

ẢNH HƯỞNG CỦA QUÁ TRÌNH NẤU VÀ LÊN MEN CHÍNH ĐẾN HÀM LƯỢNG ĐƯỜNG KHỬ, AXIT AMIN HÒA TAN VÀ POLYPHENOL TRONG DỊCH BIA TỪ MALT CỦA GIỐNG LÚA IR50404

Nguyễn Tấn Hùng^{1*}, Phan Việt Thắng¹, Nguyễn Công Hà¹

TÓM TẮT

Khảo sát sự thay đổi hàm lượng đường khử, axit amin hòa tan (FAN) và polyphenol tổng (TPC) trong quá trình nấu và lên men chính của malt từ giống lúa IR50404 được thực hiện. Giống lúa IR50404 được ngâm trong 24 giờ với nước cất, nảy mầm ở $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ trong 4 ngày tạo malt non. Sau đó, malt non được ủ nhiệt ở nhiệt độ 50°C trong 60 phút, tiếp theo được sấy ở nhiệt độ 50°C trong 24 giờ. Quá trình dịch hóa được thực hiện trên cơ sở điều chỉnh các mức nhiệt độ tối ưu cho hoạt tính của enzyme glucoamylase (52°C trong 40 phút) và alpha amylase (70°C trong 50 phút) trên cơ sở có bổ sung 5% malt lót vào cuối quá trình dịch hóa. Kết quả cho thấy, sau quá trình dịch hóa và nấu hoa houblon hàm lượng đường khử, axit amin hòa tan và TPC tăng tương ứng 1,61; 4,89 và 1,87 lần. Trong đó, hàm lượng FAN trong dịch nha sau đun sôi ($12,5$ độ Brix hay 13°P) đạt yêu cầu cho quá trình lên men ($170,49\text{ mg/L}$). Quá trình lên chính (lên men chìm) được tiến hành cho dịch nha ($12,5^{\circ}\text{Brix}$) bởi *Saccharomyces cerevisiae* (1 g/L) ở nhiệt độ $14-15^{\circ}\text{C}$ giúp dịch bia non đạt độ cồn khoảng 5%V sau 4-5 ngày. Mặt khác, trong suốt quá trình lên men chính ghi nhận sự sụt giảm tương ứng của hàm lượng đường khử, FAN, TPC và pH dịch bia. Nghiên cứu này khẳng định tiềm năng của việc sản xuất bia hoàn toàn từ malt lúa IR50404 là khả thi.

Từ khóa: Malt lúa, dịch hóa, IR50404, lên men, polyphenol.

1. GIỚI THIỆU

Từ lâu, các nhà sản xuất bia đã có mối quan tâm ngày càng tăng về việc sử dụng malt gạo để sản xuất bia. Bia từ malt lúa gạo được sản xuất nhằm mục đích để có được một loại đồ uống không chứa gluten tương đương với bia thông thường (Ceccaroni et al., 2019). Malt không chứa gluten cũng có thể là một nguồn nguyên liệu có thể được khai thác để cho phép người bệnh celiac thưởng thức đồ uống giống bia. Các loại ngũ cốc khác như cao lương hoặc kê, kiều mạch và quinoa, có thể được sử dụng để sản xuất malt với kết quả khá tốt, mặc dù không có loại nào có cùng đặc tính như lúa mạch (Ceppi & Brenna, 2010). Trong khi sản xuất malt từ lúa mạch và lúa mì tạo ra malt phù hợp cho sản xuất bia, thì sản xuất malt từ lúa gạo vẫn chưa mang lại một loại malt thích hợp mặc dù đã có nhiều nỗ lực trong những năm gần đây (Agu et al., 2012; Artit Kongkaew, 2012; Ceppi và Brenna, 2010; Zarnkow và Back, 2005). Do trong malt gạo hàm lượng acid amin hòa tan khá thấp dẫn đến thời gian lên men sẽ dài hơn. Mặc dù, hàm lượng enzyme của gạo thấp hơn malt đại mạch nhưng nó

cao hơn so với các loại ngũ cốc không chứa gluten khác (Artit Kongkaew, 2012; Ceccaroni et al., 2019). Ở Việt Nam, cũng đã có một số nghiên cứu về quá trình chế biến malt lúa cũng như là sự thay đổi thành phần dinh dưỡng trong quá trình ngâm và nảy mầm từ một số giống lúa phổ biến ở đồng bằng sông Cửu Long (Nguyễn Thạch Minh và Trịnh Xuân Ngo, 2009; Nguyễn Tấn Hùng và ctv., 2018). Tuy nhiên, các nghiên cứu gần đây đã chứng minh rằng các điều kiện thích hợp cho việc sản xuất malt và bia cho phép chuyển đổi hoàn toàn tinh bột trong malt gạo thành đường trong lên men (Mayer et al., 2014; Mayer et al., 2016).

Hiện tại, các nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng chỉ có một số giống lúa được trồng ở ĐBSCL như IR50404 là có triển vọng cho khả năng nảy mầm và tạo malt. Giống lúa IR50404 được trồng phổ biến ở đồng bằng sông Cửu Long do chịu phèn tốt, tốc độ sinh trưởng và năng suất cao (An và ctv., 2016). Mục đích của nghiên cứu này là bước đầu thu được sản phẩm bia hoàn toàn từ malt của giống lúa IR50404 để cải thiện tổng thể sản phẩm này về điều kiện công nghệ. Vì mục đích này, các điều kiện xử lý nhiệt đối với malt non đã được xem xét cũng như quy trình dịch hóa sau đó đã được chọn để sản xuất malt và

¹ Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ
Email: nguyentanhung@tgu.edu.vn

dịch đường hóa phù hợp cho quá trình lên men. Với mong muốn trên, nghiên cứu nhằm cung cấp cơ sở khoa học giúp gia tăng khả năng sử dụng malt lúa gạo để xây dựng quy trình nấu bia đạt hiệu quả.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Giống lúa nguyên chủng IR50404 được mua từ Viện Nghiên cứu Phát triển đồng bằng sông Cửu Long, thành phố Cần Thơ.

Hoa houblon: loại CALLISTA (4,5% alpha axit) – xuất xứ Đức (Công ty AVB beer shop – thành phố Hồ Chí Minh).

- Giống nấm men: *Saccharomyces cerevisiae*, do Công ty AB Mauri Việt Nam cung cấp.

2.2. Quá trình chế biến malt

Lúa (500 g) được ngâm trong dung dịch sodium metabisulphite 0,1% trong 30 phút. Tiến hành ngâm lúa trong nước cất (pH 7) với thể tích gấp 3 lần khối lượng hạt (Ayernor và Ocloo, 2007) ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ, nước được thay đổi 12 giờ một lần. Ủ nảy mầm trong tủ ủ SANYO MCO-5AC ở 35°C trong thời gian 4 ngày. Malt non được ủ nhiệt ở 50°C/60 phút, sau đó được sấy ở nhiệt độ 50°C trong 24 giờ bằng máy sấy (Shellab SMO3-2, Mỹ).

2.3. Quy trình dịch hóa, nấu hoa houblon và lên men

Dịch hóa: 250 g malt lúa và 1000 ml nước cất (54°C), pH hỗn hợp được điều chỉnh về 5,3 - 5,5 bằng acid lactic, bổ sung $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ với tỷ lệ 85 mg/L. Tiến hành dịch hóa trong bể điều nhiệt theo công thức: 52°C/40 phút → 70°C/50 phút → 85°C/30 phút → 70°C (bổ sung 5% malt lót từ malt lúa IR50404/60 phút → Lọc. Mức tăng nhiệt độ được điều chỉnh 1°C/phút. Dịch đường hóa được khử trùng bằng cách đun sôi trong khoảng thời gian 60 phút. Tiến hành bổ sung viên hop vào 30 phút cuối của quá trình đun sôi; lọc và làm lạnh xuống khoảng 14-15°C.

Lên men: Nấm men lên men chìm (với tỷ lệ 1 g/L) dịch nha được hoạt hóa với một ít dịch nha trong 30 phút trên máy lắc và bổ sung vào dịch nha đã làm lạnh ở 15°C. Quá trình lên men chính dừng lại sau 7 ngày. Sau đó, dịch bia được giảm nhiệt xuống 5°C, men được loại ra khỏi đáy của bình lên men và tiến hành phân tích chất lượng.

2.4. Phương pháp phân tích

2.4.1. Xác định Polyphenol tổng (phương pháp Folin-Ciocalteu)

Chiết xuất: 4 g malt nghiền và 20 mL methanol, 0,1 mL dịch lọc, thêm 1,5 mL thuốc thử Folin 1/10, 4

mL dung dịch Na_2CO_3 20%, sau đó định mức lên 10 mL bằng nước cất. Hỗn hợp được ủ trong điều kiện bóng tối trong 30 phút. Đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 738 nm. Đơn vị tính bằng mg đương lượng axit galic (mgGAE/g).

2.4.2. Khả năng bắt gốc tự do (phương pháp 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

3 mL dịch trích malt (mục 2.3.1), 1 mL thuốc thử DPPH 0,1 mM, vortex và để phản ứng 30 phút trong bóng tối. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 517 nm.

Tính toán: $\%DPPH = \frac{(\text{Abs}_{\text{blank}} - \text{Abs}_{\text{mẫu}}) \times 100}{\text{Abs}_{\text{blank}}}$. Trong đó: $\text{Abs}_{\text{blank}}$ là giá trị độ hấp thụ của mẫu trắng (3 mL methanol và 1 mL DPPH).

2.4.3. Phân tích malt, dịch nha và bia

Các thuộc tính chất lượng của lúa và malt được xác định hai lần, theo phương pháp Analytica-EBC: độ ẩm (%), EBC 3.2; khối lượng nghìn hạt (TKW, g), EBC 3.4; tổng hàm lượng protein (% chất khô), phương pháp EBC 3.3.1; chỉ số Kolbach, EBC 4.9.1; hàm lượng nitơ amin tự do (FAN; mg/L), EBC EBC 4.10; năng lực đường hóa (đơn vị Windisch-Kolbach (WK)), EBC 4.12; pH, EBC 8.17.

Các thuộc tính chất lượng của dịch nha và bia: pH của wort, EBC 8.17; màu sắc: đo quang phổ EBC 8.5; nitơ amin tự do (FAN) trong wort, phương pháp EBC 8.10; cồn trong bia bằng phương pháp chưng cất (%v/v), EBC 9.2.1; pH của bia (phương pháp 9.35); axit amin tự do (FAN) trong bia bằng phương pháp đo quang phổ (mg/L), EBC 9.10.

3. KẾT QUẢ - THẢO LUẬN

3.1. Thành phần hóa lý và thuộc tính chất lượng của malt lúa IR50404

Bảng 1. Thành phần hóa lý và thuộc tính chất lượng của malt lúa IR50404

Thuộc tính/giống	Lúa	Malt lúa
Khối lượng 1000 (g)	27,19±0,4	-
Độ ẩm (%)	12,47±0,03	7,64±0,13
Protein (%)	10,33±2,08	7,54±0,33
Acid amin (mg/g)	4,66±0,19	8,57±0,18
Tinh bột (%)	71,48±0,44	58,94±0,44
Đường khử (%)	0,45±0,02	3,65±0,12
Năng lực đường hóa (WK)	-	58,01±0,34
Tỷ lệ nảy mầm (%)	-	> 98

Bảng 1 cho thấy, độ ẩm của giống lúa khảo sát thấp (12,47%) điều này cho phép bảo quản các giống lúa này ở nhiệt độ phòng mà không cần tiền xử lý.

Do kích thước và khối lượng của hạt đại mạch lớn hơn hạt lúa nên khối lượng 1000 hạt lúa lấy ngẫu nhiên vào khoảng từ 28-29 g nhỏ hơn đại mạch (35-47 g). Hàm lượng protein tổng ở mức khá (10,33%) tuy nhiên vẫn thấp hơn hàm lượng protein của đại mạch (10-12%) (Lê Thanh Mai và cs, 2007). Hàm lượng protein trong sản xuất bia rất quan trọng đối với sự ổn định của bột, hương vị và dinh dưỡng cho men trong quá trình lên men (Mayer et al., 2014). Trong quá trình sản xuất bia có bổ sung lúa thì hàm lượng protein của các giống lúa góp phần quan trọng để xác định chất lượng của malt (Owuama, 1997). Agu và Palmer (1998) đã báo cáo rằng lúa có chứa 8-11% protein là một mức độ chấp nhận được để làm malt hiệu quả. Do đó, chọn giống với hàm lượng protein cao có thể là một cách nâng cao chất lượng malt (Agu và Palmer, 1998). Sau quá trình chế biến malt (ngâm, nảy mầm, ủ nhiệt và sấy), tỷ lệ nảy mầm cao và đạt trên 98%. Năng lực đường hóa đạt 58,01 WK nhưng vẫn thấp hơn rất nhiều so với malt đại mạch (>215 WK) (Briggs et al., 2004; Bamforth, 2006). Độ ẩm malt cao hơn so với tiêu chuẩn về độ ẩm của malt đại mạch (<5%) dao động 6,68 - 7,64%.

3.2. Sự thay đổi hàm lượng đường khử, axit amin hòa tan và polyphenol tổng sau quá trình dịch hóa

Bảng 2. Hàm lượng FAN, đường khử, TPC, %DPPH sau quá trình dịch hóa ở 12,5 độ Brix (13°F)

Giai đoạn \ Thành phần	Trước dịch hóa	Sau dịch hóa	Sau houblon
FAN (mg/L)	105,79±0,14	170,49±3,09	154,64±1,55
Đường khử (mg/ml)	1,10±0,14	6,61±0,16	5,38±0,08
TPC (mgGAE/g)	267,51±8,27	462,10±13,84	501,80±20,76
Hoạt động bất gốc tự do (%DPPH)	7,05±0,92	15,07±1,5	35,10±2,5

Bảng 2 cho thấy, hàm lượng acid amin hòa tan và đường khử gia tăng sau quá trình dịch hóa. Điều này là do hoạt tính của các nhóm enzyme amylase và protease tăng cao làm cho hàm lượng đường khử và acid amin cũng tăng theo. Quá trình thủy phân tinh bột trong giai đoạn dịch hóa được thực hiện chủ yếu bởi bốn enzyme phân giải tinh bột: α -amylase, β -amylase, giới hạn dextrinase và α -glucosidase (Blanca, 2009). Trong đó, một trong những enzyme amylolytic này là dextrinase giới hạn, một loại enzyme xúc tác cho quá trình thủy phân các liên kết α -1,6-glucosidic trong tinh bột và các oligosacaride liên quan và thể hiện mức độ hoạt động trong gạo cao gấp nhiều lần so với lúa mạch (Mayer et al., 2014). So với malt đại mạch, malt từ lúa gạo cho thấy giá trị năng lực đường hóa thấp hơn (Bảng 1) và điều

Vấn đề chính với malt lúa gạo là quá trình đường hóa không hoàn toàn trong quá trình dịch hóa vì nhiệt độ hồ hóa cao của tinh bột gạo và sự thiếu hụt các enzyme thủy phân tinh bột trong malt gạo. Vì vậy, việc sản xuất bia gạo gặp vấn đề cả theo cách truyền thống bằng cách sử dụng malt ngũ cốc và theo cách hiện đại hơn bằng cách thêm các enzyme ngoại sinh vào nguyên liệu thô (Mayer et al., 2016). Trong quá trình dịch hóa đối với malt từ giống lúa IR50404, nếu chỉ dựa vào enzyme nội bào, tinh bột sẽ không được thủy phân triệt để, tỉ lệ tinh bột còn sót lại khá nhiều. Nguyên nhân là do tinh bột trong malt từ giống lúa IR50404 hầu như bị hồ hóa rất ít tại vùng nhiệt độ 70°C trong chương trình dịch hóa này. Theo Briggs et al. (2004), nhiệt độ hồ hóa của lúa gạo là 61-82°C cao hơn so với malt đại mạch (64-67°C). Để giải quyết vấn đề đó, bên cạnh việc sử dụng enzyme thương mại để hỗ trợ trong quá trình dịch hóa thì việc sử dụng một phần malt ban đầu với vai trò như malt lót (5%) được bổ sung vào giai đoạn cuối của quá trình dịch hóa cũng được xem như là 1 giải pháp khả thi. Kết quả đánh giá hàm lượng FAN, đường khử, TPC và % DPPH của nha ngọt được thể hiện qua bảng 2.

này dường như ít phù hợp hơn cho sản xuất bia. Điều này có nghĩa là năng lực đường hóa cần thiết cho sự suy giảm đủ lượng tinh bột trong malt gạo có thể thấp hơn so với malt lúa mạch. Tuy nhiên, malt gạo có chứa các enzyme amylolytic khác có thể hoạt động hiệp đồng với α - và β -amylase (Mayer et al., 2014).

Bảng 2 cũng cho thấy, hàm lượng TPC và khả năng kháng oxy hóa (%DPPH) tăng sau quá trình dịch hóa (từ 105,79 lên 224,04 mgGAE/L và 7,05 lên 15,07%). Chất chống oxy hóa bia chủ yếu đến từ hai thành phần được sử dụng trong sản xuất bia: malt và hoa houblon (hop). Hoạt tính chống oxy hóa của chất chiết xuất thường được đánh giá bằng phương pháp dựa trên việc loại bỏ các gốc tự do (%DPPH). Khi nhận nhiệt, cấu trúc thành tế bào có sự thay đổi

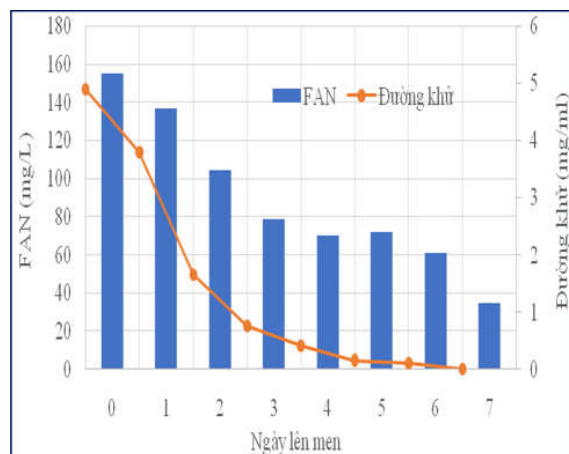
dẫn đến giải phóng các hợp chất phenolic nên có sự tăng về hàm lượng TPC, vì quá trình này diễn ra trong các điều kiện phù hợp với hoạt động của enzyme, nên có khả năng dẫn đến việc giải phóng phenolics bị ràng buộc. Hàm lượng phenolic và khả năng chống oxy hóa của lúa mạch nha rất quan trọng trong sản xuất bia (Zhou et al., 2020). Theo Szila (2019), khi tiến hành kích hoạt các enzyme ở 45°C và 52°C rất quan trọng trong việc giải phóng các chất chống oxy hóa từ malt. Với các kết quả đã công bố trước đây cho thấy, trong giai đoạn đầu của quá trình dịch hóa giúp làm tăng hàm lượng TPC. Theo Wannemacher et al., (2018), khi thời gian dịch hóa lâu hơn dẫn đến nồng độ axit ferulic cao hơn. Ngoài ra, sự giải phóng axit phenolic còn bị ảnh hưởng bởi kích thước hạt nghiền. Theo Samaras et al., (2005), các thành phần tự nhiên của lúa mạch có hoạt tính chống oxy hóa chủ yếu là polyphenol (catechin, axit phenolic, axit ferulic và coumaric). Theo lập luận này thì khả năng chống oxy hóa có tương quan với hàm lượng TPC trong dịch malt trong suốt quá trình nấu.

Sau công đoạn nấu sôi với hóa houblon, hàm lượng TPC của dịch nha sau nấu hoa houblon tăng lên 8,86% so với trước khi nấu (462,1 mgGAE/L và 501,8 mgGAE/L, tương ứng) và hoạt tính chống oxy hóa của dịch nha thông qua chỉ số %DPPD cũng tăng lên tương ứng (từ 15,07% lên 35,10%). Sự thay đổi này là do phản ứng trùng hợp, tương tác polyphenol - protein và kết tủa xảy ra. Trong quá trình đun sôi, polyphenol được chiết xuất từ hoa bia (Wannemacher et al., 2018). Diễn biến ở chiều ngược lại là sự suy giảm lượng đường khử và FAN trong dịch nha. Nguyên nhân của sự thay đổi các chỉ số này là các sản phẩm phản ứng Maillard được phát triển (giảm FAN và đường khử) và polyphenol của hoa bia được hòa tan trong dịch nha (tăng TPC) trong quá trình nấu hoa bia (Szila, 2019). Tuy nhiên, hàm lượng FAN trong dịch nha vẫn duy trì ở mức cao (154,64 mg/L) và đủ cho khả năng sinh trưởng của nấm men. Theo Lekkas et al. (2014), hàm lượng axit amin tự do tối thiểu để đạt được sự tăng trưởng và hiệu suất lên men đạt yêu cầu trong quá trình lên men bình thường (12,5°P) là 130 mg/l, nhưng để đẩy nhanh quá trình lên men dẫn đến sản xuất ethanol cao hơn, cần phải tăng lượng FAN khoảng 190 mg/l.

3.3. Sự thay đổi hàm lượng TPC và %DPPH của dịch malt trong suốt quá trình lên men

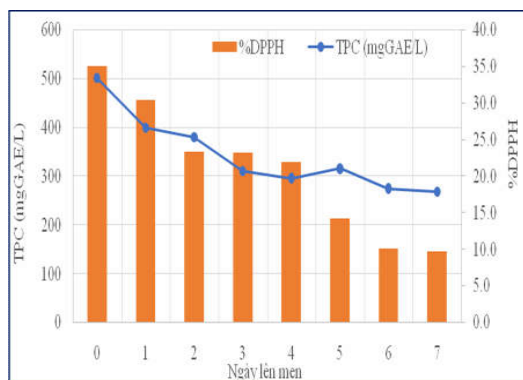
Dịch nha sau đun sôi là một môi trường tăng trưởng bao gồm các loại đường lên men (fructose,

sucrose, maltose và maltotriose), vật liệu nitơ (axit amin, peptide, protein), vitamin, ion, khoáng, nguyên tố vi lượng và các thành phần khác (Ferreira & Guido, 2018). Trong đó, các hợp chất phân tử thấp như axit amin và muối amoni là nguồn nitơ chính cho các quá trình trao đổi chất của nấm men bia. Nấm men cần trung bình 100-140 mg/L từ wort dưới dạng axit amin và peptide phân tử thấp hơn để xây dựng cấu trúc tế bào mới (Cvengrošchová et al., 2003).



Hình 1. Sự thay đổi hàm lượng FAN và đường khử trong quá trình lên men chính

Hình 1 cho thấy, có sự sụt giảm hàm lượng đường khử và acid amin trong suốt quá trình lên men chính. Trong quá trình tăng trưởng và lên men, nấm men sử dụng đường và hình thành các sản phẩm lên men thứ cấp, ảnh hưởng đến tính chất cảm quan của bia và hoạt động này phụ thuộc vào số lượng và thành phần chất lượng của các chất nitơ phân tử thấp trong dịch nha. Thông thường, dịch nha không chứa nhiều ion amoni và nấm men sẽ sử dụng các axit amin thay thế và chỉ có các axit amin và một số peptide rất nhỏ có thể được đưa vào tế bào nấm men. Do đó, sự giảm FAN trong quá trình lên men hầu hết là do sự hấp thu và chuyển hóa axit amin. Trong khi đó, hầu hết các peptide vẫn còn tồn tại trong bia (Cvengrošchová et al., 2003). Mặt khác, việc chuyển đổi đường thành rượu là chức năng chính của nấm men trong quá trình lên men và trực tiếp liên quan đến một số quá trình sinh học, bao gồm vận chuyển đường, dị hóa đường, lưu trữ carbon, sản xuất năng lượng và ethanol. Hình 1 cũng cho thấy ở ngày 1-2 của quá trình lên men hàm lượng đường khử giảm nhanh, đến ngày 4 của quá trình lên men hàm lượng đường khử còn lại trong dịch malt rất ít (0,15%) và độ cồn đạt trên 5%V (Hình 3).



Hình 2. Sự thay đổi hàm lượng TPC, %DPPH và màu sắc của dịch nha trong quá trình lên men chính

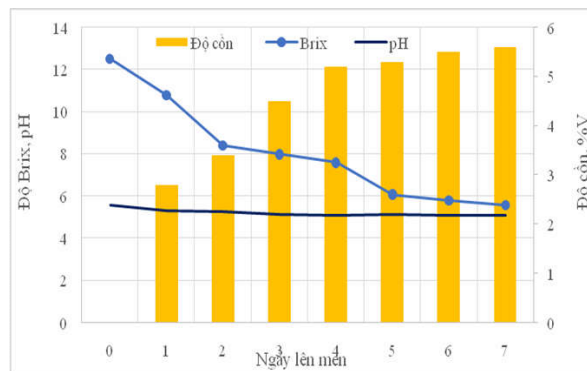
Hình 2 cho thấy, hàm lượng TPC thể hiện chiều hướng giảm dần theo thời gian. Nguyên nhân của biến đổi này là do sự tổn thất xanthohumol bởi sự hấp phụ vào trong trub lạnh (Stevens et al., 1999; Wannemacher et al., 2018). Cũng như hàm lượng TPC, hoạt tính oxy cũng có chiều hướng giảm dần trong quá trình lên men. Theo Fantozzi et al. (1998), sự giảm các hợp chất phenolic từ bia đến bia cuối cùng được tìm thấy đi kèm với giảm hoạt động chống oxy hóa, mặc dù một số tác giả báo cáo không có thay đổi đáng kể (Leitao et al., 2011). Lên men, và làm lạnh làm giảm các chất phenolic (Fantozzi et al., 1998; Fumi et al., 2011). Mặt khác, Coghe et al. (2004), đã tìm thấy axit ferulic tăng lên trong quá trình lên men, mà chúng được cho là do hoạt động feruloyl esterase có thể có trong nấm men (Coghe et al., 2004).

3.4. Sự thay đổi độ cồn, độ brix và pH của dịch nha trong suốt quá trình lên men

Quá trình lên men chính nhằm chuyển hóa đường trong dịch nha qua houblon thành ethanol, khí CO₂ cùng với các sản phẩm phụ từ quá trình trao đổi chất của nấm men. Trong quá trình lên men một lượng lớn cơ chất chủ yếu là đường và dextrin bậc thấp bị nấm men hấp thụ nên độ brix sẽ giảm dần trong suốt quá trình lên men.

Hình 3 cho thấy, độ cồn sinh ra tỉ lệ nghịch với sự sụt giảm độ brix và pH theo thời gian lên men. Độ cồn tăng lên nhanh từ 2,8%V ở ngày đầu và lên 4,5%V ở ngày 3 và khí CO₂ sinh ra khá nhiều. Từ ngày 4 trở đi, độ cồn ổn định dần, chỉ tăng nhẹ và lượng khí CO₂ sinh ra ít dần. Độ brix của dịch nha giảm dần theo thời gian lên men, ở ba ngày đầu độ brix giảm khá nhiều từ 12% xuống 7%. Theo Boulton và Quain

(2006), ở giai đoạn ban đầu của lên men ở nồng độ nitơ amin tự do bắt đầu giảm ngay khi quá trình lên men bắt đầu và điều này đi kèm với sự giảm pH. Tốc độ lên men, được đánh giá bằng sự suy giảm trọng lượng riêng của dịch nha, dần dần tăng tốc và đạt tối đa sau 24-36 giờ và điều này có liên quan nghịch đến sự gia tăng ethanol và sinh khối nấm men. Giai đoạn lên men tích cực tối đa đạt được sau khoảng 4 ngày và sau thời gian này thông số này đã giảm với tốc độ lên men giảm tốc. Theo lý thuyết, việc chuyển đổi đường thành ethanol xấp xỉ 88%, sự thiếu hụt đó là tỷ lệ được sử dụng bởi men để tạo thêm sinh khối và ở mức độ thấp hơn là sự hình thành các sản phẩm phụ trao đổi chất khác của sự phát triển của nấm men.



Hình 3. Sự thay đổi độ cồn, độ brix và pH của dịch nha trong quá trình lên men

Như vậy, có sự thay đổi nhiều đối với các thành phần dinh dưỡng quan trọng trong dịch bia trong suốt quá trình lên men chìm trong điều kiện nhiệt độ 15°C. Trong đó, hàm lượng TPC, FAN và đường khử đều thể hiện xu hướng giảm theo thời gian lên men. Bên cạnh đó, sự phát triển của nấm men trong quá trình cũng làm sụt giảm chỉ số pH của dịch bia.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này mở ra khả năng của việc sản xuất bia hoàn toàn từ malt lúa IR50404 là khả thi. Trong quá trình nấu bia, thời gian dịch hóa có tác động rõ rệt đến hàm lượng đường khử, axit amin, polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa (%DPPH). Khoảng thời gian dịch hóa tối đa ở nhiệt độ 52°C là 40 phút cho hoạt tính enzyme glucoamylase và 50 phút ở 70°C cho hoạt tính α -amylase. Thêm vào đó, việc sử dụng 5% malt lứt bổ sung vào nồi nấu sau khi tiến hành hồ hóa tinh bột trong quá trình dịch hóa làm tăng hàm lượng đường khử và axit amin phục vụ cho quá trình lên men. Dịch nha sau khi nấu sôi 60 phút với hoa houblon có sự sụt giảm về hàm lượng

axit amin, đường khử, TPC và %DPPH. Quá trình lên men chính (lên men chìm) bởi *Saccharomyces cerevisiae* ở nhiệt độ 15°C sau 4 ngày cho thấy dịch bia đạt độ cồn 5%V đồng thời ghi nhận sự sụt giảm về hàm lượng TPC, %DPPH và pH trong suốt quá trình lên men.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Dự án Nâng cấp Trường Đại học Cần Thơ VN14-P6 bằng nguồn vốn vay ODA từ Chính phủ Nhật Bản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agu, R. C., & Palmer, G. H. (1998). A reassessment of sorghum for lager-beer brewing. *Bioresource Technology*, 66(3), 253–261.
2. An, T. H. N., Hân, T. N., Hạnh, N. H., Duy, L. N. Đ., & Hà, N. C. (2016). Ảnh hưởng của các điều kiện ngâm và nảy mầm đến hoạt tính α -amylase của hai giống lúa IR50404 và Một Bụi Đỏ. *Cần Thơ University Journal of Science, Nông nghiệp* (Tập 1), 105.
3. Ayernor, G. S., & Ocloo, F. C. K. (2007). Physico-chemical changes and diastatic activity associated with germinating paddy rice (PSB.Rc 34). *African Journal of Food Science*, 1(3), 037–041.
4. Bamforth, C. W. (2006). Brewing: New technologies. In *Brewing: New Technologies*.
5. Boulton, C. Quain, D. (2006). *Brewing Yeast and Fermentation*.
6. Briggs, D. E., Brookes, P. a, Stevens, R., & Boulton, C. a. (2004). *Brewing: Science and Practice* (Google eBook). Retrieved from.
7. Ceccaroni, D., Marconi, O., Sileoni, V., Wray, E., & Perretti, G. (2019). Rice malting optimization for the production of top-fermented gluten-free beer. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(6), 2726–2734.
8. Ceppi, E. L. M., & Brenna, O. V. (2010). Experimental studies to obtain rice malt. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(13), 7701–7707. <https://doi.org/10.1021/jf904534q>
9. Di Ghionno, L., Sileoni, V., Marconi, O., De Francesco, G., & Perretti, G. (2017). Comparative study on quality attributes of gluten-free beer from malted and unmalted teff [*Eragrostis tef* (zucc.) trotter]. *LWT - Food Science and Technology*.
10. Ferreira, I. M., & Guido, L. F. (2018). Impact of wort amino acids on beer flavour: A review. *Fermentation*, 4(2), 1–13. <https://doi.org/10.3390/fermentation4020023>
11. Lekkas, C., Hill, A. E., & Stewart, G. G. (2014). Extraction of FAN from malting barley during malting and mashing. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 72(1), 6–11.
12. Mayer, H., Ceccaroni, D., Marconi, O., Sileoni, V., Perretti, G., & Fantozzi, P. (2016). Development of an all rice malt beer: A gluten free alternative. *LWT - Food Science and Technology*, 67(January 2016), 67–73.
13. Mayer, H., Marconi, O., Regnicoli, G. F., Perretti, G., & Fantozzi, P. (2014a). Production of a saccharifying rice malt for brewing using different rice varieties and malting parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(23), 5369–5377.
14. Mayer, H., Marconi, O., Regnicoli, G. F., Perretti, G., & Fantozzi, P. (2014b). Production of a saccharifying rice malt for brewing using different rice varieties and malting parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
15. Meo, B., Freeman, G., Marconi, O., Booer, C., Perretti, G., & Fantozzi, P. (2011). Behaviour of Malted Cereals and Pseudo-Cereals for Gluten-Free Beer Production. *Journal of the Institute of Brewing*.
16. Owuama, C. I. (1997). Review Sorghum: a cereal with lager beer brewing potential. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 13, 253–260.
17. Science, M. O. F. (2009). *Effects of Amino Acid Profile, Endoprotease Activities and Wort Quality on Fermentability under Different Malting and Brewing Conditions*.
18. Szila, K. (2019). *Study of antioxidant activity during the malting and brewing process*. 56(August), 3801–3809.
19. Technology, B. (2003). *Effect of mashing-in temperature on free amino nitrogen concentration and foam stability of beer*. 128–131.
20. Wannenmacher, J., Gastl, M., & Becker, T. (2018). *Phenolic Substances in Beer: Structural Diversity, Reactive Potential and Relevance for Brewing Process and Beer Quality*. 0, 1–36.
21. Zhou, B., Jin, Z., Schwarz, P., & Li, Y. (2020).

Impact of Genotype, Environment, and Malting Conditions on the Antioxidant Activity and Phenolic Content in US Malting Barley. *Fermentation*, 6(2), 48.

THE EFFECTS OF MASHING AND FERMENTATION ON THE REDUCING SUGARS, AMINO ACIDS AND POLYPHENOL CONTENT IN BEER FROM RICE MALT VARIETY IR50404

Nguyen Tan Hung, Phan Viet Thang, Nguyen Cong Ha

Summary

Changes of reducing sugars, free amino acids (FAN) and total polyphenol (TPC) content during mashing and fermentation of malt from rice cultivar IR50404 was performed. IR50404 rice were soaked for 24 hours with distilled water, germinated at $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ for 4 days to produce green malt. Then, the green malt was tempered at 50°C for 60 minutes, dried at 50°C for 24 hours. Mashing was performed on the basis of adjustment of optimal temperature for the enzyme glucoamylase and alpha amylase activity combination of the addition of 5% malt at the end of the mashing. The results showed that, after the mashing and boiled with houblon process, the content of reduced sugar, free amino acids and TPC increased by 1.61; 4.89 and 1.87 times, respectively. In particular, the FAN content in wort after boiling was suitable for fermentation (170.49 mg/L). The main fermentation (bottom fermentation) process was performed for the wort 12.5°Brix by *Saccharomyces cerevisiae* (1 g/L) at temperature of $14-15^{\circ}\text{C}$ to help the beer reach an alcohol content of about 5%V after 4-5 days. On the other hand, during main fermentation there was a corresponding decrease in reducing sugar content, FAN, TPC and pH value of beer. This study confirms the potential of making beer entirely from rice malt IR50404 possible.

Keywords: *Rice malts, mashing, IR50404, fermentation, polyphenol.*

Người phản biện: PGS.TS. Tôn Thất Minh

Ngày nhận bài: 13/10/2020

Ngày thông qua phản biện: 13/11/2020

Ngày duyệt đăng: 20/11/2020