

**NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG ENZYM THỦY PHÂN PROTEIN
TRONG CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT VANG NẾP CẨM
THE STUDY OF USING PROTEASE
IN RED GLUTINUOS-RICE WINE PRODUCTION**

Nguyễn Thanh Hằng, Phạm Thu Thuý

Viện CN Sinh học - CN Thực Phẩm, Trường Đại học Bách khoa Hà nội

TÓM TẮT

Rượu đặc sản đã từ lâu là niềm tự hào dân tộc bởi nó mang bản sắc văn hoá của từng quốc gia, từng khu vực. Rượu nếp cẩm là loại rượu đặc sản, là sản phẩm lên men truyền thống của Việt Nam. Việc nghiên cứu sử dụng enzym thủy phân protein trong sản xuất vang nếp cẩm là vấn đề có ý nghĩa, nhằm nâng cao chất lượng rượu vang cẩm đáp ứng được yêu cầu của ngành rượu bia nước giải khát. Kết quả nghiên cứu cho thấy các điều kiện công nghệ thích hợp cho quá trình thủy phân protein trong sản xuất vang nếp cẩm khi sử dụng chế phẩm Neutralse là thời điểm đậm hoá được thực hiện sau khi dịch hoá, ở nhiệt độ 55^oC, pH 5.5, thời gian 40 phút, nồng độ enzym 0,2%.

ABSTRACT

Special foods are proud of every country because it brings the national character of each region. Red glutinous-rice wine, one of special foods, is traditionally fermented product of Vietnam. The study of using protease in red glutinuos- rice wine production is useful to improve its quality to satisfy the demands of beverage industry. The result indicates that the optimal conditions for hydrolyzed-protein process in producing rice wine using Neutralse product are at time of hydrolyzed-protein after liquefaction, at temperature 55^oC, and pH 5.5, for 40 minutes, and enzyme concentration 0,2%.

1. MỞ ĐẦU

Rượu đặc sản đã từ lâu là niềm tự hào dân tộc bởi nó mang bản sắc văn hoá của từng quốc gia, từng khu vực. Rượu nếp cẩm là loại rượu đặc sản, là sản phẩm lên men truyền thống của Việt Nam. Rượu được sản xuất từ gạo nếp cẩm, là loại nguyên liệu có chất lượng cao, dễ trồng và khá phổ biến ở Việt Nam. Rượu có màu sắc đẹp, đặc trưng bởi màu tím sẫm của gạo cẩm, hương vị hấp dẫn và được xem là loại rượu bổ do có chất lượng dinh dưỡng khá cao. Tuy vậy, cho đến nay hầu hết các sản phẩm rượu cẩm trên thị trường được sản xuất theo phương pháp thủ công, chất lượng rượu cẩm thường không cao và không ổn định, hiệu quả sản xuất thấp. Trong những năm gần đây nhờ sự phát triển của công nghệ enzym, nhiều loại chế phẩm enzym đã được sử dụng trong nhiều ngành công nghiệp, đặc biệt trong công nghiệp đồ uống.

Vi vậy, trong bài báo này xin đề cập đến việc “Nghiên cứu sử dụng enzyme thủy phân protein trong công nghệ sản xuất rượu vang nếp cẩm”. Đây là một trong vấn đề có ý nghĩa, nhằm nâng cao chất lượng rượu vang cẩm đáp ứng được yêu cầu của ngành rượu, bia, nước giải khát.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Gạo nếp cẩm: Có nguồn gốc từ Phú Thọ.

Chế phẩm enzym: Sử dụng các chế phẩm enzym của hãng Novo - Đan Mạch gồm: Termamyl SC, AMG 300L, Neutralse.

Nấm men: Sử dụng nấm men thuần chủng NĐ3 (*Saccharomyces cerevisiae*) thuộc bộ sưu tập giống vi sinh vật của bộ môn Công nghệ các sản phẩm lên men.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Xác định nitơ tổng số theo phương pháp Kjeldah
- Xác định hàm lượng nitơ hoà tan trong TCA. Nguyên tắc: Dùng Tricloacetic kết tủa những peptit phân tử lượng cao trong dịch thủy phân đã lọc trong, lọc bỏ kết tủa rồi từ đó đem đi xác định hàm lượng nitơ hòa tan bền vững bằng phương pháp Kjeldahl.
- Xác định hàm lượng nitơ hoà tan của dịch lọc theo phương pháp Kjeldahl.
- Xác định độ rượu bằng phương pháp cân bình ti trọng.
- Xác định hàm lượng đường khử theo phương pháp Graxianop.
- Mức độ thủy phân protein:

$$DH = (V.N'.100)/m.N \quad (\%)$$

N': hàm lượng nitơ hòa tan trong TCA 10%

V: thể tích dịch lọc của mẫu thí nghiệm, ml

m: Khối lượng mẫu thí nghiệm, g

N: hàm lượng nitơ tổng số có trong mẫu, g/l

- Sơ đồ nghiên cứu:

Bột gạo cẩm → Dịch bột gạo cẩm → Dịch hóa (Termamyl) → Đạm hóa (Neutrased) → Đường hóa (AMG) → Lên men → Rượu sau lên men

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu thời điểm thích hợp bổ sung chế phẩm Neutrased

Để tăng hiệu suất thủy phân protein, tạo điều kiện cho quá trình lên men đồng thời nâng cao chất lượng của vang nếp cẩm, chúng tôi tiến hành nghiên cứu 3 thời điểm bổ sung chế phẩm Neutrased.

Mẫu 1: Cho Neutrased ngay từ khi hoà bột gạo cẩm (Termamyl+ Neutrased)

Mẫu 2: Cho Neutrased vào sau khi dịch hoá và trước khi đường hoá (Termamyl - Neutrased)

Mẫu 3 : Cho Neutrased cùng với AMG

(Neutrased + AMG).

Kết quả ở bảng 1 cho ta thấy: Khi cho chế phẩm Neutrased vào cùng với Termamyl ngay từ khi hoà bột, cho ta kết quả hiệu suất thủy phân và mức độ thủy phân thấp hơn hai mẫu kia. Khi bổ sung Neutrased vào giữa quá trình dịch hoá và đường hoá cho kết quả thủy phân tốt nhất, điều này có thể nhờ hai yếu tố thuận lợi cho tác dụng của Neutrased là trạng thái của dịch hồ bột và thời gian tác dụng của enzym đủ dài. Chất lượng rượu sau lên men với cơ cấu thành phần nitơ nhận được của dịch đường hoá trong điều kiện này đạt cao nhất: độ rượu đạt cao hơn, độ chua thấp hơn, hàm lượng tinh bột sót thấp hơn. Hiệu suất lên men đạt được là khá cao, điều đó chứng tỏ nguồn nitơ amin rất tốt đối với sự sinh trưởng và hoạt động của nấm men. Kết quả được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời điểm bổ sung Neutrased tới quá trình thủy phân protein và chất lượng rượu sau lên men

Chi tiêu đánh giá	Thời điểm bổ sung Neutrased		
	Termamyl +Neutrased	Termamyl Neutrased	Neutrased+ AMG
Dịch sau đậm hoá			*
-Hàm lượng nitơ hoà tan (g/l)	1,03	1,12	1,05
-Hàm lượng nitơ hoà tan trong TCA(g/l)	0,90	1,08	0,93
-Mức độ thủy phân(%)	22,63	26,44	22,83
Rượu sau lên men			
-Tổng lượng CO ₂ (g/200ml)	20,47	21,32	20,90
-Độ rượu (%V/V)	13,73	14,20	13,92
-Độ chua (g/l)	2,53	2,57	2,57
-Đường sót (g/l)	17,53	17,30	17,45
-Hiệu suất lên men(%)	84,10	86,50	84,78

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành quá trình đậm hoá dịch bột gạo cẩm ở các nhiệt độ là 45, 50 và 55 °C, trong thời gian 30 phút. Chúng tôi thu được kết quả thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Nhiệt độ (°C)	Dịch sau thủy phân			Dịch sau lên men		
	Nitơ hoà tan (g/l)	Nitơ hoà tan trong TCA(g/l)	Mức độ thủy phân (%)	Độ rượu (%V)	Độ chua (độ)	Đường sót (g/l)
45	0,84	0,78	19,23	14,0	1,4	3,69
50	1,09	1,02	25,23	14,2	1,33	3,65
55	1,15	1,09	26,93	14,3	1,33	3,23

Kết quả ở bảng 2 cho thấy ở nhiệt độ 45⁰C lượng protein hoà tan thấp và lượng peptit thấp phân tử tạo thành ít hơn nhiều so với nhiệt độ khác, còn ở nhiệt độ 55⁰C quá trình thủy phân protein và lên men rượu diễn ra tốt nhất. Thật vậy, rượu nhận được sau lên men có lượng tinh bột còn lại ít, hiệu suất lên men cao, mùi thơm, vị hài hoà màu tươi sáng hơn các trường hợp khác, đặc biệt là rượu có độ sánh.

3.3. Ảnh hưởng của nồng độ chế phẩm Neutrase

Mục đích nghiên cứu nhằm xác định được nồng độ chế phẩm vừa đủ để đảm bảo quá trình thủy phân đạt kết quả tốt. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu ở các nồng độ Neutrase 0,1; 0,2; 0,3%. Kết quả được chỉ ra trong bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ Neutrase

Nồng độ Neutrase (%)	Dịch sau thủy phân			Dịch sau lên men		
	Nitơ hoà tan (g/l)	Nitơ hoà tan trong TCA(g/l)	Mức độ thủy phân (%)	Độ rượu (%v/v)	Độ chua (độ)	Đường sót (g/l)
0.1	1.54	1.54	37.56	13,34	1,71	3,68
0.2	1.62	1.57	38.84	13,44	1,69	3,36
0.3	1.62	1.58	38.67	13,35	1,71	3,64

Từ kết quả nghiên cứu ở bảng 3 ta thấy: nồng độ enzym sử dụng thích hợp nhất là 0.2%. Vì với nồng độ enzym cao hơn chất lượng dịch đường hoá và rượu sau lên men không có cải thiện gì đáng kể mà lại lãng

phí enzym.

3.4. Ảnh hưởng của thời gian

Trong nghiên cứu này chúng tôi xác định thời gian cần thiết tối thiểu đảm bảo chất lượng rượu vang nhận được. Trên cơ sở đó quyết định thời gian ‘nghi đậm hoá’ thích hợp. Chúng tôi tiến hành đậm hoá ở các khoảng thời gian: 30, 40, và 45 phút. Kết quả được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của thời gian

Thời gian (phút)	Dịch sau thủy phân			Dịch sau lên men		
	Nitơ hoà tan (g/l)	Nitơ hoà tan trong TCA(g/l)	Mức độ thủy phân (%)	Độ rượu (%V)	Độ chua (độ)	Đường sót (g/l)
30	1,62	1,57	38,56	14,00	1,40	3,69
40	1,87	1,67	40,95	14,20	1,35	3,50
45	1,90	1,67	41,05	14,20	1,33	3,55

Kết quả bảng 4 cho thấy thời gian đậm hoá chỉ cần 40 phút, vì sau đó chất lượng dịch đường hoá và rượu sau lên men hầu như không thay đổi.

3.5. Ảnh hưởng của pH dịch bột

Mục đích nghiên cứu nhằm tìm một pH thích hợp cho neutrase hoạt động trên môi trường thủy phân là dịch bột gạo cẩm. Chúng tôi chọn các pH = 5,0; 5,5; 6,0 để nghiên cứu. Kết quả thể hiện ở bảng 5.

Kết quả ở bảng 5 cho thấy ở pH = 5 – 5,5 thì protein hoà tan vào dịch nhiều và lượng nitơ hoà tan tạo thành cũng nhiều hơn. Ở vùng pH này enzym hoạt động tốt cho hiệu suất thủy phân cao.

Bảng 5. Ảnh hưởng của pH dịch bột

pH	Dịch sau thủy phân			Dịch sau lên men		
	Nitơ hoà tan (g/l)	Nitơ hoà tan trong TCA(g/l)	Mức độ thủy phân (%)	Độ rượu (%V)	Độ chua (độ)	Đường sót (g/l)
5.0	2,00	1,76	43,11	14,0	1,36	3,50
5.5	2,09	1,82	44,55	14,0	1,35	3,55
6.2	1,87	1,67	40,95	13,50	1,40	3,60

4. KẾT LUẬN

Với kết quả nghiên cứu trên chúng tôi chọn các điều kiện tối ưu khi sử dụng enzym thủy phân protein trong sản xuất rượu vang nếp cẩm như sau:

Thời gian thủy phân : 40 phút

Nhiệt độ thủy phân : 55 °C

Nồng độ neutrase : 0,2%

pH của dịch bột : 5,5

Như vậy sau khi dịch hoá bằng Termamyl cần giảm nhiệt độ của dịch bột xuống 55°C và pH 5,5 để tiến hành quá trình thủy phân protein bằng Neutrase.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Nguyễn Thị Hồng**, Nghiên cứu hoàn thiện công nghệ lên men rượu đặc sản: Vang cẩm; Luận án tiến sĩ, Viện Công nghiệp Thực phẩm, 2003.
2. **Nguyễn Đình Thương, Nguyễn Thanh Hằng**; Công nghệ sản xuất và kiểm tra cồn

etylic. Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật, 2000.

3. **Quản Lê Hà**; Nghiên cứu một số đặc tính và ứng dụng hệ enzym thủy phân tinh bột và protein vào trong sản xuất các đồ uống. Luận án tiến sĩ kỹ thuật trường ĐHBK Hà Nội, 1998.

4. **Eisenthal & M.J. Danson**, Enzym assays, A practical approach. Oxford Univ, p 45, 1992.

5. **G. Linden**; Analytical techniques for foods and agricultural products. Editor for English-language edition, 2001.

6. **M.W. Graeme**; Wines/Microbiology of wine-making, pp.2306-2313, 1999.

8. **T. Inoue, J. Tanaka, & S. Mitsui**; Recent advances in Japanese brewing technology; Philadelphia, USA, Gordon and Breach Sci. Publ, 1992.

9. **Japaneses Patent**; Sake making, Jakara Shuzo Co. Ltd, (N_o5), p.28591, 1997.

10. **C. Lee, Anthony, F. Yusaku**. Amylolytic activities of fungal isolates from banh men, a fermentation starter from Vietnam. Annual reports of IC Biotech, Vol. 20. International center for Biotechnology, Osaka University, Osaka, Japan, p. 155- 162, 1997.