



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0004339

(51) **C12N 1/16; C12G 3/024**
2024.01

(13) **Y**

(21) 2-2025-00205

(22) 30/11/2022

(67) 1-2022-07816

(45) 25/09/2025 450

(43) 27/02/2023 419A

(73) Trường Đại học Cần Thơ (VN)

Khu II, đường 3/2, phường Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ

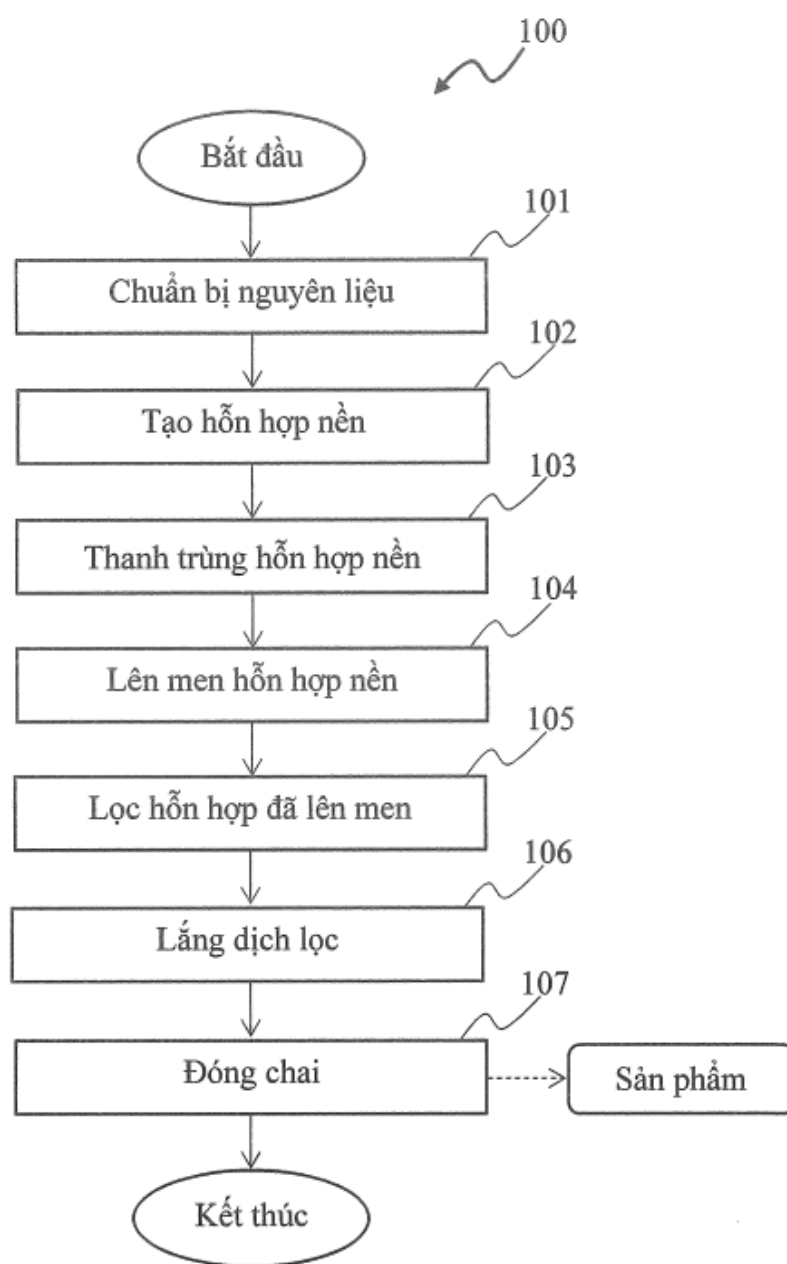
(72) Đỗ Tấn Khang (VN); Huỳnh Xuân Phong (VN); Trần Nhân Dũng (VN); Trần Huỳnh
Xuân Hương (VN); Nguyễn Phạm Thiên Trang (VN).

(74) CÔNG TY TNHH TƯ VẤN CÔNG NGHỆ VÀ SỞ HỮU TRÍ TUỆ IP GROUP (IP
GROUP CO.,LTD.)

(54) QUY TRÌNH LÊN MEN RƯỢU VANG VÚ SỮA TÍM (CHRYSOPHYLLUM
CAINITO L.)

(21) 2-2025-00205

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình lên men rượu vang vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.) bao gồm các công đoạn: i) chuẩn bị nguyên liệu; ii) tạo hỗn hợp nền; iii) thanh trùng hỗn hợp nền; iv) lên men hỗn hợp nền ủ trong điều kiện kỵ khí ở nhiệt độ từ 27°C - 32°C trong khoảng thời gian từ 10 – 15 ngày; v) lọc hỗn hợp đã lên men; vi) để lắng dịch lọc; và vii) đóng chai. Quy trình lên men rượu vang vú sữa tím sử dụng chủng nấm men *Saccharomyces* sp. VL1 được phân lập và chọn lọc từ hệ vi sinh vật bản địa có khả năng lên men vượt trội cho ra sản phẩm rượu vang vú sữa tím có nồng độ ethanol cao, có hương thơm và mùi vị đặc trưng.



HÌNH 2

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến lĩnh vực công nghệ thực phẩm. Cụ thể, sáng chế đề cập đến quy trình lên men rượu vang vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.) sử dụng chủng nấm men *Saccharomyces* sp. VL1 được phân lập và chọn lọc từ hệ vi sinh vật bản địa, có khả năng lên men thịt quả vú sữa tím cho ra sản phẩm rượu vang vú sữa tím có nồng độ etanol cao, có hương thơm và mùi vị đặc trưng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Đồ uống có cồn ngày càng trở nên phổ biến với người tiêu dùng, trong đó rượu vang là một trong những đại diện tiêu biểu. Rượu là sản phẩm của quá trình lên men trái cây nhờ tác động của các vi sinh vật như nấm men hay vi khuẩn. Việc giải phóng các axit amin và các hợp chất có lợi khác nhau từ nấm men trong quá trình lên men làm tăng giá trị dinh dưỡng của chiết xuất trái cây trong quá trình sản xuất rượu vang.

Vú sữa là một loại trái cây đặc sản, đặc biệt là vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.) trở thành mặt hàng xuất khẩu trái cây độc quyền của Việt Nam trên thế giới. Vú sữa có nhiều giá trị dinh dưỡng, nổi bật bởi hàm lượng đường cao. Thịt quả vú sữa có tác dụng hỗ trợ hệ tiêu hóa và đường ruột, cũng như chứa nhiều hợp chất chống oxy hóa giúp bảo vệ cơ thể chống lại các gốc tự do gây hại cho các tế bào khỏe mạnh, đồng thời còn ngăn ngừa ung thư, giúp xương chắc khỏe, giảm cân và loại bỏ mỡ thừa. Vì vậy, rượu vang vú sữa được kỳ vọng góp phần tăng cường sức khỏe người tiêu dùng.

Ngoài ra, hiện nay việc tiêu thụ vú sữa vẫn còn rất hạn chế vì dễ bị hư hại trong một thời gian ngắn, đa phần vú sữa được sử dụng ở dạng trái cây tươi hoặc dùng để xuất khẩu. Do đó, sản xuất rượu vang vú sữa tím như một kỹ thuật chế biến giúp tận dụng tối đa sản lượng quả vú sữa tím dồi dào ở nước ta, góp phần tạo điều kiện thuận lợi cho việc bảo quản nguồn dinh dưỡng trong quả, khai thác thêm lợi ích từ những quả chưa đạt chỉ tiêu chất lượng cao, giải quyết được các vấn đề sau thu hoạch trái cây, giúp nâng cao hiệu quả kinh tế cho người dân.

Một số tài liệu sáng chế liên quan đến quy trình sản xuất rượu vang từ trái cây đã được bộc lộ như:

Đơn sáng chế số VN 1-2019-04673 đề cập đến quy trình sản xuất rượu từ trái thanh long gồm các bước: a) dùng trái thanh long để làm nguyên liệu; b) dùng thuốc rửa nano pha trộn với canxi để rửa nguyên liệu; c) cắt nhỏ, thêm đường để cho Brix đạt 8% - 22%; d) dùng enzym để tách hạt, ép dịch quả; e) dùng nấm men *Saccharomyces* đã được hoạt hóa để lên men; f) dùng axit hữu cơ để hỗ trợ nấm men lên men; g) ủ lên men: 10 - 20 ngày; h) ép dịch, lọc rượu; i) thêm vào rượu ít nhất một trong các chất kali pyrosunfat, natri sunfit; và j) dự trữ rượu ở nhiệt độ 5 - 20°C, tạo rượu thanh long có nồng độ cồn: 3% - 10%, chứa anthocyanin: 40 - 50 mg/L, betacyanin: 80 - 110 mg/L, polyphenol: 50 - 60 mg/L và lycopene: 8 - 15 mg/L.

Đơn sáng chế VN 2-2015-00104 đề cập đến quy trình sản xuất rượu vang từ cây thốt nốt *Borassus flabellifer* bao gồm các bước: (i) chuẩn bị nước thốt nốt: nước thốt nốt được thu hoạch vào buổi sáng, được bổ sung natri metabisulfit ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) với hàm lượng 0,5 g/L và bảo quản trong điều kiện lạnh; (ii) lên men nước thốt nốt để thu rượu vang thốt nốt: thanh trùng nước thốt nốt thu được sau bước (i) bằng natri bisulfit (NaHSO_3) với hàm lượng 100 mg/lít trong 2 giờ và bổ sung nấm men thuộc dòng *Saccharomyces cerevisiae* có mật độ 105 CFU/mL, lên men ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 28°C đến 30°C trong thời gian 12 ngày; (iii) làm trong rượu vang thốt nốt bằng chế phẩm pectinex nồng độ 0,04% trong khoảng 04 tuần; và (iv) đóng chai và bảo quản rượu vang thốt nốt.

Đơn sáng chế số CN110760415A đề cập đến phương pháp pha chế rượu vang chanh dây bao gồm các bước sau: (1) nghiền nhỏ: cắt chanh dây thành từng miếng, thêm nước và nghiền nhỏ để lấy cùi chanh dây; (2) enzym phân giải: thêm pectinaza vào cùi quả chanh dây để enzym phân giải; (3) điều chỉnh độ đường: thêm đường vào cùi chanh dây đã qua quá trình phân giải bằng enzym, và điều chỉnh độ đường ban đầu; (4) lên men: và (3) cấy men vào cùi chanh leo để lên men thu được rượu chanh dây.

Có thể thấy, các giải pháp kỹ thuật nêu trên đều đáp ứng được mục đích và yêu cầu kỹ thuật đặt ra. Tuy nhiên, trong phạm vi hiểu biết của người nộp đơn, cho đến nay quy trình lên men rượu vang từ quả vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.) vẫn chưa được bộc lộ. Ngoài ra, việc phân lập và tuyển chọn được chủng vi sinh vật có khả năng lên men hiệu

quả để áp dụng cho quy trình sản xuất rượu vang từ quả vú sữa tím cũng đóng một vai trò rất quan trọng.

Do đó, điều cần thiết là cung cấp một quy trình lên men rượu vang sử dụng nguồn nguyên liệu vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.) nhằm mục đích tận dụng tối đa sản lượng quả vú sữa tím dồi dào ở nước ta, góp phần nâng cao hiệu quả kinh tế.

Điều cần thiết nữa là cung cấp một quy trình lên men rượu vang vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.) sử dụng chủng nấm men *Saccharomyces* sp. VL1 được phân lập từ rượu vang lên men tự nhiên từ quả vú sữa tím thu thập ở tỉnh Vĩnh Long có khả năng lên men vượt trội cho ra sản phẩm rượu vang vú sữa tím có nồng độ etanol cao, có hương thơm và mùi vị đặc trưng, và bảo quản được nguồn dinh dưỡng trong quả vú sữa.

Sáng chế này cung cấp các giải pháp để đạt được các mục tiêu trên.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích thứ nhất của sáng chế là cung cấp một quy trình lên men rượu vang vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.) bao gồm các công đoạn:

i) chuẩn bị nguyên liệu bao gồm: thành phần thịt quả vú sữa tím xay nhuyễn, thành phần chất tạo ngọt, thành phần enzym pectinaza, thành phần natri bisulfit (NaHSO_3), thành phần dung dịch nấm men, và thành phần nước; trong đó,

thành phần chất tạo ngọt được chọn từ đường glucozo (glucose), fructozo (fructose), galactozo (galactose), saccarozo (saccharose), maltozo (maltose), và lactozo (lactose);

thành phần enzym pectinaza có hoạt độ riêng tối thiểu là 25 U/mg;

thành phần natri bisulfit (NaHSO_3) có độ tinh sạch tối thiểu là 98%;

thành phần dung dịch nấm men chứa chủng nấm men *Saccharomyces* sp. VL1 có mật số tế bào tối thiểu đạt 10^6 tế bào/mL; trong đó, chủng nấm men *Saccharomyces* sp. VL1 được phân lập từ rượu vang lên men tự nhiên từ quả vú sữa tím thu thập ở tỉnh Vĩnh Long có các đặc điểm bao gồm: tế bào hình ovan nhỏ, khuẩn lạc có màu trắng sữa, độ nổi mô cao, dạng bìa nguyên và lồi, có khả năng lên men đường glucozo (glucose) 2% và saccarozo (saccharose) 2%, không có khả năng phân giải urê, có khả năng lên men rượu vang vú sữa tím;

ii) tạo hỗn hợp nền bao gồm các bước:

(a) xác định tỷ lệ phần trăm (%) tính theo trọng lượng của từng thành phần gồm:

thành phần thịt quả vú sữa tím xay nhuyễn có 60% - 70% trọng lượng;

thành phần chất tạo ngọt có 18% - 22% trọng lượng;

thành phần enzym pectinaza có 0,05% - 0,15% trọng lượng; và

thành phần nước có 7,85% - 21,95% trọng lượng;

(b) phối trộn các thành phần theo tỷ lệ phần trăm (%) tính theo trọng lượng đã xác định ở bước (a), khuấy đảo đều, thu được hỗn hợp tạm thời;

(c) ủ hỗn hợp tạm thời thu được ở bước (b) trong khoảng thời gian từ 1 – 2 giờ, thu được hỗn hợp nền;

iii) thanh trùng hỗn hợp nền thu được từ công đoạn ii) bằng cách phối trộn với thành phần natri bisulfit (NaHSO_3) đã chuẩn bị ở công đoạn i) với tỷ lệ thành phần natri bisulfit (NaHSO_3): hỗn hợp nền là 1: (10000 – 11000), khuấy đảo đều, ủ trong khoảng thời gian từ 1,5 – 3 giờ, thu được hỗn hợp nền đã thanh trùng;

iv) lên men hỗn hợp nền đã thanh trùng thu được từ công đoạn iii) bằng cách bổ sung thành phần dung dịch nấm men đã chuẩn bị ở công đoạn i) với tỷ lệ thành phần dung dịch nấm men: hỗn hợp nền đã thanh trùng là 1: (140 – 160), khuấy đảo đều, ủ kỵ khí trong khoảng thời gian từ 10 – 15 ngày ở nhiệt độ từ 27°C - 32°C , thu được hỗn hợp đã lên men;

v) lọc hỗn hợp đã lên men thu được ở công đoạn iv), thu được dịch lọc;

vi) để lắng dịch lọc thu được ở công đoạn v) trong khoảng thời gian từ 12 - 15 ngày ở nhiệt độ từ 22°C - 25°C , loại bỏ phần cặn, thu được rượu vang vú sữa tím;

vii) đóng chai rượu vang vú sữa tím.

Mục đích thứ hai của sáng chế là cung cấp một quy trình lên men rượu vang vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.), trong đó sản phẩm rượu vang vú sữa tím thu được có nồng độ etanol từ 9% - 13%.

Cuối cùng, mục đích khác của sáng chế là cung cấp một quy trình lên men rượu vang vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.) với các bước thực hiện đơn giản có thể được ứng dụng để sản xuất ở quy mô công nghiệp cho ra sản phẩm rượu vang vú sữa tím có nồng độ etanol cao, có hương thơm và mùi vị đặc trưng.

Những ưu điểm này của sáng chế sẽ không còn nghi ngờ gì đối với những người có trình độ hiểu biết thông thường trong kỹ thuật sau khi đọc mô tả chi tiết sau đây về các phương án mẫu mực, được minh họa trong hình vẽ khác nhau sau đây.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Bản vẽ đi kèm được kết hợp và tạo thành một phần của sáng chế này nhằm minh họa các điểm yêu cầu bảo hộ độc lập và phụ thuộc của sáng chế, cũng như phục vụ cho việc giải thích các nguyên lý hoạt động của toàn bộ giải pháp kỹ thuật, trong đó:

Hình 1 là hình chụp hình dạng tế bào và khuẩn lạc của 7 nhóm nấm men phân lập được theo phương án của sáng chế; và

Hình 2 là lưu đồ minh họa quy trình lên men rượu vang vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.) theo phương án của sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Phần sau đây sẽ xem xét chi tiết các phương án được ưu tiên của sáng chế, các ví dụ về chúng được minh họa trên các hình vẽ đi kèm. Mặc dù sáng chế sẽ được mô tả cùng với các phương án được ưu tiên, nhưng sẽ được hiểu rằng sáng chế không có ý định giới hạn đối với các phương án này. Ngược lại, sáng chế nhằm mục đích đảm bảo các lựa chọn thay thế, cải tiến và định lượng, có thể được bao gồm trong tinh thần và phạm vi của sáng chế được xác định bởi các yêu cầu bảo hộ được thêm vào. Hơn nữa, trong phần mô tả chi tiết sau đây của sáng chế, nhiều chi tiết cụ thể được đặt ra để cung cấp sự hiểu biết thấu đáo về sáng chế. Tuy nhiên, sẽ là hiển nhiên đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này rằng sáng chế có thể được thực hành mà không có các chi tiết cụ thể này. Trong các trường hợp khác, các phương pháp đã biết, quy trình, thành phần và phạm vi ứng dụng đã không được mô tả chi tiết để không làm mờ đi các khía cạnh không cần thiết của sáng chế.

Các thuật ngữ được đề cập trong sáng chế như enzym pectinaza, natri bisulfit (NaHSO_3), glucoso, fructozo, galactozo, saccarozo, maltozo, lactozo, v.v... là những thuật ngữ Tiếng Anh được Việt hóa đến mức có thể hiểu được và phù hợp với yêu cầu thẩm định đơn sáng chế của Cục Sở hữu trí tuệ Việt Nam. Những thuật ngữ này vừa mang tính học thuật về khoa học kỹ thuật trong chuyên ngành hóa học và sinh học vừa rất phổ biến trong nghiên cứu, sản xuất công nghiệp và thương mại hóa.

Các thuật ngữ được đề cập trong sáng chế như *Chrysophyllum cainito* L., *Saccharomyces*, *Pichia*, *Hanseniaspora*, v.v... là những thuật ngữ Tiếng Latinh liên quan đến phân loại chi và loài của sinh vật thuộc chuyên ngành Sinh học và Công nghệ sinh học.

Tiêu đề được cung cấp ở đây là để thuận tiện trong việc mô tả sáng chế và không được coi là hạn chế tiết lộ dưới bất kỳ hình thức nào.

Theo phương án của sáng chế, chủng nấm men được sử dụng cho quy trình lên men rượu vang vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.) là chủng *Saccharomyces* sp. VL1 được phân lập từ sản phẩm rượu vang lên men tự nhiên từ quả vú sữa tím thu thập ở tỉnh Vĩnh Long. Quá trình phân lập và tuyển chọn chủng nấm men *Saccharomyces* sp. VL1 được thực hiện như sau:

Phân lập nấm men: nguồn mẫu được sử dụng để phân lập nấm men là mẫu quả vú sữa tím được thu thập từ 6 vườn trái cây ở các tỉnh/thành phố bao gồm: Bến Tre, Cần Thơ, Sóc Trăng, Tiền Giang, Trà Vinh và Vĩnh Long. Sau đó, quả vú sữa tím được ép để lấy dịch ép, kết quả thu được dịch ép quả vú sữa tím. Tiếp theo, cho 10 mL dịch ép quả vú sữa tím vào bình tam giác chứa 90 mL môi trường YPD (Yeast extract Peptone-D-glucose), nuôi cấy tăng sinh ở nhiệt độ 28°C - 30°C trong 24 giờ. Kế đến, dung dịch tăng sinh được pha loãng ở các nồng độ 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} và trải đều trên đĩa petri chứa môi trường thạch YPD, các đĩa petri này được ủ trong tủ ấm ở nhiệt độ 30°C. Cuối cùng, các chủng nấm men được tách rông và làm thuần liên tục trên môi trường thạch YPD cho đến khi có được những dòng nấm men thuần chủng. Tham chiếu Bảng 1 là kết quả của bước phân lập nấm men từ quả vú sữa tại 6 nơi thu thập mẫu, theo đó có 39 chủng nấm men đã được phân lập thành công và được kí hiệu bao gồm: BT1, BT2, BT3, BT4, BT5, BT6, BT7, CT1, CT2, CT3, CT4, CT5, CT6, ST1, ST2, ST3, ST4, ST5, ST6, ST7, ST8, TG1, TG2, TG3, TG4, TG5, TV1, TV2, TV3, TV4, TV5, TV6, TV7, VL1, VL2, VL3, VL4, VL5, VL6.

Bảng 1. Kết quả phân lập nấm men từ các tỉnh/thành phố thu thập mẫu

STT	Nơi thu thập mẫu	Kí hiệu chủng nấm men
1	Bến Tre	BT1, BT2, BT3, BT4, BT5, BT6, BT7
2	Cần Thơ	CT1, CT2, CT3, CT4, CT5, CT6
3	Sóc Trăng	ST1, ST2, ST3, ST4, ST5, ST6, ST7, ST8
4	Tiền Giang	TG1, TG2, TG3, TG4, TG5

5	Trà Vinh	TV1, TV2, TV3, TV4, TV5, TV6, TV7
6	Vĩnh Long	VL1, VL2, VL3, VL4, VL5, VL6

Định danh nấm men: 39 chủng nấm men phân lập được định danh bằng phương pháp hình thái học gồm quan sát hình dạng, đo kích thước tế bào, quan sát sự nảy chồi, đồng thời kết hợp với các thử nghiệm sinh hóa gồm thử nghiệm khả năng lên men đường glucozo 2% và saccarozo 2%, thử nghiệm khả năng phân giải urê. Kết quả thu được từ các phương pháp nêu trên được so sánh với khóa phân loại nấm men của của Lương Đức Phẩm (2009)^[1] và Kurtzman và cộng sự (2011)^[2].

Tham chiếu Bảng 2 và Hình 1 là kết quả phân nhóm của 39 chủng nấm men dựa vào hình dạng tế bào và khuẩn lạc quan sát được dưới kính hiển vi.

Bảng 2. Phân nhóm các chủng nấm men phân lập dựa vào hình thái

Nhóm	Hình dạng tế bào	Hình thái khuẩn lạc	Kí hiệu chủng nấm men
1	Tế bào hình cầu nhỏ	Màu trắng đến kem, mịn, dạng bìa nguyên, lồi	BT2, BT3, BT4, TG1, TV2
2	Tế bào hình cầu lớn	Màu trắng đục, mịn, dạng bìa có vân, lồi	BT5, BT6, TV1
3	Tế bào hình ovan nhỏ	Màu trắng sữa, độ nổi mô cao, dạng bìa nguyên, lồi	CT2, ST2, TG3, VL1, VL2
4	Tế bào hình ovan lớn	Màu trắng đến kem, độ nổi mô cao, dạng bìa có vân, lồi	BT1, CT1, CT3, ST1, ST3, TG2, TV3
5	Tế bào hình elip ngắn	Màu trắng sữa, độ nổi mô thấp, dạng bìa có vân	CT4, CT6, ST6, ST8, TV5, TV6, VL3
6	Tế bào hình elip dài	Màu trắng sữa, bề mặt phẳng, dạng bìa có vân	BT7, CT5, ST4, ST5, ST7, TG4, TG5, TV4, VL5
7	Tế bào hình elip nhọn	Màu trắng đục, mịn, dạng bìa nguyên	TV7, VL4, VL6

Kết quả cho thấy rằng 39 chủng nấm men được xếp thành 7 nhóm hình dạng đặc trưng như sau: nhóm 1 gồm các chủng BT2, BT3, BT4, TG1, TV2 có tế bào hình cầu nhỏ, khuẩn lạc có màu trắng đến kem, mịn, dạng bìa nguyên, và lồi; nhóm 2 gồm các chủng

BT5, BT6, TV1 có tế bào hình cầu lớn, khuẩn lạc màu trắng đục, mịn, dạng bìa có vân, và lõi; nhóm 3 gồm các chủng CT2, ST2, TG3, VL1, VL2 có tế bào hình ovan nhỏ, khuẩn lạc màu trắng sữa, độ nổi mô cao, dạng bìa nguyên, và lõi; nhóm 4 gồm các chủng BT1, CT1, CT3, ST1, ST3, TG2, TV3 có tế bào hình ovan lớn, khuẩn lạc màu trắng đến kem, độ nổi mô cao, dạng bìa có vân, và lõi; nhóm 5 gồm các chủng CT4, CT6, ST6, ST8, TV5, TV6, VL3 có tế bào hình elip ngắn, khuẩn lạc màu trắng sữa, độ nổi mô thấp, dạng bìa có vân; nhóm 6 gồm các chủng BT7, CT5, ST4, ST5, ST7, TG4, TG5, TV4, VL5 có tế bào hình elip dài, khuẩn lạc màu trắng sữa, bề mặt phẳng, dạng bìa có vân; và nhóm 7 gồm các chủng TV7, VL4, VL6 có tế bào hình elip nhọn, khuẩn lạc màu trắng đục, mịn, dạng bìa nguyên.

Tham chiếu Bảng 3 là kết quả thử nghiệm sinh hóa của 7 nhóm nấm men nêu trên bao gồm thử nghiệm khả năng lên men đường glucozo 2% và saccarozo 2%, và thử nghiệm khả năng phân giải urê.

Bảng 3. Định danh các chủng nấm men phân lập được dựa vào đặc điểm sinh lý, sinh hóa

Nhóm	Chủng nấm men	Đặc điểm sinh lý, sinh hóa			Chi
		Glucozo	Saccarozo	Phân giải urê	
Tế bào hình cầu nhỏ	BT2, BT3, BT4, TG1, TV2	+	+	-	<i>Saccharomyces</i>
Tế bào hình cầu lớn	BT5, BT6, TV1	+	+	-	<i>Saccharomyces</i>
Tế bào hình ovan nhỏ	CT2, ST2, TG3, VL1, VL2	+	+	-	<i>Saccharomyces</i>
Tế bào hình ovan lớn	BT1, CT1, CT3, ST1, ST3, TG2, TV3	+	+	-	<i>Saccharomyces</i>
Tế bào hình elip ngắn	CT4, CT6, ST6, ST8, TV5, TV6, VL3	*	-	+	<i>Pichia</i>
Tế bào hình elip dài	BT7, CT5, ST4, ST5, ST7, TG4, TG5, TV4, VL5	+	-	+	<i>Pichia</i>
Tế bào hình elip nhọn	TV7, VL4, VL6	*	-	+	<i>Hanseniaspora</i>

Ghi chú: (-) âm tính, (+) dương tính, (*) lên men chậm hoặc không lên men

Khi so sánh các đặc điểm hình thái và kết quả thử nghiệm sinh hóa của 7 nhóm nấm men phân lập được với khóa phân loại nấm men của của Lương Đức Phẩm (2009)^[1] và Kurtzman và cộng sự (2011)^[2], kết quả cho thấy 7 nhóm nấm men đã được định danh thuộc ba chi bao gồm: *Saccharomyces*, *Pichia* và *Hanseniaspora*. Cụ thể, các chủng BT2, BT3, BT4, TG1, TV2, BT5, BT6, TV1, CT2, ST2, TG3, VL1, VL2, BT1, CT1, CT3, ST1, ST3, TG2, và TV3 được định danh thuộc chi *Saccharomyces*; các chủng CT4, CT6, ST6, ST8, TV5, TV6, VL3, BT7, CT5, ST4, ST5, ST7, TG4, TG5, TV4, và VL5 được định danh thuộc chi *Pichia*; các chủng TV7, VL4, và VL6 được định danh thuộc chi *Hanseniaspora*.

Khảo sát khả năng lên men etanol của các chủng nấm men thuộc chi *Saccharomyces*: các chủng nấm men bao gồm: BT1, BT2, BT3, BT4, BT5, BT6, CT1, CT2, CT3, ST1, ST2, ST3, TG1, TG2, TG3, TV1, TV2, TV3, VL1, và VL2 được tăng sinh trong môi trường YPD lỏng ở nhiệt độ từ 28°C - 30°C cho đến khi mật độ nấm men đạt 10^7 tế bào/mL. Cho 1 mL dung dịch tăng sinh vào trong ống nghiệm chứa 9 mL dung dịch đường glucozo 2% và có ống Durham úp ngược. Để xác định khả năng lên men, dựa vào chiều cao cột khí sinh ra trong ống Durham ở 37°C, ghi nhận chiều cao cột khí CO₂ (mm) trong ống Durham sau 12, 18, 24, 32, 36, 42 và 48 giờ lên men. Thí nghiệm được thực hiện với 3 lần lặp lại, nghiệm thức đối chứng là các chủng nấm men thương mại BV818, RV002 và *Saccharomyces cerevisiae*.

Tham chiếu Bảng 4 là kết quả chiều cao trung bình của cột khí CO₂ trong ống Durham (mm).

Bảng 4. Chiều cao trung bình của cột khí CO₂ trong ống Durham (mm)

STT	Chủng nấm men	Thời gian lên men						
		12 giờ	18 giờ	24 giờ	30 giờ	36 giờ	42 giờ	48 giờ
1	BT1	14,0 ^{ab} ± 12,2	19,0 ^{abc} ± 9,6	25,2 ^a ± 6,0	27,7 ^a ± 4,0	29,5 ^a ± 0,9	30,0 ^a ± 0,0	30,0 ^a ± 0,0
2	BT2	2,2 ^{dc} ± 1,9	5,2 ^e ± 3,8	8,0 ^b ± 4,0	10,3 ^c ± 4,6	11,8 ^c ± 3,6	13,3 ^e ± 2,5	14,0 ^f ± 2,3
3	BT3	3,8 ^{cd} ± 0,3	7,7 ^{de} ± 0,8	13,3 ^{ab} ± 2,5	15,5 ^{bc} ± 2,8	18,8 ^{abc} ± 5,8	22,3 ^{abcde} ± 6,7	23,3 ^{abcdef} ± 5,8
4	BT4	6,2 ^{bcd} ± 5,1	9,8 ^{bcd} ± 7,9	16,2 ^{ab} ± 12	17,2 ^{abc} ± 11,2	19,2 ^{abc} ± 9,5	20,7 ^{abcde} ± 8,1	21,2 ^{abcdef} ± 7,7

5	BT5	3,8 ^{cd} ± 1,9	7,7 ^{de} ± 0,8	13,3 ^{ab} ± 1,6	17,0 ^{abc} ± 0,9	20,2 ^{abc} ± 1,4	23,5 ^{abcd} ± 5,0	24,5 ^{abcde} ± 5,8
6	BT6	11,0 ^{abcd} ± 7,0	15,7 ^{abcd} ± 11,6	19,5 ^{ab} ± 9,1	21,2 ^{abc} ± 7,7	22,7 ^{ab} ± 6,4	26,3 ^{abc} ± 6,4	26,3 ^{abcd} ± 6,4
7	BV818	18,8 ^a ± 6,2	20,3 ^{ab} ± 5,9	22,0 ^a ± 7,2	22,0 ^{abc} ± 5,6	22,0 ^{abc} ± 7,2	22,0 ^{abcde} ± 7,2	22,0 ^{abcdef} ± 7,2
8	CT1	7,7 ^{bcd} ± 4,9	13,0 ^{abcde} ± 4,5	20,0 ^{ab} ± 8,7	21,5 ^{abc} ± 7,4	21,8 ^{abc} ± 7,2	21,8 ^{abcde} ± 7,2	21,8 ^{abcdef} ± 7,2
9	CT2	6,3 ^{bcd} ± 3,3	13,2 ^{abcde} ± 5,3	20,7 ^a ± 8,3	23,3 ^{ab} ± 6,0	25,0 ^{ab} ± 5,0	27,7 ^{ab} ± 4,0	28,0 ^{ab} ± 3,5
10	CT3	3,8 ^{cd} ± 1,3	8,8 ^{cde} ± 6,7	15,0 ^{ab} ± 10,8	17,2 ^{abc} ± 11,9	18,5 ^{bc} ± 11,8	20,8 ^{abcde} ± 8,4	22,3 ^{abcdef} ± 6,7
11	RV002	8,8 ^{abcd} ± 5,3	17,7 ^{abcd} ± 2,3	25,5 ^a ± 7,8	25,7 ^{ab} ± 7,5	25,8 ^{ab} ± 7,2	26,3 ^{abc} ± 6,4	26,8 ^{abc} ± 5,5
12	ST1	12,2 ^{abcd} ± 13,8	17,0 ^{abcd} ± 11,3	21,0 ^a ± 8,2	23,3 ^{ab} ± 6,0	26,3 ^{ab} ± 3,2	26,7 ^{abc} ± 2,9	27,0 ^{abc} ± 2,6
13	ST2	9,7 ^{abcd} ± 7,2	12,5 ^{abcde} ± 7,0	17,2 ^{ab} ± 7,5	20,0 ^{abc} ± 9,2	21,5 ^{abc} ± 8,5	23,2 ^{abcde} ± 7,3	24,0 ^{abcde} ± 6,6
14	ST3	6,3 ^{bcd} ± 1,3	13,5 ^{abcde} ± 5,0	20,5 ^a ± 9,0	22,2 ^{ab} ± 7,8	23,5 ^{ab} ± 7,1	24,7 ^{abcd} ± 7,2	24,7 ^{abcde} ± 7,2
15	Sac 2,1	4,0 ^{bcd} ± 1,0	9,0 ^{cde} ± 0,9	14,2 ^{ab} ± 1,2	14,4 ^{bc} ± 2,1	16,7 ^{bc} ± 1,3	17,2 ^{cde} ± 2,0	17,7 ^{cdef} ± 2,1
16	TG1	11,2 ^{abcd} ± 3,5	16,8 ^{abcd} ± 5,8	21,0 ^a ± 7,9	21,5 ^{abc} ± 7,5	22,2 ^{abc} ± 6,8	22,8 ^{abcde} ± 6,3	23,0 ^{abcdef} ± 6,1
17	TG2	10,5 ^{abcd} ± 6,5	12,3 ^{abcde} ± 6,4	14,3 ^{ab} ± 5,5	15,0 ^{bc} ± 4,8	16,2 ^{bc} ± 3,7	16,8 ^{cde} ± 3,1	16,8 ^{def} ± 3,1
18	TG3	10,2 ^{abcd} ± 3,3	13,8 ^{abcde} ± 2,3	17,3 ^{ab} ± 1,3	18,5 ^{abc} ± 3,1	19,7 ^{abc} ± 5,1	19,8 ^{bcde} ± 5,4	20,7 ^{abcdef} ± 6,8
19	TV1	18,2 ^a ± 11,5	21,8 ^a ± 12,5	23,0 ^a ± 12,1	24,2 ^{ab} ± 10,1	25,8 ^{ab} ± 7,2	27,8 ^{ab} ± 3,8	28,3 ^{ab} ± 2,9

20	TV2	12,8 ^{abc} ± 1,3	16,0 ^{abcde} ± 1,8	19,2 ^{ab} ± 5,1	20,8 ^{abc} ± 7,9	20,8 ^{abc} ± 7,9	20,8 ^{abcde} ± 7,9	20,8 ^{abcdef} ± 7,9
21	TV3	5,2 ^{bcd} ± 1,3	8,3 ^{cde} ± 1,0	13,5 ^{ab} ± 1,5	15,0 ^{bc} ± 1,5	15,7 ^{bc} ± 1,5	15,8 ^{de} ± 1,8	15,8 ^{ef} ± 1,8
22	VL1	13,2 ^{abc} ± 3,8	17,3 ^{abcd} ± 4,5	23,0 ^a ± 7,5	24,8 ^{ab} ± 7,7	25,3 ^{ab} ± 8,1	25,0 ^{abcd} ± 8,8	25,3 ^{abcde} ± 8,1
23	VL2	11,0 ^{abcd} ± 7,9	16,8 ^{abcd} ± 11,4	19,0 ^{ab} ± 9,5	19,7 ^{abc} ± 9,1	19,8 ^{abc} ± 9,0	20,0 ^{bcde} ± 8,8	20,0 ^{bcdef} ± 8,8

Ghi chú: Chiều cao tối đa của cột khí trong ống Durham là 30 mm. Giá trị ghi trong bảng là giá trị trung bình của ba lần lặp lại. Các giá trị trung bình có chữ số mũ giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.

Sau 12 giờ lên men đầu tiên, chủng TV1 và chủng đối chứng BV818 lên men và tạo ra CO₂ với tốc độ nhanh hơn các mẫu khác, giá trị của cột CO₂ lần lượt là 18,2 ± 11,5 (mm) và 18,8 ± 6,2 (mm). Trong 8 giờ tiếp theo, một số chủng nấm men như BT1, BT6, ST1, TV1 và VL2 đã có thể lấp đầy cột CO₂. Tại thời điểm 24 giờ, các chủng nấm men BT1, CT2, ST1, ST3, TG1, TV1, VL1 và hai chủng đối chứng BV818 và RV002 đã đẩy chiều cao cột khí trong ống Durham tăng lên với các giá trị 25,2 ± 6,0, 20,7 ± 8,3, 21,0 ± 8,2, 20,5 ± 9,0, 21,0 ± 7,9, 23,0 ± 12,1, 23,0 ± 7,5 (mm), không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại. Sau 30 giờ lên men, 14 trong số 23 chủng nấm men chứa đầy khí CO₂ trong ống Durham. Khả năng lên men đường glucozo trong ống Durham của các chủng này được duy trì đến thời điểm 48 giờ, trong đó chủng BT1, TV1 và CT2 có khả năng lên men cao nhất với 30,0 ± 0,0, 28,3 ± 2,9 và 28,0 ± 3,5 (mm), tiếp theo là hai chủng ST1 và RV002 (27,0 ± 2,6 và 26,8 ± 5,5 mm). Hai chủng nấm men có khả năng lên men thấp nhất là BT2 (14,0 ± 2,3 mm) và TV3 (15,8 ± 1,8 mm). Như vậy, kết quả của bước khảo sát khả năng lên men etanol đã chọn ra được 6 chủng nấm men thuộc chi *Saccharomyces* có khả năng lên men etanol tốt trong dung dịch đường glucozo 2% là BT1, CT2, ST1, TG1, TV1 và VL1.

Khảo sát khả năng lên men rượu vang vú sữa tím: 6 chủng nấm men thuộc chi *Saccharomyces* bao gồm: BT1, CT2, ST1, TG1, TV1 và VL1 được tăng sinh đạt mật số nấm men ban đầu trong dịch lên men là 10⁸ tế bào/mL, dịch ép quả vú sữa tím có pH 3,6 và điều chỉnh về 22°Brix bằng cách bổ sung đường saccarozo, thời gian lên men là 7 ngày ở nhiệt độ từ 28°C - 30°C. Thí nghiệm được thực hiện với 3 lần lặp lại, nghiệm thức đối

chứng sử dụng chủng nấm men thương mại RV002. Tham chiếu Bảng 5 là kết quả ghi nhận được của các thông số kỹ thuật bao gồm pH, độ Brix và nồng độ etanol sau 14 ngày lên men.

Bảng 5. Giá trị pH, độ Brix và nồng độ etanol sau 14 ngày lên men

STT	Chủng nấm men	pH	Độ Brix	Nồng độ etanol (%)
1	BT1	$3,53 \pm 0,03$	$11,7^a \pm 0,6$	$6,56^c \pm 0,69$
2	CT2	$3,52 \pm 0,05$	$11,0^{ab} \pm 1,0$	$7,36^c \pm 0,29$
3	RV002	$3,6 \pm 0,06$	$7,3^d \pm 1,2$	$9,5^a \pm 0,7$
4	ST1	$3,57 \pm 0,00$	$10,5^{ab} \pm 1,3$	$9,07^b \pm 0,6$
5	TG1	$3,56 \pm 0,06$	$10^{bc} \pm 1,0$	$8,68^b \pm 0,7$
6	TV1	$3,53 \pm 0,03$	$10,3^{ab} \pm 0,6$	$6,4^c \pm 0,88$
7	VL1	$3,52 \pm 0,00$	$8,5^{cd} \pm 0,5$	$10,35^a \pm 0,58$

Ghi chú: Giá trị ghi trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Các giá trị trung bình có chữ số mũ giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.

Về nồng độ etanol, chủng nấm men VL1 có khả năng lên men cho nồng độ etanol cao nhất, đạt $10,35 \pm 0,58$ (%), khác biệt có ý nghĩa thống kê so với 5 chủng còn lại và chủng đối chứng RV002. Giá trị cao thứ hai là chủng đối chứng RV002, nồng độ etanol đạt $9,5 \pm 0,7$ (%). Nồng độ etanol đo được là $6,4 \pm 0,88$ (%) ở chủng TV1. Về độ Brix, chủng đối chứng RV002 có giá trị thấp nhất là $7,3 \pm 1,2$ (°Brix), tiếp theo là $8,5 \pm 0,5$ (°Brix) ở chủng VL1 cho thấy mối quan hệ giữa sự thay đổi của độ Brix và hiệu quả của quá trình lên men. Tương tự, độ Brix ở chủng BT1 có giá trị cao nhất ($11,7 \pm 0,6$ °Brix) nên nồng độ etanol đo được chỉ là $6,56 \pm 0,69$ (%). Giá trị pH sau khi lên men không khác biệt nhiều giữa các chủng nấm men, dao động từ 3,52 - 3,6. Như vậy, chủng nấm men *Saccharomyces* sp. VL1 được phân lập từ mẫu quả vú sữa tím thu thập từ tỉnh Vĩnh Long có khả năng lên men rượu vang vú sữa tím tốt nhất với nồng độ etanol cao nhất. Chủng nấm men này được lưu trữ trong bộ sưu tập giống vi sinh vật của Trường Đại học Cần Thơ với số hiệu lưu giữ là NMRVVL1.

Bây giờ, tham chiếu Hình 2 là lưu đồ minh họa quy trình lên men rượu vang vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.) 100 (“quy trình 100”) theo phương án của sáng chế. Quy trình 100 được bắt đầu bằng công đoạn 101, đó là công đoạn chuẩn bị nguyên liệu bao gồm: thành phần thịt quả vú sữa tím xay nhuyễn, thành phần chất tạo ngọt, thành phần

enzym pectinaza, thành phần natri bisulfit (NaHSO_3), thành phần dung dịch nấm men, và thành phần nước.

Theo phương án của sáng chế, quả vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.) được sử dụng làm nguyên liệu để lên men rượu vang vú sữa tím. Quả vú sữa tím chín sau khi thu hoạch sẽ được phân loại để chọn ra những quả chín có màu tím chiếm trên 70% diện tích bề mặt, sau đó rửa sạch, và để ráo. Tiếp theo, quả vú sữa tím được cắt bỏ phần vỏ xanh gần cuống trái, loại bỏ hạt, kết quả thu được phần thịt quả vú sữa tím. Phần thịt quả vú sữa tím này được xay nhỏ bằng máy xay để thu nhận thành phần thịt quả vú sữa tím xay nhuyễn.

Theo phương án của sáng chế, thành phần chất tạo ngọt được chọn từ đường glucozo (glucose), fructozo (fructose), galactozo (galactose), saccarozo (saccharose), maltozo (maltose), và lactozo (lactose). Thành phần chất tạo ngọt này có nguồn gốc tự nhiên, cung cấp nguồn dinh dưỡng cần thiết để thực hiện quá trình lên men rượu. Theo một phương án ưu tiên của sáng chế, thành phần chất tạo ngọt sử dụng cho quy trình lên men rượu vang vú sữa tím là đường saccarozo (saccharose).

Theo phương án của sáng chế, thành phần enzym pectinaza được chọn từ nguồn thương mại có hoạt độ riêng tối thiểu là 25 U/mg. Enzym pectinaza được sử dụng để gia tăng hiệu suất thủy phân thành phần thịt quả vú sữa tím, và cải thiện chất lượng dịch quả.

Theo phương án của sáng chế, thành phần natri bisulfit (NaHSO_3) được chọn từ nguồn thương mại có độ tinh sạch từ 98% trở lên. Natri bisulfit sau khi tạo thành SO_3 sẽ có tính diệt khuẩn, tiêu diệt vi sinh vật gây hư hỏng thực phẩm. Do đó, natri bisulfit được sử dụng nhằm mục đích thanh trùng hỗn hợp lên men rượu vang vú sữa tím.

Theo phương án của sáng chế, thành phần dung dịch nấm men chứa chủng nấm men *Saccharomyces* sp. VL1 được phân lập từ rượu vang lên men tự nhiên từ quả vú sữa tím thu thập ở tỉnh Vĩnh Long và được lưu trữ trong bộ sưu tập giống vi sinh vật của Trường Đại học Cần Thơ với số hiệu lưu giữ là NMRVVL1. Chủng nấm men *Saccharomyces* sp. VL1 có các đặc điểm như sau: tế bào hình ovan nhỏ, khuẩn lạc có màu trắng sữa, độ nổi mô cao, dạng bìa nguyên, và lồi, có khả năng lên men đường glucozo 2% và saccarozo 2%, không có khả năng phân giải urê, và có khả năng lên men vú sữa tím cho ra rượu vang. Thành phần dung dịch nấm men được chuẩn bị bao gồm các bước:

(A) Chuẩn bị chủng nấm men *Saccharomyces* sp. VL1;

(B) Nuôi cấy tăng sinh chủng nấm men *Saccharomyces* sp. VL1 trong môi trường YPD (Yeast Extract Peptone Dextrose) lỏng ở nhiệt độ từ 28°C - 30°C cho đến khi mật số tế bào tối thiểu đạt 10^6 tế bào/mL; và

(C) Thu nhận dung dịch nấm men.

Theo một phương án ưu tiên của sáng chế, thành phần dung dịch nấm men chứa chủng *Saccharomyces* sp. VL1 sử dụng để lên men rượu vang vú sữa tím có mật số tế bào đạt 10^8 tế bào/mL.

Theo phương án của sáng chế, thành phần nước đáp ứng các yêu cầu theo QCVN 01:2009/BYT của Bộ Y tế về chất lượng nước ăn uống.

Ở công đoạn 102, tiến hành tạo hỗn hợp nền bao gồm các bước:

(A') Xác định tỷ lệ phần trăm (%) tính theo trọng lượng của từng thành phần gồm: thành phần thịt quả vú sữa tím xay nhuyễn có 60% - 70% trọng lượng, thành phần chất tạo ngọt có 18% - 22% trọng lượng, thành phần enzym pectinaza có 0,05% - 0,15% trọng lượng, và thành phần nước có 7,85% - 21,95% trọng lượng.

(B') Phối trộn các thành phần theo tỷ lệ phần trăm (%) tính theo trọng lượng đã xác định ở bước (A'), khuấy đảo đều, kết quả thu được hỗn hợp tạm thời.

(C') Ủ hỗn hợp tạm thời thu được ở bước (B') trong khoảng thời gian từ 1 - 2 giờ, kết quả thu được hỗn hợp nền.

Ở công đoạn 103, thực hiện thanh trùng hỗn hợp nền thu được từ công đoạn 102 bằng cách phối trộn với thành phần natri bisulfit (NaHSO_3) đã chuẩn bị ở công đoạn 101 với tỷ lệ thành phần natri bisulfit (NaHSO_3): hỗn hợp nền là 1: (10000 - 11000), khuấy đảo đều, ủ trong khoảng thời gian từ 1,5 - 3 giờ, kết quả thu được hỗn hợp nền đã thanh trùng.

Ở công đoạn 104, thực hiện lên men hỗn hợp nền đã thanh trùng thu được từ công đoạn 103 bằng cách bổ sung thành phần dung dịch nấm men đã chuẩn bị ở công đoạn 101 với tỷ lệ thành phần dung dịch nấm men: hỗn hợp nền đã thanh trùng là 1: (140 - 160), khuấy đảo đều, ủ kỵ khí trong khoảng thời gian từ 10 - 15 ngày ở nhiệt độ từ 27°C - 32°C, kết quả thu được hỗn hợp đã lên men.

Ở công đoạn 105, tiến hành lọc hỗn hợp đã lên men thu được ở công đoạn 104, kết quả thu được dịch lọc.

Ở công đoạn 106, để lắng tự nhiên dịch lọc thu được ở công đoạn 105 trong khoảng thời gian từ 12 - 15 ngày ở nhiệt độ từ 22°C - 25°C, loại bỏ phần cặn, kết quả thu được rượu vang vú sữa tím. Theo một phương án ưu tiên của sáng chế, rượu vang vú sữa tím thu được có nồng độ etanol đạt từ 9% - 13%.

Cuối cùng, ở công đoạn 107, đóng chai rượu vang vú sữa tím thu được ở công đoạn 106 và đem đi bảo quản ở nơi thoáng mát, sạch sẽ, tránh tiếp xúc trực tiếp với ánh nắng mặt trời.

Tài liệu tham khảo bao gồm:

[1] Lương Đức Phẩm, 2009. Nấm men công nghiệp. Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật.

[2] Kurtzman, C. P., Fell, J. W., Boekhout, T., & Robert, V., 2011. Methods for isolation, phenotypic characterization and maintenance of yeasts. In *The Yeasts* (pp. 87-110). Elsevier.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Mục đích của phần ví dụ sau đây nhằm chứng minh rằng giải pháp kỹ thuật của sáng chế này đã được tác giả nghiên cứu và thử nghiệm thành công. Cụ thể, quy trình 100 được ứng dụng để lên men rượu vang vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.) từ 100 kg thịt quả vú sữa tím, bao gồm các công đoạn:

I) Chuẩn bị nguyên liệu bao gồm: thành phần thịt quả vú sữa tím xay nhuyễn, thành phần đường saccarozo, thành phần enzym pectinaza, thành phần natri bisulfit (NaHSO_3), thành phần dung dịch nấm men chứa chủng *Saccharomyces* sp. VL1 có mật số tế bào là 10^6 tế bào/mL và thành phần nước.

II) Tạo hỗn hợp nền bằng cách:

(A) Xác định trọng lượng của từng thành phần như trong Bảng 6.

Bảng 6. Thành phần và trọng lượng của các thành phần trong hỗn hợp nền

STT	Thành phần	Trọng lượng (Kg)
1	Thịt quả vú sữa tím xay nhuyễn	100
2	Đường saccarozo	30,8
3	Enzym pectinaza	0,15
4	Nước	22,9

(B) Phối trộn các thành phần theo tỷ lệ phần trăm (%) tính theo trọng lượng đã xác định ở Bảng 6, khuấy đảo đều, kết quả thu được hỗn hợp tạm thời.

(C) Ủ hỗn hợp tạm thời thu được ở bước (B) trong 1,5 giờ, kết quả thu được hỗn hợp nền.

III) Thanh trùng hỗn hợp nền thu được từ công đoạn II) bằng cách phối trộn với 15 g thành phần natri bisulfit (NaHSO_3), khuấy đảo đều, ủ trong 1,5 giờ, kết quả thu được hỗn hợp nền đã thanh trùng.

IV) Lên men hỗn hợp nền đã thanh trùng thu được từ công đoạn III) bằng cách bổ sung 1 lít thành phần dung dịch nấm men đã chuẩn bị ở công đoạn I), khuấy đảo đều, ủ kỵ khí trong bình thủy tinh trong 15 ngày ở nhiệt độ từ 27°C - 32°C , kết quả thu được hỗn hợp đã lên men.

V) Lọc hỗn hợp đã lên men thu được ở công đoạn IV), kết quả thu được dịch lọc.

VI) Để lắng dịch lọc thu được ở công đoạn V) trong 14 ngày ở nhiệt độ từ 22°C - 25°C , loại bỏ phần cặn, kết quả thu được rượu vang vú sữa tím có nồng độ ethanol đạt 10,5%.

VII) Đóng chai rượu vang vú sữa tím.

Những lợi ích (hiệu quả) có thể đạt được

Sáng chế cung cấp một quy trình lên men rượu vang vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.) với các bước thực hiện đơn giản sử dụng chủng nấm men bản địa có khả năng lên men vượt trội cho ra sản phẩm rượu vang vú sữa tím có nồng độ ethanol cao, hương thơm và mùi vị đặc trưng. Chủng nấm men này có thể được ứng dụng trong sản xuất rượu vang vú sữa tím ở quy mô công nghiệp.

Sáng chế cung cấp một quy trình lên men rượu vang vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.) như một kỹ thuật chế biến giúp tận dụng tối đa sản lượng quả vú sữa tím dồi dào, tạo điều kiện thuận lợi cho việc bảo quản nguồn dinh dưỡng trong quả, tận dụng những quả chưa đạt chỉ tiêu chất lượng, giải quyết được các vấn đề sau thu hoạch, từ đó giúp nâng cao hiệu quả kinh tế cho người dân.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình lên men rượu vang vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.) bao gồm các công đoạn:

i) chuẩn bị nguyên liệu bao gồm: thành phần thịt quả vú sữa tím xay nhuyễn, thành phần chất tạo ngọt, thành phần enzym pectinaza, thành phần natri bisulfit (NaHSO_3), thành phần dung dịch nấm men, và thành phần nước; trong đó

thành phần chất tạo ngọt được chọn từ đường glucozo (glucose), fructozo (fructose), galactozo (galactose), saccarozo (saccharose), maltozo (maltose), và lactozo (lactose);

thành phần enzym pectinaza có hoạt độ riêng tối thiểu là 25 U/mg;

thành phần natri bisulfit (NaHSO_3) có độ tinh sạch tối thiểu là 98%;

thành phần dung dịch nấm men chứa chủng nấm men *Saccharomyces* sp. VL1 có mật số tế bào tối thiểu đạt 10^6 tế bào/mL; trong đó, chủng nấm men *Saccharomyces* sp. VL1 được phân lập từ rượu vang lên men tự nhiên từ quả vú sữa tím thu thập ở tỉnh Vĩnh Long có các đặc điểm bao gồm: tế bào hình ovan nhỏ, khuẩn lạc có màu trắng sữa, độ nổi mô cao, dạng bìa nguyên và lồi, có khả năng lên men đường glucozo (glucose) 2% và saccarozo (saccharose) 2%, không có khả năng phân giải urê, có khả năng lên men rượu vang vú sữa tím;

ii) tạo hỗn hợp nền bao gồm các bước:

(a) xác định tỷ lệ phần trăm (%) tính theo trọng lượng của từng thành phần gồm:

thành phần thịt quả vú sữa tím xay nhuyễn có 60% - 70% trọng lượng;

thành phần chất tạo ngọt có 18% - 22% trọng lượng;

thành phần enzym pectinaza có 0,05% - 0,15% trọng lượng; và

thành phần nước có 7,85% - 21,95% trọng lượng;

(b) phối trộn các thành phần theo tỷ lệ phần trăm (%) tính theo trọng lượng đã xác định ở bước (a), khuấy đảo đều, thu được hỗn hợp tạm thời;

(c) ủ hỗn hợp tạm thời thu được ở bước (b) trong khoảng thời gian từ 1 – 2 giờ, thu được hỗn hợp nền;

iii) thanh trùng hỗn hợp nền thu được từ công đoạn ii) bằng cách phối trộn với thành phần natri bisulfit (NaHSO_3) đã chuẩn bị ở công đoạn i) với tỷ lệ thành phần natri bisulfit (NaHSO_3): hỗn hợp nền là 1: (10000 – 11000), khuấy đảo đều, ủ trong khoảng thời gian từ 1,5 – 3 giờ, thu được hỗn hợp nền đã thanh trùng;

iv) lên men hỗn hợp nền đã thanh trùng thu được từ công đoạn iii) bằng cách bổ sung thành phần dung dịch nấm men đã chuẩn bị ở công đoạn i) với tỷ lệ thành phần dung dịch nấm men: hỗn hợp nền đã thanh trùng là 1: (140 – 160), khuấy đảo đều, ủ kỵ khí trong khoảng thời gian từ 10 – 15 ngày ở nhiệt độ từ 27°C - 32°C , thu được hỗn hợp đã lên men;

v) lọc hỗn hợp đã lên men thu được ở công đoạn iv), thu được dịch lọc;

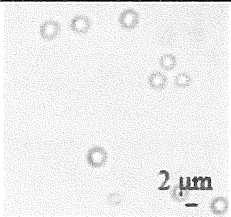
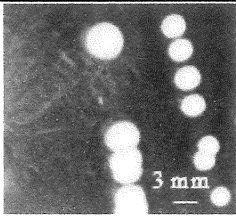
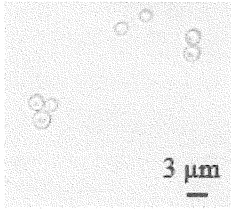
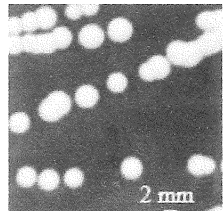
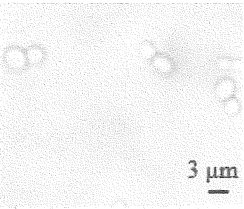
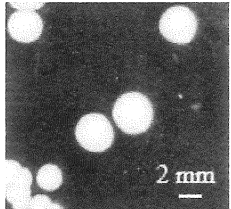
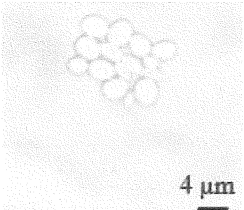
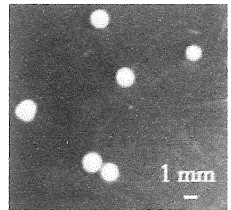
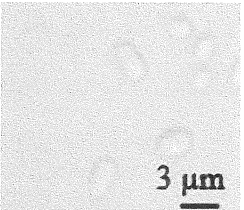
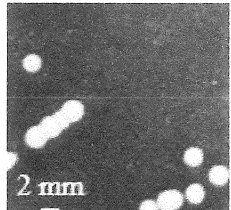
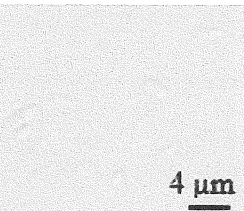
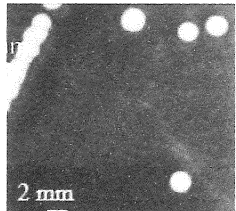
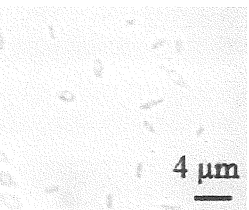
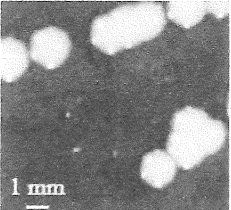
vi) để lắng dịch lọc thu được ở công đoạn v) trong khoảng thời gian từ 12 - 15 ngày ở nhiệt độ từ 22°C - 25°C , loại bỏ phần cặn, thu được rượu vang vú sữa tím;

vii) đóng chai rượu vang vú sữa tím.

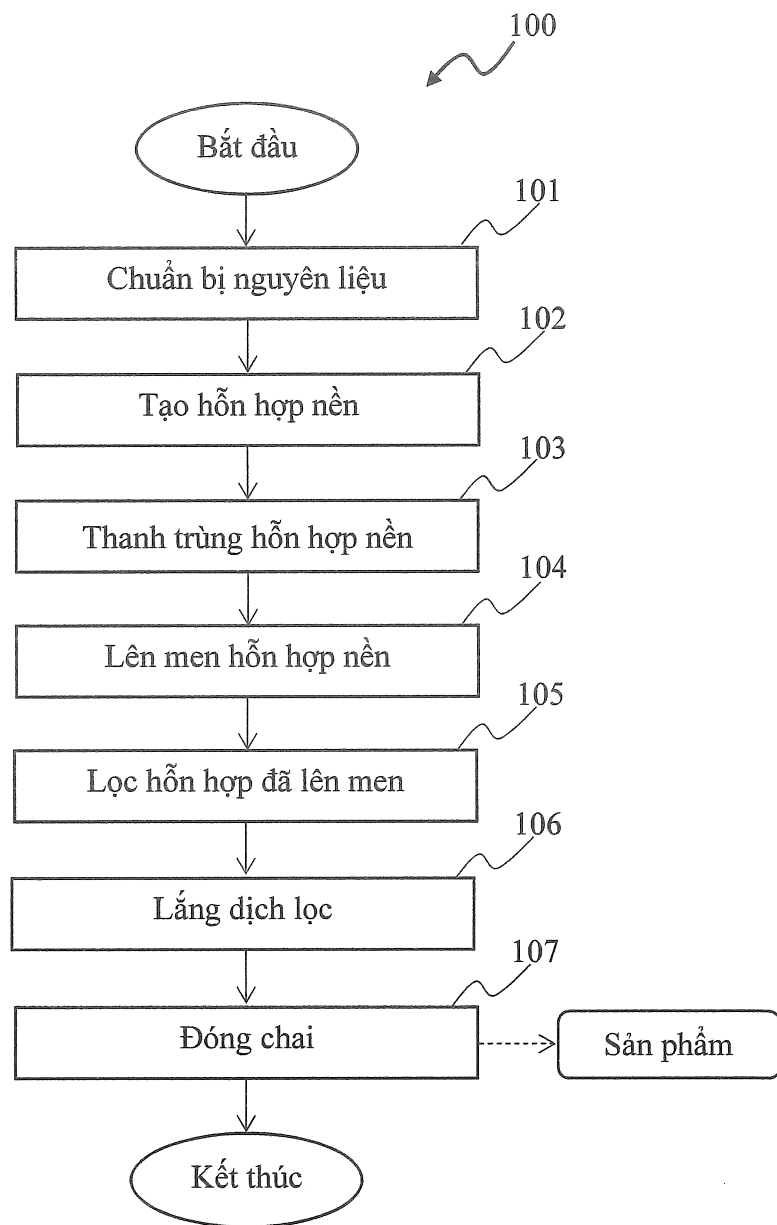
2. Quy trình lên men rượu vang vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.) theo điểm 1, trong đó thành phần dung dịch nấm men chứa chủng *Saccharomyces* sp. VL1 được sử dụng ở công đoạn iv) có mật số tế bào đạt 10^8 tế bào/mL.

3. Quy trình lên men rượu vang vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.) theo điểm 1, trong đó thành phần chất tạo ngọt được chuẩn bị ở công đoạn i) là đường saccarozo (saccharose).

4. Quy trình lên men rượu vang vú sữa tím (*Chrysophyllum cainito* L.) theo điểm 1, trong đó rượu vang vú sữa tím thu được ở công đoạn vi) có nồng độ etanol đạt từ 9% - 13%.

Nhóm	Hình dạng tế bào	Hình thái khuẩn lạc
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		

HÌNH 1



HÌNH 2