

XÁC ĐỊNH CÁC THÔNG SỐ TỐI ƯU CỦA QUÁ TRÌNH LÊN MEN GIẤM VANG XƠ MÍT (*Artocarpus heterophyllus*)

Nguyễn Thị Như Ngọc^{1,*}, Nguyễn Kim Nguyên², Huỳnh Ngọc Thanh Tâm³

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm tối ưu hóa các thông số cho quá trình lên men axit acetic từ xơ mít có bổ sung vi khuẩn *Acetobacter* sp. Các thông số cho quá trình lên men bao gồm nồng độ ethanol (5-9% v/v), hàm lượng đường (25-75 g/L) và mật độ vi khuẩn (10^3 - 10^7 tế bào/mL) trong dịch lên men được tối ưu bằng phương pháp bố trí thí nghiệm theo mô hình Box-Behnken. Bổ sung hàm lượng nitrogen thích hợp cho quá trình lên men với nồng độ chất dinh dưỡng DAP (0-1-2-3 g/L). Giấm vang sau khi lên men được thanh trùng với sự thay đổi nhiệt độ (60-65-70°C), thời gian giữ nhiệt là 2, 4, 6 phút. Các điều kiện lên men tối ưu cho hàm lượng axit acetic cao nhất (4,12%) được xác định với nồng độ ethanol 5,08%, hàm lượng đường 49,55 g/L, mật độ vi khuẩn $1,5 \times 10^6$ tế bào/mL. Hàm lượng nitrogen cần bổ sung để nâng cao chất lượng là 3 g/L DAP sẽ cho hàm lượng axit acetic cao hơn so với dịch lên men không bổ sung chất dinh dưỡng. Giấm vang xơ mít được thanh trùng ở nhiệt độ 60°C và thời gian giữ nhiệt 2 phút đã loại bỏ hoàn toàn vi sinh vật và nấm men mốc, thời gian duy trì chất lượng giấm vang trên 196 ngày.

Từ khóa: Lên men, axit acetic, *Acetobacter* sp., giấm vang xơ mít.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay, cùng với sự phát triển mạnh mẽ của ngành công nghiệp thực phẩm thì lượng phế phụ phẩm cũng tăng theo. Đặc biệt, ở các nhà máy sản xuất sản phẩm chế biến từ trái cây, một lượng lớn phế phụ phẩm thường được sử dụng làm thức ăn chăn nuôi hoặc được đưa ra các bãi rác gây ô nhiễm môi trường nghiêm trọng. Vì vậy, tận dụng nguồn phế phụ phẩm để chế biến các sản phẩm giá trị gia tăng là hoạt động góp phần giảm thiểu ô nhiễm môi trường, nâng cao giá trị kinh tế của phế phụ phẩm, cũng như góp phần đẩy mạnh các hoạt động sản xuất nói chung và chế biến thực phẩm nói riêng.

Mít (*Artocarpus heterophyllus*) được trồng phổ biến ở đồng bằng sông Cửu Long. Các sản phẩm từ mít rất đa dạng như mít tươi, mít sấy, mít chiên, rượu mít. Tuy nhiên, phần thịt quả (ăn được) chỉ chiếm 28,2%, các phế phụ phẩm chiếm 71,8%, trong đó xơ mít chiếm 25,3% [1], [2]. Vì vậy, việc tận dụng phế phụ phẩm là rất cần thiết, nhất là các phế phụ phẩm có giá trị sử dụng cao. Đặc biệt, tận dụng phế phụ phẩm

từ xơ mít để chế biến giấm vang chưa được nghiên cứu tại Việt Nam.

Giấm là sản phẩm của quá trình lên men kết hợp của nấm men và vi khuẩn axit acetic, là một trong những sản phẩm lên men lâu đời nhất được con người sử dụng. Giấm là loại gia vị phổ biến nhất, có mặt thường xuyên trong các bữa ăn hàng ngày. Trong công nghiệp thực phẩm, giấm được dùng làm chất điều vị, tạo hương và bảo quản [3]. Giấm có tính axit, được sản xuất rộng rãi từ gạo, mạch nha, táo, các dạng rượu vang khác nhau và các vật liệu nông nghiệp [4], [5]. Các phế phụ phẩm sau khi xử lý rau quả vẫn có thể được sử dụng để sản xuất giấm. Nghiên cứu cũng cho thấy, sản phẩm giá trị gia tăng có thể đạt được thông qua tái chế hoặc chuyển đổi chất thải thành sản phẩm hữu ích. Do đó, xơ mít có thể được tận dụng để lên men rượu từ đó lên men tiếp tạo sản phẩm giấm vang. Với mục đích xác định các thông số tối ưu cho quá trình lên men giấm vang từ xơ mít có chất lượng tốt nhất và giữ được mùi vị đặc trưng của sản phẩm giấm vang xơ mít, nghiên cứu “Xác định các thông số tối ưu của quá trình lên men giấm vang từ xơ mít (*Artocarpus heterophyllus*)” đã được thực hiện.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Vật liệu: mẫu xơ mít được thu tại Cần Thơ. Nguyên liệu trái mít sau quá trình chế biến tại nhà máy còn lại phần phụ phẩm gồm xơ mít và vỏ. Sau

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

*Email: nguyennhungoc19051998@gmail.com

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

khi vận chuyển về phòng thí nghiệm được sơ chế chọn lấy phần xơ mít (bao gồm cả phần phụ phẩm là múi mít nếu có), rửa sơ bộ và để ráo, đóng gói, bảo quản trong từng bao riêng biệt đem trữ lạnh -4°C.

Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* BV818 thương mại (Trung Quốc sản xuất) do Phòng thí nghiệm Công nghệ thực phẩm, Viện Nghiên cứu và Phát triển công nghệ sinh học (NC&PT CNSH), Trường Đại học Cần Thơ cung cấp.

Vi khuẩn *Acetobacter* sp. phân lập từ giấm cái ở hộ gia đình tại Viện NC&PT CNSH. Vi khuẩn tăng sinh môi trường GYC (Glucose–Yeast extract–Calcium carbonate).

2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

2.2.1. Khảo sát ảnh hưởng hàm lượng ethanol, hàm lượng đường và mật độ vi khuẩn Acetobacter sp. đến hàm lượng axit acetic sinh ra

Nguyên liệu mít trái sau quá trình chế biến tại nhà máy còn lại phần phụ phẩm gồm xơ mít và vỏ được vận chuyển về phòng thí nghiệm, sơ chế chọn lấy phần xơ mít. Rửa sơ bộ và để ráo sau đó tiến hành xay nhuyễn xơ mít với nước (tỉ lệ 1 : 2), bổ sung enzyme pectinase với hàm lượng 0,04% và thủy phân ở nhiệt độ phòng 60 phút [2]. Sau khi thủy phân tiến hành lọc thu lấy dịch quả. Quá trình lên men dịch quả được bổ sung đường saccharose (Biên Hòa, Việt Nam) vào dịch lọc xơ mít đến 23°Brix và điều chỉnh giá trị pH 4,0 bằng axit xitric (Trung Quốc). Tiến hành bổ sung NaHSO₃ với nồng độ 122 mg/L vào dịch quả và giữ trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng (28±1°C) [2]. Sau đó, bổ sung nấm men *Saccharomyces cerevisiae* BV818 thương mại với tỉ lệ 0,06%. Quá trình lên men được tiến hành ở nhiệt độ phòng trong thời gian 9 ngày [2].

Rượu xơ mít sau khi kết thúc quá trình lên men được lọc và pha loãng ở nồng độ thích hợp, điều chỉnh hàm lượng đường, bổ sung vi khuẩn *Acetobacter* sp. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 3 nhân tố theo mô hình Box-Behnken của chương trình phần mềm Design Expert 7.0 với 3 lần lặp lại. Nhân tố A: hàm lượng ethanol (%), giá trị nhỏ nhất (min) 5% và giá trị lớn nhất (max) 9%. Nhân tố B: hàm lượng đường (g/L), giá trị nhỏ nhất (min) 25 g/L và giá trị lớn nhất (max) 75 g/L. Nhân tố C: mật độ vi khuẩn *A. aceti* (tế bào/mL), giá trị nhỏ nhất (min) 10³ và giá trị lớn nhất (max) 10⁷. Các giá trị biến thiên này tham khảo theo quy trình lên men

giấm vang và một số nghiên cứu về quy trình lên men giấm vang trước đó.

Chỉ tiêu theo dõi: pH sau lên men; hàm lượng CKHT (Brix), hàm lượng axit acetic (%); hàm lượng ethanol (%).

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

Số nghiệm thức	Hàm lượng ethanol (%)	Hàm lượng đường (g/L)	Mật độ vi khuẩn (tế bào/mL)
1	7	75	10 ⁷
2	9	25	5x10 ⁶
3	5	75	5x10 ⁶
4	7	50	5x10 ⁶
5	9	75	5x10 ⁶
6	5	50	10 ³
7	9	50	10 ⁷
8	7	50	5x10 ⁶
9	7	25	10 ⁷
10	7	25	10 ³
11	9	50	10 ³
12	5	50	10 ⁷
13	7	50	5x10 ⁶
14	7	75	10 ³
15	5	25	5x10 ⁶

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng nitrogen bổ sung đến chất lượng sản phẩm giấm vang từ xơ mít

Nghiên cứu sự ảnh hưởng của nitrogen đến quá trình lên men sản phẩm giấm vang từ xơ mít, từ đó chọn ra được hàm lượng nitrogen bổ sung thích hợp cho quá trình lên men sản phẩm giấm vang từ xơ mít đạt chất lượng tốt nhất. Quá trình lên men rượu và giấm vang từ xơ mít được thực hiện theo các thông số tối ưu cùng với việc bổ sung vào dung dịch lên men giấm ở các hàm lượng nồng độ chất dinh dưỡng DAP (diamoni hydro phosphate) 0, 1, 2, 3 g/L và theo dõi quá trình lên men 0, 7, 14, 21 ngày theo như bố trí thí nghiệm. Thể tích mỗi đơn vị thí nghiệm là 100 mL. Quá trình lên men giấm được thực hiện ở nhiệt độ phòng (28±1°C) và lấy mẫu để phân tích hàng tuần.

Chỉ tiêu theo dõi: pH sau lên men; hàm lượng CKHT (Brix); hàm lượng axit acetic (%); hàm lượng nitrogen (g/L).

2.2.3. Khảo sát ảnh hưởng của chế độ thanh trùng sau khi lên men giấm để ổn định chất lượng giấm vang

Nghiên cứu sự ảnh hưởng của chế độ thanh trùng và xác định thời gian bảo quản giấm vang xơ mít, từ đó chọn ra được nhiệt độ, thời gian thanh trùng hợp lý, bảo quản chất lượng sản phẩm giấm vang. Thí nghiệm được bố trí với thông số tối ưu nhất từng nhân tố của quá trình lên men giấm vang xơ mít ở thí nghiệm trước sau 7 ngày lên men giấm. Giấm vang xơ mít được lọc, đóng chai, ghép nắp và thanh trùng ở nhiệt độ 60, 65, 70°C và thời gian lần lượt là 2, 4, 6 phút [6]. Sản phẩm sau khi thanh trùng được bảo quản ở nhiệt độ phòng (28±1°C) để theo dõi mật độ vi sinh vật hiếu khí và bào tử nấm mốc (mẫu được lấy 2 tuần 1 lần) các chỉ tiêu được theo dõi trong 196 ngày.

Chỉ tiêu theo dõi: độ pH, hàm lượng CKHT (Brix), hàm lượng axit acetic (%), tổng số vi sinh vật hiếu khí (CFU/ml), tổng số bào tử men mốc (CFU/ml), đánh giá cảm quan sản phẩm theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3217-79.

2.3. Phương pháp phân tích

pH: được đo bằng pH kế (Vernier, Mỹ).

°Brix: được đo bằng chiết quang kế (0-32°Brix, Milwaukee, Rumania).

Hàm lượng acid tổng xác định bằng phương pháp chuẩn độ với NaOH 0,1N với chất chỉ thị màu phenolphthalein (TCVN 4589: 1988).

Hàm lượng cồn sôt (%): sử dụng phương pháp chưng cất và xác định độ cồn bằng cồn kế (0-32%, Việt Nam) và nhiệt độ của dung dịch bằng nhiệt kế (0-100°C, Việt Nam) tại thời điểm xác định độ cồn, sau đó tra bảng nhiệt độ và độ cồn tương ứng (TCVN 8008: 2009) để biết được nồng độ ethanol trong dung dịch ở điều kiện tiêu chuẩn (20°C) [7].

Định lượng hàm lượng nitrogen trong dịch lên men bằng phương pháp Kjeldahl.

Định lượng tổng số vi khuẩn hiếu khí, tổng số nấm men và mốc bằng phương pháp đếm khuẩn lạc (phương pháp định lượng tổng vi khuẩn hiếu khí và tổng số nấm men mốc bằng việc nuôi cấy trên bề mặt thạch) [8].

Đánh giá cảm quan: tiến hành đánh giá cảm quan theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3217-79.

2.4. Xử lý thống kê

Số liệu được thu thập, xử lý và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft Excel 2013. Phần mềm Design Expert để xác định nghiệm thức tối ưu, phần mềm Minitab 16 tính các số liệu thống kê như số trung bình, hệ số biến thiên CV%, độ lệch chuẩn (SD).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát ảnh hưởng hàm lượng ethanol, hàm lượng đường và mật độ vi khuẩn *Acetobacter* sp đến hàm lượng axit acetic tạo thành

Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng hàm lượng ethanol, hàm lượng đường và mật độ vi khuẩn đến quá trình lên men giấm vang xơ mít theo bố trí của thể thức Box-Behnken (Design Expert 7.0) được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Hàm lượng ethanol, hàm lượng đường (g/L) của quá trình lên men bằng dòng vi khuẩn *Acetobacter* sp. của 15 nghiệm thức

NT	Nồng độ ethanol (%) – đường (g/L) –MDVK (tb/mL)	Lượng axit acetic TB (%)
1	7-75-10 ⁷	2,27 ^d
2	9-25-5x10 ⁶	1,51 ^{fg}
3	5-75-5x10 ⁶	3,98 ^b
4	7-50-5x10 ⁶	2,56 ^c
5	9-75-5x10 ⁶	1,41 ^g
6	5-50-10 ³	4,18 ^a
7	9-50-10 ⁷	1,64 ^f
8	7-50-5x10 ⁶	2,56 ^c
9	7-25-10 ⁷	1,93 ^e
10	7-25-10 ³	1,96 ^e
11	9-50-10 ³	1,48 ^{fg}
12	5-50-10 ⁷	4,23 ^a
13	7-50-5x10 ⁶	2,56 ^c
14	7-75-10 ³	1,83 ^e
15	5-25-5x10 ⁶	3,96 ^b
CV%		2,22

Ghi chú: Số liệu trong bảng là trung bình (TB) 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)

Số liệu trong bảng 2 cho thấy ở nghiệm thức 6 (hàm lượng ethanol 5%, hàm lượng đường 50 g/L; mật độ vi khuẩn 10⁷ tế bào/mL) và nghiệm thức 12 (hàm lượng ethanol 5%, hàm lượng đường 50 g/L, mật độ vi khuẩn 10³ tế bào/mL) sau 14 ngày lên men cho hàm lượng axit acetic cao nhất, lần lượt là 4,18%

và 4,23%, khác biệt có ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức còn lại. Kết quả này tương đối phù hợp với Gullo và cs (2008) [9], theo đó phần lớn các chủng vi khuẩn acetic được phân lập có khả năng sinh trưởng trong môi trường có hàm lượng ethanol là 5% v/v, một số ít có thể phát triển trong môi trường có hàm lượng ethanol là 10% v/v.

Hàm lượng ethanol: kết quả phân tích ở bảng 2 cho thấy, hàm lượng ethanol thích hợp cho quá trình lên men acid acetic là 5%, khi nồng độ ethanol cao 7-9% thì lượng axit acetic giảm. Với hàm lượng ethanol lên men giảm là 5% thì lượng axit acetic sinh ra cao do ở nồng độ rượu này vi khuẩn thích ứng nhanh với môi trường. Nồng độ rượu thấp kích thích sự sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn [10], axit sinh ra nhiều, pH giảm mạnh ức chế hoạt động của nấm men, do đó ở hàm lượng ethanol 5% thích hợp cho quá trình lên men giảm vang, hàm lượng axit sinh ra trung bình khoảng 3,5-4%. Ngược lại, với nồng độ rượu 7-9% thì ở giai đoạn đầu (pha lag) vi khuẩn *Acetobacter aceti* cần thời gian để thích nghi với môi trường, lượng axit sinh ra thấp, pH môi trường chưa giảm mạnh nên không đủ để ức chế hoạt động của nấm men, vì thế nấm men tiếp tục hoạt động làm cho nồng độ rượu tăng lên ức chế hoạt động của vi khuẩn *A. aceti* nên hàm lượng acid acetic sinh ra không cao trung bình khoảng 2 - 2,5%.

Hàm lượng đường bổ sung: theo Gullo và cs (2008) [9], đường là nguồn carbon cho vi khuẩn axit acetic nhưng lại là rào cản đối với sự phát triển của chúng khi nồng độ quá cao. Giải thích này cũng phù hợp với kết quả những nghiệm thức có hàm lượng đường bổ sung 50 g/L (nghiệm thức 6, 8, 12) thì lượng axit acetic sinh ra tương đối cao hơn với nghiệm thức có hàm lượng đường 25 g/L và 75 g/L.

Mật độ vi khuẩn: theo Nguyễn Thị Mai Hiền và cs (2014) [6], khi thực hiện tiến trình lên men acetic, việc bổ sung mật độ vi khuẩn tăng dần từ 10^3 - 10^7 tế bào/mL thì hàm lượng axit acetic tạo thành cũng tăng dần. Trong khi với mật độ vi khuẩn sử dụng cho quá trình lên men là 10^3 tế bào/mL thì cho lượng axit sinh ra thấp. Điều này lý giải vì sao hàm lượng axit acetic sinh ra ở các nghiệm thức với mật độ vi khuẩn là 5×10^6 tế bào/mL và mật số 10^7 tế bào/mL thì đa số hàm lượng acid acetic sinh ra nhiều (nghiệm thức 15, 12). Trong khi mật độ vi khuẩn là 10^3 tế bào/mL sử dụng cho tiến trình lên men sinh ra lượng axit ít (nghiệm thức 11), pH môi trường chỉ giảm nhẹ

không đủ để ức chế hoạt động của nấm men, làm cho nấm men tiếp tục lên men rượu trở lại. Khi đó độ rượu sẽ ức chế ngược lại hoạt động của vi khuẩn dẫn đến lượng rượu còn lại nhiều.

Kết quả thống kê cho thấy phần trăm axit acetic chịu ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê ở mức 5% bởi nhân tố hàm lượng ethanol, hàm lượng đường bổ sung và mật độ vi khuẩn. Cả 3 nhân tố này có tương tác với nhau để tác động lên hàm lượng acid acetic ở mức ý nghĩa 5%.

Hàm lượng ethanol, hàm lượng CKHT và pH đều bị ảnh hưởng sau quá trình lên men. Hàm lượng ethanol và đường giảm so với nồng độ ban đầu do quá trình lên men giảm vi khuẩn sử dụng đường và ethanol để sản sinh ra axit acetic. Độ pH ở các nồng độ còn 5% tương đối thấp (2,54) so với các nồng độ còn lại cho thấy nấm men sẽ bị ức chế hoạt động không thể tiếp tục lên men rượu nên hàm lượng ethanol sau lên men khá thấp. Hơn nữa, khi dịch lên men thấp thì khả năng lên men càng yếu [11].

Để xác định giá trị tối ưu nhất về các nhân tố hàm lượng ethanol, hàm lượng đường và mật số vi khuẩn để cho lượng axit acetic tối ưu phải xây dựng phương trình hồi quy dựa trên kết quả hàm lượng axit acetic thu được sau 6 ngày lên men giảm vang xơ mít 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.

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

NT	Nồng độ ethanol (%) - Đường (g/L) - MĐVK (tb/mL)	Lượng axit acetic thực tế (%)	Lượng axit acetic theo thuật toán (%)
1	5,08-49,55- $1,5 \times 10^6$	4,12 ^a	4,14
2	5,00-49,84- $7,3 \times 10^6$	4,05 ^{ab}	4,18
3	5,01-32,25- $6,6 \times 10^6$	4,02 ^b	4,11
CV%		0,89	

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

Tuy nhiên, việc lựa chọn điều kiện phù hợp với dòng vi khuẩn *Acetobacter* sp cần dựa 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 3.

Số liệu ở bảng 3 cho thấy, sau thí nghiệm kiểm chứng tại 3 nghiệm thức tối ưu thì nghiệm thức 1 cho hàm lượng axit acetic cao nhất là 4,12% và gần với kết quả của thuật toán, ngoài ra nghiệm thức 1 khác biệt có ý nghĩa với nghiệm thức 2 và 3.

Sau khi khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men giấm vang xơ mít cho ra kết quả hàm lượng axit acetic cao nhất là 4,12% ở điều kiện hàm lượng ethanol 5,08%, hàm lượng đường bổ sung 49,55 g/L và mật độ vi khuẩn *A. aceti* là $1,5 \times 10^6$. Kết quả này tương đối phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thị Mỹ Huyền và cs (2016) [12], theo đó quá trình lên men axit acetic từ khoai lang tím với sự hiện diện của vi khuẩn *Acetobacter aceti* điều kiện lên men sinh ra axit acetic cao nhất là ethanol 5,5% v/v, hàm lượng đường bổ sung 56,5 g/L và mật độ vi khuẩn *A. aceti* là 10^5 (tế bào/mL).

3.2. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ nitrogen bổ sung đến chất lượng sản phẩm giấm vang từ xơ mít

Từ kết quả của thí nghiệm trước sử dụng các thông số tối ưu để lên men giấm và bổ sung vào dịch lên men giấm ở các hàm lượng chất dinh dưỡng DAP (diamoni hydro phosphate) ở 4 mức độ 0, 1, 2, 3 (khối lượng/thể tích) và theo dõi quá trình lên men (0, 7, 14, 21 ngày) theo như bố trí thí nghiệm. Các chỉ tiêu theo dõi được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Hàm lượng axit acetic trong giấm vang xơ mít ở các nồng độ DAP bổ sung sau lên men theo thời gian

Hàm lượng ADP(g/L)	Lượng axit lactic (%)			
0	0 ngày	7 ngày	14 ngày	21 ngày
1	0,42	3,61	3,18 ^d	3,05
2	0,44	3,82	3,92 ^c	3,84
3	0,48	3,92	4,02 ^b	3,92
CV%	0,52	4,06	4,15 ^a	4,12
			0,86	

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 % ($P < 0,05$).

Bảng 4 cho thấy, hàm lượng axit acetic, pH của các nghiệm thức có sự thay đổi so với ban đầu qua các ngày khảo sát, đặc biệt là ngày thứ 21. Hàm lượng axit acetic ở các nghiệm thức bổ sung DAP 2 g/L và 3 g/L tương đối cao hơn so với các nghiệm thức còn lại ở các ngày từ 0-14, đạt ngưỡng axit cao nhất ở ngày 14 với hàm lượng DAP bổ sung là 3 g/L (41,5 g/L). Đến ngày 21, hàm lượng axit acetic bị giảm so với trước đó. Nhìn chung hàm lượng axit acetic sinh ra ở nghiệm thức không bổ sung DAP thấp hơn so với các nghiệm thức có bổ sung DAP. pH giảm theo thời gian và giảm mạnh ở ngày 14 với hàm lượng DAP bổ sung là 3 g/L (pH=2,03).

Từ kết quả ở bảng 4, đem mẫu ở nghiệm thức sinh ra hàm lượng axit acetic cao nhất (4,15%) bổ sung 3 g/L DAP ở ngày thứ 14 và mẫu trước khi bổ sung DAP ở ngày đầu tiên đem đi phân tích chỉ tiêu nitrogen, thu được kết quả hàm lượng nitrogen sau lên men 0,043 g/100 g và hàm lượng nitrogen trước lên men 0,055 g/100 g. Từ kết quả thu được khi phân tích hàm lượng nitrogen trong 2 mẫu cho thấy hàm lượng nitrogen lúc sau lên men giảm so với ban đầu, chứng tỏ vi khuẩn có sử dụng chất dinh dưỡng DAP được bổ sung để lên men và phát triển tạo ra hàm lượng axit cao.

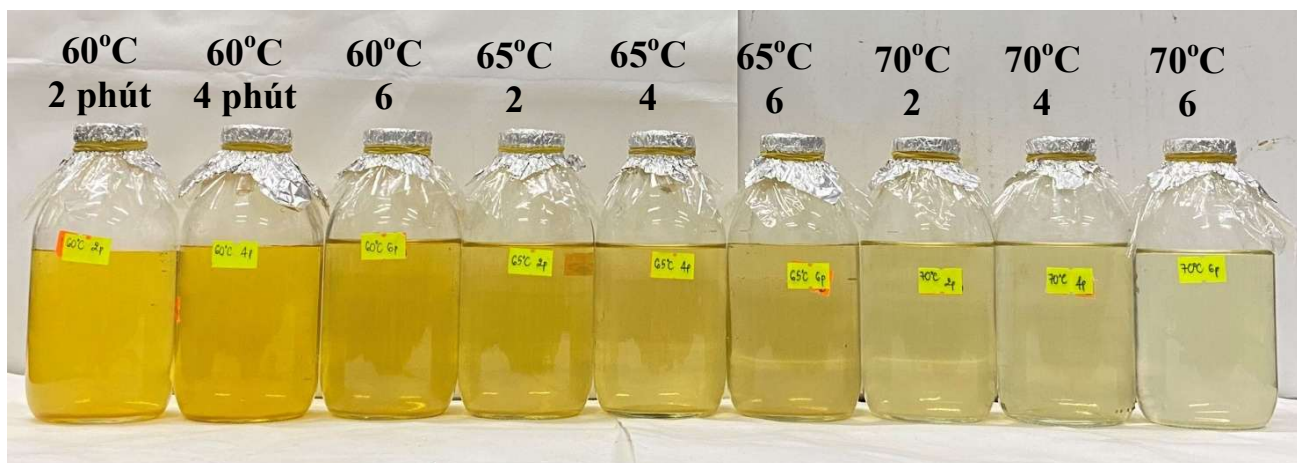
3.3. Khảo sát ảnh hưởng của chế độ thanh trùng sau khi lên men giấm để ổn định chất lượng giấm vang

Giấm vang xơ mít được bảo quản đến ngày 196 có chỉ tiêu thu được ở dịch lên men bảo quản nhiệt độ phòng không được thanh trùng chứa tổng mật số vi sinh vật hiếu khí là $8,6 \times 10^2$ CFU/ml và tổng số men mốc có trong dịch lên men là $7,7 \times 10^2$ CFU/ml. Từ kết quả trên cho thấy giấm vang xơ mít không được thanh trùng thì vi sinh vật và nấm men mốc vẫn còn phát triển theo thời gian. Ở các nghiệm thức được thanh trùng ở nhiệt độ 60, 65, 70°C trong 2, 4, 6 phút thì các vi sinh vật hiếu khí và bào tử nấm men mốc không xuất hiện bị tiêu diệt và ức chế hoàn toàn. Sau 196 ngày, các nghiệm thức được thanh trùng vẫn chưa xuất hiện vi sinh vật hiếu khí và nấm men mốc không vượt mức cho phép [13]. Hàm lượng axit acetic của các mẫu thanh trùng và không được thanh trùng không có sự thay đổi đáng kể trung bình ở các nghiệm thức là $4,15 \pm 0,2\%$. Tuy nhiên quá trình thanh trùng có ảnh hưởng lớn đến màu sắc và mùi vị đặc trưng của sản phẩm và được thể hiện ở hình 1 và bảng 5.

Bảng 5. Kết quả đánh giá cảm quan giấm vang xơ mít sau 196 ngày bảo quản

TG - ND Chỉ tiêu	60°C- 2p	60°C- 4p	60°C- 6p	65°C- 2p	65°C- 4p	65°C- 6p	70°C- 2p	70°C- 4p	70°C- 6p
Trạng thái	4,7	4,5	4,5	4,3	4,3	4,2	4,2	4,2	4,2
Màu sắc	4,8	4,6	4,6	4,3	4,2	4,2	3,8	3,5	3,2
Mùi	4,8	4,6	4,5	4,3	4,3	4,1	4,0	3,6	3,6
Vị	4,6	4,5	4,5	4,6	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
Yêu thích	4,73 ^a	4,55 ^{ab}	4,53 ^{ab}	4,38 ^{ab}	4,33 ^{ab}	4,28 ^{ab}	4,13 ^{ab}	3,95 ^b	3,87 ^b
CV%	6,68								

Ghi chú: Số liệu trong bảng là trung bình của 7 lần lặp lại. Trong cùng một hàng các số có mang các kí tự theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5 % ($P < 0,05$), p =phút.



Hình 1. Giấm vang xơ mít ở các nghiệm thức thanh trùng

Kết quả ở bảng 5 và hình 1 cho thấy, nhiệt độ và thời gian thanh trùng ảnh hưởng đến chất lượng và cảm quan sản phẩm. Trạng thái và vị của giấm vang có sự khác biệt không đáng kể khi tăng nhiệt độ thanh trùng. Từ kết quả cảm quan cho thấy sự thay đổi rõ nhất là màu sắc sản phẩm, khi thanh trùng ở nhiệt độ cao thì sản phẩm sẽ mất màu dần. Mùi thơm đặc trưng của sản phẩm cũng bị giảm dần khi nhiệt độ thanh trùng tăng lên.

Dựa trên kết quả đánh giá cảm quan và chỉ tiêu theo dõi tổng số vi sinh vật hiếu khí, bào tử men mốc trong dịch lên men trong 196 ngày, xác định được nhiệt độ thanh trùng 60°C trong 2 phút là biện pháp bảo quản giấm vang xơ mít tốt nhất. Ở nhiệt độ 60°C trong 2 phút thanh trùng đã loại bỏ hoàn toàn vi sinh vật và nấm men mốc nhưng vẫn giữ được màu sắc, mùi vị đặc trưng của sản phẩm giấm vang xơ mít.

4. KẾT LUẬN

Xác định được nghiệm thức tối ưu cho quá trình lên men giấm vang xơ mít là nồng độ ethanol 5,08%, hàm lượng đường 49,55 g/L, mật độ vi khuẩn $1,5 \times 10^6$ tế bào/mL cho hàm lượng axit acetic đạt 4,12%, sử

dụng dòng vi khuẩn *Acetobacter* sp. và phần mềm Design Expert 7.0 với mô hình Box-Behnken. Hàm lượng nitrogen cần bổ sung để nâng cao chất lượng là 3 g/L DAP sẽ cho hàm lượng acid acetic cao hơn so với dịch lên không bổ sung chất dinh dưỡng. Giấm vang xơ mít được thanh trùng ở nhiệt độ 60°C và thời gian giữ nhiệt 2 phút đã loại bỏ hoàn toàn vi sinh vật và nấm men mốc, thời gian duy trì chất lượng giấm vang trên 196 ngày.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Thu Sang (2010). Nghiên cứu thử nghiệm lên men rượu từ xơ mít chín. *Tạp chí Khoa học ứng dụng* 12, 28-29.
2. Tống Thị Ánh Ngọc, Bùi Thị Ánh Ngọc và Ngô Minh Quang (2018). Ảnh hưởng của pH và chất khô hòa tan đến quá trình lên men rượu từ xơ mít (*Artocarpus heterophyllus*) giống Thái Lan. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*: 54 (Số chuyên đề: Nông nghiệp), 211-218.
3. Bùi Thị Thúy Hà (2016). Tối ưu hóa quá trình lên men dấm chìm từ phế phụ phẩm trong sản

xuất rượu gạo. Doctoral dissertation, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội.

4. Ciani, M. (1998). Wine vinegar production using base wines made with different yeast species. *Journal of Food and Agriculture*, 78(2): 290-294.

5. Horiuchi, K., N. Amizuka, S. Takeshita, H. Takamatsu, M. Katsuura, A. Kudo (1999). Identification and characterization of a novel protein, periostin, with restricted expression to periosteum and increased expression by transforming growth factor β . *Journal of bone and mineral research*, Res. 14:1239-1249.

6. Nguyễn Thị Mai Hiền, Nguyễn Minh Thủy (2014). Tương quan giữa hàm lượng acid acetic sinh ra và ethanol, đường mật số vi khuẩn *A. aceti* trong sản xuất giấm vang chuối. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*; Nông nghiệp (2014) (1): 76-83.

7. Nguyễn Đình Thường và Nguyễn Thanh Hằng (2007). *Công nghệ sản xuất và kiểm tra cồn etylic*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật. Hà Nội, 281 trang.

8. Lưu Đức Phẩm (2002). *Vi sinh vật học và an toàn thực phẩm*. Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội, 423 trang.

9. Gullo, M. and Giudici, P. (2008). Acetic acid bacteria traditional balsamic vinegar: phenotypic traits relevant for bacterial culture selection. *International journal of food microbiology* 125, 46-53.

10. Nguyễn Đức Lượng, Cao Cường, Nguyễn Ánh Tuyết, Lê Thị Thủy Tiên, Tạ Thu Hằng, Huỳnh Ngọc Anh, Nguyễn Thúy Hương và Phan Thị Huyền (2004). *Công nghệ enzym*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh, 534 trang.

11. Dương Tú Liên (2013). Hoàn thiện quy trình sản xuất và nâng cao chất lượng rượu vang sim (*Rhodomyrtus tomentosa* Wight) (Mãng Đen - Kom Tum). *Tạp chí Khoa học, Trường đại học Cần Thơ*, số 18b (2013): 228-237.

12. Nguyễn Thị Mỹ Hiền, Lê Ngọc Vinh, Ngô Văn Tài và Nguyễn Minh Thủy (2016). Tối ưu hóa quá trình lên men giấm vang khoai lang tím (*Ipomoea batatas* L.) và ổn định anthocyanin, hoạt tính chống oxy hóa trong quá trình tồn trữ. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, Nông nghiệp (2016) (1): 33-42.

13. Bộ Y tế (2007). *Quyết định 46/2007/QĐ-BYT của Bộ Y tế về việc ban hành "Quy định giới hạn tối đa ô nhiễm sinh học và hoá học trong thực phẩm"*.

DETERMINATION OF THE PARAMETERS OF THE FERMENTATION PROCESS OF VINEGAR FERMENTED FROM RAGS OF JACKFRUIT *Artocarpus heterophyllus*

Nguyen Thi Nhu Ngoc, Nguyen Kim Nguyen, Huynh Ngoc Thanh Tam

Summary

The study was conducted to optimize the parameters for acetic acid fermentation from rags of jackfruit fiber in the presence of *Acetobacter* sp. The parameters for fermentation include ethanol concentration (5- 9% v/v), sugar content (25-75 g/L) and bacterial density (10^3 - 10^7 cells/mL) in the fermentation solution were optimized by experimental layout method according to Box-Behnken. Add nitrogen content suitable for fermentation with nutrient concentration DAP (0-1-2-3 g/L). After fermentation, vinegar fermented from rags of jackfruit is pasteurized with a temperature change (60-65-70°C) with heat retention times of 2, 4 and 6 minutes. The optimal fermentation conditions for the highest acetic acid content (4.12%) were determined with ethanol concentration 5.08%, sugar content 49.55 (g/L), bacterial density 1.5×10^6 cells/mL. The nitrogen content that needs to be added to improve quality is 3 g/L DAP will give a higher acetic acid content than the fermentation broth without adding nutrients. Jackfruit wine vinegar is pasteurized at a temperature of 60°C and the heat retention time of 2 minutes has maintained the best quality of vinegar.

Keywords: *Fermentation, acetic acid, vinegar fermented from rags of jackfruit, Acetobacter sp.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Hạnh

Ngày nhận bài: 3/8/2022

Ngày thông qua phản biện: 9/9/2022

Ngày duyệt đăng: 5/10/2022