

## Measurement of fermentation parameters and preservation conditions of *Phyllanthus acidus* (L.) SKEELS wine

Tam N. T. Huynh\*, Trang N. P. Nguyen, Thi T. M. Tran, Nguyen T. T. Nguyen, & Nhi T. Lam

Biotechnology Research & Development Institute, Can Tho University, Can Tho City, Vietnam

### ARTICLE INFO

#### Research Paper

Received: August 09, 2021

Revised: November 08, 2021

Accepted: November 26, 2021

#### Keywords

Acid ascorbic

Acid citric

Enzyme pectinase

*Phyllanthus acidus* (L.)

SKEELS wine

*Saccharomyces cerevisiae*

#### \*Corresponding author

Huynh Ngoc Thanh Tam

Email: hnttam@ctu.edu.vn

### ABSTRACT

The aim of this study was to determine conditions affecting wine fermentation process of *Phyllanthus acidus* (L.) SKEELS using *Saccharomyces cerevisiae* strain. Design Expert 7.0 was used to determine optimal factors including pH, Brix and yeast cell density. The results indicated that the highest alcohol content reached 8.88% v/v with pH 4.77, 24.79 Brix and  $8.08 \times 10^6$  cells/mL. Results also showed that ascorbic acid (0.3%) proved to be better than citric acid. This concentration of ascorbic acid not only maintained a durable and beautiful yellow but also increased the flavor characteristics of wine. The process can achieve high efficiency by using a pectinase enzyme concentration of 0.1 - 0.2%.

**Cited as:** Huynh, T. N. T., Nguyen, T. N. P., Tran, T. T. M., Nguyen, T. T. N., & Lam, N. T. (2022). Measurement of fermentation parameters and preservation conditions of *Phyllanthus acidus* (L.) SKEELS wine. *The Journal of Agriculture and Development* 21(1), 40-47.

## Nghiên cứu các thông số lên men và điều kiện bảo quản rượu vang chùm ruột (*Phyllanthus acidus* (L.) SKEELS)

Huỳnh Ngọc Thanh Tâm\*, Nguyễn Ngọc Phương Trang, Trần Thị Mai Thi, Nguyễn Thanh Thảo Nguyễn & Lâm Thảo Nhi

Viện Nghiên Cứu & Phát Triển Công Nghệ Sinh Học, Trường Đại Học Cần Thơ, TP. Cần Thơ

### THÔNG TIN BÀI BÁO

#### Bài báo khoa học

Ngày nhận: 09/08/2021

Ngày chỉnh sửa: 08/11/2021

Ngày chấp nhận: 26/11/2021

#### Từ khóa

Acid ascorbic

Acid citric

Enzyme pectinase

*Saccharomyces cerevisiae*

Rượu vang chùm ruột

#### \*Tác giả liên hệ

Huỳnh Ngọc Thanh Tâm

Email: hnttam@ctu.edu.vn

### TÓM TẮT

Nghiên cứu xác định các điều kiện ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang chùm ruột (*Phyllanthus acidus* (L.) SKEELS) sử dụng dòng nấm men *Saccharomyces cerevisiae*. Sử dụng phần mềm Design Expert 7.0 để xác định các thông số tối ưu bao gồm pH, nồng độ chất khô hòa tan và mật số nấm men ban đầu. Kết quả cho thấy với pH 4,77; 24,79 Brix và mật số nấm men ban đầu là  $8,08 \times 10^6$  tế bào/mL sẽ cho độ cồn cao nhất đạt 8,88% v/v. Kết quả nghiên cứu cho thấy trong hai chất là acid citric và acid ascorbic sử dụng với mục đích bảo vệ màu sắc rượu vang chùm ruột thì acid ascorbic (0,3%) tỏ ra ưu thế hơn cả. Nồng độ này acid ascorbic không chỉ duy trì được màu vàng bền và đẹp trong thời gian dài mà còn tăng mùi vị đặc trưng cho rượu vang. Quá trình làm trong có thể đạt được hiệu quả cao với nồng độ enzyme pectinase sử dụng 0,1 - 0,2%.

## 1. Đặt Vấn Đề

Chùm ruột (*Phyllanthus acidus* (L.) SKEELS) thuộc họ Phyllanthaceae (Diệp hạ châu) là loại cây nhiệt đới và cận nhiệt đới có nguồn gốc từ Madagascar (đảo quốc ở Ấn Độ Dương) (Morton & ctv., 1987). Hầu hết các bộ phận của cây bao gồm lá, trái, thân cây đều có những hợp chất quý và góp phần trong việc điều trị bệnh cũng như cải thiện sức khỏe con người. Trái chùm ruột có vị chua, tính mát có chứa nhiều thành phần dinh dưỡng như chất xơ, kali, sắt, vitamin C (Mirunalini & Krishnaveni, 2010).

Ở Việt Nam, cây chùm ruột trồng phổ biến ở miền Nam, cho trái vào tháng Giêng và có thể cho những đợt trái khác (ít rõ hơn) trong năm. Tuy nhiên giá trị kinh tế của trái chùm ruột không cao và các sản phẩm từ trái chùm ruột còn khá ít nên dẫn đến việc lãng phí nguồn nguyên liệu giàu dinh dưỡng này. Và với thị hiếu tiêu dùng

ngày càng cao, sản xuất rượu vang cũng là hoạt động thỏa mãn nhu cầu sử dụng của xã hội. Mùi và vị của rượu vang chùm ruột khá đặc trưng tuy nhiên rượu thường có trạng thái mờ đục sau lên men, màu sắc tự nhiên của rượu vẫn còn bị biến đổi và chất lượng rượu chưa đạt hiệu quả tốt nhất. Vì vậy, nghiên cứu này để tìm ra những điều kiện ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang chùm ruột và nâng cao chất lượng rượu vang thông qua việc chọn lựa các biện pháp và tác nhân làm trong, ổn định màu sắc sản phẩm trong thời gian dài.

## 2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

### 2.1. Vật liệu

Mẫu trái chùm ruột được thu hái tại các địa điểm ở Cần Thơ. Sau đó, được đóng gói, bảo quản trong từng bao PE (polyetylen) riêng biệt đem trữ lạnh trong các thùng, hộp chứa mẫu, tránh

ánh sáng mặt trời trực tiếp, vận chuyển ngay đến phòng thí nghiệm để giảm thiểu tối đa sự thay đổi tính chất, trạng thái ban đầu.

Nguồn giống nấm men: sử dụng dòng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* 2.1 được lưu giữ ở 4°C tại Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Sự ảnh hưởng của nồng độ chất khô hòa tan, pH và mật độ nấm men đến quá trình lên men rượu vang chùng ruột

Nghiên cứu nhằm mục tiêu xác định sự ảnh hưởng của các nhân tố nồng độ chất khô hòa tan, pH và mật độ nấm men (MĐNM) của dịch quả ban đầu đến quá trình lên men rượu vang chùng ruột. Từ đó chọn ra giá trị tối ưu của từng thông số để quá trình lên men đạt hiệu quả và chất lượng cao. Thí nghiệm được bố trí gồm 3 nhân tố theo thể thức Box-Behnken của phần mềm Design Expert 7.0. Nhân tố của thí nghiệm gồm có: nồng độ chất khô hòa tan (min 20, max 30), pH (min 4,5, max 5,5) và mật độ nấm men (tế bào/mL) (min  $10^3$ , max  $10^7$ ). Bố trí thí nghiệm với các thông số được mô tả ở Bảng 1.

**Bảng 1.** Bố trí thí nghiệm theo thể thức Box-Behnken của phần mềm Design Expert 7.0

Số thí nghiệm	Brix (%)	pH	Mật độ nấm men (Tb/mL)
1	20	4,5	$10^3$
2	20	5,5	$10^3$
3	20	4,5	$10^7$
4	20	5,5	$10^7$
5	20	5	$5 \times 10^6$
6	25	4,5	$5 \times 10^6$
7	25	5,5	$5 \times 10^6$
8	25	5	$10^3$
9	25	5	$10^7$
10	25	5	$5 \times 10^6$
11	30	4,5	$10^3$
12	30	5,5	$10^3$
13	30	4,5	$10^7$
14	30	5,5	$10^7$
15	30	5	$5 \times 10^6$

Chuẩn bị dịch nấm men: nấm men sẽ được cấy chuyển sang đĩa Petri có chứa môi trường YPDA. Sau 48 giờ chuyển sang nuôi tăng sinh trong môi trường YPD và đặt trên máy lắc ở nhiệt độ phòng. Sau 24 giờ kiểm tra mật độ tế

bào nấm men bằng phương pháp đếm trực tiếp bằng buồng đếm hồng cầu để có mật độ nấm men là  $10^3$  tế bào/mL,  $5 \times 10^6$  tế bào/mL,  $10^7$  tế bào/mL. Trái chùng ruột được ép để lấy nước và thanh trùng bằng  $\text{NaHSO}_3$  (140 mg/L) trong 2 giờ để tiêu diệt vi sinh vật được vi sinh vật tạp nhiễm. Trước khi lên men cần tiến hành thanh trùng bằng  $\text{NaHSO}_3$  nhằm mục đích tiêu diệt vi sinh vật có hại, nấm mốc, nấm men dại, chống oxy hoá nước quả. Bổ sung  $\text{NaHSO}_3$ , khuấy đều và để yên trong 2 giờ để  $\text{NaHSO}_3$  bay hơi đi hết. Tiếp theo là điều chỉnh các thông số về độ Brix (20, 25, 30) bằng cách bổ sung đường saccharose, pH (4,5; 5,0; 5,5) của mỗi dịch phối chế. Sau đó, cho 1 mL dịch nấm men ở các mật số khác nhau vào 99 mL mỗi dịch phối chế đã chuẩn bị sẵn trong bình tam giác, lắc đều bình tam giác để tế bào nấm men phân bố đều trong dịch trái chùng ruột và ủ ở nhiệt độ phòng. Sau thời gian 14 ngày, tiến hành chưng cất để thu cồn, độ cồn thu hồi được xác định bằng cồn kế. Các chỉ tiêu theo dõi và đánh giá bao gồm pH, nồng độ chất khô hòa tan, và nồng độ ethanol.

### 2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng curcua acid citric và acid ascorbic đến khả năng bảo vệ màu sắc của rượu vang chùng ruột sau lên men

Nghiên cứu nhằm mục tiêu xác định sự ảnh hưởng của acid citric và acid ascorbic ở các nồng độ và thời gian xử lý khác nhau đến sự thay đổi màu sắc của rượu vang chùng ruột. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên:

- Acid citric: gồm có 4 mức độ (0; 0,1; 0,2; 0,3%) với 3 lần lặp lại
- Acid ascorbic: gồm có 4 mức độ (0; 0,1; 0,2; 0,3%) với 3 lần lặp lại

Chỉ tiêu theo dõi: Màu sắc sản phẩm (đo độ hấp thụ A ở bước sóng 450 nm) và đánh giá cảm quan sản phẩm.

### 2.2.3. Khảo sát ảnh hưởng của enzyme pectinase đến khả năng làm trong rượu vang chùng ruột

Nghiên cứu nhằm mục tiêu xác định sự ảnh hưởng của nồng độ của enzyme pectinase thích hợp nhất cho quá trình làm trong rượu vang chùng ruột. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 1 yếu tố gồm 6 mức độ là 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5% với 3 lần lặp lại. Sau khi lọc thu được rượu thành phẩm sẽ cho vào mỗi bình chứa 100 mL rượu. Sau đó, tiến hành bổ sung enzyme pectinase. Chỉ tiêu theo dõi: Độ trong sản phẩm (đo

độ truyền quang T ở bước sóng 450 nm) tại các thời điểm 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ngày và đánh giá cảm quan sản phẩm.

### 2.3. Các phương pháp phân tích

Các chỉ tiêu phân tích: xác định pH bằng pH kế (Schott, Đức), xác định nồng độ chất khô hòa tan bằng khúc xạ kế.

Xác định hàm lượng ethanol sinh ra qua hệ thống chưng cất và hiệu chỉnh về 20°C (Nguyen & Nguyen, 2007).

### 2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được thu thập, xử lý và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft excel 2013. Số liệu thu thập được xử lý thống kê bằng phần mềm IBM SPSS Statistics 20.

## 3. Kết Quả và Thảo Luận

### 3.1. Sự ảnh hưởng của nồng độ chất khô hòa tan, pH và mật độ nấm men đến quá trình lên men rượu vang chùm ruột

Kết quả khảo sát các nhân tố nồng độ chất khô hòa tan, pH và mật độ nấm men ban đầu đến quá trình lên men rượu vang chùm ruột được thể hiện ở Bảng 2.

Kết quả cho thấy nghiệm thức 9 và 10 cho hàm lượng ethanol cao nhất với độ cồn trung bình ở 20°C lần lượt là 8,08% v/v, 8,75% v/v khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê với nghiệm thức 6 có độ cồn trung bình ở 20°C là 7,86% v/v nhưng khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% so với các nghiệm thức còn lại. Để xác định điều kiện lên men tối ưu từ các thông số pH, nồng độ chất khô hòa tan và mật độ nấm men, độ cồn sau lên men được phân tích bằng chương trình Design Expert 7.0 với độ tin cậy 95%, thu được phương trình hồi quy như sau:

$$\begin{aligned} \text{Ethanol} = & -206,29 + 5,90 \cdot \text{Brix} + 59,40 \cdot \text{pH} \\ & - 1,09259E - 006 \cdot \text{MSNM} - 0,10 \cdot \text{Brix} \cdot \text{pH} + \\ & 1,33180E - 008 \cdot \text{Brix} \cdot \text{MSNM} + 2,78861E - \\ & 007 \cdot \text{pH} \cdot \text{MSNM} - 0,11 \cdot \text{Brix}^2 - 6,08 \cdot \text{pH}^2 + \\ & 0,00 \cdot \text{MSNM}^2 \quad (1) \end{aligned}$$

Tuy nhiên, việc lựa chọn điều kiện lên men phù hợp với dòng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* sao cho độ cồn thu hồi đạt giá trị cao nhất cần căn

cứ vào 30 nghiệm thức tối ưu mà phần mềm Design Expert 7.0 đưa ra kết hợp với phương trình (1). Lựa chọn ra 3 nghiệm thức cho nồng độ cồn cao nhất trong 30 nghiệm thức, tiến hành lên men thực tế để so sánh với độ cồn lý thuyết mà phần mềm đưa ra (Bảng 3).

Bảng 3 cho thấy độ cồn thực tế thu được tương đương với độ cồn theo thuật toán đưa ra từ phần mềm Design Expert 7.0. Điều này chứng tỏ sự tính toán mô hình và thực nghiệm tương đối thống nhất với độ tin cậy là 95%. Độ cồn thực tế của nghiệm thức 1 đạt cao nhất là 8,88% v/v khác biệt không có ý nghĩa với nghiệm thức 2 có độ cồn là 8,63% v/v nhưng khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức 3. Tuy nhiên, nghiệm thức 1 với pH = 4,77, nồng độ chất khô hòa tan = 24,79 và mật độ nấm men =  $8,08 \times 10^6$  được lựa chọn là nghiệm thức tối ưu vì cho độ cồn thực tế cao nhất và đạt giá trị pH sau lên men thấp có thể giúp kéo dài thời gian bảo quản sản phẩm.

Theo Jackisch (1985), khả năng cho hàm lượng rượu khác nhau từ quá trình lên men có thể thay đổi theo nguồn nguyên liệu lên men, dòng nấm men và môi trường lên men. Với điều kiện tối ưu cho lên men rượu vang chùm ruột với pH = 4,77 và nồng độ chất khô hòa tan = 24,79 đều cao hơn khi so sánh với các nghiên cứu của Huynh & ctv. (2020) trên dịch trái trám (pH 4,22; nồng độ chất khô hòa tan = 24,6) hay trên rượu vang chùm ruột sử dụng bánh men khô *Saccharomyces cerevisiae* của Phạm & ctv. (2017) (pH 3,4; nồng độ chất khô hòa tan = 20).

### 3.2. Ảnh hưởng của acid citric và acid ascorbic đến khả năng bảo vệ màu sắc rượu vang chùm ruột

#### 3.2.1. Acid citric

Acid citric được sử dụng ở các nồng độ khác nhau có ảnh hưởng đến sự thay đổi màu sắc của sản phẩm được thể hiện ở Hình 1. Kết quả cho thấy khi sử dụng acid citric trong quá trình bảo quản sản phẩm, độ hấp thụ có xu hướng cao hơn so với mẫu đối chứng và có sự khác biệt màu sắc. Ở thời điểm từ 3 đến 21 ngày, màu vàng ban đầu của rượu chùm ruột gần như mất hoàn toàn và có xu hướng chuyển sang màu nâu đỏ. Sau 28 ngày thì màu nâu đỏ giảm dần đi nhưng không trở lại hoàn toàn màu sắc ban đầu của rượu.

Theo Bonnie & Choo (1999), hiện tượng tự oxy hóa của carotenoid tuân theo con đường sinh ra

**Bảng 2.** Giá trị pH, độ Brix và độ cồn trung bình sau lên men

Nghiệm thức	Nồng độ chất khô hòa tan - pH - MDNM	Nồng độ chất khô hòa tan sau	pH sau	Nồng độ Ethanol (% v/v)
1	20 - 4,5 - 10 <sup>3</sup>	7,83 <sup>ab</sup>	4,40	3,96 <sup>de</sup>
2	20 - 5,5 - 10 <sup>3</sup>	16,17 <sup>g</sup>	5,36	0,53 <sup>f</sup>
3	20 - 4,5 - 10 <sup>7</sup>	9,17 <sup>bcd</sup>	4,45	3,97 <sup>de</sup>
4	20 - 5,5 - 10 <sup>7</sup>	8,83 <sup>abc</sup>	5,12	3,32 <sup>e</sup>
5	20 - 5,0 - 5 × 10 <sup>6</sup>	7,67 <sup>a</sup>	4,59	4,96 <sup>bcd</sup>
6	25 - 4,5 - 5 × 10 <sup>6</sup>	10,67 <sup>e</sup>	4,38	7,86 <sup>a</sup>
7	25 - 5,5 - 5 × 10 <sup>6</sup>	14,83 <sup>g</sup>	5,33	5,40 <sup>bc</sup>
8	25 - 5,0 - 10 <sup>3</sup>	13,33 <sup>f</sup>	4,72	6,07 <sup>b</sup>
9	25 - 5,0 - 10 <sup>7</sup>	9,83 <sup>cde</sup>	4,65	8,09 <sup>a</sup>
10	25 - 5,0 - 5 × 10 <sup>6</sup>	10,33 <sup>de</sup>	4,54	8,86 <sup>a</sup>
11	30 - 4,5 - 10 <sup>3</sup>	18,67 <sup>h</sup>	4,24	4,65 <sup>cd</sup>
12	30 - 5,5 - 10 <sup>3</sup>	27,33 <sup>i</sup>	5,38	0,23 <sup>f</sup>
13	30 - 4,5 - 10 <sup>7</sup>	19,17 <sup>h</sup>	4,31	5,98 <sup>b</sup>
14	30 - 5,5 - 10 <sup>7</sup>	19,17 <sup>h</sup>	5,29	4,32 <sup>cde</sup>
15	30 - 5,0 - 5 × 10 <sup>6</sup>	18,17 <sup>h</sup>	4,50	5,97 <sup>b</sup>

Số liệu là trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột các số có mang số mũ giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê ở mức 5% ( $P < 0,05$ )  
MDNM: mật độ nấm men.

**Bảng 3.** So sánh độ cồn thực tế và độ cồn lý thuyết từ phần mềm Design Expert 7.0

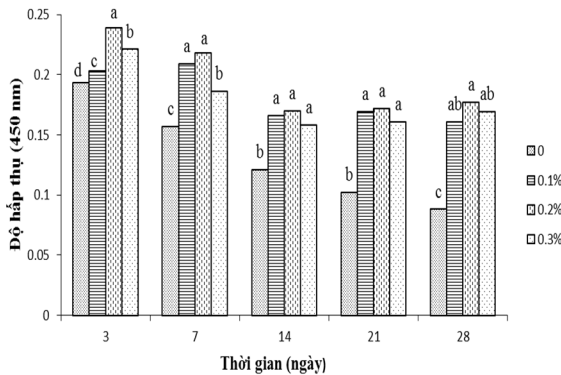
Nghiệm thức	pH - Nồng độ chất khô hòa tan - MDNM	pH	Nồng độ chất khô hòa tan	Độ cồn thực tế (% v/v)	Độ cồn lý thuyết (% v/v)
1	4,77 - 24,79 - 8,08 × 10 <sup>6</sup>	3,97	10,33 <sup>a</sup>	8,88 <sup>a</sup>	8,88
2	4,90 - 26,53 - 5,68 × 10 <sup>6</sup>	4,06	11,17 <sup>a</sup>	8,63 <sup>a</sup>	8,75
3	4,91 - 26,03 - 4,57 × 10 <sup>6</sup>	4,09	13,33 <sup>b</sup>	8,40 <sup>b</sup>	8,60

Số liệu là trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột các số có mang số mũ giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê ở mức 5% ( $P < 0,05$ )  
MDNM: mật độ nấm men.

**Bảng 4.** Bảng đánh giá cảm quan rượu vang chùm ruột

Chỉ tiêu	Kết quả đánh giá cảm quan rượu vang chùm ruột		Yêu cầu rượu vang (TCVN 3217-79)
	Điểm trung bình	Nhận xét chung	
Độ trong và màu sắc	4,8	Chất lỏng trong, không vẩn đục. Màu đặc trưng cho sản phẩm	Chất lỏng trong suốt, không vẩn đục và vật thể lạ. Màu hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm
Mùi	4,5	Hòa hợp thơm dịu đặc trưng cho sản phẩm	Hòa hợp, thơm dịu, hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm
Vị	4,2	Hòa hợp, hậu ngọt vừa phải, không có vị lạ, hoàn toàn đặc trưng	Hòa hợp, êm dịu, hậu tốt, hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm
Yêu thích đối với mẫu thử	4,5	Thích vừa phải	Rất thích

gốc tự do. Carotenoid dễ bị oxy hóa do các nối đôi trong phân tử nhạy cảm với tia cực tím. Sự oxy hóa làm mất màu carotenoid là quan trọng trong thực phẩm. Các lý thuyết về gốc tự do cho thấy quá trình sinh ra các sản phẩm của sự oxy hóa  $\beta$ -carotene cũng tương tự như quá trình sinh ra các sản phẩm của sự oxy hóa chất béo (Émanuel' & ctv., 1967). Sau khi xảy ra phản ứng tự oxy hóa carotenoid bị suy thoái và tạo ra một số chuỗi ngắn hơn. Chính các chuỗi này ảnh hưởng đến mùi vị và làm sậm màu sản phẩm. Bên cạnh đó, phản ứng oxy hóa nâu trong rượu vang còn do phản ứng ngưng tụ của các hợp chất phenol, o-diphenol. Khi có mặt của oxy thì các phenol bị oxy hóa thành o-quinone. Các o-quinone không bền có thể trải qua nhiều phản ứng và dẫn đến hình thành sắc tố màu nâu (Robards & ctv., 1999). Ngoài ra, o-diphenol dễ bị oxy hóa bởi phi-enzyme dưới tác dụng của ánh sáng hình thành màu nâu (Lopez-Toledano & ctv., 2002).

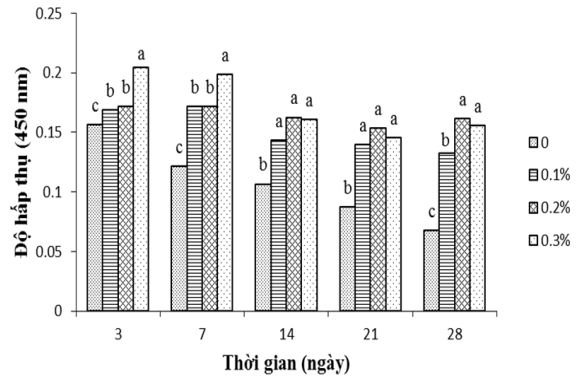


**Hình 1.** Ảnh hưởng của acid citric đến sự thay đổi độ hấp thụ theo thời gian.

**3.2.2. Acid ascorbic**

Ảnh hưởng của acid ascorbic ở các nồng độ sử dụng khác nhau đến sự thay đổi màu sắc của sản phẩm được thể hiện ở Hình 2.

Kết quả cho thấy khi sử dụng acid ascorbic trong quá trình bảo quản sản phẩm, độ hấp thụ có xu hướng cao hơn so với mẫu đối chứng. Màu vàng tự nhiên của rượu chùm ruột không bị biến đổi theo thời gian bảo quản. Sau 28 ngày, màu của sản phẩm rượu dần chuyển sang màu vàng sáng, có thể quan sát thấy rõ từ những mẫu theo dõi. Nồng độ ascorbic sử dụng 0,3% là tốt nhất, tạo cho sản phẩm có vị chua thanh và màu sắc chuyển sang màu vàng sáng và độ trong nhất định.



**Hình 2.** Ảnh hưởng của acid ascorbic đến sự thay đổi độ hấp thụ theo thời gian.

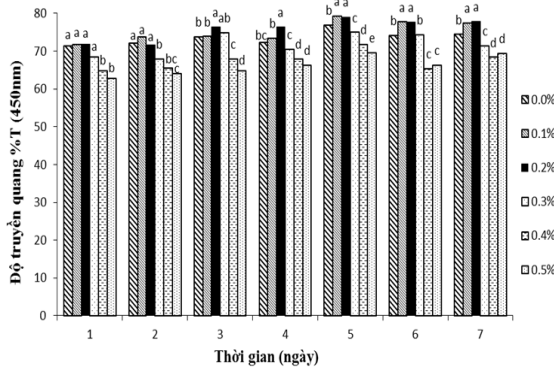
Hoạt động của acid ascorbic là hỗ trợ chống oxy hóa. Chất hỗ trợ chống oxy há tạo môi trường acid ổn định, loại bỏ hoạt tính của các ion kim loại phức hồi chất chống oxy hóa. Sản phẩm rượu chùm ruột có màu vàng sáng đẹp chính là do các carotenoid nhận H+ từ acid và làm giảm số liên kết đôi trong phân tử. Acid nhường H+ cho carotenoid nhằm mục đích không tạo ra phản ứng khởi động quá trình tự oxy hóa carotenoid. Với nồng độ 0,3% sử dụng trong bảo quản màu rượu vang chùm ruột cao hơn so với nghiên cứu của Nguyen & ctv. (2011) với nồng độ 0,0025% bảo vệ màu rượu vang khóm, cho thấy nồng độ thay đổi tùy thuộc vào nguồn nguyên liệu lên men.

Khi so sánh khả năng bảo vệ màu sắc của hai tác chất ở các mức nồng độ như nhau, kết quả cho thấy rằng acid ascorbic chiếm ưu thế hơn so với acid citric. Màu vàng tự nhiên của rượu vang chùm ruột có bổ sung acid ascorbic được giữ nguyên và chuyển sang màu vàng sáng hơn sau 28 ngày. Mặc dù acid citric làm giảm màu nâu đỏ ở rượu vang so với mẫu đối chứng nhưng vẫn không giữ được màu sắc ban đầu và mùi vị đặc trưng của rượu.

**3.3. Ảnh hưởng của enzyme pectinase đến khả năng làm trong sản phẩm rượu vang chùm ruột**

Trong rượu vang pectin chiếm lượng đáng kể thường gây độ nhớt cao và gây đục, nguyên nhân thứ hai gây đục rượu vang nữa là lượng protein có trong rượu. Do đó enzyme pectinase sẽ thủy phân pectin và protein làm chuyển hóa các chất này, ngăn chặn được hiện tượng đục trong rượu vang. Sự khác biệt về độ trong của rượu khi được thủy phân ở các nồng độ enzyme (0 - 0,5%) theo

thời gian được cho ở (Hình 3).



**Hình 3.** Ảnh hưởng của enzyme pectinase đến khả năng làm trong sản phẩm rượu vang chùng ruột.

Kết quả cho thấy, khi sử dụng enzyme pectinase để làm trong rượu thì tổng thời gian làm rượu trong hoàn toàn chỉ mất một tuần, trong khi sử dụng các tác nhân khác để làm trong như gelatin, agar, chitisan, lòng trắng trứng,... thì thời gian làm trong có thể kéo dài đến vài tháng (ít nhất là 6 tháng) để hoàn thiện sản phẩm.

Các nồng độ enzyme pectinase được sử dụng đều cho thấy hiệu quả làm trong của enzyme này cao hơn so với mẫu đối chứng. Tuy nhiên, sau 4 ngày xử lý thì các nồng độ có sự tăng giảm nhiều, độ trong của rượu vang không được thể hiện rõ. Đến ngày thứ 5 thì độ trong quan sát được rõ, độ truyền quang của sản phẩm khi đo cũng cho giá trị tăng và có sự khác biệt ý nghĩa so với mẫu đối chứng. Đối với các nồng độ enzyme sử dụng ở nồng độ 0,1% và 0,2% có sự khác biệt không nhiều, cho độ truyền quang cao lần lượt 79,25% và 79,06% ở ngày 5, trong khi nồng độ enzyme sử dụng ở 0,4 - 0,5% cho độ truyền quang thấp hơn.

Điều này có thể do phản ứng của enzyme trong điều kiện cố định nhiệt độ và pH, hiệu suất làm trong chỉ đạt hiệu quả khi nồng độ giữa enzyme và nồng độ cơ chất đạt tỉ lệ thích hợp. Khi đạt được tỉ lệ này, nồng độ enzyme tăng thì khả năng làm trong cũng không tăng lên. Sau 5 đến 7 ngày thì khả năng làm trong của enzyme đã thể hiện rất rõ. Độ truyền quang (T) ít phụ thuộc vào nồng độ enzyme sử dụng nhưng phụ thuộc vào thời gian thủy phân ở nhiệt độ thích hợp (40 – 45°C) (Le & ctv., 2004). Vì vậy, với thời gian thủy phân là 5 - 7 ngày thì độ truyền quang của rượu chùng ruột dần ổn định. Nồng độ enzyme 0,1 -

0,2% đã có hiệu quả trong quá trình làm trong rượu vang chùng ruột. Kết quả trên gần như phù hợp với nghiên cứu của Nguyen (2010) với nồng độ enzyme là 0,2 - 0,3% đối với rượu vang sim và nồng độ 0,2% cho rượu vang xương rồng rai (Dinh, 2014).



**Hình 4.** Sản phẩm rượu vang chùng ruột.

### 3.4. Đánh giá cảm quan rượu vang chùng ruột

Tiến hành đánh giá cảm quan rượu vang chùng ruột theo tiêu chuẩn TCVN 3217-79 với 10 cảm quan viên. Kết quả đánh giá cảm quan được trình bày ở Bảng 4.

## 4. Kết Luận

Với các điều kiện lên men tối ưu là pH 4,77, nồng độ chất khô hòa tan 24,79 và mật độ nấm men  $8,08 \times 10^6$  tế bào/mL, dịch lên men trái chùng ruột sẽ đạt độ cồn cao nhất 8,88% v/v sau 14 ngày lên men. Trong hai chất được sử dụng cho quá trình duy trì màu vàng bền đẹp của sản phẩm rượu vang chùng ruột acid ascorbic ở nồng độ 0,3% tỏ ra ưu thế hơn trong 28 ngày theo dõi. Sản phẩm rượu vang thu được có màu vàng nâu sáng, có độ trong và vị chất thanh đặc trưng. Enzyme pectinase có thể được xem là tác nhân sinh học có hiệu quả trong quá trình làm trong rượu vang chùng ruột với hàm lượng sử dụng rất thấp (0,1 - 0,2%). Với hàm lượng enzyme thấp nhưng giúp cho rượu vang chùng ruột có độ trong tốt, ít bị lắng trong thời gian tồn trữ, giữ được mùi vị đặc trưng của sản phẩm.

## Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa

các tác giả.

### Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Bonnie, T. Y. P., & Choo, Y. M. (1999). Oxidation and thermal degradation of carotenoids. *Journal of Oil Palm Research* 11(1), 62-78.
- Dinh, D. H. (2014). Research production the wine from the fermentation the fruits of cactus thorn in Binh Thuan province. *Journal of Science, Technology and Food* 4, 68-77.
- Emanuel, N. M., Denisov, E. T., & Mazius, Z. K. (1967). *Liquid-phase oxidation of hydrocarbons*. New York, USA: Plenum Press. <https://doi.org/10.1002/anie.196900971>.
- Huynh, T. N. T., Dao, T. T., Nguyen, T. T. M., Van, H. T. H., Duong, T. T. M., & Nguyen, D. D. (2020). Determination of fermentation conditions and antioxidant activity of *Syzygium cumini* L. fermented juice. *Can Tho University Journal of Science* 56, 72-79. <https://doi.org/10.22144/ctu.jsci.2020.114>.
- Le, T. N., Le, C. V., Dang, T. T., Nguyen, T. T., Bui, L. D., & Le, D. D. (2004). *Industrial biochemistry*. Ha Noi, Vietnam: Ha Noi Scientific and Technical Publishing.
- Lopez-Toledano, A., Mayen, M., Merida, J., & Medina, M. (2002). Yeast-induced inhibition of (+)-catechin and (-)-epicatechin degradation in model solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(6), 1631-1635. <https://doi.org/10.1021/jf0109930>.
- Mirunalini, S., & Krishnaveni, M. (2010). Therapeutic potential of *Phyllanthus emblica* (amla): the ayurvedic wonder. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 21(1), 93-105. <https://doi.org/10.1515/JBCPP.2010.21.1.93>.
- Morton, J., Morton, J. F., & Miami, F. L. (1987). Otaheite gooseberry. In Morton, J. F., & Dowling, C. F. (Eds.). *Julia fruits of warm climates* (1<sup>st</sup> ed., 217-219). North Carolina, USA: Creative Resources Systems.
- Nguyen, T. D., & Nguyen, H. T. (2007). *Ethyl alcohol production and testing technology*. Ha Noi, Vietnam: Ha Noi Scientific and Technical Publishing.
- Nguyen, T. M. (2010). Stability and improvement of wine "sim" quality through chemical and biological method. *Can Tho University Journal of Science* 14, 195-204.
- Nguyen, T. M., Nguyen, C. P., Nguyen, T. T. M., & Nguyen, P. H. (2011). Clarification and stabilization of pineapple wine. *Can Tho University Journal of Science* 18b, 73-82.
- Pham, H. T. C., Nguyen, H. P. K., Nguyen, T. B., & Nguyen, N. T. T. (2017). *The effect of several conditions on the wine fermentation from star gooseberry (Phyllanthus acidus)* (Unpublished master's thesis). Ho Chi Minh City University of Food Industry, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., & Glover, W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry* 66(4), 401-436. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00093-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00093-X).