%. Ngoài ra, tùy thuộc vào hàm lượng đường (độ ngọt) trong rượu khai vị, có thể tồn tại các dạng sau:

- Khai vị bán ngọt: Với etanol từ 14 – 16% thể tích và đường từ 5 – 12%.
- Khai vị ngọt: Với etanol từ 15 – 17% thể tích, đường từ 14 – 20%.
- Khai vị rất ngọt (còn gọi là rượu lico): Với etanol từ 12 – 17% thể tích, đường từ 21 – 35%.

* Nhóm rượu vang có gas

Có thể chia ra hai nhóm:

- Rượu vang có gas tự nhiên (do lên men tạo ra): Để giữ được gas (CO_2) tự nhiên, người ta thực hiện quá trình lên men thứ (phụ) trong các chai kín, thùng hoặc hệ thống thùng kín và tùy thuộc vào điều kiện lên men phụ (nhiệt độ, thời gian) sẽ cho ra các loại rượu với các mức độ chất lượng khác nhau.

- Rượu vang có gas nhân tạo (do ta nạp gas vào sản phẩm)

Người ta có thể tạo ra nhiều loại rượu vang khác nhau theo thị hiếu hoặc yêu cầu của thị trường tiêu thụ cụ thể. Tuy nhiên, nhóm vang có gas tự nhiên thường có

độ rượu từ 10 – 12,5% thể tích và độ ngọt từ 3 – 5%, còn nhóm vang có gas nhân tạo thường có độ rượu từ 9 – 12% thể tích, độ ngọt từ 3 – 8%.

2.4. Nấm men dùng trong sản xuất

2.4.1. Định nghĩa

Nấm men là tên chung chỉ nhóm nấm có cấu tạo đơn bào và thường sinh sản bằng cách nảy chồi và phân cắt. Nhóm này có nhiều trong tự nhiên. Nhiều loài trong nhóm này có khả năng lên men rượu được áp dụng trong sản xuất rượu, bia, rượu vang, làm bánh mì. Tế bào nấm men giàu protein, vitamin (đặc biệt là vitamin nhóm B và tiền vitamin D₂) bổ sung dinh dưỡng vào thức ăn gia súc và có thể dùng để chế biến một số dạng thực phẩm cho người. (Lương Đức Phẩm, 2002).

2.4.2. Hình dáng và cấu tạo tế bào nấm men

Tế bào nấm men có hình dáng: hình cầu, ovan, elip, quả chanh, hình trụ, hình chùy hoặc đôi khi kéo dài ra thành sợi. Kích thước của tế bào nấm men vào khoảng 8 – 15 μm . Nấm men có thể thay đổi hình dáng và kích thước trong các giai đoạn phát triển và điều kiện môi trường xung quanh. Hình thái chúng không thay đổi chỉ ở các giống nuôi cấy còn trẻ trong các môi trường dinh dưỡng tiêu chuẩn. (Lương Đức Phẩm, 2005).

Nấm men có cấu tạo đơn bào gồm: thành tế bào, màng nguyên sinh chất, tế bào chất, nhân và các cơ quan khác như không bào, các giọt mỡ, hạt glycogen...

2.4.3. Sinh sản của nấm men

Nấm men sinh sản chủ yếu bằng cách nảy chồi, khi gặp điều kiện thuận lợi, tế bào mẹ nảy sinh ra một hoặc nhiều chồi nhỏ rồi lớn dần lên và tách ra thành các tế bào riêng lẻ.

Trong điều kiện không thuận lợi, nấm men sinh sản bằng bào tử, bào tử ra ngoài khi gặp điều kiện thuận lợi phát triển thành một tế bào nấm men mới. (Lương Đức Phẩm, 2002).

Hiện nay trong sản xuất rượu vang người ta sử dụng các chủng nấm men thuộc giống *Saccharomyces*.

2.4.4. Đặc điểm của nấm men vang

Saccharomyces là vi sinh vật kỵ khí tùy ý. Chúng là các tế bào hình elip hoặc oval, kích thước 8 – 10 μm , sinh sản theo lối nảy chồi, chúng có hình dáng giống men rượu nói chung, có tính kết lắng giống men bia và đặc biệt là khả năng sinh trưởng ở pH thấp và chịu đựng được cồn ở nồng độ cao (có nghĩa là chúng có khả năng tích tụ một lượng lớn cồn trong dịch lên men), có chủng có khả năng chịu đựng được 18 – 19% thể tích.

* Những tính chất đặc trưng của nấm men vang

- Nấm men có trong quả chín nhưng không nhiều so với các vi sinh vật khác: nấm mốc, vi khuẩn nhưng khi lên men tự nhiên thì tăng số lượng tế bào nhanh chóng lấn át các vi sinh vật khác, nhất là ở giai đoạn cuối của quá trình lên men do có khả năng chịu đựng độ cồn cao. (Bùi Ái, 2003).

- Nấm men có khả năng sử dụng các loại đường khác nhau: glucose, fructose, manose, saccharose, maltose,...

- Vỏ tế bào có khả năng kết dính, vì vậy chúng có thể kết với nhau và lắng xuống phía dưới làm cho dịch lên men trong, sáng.

- Trong môi trường giàu các acid hữu cơ, nấm men cũng thích nghi để chịu đựng được hàm lượng acid tartaric cao. Khả năng này giúp cho chúng phát triển tốt, vượt trội khi sống trong môi trường nước quả chua.

* Yêu cầu nấm men rượu vang

Hương vị đặc trưng của từng loại rượu sẽ phụ thuộc chủ yếu vào đặc tính nguyên liệu và quy trình công nghệ, ngoài ra còn phụ thuộc vào chủng nấm men. Nấm men sử dụng trong sản xuất phải đạt được những yêu cầu sau:

- Tốc độ phát triển mạnh, số lượng tế bào nấm men: 120 – 140.10⁶ tế bào/ml, hoạt lực lên men cao.

- Lên men được nhiều loại đường khác nhau, đạt tốc độ lên men nhanh và có khả năng lên men ở nhiệt độ tương đối cao >35⁰C.

- Có tính kết lắng tốt, sản phẩm tạo ra có hương thơm đặc trưng.

- Số lượng tế bào nảy chồi: 10 – 15%.

- Lượng tế bào chết: <2%.
- Chịu được nhiệt độ thấp. Những nấm men của nhóm này cần có khả năng lên men ở nhiệt độ từ 4 – 10⁰C và tích lũy trong môi trường trong thời gian ngắn thực tế phải được 8 – 12% thể tích etanol.

2.5. Lên men rượu vang

2.5.1. Cơ chế

Lên men rượu là quá trình oxy hóa khử sinh học để thu năng lượng và các hợp chất trung gian trong điều kiện kỵ khí, trong đó đường được phân hủy thành rượu và khí CO₂ dưới tác dụng của vi sinh vật.

Tác nhân chính của quá trình lên men rượu là các chủng nấm men thuộc giống *Saccharomyces*. Quá trình này là một chuỗi các phản ứng phức tạp với sự tham gia của hệ enzym do nấm men tiết ra.

2.5.2. Cơ sở lý luận của quá trình lên men rượu

Trong quá trình lên men, các chất men của nấm men thực hiện quá trình thủy phân đường phức tạp thành đường đơn giản, còn các đường đơn giản: glucose, fructose có thể lên men trực tiếp và nhanh. Đường và các chất dinh dưỡng của môi trường lên men được hấp phụ và khuếch tán vào trong tế bào men. Nhờ các chất men có sẵn trong tế bào nấm men tác dụng, các chất dinh dưỡng được chuyển hóa qua các hợp chất trung gian, cuối cùng tạo thành rượu và khí CO₂. Rượu etylic và CO₂ tạo thành được khuếch tán qua màng tế bào ra môi trường bên ngoài. Rượu etylic hòa tan trong nước bất kỳ tỷ lệ nào nên tan nhanh ra dung dịch lên men, còn CO₂ hòa tan kém trong nước nên chóng bị bão hòa trong dung dịch. Khi dung dịch đã bão hòa CO₂ thì CO₂ tạo thành được bám quanh tế bào nấm men và lớn dần lên. Lượng CO₂ tích tụ lớn đến mức nào đó nó thắng khối lượng của tế bào nấm men thì tế bào nấm men được bọt khí CO₂ kéo dần lên bề mặt dịch lên men. Khi lên đến mặt thoáng, CO₂ được thoát ra và tế bào nấm men có khối lượng lớn hơn khối lượng riêng dịch lên men được lắng xuống. Nhờ sự chuyển động lên xuống này mà quá trình lên men được tăng cường.

Trong quá trình lên men ngoài rượu etylic nó còn tạo thành một số sản phẩm phụ: glixerin, acid succinic, acetaldehyt, metilic, và một hỗn hợp amilic, butiric... gọi chung là dầu fuzel. Khi lên men thường 95% đường được tạo thành rượu etylic và CO₂ còn 5% đường biến thành các sản phẩm phụ khác. (Nguyễn Xuân Phương và Nguyễn Văn Thoa, 2005).

2.5.3. Cơ sở sinh hóa của quá trình lên men rượu

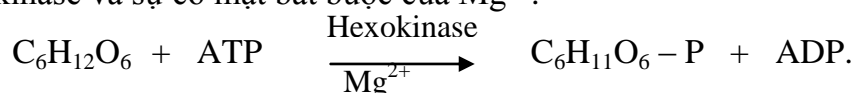
Kết quả cuối cùng của quá trình chuyển hóa (lên men) từ đường đến rượu etylic và khí CO₂ có thể biểu diễn bằng phương trình tổng quát của Gay – Lussac như sau:



Quá trình lên men rượu nếu đi từ glucose sẽ qua các giai đoạn sau:

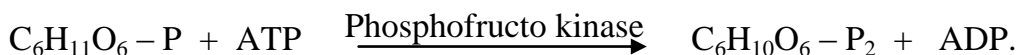
* **Giai đoạn 1:** Phosphoryl hóa.

Glucose phản ứng với adenosin triphosphate (ATP), kết quả tạo thành glucose 6 – phosphate và adenosin diphosphate (ADP). Phản ứng xảy ra do sự xúc tác của hexokinase và sự có mặt bắt buộc của Mg²⁺.



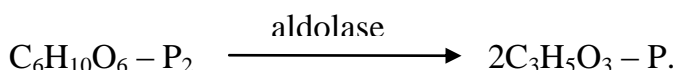
Glucose 6 – phosphate bị đồng phân hóa thành fructose 6 – phosphate dưới sự xúc tác của enzyme phosphoglucose isomerase.

Phản ứng phosphoryl hóa lần 2, biến fructose 6 – phosphate thành fructose 1,6 – diphosphate với enzyme xúc tác là phosphofructo kinase.



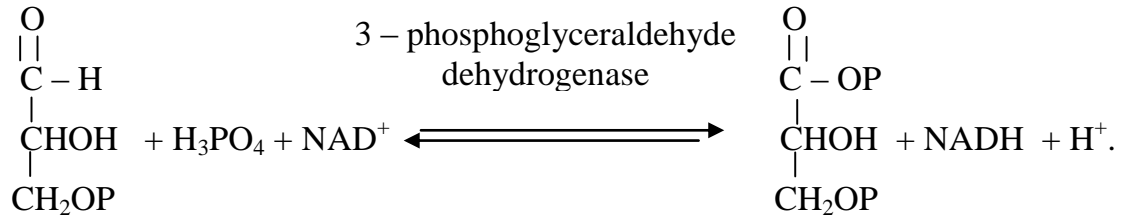
* **Giai đoạn 2:** Cắt đôi mạch.

Fructose 1,6 – diphosphate chứa 2 gốc phosphate và ở 2 vị trí đối xứng nên dễ dàng bị cắt làm hai tạo thành 3 – phosphoglyceraldehyde bởi aldolase.

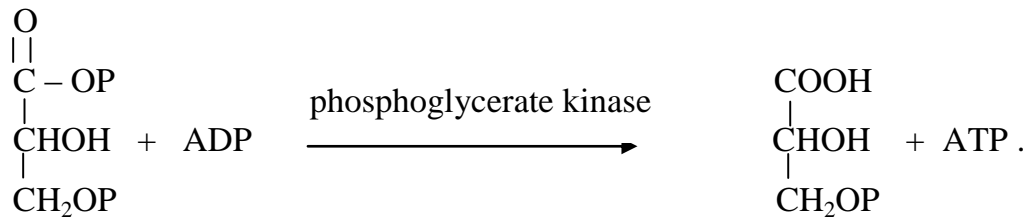


* **Giai đoạn 3:** oxy hóa.

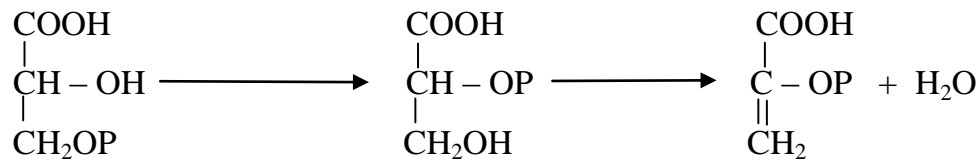
3 – phosphoglyceraldehyde oxy hóa coenzyme NAD⁺ và đồng thời được phosphoryl hóa bằng phosphate vô cơ thành 1,3 – diphosphoglycerate.



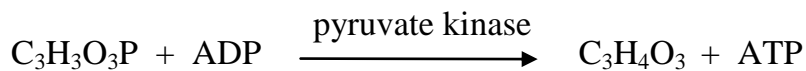
Nối phosphate cao năng trong 1,3 – diphosphoglycerate được sử dụng để phosphoryl hóa ADP tạo ra ATP bởi phosphoglycerate kinase và sản phẩm tạo thành 3 – phosphoglycerate.



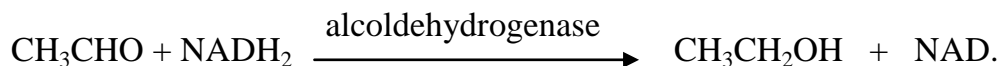
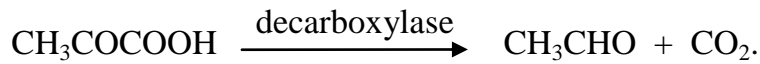
3 – phosphoglycerate được đồng phân hóa thành 2 – phosphoglycerate, enzyme xúc tác là phosphoglycerate mutase, tiếp theo enolase xúc tác phản ứng loại một phân tử nước chuyển thành acid phosphoenolpyruvic.



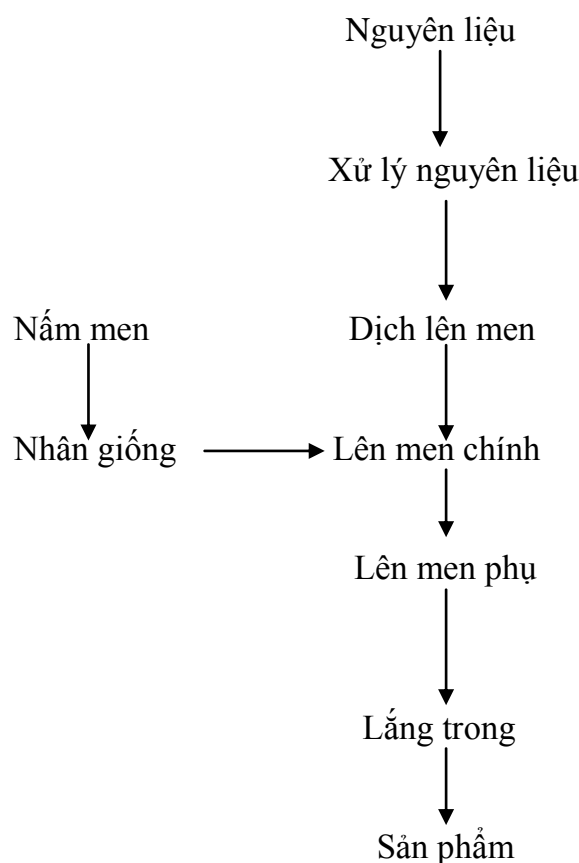
* **Giai đoạn 4:** Tạo acid pyruvic.



* **Giai đoạn 5:** Acid pyruvic tạo thành rượu trong điều kiện yếm khí dưới tác dụng của decarboxylase và alcoldehydrogenase.



2.5.4. Quy trình cơ bản trong sản xuất rượu vang



Sơ đồ 2.1. Quy trình cơ bản trong sản xuất rượu vang.

Trong quá trình sản xuất rượu vang thường trải qua các giai đoạn:

* **Giai đoạn 1:** Hình thành rượu. Đây là giai đoạn từ lúc cấy men giống vào, cho lên men đến khi dịch lên men hết sủi bọt mạnh. Nếu giữ được nhiệt độ ổn định, thời gian lên men này kéo dài từ 4 – 5 ngày. Kết quả của giai đoạn này ta được “rượu non”.

Trong thời gian này nấm men hoạt động mạnh nhất, tiêu thụ nguyên liệu (đường, đạm, vitamin) mạnh, biến đường thành rượu, giải phóng CO₂. Kết thúc giai đoạn này thành phần nước quả thay đổi rất lớn.

* **Giai đoạn 2:** Khi kết thúc lên men ở giai đoạn 1, người ta tiến hành gạn cặn, tách xác quả bằng biện pháp lọc (đối với vang thu được do lên men dịch quả có kèm xác quả). Trong các cơ sở lên men ở quy mô lớn, người ta dùng hệ thống ống hút xiphông để hút dịch lên men sang nôi hay bể lên men khác. Đây là lần gạn thứ nhất.

Khi được “rượu non”, ta tiếp tục cho lên men, nhưng ở giai đoạn này quá trình lên men không xảy ra ồ ạt – người ta còn gọi là lên men phụ, phân hủy những gam đường cuối cùng có trong dịch lên men. Đồng thời ở giai đoạn này có quá trình lên men malolactic. Kết quả quá trình này, acid malic được chuyển thành acid lactic, làm cho rượu được chuyển từ vị chua gắt sang vị chua nhẹ dễ chịu (của acid lactic), CO₂ còn được tiếp tục giải phóng nhưng có xu hướng ít dần. Dung dịch lên men ở trạng thái tĩnh lặng, xác men lắng xuống đáy bình hay bể.

Tiếp theo, thực hiện gạn cặn lần 2, lần 3. Nếu rượu còn đục ta lại gạn tiếp để có dung dịch trong suốt. Sau mỗi lần gạn cặn, các dụng cụ đựng dung dịch lên men như chai, bình (lên men ở quy mô nhỏ), nồi lên men (ở quy mô công nghiệp) được đổ dịch lên men đầy hơn, tạo điều kiện lên men yếm khí nghiêm ngặt hơn. Đến lần cuối cùng đầy kín hoàn toàn, tạo sự cách ly với oxy.

* **Giai đoạn 3:** Giai đoạn vang chín. Đây là giai đoạn làm tăng chất lượng rượu. Sau vài năm (2 – 4 năm) tàng trữ trong thùng gỗ, hương vị của vang đặc trưng hơn. Trong thời gian này đã xảy ra rất nhiều biến đổi sinh hóa phức tạp để chuyển từ rượu ít ngọt, ít thơm có vị chua lấn át, có vị đắng của CO₂, của aldehyt sang rượu trong vắt, có vị chua – ngọt cân đối của cồn – đường, vị đắng nhẹ của glycerin, vị chất của polyphenol. (Trần Thị Thanh, 2000).

2.5.5. Chất lượng rượu vang

Rượu vang đạt chất lượng tốt khi đảm bảo các tiêu chuẩn sau:

- ✓ Độ cồn không vượt quá 15%.
- ✓ Tinh cặn (độ khô) khoảng 30 – 32 g/l.
- ✓ Đường khử khoảng 2 g/l.
- ✓ Tro: 2 – 3 g/l.
- ✓ Độ chua khoảng 5 g/l (biểu thị bằng acid sunfuric).
- ✓ Hàm lượng acid tatic 2 – 7 g/l.
- ✓ Chất sát trùng duy nhất được sử dụng là SO₂, hàm lượng toàn phần không được quá 0,45 g/l.

✓ Độ trong và màu sắc: phải là chất lỏng trong suốt, không có vật thể lạ, màu sắc hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm.

✓ Mùi hòa hợp, thơm dịu, hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm.

✓ Vị hòa hợp, êm dịu, hậu vị tốt, hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm.

2.5.6. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu

2.5.6.1. Nhiệt độ

Nhiệt độ là yếu tố quan trọng bậc nhất đối với nấm men nói chung và lên men vang nói riêng. Nó có tác dụng rõ rệt đến khả năng lên men của chủng nấm men và chất lượng của rượu vang (độ rượu, đường sót, chất thơm,...). Lên men rượu vang thường thực hiện ở khoảng nhiệt độ 10 – 30⁰C. Có những nòi có thể lên men ở 4 – 10⁰C song rất chậm và yếu. Nhiệt độ có thể tăng lên đến 36⁰C mà nấm men vang vẫn hoạt động bình thường, song >36⁰C thì nấm men bắt đầu bị ức chế, đến 38⁰C thì gần như không hoạt động và đến 40⁰C thì chúng bắt đầu chết dần. Ở điều kiện nhiệt độ $\geq 40^0\text{C}$ lại rất thuận lợi cho vi khuẩn sinh acid acetic hoạt động, do đó trong sản xuất rượu vang cần phải kiểm soát không để cho nhiệt độ lên men vượt quá 36⁰C. Các nghiên cứu cũng đã xác định được rằng, ở nhiệt độ cao lên men bắt đầu sớm, xảy ra mạnh mẽ, nhưng dễ bị ngừng lại ngang chừng và kết thúc lên men khi đường sót còn lại trong dịch lên men là khá lớn. Với đường này dễ được vi khuẩn lactic sử dụng. Do vậy, trong vang có nhiều acid lactic và acid acetic. Những chất này cùng với đường sót làm cho vang có vị chua – ngọt khó chịu. Nhiệt độ có ảnh hưởng không những đến cường độ lên men, tốc độ sinh sản của men giống mà còn ảnh hưởng đến sinh tổng hợp các sản phẩm thứ cấp. Cho nên mỗi loại vang cần phải có một quy trình công nghệ thích hợp, nhất là nhiệt độ lên men. (Bùi Ái, 2003; Lương Đức Phẩm, 2005).

2.5.6.2. pH

pH của môi trường có ý nghĩa quyết định đối với sự sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật. Trong quá trình lên men, vi sinh vật lại tạo ra những sản phẩm trao đổi chất có tính acid hay kiềm, khiến pH của môi trường không còn thích hợp cho hoạt động sống của mình. Vì vậy, việc chủ động điều chỉnh pH của môi trường luôn

ở giá trị thích hợp trong suốt quá trình lên men là điều rất cần thiết. (Trần Thị Thanh, 2000).

pH tối ưu cho sự phát triển và lên men rượu của nấm men vào khoảng 4 – 5. Tuy nhiên ở pH = 3 – 3,5, nhiều chủng nấm men vẫn phát triển tốt, vì vậy khi làm rượu vang người ta thường chọn những chủng nấm men hoạt động và phát triển tốt ở pH = 3,2 – 4, đồng thời ở pH này sẽ hạn chế các vi sinh vật làm hư hỏng rượu vang.

Ở pH thấp, nấm men sẽ thay đổi hình thái, tế bào nhỏ hơn, dạng cầu vượt trội, trong tế bào chất tích tụ chất béo. Có thể trung hòa acid bằng kalitactrat trung tính hoặc canxicacbonat.

2.5.6.3. Oxy

Vai trò của oxy đặc biệt quan trọng và cần thiết trong giai đoạn nhân giống và giai đoạn đầu lên men. Trong điều kiện có nhiều oxy thì hoạt động sinh sản của nấm men mạnh mẽ hơn, vì vậy lượng sinh khối tăng lên nhanh và trở thành sản phẩm chủ yếu trong môi trường lên men. Trong môi trường càng nhiều tế bào nấm men thì càng lên men mạnh. Tuy nhiên, khi bắt đầu chuyển sang giai đoạn lên men hoàn toàn, cần phải tạo điều kiện kỵ khí, khi đó sản phẩm trong môi trường lên men là etanol sẽ trở thành chủ yếu, độ thoáng khí trong trường hợp này sẽ bất lợi cho quá trình lên men, nhiều sản phẩm phụ hình thành làm giảm chất lượng của vang thành phẩm. Ngoài ra việc tạo môi trường yếm khí có tác dụng hạn chế sự hoạt động của vi sinh vật gây hư hỏng rượu. (Bùi Ái, 2003; Lương Đức Phẩm, 2005).

Trong lên men ở quy mô sản xuất nhỏ, người ta cho lên men ở bình có miệng to và nút bình bằng nút bông. Khi lên men ở quy mô lớn, người ta sử dụng các nồi lên men hay các bể, khi đổ môi trường lên men vào phải để trống một thể tích thích hợp khoảng 1/5 – 1/3 thể tích nồi hay bể lên men. (Trần Thị Thanh, 2000).

2.5.6.4. Đường

Đường là nguồn dinh dưỡng quan trọng, ảnh hưởng trực tiếp đến hoạt động của nấm men và quá trình lên men. Đường cung cấp năng lượng và cacbon cho nấm men hoạt động, dạng glucose là thích hợp nhất vì tất cả các loài men đều đồng hóa

được. Tỷ lệ đường càng cao thì tạo thành nhiều etanol, cho nên thêm đường vào nước quả là một biện pháp rất phổ biến.

Môi trường có nồng độ đường từ 10 – 25% thuận lợi cho sự lên men. Khi nồng độ đường từ 25% trở lên thì sự lên men khó khăn và chậm. Dung dịch đường có nồng độ rất cao sẽ tạo ra áp suất thẩm thấu lớn gây phá hủy trạng thái sinh lý bình thường của nấm men, thời gian lên men sẽ kéo dài, sử dụng đường không triệt để, hiệu suất tạo thành rượu giảm, lượng rượu tạo ra không nhiều. Ngược lại, môi trường lên men có nồng độ đường quá thấp sẽ không đủ cơ chất cho nấm men hoạt động. (Lê Ngọc Tú và ctv, 2002).

2.5.6.5 Etanol

Sản phẩm chủ yếu của quá trình lên men kị khí là etanol. Etanol kìm hãm (ức chế) hoạt động sống của tế bào nấm men, tuy nhiên mức độ kìm hãm khác nhau đối với các chủng, nòi nấm men khác nhau. Khả năng chịu đựng etanol của vi khuẩn, nấm mốc còn kém hơn nhiều so với nấm men. Điều này thực sự có ý nghĩa lớn trong sản xuất, bởi vì khi quá trình lên men kị khí bắt đầu xảy ra thì sản phẩm etanol hình thành trong môi trường có tác dụng kìm hãm (ức chế) mạnh mẽ nấm mốc, vi khuẩn và sau đó là ức chế những nấm men đại để rồi phải nhường môi trường cho nấm men hoạt động. (Bùi Ái, 2003).

Bản chất của hiện tượng kìm hãm này là rất phức tạp. Việc thêm cồn vào pha log làm giảm nhanh tốc độ sinh trưởng của nấm men (có lẽ do tác động lên sự tổng hợp protein), giảm khả năng sống sót của tế bào (qua sự biến tính không thuận nghịch của các enzym), và ở một mức độ thấp hơn nhiều, etanol làm giảm tốc độ tổng hợp bản thân nó. Các dẫn liệu về mức độ chịu cồn của một số chủng nấm men phụ thuộc rất nhiều vào thành phần acid béo trong màng tế bào chất cho thấy rằng thành phần acid béo kích thích hoặc kìm hãm sự tiết etanol khỏi bào tương. Các kết quả khác cũng chứng minh được rằng etanol được tạo ra trong lên men (etanol tự sinh) ức chế lên sinh trưởng của tế bào mạnh hơn là etanol được đưa vào một cách nhân tạo từ bên ngoài. (Kiều Hữu Ảnh, 1999).

2.5.6.6. Khí cacbonic (CO₂)

Hàm lượng CO₂ hình thành trong quá trình lên men thường hạn chế mạnh sự sinh sản của nấm men vang, nhưng không làm yếu khả năng lên men của chúng. Theo nghiên cứu của Miuler –Thurrau:

* Hàm lượng CO₂ trong rượu vang đạt đến 0,25% trọng lượng thì sẽ ức chế sinh sản của nấm men.

* Hàm lượng CO₂ trong rượu vang đạt đến 1,5% trọng lượng thì nấm men không còn sinh sản được nữa. (Bùi Ái, 2003).

2.5.6.7. Thời gian lên men

Thời gian ảnh hưởng nhiều đến chất lượng sản phẩm vang. Trong thời gian lên men chính, nếu thời gian lên men quá ngắn, có thể lượng cồn tạo ra quá ít. Trong thời gian lên men phụ, nếu thời gian lên men không đủ để hương hình thành, mùi vang sẽ không đặc trưng cho sản phẩm.

Vì vậy, việc xác định thời gian của một quy trình lên men là điều hết sức quan trọng. Thời gian này sẽ rất khác nhau ở các quy trình lên men khác nhau. Điểm mấu chốt ở đây là người sản xuất phải biết dừng quá trình lên men đúng lúc để bảo đảm thu sản phẩm với hiệu suất cao nhất. (Trần Thị Thanh, 2000).

Chương 3

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP THÍ NGHIỆM

3.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Đề tài đã được thực hiện từ tháng 3/2007 đến tháng 7/2007 tại Phòng thí nghiệm Vi sinh Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại Học Nông Lâm Tp.HCM.

3.2. Nguyên liệu, hóa chất, thiết bị

3.2.1. Nguyên liệu

Chuối già, đường cát trắng, đường cát vàng mua tại chợ Việt Thắng, Linh Trung, Thủ Đức, Tp. HCM.

Mật ong mua tại siêu thị Coop – Mart Xa Lộ Hà Nội, 191 Quang Trung, Quận 9, Tp.HCM.

3.2.2. Chủng nấm men

Ba chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* 3, *Saccharomyces cerevisiae* 4, *Saccharomyces cerevisiae* 5, kí hiệu SC.3, SC.4, SC.5 được cung cấp từ Viện sinh học nhiệt đới Tp.HCM.

3.2.3. Hóa chất

* Hóa chất xác định độ chua: NaOH 0,1N, phenolphthalein.

* Hoá chất định lượng đường sót: $K_3Fe(CN)_6$, $NaHPO_4$, NaOH 5%, HCl 25%, acetate chì 10%, metylen blue.

* Môi trường giữ giống: Môi trường Hansen đặc: glucose 50 g, pepton 10 g, KH_2PO_4 3 g, $MgSO_4.7H_2O$ 3 g, nước 1000 ml, agar 15 g, pH = 6, khử trùng ở $121^{\circ}C/15$ phút.

* Môi trường nhân giống: Môi trường Hansen lỏng: glucose 50 g, pepton 10 g, KH_2PO_4 3 g, $MgSO_4.7H_2O$ 3 g, nước 1000 ml, pH = 6, khử trùng ở $121^{\circ}C/15$ phút.

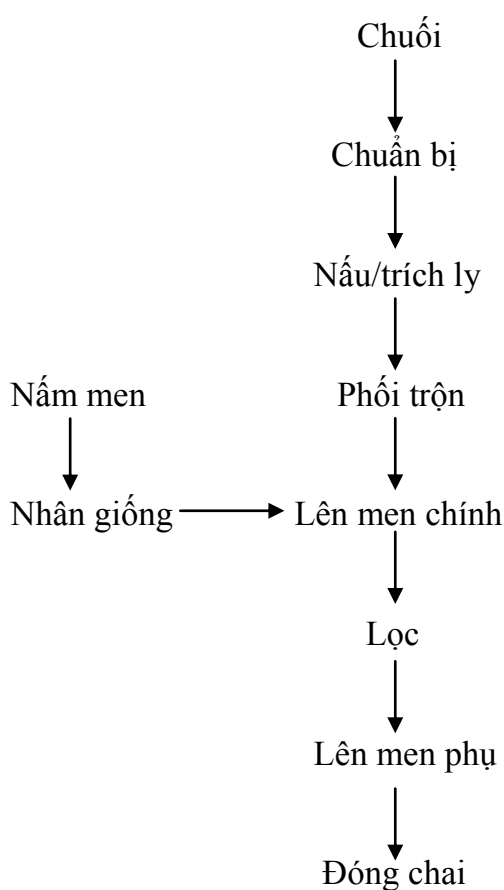
3.2.4. Thiết bị

✓ Máy đo pH Metrohm 744.

- ✓ Khúc xạ kế Atago 0 – 32%.
- ✓ Autoclave, tủ sấy.
- ✓ Kính hiển vi.
- ✓ Bộ chung cất cón, cón kế.
- ✓ Các dụng cụ và thiết bị cần thiết khác.

3.3. Nội dung và phương pháp tiến hành

Các thí nghiệm được tiến hành theo sơ đồ 3.1.



Sơ đồ 3.1. Quy trình tiến hành thí nghiệm.

Các thí nghiệm được tiến hành trên cơ sở chọn nghiệm thức tối ưu của thí nghiệm trước làm cơ sở cho các thí nghiệm sau. Quá trình lên men diễn ra ở nhiệt độ phòng, pH của dịch chuối trước khi lên men là 4,5 và mật độ nấm men gieo cấy là 10^8 tế bào/ml.

3.3.1. Thí nghiệm 1: Khảo sát phương pháp xử lý nguyên liệu và loại đường bổ sung.

* Mục đích: xác định phương pháp lấy dịch chuối và loại đường tốt nhất cho các thí nghiệm tiếp theo.

* Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, hai yếu tố, bốn nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần.

Phương pháp Đường	Nấu	Trích ly
Đường vàng		
Đường trắng		

* Phương pháp tiến hành:

Phương pháp nấu: Chuối được chuẩn bị, cắt nhỏ 2 – 3 mm, cho nước vào với tỉ lệ chuối/nước (kg/l): 1/3, nấu ở 65 – 70⁰C/15 phút, dịch chuối được lọc qua vải và phối trộn.

Phương pháp trích ly: Chuối được chuẩn bị, cắt nhỏ 2 – 3 mm, bổ sung 50% đường theo khối lượng, trộn đều và để khoảng 9 – 10 giờ cho dịch chuối thoát ra, dịch chuối được lọc qua vải và phối trộn.

Mỗi phương pháp xử lý nguyên liệu sẽ có 2 loại đường bổ sung: đường vàng và đường trắng.

* Các yếu tố cố định:

Nồng độ chất khô của dịch chuối trước khi lên men: 20%.

Thời gian lên men: 4 ngày.

Tỉ lệ nấm men: 5% so với dịch lên men.

* Chỉ tiêu theo dõi:

Chỉ tiêu hóa lý: nồng độ chất khô, độ chua, độ cồn, lượng đường sót sau khi lên men.

Chỉ tiêu cảm quan: màu sắc, độ trong, mùi, vị.

3.3.2. Thí nghiệm 2: Khảo sát 3 chủng nấm men: SC.3, SC.4, SC.5.

* Mục đích: xác định chủng nấm men tốt nhất cho quá trình lên men.

* Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, một yếu tố, ba nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần.

Nghiệm thức	SC.3	SC.4	SC.5
Chỉ tiêu theo dõi			
Nồng độ chất khô (%)			
Độ chua (độ)			
Độ côn (%)			
Hàm lượng đường sót (g/100 ml)			

* Phương pháp tiến hành:

Các chủng nấm men từ các ống nghiệm được cho vào môi trường Hansen lỏng và nuôi cấy lắc, sau khi đạt đến mật độ gieo cấy 10^8 tế bào/ml thì cho vào nước chuối có nồng độ chất khô thích hợp để tiến hành lên men.

* Yếu tố cố định:

Nồng độ chất khô của dịch chuối trước khi lên men: 20%.

Thời gian lên men: 4 ngày.

Tỉ lệ nấm men: 5% so với dịch lên men.

Phương pháp xử lý nguyên liệu và loại đường bổ sung: chọn từ thí nghiệm 1.

* Chỉ tiêu theo dõi:

Chỉ tiêu hóa lý: nồng độ chất khô, độ chua, độ côn, lượng đường sót sau khi lên men.

Chỉ tiêu cảm quan: màu sắc, độ trong, mùi, vị.

3.3.3. Thí nghiệm 3: Khảo sát 3 tỉ lệ men: 3%, 5%, 7%.

* Mục đích: xác định tỉ lệ nấm men thích hợp cho quá trình lên men.

* Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, một yếu tố, ba nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần.

Nghiệm thức	3%	5%	7%
Chỉ tiêu theo dõi			
Nồng độ chất khô (%)			
Độ chua (độ)			
Độ côn (%)			
Hàm lượng đường sót (g/100ml)			

* Phương pháp tiến hành:

Dịch quả chuối sau khi thu hồi được phối trộn đến nồng độ chất khô là 20%, cho nấm men vào theo tỉ lệ 3%, 5%, 7% với mật độ là 10^8 tế bào/ml.

* Yếu tố cố định:

Nồng độ chất khô của dịch chuối trước khi lên men: 20%.

Thời gian lên men: 4 ngày.

Phương pháp xử lý nguyên liệu và loại đường bổ sung: chọn từ thí nghiệm 1.

Chủng nấm men: chọn từ thí nghiệm 2.

* Chỉ tiêu theo dõi:

Chỉ tiêu hóa lý: nồng độ chất khô, độ chua, độ cồn, lượng đường sót sau khi lên men.

Chỉ tiêu cảm quan: màu sắc, độ trong, mùi, vị.

3.3.4. Thí nghiệm 4: Khảo sát 3 nồng độ chất khô: 20%, 22%, 24%.

* Mục đích: xác định nồng độ chất khô ban đầu thích hợp nhất cho quá trình lên men.

* Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, một yếu tố, ba nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần.

Chi tiêu theo dõi	Nghiệm thức		
	20%	22%	24%
Nồng độ chất khô (%)			
Độ chua (độ)			
Độ cồn (%)			
Hàm lượng đường sót (g/100ml)			

* Phương pháp tiến hành:

Dịch chuối được chuẩn bị, tiến hành phối trộn để đạt được các nồng độ chất khô khác nhau (20%, 22%, 24%), cho nấm men vào theo tỉ lệ được chọn từ thí nghiệm trước.

* Yếu tố cố định:

Thời gian lên men: 4 ngày.

Phương pháp xử lý nguyên liệu và loại đường bổ sung: chọn từ thí nghiệm 1.

Chủng nấm men: chọn từ thí nghiệm 2.

Tỉ lệ nấm men: chọn từ thí nghiệm 3.

* Chỉ tiêu theo dõi:

Chỉ tiêu hóa lý: nồng độ chất khô, độ chua, độ cồn, lượng đường sót sau khi lên men.

Chỉ tiêu cảm quan: màu sắc, độ trong, mùi, vị.

3.3.5. Thí nghiệm 5: Khảo sát bốn mức thời gian lên men: 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày.

* Mục đích: xác định thời gian lên men tốt nhất để kết thúc quá trình lên men chính.

* Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, một yếu tố, bốn nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần.

\ Nghiệm thức	3 ngày	4 ngày	5 ngày	6 ngày
Chi tiêu theo dõi				
Nồng độ chất khô (%)				
Độ chua (độ)				
Độ cồn (%)				
Hàm lượng đường sót (g/100ml)				

* Phương pháp tiến hành:

Chuẩn bị dịch chuối, cho lên men ở nồng độ chất khô, chủng nấm men và tỉ lệ nấm men từ thí nghiệm trước, sau đó để lên men ở 4 mức thời gian khác nhau.

* Yếu tố cố định:

Phương pháp xử lý nguyên liệu và loại đường bổ sung: chọn từ thí nghiệm 1.

Chủng nấm men: chọn từ thí nghiệm 2.

Tỉ lệ men: chọn từ thí nghiệm 3.

Nồng độ chất khô: chọn từ thí nghiệm 4.

* Chỉ tiêu theo dõi:

Chỉ tiêu hóa lý: nồng độ chất khô, độ chua, độ cồn, lượng đường sót sau khi lên men.

Chỉ tiêu cảm quan: màu sắc, độ trong, mùi, vị.

3.3.6. Thí nghiệm 6: Khảo sát quá trình lên men phụ của vang chuối có bổ sung mật ong (2%, 5%).

* Mục đích: xác định lượng mật ong thích hợp bổ sung vào trong rượu vang.

* Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, một yếu tố, ba nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần.

Nghiệm thức	0%	2%	5%
Chỉ tiêu theo dõi			
Nồng độ chất khô (%)			
Độ chua (độ)			
Độ cồn (%)			
Hàm lượng đường sót (g/100ml)			

* Phương pháp tiến hành:

Rượu vang sau thời gian lên men chính được lọc bỏ bã chuối và xác nấm men, phối chế với mật ong ở các tỉ lệ 2% và 5% so với thể tích rượu. Trữ rượu ở tủ bảo quản mát sau 6 tuần để sản phẩm lắng trong và tiến hành khảo sát chất lượng sản phẩm giữa mẫu có mật ong và mẫu đối chứng (không có mật ong).

* Yếu tố cố định:

Phương pháp xử lý nguyên liệu và loại đường bổ sung: chọn từ thí nghiệm 1.

Chủng nấm men: chọn từ thí nghiệm 2.

Tỉ lệ men: chọn từ thí nghiệm 3.

Nồng độ chất khô: chọn từ thí nghiệm 4.

Thời gian lên men chính: chọn từ thí nghiệm 5.

* Chỉ tiêu theo dõi:

Chỉ tiêu hóa lý: nồng độ chất khô, độ chua, độ cồn, lượng đường sót sau 6 tuần lên men phụ.

Chỉ tiêu cảm quan: màu sắc, độ trong, mùi, vị.

3.4. Phương pháp xác định các chỉ tiêu

* Chỉ tiêu hóa lý

Nồng độ chất khô: khúc xạ kế Atago từ 0 – 32%.

Độ chua: chuẩn độ bằng NaOH 0,1N với chỉ thị màu là phenolphtalein. (Phụ lục 2.1).

Độ cồn: thiết bị chưng cất và cồn kế. (Phụ lục 2.2).

Hàm lượng đường sót: phương pháp ferixyanua kali. (Phụ lục 2.3).

* Chỉ tiêu cảm quan: đánh giá các chỉ tiêu theo phương pháp so hàng và phương pháp cho điểm theo TCVN 3215 – 79. (Phụ lục 4).

3.5. Kiểm tra chất lượng sản phẩm

Sản phẩm cuối cùng được chọn bằng phương pháp đánh giá cảm quan theo phương pháp so hàng và phương pháp cho điểm sẽ được kiểm tra các chỉ tiêu vi sinh và hoá lý tại Viện Pasteur Tp.HCM.

3.6. Xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý trên chương trình STATGRAPHIC 7.0.

Chương 4

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

4.1. Khảo sát phương pháp xử lý nguyên liệu và loại đường bổ sung.

Trong sản xuất rượu vang, người ta có thể thu lấy dịch quả bằng các phương pháp: ép, nghiền, chà hay ngâm với đường tùy thuộc vào từng loại quả sử dụng. Chuối là một loại cây phát triển nhiều ở vùng nhiệt đới. Chuối có nhiều loại. Về nguyên tắc, các loại chuối đều có thể sử dụng để sản xuất rượu vang. Các hợp chất thơm có trong chuối được giữ trong suốt quá trình lên men và có nhiều trong rượu vang. Tuy nhiên, chuối là loại trái cây có thịt quả dẻo nên rất khó ép lấy dịch mà chỉ có thể trích ly bằng nồng độ đường cao hoặc lên men cả miếng chuối nhỏ.

Trên cơ sở đó, đề tài đã được thử nghiệm với hai phương pháp lấy dịch chuối: phương pháp trích ly và phương pháp nấu.

Chuối già được sử dụng có nồng độ chất khô 19,40% và pH 4,5 thích hợp cho quá trình lên men.

4.1.1. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu hóa lý

Các nghiệm thức được tiến hành ở cùng điều kiện nhiệt độ, độ chua, nồng độ chất khô, chủng nấm men và tỉ lệ nấm men. Sau 4 ngày lên men, kết quả thu được như sau:

Bảng 4.1. Giá trị trung bình của các chỉ tiêu hóa lý theo phương pháp xử lý nguyên liệu.

Chỉ tiêu theo dõi \ Phương pháp	Nấu	Trích ly
Nồng độ chất khô (%)	6,15 ^a	6,23 ^a
Độ chua (độ)	0,722 ^a	0,708 ^a
Độ cồn (%)	7,60 ^a	7,55 ^a
Hàm lượng đường sót (g/100ml)	1,660 ^a	1,687 ^a

Chú thích:

X^a, Y^b: Khác biệt có ý nghĩa.

X^a, Y^a: Khác biệt không có ý nghĩa.

Bảng 4.2. Giá trị trung bình của các chỉ tiêu hóa lý theo loại đường bổ sung.

Loại đường	Đường vàng	Đường trắng
Chỉ tiêu theo dõi		
Nồng độ chất khô (%)	6,17 ^a	6,22 ^a
Độ chua (độ)	0,720 ^a	0,710 ^a
Độ cồn (%)	7,58 ^a	7,57 ^a
Hàm lượng đường sót (g/100ml)	1,665 ^a	1,682 ^a

Cơ chế của quá trình lên men là cơ chất sẽ được nấm men sử dụng để tạo thành êtanol. Như vậy trong quá trình lên, nồng độ chất khô sẽ giảm xuống do được nấm men sử dụng phục vụ cho quá trình sinh trưởng và phát triển của bản thân chúng đồng thời tạo thành êtanol, còn độ chua của dịch lên men có xu hướng tăng dần (có nghĩa là pH giảm) do lượng acid hữu cơ và CO₂ sinh ra.

Tuy nhiên, theo kết quả xử lý thống kê, không có sự khác biệt ý nghĩa giữa các giá trị của nồng độ chất khô, độ chua, độ cồn, lượng đường sót (phụ lục 6). Như vậy, phương pháp xử lý nguyên liệu và loại đường bổ sung không làm ảnh hưởng đến các chỉ tiêu hóa lý.

Sự khác nhau giữa hai phương pháp là phương pháp nấu sẽ cho lượng dịch quả nhiều hơn, thời gian lấy dịch quả cũng được rút ngắn.

4.1.2. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu cảm quan

Sau quá trình lên men, sản phẩm được đánh giá cảm quan theo phương pháp so hàng, kết quả xử lý thống kê cho thấy không có sự khác biệt về phương pháp xử lý nguyên liệu nhưng có sự khác biệt với độ tin cậy 95% về loại đường sử dụng (phụ lục 6.5), đường vàng cho sản phẩm có màu sắc đẹp hơn, mức độ ưa thích cao hơn.

Bảng 4.3. Kết quả đánh giá cảm quan bằng phương pháp so hàng đã được chuyển điểm theo phương pháp.

Điểm \ Phương pháp	Nấu	Trích ly
Tổng điểm	1,80	-1,80
Điểm trung bình	0,075 ^a	-0,075 ^a

Bảng 4.4. Kết quả đánh giá cảm quan bằng phương pháp so hàng đã được chuyển điểm theo loại đường.

Điểm \ Loại đường	Vàng	Trắng
Tổng điểm	6,91	-6,91
Điểm trung bình	0,288 ^b	-0,288 ^a

Dựa trên kết quả xử lý thống kê các chỉ tiêu hóa lý, cảm quan và dựa vào thời gian lấy dịch quả và lượng dịch thu hồi, phương pháp nấu và đường vàng được chọn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

Các thí nghiệm tiếp theo sẽ tiến hành lên men cả xác quả để tận dụng triệt để hương vị của chuối, sau khi lên men, xác quả dễ dàng lọc khỏi dịch lên men.

Trong quá trình lên men, xác quả sẽ nổi lên trên bề mặt, sản phẩm dễ bị chua nếu trong môi trường có các vi khuẩn lactic phát triển. Vì vậy, để tránh hiện tượng này, cần khuấy đảo để lớp xác quả không nổi lên trên.

4.2. Khảo sát khả năng lên men của các chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* 3 (SC.3), *Saccharomyces cerevisiae* 4 (SC.4), *Saccharomyces cerevisiae* 5 (SC.5).

Tốc độ sinh trưởng và khả năng lên men của nấm men trong sản xuất rượu vang là yếu tố rất quan trọng, quyết định chất lượng của sản phẩm. Khả năng này khác nhau ở các chủng nấm men khác nhau. Vì vậy cần phải chọn lựa để có chủng nấm men thích hợp nhất, thích nghi trong môi trường rượu vang với những diễn biến xảy ra phức tạp. Ở thí nghiệm này sẽ khảo sát tốc độ sinh trưởng và khả năng lên men của 3 chủng nấm men: *Saccharomyces cerevisiae* 3, *Saccharomyces cerevisiae* 4, *Saccharomyces cerevisiae* 5.

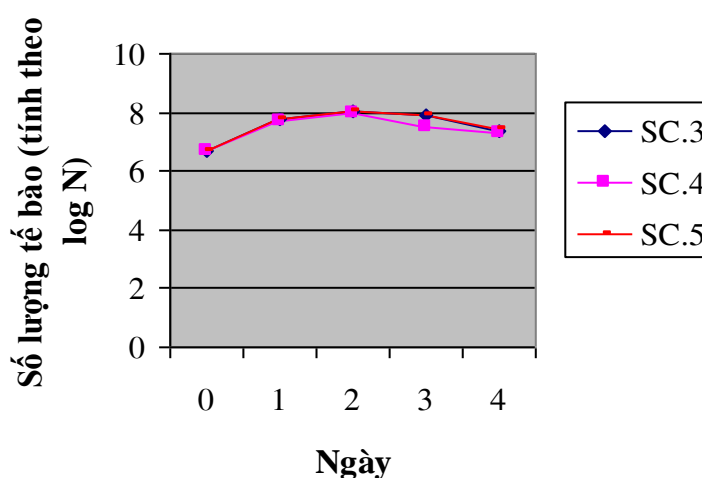
Nấm men để đạt đến mật độ thích hợp cần phải nhân giống trong môi trường lỏng. Để rút ngắn thời gian nuôi cấy, người ta có thể tiến hành nuôi cấy lắc, nuôi cấy bằng cách này giúp khí oxy hòa tan đều, làm tăng cường quá trình hô hấp hiếu khí, tăng khả năng tổng hợp sinh khối của nấm men do tăng cường diện tích tiếp xúc giữa tế bào và các chất dinh dưỡng có trong môi trường nuôi cấy đồng thời ngăn cản sự kết lắng của tế bào nấm men.

4.2.1. Ảnh hưởng của các chủng nấm men đến sự thay đổi mật độ tế bào nấm men.

Trong môi trường dịch quả, nấm men sẽ sử dụng chất dinh dưỡng để tăng số lượng tế bào, như vậy sẽ ảnh hưởng đến khả năng lên men của chúng. Vì vậy, sau mỗi ngày lên men, các chủng nấm men được kiểm tra lượng tế bào trong 1 ml dịch lên men bằng buồng đếm hồng cầu (phụ lục 1) để biết được số lượng tế bào, có thể so sánh hoạt lực lên men của các chủng nấm men khác nhau.

Bảng 4.5. Biến thiên số lượng tế bào nấm men theo thời gian (tính theo log N)

Chủng nấm men \ Ngày	0	1	2	3	4
SC.3	6,68	7,75	8,01	7,88	7,39
SC.4	6,68	7,69	7,96	7,48	7,29
SC.5	6,68	7,77	8,03	7,89	7,42



Đồ thị 4.1. Sự phát triển của các chủng nấm men.

Qua bảng 4.5 và đồ thị 4.1 cho thấy: nhìn chung các chủng nấm men khảo sát có tốc độ sinh trưởng, phát triển mạnh trong 2 ngày đầu (mạnh nhất ở ngày thứ 2) và có xu hướng giảm dần ở các ngày kế tiếp. Trong các chủng khảo sát thì chủng SC.5 có tốc độ sinh trưởng mạnh nhất, nhưng chủng SC.3 cũng đạt tốc độ sinh trưởng tương đương với chủng SC.5, còn chủng SC.4 thì đạt tốc độ sinh trưởng kém hơn so với 2 chủng còn lại. Điều này được giải thích là do các chủng nấm men khác nhau thì có tốc độ sinh trưởng, phát triển khác nhau, khả năng này còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố như: đặc điểm của chủng nấm men, điều kiện môi trường (nhiệt độ, pH, dinh dưỡng...)

Khả năng sinh khí được ghi nhận bằng mắt ở 3 chủng nấm men là như nhau.

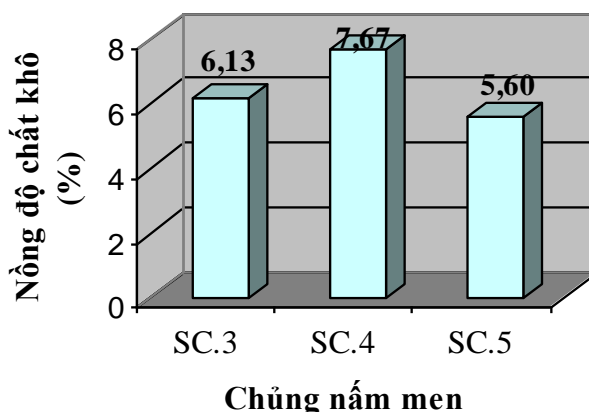
4.2.2. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu hóa lý

Bảng 4.6. Giá trị trung bình các chỉ tiêu hóa lý của các nghiệm thức sau 4 ngày lên men.

Nghiệm thức (NT)	SC.3	SC.4	SC.5
Chỉ tiêu theo dõi			
Nồng độ chất khô (%)	6,13 ^b	7,67 ^c	5,60 ^a
Độ chua (độ)	0,720 ^a	0,713 ^a	0,727 ^a
Độ cồn (%)	7,63 ^b	6,80 ^a	7,93 ^c
Hàm lượng đường sót (g/100 ml)	1,667 ^b	2,060 ^c	1,503 ^a

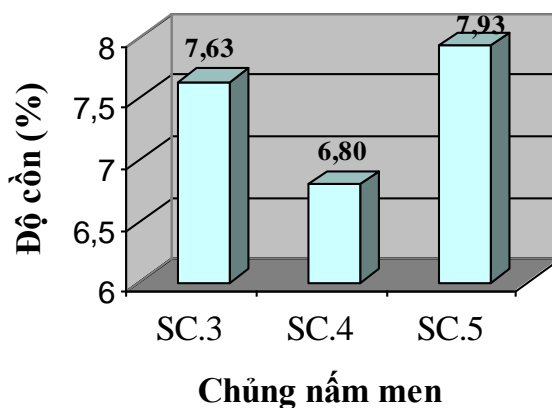
Số liệu từ bảng 4.6 cho thấy: khả năng phân giải đường của các chủng nấm men là khác nhau, nồng độ chất khô trung bình sau 4 ngày lên men còn lại lần lượt là 6,13%, 7,67%, 5,60%. Khả năng phân giải đường của SC.5 là cao nhất, nên hàm lượng đường sót lại là ít nhất (1,503 g/100ml). Đối với độ chua không có sự biến động nhiều, dao động từ 0,713 đến 0,727.

Bảng ANOVA và trắc nghiệm LSD (phụ lục 7) cho thấy ảnh hưởng của các chủng nấm men lên quá trình lên men của dịch quả là có ý nghĩa với độ tin cậy 95%. Tuy nhiên, không có khác biệt thống kê đối với các giá trị độ chua (phụ lục 7.2). Điều này cho thấy, sự thay đổi giá trị độ chua không phụ thuộc vào chủng nấm men mà phụ thuộc vào nồng độ chất khô ban đầu và lượng acid hữu cơ sinh ra sau quá trình lên men.



Đồ thị 4.2. Sự thay đổi nồng độ chất khô của các chủng nấm men.

Các chủng nấm men có khả năng sử dụng đường khác nhau thì sẽ lên men tạo thành lượng rượu etylic cũng khác nhau, nấm men sử dụng đường càng nhiều thì lượng rượu tạo thành càng cao, ở đây chủng SC.5 có hoạt lực lên men cao nhất, nên lượng rượu tạo thành cao nhất (7,93%). Tuy nhiên, sự tương quan này chỉ đúng trong một thời gian nhất định. Nếu mật độ tế bào nấm men cao, chúng cần nhiều cơ chất cho bản thân tế bào sinh trưởng nên lượng đường giảm nhiều nhưng lượng cồn tạo thành sẽ không tăng hoặc tăng rất chậm.



Đồ thị 4.3. Sự thay đổi độ còn của các chủng nấm men.

Kết quả xử lý thống kê cho thấy có sự khác biệt về độ còn giữa các nghiệm thức (phụ lục 7.3), độ còn do chủng nấm men SC.3 tạo thành cũng khá cao, chênh lệch không nhiều so với chủng SC.5.

4.2.3. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu cảm quan:

Sau 4 ngày lên men, sản phẩm được đánh giá cảm quan theo phương pháp so hàng với 12 cảm quan viên, kết quả xử lý thống kê cho thấy có sự khác biệt giữa các nghiệm thức với độ tin cậy 95% (phụ lục 7.5), trong đó SC.3 cho điểm cảm quan trung bình cao nhất (0,64 điểm). Chủng SC.3 lên men cho sản phẩm có mùi và vị thơm dịu, đặc trưng so với 2 chủng còn lại.

Dựa trên các chỉ tiêu hóa lý và cảm quan, chủng SC.3 được chọn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 4.7. Kết quả đánh giá cảm quan bằng phương pháp so hàng đã được chuyển điểm của thí nghiệm 2

Điểm NT	Điểm của các thành viên												Tổng điểm	Trung bình
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
SC.3	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0	0,85	0,85	0,85	0,85	-0,85	7,65	0,64 ^b
SC.4	0	-0,85	0	0	0	0	0,85	-0,85	-0,85	0	-0,85	0,85	-1,70	-0,14 ^a
SC.5	-0,85	0	-0,85	-0,85	-0,85	-0,85	-0,85	0	0	-0,85	0	0	-5,95	-0,50 ^a

4.3. Khảo sát tỉ lệ nấm men ảnh hưởng đến quá trình lên men.

4.3.1. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu hóa lý

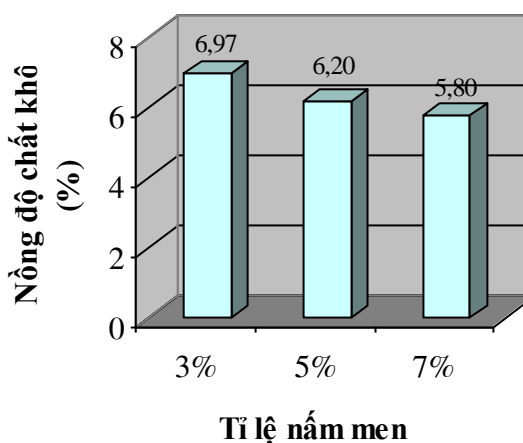
Chủng nấm men quyết định đến chất lượng rượu vang nhưng xác định lên men ở tỉ lệ nào là điều cần thiết vì nếu lượng giống nấm men quá ít, lượng tế bào này chồi không đủ yêu cầu, nấm men cần nhiều thời gian để có thể ổn định hoạt động trong môi trường lên men, phải sử dụng lượng chất dinh dưỡng nhiều để tăng sinh khối thì lượng rượu tạo thành sẽ giảm đáng kể, còn nếu lượng nấm men quá lớn thì sản phẩm tạo thành sẽ quá đắng, quá nồng, không được ưa thích. Trên cơ sở đó, thí nghiệm được tiến hành ở 3 tỉ lệ: 3%, 5%, 7%. Sau 4 ngày lên men, kết quả thu được như sau:

Bảng 4.8. Giá trị trung bình các chỉ tiêu hóa lý của các nghiệm thức sau 4 ngày lên men.

Nghiệm thức	3%	5%	7%
Chỉ tiêu theo dõi			
Nồng độ chất khô (%)	6,97 ^b	6,20 ^{ab}	5,80 ^a
Độ chua (độ)	0,717 ^a	0,720 ^a	0,733 ^a
Độ côn (%)	7,17 ^a	7,63 ^{ab}	7,80 ^b
Hàm lượng đường sót (g/100ml)	1,910 ^b	1,673 ^a	1,597 ^a

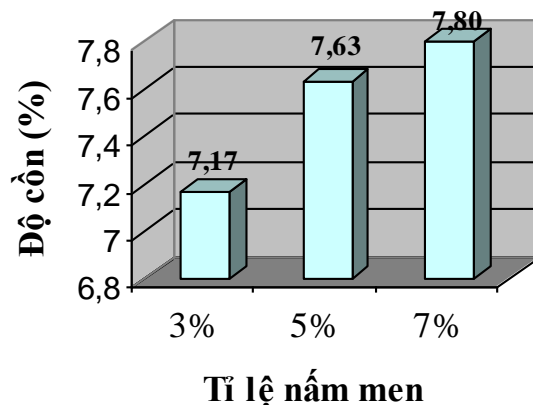
Số liệu từ bảng 4.8 cho thấy ở tỉ lệ 3%, nồng độ chất khô trung bình còn lại sau lên men là 6,97%, khi lượng giống nấm men ban đầu tăng lên 5% và 7% thì nồng độ chất khô còn lại sẽ càng giảm (6,20% và 5,80%) và kết quả này cũng tương quan với hàm lượng đường sót. Độ côn tăng tỉ lệ thuận với tỉ lệ men giống ban đầu. Kết quả xử lý thống kê cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức (phụ lục 8).

Đối với độ chua khi xử lý số liệu không có sự khác biệt có ý nghĩa. (phụ lục 8.2).



Đồ thị 4.4. Sự thay đổi nồng độ chất khô theo các tỉ lệ men.

Theo lý thuyết, cùng một lượng cơ chất, tỉ lệ men gieo cấy ban đầu càng cao thì lượng cơ chất tiêu hao đi càng nhiều, lượng cơ chất này được nấm men sử dụng để thực hiện quá trình trao đổi chất, phục vụ cho sự phát triển sinh khối cũng như tạo ra các sản phẩm lên men như etanol, CO₂,... Khi tỉ lệ nấm men càng tăng thì độ côn cũng tăng dần lên, sẽ mất ít thời gian để nấm men sinh sản đủ lượng cần thiết, và chất dinh dưỡng sẽ được sử dụng triệt để tạo etanol.



Đồ thị 4.5. Sự thay đổi độ còn theo các tỉ lệ men.

Tuy nhiên, như đã đề cập ở thí nghiệm trước, độ còn sẽ tăng chậm hoặc không tăng lên nữa nếu tiếp tục tăng lượng giống nấm men vì sẽ tốn nhiều cơ chất để kiến tạo tế bào, sự cạnh tranh dinh dưỡng cũng xảy ra mạnh hơn. Theo kết quả xử lý thống kê, độ còn giữa 2 nghiệm thức 5% và 7% không có sự khác biệt với độ tin cậy 95% (phụ lục 8.3).

4.3.2. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu cảm quan

Sau 4 ngày lên men, sản phẩm được đánh giá cảm quan theo phương pháp so hàng, kết quả xử lý thống kê cho thấy có sự khác biệt giữa các nghiệm thức (phụ lục 8.5). Ở tỉ lệ 3% cho điểm trung bình cao nhất (0,71 điểm), sản phẩm có mùi vị đặc trưng của chuối, có vị đắng, trong khi đó ở tỉ lệ 5% và 7% cho sản phẩm có vị đắng nhiều, nồng và gắt.

Bảng 4.9. Kết quả đánh giá cảm quan bằng phương pháp so hàng đã được chuyển điểm của thí nghiệm 3

Điểm NT	Điểm của các thành viên												Tổng	Trung bình
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
3%	0,85	0,85	0	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0	0,85	0,85	0,85	8,50	0,71 ^b
5%	-0,85	-0,85	0,85	0	0	-0,85	-0,85	-0,85	0,85	-0,85	0	-0,85	-4,25	-0,35 ^a
7%	0	0	-0,85	-0,85	-0,85	0	0	0	-0,85	0	-0,85	0	-4,25	-0,35 ^a

Dựa trên kết quả hóa lý và cảm quan, tỉ lệ men giống 3% được chọn để tiến hành các thí nghiệm sau.

4.4. Khảo sát nồng độ chất khô ảnh hưởng đến quá trình lên men.

Do dịch quả ban đầu đã được phối chế với nước nên cần bổ sung một lượng đường nhất định để lên men đạt hiệu quả cao. Lượng đường bổ sung phải tùy thuộc vào từng chủng nấm men, mỗi chủng có khả năng lên men ở những nồng độ đường khác nhau, thông thường nồng độ này vào khoảng 20% – 25%. Trên cơ sở đó, thí nghiệm được tiến hành ở 3 nồng độ chất khô: 20%, 22%, 24%.

4.4.1. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu hoá lý

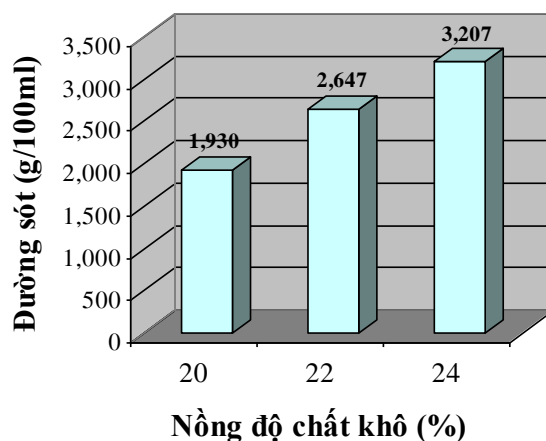
Sau 4 ngày lên men, kết quả thu được như sau:

Bảng 4.10. Giá trị trung bình các chỉ tiêu hóa lý của các nghiệm thức sau 4 ngày lên men.

Chỉ tiêu theo dõi	Nghiệm thức		
	20%	22%	24%
Nồng độ chất khô (%)	7,00 ^a	9,23 ^b	11,23 ^c
Độ chua (độ)	0,717 ^a	0,710 ^a	0,707 ^a
Độ cồn (%)	7,13 ^a	7,03 ^a	7,00 ^a
Hàm lượng đường sót (g/100ml)	1,930 ^a	2,647 ^b	3,207 ^c

Sau thời gian 4 ngày lên men, nồng độ chất khô còn lại trung bình ở các nghiệm thức tương ứng là 7,00%, 9,23%, 11,23%, như vậy lượng đường tiêu hao trong quá trình sinh trưởng và lên men của nấm men là từ 12,77% – 13%. Hàm lượng đường sót trung bình còn lại của các nghiệm thức tăng tỉ lệ thuận với nồng độ chất khô ban đầu: nồng độ chất khô ban đầu càng tăng thì sau lên men lượng đường sót càng cao.

Bảng ANOVA và trắc nghiệm LSD (phụ lục 9) cho thấy ảnh hưởng của nồng độ chất khô ban đầu lên quá trình lên men là có ý nghĩa với độ tin cậy 95%. Tuy nhiên, các chỉ tiêu độ chua, độ cồn không có sự khác biệt (phụ lục 9.2, 9.3).



Đồ thị 4.6. Sự thay đổi lượng đường sót của các nồng độ chất khô khác nhau.

Qua đồ thị 4.6 cho thấy, ở nồng độ chất khô 24% có lượng đường sót trung bình cao nhất (3,207g/100ml), điều này có nghĩa là trong khoảng thời gian lên men chính, ngoài lượng cơ chất sử dụng cho bản thân tế bào nấm men sinh trưởng và phát triển, chúng chỉ có khả năng lên men một lượng đường nhất định. Trong trường hợp càng tăng nồng độ đường lên cao thì nấm men cũng không sử dụng đường thêm nữa mà còn bị ức chế vì có thể vượt ngưỡng chịu đựng của chúng, thời gian lên men sẽ kéo dài và lên men không triệt để.

Kết quả xử lý thống kê không có sự khác biệt về độ cồn giữa các nghiệm thức (phụ lục 9.3). Trong thí nghiệm này, nồng độ đường ban đầu được tăng dần lên nhưng lượng đường tiêu thụ ở cả 3 nghiệm thức xấp xỉ nhau nên lượng cồn sinh ra tương đương nhau. Như vậy, càng tăng nồng độ đường thì hiệu suất tạo rượu từ một đơn vị đường sẽ giảm, lượng rượu tạo ra tăng không đáng kể.

4.4.2. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu cảm quan

Sau quá trình lên men, sản phẩm được đánh giá cảm quan theo phương pháp so hàng với 12 cảm quan viên. Kết quả như sau:

Bảng 4.11. Kết quả đánh giá cảm quan bằng phương pháp so hàng đã được chuyển điểm của thí nghiệm 4

Điểm NT	Điểm của các thành viên												Tổng điểm	Trung bình
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
20%	0	0	-0,85	-0,85	-0,85	0	0	0	-0,85	0	-0,85	0	-4,25	-0,35 ^a
22%	-0,85	-0,85	0,85	0	0	-0,85	-0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	1,70	0,14 ^{ab}
24%	0,85	0,85	0	0,85	0,85	0,85	0,85	-0,85	0	-0,85	0	-0,85	2,55	0,21 ^b

Kết quả xử lý thống kê cho thấy có sự khác biệt giữa các nghiệm thức (phụ lục 9.5), nghiệm thức 24% cho điểm cảm quan trung bình cao nhất (0,21 điểm). Mặc dù độ cồn của 3 nghiệm thức là như nhau nhưng với nồng độ chất khô 20% cho sản phẩm có vị đắng, khó uống, ở nghiệm thức 22% cho sản phẩm có độ ngọt vừa phải, hòa hợp với vị chua, nồng, riêng ở nghiệm thức 24% cho sản phẩm khá ngọt, nhưng độ cồn cũng khá cao nên sản phẩm có sự hòa hợp, được mọi người ưa thích. Tuy nhiên, kết quả xử lý thống kê không có sự khác biệt giữa 2 nghiệm thức 22% và 24% (phụ lục 9.5). Vì lý do kinh tế, nghiệm thức 22% được chọn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

4.5. Khảo sát thời gian lên men chính ảnh hưởng đến quá trình lên men.

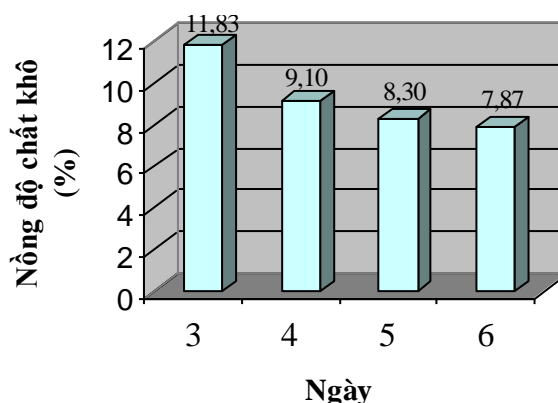
Thời gian lên men cũng là một yếu tố quan trọng trong quá trình lên men, chính vì vậy việc xác định thời gian để kết thúc quá trình lên men là rất cần thiết sao cho có lợi nhất.

Thí nghiệm được thực hiện với 4 mức thời gian khác nhau: 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày.

4.5.1. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu hóa lý

Bảng 4.12. Giá trị trung bình các chỉ tiêu hóa lý của các nghiệm thức sau các ngày lên men khác nhau.

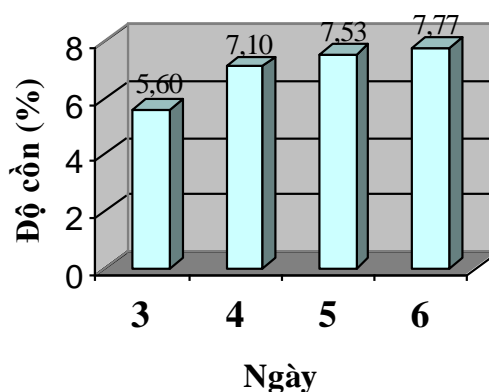
Chỉ tiêu theo dõi	Nghiệm thức			
	3 ngày	4 ngày	5 ngày	6 ngày
Nồng độ chất khô (%)	11,83 ^c	9,10 ^b	8,30 ^a	7,87 ^a
Độ chua (độ)	0,700 ^a	0,710 ^a	0,733 ^a	0,727 ^a
Độ cồn (%)	5,60 ^a	7,10 ^b	7,53 ^c	7,77 ^c
Hàm lượng đường sót (g/100ml)	3,413 ^c	2,560 ^b	2,250 ^a	2,080 ^a



Đồ thị 4.7. Sự thay đổi nồng độ chất khô sau các ngày lên men.

Từ bảng 4.12 và đồ thị 4.7 cho thấy thời gian lên men càng lâu thì nồng độ chất khô trung bình còn lại sau lên men càng giảm, nhưng càng về sau thì nồng độ chất khô càng giảm ít đi. Với các mức thời gian khác nhau, nghiệm thức 3 ngày có nồng độ chất khô trung bình còn lại nhiều nhất, sự khác biệt giữa các nghiệm thức là có ý nghĩa với độ tin cậy 95% (phụ lục 10.1), nghiệm thức 5 ngày và 6 ngày không có sự khác biệt. Độ cồn và lượng đường sót cũng có sự khác biệt giữa các nghiệm thức. (phụ lục 10.3, 10.4).

Đối với giá trị độ chua không có sự khác biệt. (phụ lục 10.2).



Đồ thị 4.8. Sự thay đổi độ cồn sau các ngày lên men.

Thời gian lên men được kéo dài thì lượng cồn sinh ra có xu hướng tăng lên, và càng về sau càng tăng chậm vì quá trình lên men chính sắp kết thúc, nấm men sẽ lắng xuống và không lên men ồ ạt như thời gian đầu nữa. Lúc này, dịch lên men sẽ trong dần cần chuyển sang giai đoạn lên men phụ để cải thiện độ trong cũng như mùi vị của rượu vang.

4.5.2. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu cảm quan

Sản phẩm sau khi kết thúc quá trình lên men với các ngày lên men khác nhau được đánh giá cảm quan bằng phương pháp cho điểm, kết quả nghiệm thức 4 ngày có điểm cao nhất (15,37 điểm), được xếp loại khá.

Bảng 4.13. Kết quả đánh giá cảm quan bằng phương pháp cho điểm đã nhân hệ số quan trọng.

Điểm NT	Điểm của các thành viên												Tổng điểm	Trung bình
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
3 ngày	8,8	16,0	10,4	16,0	9,6	13,2	8,8	11,6	11,6	16,8	12,0	13,2	140,8	12,33 ^a
4 ngày	15,2	14,0	13,6	14,8	14,8	13,2	15,2	18,0	16,8	14,0	18,0	16,8	184,4	15,37 ^b
5 ngày	13,2	10,0	16,8	20,0	13,6	14,0	17,2	15,2	20,0	15,2	16,0	12,8	184,0	15,33 ^b
6 ngày	15,2	13,2	13,6	15,2	14,0	13,2	12,0	17,2	14,8	16,4	16,8	14,0	175,6	14,63 ^b

Tuy nhiên kết quả xử lý thống kê (phụ lục 10.5) cho thấy không có sự khác biệt giữa các nghiệm thức 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày, riêng nghiệm thức 3 ngày có điểm thấp nhất (12,33 điểm), xếp loại trung bình, sự khác biệt giữa nghiệm thức 3 ngày và các nghiệm thức còn lại là có ý nghĩa (phụ lục 10.5). Theo chúng tôi nhận thấy sản phẩm sau 3 ngày có độ cồn khá thấp, lượng đường sót còn khá nhiều, sản phẩm có vị ngọt, điều này sẽ bất lợi nếu trong sản phẩm có vi khuẩn sinh lactic, chúng sẽ sử dụng lượng đường sót này và làm chua sản phẩm. Do đó, nghiệm thức 4 ngày được chọn để rút ngắn thời gian lên men chính.

4.6. Khảo sát lượng mật ong cho vào sản phẩm trong quá trình lên men phụ.

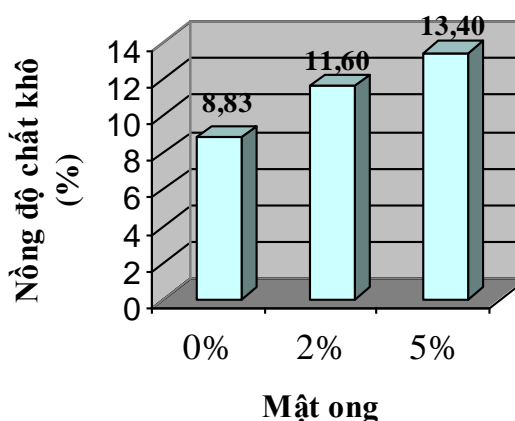
Sản phẩm của thí nghiệm cuối dựa trên các yếu tố tối ưu của các thí nghiệm trước: phương pháp nấu, bổ sung đường vàng, chủng nấm men SC.3 với tỉ lệ 3% cùng với nồng độ chất khô ban đầu là 22% và thời gian lên men chính 4 ngày. Khi kết thúc quá trình lên men chính, sản phẩm được phối chế với mật ong và lên men phụ 45 ngày nhằm khảo sát xem mật ong có làm tăng hương vị rượu vang bằng cách so sánh với mẫu đối chứng (không có mật ong).

4.6.1. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu hóa lý

Bảng 4.14. Giá trị trung bình các chỉ tiêu của các nghiệm thức sau 6 tuần lên men phụ.

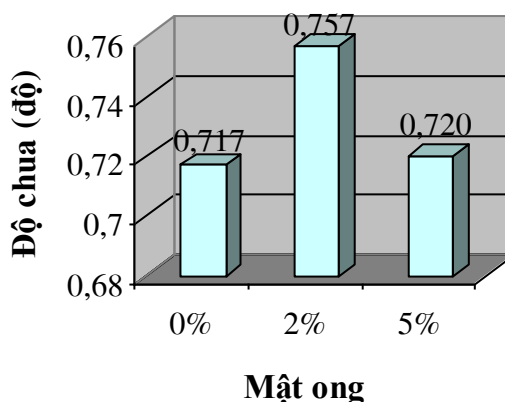
Nghiệm thức	0%	2%	5%
Chỉ tiêu theo dõi			
Nồng độ chất khô (%)	8,83 ^a	11,60 ^b	13,40 ^c
Độ chua (độ)	0,717 ^a	0,757 ^b	0,720 ^a
Độ cồn (%)	7,27 ^a	7,37 ^{ab}	7,43 ^b
Hàm lượng đường sót (g/100ml)	2,343 ^a	3,330 ^b	3,823 ^c

Do bổ sung mật ong với các tỉ lệ khác nhau nên ngay khi bắt đầu lên men phụ thì nồng độ chất khô giữa các nghiệm thức đã có sự khác biệt, mật ong bổ sung với tỉ lệ cao thì giá trị Brix sẽ cao (nghiệm thức 0% là 9,27%, nghiệm thức 2% là 12,40%, nghiệm thức 5% là 14,83%). Trong thời gian lên men phụ, quá trình lên men sẽ diễn ra rất chậm, chủ yếu là xảy ra các biến đổi để tăng mùi vị và làm trong rượu vang, chính vì vậy, nồng độ chất khô sẽ giảm không nhiều, ở nghiệm thức 0% giảm 0,44%, nghiệm thức 2% giảm 0,8%, và nghiệm thức 5% giảm 1,43%. Sau quá trình lên men, nồng độ chất khô, độ chua, độ cồn và hàm lượng đường sót đều có sự khác biệt giữa các nghiệm thức khi xử lý thống kê (phụ lục 11).



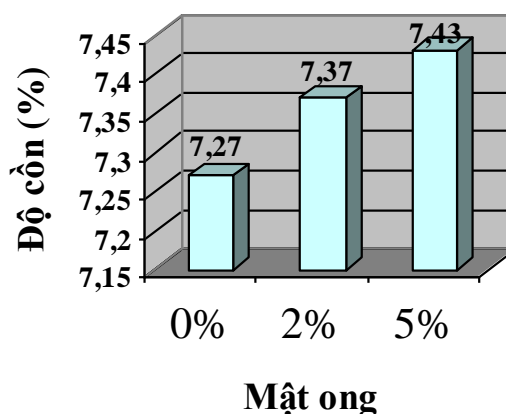
Đồ thị 4.9. Sự thay đổi nồng độ chất khô giữa các nghiệm thức.

Đối với giá trị độ chua có sự khác biệt giữa các nghiệm thức, độ chua của nghiệm thức 2% là cao nhất (0,757). Điều này được giải thích có thể do mẫu rượu có mật ong 2% bị nhiễm khuẩn, làm chua sản phẩm nên độ chua có sự tăng lên.



Đồ thị 4.10. Sự thay đổi độ chua giữa các nghiệm thức.

Trong quá trình lên men phụ, nấm men cũng lên men một lượng đường nhỏ nên độ cồn cũng được tăng lên một ít so với sau khi kết thúc quá trình lên men chính.



Đồ thị 4.11. Sự thay đổi độ cồn giữa các nghiệm thức.

Dựa vào đồ thị 4.11 cho thấy độ cồn trung bình ở nghiệm thức 5% là cao nhất (7,43%). Kết quả xử lý thống kê có sự khác biệt có ý nghĩa giữa nghiệm thức 0% so với nghiệm thức 5% (phụ lục 11.3), tuy nhiên không có sự khác biệt giữa nghiệm thức 2% và 5%.

4.6.2. Ảnh hưởng trên chỉ tiêu cảm quan

Sau thời gian lên men phụ 45 ngày, các mẫu rượu vang được đánh giá cảm quan theo phương pháp so hàng, kết quả như sau:

Bảng 4.15. Kết quả đánh giá cảm quan bằng phương pháp so hàng đã được chuyển điểm của thí nghiệm 6

Điểm NT	Điểm của các thành viên												Tổng điểm	Trung bình
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
0%	0,85	0	0,85	0,85	0,85	0	0,85	0,85	0	0	0,85	0,85	6,80	0,57 ^b
2%	0	-0,85	0	0	0	-0,85	-0,85	0	0,85	0,85	-0,85	-0,85	-2,55	-0,21 ^a
5%	-0,85	0,85	-0,85	-0,85	-0,85	0,85	0	-0,85	-0,85	-0,85	0	0	-4,25	-0,35 ^a

Kết quả xử lý thống kê (phụ lục 11.5) cho thấy có sự khác biệt giữa nghiệm thức đối chứng (không có mật ong) với 2 nghiệm thức còn lại. Do trong sản phẩm lượng mật ong không nhiều nhưng bản thân mật ong nguyên chất có độ ngọt rất cao, quá trình lên men phụ chậm và thời gian lên men ngắn nên nồng độ chất khô không giảm nhiều làm cho sản phẩm có vị ngọt, ngoài ra đối với mẫu rượu có mật ong lại có một lớp đục dưới đáy chai trong thời gian bảo quản, khi lắc nhẹ thì lớp đục này sẽ lan dần trong sản phẩm. Điều này được giải thích có thể do nhiễm khuẩn. Chính vì vậy, mặc dù sản phẩm có vị mật ong hòa hợp với vị chuối nhưng không được đánh giá cao.

Như vậy, sản phẩm được chọn là mẫu rượu không có mật ong. Sản phẩm này được đánh giá cảm quan theo phương pháp cho điểm.

Hội đồng cảm quan được thành lập gồm có 8 thành viên của lớp Bảo quản 29 có khả năng cảm quan, kết quả thu được như sau:

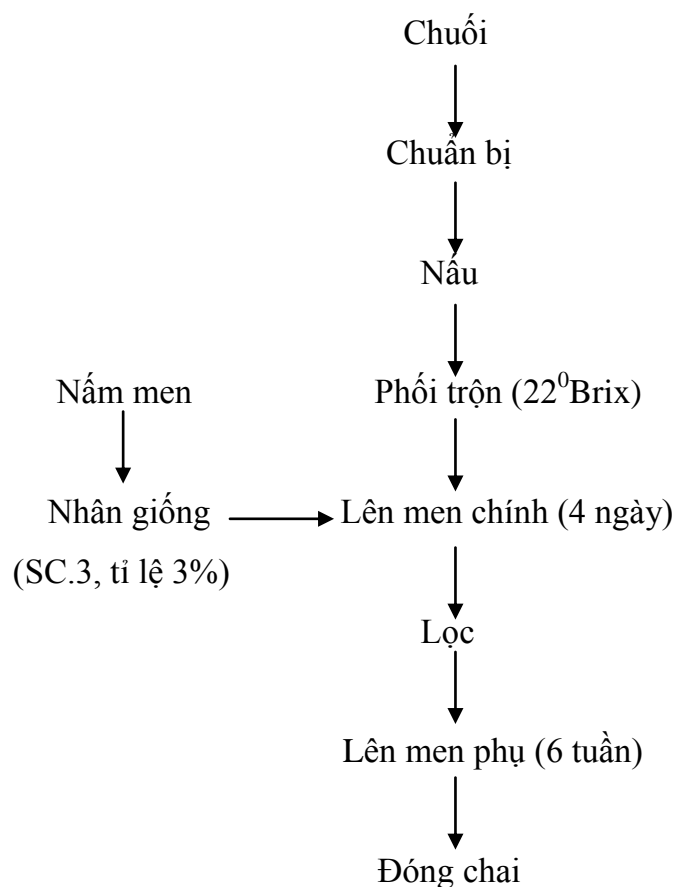
Bảng 4.16. Kết quả đánh giá cảm quan sản phẩm rượu vang chuối theo phương pháp cho điểm.

Chi tiêu	Điểm của các thành viên								Tổng điểm	Điểm trung bình	Hệ số quan trọng	Điểm có trọng lượng
	1	2	3	4	5	6	7	8				
Màu sắc, độ trong	2	4	5	4	3	5	5	4	32	4	0,8	3,20
Mùi	5	4	4	5	4	3	4	4	33	4,1	1,2	4,92
Vị	2	5	4	4	4	3	4	4	30	3,8	2,0	7,60
Tổng												15,72

Dựa vào kết quả trong bảng 4.16 và bảng phân loại danh hiệu chất lượng đối với sản phẩm không dùng danh hiệu hạng ưu theo TCVN 3215 – 79 thì sản phẩm

vang chuối được chọn có tổng điểm là 15,72 điểm, đạt loại khá. Mặc dù màu sắc của sản phẩm không đẹp lắm nhưng mùi và vị được đánh giá cao.

* Sau quá trình thực hiện đề tài, quy trình sản xuất rượu vang chuối được đề nghị như sau:



Sơ đồ 4.1. Quy trình thử nghiệm chế biến rượu vang chuối.

4.7. Kiểm tra chất lượng sản phẩm

Sau khi chọn ra sản phẩm được ưa thích nhất, chúng tôi cũng tiến hành kiểm tra chất lượng một số chỉ tiêu vi sinh và hóa lý đối với sản phẩm này tại viện Pasteur. Sau đây là kết quả:

Bảng 4.17. Kết quả kiểm tra sản phẩm đối với chỉ tiêu vi sinh

Chỉ tiêu	Kết quả	Giới hạn
Tổng vi khuẩn hiếu khí (cfu/ml)	<1	100
Tổng số nấm mốc	<1	10

Bảng 4.18. Kết quả kiểm tra sản phẩm đối với chỉ tiêu hóa lý

Chỉ tiêu \ Kết quả	Kết quả	Giới hạn
Andehyt (mg/l)	Không phát hiện	50
Metanol (mg/l)	Không phát hiện	3

* **Hình minh họa cho sản phẩm rượu vang chuối.**

**Hình 4.1. Các mẫu rượu vang****Hình 4.2. Sản phẩm cuối cùng được chọn**

Chương 5.

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

5.1. Kết luận

Sau quá trình thực hiện đề tài “**Nghiên cứu thử nghiệm chế biến rượu vang chuối**”, chúng tôi rút ra một số kết luận như sau:

✓ Phương pháp xử lý nguyên liệu và loại đường bổ sung không ảnh hưởng đến các chỉ tiêu hóa lý, nhưng kết quả đánh giá cảm quan cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa về loại đường bổ sung, đường vàng cho mức độ ưa thích cao hơn, chính vì vậy đường vàng đã được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo kết hợp với phương pháp nấu nhằm rút ngắn thời gian và đạt hiệu quả kinh tế cao.

✓ Chủng nấm men SC.3 lên men cho sản phẩm có mùi và vị đặc trưng của chuối, được mọi người ưa thích.

✓ Tỷ lệ nấm men thích hợp là 3% với mật độ tế bào gieo cấy ban đầu là 10^8 tế bào/ml.

✓ Nồng độ chất khô ban đầu thích hợp nhất là 22% với thời gian lên men chính là 4 ngày.

✓ Sản phẩm rượu vang không có phôi chế mật ong sau 45 ngày lên men phụ cho kết quả được ưa thích với tổng điểm là 15,72, được xếp loại khá.

5.2. Đề nghị

Do hạn chế về thời gian và thiết bị, đề tài chỉ khảo sát một vài yếu tố tiêu biểu, một số yếu tố khác cũng quan trọng chưa được tiến hành. Vì vậy, để có quy trình lên men hoàn thiện cho sản phẩm chất lượng cao, có một số đề nghị sau:

✓ Khảo sát yếu tố nhiệt độ của quá trình lên men.

✓ Phân lập nấm men từ quả chuối để khảo sát khả năng lên men của chúng so với các chủng nấm men khác.

✓ Khảo sát khả năng lên men của các chủng nấm men phối trộn với nhau.

- ✓ Khảo sát tỉ lệ phối chế mật ong ở giai đoạn lên men chính thay vì lên men phụ để giảm lượng đường bổ sung vào dịch lên men.
- ✓ Khảo sát thời gian lên men phụ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

TIẾNG VIỆT

1. Bùi Ái, 2003. *Công nghệ lên men ứng dụng trong công nghệ thực phẩm*. NXB Đại Học Quốc Gia Tp.HCM, 235 trang.
2. Kiều Hữu Ảnh, 1999. *Giáo trình vi sinh vật học công nghiệp*. NXB KH & KT, 291 trang.
3. Nguyễn Thị Ngọc Ân, 1999. *Kỹ thuật trồng, chăm sóc vườn cây và các vấn đề liên quan*. NXB Nông nghiệp, 275 trang.
4. Nguyễn Văn Kế, 2001. *Cây ăn quả nhiệt đới*. NXB Nông Nghiệp Tp. HCM.
5. Nguyễn Đức Lượng, 2002. *Vi sinh vật học công nghiệp*. NXB Đại học Quốc gia Tp. HCM, 371 trang.
6. Lâm Thanh Hiền. Bài giảng đánh giá cảm quan. Khoa Công Nghệ Thực Phẩm, Trường Đại Học Nông Lâm Tp. HCM.
7. Lê Thanh Mai, 2005. *Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men*. NXB KH & KT Hà Nội.
8. Tiêu chuẩn Việt Nam – TCVN 3215 – 79. *Sản phẩm thực phẩm – phân tích cảm quan, phương pháp cho điểm*.
9. Lương Đức Phẩm, 2005. *Nấm men công nghiệp*. NXB KH & KT, 331 trang.
10. Lương Đức Phẩm, 2002. *Vi sinh vật học và an toàn vệ sinh thực phẩm*. NXB Nông nghiệp, 423 trang.
11. Nguyễn Xuân Phương và Nguyễn Văn Thoa, 2005. *Cơ sở lý thuyết và kỹ thuật sản xuất thực phẩm*. NXB Giáo Dục, 299 trang.
12. Phạm Văn Sở và Bùi Thị Nhu Thuận, 1989. *Kiểm nghiệm lương thực, thực phẩm*, 598 trang.
13. Nguyễn Quang Tấn, 2003. *Bài giảng nuôi ong*. Trường Đại học Nông Lâm Tp. HCM.
14. Trần Thị Thanh, 2000. *Công nghệ vi sinh*. NXB Giáo Dục, 167 trang.
15. Ngô Đắc Thắng, 2000. *Kinh tế - Kỹ thuật nuôi ong*. NXB Thanh Hóa.

16. Phạm Thị Thanh Trí, 2005. *Nghiên cứu thử nghiệm chế biến nước chuối lên men*. Luận văn tốt nghiệp, khoa Công Nghệ Thực Phẩm, Trường Đại học Nông Lâm Tp. HCM.

17. Lê Ngọc Tú và ctv, 2002. *Hóa sinh công nghiệp*. NXB KH& KT, Hà Nội.

18. Trần Thế Tục, 1998. *Giáo trình cây ăn quả*. NXB Nông Nghiệp Hà Nội, 268 trang.

19. Và Vương Thị Việt Hoa, 2003. *Giáo trình thực tập vi sinh thực phẩm*. Tủ sách trường Đại học Nông Lâm Tp. HCM, 69 trang.

MỘT SỐ TRANG WEB

<http://www.laocai.gov.vn/sokhcn/cntv/data/cnmoi/11654-35.pdf>, tham khảo ngày 10/7/2007.

http://72.14.235.104/search?q=cache:nPOwb5M-19gJ:www.hau1.edu.vn/news_hau1/detail.asp%3FID%3D8%26child%3D8%26b%3D158+chu%E1%BB%91i+gi%C3%A0&hl=vi&ct=clnk&cd=22&gl=vn, tham khảo ngày 10/7/2007

<http://72.14.235.104/search?q=cache:j9ngVjIHcdAJ:www.certifiedorganic.bc.ca/Standards/b2v7sec12.htm+wine+processing+standards&hl=vi&ct=clnk&cd=1&gl=vn>, tham khảo ngày 15/7/2007.

http://209.85.165.104/search?q=cache:vGfgXEfmBCgJ:vi.wikipedia.org/wiki/C%C3%A1c_lo%E1%BA%A1i_%C4%91%E1%BB%93_u%E1%BB%91ng_c%C3%B3_ch%E1%BB%A9a_c%E1%BB%93n+r%C6%B0%E1%BB%A3u+vang&hl=vi&ct=clnk&cd=2&gl=vn, tham khảo ngày 15/7/2007.

<http://209.85.165.104/search?q=cache:2rqLyYebfsJ:galib.hcmuns.edu.vn/gsd/col lect/hnkhbk/index/assoc/HASHd96b.dir/doc.pdf+%C4%91%C6%B0%E1%BB%9Dng+s%C3%B3t+sau+l%C3%AAn+men&hl=vi&ct=clnk&cd=2&gl=vn>, tham khảo ngày 25/7/2007.

PHỤ LỤC

Phụ lục 1: Xác định số lượng tế bào nấm men. (Vương Thị Việt Hoa, 2003).

* Tiến hành

Hút 9 ml nước cất và 1 ml dung dịch mẫu, pha loãng mẫu đến nồng độ thích hợp. Lắc đều ống nghiệm chứa mẫu đã được pha loãng mẫu. Đặt lá kính lên lưới đếm của buồng đếm hồng cầu. Dùng ống hút vô trùng lấy mẫu, cho một giọt vào mép lá kính, do sức mao dẫn dịch tự tràn vào mặt trên lưới đếm. Chú ý không để bọt khí trong lưới đếm hoặc tràn dịch mẫu xuống rãnh. Đặt buồng đếm lên bàn kính hiển vi và để yên trong 3 – 5 phút, sau đó tiến hành đếm tế bào trong 5 ô lớn chéo nhau ở vật kính 40X. Trong mỗi ô lớn, đếm lần lượt từ ô con thứ 1 đến ô con thứ 16. Chỉ đếm những tế bào nằm bên trong ô con và những tế bào nằm trên 2 cạnh liên tiếp nhau.

* Cách tính

Số lượng tế bào trong 1 ml mẫu nghiên cứu được tính bằng công thức:

$$\text{Số tế bào/ml} = A/80 * 4000 * 10^3 * n \quad (1.1)$$

Trong đó:

A: Số lượng tế bào đếm được trong 5 ô lớn.

A/80: Số lượng tế bào trung bình có trong 1 ô nhỏ.

10^3 : Hệ số chuyển mm^3 thành ml ($1000 = 1 \text{ ml}$).

n: Nghịch đảo nồng độ pha loãng.

Phụ lục 2: Phương pháp xác định các chỉ tiêu hóa lý.

2.1. Xác định độ chua của dịch lên men. (Lê Thanh Mai, 2005).

* Nguyên tắc

Độ chua của dịch lên men có thể biểu diễn theo hai cách:

Biểu diễn theo số gam H_2SO_4 chứa trong một lít dịch lên men.

Biểu diễn theo độ: Một độ chua là số ml NaOH 1N cần thiết để trung hòa acid tự do chứa trong 20 ml dịch lên men. Nếu số ml NaOH quy về 1N là bằng 1, ta nói dịch lên men có độ chua bằng 1 độ. Một độ chua tương đương 2,45 g H_2SO_4 /l.

* Tiến hành

Lấy 20 ml dung dịch lọc của dịch lên men cho vào bình tam giác 250 ml . Tiếp theo dùng dung dịch NaOH 0,1N để chuẩn đến xuất hiện màu hồng nhạt với chỉ thị là phenolphthalein hoặc màu chuyển từ hồng nhạt sang màu xanh nếu chỉ thị là giấy quỳ.

* Kết quả

Độ chua của dịch lên men (độ) được tính theo công thức:

$$\text{Độ chua (a)} = n/10 \quad (\text{độ}) \quad (2.1)$$

Trong đó: n – số ml NaOH 0,1N tiêu hao khi định phân 20 ml dịch lọc.

Trường hợp tính theo gam H₂SO₄ thì độ chua sẽ tính theo công thức:

$$0,049a * 1000/20 = 2,45a, \text{ g/l.} \quad (2.2)$$

2.2. Xác định độ cồn. (Phạm Văn Sở và Bùi Thị Nhu Nhuận, 1989).

Độ cồn là số ml rượu etylic nguyên chất trong 100 ml rượu thử ở nhiệt độ đúng +15⁰C. Độ cồn được quy định ở +15⁰C, nếu đo ở nhiệt độ khác, tra bảng để quy về độ cồn ở +15⁰C.

* Tiến hành

Lấy chính xác 250 ml rượu cần thử, tốt nhất là ở +15⁰C, nếu không, phải đo nhiệt độ và ghi chép để sau này các thao tác đều làm ở cùng một nhiệt độ. Cho vào bình cầu của dụng cụ cất và cất lấy ít nhất là khoảng 200 ml. Chú ý đừng để cho cồn bay hơi ra bị mất, bằng cách cho đầu ống sinh hàn cắm vào trong 10 ml nước cất và ống sinh hàn dài được làm lạnh bằng nước lạnh không quá +20⁰C. Để cho dịch cất trở lại nhiệt độ bằng nhiệt độ của rượu lúc đầu, cho thêm nước cùng ở nhiệt độ ấy vừa đủ 250 ml.

Cho dịch cất vào một ống đo không có mỏ, đường kính to gấp hai đường kính chỗ to nhất của rượu kế. Thả rượu kế vào, đọc độ cồn và nhiệt độ.

2.3. Xác định lượng đường sót. (Lê Thanh Mai, 2005).

* Nguyên tắc:

Trong dịch lên men chứa chủ yếu là sacaroza và hỗn hợp đường hoàn nguyên gồm glucoza và fructoza, vì thế trước khi xác định cần thủy phân sacaroza thành

đường khử. Sau đó xác định đường bằng một trong các phương pháp xác định đường.

* Tiến hành

Chuẩn bị dung dịch thí nghiệm

Lấy 10 ml mẫu và 10 ml nước cất cho vào bình tam giác. Kết tủa protein và các tạp chất bằng dung dịch acetate chì 10% (2 ml), sau đó loại bỏ lượng acetate chì dư bằng dung dịch bão hòa Na_2HPO_4 (3 – 5 ml). Để yên hỗn hợp trong 10 phút, thêm nước cất tới vạch mức 100 ml, lọc qua giấy lọc vào cốc hay bình khô.

Lấy 50 ml dịch lọc cho vào bình tam giác, sau đó thêm 5 ml HCl 25% rồi nối với ống sinh hàn khí và đun sôi cách thủy trong 10 phút để biến đường saccharose thành glucose và fructose. Làm lạnh đến nhiệt độ phòng rồi trung hòa bằng dung dịch NaOH 5% đến xuất hiện màu hồng nhạt với chỉ thị là phenolphthalein, định mức đến vạch 100 ml.

Tiến hành chuẩn độ

Cho vào bình nón 20 ml $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 1% và 5 ml dung dịch NaOH 2,5N, thêm vài giọt metylen blue. Đun sôi và chuẩn độ ngay trên bếp bằng dung dịch lọc, đến khi dung dịch chuyển sang màu vàng nhạt cho biết phản ứng đã kết thúc.

* Kết quả

$$X = a/m \cdot 100, \text{ g}/100 \text{ ml} \quad (2.3)$$

$$m = 10 \cdot 50 \cdot b / 100 \cdot 100 \quad (2.4)$$

Trong đó:

a: số gam glucose tương ứng với 20 ml ferixyanua kali ($a = 0,025$).

m: số ml dịch lên men ở mẫu thí nghiệm.

b: lượng dịch lọc cần thiết để chuẩn độ 20 ml $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 1%.

Phụ lục 3: Mẫu phiếu đánh giá cảm quan

3.1. Mẫu phiếu đánh giá cảm quan theo phương pháp so hàng

PHIẾU ĐÁNH GIÁ CẢM QUAN

Tên sản phẩm: Rượu vang chuối Ngày thử:

Họ và tên cảm quan viên: Kí tên:

Các mẫu rượu vang đã được mã hóa. Anh (chị) hãy quan sát kỹ màu sắc, độ trong, ngửi mùi và nếm thử một ít để đánh giá mùi vị rồi sắp xếp chúng theo thứ tự giảm dần theo mức độ ưa thích. Mẫu thích nhất được xếp thứ nhất, mẫu ít thích nhất được xếp thứ 4.

Thứ tự	1	2	3	4
Mẫu				

Bình luận:

Cảm ơn sự hợp tác của anh (chị).

3.2. Mẫu phiếu đánh giá cảm quan theo phương pháp cho điểm

PHIẾU ĐÁNH GIÁ CẢM QUAN

Tên sản phẩm: Rượu vang chuối Ngày thử:

Họ và tên cảm quan viên: Kí tên:

Với mẫu rượu vang được trình bày, anh (chị) hãy quan sát kỹ màu sắc, độ trong, ngửi mùi và nếm thử một ít để đánh giá mùi vị rồi cho điểm dựa vào bảng mô tả hướng dẫn cho điểm các chỉ tiêu (đính kèm). Điểm cho theo thang từ 0 – 5.

Chỉ tiêu	Điểm
Độ trong và màu sắc	
Mùi	
Vị	

Bình luận:

Cảm ơn sự hợp tác của anh (chị).

Phụ lục 4: Bảng điểm đánh giá chất lượng sản phẩm rượu vang. (TCVN 3215 – 79).

Chỉ tiêu	Điểm chưa có trọng lượng	Cơ sở đánh giá
Độ trong và màu sắc	5	Chất lỏng trong suốt. Màu hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm.
	4	Chất lỏng trong suốt, có ít vật thể lạ nhỏ, màu hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm.
	3	Chất lỏng trong, có tương đối nhiều vật thể nhỏ, màu hơi khác một ít so với màu đặc trưng của sản phẩm.
	2	Chất lỏng hơi đục, có khá nhiều vật thể nhỏ lạ, thô. Màu khác nhiều so với màu đặc trưng của sản phẩm.
	1	Chất lỏng đục nhiều lắng cặn, có nhiều vật thể lạ, thô, màu không đặc trưng cho sản phẩm.
	0	Vẩn đục, màu bẩn, sản phẩm bị hỏng.
Mùi	5	Hoà hợp, thơm dịu, hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm.
	4	Chưa hoàn toàn hoà hợp, thơm đặc trưng cho sản phẩm nhưng hơi khó nhận thấy.
	3	Hơi nồng, thoảng mùi phụ, ít đặc trưng cho sản phẩm.
	2	Nồng thoảng mùi lạ, rất ít đặc trưng cho sản phẩm.
	1	Nồng hăng, mùi lạ rõ, không đặc trưng cho sản phẩm.
	0	Có mùi lạ khó chịu của sản phẩm hỏng.
Vị	5	Hoà hợp êm dịu, hậu vị tốt, hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm.
	4	Chưa hoàn toàn hoà hợp, hậu vị vừa phải, đặc trưng cho sản phẩm bình thường.
	3	Chưa hoà hợp, hơi gắt và sốc, hậu vị yếu, ít đặc trưng cho sản phẩm.
	2	Đắng, sốc, thoảng vị lạ, rất ít đặc trưng cho sản phẩm.
	1	Đắng, sốc, vị lạ rõ, không đặc trưng cho sản phẩm.
	0	Có vị lạ khó chịu của sản phẩm hỏng.

Phụ lục 5: Bảng phân loại danh hiệu chất lượng sản phẩm theo TCVN 3215 – 79 đối với sản phẩm không dùng danh hiệu hạng ưu

Danh hiệu chất lượng	Điểm chung	Yêu cầu tối thiểu về điểm trung bình chưa có trọng lượng đối với các chỉ tiêu
Loại tốt	18,6 – 20,0	Mùi:4,7; vị:4,7
Loại khá	15,2 – 18,5	Mùi 3,8; vị:3,8
Đạt tiêu chuẩn	11,2 – 15,1	Mùi 2,8; vị:2,8
Loại kém	7,2 – 11,1	Mỗi chỉ tiêu 1,8
Loại rất kém	4,0 – 7,1	Mỗi chỉ tiêu 1,0
Loại hỏng	0,0 – 3,9	Mỗi chỉ tiêu 1,0

Phụ lục 6: Kết quả phân tích thống kê thí nghiệm 1.

6.1. Phân tích ảnh hưởng của phương pháp xử lý nguyên liệu và loại đường bổ sung đến nồng độ chất khô hòa tan.

Analysis of Variance for TN1.hlchatkho - Type III Sums of Squares

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean squar	F-ratio	Sig. level
MAIN EFFECTS					
A:TN1.phuongphap	.0208333	1	.0208333	1.389	.2725
B:TN1.duong	.0075000	1	.0075000	.500	.5069
INTERACTIONS					
AB	8.33333E-004	1	8.33333E-004	.056	.8220
RESIDUAL	.1200000	8	.0150000		
TOTAL (CORRECTED)	.1491667	11			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error

Table of Least Squares Means for TN1.hlchatkho

Level	Count	Average	Std. Error	95% Confidence for mean	
GRAND MEAN	12	6.1916667	.0353553	6.1101143	6.2732190
A:TN1.phuongphap					
1	6	6.1500000	.0500000	6.0346675	6.2653325
2	6	6.2333333	.0500000	6.1180009	6.3486658
B:TN1.duong					
3	6	6.1666667	.0500000	6.0513342	6.2819991
4	6	6.2166667	.0500000	6.1013342	6.3319991
AB					
1 3	3	6.1333333	.0707107	5.9702286	6.2964381
1 4	3	6.1666667	.0707107	6.0035619	6.3297714
2 3	3	6.2000000	.0707107	6.0368952	6.3631048
2 4	3	6.2666667	.0707107	6.1035619	6.4297714

Multiple range analysis for TN1.hlchatkho by TN1.phuongphap

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
1	6	6.1500000	X
2	6	6.2333333	X

1	6	6.1500000	X
2	6	6.2333333	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	-0.08333		0.16310

* denotes a statistically significant difference.

Multiple range analysis for TN1.hlchatkho by TN1.duong

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
3	6	6.1666667	X
4	6	6.2166667	X

3	6	6.1666667	X
4	6	6.2166667	X

contrast	difference	+/-	limits
3 - 4	-0.05000		0.16310

* denotes a statistically significant difference.

6.2. Phân tích ảnh hưởng đến độ chua của thí nghiệm 1.**Analysis of Variance for TN1.dochua - Type III Sums of Squares**

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
MAIN EFFECTS					
A:TN1.phuongphap	5.33333E-004	1	5.33333E-004	2.462	.1553
B:TN1.duong	3.00000E-004	1	3.00000E-004	1.385	.2731
INTERACTIONS					
AB	1.33333E-004	1	1.33333E-004	.615	.4635
RESIDUAL	.0017333	8	2.16667E-004		
TOTAL (CORRECTED)	.0027000	11			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for TN1.dochua

Level	Count	Average	Std. Error	95% Confidence for mean	
GRAND MEAN	12	.7150000	.0042492	.7051986	.7248014
A:TN1.phuongphap					
1	6	.7216667	.0060093	.7078054	.7355279
2	6	.7083333	.0060093	.6944721	.7221946
B:TN1.duong					
3	6	.7200000	.0060093	.7061388	.7338612
4	6	.7100000	.0060093	.6961388	.7238612
AB					
1 3	3	.7233333	.0084984	.7037306	.7429361
1 4	3	.7200000	.0084984	.7003972	.7396028
2 3	3	.7166667	.0084984	.6970639	.7362694
2 4	3	.7000000	.0084984	.6803972	.7196028

Multiple range analysis for TN1.dochua by TN1.phuongphap

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
-------	-------	---------	--------------------

2	6	.7083333	X
1	6	.7216667	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	0.01333		0.01960

* denotes a statistically significant difference.

Multiple range analysis for TN1.dochua by TN1.duong

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
-------	-------	---------	--------------------

4	6	.7100000	X
3	6	.7200000	X

contrast	difference	+/-	limits
3 - 4	0.01000		0.01960

* denotes a statistically significant difference.

6.3. Phân tích ảnh hưởng đến độ còn của thí nghiệm 1

Analysis of Variance for TN1.docon - Type III Sums of Squares

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
MAIN EFFECTS					
A:TN1.phuongphap	.0075000	1	.0075000	1.800	.2165
B:TN1.duong	.0008333	1	.0008333	.200	.6712
INTERACTIONS					
AB	8.33333E-004	1	8.33333E-004	.200	.6712
RESIDUAL	.0333333	8	.0041667		
TOTAL (CORRECTED)	.0425000	11			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for TN1.docon

Level	Count	Average	Std. Error	95% Confidence for mean	
GRAND MEAN	12	7.5750000	.0186339	7.5320181	7.6179819
A:TN1.phuongphap					
1	6	7.6000000	.0263523	7.5392144	7.6607856
2	6	7.5500000	.0263523	7.4892144	7.6107856
B:TN1.duong					
3	6	7.5833333	.0263523	7.5225478	7.6441189
4	6	7.5666667	.0263523	7.5058811	7.6274522
AB					
1 3	3	7.6000000	.0372678	7.5140362	7.6859638
1 4	3	7.6000000	.0372678	7.5140362	7.6859638
2 3	3	7.5666667	.0372678	7.4807029	7.6526304
2 4	3	7.5333333	.0372678	7.4473696	7.6192971

Multiple range analysis for TN1.docon by TN1.phuongphap

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
-------	-------	---------	--------------------

2	6	7.5500000	X
1	6	7.6000000	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	0.05000		0.08596

* denotes a statistically significant difference.

Multiple range analysis for TN1.docon by TN1.duong

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
-------	-------	---------	--------------------

4	6	7.5666667	X
3	6	7.5833333	X

contrast	difference	+/-	limits
3 - 4	0.01667		0.08596

* denotes a statistically significant difference.

6.4. Phân tích ảnh hưởng đến đường sót của thí nghiệm 1.

Analysis of Variance for TN1.duongsot - Type III Sums of Squares

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
MAIN EFFECTS					
A:TN1.phuongphap	.0021333	1	.0021333	.290	.6103
B:TN1.duong	.0008333	1	.0008333	.113	.7485
INTERACTIONS					
AB	3.00000E-004	1	3.00000E-004	.041	.8470
RESIDUAL	.0588000	8	.0073500		
TOTAL (CORRECTED)	.0620667	11			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for TN1.duongsot

Level	Count	Average	Std. Error	95% Confidence for mean	
GRAND MEAN	12	1.6733333	.0247487	1.6162467	1.7304200
A:TN1.phuongphap					
1	6	1.6600000	.0350000	1.5792673	1.7407327
2	6	1.6866667	.0350000	1.6059339	1.7673994
B:TN1.duong					
3	6	1.6650000	.0350000	1.5842673	1.7457327
4	6	1.6816667	.0350000	1.6009339	1.7623994
AB					
1 3	3	1.6466667	.0494975	1.5324933	1.7608400
1 4	3	1.6733333	.0494975	1.5591600	1.7875067
2 3	3	1.6833333	.0494975	1.5691600	1.7975067
2 4	3	1.6900000	.0494975	1.5758267	1.8041733

Multiple range analysis for TN1.duongtot by TN1.phuongphap

```

-----
Method: 95 Percent LSD
Level      Count      LS Mean      Homogeneous Groups
-----
1          6          1.6600000    X
2          6          1.6866667    X
-----
contrast                    difference +/-  limits
1 - 2                        -0.02667     0.11417
-----

```

* denotes a statistically significant difference.

Multiple range analysis for TN1.duongtot by TN1.duong

```

-----
Method: 95 Percent LSD
Level      Count      LS Mean      Homogeneous Groups
-----
3          6          1.6650000    X
4          6          1.6816667    X
-----
contrast                    difference +/-  limits
3 - 4                        -0.01667     0.11417
-----

```

* denotes a statistically significant difference.

6.5. Phân tích đánh giá cảm quan của thí nghiệm 1.

Analysis of Variance for TN1.camquan - Type III Sums of Squares

```

-----
Source of variation  Sum of Squares  d.f.  Mean square  F-ratio  Sig. level
-----
MAIN EFFECTS
  A:TN1.phuongphap      .2700000      1      .2700000      .530      .4782
  B:TN1.duong           3.9790083      1      3.9790083      7.811      .0077
INTERACTIONS
  AB                     .9576750      1      .9576750      1.880      .1773
RESIDUAL                22.414917     44      .5094299
-----
TOTAL (CORRECTED)      27.621600     47
-----

```

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for TN1.camquan

```

-----
Level          Count      Average  Stnd. Error      95% Confidence
                                     for mean
-----
GRAND MEAN      48          .0000000  .1030200      -.2076709      .2076709
A:TN1.phuongphap
  1              24          .0750000  .1456923      -.2186910      .3686910
  2              24          -.0750000  .1456923      -.3686910      .2186910
B:TN1.duong
  3              24          .2879167  .1456923      -.0057743      .5816077
  4              24          -.2879167  .1456923      -.5816077      .0057743
AB
  1 3            12          .2216667  .2060400      -.1936751      .6370084
  1 4            12          -.0716667  .2060400      -.4870084      .3436751
  2 3            12          .3541667  .2060400      -.0611751      .7695084
  2 4            12          -.5041667  .2060400      -.9195084      -.0888249
-----

```

Multiple range analysis for TN1.camquan by TN1.phuongphap

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
2	24	-.0750000	X
1	24	.0750000	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	0.15000		0.41534

* denotes a statistically significant difference.

Multiple range analysis for TN1.camquan by TN1.duong

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
4	24	-.2879167	X
3	24	.2879167	X

contrast	difference	+/-	limits
3 - 4	0.57583		0.41534 *

* denotes a statistically significant difference.

Phụ lục 7: Kết quả phân tích thống kê thí nghiệm 2.

7.1. Phân tích ảnh hưởng của chủng nấm men đến nồng độ chất khô.

One-Way Analysis of Variance

Data: TN2.hlchatkho
 Level codes: TN2.NT
 Labels:
 Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	6.9066667	2	3.4533333	107.172	.0000
Within groups	.1933333	6	.0322222		

Total (corrected) 7.1000000 8
 0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN2.hlchatkho by TN2.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	3	6.1333333	.1201850	.1036375	5.9539624	6.3127043
2	3	7.6666667	.1201850	.1036375	7.4872957	7.8460376
3	3	5.6000000	.0577350	.1036375	5.4206291	5.7793709
Total	9	6.4666667	.0598352	.0598352	6.3631068	6.5702265

Multiple range analysis for TN2.hlchatkho by TN2.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
3	3	5.6000000	X
1	3	6.1333333	X
2	3	7.6666667	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	-1.53333		0.35874 *
1 - 3	0.53333		0.35874 *
2 - 3	2.06667		0.35874 *

* denotes a statistically significant difference.

7.2. Phân tích ảnh hưởng của chủng nấm men đến độ chua.

One-Way Analysis of Variance

Data: TN2.dochua
 Level codes: TN2.NT
 Labels:
 Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	.0002667	2	1.33333E-004	.343	.7228
Within groups	.0023333	6	3.88889E-004		
Total (corrected)	.0026000	8			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN2.dochua by TN2.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	3	.7200000	.0100000	.0113855	.7002945	.7397055
2	3	.7133333	.0088192	.0113855	.6936278	.7330388
3	3	.7266667	.0145297	.0113855	.7069612	.7463722
Total	9	.7200000	.0065734	.0065734	.7086230	.7313770

Multiple range analysis for TN2.dochua by TN2.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
2	3	.7133333	X
1	3	.7200000	X
3	3	.7266667	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	0.00667		0.03941
1 - 3	-0.00667		0.03941
2 - 3	-0.01333		0.03941

* denotes a statistically significant difference.

7.3. Phân tích ảnh hưởng của chủng nấm men đến độ cồn. One-Way Analysis of Variance

 Data: TN2.docon
 Level codes: TN2.NT
 Labels:
 Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	2.0688889	2	1.0344444	84.636	.0000
Within groups	.0733333	6	.0122222		

 Total (corrected) 2.1422222 8
 0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN2.docon by TN2.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	3	7.6333333	.0881917	.0638285	7.5228620	7.7438046
2	3	6.8000000	.0577350	.0638285	6.6895287	6.9104713
3	3	7.9333333	.0333333	.0638285	7.8228620	8.0438046
Total	9	7.4555556	.0368514	.0368514	7.3917749	7.519336

Multiple range analysis for TN2.docon by TN2.NT

 Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
2	3	6.8000000	X
1	3	7.6333333	X
3	3	7.9333333	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	0.83333		0.22094 *
1 - 3	-0.30000		0.22094 *
2 - 3	-1.13333		0.22094 *

* denotes a statistically significant difference.

7.4. Phân tích ảnh hưởng của chủng nấm men đến lượng đường sót.

One-Way Analysis of Variance

 Data: TN2.duongsoot
 Level codes: TN2.NT
 Labels:
 Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	.4912667	2	.2456333	57.272	.0001
Within groups	.0257333	6	.0042889		

 Total (corrected) .5170000 8
 0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN2.duongsoT by TN2.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	3	1.6666667	.0260342	.0378104	1.6012261	1.7321072
2	3	2.0600000	.0200000	.0378104	1.9945595	2.1254405
3	3	1.5033333	.0566667	.0378104	1.4378928	1.5687739
Total	9	1.7433333	.0218299	.0218299	1.7055512	1.7811154

Multiple range analysis for TN2.duongsoT by TN2.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
3	3	1.5033333	X
1	3	1.6666667	X
2	3	2.0600000	X

contrast	difference +/-	limits
1 - 2	-0.39333	0.13088 *
1 - 3	0.16333	0.13088 *
2 - 3	0.55667	0.13088 *

* denotes a statistically significant difference.

7.5. Phân tích đánh giá cảm quan của thí nghiệm 2.

One-Way Analysis of Variance

Data: TN2.camquan

Level codes: TN2.NT

Labels:

Means plot: LSD

Confidence level: 95

Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	8.0679167	2	4.0339583	14.357	.0000
Within groups	9.2720833	33	.2809722		

Total (corrected) 17.340000 35

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN2.camquan by TN2.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	12	.6375000	.1525199	.1530175	.4173147	.8576853
2	12	-.1416667	.1761148	.1530175	-.3618519	.0785186
3	12	-.4958333	.1263500	.1530175	-.7160186	-.2756481
Total	36	.0000000	.0883447	.0883447	-.1271240	.1271240

Multiple range analysis for TN2.camquan by TN2.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
3	12	-.4958333	X
2	12	-.1416667	X
1	12	.6375000	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	0.77917		0.44037 *
1 - 3	1.13333		0.44037 *
2 - 3	0.35417		0.44037

* denotes a statistically significant difference.

Phụ lục 8: Kết quả phân tích thống kê thí nghiệm 3.

8.1. Phân tích ảnh hưởng của tỉ lệ nấm men đến nồng độ chất khô.

One-Way Analysis of Variance

Data: TN3.hlchatkho
 Level codes: TN3.NT
 Labels:
 Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	2.1088889	2	1.0544444	5.931	.0379
Within groups	1.0666667	6	.1777778		

Total (corrected) 3.1755556 8
 0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN3.hlchatkho by TN3.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	3	6.9666667	.1855921	.2434322	6.5453457	7.3879876
2	3	6.2000000	.3214550	.2434322	5.7786790	6.6213210
3	3	5.8000000	.2000000	.2434322	5.3786790	6.2213210
Total	9	6.3222222	.1405457	.1405457	6.0789725	6.5654720

Multiple range analysis for TN3.hlchatkho by TN3.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
3	3	5.8000000	X
2	3	6.2000000	XX
1	3	6.9666667	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	0.76667		0.84264
1 - 3	1.16667		0.84264 *
2 - 3	0.40000		0.84264

* denotes a statistically significant difference.

8.2. Phân tích ảnh hưởng của tỉ lệ nấm men đến độ chua.

One-Way Analysis of Variance

 Data: TN3.dochua
 Level codes: TN3.NT
 Labels:
 Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	.0004667	2	2.33333E-004	.600	.5787
Within groups	.0023333	6	3.88889E-004		
Total (corrected)	.0028000	8			

 0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN3.dochua by TN3.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	3	.7166667	.0088192	.0113855	.6969612	.7363722
2	3	.7200000	.0152753	.0113855	.7002945	.7397055
3	3	.7333333	.0088192	.0113855	.7136278	.7530388
Total	9	.7233333	.0065734	.0065734	.7119564	.7347103

Multiple range analysis for TN3.dochua by TN3.NT

 Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
1	3	.7166667	X
2	3	.7200000	X
3	3	.7333333	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	-0.00333		0.03941
1 - 3	-0.01667		0.03941
2 - 3	-0.01333		0.03941

* denotes a statistically significant difference.

8.3. Phân tích ảnh hưởng của tỉ lệ nấm men đến độ cồn.

One-Way Analysis of Variance

 Data: TN3.docon
 Level codes: TN3.NT
 Labels:
 Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	.6466667	2	.3233333	5.820	.0394
Within groups	.3333333	6	.0555556		
Total (corrected)	.9800000	8			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN3.docon by TN3.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	3	7.1666667	.1201850	.1360828	6.9311411	7.4021922
2	3	7.6333333	.1763834	.1360828	7.3978078	7.8688589
3	3	7.8000000	.1000000	.1360828	7.5644744	8.0355256
Total	9	7.5333333	.0785674	.0785674	7.3973526	7.6693141

Multiple range analysis for TN3.docon by TN3.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
1	3	7.1666667	X
2	3	7.6333333	XX
3	3	7.8000000	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	-0.46667		0.47105
1 - 3	-0.63333		0.47105 *
2 - 3	-0.16667		0.47105

* denotes a statistically significant difference.

8.4. Phân tích ảnh hưởng của tỉ lệ nấm men đến lượng đường sót.

One-Way Analysis of Variance

Data: TN3.duongso
Level codes: TN3.NT
Labels:
Means plot: LSD

Confidence level: 95

Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	.1600667	2	.0800333	7.855	.0211
Within groups	.0611333	6	.0101889		
Total (corrected)	.2212000	8			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN3.duongsoi by TN3.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	3	1.9100000	.0665833	.0582778	1.8091356	2.0108644
2	3	1.6733333	.0664162	.0582778	1.5724690	1.7741977
3	3	1.5966667	.0366667	.0582778	1.4958023	1.6975310
Total	9	1.7266667	.0336467	.0336467	1.6684326	1.7849007

Multiple range analysis for TN3.duongsoi by TN3.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
3	3	1.5966667	X
2	3	1.6733333	X
1	3	1.9100000	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	0.23667		0.20173 *
1 - 3	0.31333		0.20173 *
2 - 3	0.07667		0.20173

* denotes a statistically significant difference.

8.5. Phân tích đánh giá cảm quan của thí nghiệm 3.**One-Way Analysis of Variance**

Data: TN3.camquan

Level codes: TN3.NT

Labels:

Means plot: LSD

Confidence level: 95

Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	9.0312500	2	4.5156250	17.935	.0000
Within groups	8.3087500	33	.2517803		
Total (corrected)	17.340000	35			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN3.camquan by TN3.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	12	.7083333	.0955116	.1448506	.4998999	.9167668
2	12	-.3541667	.1945720	.1448506	-.5626001	-.1457332
3	12	-.3541667	.1263500	.1448506	-.5626001	-.1457332
Total	36	.0000000	.0836295	.0836295	-.1203391	.1203391

Multiple range analysis for TN3.camquan by TN3.NT

```

-----
Method: 95 Percent LSD
Level      Count      Average      Homogeneous Groups
-----
2          12      -.3541667    X
3          12      -.3541667    X
1          12       .7083333    X
-----
contrast                    difference +/-      limits
1 - 2                        1.06250          0.41687 *
1 - 3                        1.06250          0.41687 *
2 - 3                        0.00000          0.41687
-----

```

* denotes a statistically significant difference.

Phụ lục 9: Kết quả phân tích thống kê thí nghiệm 4.

9.1. Phân tích ảnh hưởng nồng độ chất khô của thí nghiệm

One-Way Analysis of Variance

```

-----
Data: TN4.hlchatkho
Level codes: TN4.NT
Labels:
Means plot: LSD          Confidence level: 95      Range test: LSD
-----

```

Analysis of variance

```

-----
Source of variation  Sum of Squares  d.f.  Mean square  F-ratio  Sig. level
-----
Between groups      26.908889       2      13.454444  157.260   .0000
Within groups       .513333         6       .085556
-----
Total (corrected)   27.422222       8
0 missing value(s) have been excluded.
-----

```

Table of means for TN4.hlchatkho by TN4.NT

```

-----
Level  Count  Average      Std. Error  Std. Error  95 % LSD
              (internal) (pooled s)  intervals for mean
-----
1       3      7.000000    .2000000    .1688743    6.707720    7.292280
2       3      9.233333    .0666667    .1688743    8.941054    9.525613
3       3     11.233333    .2027588    .1688743    10.941054   11.525613
-----
Total   9      9.155556    .0974996    .0974996    8.986808    9.324303
-----

```

Multiple range analysis for TN4.hlchatkho by TN4.NT

```

-----
Method: 95 Percent LSD
Level      Count      Average      Homogeneous Groups
-----
1          3       7.000000    X
2          3       9.233333    X
3          3     11.233333    X
-----
contrast                    difference +/-      limits
1 - 2                       -2.23333          0.58456 *
1 - 3                       -4.23333          0.58456 *
2 - 3                       -2.00000          0.58456 *
-----

```

* denotes a statistically significant difference.

9.2. Phân tích ảnh hưởng của nồng độ chất khô đến độ chua.

One-Way Analysis of Variance

 Data: TN4.dochua
 Level codes: TN4.NT
 Labels:
 Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	.0001556	2	7.77778E-005	.412	.6799
Within groups	.0011333	6	1.88889E-004		
Total (corrected)	.0012889	8			

 0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN4.dochua by TN4.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	3	.7166667	.0066667	.0079349	.7029333	.7304000
2	3	.7100000	.0100000	.0079349	.6962666	.7237334
3	3	.7066667	.0066667	.0079349	.6929333	.7204000
Total	9	.7111111	.0045812	.0045812	.7031821	.7190401

Multiple range analysis for TN4.dochua by TN4.NT

 Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
3	3	.7066667	X
2	3	.7100000	X
1	3	.7166667	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	0.00667		0.02747
1 - 3	0.01000		0.02747
2 - 3	0.00333		0.02747

* denotes a statistically significant difference.

9.3. Phân tích ảnh hưởng của nồng độ chất khô đến độ cùn.

One-Way Analysis of Variance

 Data: TN4.docon
 Level codes: TN4.NT
 Labels:
 Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	.0288889	2	.0144444	.448	.6585
Within groups	.1933333	6	.0322222		
Total (corrected)	.2222222	8			

 0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN4.docon by TN4.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	3	7.1333333	.1333333	.1036375	6.9539624	7.3127043
2	3	7.0333333	.0333333	.1036375	6.8539624	7.2127043
3	3	7.0000000	.1154701	.1036375	6.8206291	7.1793709
Total	9	7.0555556	.0598352	.0598352	6.9519957	7.1591154

Multiple range analysis for TN4.docon by TN4.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
3	3	7.0000000	X
2	3	7.0333333	X
1	3	7.1333333	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	0.10000		0.35874
1 - 3	0.13333		0.35874
2 - 3	0.03333		0.35874

* denotes a statistically significant difference.

9.4. Phân tích ảnh hưởng của nồng độ chất khô đến lượng đường sót.**One-Way Analysis of Variance**

Data: TN4.duongсот

Level codes: TN4.NT

Labels:

Means plot: LSD

Confidence level: 95

Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	2.4570889	2	1.2285444	99.702	.0000
Within groups	.0739333	6	.0123222		
Total (corrected)	2.5310222	8			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN4.duongсот by TN4.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	3	1.9300000	.0600000	.0640891	1.8190777	2.0409223
2	3	2.6466667	.0811035	.0640891	2.5357444	2.7575890
3	3	3.2066667	.0463081	.0640891	3.0957444	3.3175890
Total	9	2.5944444	.0370018	.0370018	2.5304034	2.6584855

Multiple range analysis for TN4.duongsoy by TN4.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
1	3	1.9300000	X
2	3	2.6466667	X
3	3	3.2066667	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	-0.71667		0.22184 *
1 - 3	-1.27667		0.22184 *
2 - 3	-0.56000		0.22184 *

* denotes a statistically significant difference.

9.5. Phân tích đánh giá cảm quan của thí nghiệm 4.

One-Way Analysis of Variance

Data: TN4.camquan
 Level codes: TN4.NT
 Labels:
 Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	2.287917	2	1.1439583	2.508	.0968
Within groups	15.052083	33	.4561237		
Total (corrected)	17.340000	35			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN4.camquan by TN4.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	12	-.3541667	.1263500	.1949623	-.6347087	-.0736247
2	12	.1416667	.2300225	.1949623	-.1388753	.4222087
3	12	.2125000	.2125000	.1949623	-.0680420	.4930420
Total	36	.0000000	.1125616	.1125616	-.1619710	.1619710

Multiple range analysis for TN4.camquan by TN4.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
1	12	-.3541667	X
2	12	.1416667	XX
3	12	.2125000	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	-0.49583		0.56108
1 - 3	-0.56667		0.56108 *
2 - 3	-0.07083		0.56108

• denotes a statistically significant difference.

Phụ lục 10: Kết quả phân tích thống kê thí nghiệm 5

10.1. Phân tích ảnh hưởng của thời gian men men đến nồng độ chất khô.

One-Way Analysis of Variance

 Data: TN5.hlchatkho
 Level codes: TN5.NT
 Labels:
 Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	28.529167	3	9.5097222	95.896	.0000
Within groups	.793333	8	.0991667		

 Total (corrected) 29.322500 11
 0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN5.hlchatkho by TN5.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	3	11.833333	.2848001	.1818119	11.536790	12.129877
2	3	9.100000	.1527525	.1818119	8.803456	9.396544
3	3	8.300000	.1527525	.1818119	8.003456	8.596544
4	3	7.866667	.0666667	.1818119	7.570123	8.163210
Total	12	9.275000	.0909059	.0909059	9.126728	9.423272

Multiple range analysis for TN5.hlchatkho by TN5.NT

 Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
4	3	7.866667	X
3	3	8.300000	X
2	3	9.100000	X
1	3	11.833333	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	2.73333		0.59309 *
1 - 3	3.53333		0.59309 *
1 - 4	3.96667		0.59309 *
2 - 3	0.80000		0.59309 *
2 - 4	1.23333		0.59309 *
3 - 4	0.43333		0.59309

* denotes a statistically significant difference.

10.2. Phân tích ảnh hưởng của thời gian lên men đến độ chua.

One-Way Analysis of Variance

 Data: TN5.dochua
 Level codes: TN5.NT
 Labels:
 Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	.0020917	3	6.97222E-004	2.041	.1868
Within groups	.0027333	8	3.41667E-004		
Total (corrected)	.0048250	11			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN5.dochua by TN5.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	3	.7000000	.0115470	.0106719	.6825937	.7174063
2	3	.7100000	.0100000	.0106719	.6925937	.7274063
3	3	.7333333	.0088192	.0106719	.7159270	.7507397
4	3	.7266667	.0120185	.0106719	.7092603	.7440730
Total	12	.7175000	.0053359	.0053359	.7087968	.7262032

Multiple range analysis for TN5.dochua by TN5.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
1	3	.7000000	X
2	3	.7100000	X
4	3	.7266667	X
3	3	.7333333	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	-0.01000		0.03481
1 - 3	-0.03333		0.03481
1 - 4	-0.02667		0.03481
2 - 3	-0.02333		0.03481
2 - 4	-0.01667		0.03481
3 - 4	0.00667		0.03481

* denotes a statistically significant difference.

10.3. Phân tích ảnh hưởng của thời gian lên men đến độ cồn.

One-Way Analysis of Variance

Data: TN5.docon

Level codes: TN5.NT

Labels:

Means plot: LSD

Confidence level: 95

Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	8.5266667	3	2.8422222	89.754	.0000
Within groups	.2533333	8	.0316667		
Total (corrected)	8.7800000	11			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN5.docon by TN5.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	3	5.6000000	.1527525	.1027402	5.4324258	5.7675742
2	3	7.1000000	.1000000	.1027402	6.9324258	7.2675742
3	3	7.5333333	.0881917	.1027402	7.3657591	7.7009075
4	3	7.7666667	.0333333	.1027402	7.5990925	7.9342409
Total	12	7.0000000	.0513701	.0513701	6.9162129	7.0837871

Multiple range analysis for TN5.docon by TN5.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
1	3	5.6000000	X
2	3	7.1000000	X
3	3	7.5333333	X
4	3	7.7666667	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	-1.50000		0.33515 *
1 - 3	-1.93333		0.33515 *
1 - 4	-2.16667		0.33515 *
2 - 3	-0.43333		0.33515 *
2 - 4	-0.66667		0.33515 *
3 - 4	-0.23333		0.33515

* denotes a statistically significant difference.

10.4. Phân tích ảnh hưởng của thời gian lên men đến lượng đường sót.

One-Way Analysis of Variance

Data: TN5.duongso
Level codes: TN5.NT
Labels:

Means plot: LSD

Confidence level: 95

Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	3.1610250	3	1.0536750	48.594	.0000
Within groups	.1734667	8	.0216833		
Total (corrected)	3.3344917	11			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN5.duongso by TN5.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	3	3.4133333	.0825295	.0850163	3.2746676	3.5519990
2	3	2.5600000	.1137248	.0850163	2.4213343	2.6986657
3	3	2.2500000	.0929157	.0850163	2.1113343	2.3886657
4	3	2.0800000	.0230940	.0850163	1.9413343	2.2186657
Total	12	2.5758333	.0425082	.0425082	2.5065005	2.6451662

Multiple range analysis for TN5.duongsoy by TN5.NT

```

-----
Method: 95 Percent LSD
Level      Count      Average      Homogeneous Groups
-----
4          3          2.0800000    X
3          3          2.2500000    X
2          3          2.5600000    X
1          3          3.4133333    X
-----
contrast                    difference +/-      limits
1 - 2                        0.85333          0.27733 *
1 - 3                        1.16333          0.27733 *
1 - 4                        1.33333          0.27733 *
2 - 3                        0.31000          0.27733 *
2 - 4                        0.48000          0.27733 *
3 - 4                        0.17000          0.27733
-----

```

* denotes a statistically significant difference.

10.5. Phân tích đánh giá cảm quan của thí nghiệm 5.

One-Way Analysis of Variance

```

-----
Data: TN5.camquan
Level codes: TN5.NT
Labels:
Means plot: LSD          Confidence level: 95          Range test: LSD
-----

```

Analysis of variance

```

-----
Source of variation      Sum of Squares      d.f. Mean square      F-ratio      Sig. level
-----
Between groups          73.56000           3      24.52000           4.537          .0074
Within groups          237.78667           44      5.40424
-----
Total (corrected)          311.34667           47
0 missing value(s) have been excluded.
-----

```

Table of means for TN5.camquan by TN5.NT

```

-----
Level      Count      Average      Stnd. Error      Stnd. Error      95 % LSD
          (internal)      (pooled s)      intervals for mean
-----
1          12          12.3333333    .8057871          .6710839          11.376765      13.289901
2          12          15.3666667    .4785289          .6710839          14.410099      16.323235
3          12          15.3333333    .8432740          .6710839          14.376765      16.289901
4          12          14.6333333    .4604565          .6710839          13.676765      15.589901
-----
Total      48          14.4166667    .3355419          .3355419          13.938383      14.894951
-----

```

Multiple range analysis for TN5.camquan by TN5.NT

```

-----
Method: 95 Percent LSD
Level      Count      Average      Homogeneous Groups
-----
1          12          12.3333333    X
4          12          14.6333333    X
3          12          15.3333333    X
2          12          15.3666667    X
-----

```

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	-3.03333		1.91314 *
1 - 3	-3.00000		1.91314 *
1 - 4	-2.30000		1.91314 *
2 - 3	0.03333		1.91314
2 - 4	0.73333		1.91314
3 - 4	0.70000		1.91314

 * denotes a statistically significant difference.

Phụ lục 11: Kết quả phân tích thống kê thí nghiệm 6

11.1. Phân tích ảnh hưởng của nồng độ chất khô ở thí nghiệm 6

One-Way Analysis of Variance

 Data: TN6.hlchatkho
 Level codes: TN6.NT
 Labels:
 Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	31.748889	2	15.874444	892.938	.0000
Within groups	.106667	6	.017778		
Total (corrected)	31.855556	8			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN6.hlchatkho by TN6.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	3	8.833333	.0333333	.0769800	8.700100	8.966567
2	3	11.600000	.1154701	.0769800	11.466767	11.733233
3	3	13.400000	.0577350	.0769800	13.266767	13.533233
Total	9	11.277778	.0444444	.0444444	11.200855	11.354700

Multiple range analysis for TN6.hlchatkho by TN6.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
1	3	8.833333	X
2	3	11.600000	X
3	3	13.400000	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	-2.76667		0.26647 *
1 - 3	-4.56667		0.26647 *
2 - 3	-1.80000		0.26647 *

 * denotes a statistically significant difference.

11.2. Phân tích ảnh hưởng của độ chua ở thí nghiệm 6

One-Way Analysis of Variance

Data: TN6.dochua
 Level codes: TN6.NT
 Labels:
 Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	.0029556	2	.0014778	66.500	.0001
Within groups	.0001333	6	.0000222		
Total (corrected)	.0030889	8			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN6.dochua by TN6.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	3	.7166667	.0033333	.0027217	.7119562	.7213772
2	3	.7566667	.0033333	.0027217	.7519562	.7613772
3	3	.7200000	.0000000	.0027217	.7152895	.7247105
Total	9	.7311111	.0015713	.0015713	.7283915	.7338307

Multiple range analysis for TN6.dochua by TN6.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
1	3	.7166667	X
3	3	.7200000	X
2	3	.7566667	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	-0.04000		0.00942 *
1 - 3	-0.00333		0.00942
2 - 3	0.03667		0.00942 *

* denotes a statistically significant difference.

11.3. Phân tích ảnh hưởng của độ cồn ở thí nghiệm 6

One-Way Analysis of Variance

Data: TN6.docon
 Level codes: TN6.NT
 Labels:
 Means plot: LSD Confidence level: 95 Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	.0422222	2	.0211111	6.333	.0332
Within groups	.0200000	6	.0033333		
Total (corrected)	.0622222	8			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN6.docon by TN6.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	3	7.2666667	.03333333	.03333333	7.2089749	7.3243584
2	3	7.3666667	.03333333	.03333333	7.3089749	7.4243584
3	3	7.4333333	.03333333	.03333333	7.3756416	7.4910251
Total	9	7.3555556	.0192450	.0192450	7.3222472	7.3888639

Multiple range analysis for TN6.docon by TN6.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
1	3	7.2666667	X
2	3	7.3666667	XX
3	3	7.4333333	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	-0.10000		0.11538
1 - 3	-0.16667		0.11538 *
2 - 3	-0.06667		0.11538

* denotes a statistically significant difference.

11.4. Phân tích ảnh hưởng của lượng đường sót ở thí nghiệm 6

One-Way Analysis of Variance

Data: TN6.duongсот

Level codes: TN6.NT

Labels:

Means plot: LSD

Confidence level: 95

Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	3.4072889	2	1.7036444	41.597	.0003
Within groups	.2457333	6	.0409556		

Total (corrected) 3.6530222 8

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN6.duongсот by TN6.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	3	2.3433333	.1105039	.1168411	2.1411102	2.5455564
2	3	3.3300000	.1285820	.1168411	3.1277769	3.5322231
3	3	3.8233333	.1105039	.1168411	3.6211102	4.0255564
Total	9	3.1655556	.0674583	.0674583	3.0488020	3.2823091

Multiple range analysis for TN6.duongsoi by TN6.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
1	3	2.3433333	X
2	3	3.3300000	X
3	3	3.8233333	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	-0.98667		0.40445 *
1 - 3	-1.48000		0.40445 *
2 - 3	-0.49333		0.40445 *

* denotes a statistically significant difference.

11.5. Phân tích đánh giá cảm quan của thí nghiệm 6

One-Way Analysis of Variance

Data: TN6.camquan

Level codes: TN6.NT

Labels:

Means plot: LSD

Confidence level: 95

Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	5.900417	2	2.9502083	8.511	.0010
Within groups	11.439583	33	.3466540		
Total (corrected)	17.340000	35			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for TN6.camquan by TN6.NT

Level	Count	Average	Std. Error (internal)	Std. Error (pooled s)	95 % LSD intervals for mean	
1	12	.5666667	.1208137	.1699642	.3220958	.8112375
2	12	-.2125000	.1849575	.1699642	-.4570708	.0320708
3	12	-.3541667	.1945720	.1699642	-.5987375	-.1095958
Total	36	.0000000	.0981289	.0981289	-.1412030	.1412030

Multiple range analysis for TN6.camquan by TN6.NT

Method: 95 Percent LSD

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
3	12	-.3541667	X
2	12	-.2125000	X
1	12	.5666667	X

contrast	difference	+/-	limits
1 - 2	0.77917		0.48914 *
1 - 3	0.92083		0.48914 *
2 - 3	0.14167		0.48914

* denotes a statistically significant difference.