

NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ CỐ ĐỊNH TẾ BÀO TRONG LÊN MEN RƯỢU TỪ TỎI ĐEN

Nguyễn Ngọc Vương^{1,*}, Huỳnh Thị Diễm Thúy^{1,*}, Ngô Thị Minh Phương^{1,*}

TÓM TẮT

Nghiên cứu này đã khảo sát các yếu tố thích hợp để tạo sản phẩm rượu lên men từ tỏi đen và các yếu tố để cố định các tế bào nấm men cho quá trình lên men. Nghiên cứu được tiến hành song song với 2 phương pháp lên men rượu từ tỏi đen, đó là lên men bằng nấm men tự do và lên men bằng phương pháp cố định tế bào để có thể so sánh các ưu, nhược điểm của từng phương pháp. Kết quả từ 2 phương pháp lên men cho thấy nấm men được cố định có tính ưu việt hơn so với nấm men tự do, có hoạt lực lên men tốt hơn, hàm lượng rượu tạo ra cao hơn. Kết quả cũng cho thấy, tỷ lệ nấm men phù hợp với cả 2 quá trình lên men là 0,6%, hàm lượng bột tỏi đen 7,5%, nồng độ chất khô 18°Bx, nồng độ Na-alginate 3%, thể tích chất mang 20 ml, dung dịch tạo gel CaCl₂ 1,5% là tối ưu. Hàm lượng flavonoid, phenolic axit thu được sau quá trình lên men lần lượt là 9,7 mg/ml, 5,7 mg/ml thấp hơn không đáng kể so với tỏi đen nguyên liệu. Sản phẩm rượu tỏi đen tạo ra có mùi đặc trưng của tỏi đen và đồ uống có cồn, nồng độ cồn không quá cao và có tiềm năng trong sản xuất quy mô công nghiệp trên thị trường trong thời gian đến.

Từ khóa: *Lên men cố định, lên men tự do, natri alginate, rượu tỏi đen, tỏi đen.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay ngành công nghệ lên men đã và đang phát triển với nhiều phương pháp lên men mới, đặc biệt là công nghệ cố định tế bào. Phương pháp cố định tế bào nấm men trên chất mang giúp tăng hiệu suất thu hồi nấm men và giảm chi phí tinh sạch sản phẩm [1-3]. Ở Việt Nam tỏi được trồng trên khắp cả nước sản lượng năm 2021 đạt 48.000 tấn/năm [4], tỏi được xem như là phương thuốc truyền thống nhưng mùi vị khó chịu. Vậy nên, tỏi đen đang dần thay thế cho tỏi trắng bởi hàm lượng chất dinh dưỡng cao, đặc biệt các chất chống oxy hóa [5]. Trên thị trường, các sản phẩm về tỏi đen không được phong phú, các loại nước lên men hay rượu lên men từ tỏi đen dường như chưa xuất hiện, do đó đây là một sản phẩm mới cho ngành công nghiệp thực phẩm hiện nay.

Xuất phát từ những lí do trên, việc nghiên cứu ứng dụng công nghệ cố định tế bào trong lên men rượu tỏi đen là một hướng nghiên cứu có ý nghĩa thiết thực, vừa đa dạng hóa sản phẩm từ tỏi đen,

vừa tạo ra một sản phẩm lên men có lợi cho sức khỏe, ngoài ra, còn góp phần thúc đẩy ngành công nghệ sau thu hoạch nói chung và công nghệ thực phẩm nói riêng của nước ta ngày càng phát triển.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Tỏi tía Hà Nội được lựa chọn và thu mua tại thành phố Đà Nẵng sau đó vận chuyển về phòng thí nghiệm. Tiến hành cắt bỏ rễ cuống, bóc sơ lớp vỏ bên ngoài, ngâm cùng bia với tỷ lệ 1 kg/1 lon. Trong thời gian 30 phút, mỗi 5 phút đảo 1 lần, sau 30 phút vớt tỏi ra và để ráo. Sau cùng bọc giấy bạc và ủ tỏi ở nhiệt độ từ 70 – 75°C trong 12 ngày, thu được tỏi đen.

Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* được hoạt hóa từ ống giống lấy từ Phòng thí nghiệm Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật, Đại học Đà Nẵng.

Hóa chất thực phẩm: Na-alginate, CaCl₂, Na₂CO₃, NaNO₂, AlCl₃, NaOH (Xilong-Trung Quốc), methanol (Fisher Chemical-Mỹ), axit gallic (Merck-Đức), thuốc thử Folin-Ciocalteu (Merck-Đức).

¹ Khoa Công nghệ hóa học, Môi trường, Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật, Đại học Đà Nẵng
Email: ngocvuonga3@gmail.com;
diemthuy26092000@gmail.com; ntmphuong@ute.udn.vn

2.2. Bố trí thí nghiệm

2.2.1. Nhân giống nấm men

Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* được tăng sinh và nhân giống bằng dung dịch nước mía trong 48 giờ. Sau đó tiến hành ly tâm, bỏ lớp nước phía trên, thu được nấm men ở dạng paste, tiến hành bảo quản ở tủ đông.

2.2.2. Khảo sát yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu tối đen khi sử dụng tế bào nấm men tự do

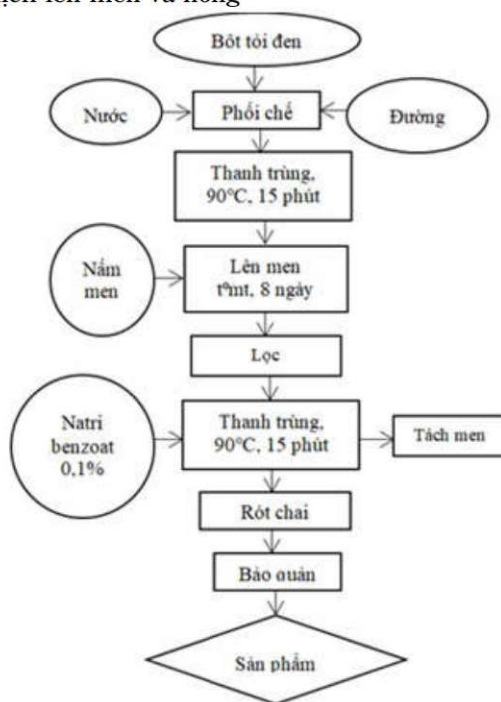
Khảo sát nấm men *Saccharomyces cerevisiae* ở nồng độ 0,4%, 0,6%, 0,8%. Với thông số cố định là 5% bột tối đen trong 100 ml dịch lên men và nồng

độ chất khô ban đầu là 20⁰Bx đến quá trình lên men rượu.

Khảo sát hàm lượng tối bổ sung trong 100 ml dịch lên men 5%, 7,5%, 10% với thông số cố định sử dụng 0,6% nấm men và nồng độ chất khô 20⁰Bx đến quá trình lên men rượu.

Khảo sát nồng độ chất khô ban đầu của sản phẩm 16⁰Bx, 18⁰Bx, 20⁰Bx bằng cách hiệu chỉnh bằng đường saccharose với thông số cố định sử dụng 0,6% nấm men, 7,5% bột tối đen đến quá trình lên men rượu.

Các thí nghiệm trải qua quá trình lên men theo sơ đồ hình 1.



Hình 1. Quy trình lên men rượu tối đen

2.2.3. Khảo sát yếu tố các chất cố định nấm men *Saccharomyces cerevisiae*

Khảo sát nồng độ phần trăm thể tích chất mang natri alginate để cố định tế bào nấm men ở 5%, 10%, 20% trong 100 ml dịch lên men với nồng độ nấm men được cố định trong chất mang là 0,6%, 5% tối đen và 20⁰Bx.

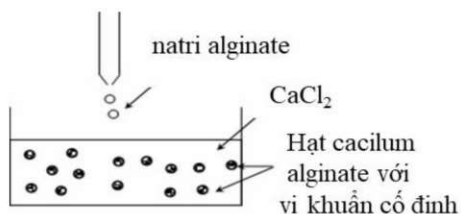
Khảo sát lượng nấm men có nồng độ 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8% được cố định trong chất mang. Thông số cố định: nồng độ phần trăm thể tích chất

mang natri alginate 20% với 5% bột tối đen, 20⁰Bx trong 100 ml dịch lên men.

Khảo sát số lần tái sử dụng hạt nấm men trong lên men rượu tối đen.

Nấm men được cố định trong hạt natri alginate với nồng độ natri alginate 3% trong dung dịch canxi clorua 1,5% [6-7].

Tạo hạt cố định nấm men *Saccharomyces cerevisiae* [6]. Thực hiện theo sơ đồ hình 2.



Hình 1. Sơ đồ cách tạo hạt nấm men cố định

2.2.4. Các chỉ tiêu phân tích

Xác định nồng độ chất khô bằng brix kế cầm tay; độ pH đo bằng máy đo pH để bàn Mettler Toledo; nồng độ cồn được đo bằng phương pháp chưng cất và xác định bằng cồn kế; xác định hàm lượng đường khử bằng phương pháp Luff Schoorl [8]; hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định bằng phương pháp tạo màu với $AlCl_3$ trong môi trường kiềm được mô tả bởi Marinova và cs (2005) [9], Mythili và Chamundeeswari (2014) [10]; xác định hàm lượng phenolics được thực hiện theo phương pháp Folin - Ciocalteu được mô tả bởi Feduraev và cs (2019) [11].

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được phân tích trên phần mềm Microsoft Excel.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nhân giống nấm men

Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* sau khi nhân giống thu được có mật độ tế bào khoảng 10^9 tế bào/ml, bảo quản ở tủ đông.

3.1.1. Xác định thành phần hóa học trong tối đen

Thành phần của tối đen được lên men sau 12 ngày, ở $75^\circ C$ được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Thành phần của tối đen

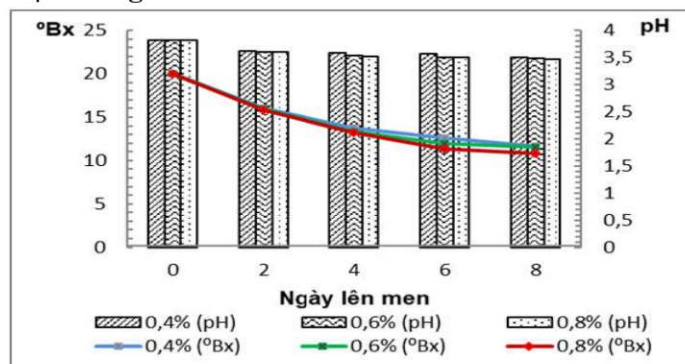
Thành phần	Hàm lượng
Đường khử (mg/g)	$77,8 \pm 0,53$
Flavanoid (mg QE/g)	$9,98 \pm 0,07$
Phenolics (mg GAE/g)	$6,3 \pm 0,05$

Hàm lượng đường khử xác định được là 77,8 mg/g. Kết quả tương đồng với nghiên cứu của Novitaria Sembiring và Yoppi Iskandar (2019) [12], sau 10 ngày lên men hàm lượng đường khử xác định là 63,92 mg. Theo Xinyan Zhang, Ningyang Li và cs (2015) [13], hàm lượng đường khử có xu hướng tăng từ ngày 10 đến ngày 16 ở, do pH giảm xuống, môi trường axit ở nhiệt độ cao là môi trường thuận lợi cho việc thủy phân đường saccharose thành các đường đơn fructose và glucose.

Hàm lượng flavanoid xác định được là 9,98 mg/g. Tương đồng so với nghiên cứu của Mia Azizah là 10,31 mg/g [14]. Kết quả này cao hơn nghiên cứu của Il Sook Choi và cs (2014) là 8,34 mg/g trong 14 ngày lên men và 15,37 mg/g trong 21 ngày lên men [15].

Hàm lượng phenolics xác định được là 6,3 mg/g, thấp hơn so với nghiên cứu của Trần Gia Bửu và cs (2018) là 11 mg/g ở tối lên men sau 15 ngày [16]. Khi xử lý nhiệt các hợp chất phenolic sẽ bị phá vỡ và hàm lượng của nó thay đổi phụ thuộc vào nhiệt độ và thời gian xử lý.

3.1.2. Khảo sát yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu từ tối đen bằng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* tự do



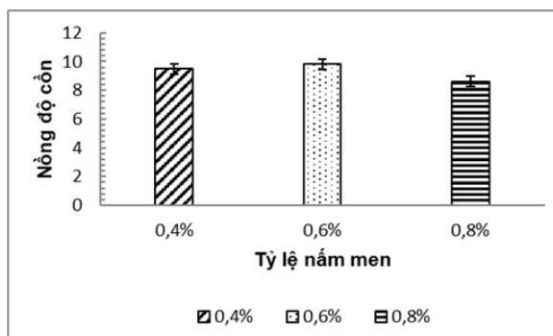
Hình 3. Đồ thị ảnh hưởng tỷ lệ nấm men đến sự thay đổi pH, °Bx trong thời gian lên men

Ảnh hưởng tỷ lệ nấm men đến quá trình lên men: Ảnh hưởng tỷ lệ nấm men *Saccharomyces cerevisiae* ở nồng độ 0,4%, 0,6%, 0,8% (với thông số cố định là 5% bột tỏi đen trong 100 ml dịch lên men và nồng độ chất khô ban đầu là 200°Bx) đến quá trình lên men rượu được thể hiện ở hình 3, 4.

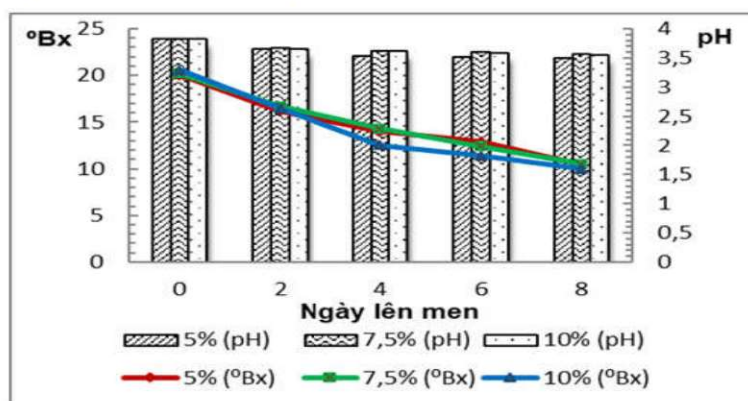
Hình 3 cho thấy, pH, nồng độ chất khô đều giảm dần sau 8 ngày lên men. Tỷ lệ nấm men càng nhiều thì tốc độ lên men nhanh làm giảm °Bx, pH. Độ pH giảm dần trong quá trình lên men do trong quá trình sinh trưởng của nấm men, đường được phân giải thành axit pyruvic, axit lactic, axit, ester, andehit,... cũng góp phần làm giảm độ pH của sản phẩm.

Hình 4 cho thấy, ở tỷ lệ nấm men 0,8% nguồn dinh dưỡng được sử dụng chủ yếu vào việc tăng sinh khối, khi quá trình lên men bắt đầu thì không còn cơ chất để tạo cồn, độ cồn chỉ được 8,6 độ. Tỷ

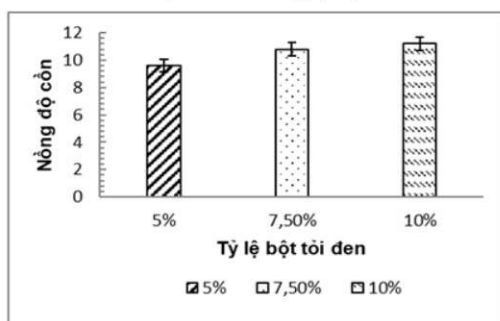
lệ nấm men thích hợp nhất là 0,6% ở tỉ lệ này tốc độ lên men vừa phải, lượng cồn tạo ra nhiều 9,8 độ, giữ được mùi vị đặc trưng của tỏi đen. Vì thế tỷ lệ nấm men tối ưu nhất là 0,6% ở tỉ lệ này tốc độ lên men vừa phải, lượng cồn tạo ra nhiều, giữ được mùi vị đặc trưng của tỏi đen.



Hình 4. Đồ thị ảnh hưởng tỷ lệ nấm men đến độ cồn



Hình 5. Đồ thị ảnh hưởng tỷ lệ tỏi đen đến sự thay đổi pH, °Bx sản phẩm trong thời gian lên men



Hình 6. Đồ thị ảnh hưởng tỷ lệ bột tỏi đen đến độ cồn

Ảnh hưởng tỷ lệ bột tỏi đen đến quá trình lên men: Ảnh hưởng tỷ lệ bột tỏi đen 5%, 7,5%, 10% (thông số cố định sử dụng 0,6% nấm men và nồng

độ chất khô 200°Bx) đến quá trình lên men rượu được thể hiện ở hình 5, 6.

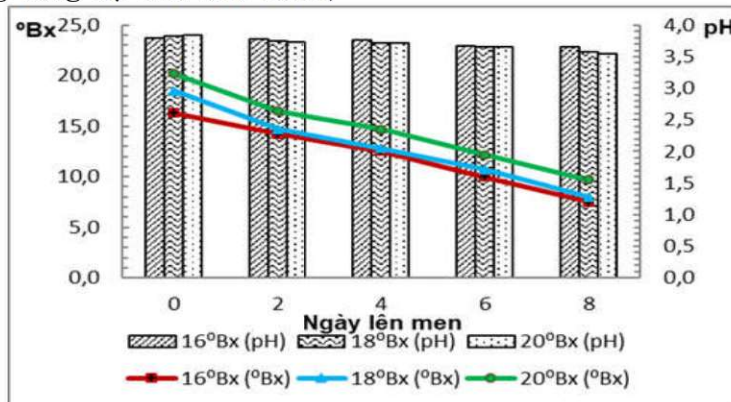
Hình 5 cho thấy, pH, nồng độ chất khô đều giảm dần sau 8 ngày lên men, giảm mạnh nhất ở 2 ngày đầu tiên. Ở 5% bột tỏi đen pH giảm nhanh trong 4 ngày đầu tiên, 4 ngày sau sự giảm không rõ rệt.

Hình 6 cho thấy, mẫu 5% cho ra độ cồn thấp nhất 9,6 độ. Ở 10% hàm lượng tỏi đen cao dẫn đến quá trình lên men nhanh, tạo ra độ cồn cao nhất 11,2 độ, sản phẩm phụ nhiều khiến sản phẩm có vị đắng, nồng. Hàm lượng 7,5% cho ra sản phẩm có mùi hương dễ chịu, không có vị đắng, có mùi đặc trưng của tỏi đen, độ rượu ở mức chấp nhận được.

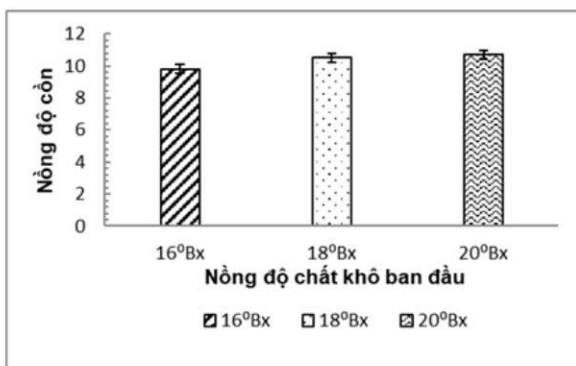
Vì thế chọn tỷ lệ tối đa là 7,5%, tạo ra sản phẩm có hương vị hài hòa, không đắng, mùi vị đặc trưng của rượu tỏi và lợi ích kinh tế.

Ảnh hưởng nồng độ chất khô đến quá trình lên men: Ảnh hưởng nồng độ chất khô 16°Bx;

18°Bx; 20°Bx (thông số cố định sử dụng 0,6% nấm men, 7,5% bột tỏi đen) đến quá trình lên men rượu được thể hiện ở hình 7, 8.



Hình 7. Đồ thị ảnh hưởng nồng độ chất khô đến sự thay đổi pH, °Bx trong thời gian lên men



Hình 8. Đồ thị ảnh hưởng nồng độ chất khô ban đầu đến độ cồn

Hình 7 và 8, khi so sánh tốc độ lên men giữa 16°Bx_{bd} với 18°Bx_{bd} và 20°Bx_{bd} có thể thấy: Nồng độ chất khô càng cao, tế bào nấm men dễ dàng tiếp xúc và trao đổi chất dinh dưỡng dẫn đến tốc độ lên men nhanh, nhưng khi so sánh tốc độ lên men giữa 18°Bx_{bd} với 20°Bx_{bd} có thể thấy, nồng độ chất khô quá cao dẫn đến áp lực thẩm thấu từ dịch

lên men ức chế quá trình trao đổi chất qua màng tế bào, khiến tốc độ lên men không tăng mà có xu hướng giảm ở những ngày cuối của quá trình lên men nên nồng độ cồn tạo ra ở 2 trường hợp xấp xỉ nhau.

Từ kết quả các khảo sát trên tiến hành chọn tỷ lệ nấm men tối ưu là 0,6%, tỷ lệ tối đa 7,5% và nồng độ chất khô dịch lên men 18°Bx.

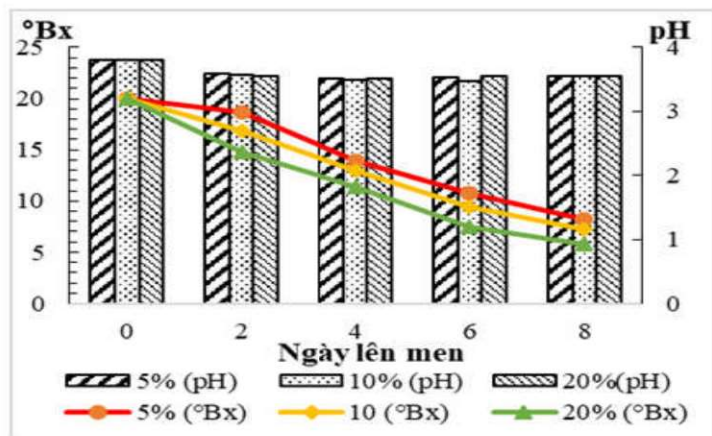
3.2. Khảo sát yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu từ tỏi đen theo phương pháp cố định nấm men *Saccharomyces cerevisiae*

3.2.1. Ảnh hưởng của nồng độ phần trăm thể tích chất cố định tế bào trong dịch lên men đến sản phẩm

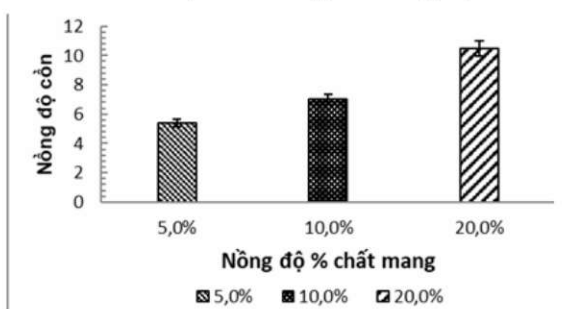
Ảnh hưởng nồng độ phần trăm thể tích chất mang natri alginate để cố định tế bào nấm men ở 5%, 10%, 20% trong 100 ml dịch lên men với nồng độ nấm men được cố định trong chất mang là 0,6%, 5% tỏi đen và 20°Bx được thể hiện ở hình 9, 10, 11.



Hình 9. Số lượng hạt nấm men ở các trường hợp có nồng độ phần trăm 5%, 10%, 20%



Hình 10. Đồ thị ảnh hưởng của nồng độ % chất mang đến sự thay đổi pH, °Bx trong thời gian lên men



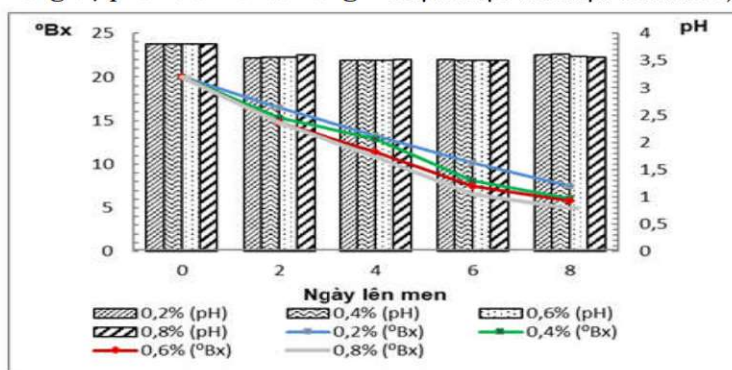
Hình 11. Đồ thị ảnh hưởng của nồng độ % chất mang đến nồng độ cồn

Kết quả ở hình 10 và 11 cho thấy, trong quá trình lên men cố định tế bào, dịch lên men có nồng độ phần trăm chất mang là 20% tạo ra nồng độ rượu cao nhất 10,5 độ, với 5% tạo ra nồng độ rượu thấp nhất 5,4 độ. Vì nồng độ phần trăm chất mang

càng nhiều hạt nấm men sẽ càng nhiều, diện tích tiếp xúc giữa tế bào nấm men với dịch lên men sẽ cao hơn, nấm men dễ dàng trao đổi chất với môi trường lên men nên quá trình lên men sẽ diễn ra nhanh hơn và nồng độ cồn tạo ra cao hơn. Vì thế ta chọn nồng độ phần trăm chất mang là 20% cho quá trình lên men cố định tế bào vì tạo ra độ rượu cao nhất và quá trình lên men diễn ra nhanh.

3.2.2. Ảnh hưởng của nồng độ nấm men bổ sung để tạo hạt nấm men cố định đối với sản phẩm

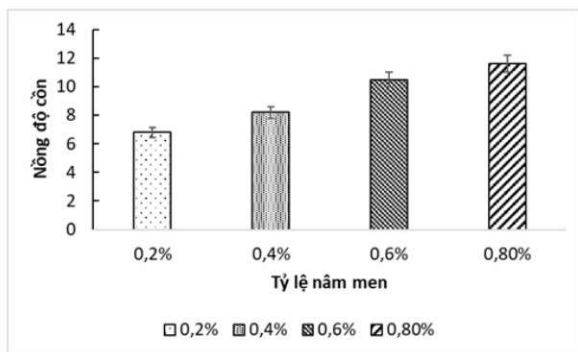
Ảnh hưởng nồng độ nấm men bổ sung vào dung dịch natri alginate với nồng độ 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8% để tạo hạt nấm men cố định. Thông số: nồng độ phần trăm chất mang trong dịch lên men là 20% với 5% bột tảo đen, 20°Bx. Quá trình lên men rượu được thể hiện ở hình 12, 13.



Hình 12. Đồ thị ảnh hưởng của nồng độ nấm men đến sự thay đổi pH, °Bx trong thời gian lên men

Hình 12 cho thấy, hàm lượng chất khô giảm mạnh nhất ở trường hợp nồng độ nấm men là 0,8% và giảm ít nhất ở nồng độ nấm men là 0,2%. Độ pH ở các trường hợp đều có sự giảm nhẹ ở ngày ngày

cuối của quá trình lên men. Kết quả ở hình 13 cho thấy, trong quá trình lên men cố định tế bào, nồng độ rượu tạo ra nhiều nhất ở nồng độ nấm men là 0,8% với 11,6 độ và thấp nhất ở 0,2% với 6,8 độ.

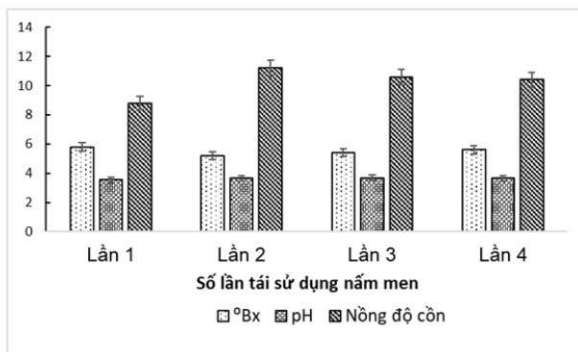


Hình 13. Đồ thị ảnh hưởng của nồng độ nấm men đến nồng độ còn

Ở nồng độ nấm men cố định 0,8%, quá trình lên men diễn ra nhanh, mạnh (hàm lượng chất khô còn lại là 5⁰Bx, thấp nhất trong tất cả các khảo sát) dẫn đến sự hình thành của rượu bậc cao làm cho sản phẩm có mùi hăng nồng, mất đi hương vị đặc trưng của sản phẩm. Vì thế sử dụng nồng độ nấm men 0,6% vì quá trình lên men ổn định, vừa phải và tạo ra sản phẩm vẫn giữ được hương vị đặc trưng.

3.2.3. Khảo sát số lần tái sử dụng hạt nấm men trong quá trình lên men

Hạt nấm men được tái sử dụng 4 lần trong dịch lên men với nồng độ nấm men 0,6%, nồng độ phần trăm chất mang trong dịch lên men là 20%, 20⁰Bx được thể hiện ở hình 14.



Hình 14. Sự thay đổi độ pH, °Bx, nồng độ còn qua các lần tái sử dụng nấm men

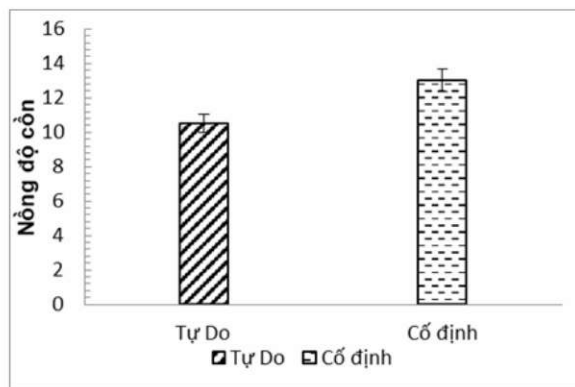
Hình 14 cho thấy, nồng độ còn thấp nhất và hàm lượng chất khô cao nhất ở lần sử dụng hạt nấm men đầu tiên. Vì trong lần đầu lên men, các tế bào nấm men sẽ mất thời gian trải qua pha thích nghi và làm quen với môi trường của dịch lên men, sau đó quá trình lên men mới thật sự diễn ra nên nồng độ còn ít hơn so với các trường hợp sau. Mặt

khác, khi hạt nấm men được tái sử dụng ở các lần thứ 2, 3, 4, nấm men đã quen với môi trường của dịch lên men vì thế quá trình lên men diễn ra nhanh hơn nên ở các trường hợp này có nồng độ còn cao và hàm lượng chất khô thấp.

Vì vậy hạt nấm men cần phải hoạt hóa và làm quen với môi trường của dịch lên men trước khi cho lên men. Ngoài ra, qua 4 lần tái sử dụng mà nấm men vẫn đảm bảo khả năng lên men tốt, chất lượng lên men không giảm sút. Đây là hướng tiềm năng để tái sử dụng nấm men. Hơn nữa sử dụng nấm men cố định tế bào giúp thu hồi nấm men dễ dàng, làm tăng độ trong sản phẩm rượu

3.3. So sánh sự thay đổi rượu lên men bằng nấm men tự do và nấm men cố định tế bào

So sánh sự thay đổi của sản phẩm ở 2 trường hợp: Sử dụng nấm men tự do có nồng độ 0,6%; nồng độ tối đen 7,5%; nồng độ chất khô 18⁰Bx. Với sử dụng hạt nấm men cố định với thông số: nồng độ nấm men bổ sung vào natri alginate để tạo hạt nấm men là 0,6%; nồng độ phần trăm chất mang trong dịch lên men là 20%; nồng độ tối đen 7,5%; nồng độ chất khô 18⁰Bx được thể hiện ở hình 15.



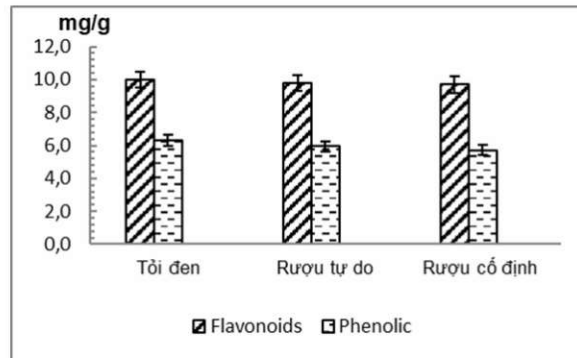
Hình 15. Sự thay đổi nồng độ còn giữa nấm men tự do và nấm men cố định

Hình 15 cho thấy, hàm lượng rượu của mẫu nấm men cố định cao hơn so với mẫu nấm men tự do. Độ còn mẫu nấm men tự do dừng ở mức 10,5 độ, mẫu nấm men cố định lên đến 13 độ. Vì trong quá trình lên men, nấm men tự do bị lắng đọng xuống đáy dẫn đến diện tích tiếp xúc của tế bào nấm men và dịch lên men thấp, quá trình lên men diễn ra chậm. Ngược lại, đối với lên men bằng phương pháp cố định tế bào, các hạt nấm men có

xu hướng phân tán trong dịch lên men, diện tích tiếp xúc của tế bào nấm men và dịch lên men tăng, dẫn đến quá trình lên men diễn ra nhanh và thuận lợi hơn lên men bằng nấm men tự do.

3.4. Xác định hàm lượng các chất trong rượu tỏi đen lên men

Nhìn chung sau khi lên men hàm lượng các chất quan trọng trong tỏi đen giảm đi rất ít, vẫn giữ được các hợp chất quan trọng như flavonoid, phenolics. Vì trong quá trình lên men, nấm men chủ yếu sử dụng đường để lên men rượu, nên hàm lượng các chất khác bị tiêu tốn rất thấp. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Hye Jung Choi và cs (2016) [17] hàm lượng phenolics, flavonoid thấp hơn không đáng so với tỏi đen nguyên liệu.



Hình 16. Sự thay đổi hàm lượng các chất

3.5. Tổng kết

Các chỉ tiêu cảm quan và giá trị sản phẩm khi lên men sử dụng nấm men tự do và nấm men cố định tế bào, được thể hiện qua bảng 1 và 2.

Bảng 2. Các chỉ tiêu sản phẩm rượu tỏi đen

Thông số	Giá trị	
	Tự do	Cố định
Nồng độ chất khô ($^{\circ}\text{Bx}$)	8,5	7,4
pH	3,57	3,51
Hàm lượng rượu etylic (độ)	10,5	13
Flavanoid (mg QE/g)	9,791	9,693
Phenolics (mgGAE/g)	5,939	5,716

Bảng 3. Chỉ tiêu cảm quan rượu tỏi đen

Chỉ tiêu	Lên men tự do	Lên men cố định
Màu sắc	Màu nâu đen	
Mùi	Thơm đặc trưng của tỏi đen và sản phẩm rượu, không có mùi vị lạ	
Vị	Đặc trưng của tỏi đen, vị chua ngọt dịu, không có mùi vị lạ.	
Trạng thái	Lỏng	
Độ trong	Có cặn lơ lửng	Trong suốt

Kết quả nghiên cứu cho thấy: Do quá trình lên men tự do, sau khi lên men cần lọc gạn bỏ nấm men trước khi thanh trùng không hết hoàn toàn nên còn cặn lơ lửng trong sản phẩm.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy, nấm men cố định có tính ưu việt hơn nấm men tự do, nấm men được cố định trong alginate có hoạt lực lên men tốt

hơn, hàm lượng chất khô giảm và hàm lượng rượu etylic cao hơn so với khi lên men sử dụng nấm men tự do, các thông số khi lên men rượu tối đen như sau: Tỷ lệ tối đen 7,5% và nồng độ chất khô dịch lên men 18⁰Bx, nồng độ nấm men bổ sung vào natri alginate để tạo hạt nấm men là 0,6%; nồng độ phần trăm chất mang là 20%. Sản phẩm rượu lên men từ tối đen vẫn giữ được hương vị đặc trưng của tối đen, hàm lượng các chất chống oxy hóa của sản phẩm giảm so với ban đầu nhưng không đáng kể.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bayrock D. and Michael Ingledew W. (2001). Application of multistage continuous fermentation for production of fuel alcohol by very - high - gravity fermentation technology - *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* - No 27 - p. 87 - 93.
2. Mai Ngọc Dung, Dong Thi Thanh Thu (2008). Use of immobilized yeast cell in alcohol fermentation from molasses - *Science and Technology Development* - Vol. 11 No. 09 - p. 90 - 99.
3. E. Palmqvist, M. Galbe, B. Hahn Hagerdal (1998). Evaluation of cell recycling in continuous fermentation of enzymatic hydrolysates of spruce *Saccharomyces cerevisiae* and on-line monitoring of glucose and ethanol - *Appl. Microbiol Biotechnol* - No. 150 - p. 545 - 551.
4. Cổng Thông tin Điện tử Ủy ban Dân tộc (2021). Thông tin thị trường giá cả, số 16/2021 - truy cập 05/4/2022.
5. Wang Kun Chin and Tanvir Ahmed (2021). Black Garlic and Its Bioactive Compounds on Human Health Diseases: A Review.
6. Ngô Thị Minh Phương, Nguyễn Thanh Hội (2014). Nghiên cứu cố định vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* trên natri alginate và ứng dụng lên men tạo nước cà chua bổ sung probiotic. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Đà Nẵng*, số 6 (79), trang 39 - 43.
7. Nguyễn Thị Hương, Đặng Hồng Ánh, Nguyễn Thu Vân, Giang Thế Việt, Nguyễn Xuân Bách (2012). Nghiên cứu cố định tế bào nấm men ứng dụng trong lên men cồn từ rỉ đường. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 50 - số 6 - trang 621- 631.
8. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 10327: 2014 (2014). Thức ăn chăn nuôi - Xác định hàm lượng đường bằng phương pháp Luff - Schoorl, <https://bom.so/XdmnLg>- truy cập 10/4/2022.
9. Marinova, D., Ribarova, F., Atanassova, M. (2005). Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* - Vol. 40 No. 3 - p. 255 - 260.
10. K Mythili and Chamundeeswari (2014). Determination of Total Phenol, Alkaloid, Flavonoid and Tannin in Different Extracts of *Calanthe Triplicata*.
11. Feduraev, P., Chupakhina, G., Maslennikov, P., Tacenko, N. and Skrypnik, L. (2019). Variation in phenolic compounds content and antioxidant activity of different plant organs from *Rumex crispus* L. and *Rumex obtusifolius* L. at different growth stages. *Antioxidants* - Vol. 8 No. 7 - p. 237 - 251.
12. Novitaria Sembiring and Yoppi Iskandar (2019). A Review of Component and Pharmacology Activities of Black Garlic. *Univ. Padjajaran, Sumedang, Indones*.
13. Xinyan Zhang, Ningyang Li, Xiaoming Lu, Pengli Liu, and Xuguang Qiao (2015). Effects of temperature on the quality of black garlic. *J. Sci. Food Agric*.
14. Gladys Ayu Paramita Kusumah Wardhani, Mia Azizah, Lisnawati Tri Hastuti (2019). Value of Total Flavonoids in Black Garlic (*Allium sativum* L.) Based on The Solvent Fraction and Antioxidant Activity.
15. Il Sook Choi, Han Sam Cha and Y. S. Lee (2014). Physicochemical and Antioxidant Properties of Black Garlic. *MDPI*.
16. Trần Gia Bửu, Đàm Sao Mai, Trần Lê Thục Đoan, Đỗ Hoàng Nguyên (2018). Tác động của các thông số trong quá trình trích ly bằng cellulase lên

hàm lượng polyphenol tổng số và khả năng chống oxy hóa của dịch chiết tỏi đen Lý Sơn. *Viện Công nghệ sinh học - Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp thành phố Hồ Chí Minh*.

17. Hye Jung Choi, Sung Min Ha, Gyeong Yeon Shin, Beung Ho Ryu, Woo Hong Joo (2016). Fermentation of Black Garlic Wine and its Characteristics. *Journal of Life Science*, vol. 26, no. 7, 796 - 804.

RESEARCH ON APPLICATION OF CELL FIXATION TECHNOLOGY IN FERMENTING WINE FROM BLACK GARLIC

Nguyen Ngoc Vuong^{1, *},

Huynh Thi Diem Thuy^{1, *}, Ngo Thi Minh Phuong^{1, *}

¹*Faculty of Chemical Technology and Environment,*

University of Technology and Education – The University of Da Nang

** Email: ngocvuonga3@gmail.com; diemthuy26092000@gmail.com; ntmphuong@ute.udn.vn*

Summary

This study investigated the appropriate factors to create fermented wine products from black garlic and elements to immobilize yeast cells for fermentation. The study was conducted in parallel with two methods of alcoholic fermentation from black garlic. It is fermentation by free yeast and fermentation by cell fixation method to be able to compare the advantages and disadvantages of each method. Based on the results from the two fermentation methods, fixed yeast is superior to free yeast, has better fermentation activity, high alcohol content. The results also showed that the percentage of yeast suitable for both fermentation processes was 0.6%, the content of black garlic powder 7.5%, the concentration of dry substance 18°Bx, the concentration of Na-alginate 3%, the volume of carrying 20 ml, the CaCl₂ gel solution 1.5% is optimal. The content of flavonoids and phenolic acids obtained after fermentation is 7.9 mg/ml, 4.58 mg/ml, respectively, which is negligible lower than that of raw black garlic. The resulting black garlic wine product has a characteristic smell of black garlic and alcoholic beverages, the alcohol content is not too high and the potential of black garlic wine products can produce industrial scale in the market in the near future.

Keywords: *Fixed fermentation, free fermentation, sodium alginate, black garlic wine, black garlic.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Minh Khanh

Ngày nhận bài: 24/02/2023

Ngày thông qua phản biện: 22/3/2023

Ngày duyệt đăng: 29/3/2023