

STUDY ON THE POST-FERMENTATION IMPROVEMENT OF GAUVA CIDER QUALITY

Doan Thi Kieu Tien, Duong Hoa Thuan, Huynh Thi Ngoc Mi*

Can Tho University of Technology

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 13/01/2024	Currently, studies on the production of fermented drinking water from various fruits are becoming popular, however, most fermented fruit drinks have a certain turbidity. This study aimed to enhance the quality of guava cider after the fermentation process, clarifying and stabilizing it to achieve higher standards in cider production. An investigation was conducted to evaluate the clarifying effects of pectinase enzyme at varying concentrations (0.02%, 0.04%, 0.06%, and 0.08%) and bentonite at different levels (1.5%, 3%, 3.5%, and 4.5%) for 6 days. In addition, varying proportions of Na ₂ CO ₃ (0.02%, 0.04%, 0.06%, and 0.08%) were added to fermented guava juice, followed by a sensory assessment. The changes in products including unpasteurized (as control), Na ₂ CO ₃ -supplemented, and pasteurized products were monitored under room temperature storage conditions over 4 weeks. The study showed that a pectinase concentration of 0.04% and Na ₂ CO ₃ at a rate of 0.04% contributed to the optimal organoleptic value in fermented guava juice. Throughout the four-week storage period, the Na ₂ CO ₃ -supplemented products consistently met the microbiological criteria outlined in 6-3:2010/BYT standards for quality.
Revised: 17/11/2024	
Published: 18/11/2024	
KEYWORDS	
Bentonite	
Carbonation	
Clarification	
Guava	
Pectinase	

NGHIÊN CỨU NÂNG CAO CHẤT LƯỢNG NƯỚC ỔI SAU QUÁ TRÌNH LÊN MEN

Đoàn Thị Kiều Tiên, Dương Hoà Thuận, Huỳnh Thị Ngọc Mi*

Trường Đại học Kỹ thuật - Công nghệ Cần Thơ

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 13/01/2024	Hiện nay, các nghiên cứu về sản xuất nước uống lên men từ nhiều loại trái cây đang trở nên phổ biến, tuy nhiên hầu hết đồ uống lên men từ trái cây đều có độ đục nhất định. Nghiên cứu phương pháp làm trong và ổn định sản phẩm nước uống lên men từ trái ổi được thực hiện nhằm xác định các điều kiện tối ưu nhất cho quy trình sản xuất nước uống lên men từ trái ổi, nâng cao chất lượng sản phẩm. Khảo sát tác dụng làm trong của enzyme pectinase ở tỷ lệ lần lượt là 0,02%; 0,04%; 0,06%; 0,08% và bentonite ở tỷ lệ lần lượt là 1,5%; 3%; 3,5%; và 4,5% trong 6 ngày. Sau khi xử lý với enzyme, các tỷ lệ 0,02%; 0,04%; 0,06% và 0,08% của Na ₂ CO ₃ bổ sung vào nước ổi lên men được khảo sát và đánh giá cảm quan. Sự biến đổi của sản phẩm (không thanh trùng (mẫu đối chứng), bổ sung Na ₂ CO ₃ , và thanh trùng) ở nhiệt độ phòng được theo dõi trong thời gian 4 tuần. Kết quả nghiên cứu cho thấy hiệu quả làm trong nước ổi lên men tốt nhất là 0,04% độ enzyme pectinase và 0,04% Na ₂ CO ₃ . Trong 4 tuần theo dõi chất lượng nước ổi lên men ở nhiệt độ phòng cho thấy mẫu bổ sung Na ₂ CO ₃ có số lượng vi sinh vật đạt chuẩn quy định theo 6-3:2010/BYT.
Ngày hoàn thiện: 17/11/2024	
Ngày đăng: 18/11/2024	
TỪ KHÓA	
Bentonite	
Carbonate hoá	
Làm trong	
Ổi	
Pectinase	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.9587>

* Corresponding author. Email: huynhmi112374@gmail.com

1. Giới thiệu

Ôi (*Psidium guajava* L.) thuộc chi *Psidium* (Myrtaceae) có nguồn gốc từ Mexico, Caribe, Trung và Nam Mỹ [1]. Loài cây này được trồng phổ biến ở khắp miền nhiệt đới Châu Á, Châu Phi. Đặc biệt ở Việt Nam, cây ôi mọc hoang nhiều nơi ở vùng núi phía Bắc, nhưng phần nhiều người ta trồng để lấy quả ăn [2]. *Psidium guajava* L. là một loại cây bụi hoặc cây nhỏ thường cao từ 1-6 m, quả có hình cầu, hình trứng hoặc hình quả lê và chuyển từ màu xanh sang màu hơi vàng khi trưởng thành [3]. Thành phần của ôi giàu vitamin A, vitamin C, acid citric, lactic, malic, oxalic và acetic cũng như đường và muối khoáng. Loại quả này chứa ít calo và chất béo, chứa các hợp chất polyphenolic và flavonoid chống oxy hóa có vai trò then chốt trong việc ngăn ngừa ung thư, lão hóa, nhiễm trùng [1]. Nguồn nguyên liệu ôi ở nước ta dồi dào và có giá thành thấp, việc nghiên cứu nước ôi lên men nhằm đa dạng hoá các loại nước uống lên men và mang lại hiệu quả kinh tế xã hội.

Nước trái cây lên men là nước giải khát bổ dưỡng vì chúng chứa hầu hết các chất dinh dưỡng có trong trái cây nguyên chất. Nước ép trái cây lên men có hàm lượng cồn thấp nên kích thích tiêu hóa, giúp bữa ăn ngon miệng mà không gây say như trường hợp của một số đồ uống có cồn khác. Lên men là một quá trình kỵ khí được thực hiện bởi nấm men, trong đó nấm men chuyển hóa lượng đường tương đối cao có trong trái cây thành ethanol và carbon dioxide [4]. Kế thừa các nghiên cứu trước đây, rượu vang trái giác [5] cũng như nước ôi lên men [6] sử dụng chủng nấm men *S. cerevisiae* HG1.3 được đánh giá cảm quan cao và gần như không có sự thay đổi đáng kể của các thành phần hoạt tính sinh học trong nguyên liệu trước và sau lên men. Trong nghiên cứu này, nước ôi lên men bằng chủng nấm men *S. cerevisiae* HG1.3 được sử dụng để khảo sát các nhân tố ổn định, làm trong nước ôi lên men bao gồm enzyme pectinase, bentonite và sodium carbonate cho quá trình carbonation.

Đồ uống lên men từ trái cây đều có độ đục nhất định do các hạt pectin lơ lửng bắt nguồn từ thành tế bào thực vật. Các thành phần khác như chất màu, phức hợp giữa kim loại và polyphenol, ... [7] gây ra độ đục cho nước quả và cần không mong muốn trong quá trình sản xuất bảo quản sản phẩm, thường bị hiểu sai là chất lượng suy giảm. Trong khi đó, pectinase là enzyme đóng vai trò trong phân huỷ pectin làm tăng hiệu suất nước ép, cường độ trong, giảm độ đục và độ nhớt cũng như làm tăng hàm lượng chất rắn hoà tan, chất lượng dinh dưỡng và hương thơm [8].

Nhiều nghiên cứu báo cáo rằng, pectinase có tiềm năng làm trong nước trái cây như độ truyền ánh sáng của cam, táo và nho tăng lần lượt là 19,2 lần, 7,3 lần và 3,8 lần sau khi được xử lý với enzyme [9]; hay độ nhớt của nước ép lựu, táo và cam sau khi được xử lý enzyme giảm lần lượt là 71,43%, 57,5% và 54,% [10]. Bên cạnh pectinase, bentonite cũng được cho rằng làm tăng hiệu quả và chất lượng của nước táo và làm cho dòng thẩm trong quá trình lọc màng tăng lên một cách hiệu quả [11]. Bentonite trương nở trong nước và tạo thành huyền phù keo ổn định, thể hiện điện tích âm và khả năng hấp phụ lớn, do đó được sử dụng rộng rãi để làm trong và ổn định rượu vang [12]. Ngoài ra, bentonite cũng được báo cáo làm ngăn chặn quá trình sản xuất methanol một cách hiệu quả và giảm hàm lượng pectin nâng cao chất lượng rượu vang táo [13]. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định các nhân tố được đề cập ở trên qua đó nâng cao chất lượng và ổn định màu sắc của nước ôi lên men.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Trái ôi (Hình 1) được thu mua ở chợ Cái Răng thuộc thành phố Cần Thơ, lựa chọn những quả ôi tươi, có độ chín đồng đều và loại bỏ những quả không đạt yêu cầu như dập nát, bị sâu bọ hư hỏng.

Đường được sử dụng là đường mía của Công ty Cổ phần đường Biên Hoà.

Nấm men là chủng *S. cerevisiae* HG1.3 được lưu trữ tại Phòng thí nghiệm Khoa Công nghệ Sinh hoá - Thực phẩm, Trường Đại học Kỹ thuật - Công nghệ Cần Thơ. Nấm men sẽ được nuôi trong môi trường YPD lỏng (yeast extract 10 g/L, peptone 20 g/L, D - glucose 20 g/L).

Hóa chất: Enzyme pectinase Angel Yeast (Việt Nam), bentonite (Trung Quốc), hóa chất khác như NaHSO_3 , Na_2CO_3 , acid citric là các sản phẩm thương mại được cung cấp bởi công ty Xilong Scientific (Thượng Hải, Trung Quốc).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Lên men dịch ổi

Quy trình lên men nước ổi tiến hành như sau: (1) Chọn ổi chín đều, rửa sạch, tách bỏ cuống và hạt, (2) ép thịt quả và lọc lấy dịch, (3) điều chỉnh pH 4,6 và 16 °Brix, (4) thanh trùng bằng 140 mg/L NaHSO_3 trong 2 giờ, (5) bổ sung 1% dịch tăng sinh nấm men *S. cerevisiae* HG1.3 và lên men trong 72 giờ ở nhiệt độ phòng, (6) lọc và thu nước ổi lên men sử dụng cho nghiên cứu [6].

2.2.2. Phân tích thành phần hóa lý của dịch ổi trước và sau quá trình lên men

Phân tích thành phần hóa lý dịch ổi: Nguyên liệu ổi sau khi mua sẽ rửa lại với nước sạch và xử lý sơ bộ. Sau đó cắt nhỏ ổi và tiến hành ép lấy dịch quả, sử dụng phần dịch ổi tiến hành theo dõi các chỉ tiêu như pH, hàm lượng chất khô hòa tan (°Brix), hàm lượng đường khử (%), khả năng kháng oxy hoá (%).

Sau khi kết thúc quá trình lên men dịch ổi, tiến hành lấy mẫu phân tích các chỉ tiêu như pH, hàm lượng chất khô hòa tan (°Brix), hàm lượng ethanol (%v/v), độ trong (%), hàm lượng đường khử (%), khả năng kháng oxy hoá (%).

2.2.3. Khảo sát ảnh hưởng của enzyme pectinase và bentonite đến độ trong của nước uống lên men từ trái ổi

Dịch ổi sau khi lên men tiến hành lọc sơ với vải lọc, chiết vào chai và bổ sung enzyme pectinase tỷ lệ lần lượt là 0%; 0,02%; 0,04%; 0,06%; 0,08% (w/v) và bentonite được bổ sung với tỷ lệ lần lượt là 0%; 1,5%; 3%; 3,5%; 4,5% (w/v). Định kỳ mỗi 2 ngày/lần lấy mẫu đo độ truyền quang bằng máy UV - Vis với bước sóng 450 nm [14] sau 2, 4, 6 ngày.

2.2.4. Khảo sát tỷ lệ thích hợp của Na_2CO_3 bổ sung vào nước ổi lên men

Sản phẩm nước ổi lên men sau khi được làm trong bằng nồng độ chất thích hợp đã khảo sát ở mục 2.2.3, tiến hành lọc loại bỏ cặn lắng. Sau đó bổ sung Na_2CO_3 ở tỷ lệ lần lượt là 0%; 0,02%; 0,04%; 0,06%; và 0,08%; tiến hành đánh giá cảm quan sản phẩm theo phương pháp cho điểm TCVN 3217:79 [15].

2.2.5. Theo dõi sự biến đổi sản phẩm trong điều kiện bảo quản ở nhiệt độ phòng

Sau khi làm trong nước ổi lên men sẽ tiến hành chiết rót vào chai các mẫu đối chứng (không thanh trùng nhiệt), mẫu bổ sung Na_2CO_3 (có thanh trùng nhiệt) với tỷ lệ đã khảo sát được ở 2.2.4 và mẫu thanh trùng nhiệt (không bổ sung Na_2CO_3) bảo quản ở nhiệt độ phòng. Xác định các chỉ tiêu vi sinh vật (tổng số vi sinh vật hiếu khí), hàm lượng chất khô hòa tan, pH của sản phẩm sau thời gian bảo quản 1, 2, 3 và 4 tuần.

2.2.6. Đánh giá chất lượng sản phẩm sau bảo quản

Sau khi kết thúc các công đoạn hoàn thành sản phẩm, tiến hành đánh giá chất lượng sản phẩm nước ổi lên men sau thời gian 4 tuần bảo quản theo các chỉ tiêu hoá lý, cảm quan và vi sinh.

2.3. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu và xử lý dữ liệu thu thập

Độ pH được đo bằng pH kế (Hanna, Mỹ), hàm lượng chất khô hòa tan được đo bằng Brix kế (ATAGO, 0-33 °Brix, Pháp), độ truyền quang (T) được đo bằng máy quang phổ UV - Vis (Biochrom Libra S70PC, Anh), hàm lượng ethanol được đo bằng phương pháp chưng cất, hàm lượng đường khử đo bằng phương pháp DNS, khả năng kháng oxy hoá bằng phương pháp DPPH, cảm quan sản phẩm được đánh giá theo TCVN 3215:79 [15] và chỉ tiêu vi sinh theo QCVN 6-

3:2010/BYT [16]. Tất cả các thí nghiệm được bố trí lặp lại 3 lần, phân tích số liệu bằng ANOVA sử dụng phần mềm Minitab 17.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Thành phần hóa lý của dịch ổi trước và sau khi kết thúc quá trình lên men

Trong chế biến thực phẩm, nguyên liệu là yếu tố quan trọng ảnh hưởng trực tiếp đến quy trình sản xuất sản phẩm cũng như mục tiêu, mong muốn về chất lượng sản phẩm. Do đó, việc phân tích thành phần hóa học của nguyên liệu trước khi đưa vào quá trình chế biến là bước đầu tiên để đánh giá chất lượng nguyên liệu nhằm dự đoán chất lượng sản phẩm. Ngoài ra, trong quá trình phân tích còn có thể xác định thêm một số chỉ tiêu hóa lý của mẫu thí nghiệm và dựa vào kết quả này có thể điều chỉnh các thông số cho phù hợp với quy trình và điều kiện nghiên cứu. Kết quả phân tích thành phần của quả ổi được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1. Thành phần hóa lý của dịch ổi trước và sau khi lên men

Chỉ tiêu	Giá trị dịch ổi	
	Trước lên men	Sau lên men
pH	4,09 ± 0,04	4,06 ± 0,02
Hàm lượng chất khô hòa tan (°Brix)	8,00 ± 0,00	9,00 ± 0,00
Hàm lượng đường khử (%)	2,85 ± 0,04	1,13 ± 0,02
Hàm lượng ethanol (% v/v)	-	5,00 ± 0,00
Độ truyền quang T _{450nm} (%)	-	1,55 ± 0,03
Khả năng kháng oxy hoá (%)	94,53 ± 0,03	95,57 ± 0,20

Ghi chú: Số liệu trung bình của 3 lần lặp lại

Trong nghiên cứu trước đây cho thấy nguyên liệu ổi có hàm lượng ẩm cao ($90,73 \pm 0,11\%$), pH (4,36) thích hợp sử dụng làm nguyên liệu cho nước giải khát lên men, hàm lượng chất khô hoà tan (8 °Brix) [6]. Các điều kiện tối ưu cho nước ổi lên men có hàm lượng ethanol 5% (v/v) là pH 4,6 và hàm lượng chất khô hoà tan là 16 °Brix. Trong sản xuất nước lên men, các loại dịch quả có pH 3,0 - 4,5 thích hợp để lên men như măng cầu xiêm (pH 3,77) [14], thanh long ruột trắng (pH 4,22) [17], dâu tằm (pH 4,42) [18],... Nguyên liệu ổi có pH 4,09 phù hợp cho nấm men phát triển và có tính kháng oxy hoá cao ($94,53 \pm 0,03\%$) giúp ổi có thể cạnh tranh với các nguyên liệu khác.

Nước ổi lên men trong nghiên cứu này có độ cồn 5,00% (v/v) tương đồng với công bố trước đó [6] nhưng pH ($4,06 \pm 0,02$) và hàm lượng chất khô hoà tan (9 °Brix) có khác biệt do các điều kiện khách quan như nguồn nguyên liệu, nhiệt độ, thao tác,... Hàm lượng đường khử ($1,13 \pm 0,02\%$) có giảm do nấm men sử dụng đường chủ yếu trong quá trình lên men, trong khi đó khả năng kháng oxy hoá ($95,57 \pm 0,2\%$) sau khi lên men không chênh lệch so với trước khi lên men. Độ truyền quang của nước ổi lên men khá thấp chỉ đạt 1,55%, điều này có thể do lượng pectin có trong dịch quả gây đục sản phẩm. Do đó, để làm tăng độ trong cho nước ổi lên men,

enzyme pectinase và bentonite được sử dụng để thực hiện cho các khảo sát tiếp theo, các kết quả được thảo luận ở phần dưới đây.

3.2. Khả năng làm trong nước uống lên men của enzyme pectinase và bentonite

3.2.1. Kết quả khảo sát tác dụng làm trong nước ổi lên men của enzyme pectinase

Enzyme pectinase được sử dụng rộng rãi trong ngành công nghiệp thực phẩm, đặc biệt là trong chế biến nước lên men. Pectin liên kết với nước do sự hiện diện của nhóm hydrophilic (-OH) làm đục nước trái cây, với vai trò phân huỷ pectin enzyme pectinase giúp làm giảm độ nhớt của nước ép



Hình 1. Quả ổi (*Psidium guajava* L.)

trái cây [8], tăng độ trong của đồ uống lên men như rượu vang mãng cầu xiêm [16], rượu muskmelon (dưa vàng Bắc Mỹ) [19], rượu trái giác [20], thanh long [21],...

Bảng 2. Ảnh hưởng của enzyme pectinase đến độ truyền quang của nước ổi lên men

Tỷ lệ pectinase (%)	Độ truyền quang (T) %			Giá trị P**
	Ngày 2	Ngày 4	Ngày 6	
0,00	4,50 ^{dC}	11,80 ^{cB}	20,04 ^{cA}	0,000
0,02	37,11 ^{cC}	50,60 ^{bB}	58,87 ^{bA}	0,000
0,04	44,77^{bC}	55,67^{abB}	62,65^{abA}	0,000
0,06	46,95 ^{bB}	56,10 ^{abA}	60,28 ^{abA}	0,001
0,08	53,34 ^{aB}	61,60 ^{aA}	63,83 ^{aA}	0,007
Giá trị P*	0,000	0,000	0,000	

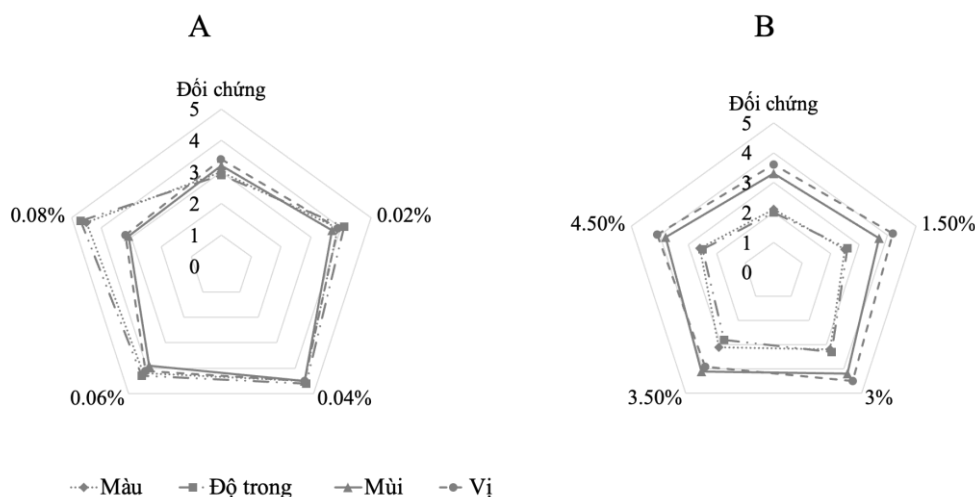
Ghi chú: Số liệu trung bình của 3 lần lặp lại.

*: Các chữ cái a, b, c... khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (5%) trong cùng một cột.

**: Các chữ cái A, B, C... khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (5%) trong cùng một hàng.

Độ trong của mẫu thí nghiệm xử lý enzyme tăng so với mẫu đối chứng, giá trị T tăng mạnh từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 6 khi bổ sung pectinase ở các nồng độ 0,02 - 0,08% (Bảng 2). Độ trong trung bình của các mẫu tỷ lệ thuận với thời gian và nồng độ enzyme xử lý, độ trong tăng cao nhất khi xử lý enzyme pectinase ngày thứ 6 ở nồng độ 0,08% (63,83%), tuy nhiên không có sự khác biệt đáng kể với nồng độ pectinase 0,04% (62,65%). Độ trong trung bình không có sự khác biệt đối với nồng độ enzyme xử lý 0,04% và 0,08% khi kết thúc làm trong vì cơ chất phản ứng trong cùng thể tích đã hết nên dù có xử lý enzyme nồng độ cao hơn để làm trong thì độ trong vẫn không thay đổi. Ở thời gian thí nghiệm ngày thứ 6, giá trị T không có sự khác biệt, điều này có thể do hết enzyme phản ứng với cơ chất hoặc cơ chất đã hết không phản ứng với enzyme nữa nên độ trong cũng không tăng thêm.

Một số nghiên cứu cho thấy độ truyền quang T của rượu mãng cầu xiêm và rượu trái giác tăng lần lượt là 13,05% [16] và 9,09% [20] khi được xử lý với 0,5% pectinase. Nó cũng được báo cáo rằng, sau lên men độ nhớt của mẫu rượu được bổ sung 0,1% pectinase giảm đáng kể với 1,5 cP và hiệu suất tăng 16% [21].



Hình 2. Giá trị cảm quan của nước ổi lên men theo nồng độ xử lý (A) pectinase và (B) bentonite.

Các thuộc tính cảm quan bao gồm độ trong và màu sắc, mùi, vị được đánh giá dựa trên thang điểm 0 đến 5 theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3215-79 bởi 50 đánh giá viên được lựa chọn từ các giáo sư, giảng viên, nhân viên và sinh viên của các khoa phòng ban thuộc Trường Đại học Kỹ thuật Công nghệ Cần Thơ.

Bên cạnh độ trong thì chỉ tiêu cảm quan cũng rất quan trọng, quyết định đến chất lượng sản phẩm. Sau khi các mẫu được xử lý enzyme 6 ngày, độ trong và màu sắc của mẫu 0,04% và 0,08% theo cảm quan là như nhau (Hình 2A). Nhưng xét về giá trị cảm quan mùi vị thì tỷ lệ 0,08% được

đánh giá thấp hơn so với tỷ lệ bổ sung 0,04%. Từ các kết quả thí nghiệm cho thấy ở tỷ lệ pectinase 0,04% tối ưu nhất để sử dụng cho nước ổi lên men do nồng độ 0,04% cho điểm đánh giá về màu sắc (4,5 điểm), độ trong (4,6 điểm), mùi (4,5 điểm), vị (4,5 điểm) tốt hơn so với nồng độ pectinase 0,08% có mùi vị không được đánh giá cao. Vì vậy, hàm lượng 0,04% pectinase được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.2.2 Kết quả khảo sát tác dụng làm trong nước ổi lên men của bentonite

Bentonite là chất làm mịn được sử dụng để ổn định và ngăn chặn sự tạo sương mù protein sau khi đóng chai [22]. Khoáng sét này được đặc trưng bởi chức năng của nó là chất trao đổi cation. Các phân tử tích điện dương có thể được hấp phụ trên bề mặt của nó [23], qua đó làm cho rượu trong và ổn định hơn.

Độ truyền quang càng cao thì độ trong của sản phẩm càng tốt, thông qua bảng 3 có thể thấy độ truyền quang cao nhất ở ngày thứ 2 sau khi bổ sung bentonite. Ở nồng độ 3% bentonite mẫu thí nghiệm có độ truyền quang cao nhất là 16,90%, so với các nồng độ còn lại là 1,5% (9,53%); 3,5% (14,29%); và 4,5% (13,27%). Điều này cho thấy hiệu ứng lắng của bentonite không tuân theo quy luật tuyến tính. Sau ngày thứ 2, độ truyền quang giảm dần và không có dấu hiệu tăng lại nên để bentonite có hiệu quả làm trong tốt nhất thì bổ sung 3% bentonite để yên trong 2 ngày là kết quả tối ưu nhất trong thí nghiệm này.

Bảng 3. Ảnh hưởng của bentonite đến độ truyền quang của nước ổi lên men

Tỷ lệ bentonite (%)	Độ truyền quang (T) %			Giá trị P**
	Ngày 2	Ngày 4	Ngày 6	
0,0	2,99 ^{eA}	2,15 ^{dB}	2,08 ^{dB}	0,000
1,5	9,53 ^{dA}	4,87 ^{cB}	4,55 ^{cB}	0,000
3,0	16,90^{aA}	6,37^{bB}	5,17^{bcC}	0,000
3,5	14,29 ^{bA}	6,76 ^{bB}	5,75 ^{abB}	0,000
4,5	13,27 ^{bcA}	9,92 ^{aB}	6,59 ^{aC}	0,000
Giá trị P*	0,000	0,000	0,000	

Ghi chú: Số liệu trung bình của 3 lần lặp lại.

*: Các chữ cái a, b, c... khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (5%) trong cùng một cột.

**: Các chữ cái A, B, C... khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (5%) trong cùng một hàng.

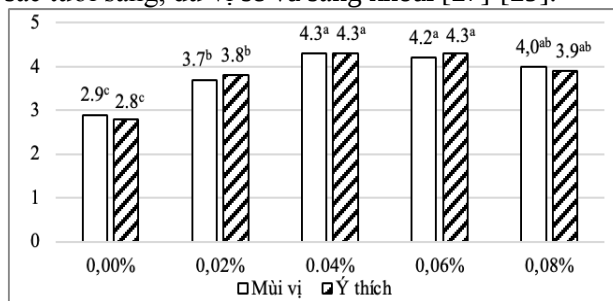
Bentonite là chất làm mịn duy nhất có thể ngăn chặn sự hình thành sương mù protein sau khi đóng chai và ổn định màu trong rượu vang đỏ [22]-[24]. Bên cạnh đó, nó cũng được báo cáo làm giảm hàm lượng polyphenol tổng số trong nước táo [25], ngăn chặn sự sản xuất methanol trong quá trình lên men [13], hàm lượng độc tố nấm mốc patulin giảm lên đến 77% trong nước ép táo xử lý với bentonite [26]. Kết quả khảo sát cho thấy, mẫu đối chứng có điểm cảm quan thấp nhất bởi dịch lên men bị đục, nhiều cặn. Đối với mẫu bổ sung bentonite tỷ lệ khác nhau sẽ cho kết quả cảm quan khác nhau, mẫu 3% được đánh giá cảm quan độ trong (3,3 điểm) tốt nhất và giữ được hương vị đặc trưng của sản phẩm. Ở các mẫu 3,5% và 4,5% bentonite có điểm đánh giá độ trong và màu sắc khá cao nhưng cảm quan về mùi vị không tốt (Hình 2B).

Ở thí nghiệm này bổ sung 3% bentonite trong 2 ngày là điều kiện tối ưu với điểm cảm quan và độ truyền quang đạt cao nhất. Tuy nhiên, so sánh giữa enzyme pectinase và bentonite có thể thấy ở Bảng 2 thì tỷ lệ tối ưu 0,04% của pectinase có độ truyền quang (62,65%) cao hơn so với tỷ lệ tối ưu của bentonite có độ truyền quang là 16,90%. Các điểm đánh giá cảm quan về độ trong (4,6 điểm), màu sắc (4,5 điểm) của pectinase cao hơn bentonite và vẫn giữ được mùi vị đặc trưng của ổi. Do đó, enzyme pectinase ở tỷ lệ 0,04% được lựa chọn để làm trong, ổn định hương vị của nước ổi lên men ở nghiên cứu này.

3.3. Kết quả khảo sát tỷ lệ thích hợp của Na_2CO_3 bổ sung vào nước ổi lên men

Nước lên men từ trái ổi sau khi được làm trong bằng enzyme pectinase với tỷ lệ 0,04% trong 6 ngày sẽ bổ sung Na_2CO_3 để tăng độ cảm quan cho sản phẩm. Mặc dù Na_2CO_3 không có vị nhưng

khi hòa tan vào nước lên men tạo ra một lượng nhỏ acid, đủ để tạo ra dung dịch có vị chua tạo nên hương vị độc đáo cho sản phẩm. Công đoạn này có thể được coi là quá trình carbonate hoá, bão hoà CO_2 . Carbon dioxide (CO_2) được biết là có tác dụng ức chế sự phát triển của vi khuẩn trong ngành công nghiệp đồ uống, carbonate tạo ra CO_2 hòa tan, ngoài tác dụng kháng khuẩn, còn mang lại cho sản phẩm màu sắc tươi sáng, dư vị se và sảng khoái [27]-[29].



Hình 3. Đồ thị biểu diễn điểm đánh giá cảm quan của nồng độ Na_2CO_3 đến cảm quan sản phẩm

Cheng và cộng sự đã công bố rằng carbonate hóa giúp nước ép ổi có hàm lượng acid ascorbic cao hơn, độ trong thấp hơn và hoạt tính polyphenoloxidase cao hơn [30]. Mức carbonate ở 1,42 CO_2 volums làm tăng vị chua, độ se vị đáng cho đồ uống dạng sữa có hương vị [27].

Ở nghiên cứu này, với mức nồng độ Na_2CO_3 khác nhau dẫn đến chất lượng cảm quan khác nhau của sản phẩm, các mẫu sau khi bổ sung Na_2CO_3 cao hơn so với mẫu đối chứng (Hình 3). Trong đó nồng độ Na_2CO_3 được đánh giá cao nhất là 0,04% và 0,06%, sự khác biệt giữa hai mẫu không có ý nghĩa thống kê ($\alpha = 5\%$). Nhưng với nồng độ 0,04% có mùi vị hài hòa, giữ được đặc trưng của sản phẩm, có điểm đánh giá cao hơn so với mẫu bổ sung 0,06% Na_2CO_3 . Bên cạnh đó, CO_2 trong Na_2CO_3 có thể hạn chế quá trình hô hấp của vi sinh vật khi đạt nồng độ cần thiết nên có tác dụng bảo quản sản phẩm. Cân nhắc lợi ích kinh tế cũng như hương vị và màu sắc thì nồng độ Na_2CO_3 0,04% là phù hợp nhất cho sản phẩm nước ổi lên men.

3.4. Kết quả theo dõi sự biến đổi sản phẩm trong điều kiện bảo quản ở nhiệt độ phòng

Nước ổi lên men nói riêng và nước ép trái cây lên men nói chung rất dễ bị thay đổi về màu sắc, hàm lượng ethanol, lượng đường chất khô hoà tan và độ pH khi bảo quản ở nhiệt độ và thời gian không phù hợp. Trong môi trường nước, CO_2 tạo thành acid carbonic giải phóng H^+ , làm giảm pH và tăng tính acid của đồ uống gây ức chế sự phát triển và hoạt động sinh lý của vi khuẩn [31], [32], làm tăng thời gian bảo quản cho sản phẩm đồ uống hằng ngày. Nước ổi lên men được bổ sung nồng độ Na_2CO_3 phù hợp và thanh trùng sau khi hoàn thiện trước khi đưa vào bảo quản, kết quả theo dõi các chỉ tiêu pH, °Brix và hàm lượng vi sinh vật có trong mẫu thí nghiệm sau 1, 2, 3, và 4 tuần được trình bày ở Bảng 4.

Bảng 4. Sự thay đổi pH, °Brix và vi sinh vật hiếu khí (VSV) theo thời gian bảo quản

Thời gian bảo quản	Đối chứng			Na_2CO_3			Thanh trùng		
	pH	°Brix	VSV (CFU/mL)	pH	°Brix	VSV (CFU/mL)	pH	°Brix	VSV (CFU/mL)
0	3,95 ^a	5,0 ^a	6,0	4,06 ^a	10,0 ^a	2,0	4,07 ^a	10,0 ^a	2,0
1	3,85 ^{ab}	4,6 ^a	10,0	4,06 ^b	9,3 ^{ab}	2,7	3,95 ^b	9,7 ^a	3,9
2	3,77 ^{ab}	4,3 ^b	15,0	4,03 ^{ab}	9,0 ^b	3,8	3,92 ^{bc}	9,3 ^{ab}	4,9
3	3,72 ^b	4,0 ^c	24,0	4,02 ^{ab}	9,0 ^b	4,9	3,89 ^{cd}	9,0 ^{ab}	6,4
4	3,62 ^b	3,7 ^c	31,0	4,00 ^b	8,7 ^b	5,7	3,86 ^d	8,3 ^b	7,7

Ghi chú: Số liệu là trung bình của 3 lần lặp lại, các ký tự theo sau các giá trị trong cùng một cột khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức 5% ($P < 0,05$).

Sau 4 tuần bảo quản, pH và hàm lượng chất khô hoà tan có thay đổi là hợp lý vì ảnh hưởng do môi trường thường có sự chênh lệch về nhiệt độ giữa ngày và đêm, độ ẩm và ánh sáng không ổn định. Hàm lượng °Brix và pH trong nước ổi lên men ở mẫu đối chứng có sự thay đổi pH từ 3,95

xuống 3,62 và °Brix giảm từ 5 xuống 3,7. Mẫu đối chứng không được thanh trùng nhiệt để dừng hoàn toàn quá trình lên men, do đó nấm men vẫn tiếp tục chuyển hoá lượng đường tạo ra ethanol. Nhiệt độ cao giúp kéo dài thời gian bảo quản bằng cách tiêu diệt nấm men, nấm mốc, vi khuẩn và các vi sinh vật khác ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm. Đối với mẫu thanh trùng và mẫu bổ sung Na_2CO_3 có thay đổi nhưng chênh lệch không đáng kể. Cụ thể, °Brix của mẫu thanh trùng giảm từ 10,0 xuống 8,3 và pH từ 4,07 xuống 3,87; còn mẫu bổ sung Na_2CO_3 pH giảm từ 4,06 xuống 4,0 và °Brix từ 10,0 xuống 8,7.

Ngoài các chỉ tiêu pH và hàm lượng chất khô hoà tan thì chỉ tiêu vi sinh vật hiếu khí cần được theo dõi để tránh tình trạng hư hỏng, biến đổi màu sắc, trạng thái và mùi vị sản phẩm (Bảng 4). Sau 4 tuần bảo quản của mẫu đối chứng không dùng nhiệt xử lý để tiêu diệt vi sinh vật, do vậy mật số vi sinh vật hiếu khí có sự thay đổi từ 6,0 tăng lên 31,0. Ngược lại, mật số vi sinh vật hiếu khí qua 4 tuần bảo quản ở cả hai mẫu thanh trùng và bổ sung Na_2CO_3 có sự thay đổi nhưng không nhiều, vẫn trong quy định giới hạn của sản phẩm. Điều này cho thấy việc bổ sung Na_2CO_3 ngoài hiệu quả tạo ra trạng thái cảm quan đặc trưng còn có tác dụng bảo quản sản phẩm. Na_2CO_3 tạo môi trường kỵ khí để ức chế sự phát triển của vi sinh vật hiếu khí và nấm men sau khi kết thúc quá trình lên men đảm bảo theo Tiêu chuẩn quốc gia về an toàn vệ sinh thực phẩm.

3.5. Đánh giá chất lượng sản phẩm sau bảo quản

Sản phẩm nước ôi lên men sau khi làm trong bằng 0,04% enzyme pectinase trong 6 ngày, bổ sung 0,04% Na_2CO_3 . Phân tích các chỉ tiêu hóa lý, vi sinh vật và đánh giá cảm quan sản phẩm sau thời gian tồn trữ.

Bảng 5. Thành phần hoá lý của nước ôi lên men sau bảo quản

Chỉ tiêu	Đơn vị	Hàm lượng
pH	—	$3,98 \pm 0,05$
Hàm lượng chất khô hoà tan	°Brix	$9,00 \pm 0,03$
Hàm lượng ethanol	%v/v	$5,00 \pm 0,00$
Độ truyền quang ($T_{450 \text{ nm}}$)	%	$87,35 \pm 0,15$
Khả năng kháng oxy hoá	%	$46,10 \pm 0,09$

Ghi chú: Kết quả lấy được từ trung bình 3 lần lặp lại $\pm$ SD

Từ kết quả ở Bảng 5 cho thấy nước ôi lên men có độ cồn 5,00% (v/v), độ truyền quang ($87,35 \pm 0,09\%$) phù hợp sản phẩm nước lên men. Khả năng kháng oxy hoá ($46,10 \pm 0,09\%$) giảm xuống trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ phòng. Hàm lượng chất khô hoà tan (9 °Brix) và pH (3,98) nhưng vẫn giữ được hương vị hài hoà của sản phẩm. Đặc biệt, sản phẩm có khả năng kháng oxy hóa do với 46,10% khả năng bắt gốc tự do. Giá trị này thể hiện hoạt tính sinh học, khả năng bảo vệ sức khỏe cũng như nâng cao chất lượng của sản phẩm sau quy trình chế biến. Nhiều nghiên cứu cho thấy, việc tiêu thụ đồ uống lên men hay rượu vang ở mức vừa phải (1 - 2 ly mỗi ngày) gần đây có liên quan đến nhiều lợi ích sức khỏe, chẳng hạn như giảm nguy cơ xơ vữa động mạch, tiểu đường, tăng huyết áp, tăng lipid máu và ung thư, nhờ vào các chất chống oxy hóa có trong sản phẩm [33].

Bảng 6. Kết quả đánh giá cảm quan của nước ôi lên men sau bảo quản

Chỉ tiêu chất lượng	Điểm của từng thành viên							Tổng số điểm	Điểm trung bình
	A	B	C	D	E	F	G		
Độ trong và màu sắc	5	5	5	5	4	5	5	34	4,86
Mùi	4	4	5	4	5	5	4	31	4,43
Vị	4	5	4	4	5	4	4	30	4,29
Tổng (Điểm chung)									13,58

Sản phẩm được tiến hành đánh giá chất lượng bằng phương pháp cảm quan cho điểm theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3215-79 [9]. Sản phẩm nước ôi lên men sau 4 tuần bảo quản ở nhiệt độ thường đạt chất lượng về mùi vị, độ trong, màu sắc và được đánh giá cảm quan tốt (Bảng 6). Ngoài

ra, các chỉ số hàm lượng *E. coli*, *Coliform*, nấm men, nấm mốc và vi sinh vật hiếu khí đạt tiêu chuẩn của Bộ y Tế QCVN 6–3:2010/BYT [10] (Bảng 7).

Bảng 7. Kết quả chỉ tiêu vi sinh của nước ổi lên men sau 4 tuần bảo quản

Chỉ tiêu	Đơn vị	Phương pháp thử	QCVN 6-3:2010/BYT	Kết quả (*)
<i>Escherichia coli</i>	CFU/mL	NMKL 125:2005	Không được có	< 1 ^(b)
Tổng số <i>Coliform</i>	CFU/mL	TCVN 6848:2007	Không được có	< 1 ^(b)
Tổng số nấm men, nấm mốc	CFU/mL	TCVB 8275-1:2010	10 ²	< 1 ^(b)
Tổng số vi sinh vật hiếu khí	CFU/mL	TCVN 4884-1:2015	10 ³	6,0 × 10 ⁰

Ghi chú (*) Kết quả kiểm nghiệm từ Trung tâm Kỹ thuật Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng Cần Thơ

4. Kết luận

Nghiên cứu cho thấy hiệu quả làm trong của enzyme pectinase cao hơn so với bentonite, nước ổi lên men được làm trong với 0,04% enzyme pectinase trong 6 ngày cho sản phẩm trong, không vẩn đục, màu đặc trưng của sản phẩm, cảm quan tốt nhất. Việc bổ sung 0,04% Na₂CO₃ cho sản phẩm nước ổi lên men với điểm đánh giá cảm quan cao nhất (4,3 điểm) tạo ra sản phẩm có mùi, vị hài hoà, phù hợp với tiêu chuẩn sản phẩm nước giải khát lên men. Sản phẩm nước ổi lên men có bổ sung Na₂CO₃ bảo quản ở điều kiện thường được đánh giá tốt, đạt chỉ tiêu vi sinh vật của đồ uống có cồn thấp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] A. Mehmood, M. J. Jaskani, I. A. Khan, S. Ahmad, R. Ahmad, S. Luo, and N. M. Ahmad, "Genetic diversity of Pakistani guava (*Psidium guajava* L.) germplasm and its implications for conservation and breeding," *Scientia Horticulturae*, vol. 172, pp. 221-232, 2014.
- [2] D. T. Loi, *Medicinal Plants and Remedies of Vietnam*. Medical Publishing House, 2004.
- [3] S. Uzzaman, K. M. Akanda, S. Mehjabin, and G. M. M. Parvez, "A short review on a Nutritional Fruit: Guava," *Toxicology & Research*, vol. 1, no. 1, pp. 1-8, 2020.
- [4] R. S. Jackson, *Wine Science: Principles and Applications*, 3rd ed. Academic Press, USA, 2020.
- [5] T. K. T. Doan, H. Y. Vien, X. P. Huynh, N. T. Nguyen, H. D. L. Bui, T. T. Ha, and T. P. D. Ngo, "Selection of thermotolerant yeasts and application in wine production from three-leaf cayratia (*Cayratia trifolia* L.) in Hau Giang," (in Vietnamese), *Can Tho University Journal of Science*, vol. 54, no. 4B, pp. 64-71, 2018.
- [6] T. K. T. Doan, C. L. H. Dinh, M. N. T. Huynh, and Y. N. Lam, "Cider production from guava (*Psidium guajava* L.) by using *Saccharomyces cerevisiae* HG1.3," *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 229, no. 05, pp. 145-152, 2024.
- [7] M. Pinelo, B. Zeuner, and A. S. Meyer, "Juice clarification by protease and pectinase treatments indicate new roles of pectin and protein in cherry juice turbidity," *Food and Bioproducts Processing*, vol. 88, no. 2–3, pp. 259-265, 2010.
- [8] M. F. Ramadan, "Enzymes in fruit juice processing," In M. Kuddus, *Enzymes in food biotechnology*. Academic Press, 2019, pp. 45–59.
- [9] Y. He, L. Pan, and B. Wang, "Efficient over-expression and application of high-performance pectin lyase by screening *Aspergillus niger* pectin lyase gene family," *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, vol. 23, pp. 662-669, 2018.
- [10] K. Poturcu, I. Ozmen, and H. Biyik, "Characterization of an alkaline thermostable pectin lyase from newly isolated *Aspergillus niger* WHAK1 and its application on fruit juice clarification," *Arabian Journal for Science and Engineering*, vol. 42, pp. 19-29, 2017.
- [11] K. S. Youn, J. H. Hong, D. H. Bae, S. J. Kim, and S. D. Kim, "Effective clarifying process of reconstituted apple juice using membrane filtration with filter-aid pretreatment," *Journal of Membrane Science*, vol. 228, no. 2, pp. 179-186, 2004.
- [12] N. Jaekels, S. Tenzer, M. Meie, F. Will, and P. Fronk, "Influence of bentonite fining on protein composition in wine," *LWT - Food Science and Technology*, vol. 75, pp. 335–343, 2016.
- [13] Y. Y. Han, J. H. Du, and Y. Wang, "Effect of bentonite and calcium chloride on apple wine," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 102, no. 1, pp. 425-433, 2022.

- [14] T. K. T. Doan, T. N. M. Huynh, T. T. N. Do, T. H. D. Dang, T. H. C. Le, T. A. Le, H. H. Tran, N. T. Nguyen, and X. P. Huynh, "The effectiveness of pectinase and stability of soursop (*Annona muricata*) wine quality during storage," (in Vietnamese), *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 227, no. 01, pp. 43-50, 2022.
- [15] Ministry of Science and Technology, Vietnam National Standard 3215-79: Food products sensorial analysis Method by Frintingmark, 1979.
- [16] Ministry of Health, QCVN 6-3:2010/BYT: National technical regulation for alcoholic beverages, 2010.
- [17] M. N. T. Huynh and T. K. T. Doan, "Fermentation of pitaya (*Selenicereus undatus*) using *Saccharomyces cerevisiae* RV100," (in Vietnamese), *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 226, no.14, pp. 137-145, 2021.
- [18] N. U. Phan, T. K. T. Vo, D. Q. Chan, and L. M. T. Mai, "Study on manufacturing process of fruit wines made of green grapes and mulberries," (in Vietnamese), *Journal of Food and Nutrition Science*, vol. 15, no. 5-6, pp. 65-73, 2019.
- [19] V. K. Joshi, V. Kumar, H. Chauhan, and B. Tanwar, "Preparation and evaluation of muskmelon wine: effect of dilution of pulp, dahp, pectinesterase enzyme and citric acid on physico-chemical and sensory quality characteristics," *World Journal of Biology and Biotechnology*, vol. 1, no. 2, pp. 57-64, 2016.
- [20] T. K. T. Doan, T. T. L. Tran, T. N. M. Huynh, T. N. H. Vo, N. T. B. Luu, H. A. T. Nguyen, N. T. Q. Huynh, N. T. Nguyen, and X. P. Huynh, "Investigation of the effects of pectinase enzyme and citric acid on the quality of three-leaf cayratia wine," (in Vietnamese), *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 229, no. 01, pp. 282-289, 2013.
- [21] J. Xiaohui, Y. Lu, and S. Q. Liu, "Effects of pectinase treatment on the physicochemical and oenological properties of red dragon fruit wine fermented with *Torulaspora delbrueckii*," *LWT - Food Science and Technology*, vol. 132, pp. 1-9, 2020.
- [22] S. C. Van Sluyter, J. M. McRae, R. J. Falconer, P. A. Smith, A. Bacic, E. J. Waters, and M. Marangon, "Wine protein haze: mechanisms of formation and advances in prevention," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 63, no. 16, pp. 4020-4030, 2015.
- [23] F. F. Huertas, P. Carretero, J. Delgado, J. Linares, and J. Samper, "An experimental study on the ion-exchange behavior of the smectite of Cabo de Gata (Almería, Spain): FEBEX Bentonite," *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 239, no. 2, pp. 409-416, 2001.
- [24] R. S. Jackson, *Wine Science: Principles and Applications*, Elsevier, 2008.
- [25] K. S. Bahceci, "Effects of pretreatment and various operating parameters on permeate flux and quality during ultrafiltration of apple juice," *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 47, no. 2, pp. 315-324, 2012.
- [26] J. Bissessur, K. Permaul, and B. Odhav, "Reduction of patulin during apple juice clarification," *Journal of Food Protection*, vol. 64, no. 8, pp. 1216-1219, 2001.
- [27] C. L. Lederer, F. W. Bodyfelt, and M. R. McDaniel, "The effect of carbonation level on the sensory properties of flavored milk beverages," *Journal of Dairy Science*, vol. 74, no. 7, pp. 2100-2108, 1991.
- [28] M. R. Ravindra, K. J. Ra, B. S. Nath, and C. Ram, "Carbonated fermented dairy drink - effect on quality and shelf life," *Journal of Food Science and Technology*, vol. 51, no. 11, pp. 3397-3403, 2014.
- [29] S. M. Dam, T. H. Y. Nguyen, and D. K. Bui, *Food Additives*. Vietnam National University Press, (in Vietnamese), 2012.
- [30] L. H. Cheng, C. Y. Soh, S. C. Liew, and F. F. Teh, "Effects of sonication and carbonation on guava juice quality," *Food Chemistry*, vol. 104, no. 4, pp. 1396-1401, 2007.
- [31] Y. Karagul-Yuceer, J. C. Wilson, and C. H. White, "Formulations and processing of yogurt affect microbial quality of carbonated yogurt," *Journal of Dairy Science*, vol. 84, pp. 543-550, 2001.
- [32] S. K. Wolfe, "Use of carbon monoxide and carbon dioxide enriched atmospheres for meats, fish and produce," *Food Technology*, vol. 34, no. 3, pp. 55-58, 1980.
- [33] N. Şanlıer, B. B. Gökçen, and A. C. Sezgin, "Health Benefits of Fermented Foods," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 59, no. 3, pp. 506-527, 2017.