

KHẢO SÁT CÁC THÔNG SỐ TỐI ƯU CỦA QUÁ TRÌNH LÊN MEN RAU MUỐNG (*Ipomoea aquatica*) MUỐI CHUA

Phạm Hoàng Triệu¹, Nguyễn Minh Trang²,
Nguyễn Như Phương², Huỳnh Ngọc Thanh Tâm^{3,*}

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm ra thông số tối ưu cho quá trình lên men rau muống (*Ipomoea aquatica*). Sử dụng dòng *Lactobacillus plantarum* CMT2 được đăng ký trên GenBank với mã số MN841920 được sử dụng cho quá trình lên men. Kết quả xác định được nhiệt độ ủ rau muống là 70°C sau 6 ngày lên men cho hàm lượng axit lactic cao, đồng thời cũng cho giá trị cảm quan tốt. Thông qua phần mềm Design Expert 7.0 với thể thức Box - Behnken, đã xác định được nghiệm thức tối ưu cho quá trình lên men rau muống là nồng độ muối 2,85%, nồng độ đường 2,77% và mật độ vi khuẩn giống $8,3 \times 10^8$ tế bào/mL với hàm lượng axit lactic đạt 7,14 g/L sau 6 ngày lên men ở nhiệt độ phòng (30°C - 32°C). Khi bổ sung CaCl_2 0,2% cho giá trị axit lactic và cảm quan cao. Ngoài ra, việc bổ sung gia vị tỏi 3% và ớt 3% sẽ giúp tăng giá trị cảm quan sản phẩm, đồng thời đẩy nhanh quá trình lên men sản phẩm. Sau 6 ngày lên men, đánh giá cảm quan rau muống cho cấu trúc sản phẩm giòn đều, có màu sắc tươi sáng, vị chua mặn hài hòa với lượng axit lactic là 8,52 g/L.

Từ khóa: Rau muống, *Lactobacillus plantarum*, lên men lactic.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, để đáp ứng nhu cầu của người tiêu dùng, các sản phẩm lên men đã và đang được nghiên cứu rộng rãi nhằm cải tiến về chất lượng, năng suất cũng như quy mô sản xuất. Một trong những sản phẩm lên men phổ biến trên thế giới cũng như ở Việt Nam đó là rau củ muối chua, một loại thực phẩm vừa cung cấp nhiều dinh dưỡng vừa giúp con người kéo dài thời gian bảo quản nguyên liệu [1]. Rau muống có tên khoa học là *Ipomoea aquatica* là loài cây hoang dại, rễ tiền, dễ tìm để làm rau củ muối chua, là nguồn thức ăn bổ sung protein, khoáng chất, chất xơ, đặc biệt giàu vitamin A, vitamin C và sắt nên được sử dụng chế biến làm nguồn thức ăn cho con người và vật nuôi.

Vi khuẩn lactic (LAB - Lactic Acid Bacteria) có ứng dụng khá rộng rãi trong thực tiễn và có ý nghĩa quan trọng trong nghiên cứu cũng như trong sản xuất thực phẩm, dược phẩm và công nghiệp hóa chất [2], là nhóm vi khuẩn được ứng dụng nhiều trong lên men các sản phẩm dưa muối chua; là nhóm vi khuẩn

có lợi cho con người, giúp kích thích hoạt động hệ miễn dịch và cân bằng hệ vi sinh vật trong đường ruột có lợi cho sức khỏe [3]. Bên cạnh đó, nhiều sản phẩm muối chua cũng là nguồn protein, carbohydrate, khoáng chất, vitamin và chất xơ quý giá [4]. LAB còn sinh các thành phần hương thơm, chất kháng khuẩn và exopolysaccharides (EPS) góp phần vào một số đặc điểm quan trọng, như kết cấu, mùi vị và thời hạn sử dụng lâu hơn cho dưa chua lên men [5], [6]. Ngoài ra, LAB trong các sản phẩm ngâm chua có vai trò quan trọng trong việc giảm độc tố nấm mốc trong một số trường hợp nhất định, do đó làm giảm nhiều nguy cơ đối với sức khỏe. LAB được công nhận là GRAS (Generally Recognized As Safe: được công nhận là an toàn) và rất hữu ích để chống lại sự phát triển liên tục của mầm bệnh và vi sinh vật gây hư hỏng trong các sản phẩm muối chua [4], [7].

Trên thế giới và Việt Nam đã có nhiều nghiên cứu ứng dụng các dòng vi khuẩn lactic trong lên men nhiều loại rau củ quả như: bắp cải, cải thảo, củ hành, tỏi, củ kiệu, bòn bòn,...[8], [9], [10] nhưng rau muống chưa được quan tâm và nghiên cứu trong việc tạo sản phẩm chế biến sẵn hoặc sản phẩm lên men nhờ ứng dụng dòng vi khuẩn lactic này. Trên cơ sở đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm ứng dụng vi khuẩn lactic được tuyển chọn vào quá trình lên men rau muống muối chua. Nghiên cứu cũng sẽ góp phần đa dạng hóa sản phẩm lên men, nâng cao giá trị của

¹ Học viên ngành Công nghệ sinh học K27, Trường Đại học Cần Thơ

² Sinh viên ngành Công nghệ sinh học K44, Trường Đại học Cần Thơ

³ Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

*Email: hnttam@ctu.edu.vn

nguồn đặc sản hiện có và phần nào đáp ứng nhu cầu sử dụng thực phẩm đa dạng của người dân Việt Nam hiện nay.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu và hóa chất

Vật liệu: rau muống (*Ipomoea aquatica*) thu tại vườn thuộc xã Mỹ Khánh, huyện Phong Điền, thành phố Cần Thơ; dòng *Lactobacillus plantarum* CMT2 được đăng ký trên GenBank với mã số MN841920, muối Bạc Liêu, đường Saccharose (đường tinh luyện Biên Hòa), tỏi Lý Sơn và ớt hiểm (ớt xiêm). Dòng vi khuẩn này thuộc vi khuẩn lactic Gram dương, hình que và được trữ trong glycerol ở nhiệt độ -20°C.

Hóa chất và môi trường: yeast extract, beef extract, peptone, glucose, NaOH 0,1N, phenolphthalein, cồn (70% và 96%), MRS agar (De Man, Rogosa và Sharpe, Merck, Đức), môi trường MRS broth (Merck, Đức).

2.2. Khảo sát ảnh hưởng nhiệt độ chần đến chất lượng sản phẩm rau muống muối chua

Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ chần đến quá trình lên men rau muống và đồng thời tiêu diệt một số vi sinh vật bề mặt gây hại đến quá trình lên men. Từ đó chọn ra nhiệt độ chần tối ưu cho quá trình lên men rau muống đạt hiệu quả và giá trị cảm quan cao.

Thân rau muống loại bỏ lá, rửa sạch và cắt khúc 3 - 5 cm sẽ tiến hành chần ở các mức nhiệt độ 60°C, 70°C và 80°C trong 60 giây và không chần. Sau đó để nguội, dùng 100 g rau muống cho vào keo, cho 200 ml dịch lên men với 3% muối, 2% đường đã thanh trùng để nguội và 10 ml dịch giống vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* CMT2 mật số 5×10^9 tế bào/mL. Lên men 6 ngày ở nhiệt độ phòng (30°C - 32°C). Thí nghiệm với 3 lần lặp lại. Chỉ tiêu theo dõi: pH sau lên men và hàm lượng axit toàn phần sau 2, 4 và 6 ngày lên men tính theo axit lactic, tham khảo cảm nhận sau khi dùng thử sản phẩm (đánh giá cảm quan).

2.3. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ muối, mật số vi khuẩn giống và nồng độ đường đến quá trình lên men rau muống

Khảo sát sự ảnh hưởng của nồng độ muối, nồng độ đường của dung dịch ban đầu và mật số vi khuẩn giống đến quá trình lên men rau muống, từ đó chọn ra được các thông số thích hợp để quá trình lên men

rau muống đạt hiệu quả cao. Thí nghiệm với 3 lần lặp lại. Thí nghiệm được bố trí theo mô hình Box Behnken của phần mềm Design Expert 7.0 với ba nhân tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rau muống: Nhân tố A: nồng độ muối, giá trị nhỏ nhất (min) 2% và giá trị lớn nhất (max) 5%; nhân tố B: mật số vi khuẩn giống (tế bào/mL), giá trị nhỏ nhất (min) 10^5 và giá trị lớn nhất (max) 10^9 ; nhân tố C: nồng độ đường, giá trị nhỏ nhất (min) 1% và giá trị lớn nhất (max) 4%. Các giá trị biến thiên này tham khảo từ quy trình sản phẩm muối chua và một số nghiên cứu về sản phẩm muối chua trước đó [8], [10], [11].

Chuẩn bị vi khuẩn giống: sử dụng dòng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* CMT2, đã được tuyển chọn có khả năng sinh axit lactic cao nhất. Rau muống sau khi đã xử lý sơ bộ sẽ chần ở nhiệt độ 70°C tối ưu ở thí nghiệm 1 sau đó để nguội và cho vào keo. Dịch lên men được chỉnh lần lượt về nồng độ muối, nồng độ đường và mật số vi khuẩn giống dựa theo bố trí thí nghiệm của phần mềm Design Expert 7.0. Cho 200 mL dung dịch muối, đường vào keo rau muống, sau đó chủng 10 ml dịch vi khuẩn giống với mật số dựa theo bố trí thí nghiệm của bảng 1. Lên men 6 ngày ở nhiệt độ phòng (30°C - 32°C). Khi quá trình lên men kết thúc tiến hành phân tích mẫu.

Bảng 1. Các nghiệm thức theo bố trí của thể thức Box-Behnken, phần mềm Design Expert 7.0

Nghiệm thức	Nồng độ muối (%)	Mật số LAB (tế bào/mL)	Nồng độ đường (%)
1	2	10^5	2,5
2	5	10^5	2,5
3	2	10^9	2,5
4	5	10^9	2,5
5	2	5×10^8	1
6	5	5×10^8	1
7	2	5×10^8	4
8	5	5×10^8	4
9	3,5	10^5	1
10	3,5	10^9	1
11	3,5	10^5	4
12	3,5	10^9	4
13	3,5	5×10^8	2,5
14	3,5	5×10^8	2,5
15	3,5	5×10^8	2,5

Chỉ tiêu đánh giá: pH sau lên men và hàm lượng axit toàn phần sau 2, 4 và 6 ngày lên men tính theo

axit lactic (%), tham khảo cảm nhận sau khi dùng thử sản phẩm (đánh giá cảm quan). Phương pháp chuẩn độ axit: thu 2 mL dung dịch cho vào bình tam giác. Sau đó nhỏ tiếp 1 - 2 giọt phenolphthalein vào mỗi bình tam giác chứa dung dịch sau lên men và tiến hành chuẩn độ bằng cách cho mỗi lần 20 μ L NaOH 0,1 N đã chuẩn bị, đếm số lần cho vào đến khi mẫu trong bình tam giác chuyển sang màu hồng nhạt và bền màu trong 30 giây. Từ số lần nhỏ NaOH xác định được thể tích NaOH 0,1 N cần dùng. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại.

Công thức tính hàm lượng axit lactic trong 2 mL dịch mẫu: $A = (0,009 \times n \times 1.000) / 2$ (g/L). Trong đó: A là hàm lượng axit trong 2 mL mẫu (g/L); n là số mL NaOH 0,1 N dùng để chuẩn độ; 0,009 là hệ số K của axit lactic.

2.4. Khảo sát ảnh hưởng việc bổ sung CaCl_2 trong dịch lên men đến sự thay đổi cấu trúc và giá trị cảm quan của sản phẩm rau muống

Nghiên cứu ảnh hưởng của CaCl_2 đến cấu trúc của rau muống khi lên men, từ đó xác định tỷ lệ CaCl_2 bổ sung thích hợp giúp cải thiện đặc tính cấu trúc rau muống và giá trị cảm quan của rau muống. Sử dụng dòng *Lactobacillus plantarum* CMT2, thí nghiệm được bố trí giữ nguyên các thông số tối ưu nhất của nhiệt độ chần, 3 nhân tố của quá trình lên men rau muống ở thí nghiệm trước. Nồng độ CaCl_2 bổ sung trong dịch lên men được khảo sát ở các mức: 0%; 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4%. Nồng độ CaCl_2 sẽ thay đổi trên cùng một khối lượng và thể tích dịch lên men. Tiến hành lên men 6 ngày ở nhiệt độ phòng (30°C – 32°C) và thí nghiệm với 3 lần lặp lại. Chỉ tiêu theo dõi: pH sau lên men và hàm lượng axit toàn phần sau 2, 4 và 6 ngày lên men tính theo axit lactic, tham khảo cảm nhận sau khi dùng thử sản phẩm (đánh giá cảm quan).

2.5. Khảo sát ảnh hưởng việc bổ sung lần lượt gia vị tỏi và gia vị ớt trong dịch lên men đến sự cải thiện hương vị sản phẩm rau muống

Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ tỏi và nồng độ ớt đến cải thiện hương vị sản phẩm rau muống muối chua. Từ đó chọn ra nồng độ tỏi và nồng độ ớt thích hợp để quá trình lên men rau muống đạt hiệu quả, có hương thơm mùi vị tốt cho sản phẩm.

Khảo sát việc bổ sung gia vị tỏi: sử dụng dòng *Lactobacillus plantarum* CMT2, thí nghiệm được bố trí giữ nguyên các thông số tối ưu nhất của nhiệt độ chần, 3 nhân tố của quá trình lên men rau muống và

nồng độ CaCl_2 ở thí nghiệm trước. Nồng độ tỏi bổ sung trong dịch lên men được khảo sát ở các mức 0%; 1%; 2%; 3%; 4%. Nồng độ tỏi sẽ thay đổi trên cùng một khối lượng và thể tích dịch lên men. Tiến hành lên men 6 ngày ở nhiệt độ phòng (30°C – 32°C) và thí nghiệm với 3 lần lặp lại. Khảo sát việc bổ sung gia vị ớt: thí nghiệm tương tự như bổ sung gia vị tỏi, giữ nguyên các thông số tối ưu nhiệt độ chần, 3 nhân tố của quá trình lên men rau muống, nồng độ CaCl_2 và nồng độ tỏi tối ưu ở thí nghiệm trên. Nồng độ ớt bổ sung trong dịch lên men được khảo sát ở các mức 0%; 1%; 2%; 3%; 4%. Tiến hành lên men 6 ngày ở nhiệt độ phòng (30°C - 32°C) và thí nghiệm với 3 lần lặp lại. Chỉ tiêu theo dõi: pH sau lên men và hàm lượng axit toàn phần sau 2, 4 và 6 ngày lên men tính theo axit lactic, tham khảo cảm nhận sau khi dùng thử sản phẩm (đánh giá cảm quan).

2.6. Xử lý thống kê

Số liệu được thu thập, xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2013. Bố trí thí nghiệm và xác định các thông số tối ưu theo phần mềm Design Expert 7.0. Phần mềm SPSS 22.0 được sử dụng để phân tích thống kê và kiểm định Duncan các trung bình nghiệm thức ở mức ý nghĩa 5%.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát ảnh hưởng nhiệt độ chần đến chất lượng sản phẩm rau muống muối chua

Hiệu quả của quá trình lên men được đánh giá thông qua việc thay đổi giá trị pH và gia tăng hàm lượng axit tạo thành. Sau 6 ngày lên men ở nhiệt độ phòng (30°C - 32°C), giá trị pH của tất cả các nghiệm thức chần đều thấp hơn 3,5. Chính vì thế, quá trình lên men rau muống dừng lại sau 6 ngày và kết quả sự thay đổi pH và hàm lượng axit trong sản phẩm thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ chần đến pH của dịch lên men và hàm lượng axit của sản phẩm

Nhiệt độ chần trong 60s (°C)	pH	Hàm lượng axit (g/L)
Không chần	3,42	5,31 ^d
60	3,12	6,24 ^{bc}
70	2,92	7,35 ^a
80	3,04	6,76 ^b
CV (%)		5,38

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

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, khi rau muống được chần ở nhiệt độ 70°C trong 60 giây cho giá trị pH thấp nhất và hàm lượng axit lactic cao nhất, đạt 7,35 (g/L) khác biệt có ý nghĩa so với mẫu còn lại. Mẫu không chần cấu trúc nguyên liệu còn cứng, nguyên liệu còn mủn nát, quá trình lên men sinh axit lactic thấp, ngược lại ở 80°C trong 60 giây lại làm cho cấu

trúc sản phẩm bị mềm, giảm giá trị cảm quan của sản phẩm [12], [13]. Để đảm bảo sản phẩm rau muống muối chua có chất lượng tốt, bên cạnh chỉ tiêu pH, hàm lượng axit lactic, cấu trúc, màu sắc, mùi vị là một trong những yếu tố rất quan trọng giúp đánh giá chất lượng sản phẩm. Kết quả đánh giá cảm quan được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ chần đến giá trị cảm quan của sản phẩm

Nhiệt độ chần (°C)	Điểm trung bình các chỉ tiêu đánh giá				
	Màu sắc	Mùi	Vị	Độ giòn	Ý thích
Không chần	2,00	3,00	2,50	2,00	2,00
60°C	4,00	3,40	3,20	3,40	3,00
70°C	4,60	4,40	4,50	4,70	4,40
80°C	3,80	3,50	3,50	3,80	3,40

Ghi chú: Kết quả là trung bình của 10 lần lặp lại.

Chất lượng cảm quan của rau muống được xử lý nhiệt đánh giá cao hơn so với mẫu đối chứng, điều này một lần nữa khẳng định quá trình chần góp phần cải thiện chất lượng rau muống muối chua. Ở nhiệt độ chần 70°C đưa rau muống cho điểm giá trị cảm quan cao với cấu trúc giòn đều không bị mềm, có màu sắc tươi sáng đặc trưng của sản phẩm, vị chua mặn hài hòa. Với hương thơm đặc trưng của rau muống lên men cùng với lượng axit lactic cao thì nghiệm thức này được người dùng ưa thích. Nghiệm

thức này phù hợp với kết quả của nghiên cứu của Nguyễn Văn Mười và cs (2013) [11].

3.2. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ muối, mật số vi khuẩn giống và nồng độ đường đến quá trình lên men rau muống

Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của nồng độ muối, nồng độ đường và mật số vi khuẩn giống đến quá trình lên men rau muống theo bố trí của thể thức Box-Behnken (Design Expert 7.0) được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Giá trị pH và hàm lượng axit lactic (g/L) của quá trình lên men bằng dòng vi khuẩn CMT2 của 15 nghiệm thức

NT	Nồng độ muối (%) - MSVK (tb/mL) - Nồng độ đường (%)	pH TB sau lên men			Hàm lượng axit lactic (g/L)		
		2 ngày	4 ngày	6 ngày	2 ngày	4 ngày	6 ngày
1	2 – 10 ⁵ - 2,5	3,66	3,47	3,36	2,13 ^e	4,35 ^{de}	5,16 ^e
2	5 – 10 ⁵ - 2,5	3,55	3,40	3,34	2,37 ^{de}	4,32 ^{de}	5,43 ^e
3	2 – 10 ⁹ - 2,5	3,45	3,31	3,27	5,10 ^a	6,51 ^a	7,02 ^{ab}
4	5 – 10 ⁹ - 2,5	3,43	3,28	3,26	4,23 ^b	6,72 ^a	7,05 ^{ab}
5	2 – 5x10 ⁸ – 1	3,53	3,37	3,35	3,33 ^c	4,50 ^{cde}	5,37 ^e
6	5 – 5x10 ⁸ – 1	3,55	3,40	3,32	2,52 ^d	4,38 ^{de}	5,07 ^e
7	2 – 5x10 ⁸ – 4	3,45	3,32	3,28	3,33 ^c	5,49 ^b	6,42 ^{bc}
8	5 – 5x10 ⁸ – 4	3,51	3,35	3,29	3,03 ^c	5,01 ^{bcd}	6,18 ^{cd}
9	3,5 – 10 ⁵ – 1	3,65	3,49	3,64	2,55 ^d	3,99 ^e	4,11 ^f
10	3,5 – 10 ⁹ – 1	3,49	3,33	3,30	4,50 ^b	5,43 ^b	5,64 ^{de}
11	3,5 – 10 ⁵ – 4	3,59	3,43	3,32	2,58 ^d	4,41 ^{de}	6,33 ^{bcd}
12	3,5 – 10 ⁹ – 4	3,47	3,31	3,25	4,98 ^a	7,23 ^a	7,65 ^a
13	3,5 – 5x10 ⁸ – 2,5	3,52	3,36	3,28	3,33 ^c	5,31 ^{bc}	6,76 ^{bc}
14	3,5 – 5x10 ⁸ – 2,5	3,49	3,40	3,29	3,30 ^c	5,16 ^{bcd}	6,84 ^{bc}
15	3,5 – 5x10 ⁸ – 2,5	3,50	3,38	3,31	3,21 ^c	5,01 ^{bcd}	6,69 ^{bc}
CV%							6,37

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

Kết quả từ bảng 4 gồm 15 nghiệm thức cho thấy, ở những nghiệm thức có hàm lượng axit lactic cao thì pH còn lại sau lên men thấp hơn so với nghiệm thức có hàm lượng axit lactic thấp. Sau 6 ngày lên men, giá trị pH dao động từ 3,25 (nghiệm thức 12) đến 3,64 (nghiệm thức 9), hàm lượng axit lactic các nghiệm thức nằm trong khoảng từ 5,07 g/L đến 7,65 g/L. Các nghiệm thức với mật số tế bào vi khuẩn giống cao trong khoảng 10^8 - 10^9 tế bào/mL, nồng độ muối từ 3,5 - 5% và đường từ 2,5 - 4% giúp vi khuẩn hoạt động tốt hơn và cho lượng axit lactic cao hơn các nghiệm thức có mật số vi khuẩn giống thấp và nồng độ muối, đường thấp. Theo Bảng Hồng Lam (2015), mức độ thuần khiết của vi khuẩn lactic có ảnh hưởng chất lượng rau quả muối chua, lượng vi khuẩn lactic càng nhiều và mức độ thuần khiết càng cao thì tốc độ của quá trình lên men càng nhanh và sản phẩm có chất lượng càng tốt. Ngược lại, lượng vi khuẩn lactic càng ít và mức độ thuần khiết càng thấp, các vi khuẩn gây hại càng có điều kiện phát triển làm hư hỏng sản phẩm [14]. Nghiệm thức 12 (NaCl 4%, MSVK 10^9 tế bào/mL và đường 3,5%) cho lượng axit lactic cao nhất 7,65 g/L và nghiệm thức 3 (NaCl 2%, MSVK 10^9 và đường 2,5%), nghiệm thức 4 (NaCl 5%, MSVK 10^9 và đường 2,5%) lượng axit lactic lần lượt là 7,02 g/L và 7,05 g/L, khác biệt có ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức còn lại. Kết quả này khá tương

đồng với nghiên cứu đưa cải lên men của Nguyễn Văn Mười và cs (2013) [9] với dịch phối chế ban đầu có nồng độ muối là 4%, sau 6 ngày lên men cho sản phẩm có hàm lượng axit cao nhất và chất lượng tốt nhất.

Để xác định giá trị tối ưu nhất về các nhân tố nồng độ muối, nồng độ đường và mật số vi khuẩn giống để cho lượng axit lactic tối ưu phải xây dựng phương trình hồi quy dựa trên kết quả lượng axit lactic thu được sau 6 ngày lên men rau muống của 15 nghiệm thức, được bố trí bằng phần mềm Design Expert 7.0, qua thu thập và phân tích số liệu bằng phần mềm Design Expert 7.0 với độ tin cậy 95%, đưa ra được phương trình hồi quy là:

$$\text{Axit lactic (g/L)} = 6,88 - 0,03 \cdot A + 0,7912 \cdot B + 0,7987 \cdot C - 0,06 \cdot A \cdot B + 0,015 \cdot A \cdot C - 0,0525 \cdot B \cdot C - 0,4437 \cdot A^2 - 0,2712 \cdot B^2 - 0,6763 \cdot C^2 \quad (1)$$

Trong đó: A là nồng độ muối (%), B là mật số vi khuẩn giống (tế bào/mL) và C là nồng độ đường (%).

Tuy nhiên, việc lựa chọn điều kiện phù hợp với dòng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* CMT2 phải căn cứ vào 30 nghiệm thức tối ưu mà phần mềm Design Expert 7.0 đưa ra kết hợp với phương trình hồi quy (1). Tiến hành kiểm tra thực nghiệm đối với 3 trên tổng số 30 nghiệm thức tối ưu được dự đoán bởi phần mềm Design Expert 7.0, kết quả được thể hiện qua bảng 5.

Bảng 5. So sánh hàm lượng axit lactic tổng số theo thuật toán và thực nghiệm của 3 nghiệm thức tối ưu từ phần mềm Design Expert 7.0 (g/L)

NT	NaCl (%) - MSVK (tế bào/mL) - Đường (%)	pH sau lên men	Lượng axit lactic thực tế (g/L)	Lượng axit lactic theo thuật toán (g/L)
1	2,85%-8,3x10 ⁸ -2,77%	3,21	7,14 ^a	7,35
2	3,09%-9,8x10 ⁸ -2,21%	3,38	5,52 ^b	7,21
3	2,72%-8,3x10 ⁸ -3,35%	3,30	6,09 ^b	7,41
CV%			8,01%	

Ghi chú: Số liệu trong bảng là trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột các số có mang các kí tự theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5 % ($P < 0,05$).

Dựa vào kết quả bảng 5, kết quả thực nghiệm 3 nghiệm thức tối ưu cho thấy, ở nghiệm thức 1 (NaCl 2,85%, MSVK $8,3 \times 10^8$ tế bào/mL và đường 2,77%) cho lượng axit lactic cao nhất sau lên men là 7,14 g/L và pH sau lên men là 3,21, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức 2 (NaCl 3,09%, MSVK $9,8 \times 10^8$ tế bào/mL và đường 2,21%) cho lượng axit lactic thấp nhất 5,52 g/L và nghiệm thức 3 (NaCl 2,72%, MSVK $8,3 \times 10^8$ tế bào/mL và đường 3,35%) cho lượng axit lactic là 6,09 g/L. Kết quả này thấp hơn kết quả được dự đoán theo mô hình tối ưu tính bằng phần mềm

Design Expert 7.0 (thực tế cao nhất thu được là 7,14 g/L so với kết quả dự đoán cao nhất là 7,41 g/L). Do đó, các thông số của nghiệm thức 1 với NaCl 2,85%, MSVK $8,3 \times 10^8$ tế bào/mL và đường 2,77% được chọn là thông số tối ưu cho quá trình lên men rau muống.

So sánh với kết quả của Lâm Thị Việt Hà và Nguyễn Văn Mười (2006) [8] nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men bắp cải chua cho thấy nồng độ muối thuận lợi là 2,0-3,0%, nguyên liệu bắp cải để nguyên lá cho cảm quan tốt tương ứng ở

hiệt độ lên men là 30°C (6 - 7 ngày), đối với bắp cải cắt nhỏ nhiệt độ thích hợp là 18°C (9 - 10 ngày). Hàm lượng axit lactic sinh ra để mùi vị dưa tốt nhất khoảng 10,60 - 12,70% (tính theo căn bản khô).

3.3. Khảo sát ảnh hưởng việc bổ sung CaCl_2 trong dịch lên men đến sự thay đổi cấu trúc và giá trị cảm quan của sản phẩm

Bảng 6. Ảnh hưởng của CaCl_2 đến sự thay đổi pH của dịch lên men và hàm lượng axit lactic trong sản phẩm

Nồng độ CaCl_2 bổ sung (%)	pH	Hàm lượng axit lactic (g/L)
0 (đối chứng)	3,57	3,57 ^c
0,1	3,51	3,81 ^c
0,2	3,12	7,35 ^a
0,3	3,34	5,79 ^b
0,4	3,41	4,71 ^{bc}
CV (%)		16,65%

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

Cấu trúc sản phẩm là một trong những thông số quan trọng giúp đánh giá chất lượng sản phẩm dưa rau muống muối chua bên cạnh các chỉ tiêu về hàm lượng axit và pH. Sự có mặt của ion Ca^{2+} trong dung dịch muối canxi sẽ ngăn sự làm mềm rau quả, cải

thiện góp phần duy trì cấu trúc cho sản phẩm [15]. Có ý nghĩa tích cực đến đặc tính cấu trúc sản phẩm cũng như tiến trình này có thể tác động đến cấu trúc mô tế bào dẫn đến sự khác biệt về mức độ biến đổi pH cuối cũng như hàm lượng axit lactic sinh ra trong dưa chua rau muống. Việc bổ sung CaCl_2 với các nồng độ khác nhau tác động đến mô tế bào làm thay đổi pH cũng như hàm lượng axit lactic sinh ra trong rau muống muối chua. Kết quả trình bày ở bảng 6.

Từ kết quả ở bảng 6 cho thấy, khi bổ sung CaCl_2 pH dao động trong khoảng 3,12 - 3,57, điều này khẳng định quá trình lên men đạt hiệu quả. Hàm lượng axit cao hơn so với nghiệm thức đối chứng. Bổ sung CaCl_2 ở nồng độ 0,2% cho hàm lượng axit cao nhất 7,35 g/L, khác biệt có ý nghĩa thống kê. Điều này có thể là do việc bổ sung ion Ca^{2+} là tăng áp suất thẩm thấu, dẫn đến sự thay đổi tính chất keo của protein trong chất nguyên sinh của tế bào, tăng sự khuếch tán các thành phần dịch trong tế bào ra môi trường lên men, nhờ đó cung cấp nguồn dưỡng chất cho vi khuẩn lactic sử dụng để thực hiện quá trình lên men [16]. Ngoài ra, bổ sung ion Ca^{2+} có thể cung cấp nguồn khoáng chất cần thiết cho quá trình trao đổi chất và phát triển của vi sinh vật, do đó gia tăng hàm lượng axit trong sản phẩm. Bên cạnh đó CaCl_2 góp phần cải thiện đặc tính cấu trúc, giá trị cảm quan cho sản phẩm.

Bảng 7. Ảnh hưởng của việc bổ sung CaCl_2 trong dịch lên men đến chất lượng cảm quan sản phẩm

Nồng độ CaCl_2 (%)	Điểm trung bình các chỉ tiêu đánh giá				
	Màu sắc	Mùi	Vị	Độ giòn	Ý thích
0% (đối chứng)	3,60	3,40	3,20	3,10	3,20
0,1%	4,20	3,80	4,00	4,00	3,70
0,2%	4,70	4,60	4,40	4,80	4,60
0,3%	4,30	3,00	2,00	2,50	2,50
0,4%	4,00	2,10	1,60	1,80	1,50

Ghi chú: Kết quả là trung bình của 10 lần lặp lại.

Kết quả ở bảng 7 đánh giá cảm quan dưa rau muống cho thấy, khi bổ sung CaCl_2 vào dịch lên men ở nồng độ 0,1% và 0,2% góp phần tăng chất lượng sản phẩm, dưa rau muống tạo độ giòn không bị mềm, mùi vị rau muống thơm ngon, không có mùi vị lạ. Ngược lại, bổ sung CaCl_2 0,3% và 0,4% gây tác động không mong muốn đến tính chất cảm quan, cấu trúc dưa hiện tượng bị mềm, có mùi hăng, vị chát đắng cho dưa rau muống. Nghiên cứu của Fleming và cs (1987) đã cho thấy cấu trúc của sản phẩm dưa leo

được duy trì tốt khi bổ sung 0,2% CaCl_2 vào dịch lên men, tuy nhiên khi gia tăng nồng độ canxi từ 0,3% sẽ tạo vị xấu cho sản phẩm dưa leo muối chua [17]. Kết luận nghiệm thức bổ sung CaCl_2 với nồng độ 0,2% đạt giá trị cảm quan tốt nhất với cấu trúc sản phẩm giòn đều, có màu sắc tươi sáng đặc trưng của sản phẩm, vị chua mặn hài hòa. Với hương thơm đặc trưng của dưa rau muống lên men cùng với lượng axit lactic cao thì nghiệm thức này được người dùng ưa thích.

Nghiệm thức này phù hợp với kết quả của nghiên cứu của Nguyễn Văn Mười và cs (2013) [11], [18].

3.4. Khảo sát ảnh hưởng việc bổ sung lần lượt gia vị tỏi và ớt trong dịch lên men đến sự cải thiện hương vị sản phẩm rau muống

Việc bổ sung gia vị tỏi và ớt trong chế biến thực phẩm có tác dụng làm tăng mùi vị sản phẩm, kích thích dịch vị, dễ tiêu hóa, có ý nghĩa tích cực giá trị cảm quan sản phẩm rau muống muối chua. Bên cạnh đó, hàm lượng axit và pH vẫn được theo dõi để đánh giá chất lượng sản phẩm.

Kết quả ở bảng 8 cho thấy, ở các nghiệm thức bổ sung lần lượt tỏi và ớt cho giá trị pH thấp và hàm lượng axit lactic cao hơn so với nghiệm thức không bổ sung. Chứng tỏ tỏi và ớt góp phần thúc đẩy quá trình lên men, cung cấp đường chất cho vi khuẩn lên men lactic hoạt động mạnh. Cụ thể, ở nghiệm thức bổ sung 3% tỏi và 3% ớt cho giá trị pH thấp nhất là 3,21 – 3,30 và hàm lượng axit sinh ra cao nhất là 9,75 g/L và 8,52 g/L, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Ngược lại ở nồng độ bổ sung 4% tỏi và 4% ớt thì lượng axit lactic sinh ra thấp hơn nồng độ 3%, điều này cho thấy khi sử dụng tỏi và ớt với nồng độ cao sẽ ức chế hoạt động của vi khuẩn

lactic, ảnh hưởng đến quá trình lên men sản phẩm do trong tỏi và ớt chứa nhiều chất kháng khuẩn, ức chế hoạt động vi sinh vật. Bên cạnh hàm lượng axit lactic, tỏi và ớt còn giúp gia tăng cải thiện mùi vị cho sản phẩm dưa rau muống. Kết quả đánh giá cảm quan trình bày ở bảng 9 và 10.

Bảng 8. Ảnh hưởng gia vị tỏi và ớt tác động đến sự thay đổi pH của dịch lên men và hàm lượng axit lactic trong sản phẩm rau muống

Nồng độ tỏi và ớt (%)	pH		Hàm lượng axit lactic (g/L)	
	Tỏi	Ớt	Tỏi	Ớt
0% (đối chứng)	3,51	3,43	4,80 ^d	6,69 ^c
1%	3,48	3,38	5,70 ^d	7,20 ^c
2%	3,39	3,35	7,11 ^c	7,80 ^b
3%	3,21	3,30	9,75 ^a	8,52 ^a
4%	3,31	3,42	8,55 ^b	6,75 ^c
CV (%)			8,293,92	

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

Bảng 9. Ảnh hưởng của việc bổ sung tỏi trong dịch lên men đến chất lượng cảm quan sản phẩm

Nồng độ tỏi (%)	Điểm trung bình các chỉ tiêu đánh giá				
	Màu sắc	Mùi	Vị	Độ giòn	Ý thích
0% (đối chứng)	3,40	3,60	3,70	3,20	3,20
1%	3,70	3,80	4,10	3,60	3,40
2%	4,10	4,20	4,40	4,00	3,70
3%	4,30	4,80	4,70	4,50	4,40
4%	4,00	3,20	3,60	4,10	3,00

Ghi chú: Kết quả là trung bình của 10 lần lặp lại.

Bảng 10. Ảnh hưởng của việc bổ sung ớt trong dịch lên men đến chất lượng cảm quan sản phẩm

Nồng độ ớt (%)	Điểm trung bình các chỉ tiêu đánh giá				
	Màu sắc	Mùi	Vị	Độ giòn	Ý thích
0% (đối chứng)	3,20	3,50	3,30	3,40	3,30
1%	3,40	3,80	3,60	3,70	3,70
2%	3,70	4,20	4,00	4,10	4,10
3%	4,00	4,70	4,60	4,30	4,60
4%	3,60	3,00	2,80	4,00	3,10

Ghi chú: Kết quả là trung bình của 10 lần lặp lại.

Kết quả ở bảng 9 và 10 cho thấy, giá trị cảm quan về màu sắc, mùi, vị, độ giòn, ý thích ở các nghiệm thức bổ sung tỏi và ớt có điểm số cao hơn với nghiệm thức không bổ sung (đối chứng). Ở nghiệm

thức nồng độ 3% tỏi và 3% ớt có điểm đánh giá cao hơn các nghiệm thức còn lại với mùi hương và hương vị dưa rau muống đạt điểm số cao nhất (trên 4,5 điểm). Tỏi và ớt góp phần lên men tạo axit cùng rau

muống, lượng muối dịch lên men phù hợp cân bằng với lượng axit lactic tạo nên nên tạo nên vị chua mặn hài hòa. Với hương thơm đặc trưng, không có mùi lạ và màu sắc tươi sáng của dưa rau muống lên men cùng với lượng axit lactic cao thì nghiệm thức này được người dùng ưa thích. Nghiệm thức này phù hợp với kết quả của nghiên cứu của Nguyễn Văn Mười và cs (2013) [11].

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã tìm ra thông số tối ưu cho quá trình lên men rau muống (*Ipomoea aquatica*). Kết quả xác định được nhiệt độ chần rau muống là 70°C sau 6 ngày lên men cho hàm lượng axit lactic cao, đồng thời cũng cho giá trị cảm quan tốt. Thông qua phần mềm Design Expert 7.0 với thể thức Box-Behnken, đã xác định được nghiệm thức tối ưu cho quá trình lên men dưa rau muống là nồng độ muối 2,85%, nồng độ đường 2,77% và mật số vi khuẩn giống $8,3 \times 10^8$ tế bào/mL. Sau 6 ngày lên men ở nhiệt độ phòng (30°C – 32°C), sử dụng dòng *Lactobacillus plantarum* CMT2 với hàm lượng axit lactic cao nhất đạt 7,14 g/L và cảm quan dưa rau muống tốt cho cấu trúc sản phẩm giòn đều, có màu sắc tươi sáng, vị chua mặn hài hòa. Khi bổ sung 0,2% CaCl_2 cho giá trị axit lactic và cảm quan đều cao vì khi bổ sung CaCl_2 tác động đến cấu trúc tế bào sản phẩm cho giá trị tốt. Ngoài ra, việc bổ sung lần lượt gia vị tới 3% và tiếp đến gia vị tới 3% sẽ giúp tăng giá trị cảm quan sản phẩm, đồng thời đẩy nhanh quá trình lên men sản phẩm với lượng axit lactic sinh ra cao 8,52 g/L và điểm đánh giá cảm quan cao, rau muống cho cấu trúc sản phẩm giòn đều, có màu sắc tươi sáng, vị chua mặn hài hòa và được ưa thích nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Behera S. S., El Sheikha, A. F., Hammami, R. & Kumar, A. (2020). Traditionally fermented pickles: How the microbial diversity associated with their nutritional and health benefits? *Journal of Functional Foods*, 21 pages.
2. Mazzoli, R., F., Bosco, I. Mizrahi & Bayer, E.A. (2014). Towards lactic acid bacteria-based biorefineries. *Biotechnology Advances*. 32(7): 1216-1236.
3. El Sheikha A. F. (2018). Molecular techniques and lactic acid-fermented fruits and vegetables: Why and how? In A. F. El Sheikha, R. E. Levin, & J. Xu (Eds.). *Molecular Techniques in Food Biology:*

Safety, Biotechnology, Authenticity & Traceability (1st ed.). Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd, 285–308.

4. El Sheikha, A. F., & Hu, D. M. (2020). Molecular techniques reveal more secrets of fermented foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 60: 11–32.
5. Harutoshi, T. (2013). Exopolysaccharides of lactic acid bacteria for food and colon health applications. In M. Kongo (Ed.). *Lactic acid Bacteria*. London, UK: IntechOpen, 515–538.
6. Leroy, F. & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*. 15: 67–78.
7. Irkin, R & Songun, G. E. (2012). Applications of probiotic bacteria to the vegetable pickle products. *Scientific Reviews & Chemical Communications*. 2: 562–567.
8. Lâm Thị Việt Hà và Nguyễn Văn Mười (2006). Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men bắp cải muối chua. *Tạp chí Nghiên cứu Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ*. 5: 123-130.
9. Nguyễn Văn Mười, Vương Tố Trinh & Trần Thanh Trúc (2013). Xác định chế độ tiền xử lý nhiệt nguyên liệu và nồng độ muối ban đầu của dịch lên men đến chất lượng dưa cải. *Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ*. Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học. 29: 25-31.
10. Nguyễn Văn Mười, Huỳnh Ngọc Tâm và Trần Thanh Trúc (2014). Ảnh hưởng của tiền xử lý và phương thức bảo quản đến sự ổn định màu sắc và đặc tính cấu trúc của ngó sen sau thu hoạch. *Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ*. Số chuyên đề: Nông nghiệp. 1: 116-123.
11. Nguyễn Văn Mười, Nguyễn Ngọc Huỳnh Trân và Trần Thanh Trúc (2013). Ảnh hưởng của kích cỡ nguyên liệu và khối lượng mẻ đến quá trình lên men lactic dưa leo. *Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ*. Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học. 28: 44-51.
12. Waldron K. W., Parker, M. L. And Smith A. C. (2003). Plant cell walls and food quality. *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*. 2, pp. 101-119.

13. Constantinescu V., Campeanu G. H. And Enache L. (2002). Research on the factors influencing the processing of preparing the pickled cucumbers. *Journal of Food Science*. Vol. 1, pp. 135-137.
14. Bằng Hồng Lam và Nguyễn Hữu Hiệp (2015). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn lactic chịu nhiệt sinh Bacteriocin từ thực phẩm lên men truyền thống. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học An Giang, Trường Đại học An Giang* 7: 45 – 51.
15. Bescheur, R. W., Hudson, J. M., & Adam, J. R. (1979). Inhibition of polygalacturonase softening of cucumber pickles by calcium chlorides. *Journal of Food Science*, Volume 44, pp 1786-1787.
16. Trần Minh Tâm (2002). *Bảo quản và chế biến nông sản sau thu hoạch*. Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội.
17. Fleming, H. P., McFeeters, R. F., and Thompson, R. L. (1987). Effect of sodium chloride concentration on firmness retention of cucumbers fermented and stored with calcium chloride. *Journal of Food Science*. 52(3), 653-657.
18. Voldrich, M., HorSakova, I., CeroVsky, M., CizkoVa, H., & OpatoVa, H. (2009). Factors affecting the softening of pickled pasteurized cucumber. *Czech Journal Food Science*. pp 314-318.

INVESTIGATE OF THE OPTIMAL PARAMETERS OF THE FERMENTATION PROCESS OF *Ipomoea aquatica*

Pham Hoang Trieu, Nguyen Minh Trang,
Nguyen Nhu Phuong, Huynh Ngoc Thanh Tam

Summary

The study was conducted to find the optimal parameters for the fermentation of water spinach (*Ipomoea aquatica*). Using strain *Lactobacillus plantarum* CMT2 registered on GenBank with code MN841920 was used for fermentation. The results determined that the blanching temperature of water spinach was 70°C after 6 days of fermentation for high lactic acid content and good sensory value. Through Design Expert software 7.0 with Box-Behnken formula, the optimal treatment for water spinach fermentation was determined as salt concentration of 2.85%, sugar concentration of 2.77% and density of microorganisms. bacteria 8.3×10^8 cells/mL with lactic acid content reaching 7.14 g/L after 6 days of fermentation at room temperature (30°C – 32°C). When adding 0.2% CaCl_2 , the lactic acid and sensory values were high because when CaCl_2 was added, it affected the cell structure of the product for good value. In addition, the addition of 3% garlic and 3% chili seasoning will help increase the sensory value of the product and accelerate the fermentation process of the product. After 6 days of fermentation, sensory evaluation of water spinach showed that the product structure was crispy, bright in color, sour and salty in harmony with the amount of lactic acid of 8.52 g/L.

Keywords: *Lactobacillus plantarum*, *Ipomoea aquatica*, Lactic fermentation.

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Thị Việt Anh

Ngày nhận bài: 4/8/2022

Ngày thông qua phản biện: 24/8/2022

Ngày duyệt đăng: 15/9/2022