



DOI:10.22144/ctu.jsi.2019.072

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG DUY TRÌ HÀM LƯỢNG POLYPHENOL VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA KHI LÊN MEN RƯỢU VANG TỪ TRÁI GIÁC Ở TỈNH CÀ MAU SỬ DỤNG *Saccharomyces cerevisiae* CM3.2

Đoàn Thị Kiều Tiên^{1,2*}, Huỳnh Thị Ngọc Mi¹, Lữ Hăng Nghi¹, Huỳnh Xuân Phong¹, Nguyễn Ngọc Thanh¹, Bùi Hoàng Đăng Long¹, Hà Thanh Toàn¹ và Ngô Thị Phương Dung¹

¹Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

²Khoa Công nghệ Thực phẩm và Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Kỹ thuật - Công nghệ Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Đoàn Thị Kiều Tiên (email: dtktien@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 13/11/2018

Ngày nhận bài sửa: 21/03/2019

Ngày duyệt đăng: 12/04/2019

Title:

Evaluation of total polyphenol and antioxidant capacity in wine fermentation of three-leaf cayratia from Ca Mau province using *Saccharomyces cerevisiae* CM3.2

Từ khóa:

Cayratia trifolia, kháng oxy hóa, nấm men chịu nhiệt, polyphenol, rượu vang, *Saccharomyces cerevisiae* CM3.2, trái giác

Keywords:

Antioxidant capacity, *Cayratia trifolia*, polyphenol, *Saccharomyces cerevisiae* CM3.2, thermotolerant yeast, three-leaf cayratia, wine

ABSTRACT

Three-leaf cayratia (*Cayratia trifolia* L.) is a source of biological compounds that have the antioxidant capacity. The aims of this study were to evaluate the total polyphenol and antioxidant capacity of three-leaf cayratia and to investigate the suitable conditions for wine fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* CM3.2. The suitable conditions for three-leaf cayratia wine fermentation were determined at 21.09 °Brix, pH 4.5 and 10^5 cells/mL inoculation that could produce 12.46% v/v ethanol after 5 days of fermentation at 35°C. In 1 L scale fermentation, three-leaf cayratia wine had 12.63% v/v ethanol content with good sensorial properties. The total polyphenols and the antioxidant capacity of wine were 0.53 mg GAE/mL and 44.9%, respectively, which were not significantly different as in the three-leaf cayratia juice (polyphenol concentration of 0.61 mg GAE/mL and the antioxidant capacity of 51.4%).

TÓM TẮT

Trái giác (*Cayratia trifolia* L.) có chứa nhiều hợp chất sinh học với khả năng kháng oxy hóa được trồng nhiều ở tỉnh Cà Mau. Nghiên cứu nhằm mục đích đánh giá hàm lượng polyphenol tổng số và khả năng kháng oxy hóa của trái giác trước và sau khi lên men, khảo sát các điều kiện lên men sử dụng *Saccharomyces cerevisiae* CM3.2. Điều kiện lên men rượu vang trái giác được xác định với hàm lượng chất khô hòa tan ở 21,09 °Brix, pH 4,5, mật số giống chủng ban đầu 10^5 tế bào/mL và lên men ở nhiệt độ 35°C trong 5 ngày, sản phẩm đạt độ rượu là 12,46% v/v. Trong thử nghiệm lên men 1 L, rượu vang thành phẩm đạt hàm lượng rượu là 12,63% v/v và có giá trị cảm quan tốt; sản phẩm có hàm lượng polyphenol (0,53 mg GAE/mL) và khả năng kháng oxy hóa (44,9%) thay đổi không khác biệt ý nghĩa so với hàm lượng polyphenol (0,61 mg GAE/mL) và khả năng kháng oxy hóa (51,4%) của dịch trái trước khi lên men.

Trích dẫn: Đoàn Thị Kiều Tiên, Huỳnh Thị Ngọc Mi, Lữ Hăng Nghi, Huỳnh Xuân Phong, Nguyễn Ngọc Thanh, Bùi Hoàng Đăng Long, Hà Thanh Toàn và Ngô Thị Phương Dung, 2019. Đánh giá khả năng duy trì hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa khi lên men rượu vang từ trái giác ở tỉnh Cà Mau sử dụng *Saccharomyces cerevisiae* CM3.2. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(Số chuyên đề: Công nghệ Sinh học)(2): 285-291.

1 GIỚI THIỆU

Cây giác (*Cayratia trifolia* L.) đã được một số quốc gia trên thế giới nghiên cứu cho thấy trong thành phần của loài giác chứa nhiều thành phần có được tính sinh học được sử dụng làm thuốc điều trị bệnh ở người như thuốc lợi tiểu, khối u đau thần kinh (Kumar *et al.*, 2011). Trong thành phần cây giác có chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học cao như: acid phenolic, flavonoid, stilbene, anthocyanidin... (Tsao, 2010). Toàn cây chứa araban, chất nhầy, alcol, acid amin, phenol. Rễ chứa alcaloid, tanin, tinh bột 0,588%, chất nhầy, nhựa. Vỏ quả chứa cayratinin, delphinidin 3-p-coumaroyl-sophoroside-5-monoglucoside. Các bộ phận cây giác có chứa dầu sáp màu vàng, steroid, terpenoid, flavonoid, tannin, stilbene, acid hydrocyanic (Gupta, 2007). Ngoài ra, một số nghiên cứu khác trên thế giới còn cho thấy các chiết xuất từ trái giác chứa các hợp chất có khả năng kháng oxy hóa (Rabeta and Lin, 2015).

Ở Việt Nam, cây giác sử dụng để nấu nước chữa bệnh rôm sảy, trái được nhiều người dân dùng làm gia vị để chế biến các món ăn phổ biến thường ngày như: canh chua, cá kho. Ngày nay, trái giác không những được sử dụng để chế biến món ăn mà còn dùng để lên men làm rượu vang và là một đặc sản của rừng U Minh với hương vị và màu sắc đặc trưng. Tuy nhiên, rượu vang trái giác hiện nay vẫn chưa được phổ biến ở nhiều nơi và việc sử dụng nấm men chịu nhiệt lên men rượu vang giác thì có làm thay đổi các hoạt tính sinh học trong nguyên liệu trái ban đầu vẫn chưa được quan tâm. Chính vì vậy, nghiên cứu xác định điều kiện lên men thích hợp cho quy trình lên men rượu vang trái giác sử dụng nấm men chịu nhiệt *Saccharomyces cerevisiae* CM3.2 (*S. cerevisiae* CM3.2) và hàm lượng polyphenol, khả năng chống oxy hóa của nguyên liệu trước và sau lên men được thực hiện.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu

Nguyên liệu trái giác được thu hái ở tỉnh Cà Mau lựa chọn những trái giác chín, mọng nước và căng, có màu đen sẫm. Mẫu được đặt vào các thùng xốp, có lót giấy để tránh va đập, vận chuyển ngay về phòng thí nghiệm Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ trong thời gian 4-6 giờ.

Chủng nấm men *S. cerevisiae* CM3.2 đã được phân lập từ trái giác và lưu trữ tại Phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học Thực phẩm, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ (Đoàn Thị Kiều Tiên và *ctv.*, 2018).

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Phân tích hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa với DPPH (2,2 - Diphenyl - 1 - picrylhydrazyl) của trái giác tươi và dịch trái giác sau lên men

Trái giác sau khi thu hái mang về phòng thí nghiệm được rửa sạch với nước nhiều lần, để ráo và ép lấy dịch trái tươi để xác định hàm lượng polyphenol tổng số bằng phương pháp Folin - Ciolateau (Singleton and Rossi, 1956): 0,5 mL dung dịch mẫu (pha trong methanol) được thêm vào 1,25 mL dung dịch folin 10%, để yên 5 phút; sau đó thêm 1 mL dung dịch Na₂CO₃ 2% vào lắc đều, để yên 45 phút trong tối và đo độ hấp thụ ở bước sóng 765 nm.

Hoạt tính kháng oxy hóa của dịch trái giác tươi và dịch trái giác sau lên men được xác định bằng phương pháp DPPH theo Tabart *et al.* (2007): 1 mL dung dịch mẫu (pha trong methanol) được thêm vào 2 mL DPPH (100 μmol/L), để yên trong tối 30 phút và đo độ hấp thụ ở bước sóng 517 nm. Đối chứng âm (AC) gồm 1 mL methanol và 2 mL DPPH. Mẫu trắng là 3 mL methanol. Phần trăm ức chế được tính theo công thức: $\frac{Ac-As}{Ac} * 100\%$. Trong đó, Ac là bước sóng đo được của mẫu đối chứng và As là bước sóng đo được của mẫu thử.

2.2.2 Xác định điều kiện lên men rượu từ trái giác

a. Xác định nhiệt độ và pH thích hợp cho quá trình lên men rượu trái giác

Thí nghiệm xác định nhiệt độ và pH thích hợp cho quá trình lên men rượu trái giác được thực hiện trong bình tam giác, đậy kín bằng waterclock với thể tích mỗi bình lên men là 100 mL. Trái giác sau khi thu hái, vận chuyển về phòng thí nghiệm được xử lý sơ bộ, rửa dưới vòi nước, tách cuống, chọn trái giác chín, mọng nước và căng, có màu đen sẫm và tiến hành ép tách nước. Nước ép nguyên chất được đo xác định độ Brix và pH ban đầu, sau đó được điều chỉnh về 22 °Brix để thực hiện lên men (sử dụng đường sucrose, sản phẩm Công ty đường Biên Hòa với độ tinh khiết 99,7%). Điều chỉnh dịch lên men về các giá trị pH 4,0; 4,5 và 5,0 bằng natri cacbonat, acid citric và pH tự nhiên (mẫu đối chứng). Sử dụng dòng nấm men *S. cerevisiae* CM3.2, chủng 1 mL dung dịch nấm men đã được nuôi tăng sinh vào bình tam giác chứa 99 mL dịch trái giác, mật số nấm men sau khi chủng là 10⁵ tế bào/mL. Tiến hành lên men ở nhiệt độ phòng (28±2°C) và các mức nhiệt độ 35; 37; 39; 41°C, nhiệt độ lên men được điều chỉnh bằng cách đặt bình lên men trong tủ ủ (Incucell 111, Đức) dựa trên nghiên cứu tương tự của Phong *et al.* (2016); Techaparin *et al.* (2017), tiến hành theo dõi sự thay đổi pH, hàm lượng chất khô hòa tan (độ

Brix) và hàm lượng ethanol của các mẫu khảo sát sau 5 ngày lên men bằng cách chung cất để thu ethanol, đo nhiệt độ và nồng độ cồn thu được, quy về nồng độ rượu ở nhiệt độ 20°C theo quy chuẩn.

b. *Ảnh hưởng của mật số nấm men, hàm lượng chất khô hòa tan và thời gian ủ đến hiệu quả lên men rượu vang từ trái giắc*

Thí nghiệm được thực hiện với các điều kiện được chọn từ thí nghiệm trên với mật số chủng nấm men *S. cerevisiae* CM3.2 lần lượt là 10^3 , 10^5 , 10^7 tế bào/mL. Điều chỉnh độ Brix về các giá trị 20, 22 và 24 °Brix bằng cách bổ sung đường sucrose, thanh trùng bằng NaHSO_3 (140 mg/L) trong 2 giờ và tiến hành lên men với các mức thời gian 5, 7, 9 ngày (Ngô Thị Phương Dung và ctv, 2011). Các thông số thí nghiệm sẽ được bố trí tối ưu hóa với 3 nhân tố, 3 thừa số và 3 lần lặp lại sử dụng phần mềm thống kê Statgraphics 15. Kết quả tối ưu hóa sẽ xác định thông qua phương trình hồi quy và được xác nhận bằng cách tiến hành lên men rượu vang trái giắc ở quy mô 1 L dịch trái giắc. Các chỉ tiêu sau lên men được xác định bao gồm pH, °Brix và độ rượu theo phương pháp của Nguyễn Đình Thường và Nguyễn Thanh Hằng (2005).

Rượu thành phẩm được lọc để thu mẫu đánh giá cảm quan rượu theo TCVN 3217:79, đồng thời sự thay đổi hoạt tính sinh học, thể hiện qua hàm lượng polyphenol tổng số và khả năng kháng gốc tự do DPPH cũng được ghi nhận.

2.2.3 Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại. Số liệu được thu thập và sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2013 để vẽ các biểu đồ thể hiện các kết quả thu được; kết quả được xử lý thống kê bằng phần mềm Statgraphics Centurion 15.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Hàm lượng polyphenol tổng số (TPC) và khả năng kháng oxy hóa của dịch trái giắc

Kết quả khảo sát cho thấy trái giắc có hàm lượng polyphenol và khả năng kháng oxy hóa lần lượt là 1,54 mg GAE/mL và 39,75%. Nghiên cứu của Rabeta and Lin (2015) cho thấy hàm lượng polyphenol của dịch trái giắc có thay đổi trong các

mẫu được ly trích theo phương pháp khác nhau, cao nhất đối với mẫu trái giắc được sấy lạnh khô chiết xuất bằng methanol là 45,1 mg GAE/g mẫu. Mẫu dịch trái tươi pha loãng trong methanol (4,6 mg GAE/g) cao hơn so với dịch trái tươi pha loãng trong nước (2,9 mg GAE/g). Cũng trong nghiên cứu này của Rabeta and Lin (2015) cho kết quả phần trăm ức chế DPPH của dịch trái giắc sấy lạnh khô chiết xuất methanol (92,44%) cao nhất và thấp nhất là dịch trái tươi pha loãng trong dung môi nước (42,22 ± 0,40%).

3.2 Ảnh hưởng của nhiệt độ và pH lên men đến quá trình lên men rượu vang trái giắc

Rượu vang giắc được lên men ở các mức khác nhau như nhiệt độ phòng (28-32°C), 35, 37, 39 và 41°C; ở các giá trị pH khác nhau: pH tự nhiên (3,7); 4; 4,5 và 5; độ Brix được điều chỉnh về 22 °Brix. Kết quả khảo sát khả năng lên men của *S. cerevisiae* CM3.2 trong bình tam giác được thể hiện ở Bảng 1.

Kết quả cho thấy ở nhiệt độ và pH khác nhau thì khả năng lên men rượu của chủng *S. cerevisiae* CM3.2 cũng khác nhau. Ở pH 4,5 và 22 °Brix khi lên men với mật số 10^5 tế bào/mL cho kết quả nồng độ ethanol cao nhất ở tất cả các nghiệm thức. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% so với các nghiệm thức ở pH 3,7 (pH tự nhiên) và pH 5,0. So sánh hai nghiệm thức có độ pH 4,0 và pH 4,5 cho thấy, nồng độ ethanol thu được phần lớn ở các mức nhiệt độ có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%; trừ nghiệm thức ở mức nhiệt độ 30°C, nồng độ ethanol ở pH 4,0 (10,99% v/v) nhỏ hơn pH 5,0 (11,71% v/v).

Khi so sánh nồng độ ethanol thu được ở các mức nhiệt độ khác nhau trong cùng độ pH, có thể thấy nồng độ ethanol thu được cao nhất ở nghiệm thức có nhiệt độ 30°C, sau đó giảm dần ở các nghiệm thức 35°C, 37°C, 39°C và thấp nhất ở nghiệm thức 41°C. Đối với các nghiệm thức ở mức nhiệt độ 35°C và 37°C, nồng độ ethanol thu được ở các nghiệm thức 35°C cao hơn so với 37°C. Vì thí nghiệm được tiến hành nhằm mục đích khảo sát khả năng lên men ở nhiệt độ cao và lựa chọn pH lên men thích hợp của nấm men nên nhiệt độ và pH được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo là pH 4,5 và nhiệt độ 35°C.

Bảng 1: Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của nhiệt độ và pH đến hàm lượng ethanol sinh ra

STT	Nhiệt độ lên men	pH của dịch quả giấm trước khi lên men	pH sau lên men	Độ Brix sau lên men	Hàm lượng ethanol (% v/v ở 20°C)
1	30-TN	3,7	3,64	8,00	10,53 ^{cd}
2	30-4,0	4,0	3,92	6,67	10,99 ^{bc}
3	30-4,5	4,5	4,39	8,00	11,72 ^a
4	30-5,0	5,0	4,62	8,00	11,48 ^{ab}
5	35-TN	3,7	3,58	12,33	9,87 ^e
6	35-4,0	4,0	3,93	10,17	10,69 ^{cd}
7	35-4,5	4,5	4,37	9,00	10,99 ^{bc}
8	35-5,0	5,0	4,57	9,67	8,97 ^f
9	37-TN	3,7	3,58	12,00	9,27 ^f
10	37-4,0	4,0	3,89	12,00	10,17 ^{de}
11	37-4,5	4,5	4,35	11,00	10,47 ^{cd}
12	37-5,0	5,0	4,56	12,83	8,97 ^f
13	39-TN	3,7	3,51	12,33	7,82 ^g
14	39-4,0	4,0	3,82	12,00	8,05 ^g
15	39-4,5	4,5	4,27	11,33	8,36 ^g
16	39-5,0	5,0	4,46	12,33	7,82 ^g
17	41-TN	3,7	3,46	15,00	5,74 ^{hi}
18	41-4,0	4,0	3,66	15,67	5,50 ^{hi}
19	41-4,5	4,5	4,15	15,00	5,98 ^h
20	41-5,0	5,0	4,30	16,33	5,33 ^j

(Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa của các nghiệm thức khảo sát theo kiểm định LSD ở mức độ tin cậy 95%)

3.3 Ảnh hưởng của mật số giống chủng, hàm lượng đường và thời gian lên men đến quá trình lên men rượu vang trái giấm

Chủng *S. cerevisiae* CM3.2 được sử dụng để lên men với các điều kiện ở thí nghiệm trên (pH 4,5 và nhiệt độ lên men là 35°C) với các điều kiện cần khảo sát như: thời gian lên men (5, 7 và 9 ngày), mật số nấm men chủng giống (10^3 , 10^5 , 10^7 tb/mL) và độ Brix (20, 22, 24 °Brix). Kết quả khảo sát được trình bày ở Bảng 2.

Kết quả cho thấy quá trình lên men bị ảnh hưởng bởi hàm lượng chất khô hòa tan. Ở các mẫu có giá trị độ Brix thấp thì hàm lượng ethanol sinh ra thấp, cụ thể ở giá trị lượng đường bổ sung 20 °Brix trong thời gian lên men là 5 hoặc 9 ngày với mật số giống chủng là 10^3 tb/mL, hàm lượng ethanol của dịch trái giấm sau lên men chỉ đạt 7,70% và 9,39% v/v. Hàm lượng đường càng cao thì hàm lượng ethanol sinh ra càng cao, tuy nhiên nếu tăng hàm lượng đường quá cao làm thay đổi áp suất thẩm thấu làm mất cân bằng trạng thái sinh lý của nấm men. Điều này, dẫn đến

nấm men bị ức chế quá trình phát triển, làm ảnh hưởng đến kết quả lên men tạo độ cồn, chẳng hạn như ở độ Brix ban đầu 24, hàm lượng ethanol đo được chỉ đạt 8,77% và 8,53% v/v, mặc dù thời gian lên men là 9 ngày với mật số giống chủng là 10^3 tb/mL hay 10^7 tb/mL, khác biệt có ý nghĩa ở mức 5% ($p < 0,05$). Bên cạnh đó, mật số nấm men và thời gian lên men cũng là những yếu tố ảnh hưởng đến sự lên men. Mật số nấm men ban đầu thấp, cần có thời gian thích nghi với môi trường mới và phát triển đến mật số thích hợp, sau đó mới bắt đầu lên men. Khi thời gian lên men ngắn làm nấm men chưa kịp thích nghi với môi trường và hạn chế khả năng lên men tối đa của nấm men, ví dụ ở mật số giống chủng là 10^3 tb/mL trong thời gian lên men 5 ngày, hàm lượng ethanol của dịch sau lên men chỉ đạt 7,70%. Tuy nhiên, nếu kéo dài thời gian lên men cũng làm ảnh hưởng đến sản phẩm lên men như ở cùng điều kiện lên men là 22 °Brix và mật số là 10^5 tb/mL, trong 7 ngày lên men thì hàm lượng ethanol đạt được là 11,77% v/v, nhưng khi lên men trong 9 ngày thì hàm lượng ethanol giảm xuống còn 11,16% v/v, khác biệt có ý nghĩa ở mức 5% ($p < 0,05$).

Bảng 2: Ảnh hưởng của mật số giống, hàm lượng chất khô hòa tan và thời gian lên men

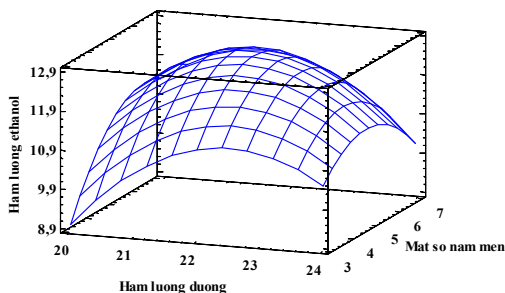
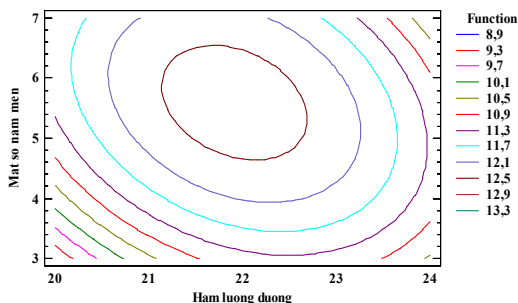
Nghiem thuc	Ngày- Brix Mật số nấm men	pH sau lên men	Brix sau lên men	Hàm lượng ethanol (% v/v ở 20°C)
1	5- 20 - 10 ³	4,32	12,33	7,70 ^a
2	5- 20 - 10 ⁵	4,24	9,00	12,08 ^b
3	5- 20 - 10 ⁷	4,30	11,33	11,16 ^f
4	5- 22 - 10 ³	4,24	9,67	11,63 ^d
5	5- 22 - 10 ⁵	4,18	8,67	12,92 ^a
6	5- 22 - 10 ⁷	4,27	9,33	11,91 ^c
7	5- 24 - 10 ³	4,33	11,00	10,23 ^j
8	5- 24 - 10 ⁵	4,31	11,33	11,38 ^e
9	5- 24 - 10 ⁷	4,30	11,33	10,31 ^{ij}
10	7- 20 - 10 ³	4,27	11,67	10,44 ^{hi}
11	7- 20 - 10 ⁵	4,21	10,00	11,16 ^f
12	7- 20 - 10 ⁷	4,26	11,00	10,53 ^h
13	7- 22 - 10 ³	3,88	10,33	11,42 ^e
14	7- 22 - 10 ⁵	4,21	9,67	11,77 ^{cd}
15	7- 22 - 10 ⁷	4,29	10,67	11,33 ^c
16	7- 24 - 10 ³	4,28	12,33	9,63 ^m
17	7- 24 - 10 ⁵	4,27	11,67	10,31 ^{ij}
18	7- 24 - 10 ⁷	4,31	12,67	9,96 ^l
19	9- 20 - 10 ³	4,34	11,67	9,39 ⁿ
20	9- 20 - 10 ⁵	4,29	12,67	10,01 ^{kl}
21	9- 20 - 10 ⁷	4,32	13,00	9,59 ^m
22	9- 22 - 10 ³	4,25	11,33	10,17 ^{jk}
23	9- 22 - 10 ⁵	4,34	11,33	11,16 ^f
24	9- 22 - 10 ⁷	4,31	12,33	10,94 ^g
25	9- 24 - 10 ³	4,31	12,00	8,77 ^o
26	9- 24 - 10 ⁵	4,37	11,67	9,55 ^{mn}
27	9- 24 - 10 ⁷	4,32	12,33	8,53 ^p

(Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa của các nghiệm thức khảo sát theo kiểm định LSD ở mức độ tin cậy 95%)

Để xác định điều kiện lên men tối ưu từ các thông số như ngày lên men, độ Brix và mật số, các thông số này được phân tích bằng chương trình Statgraphics Centurion 15 với độ tin cậy 95%. Phương trình hồi quy được thiết lập như sau:

$$H = -222,737 + 18,077 * X + 11,6363 * Y + 7,57932 * Z - 0,357824 * X * X - 0,394705 * X * Y - 0,293698 * X * Z - 0,236574 * Y * Y - 1,07163 * Y * Z - 0,0790741 * Z * Z + 0,0457812 * X * Y * Z$$

Trong đó H là độ cồn; X là nồng độ đường; Y là mật số; Z là ngày. Từ phương trình trên, lấy đạo hàm theo từng biến số và giải hệ phương trình, xác định được điều kiện tối ưu lên men dịch trái giấm sử dụng chủng *S. cerevisiae* CM3.2 là 5 ngày lên men; 21,09 °Brix và mật số nấm men 10⁵ tb/mL với nồng độ ethanol theo lý thuyết đạt được H = 12,46% v/v.



Hình 1: Biểu đồ đường mức và biểu đồ đáp ứng thể hiện sự tương quan giữa nồng độ đường và thời gian lên men đến quá trình lên men dịch trái giấm ở 35°C

Kết quả kiểm chứng sự tương tích của phương trình hồi quy được bố trí lên men rượu vang trái giắc ở quy mô 1 L với các điều kiện tối ưu sử dụng chủng nấm men chịu nhiệt *S. cerevisiae* CM3.2 ở 35°C, độ Brix 21,09, mật số nấm men 10⁵ tb/ml và pH là 4,5 cho thấy sau 5 ngày lên men thu được hàm lượng ethanol 12,63% v/v. Kết quả cho thấy hàm lượng ethanol thực tế thu được không có sự chênh lệch đáng kể so với phương trình lý thuyết (12,46% v/v). Như vậy, kết quả xác nhận khi lên men 1 L cho thấy sự phù hợp của phương trình tối ưu đã thu được và tương đương với các nghiên cứu lên men rượu vang dưa hấu (Ngô Thị Phương Dung và ctv, 2011), rượu vang khóm (Huỳnh Xuân Phong và ctv, 2017), rượu

vang cam (Nguyễn Phúc Tường và ctv, 2011). Kết quả phân tích hàm lượng polyphenol và khả năng kháng oxy hóa cho thấy hàm lượng polyphenol trước và sau khi lên men của dịch trái giắc lần lượt là 0,53 và 0,61 mg GAE/mL. Đối với giá trị phần trăm ức chế DPPH, sau khi lên men là 44,9% có thấp hơn so với nguyên liệu ban đầu là 51,4%, cho thấy khả năng oxy hóa và hàm lượng polyphenol của dịch trái giắc không bị ảnh hưởng nhiều bởi quá trình lên men. Kết quả đánh giá cảm quan được thể hiện độ trong, rượu vang trái giắc lên men từ chủng *S. cerevisiae* CM3.2 được đánh giá tốt, độ trong và màu sắc của rượu đạt 96% (4,8/5,0 điểm), mùi đạt 88% (4,4/5,0 điểm), vị đạt 86% (4,3/5,0 điểm) (Bảng 3).

Bảng 3: Kết quả đánh giá cảm quan rượu vang trái giắc

Chỉ tiêu chất lượng	Điểm chưa có trọng lượng của 10 thành viên										Tổng điểm chưa có trọng lượng	Điểm trung bình chưa có trọng lượng	Hệ số quan trọng	Điểm đã được hiệu chỉnh
	A	B	C	D	E	F	G	H	K	L				
Độ trong và màu sắc	5	5	5	5	5	5	5	4	5	4	48	4,8	0,8	3,84
Mùi	5	5	4	4	5	4	5	4	4	4	44	4,4	1,2	5,28
Vị	4	4	5	4	4	5	4	4	4	5	43	4,3	2,0	8,6
Tổng (Điểm chung)													4,0	17,72

Đối chiếu với bảng đánh giá chất lượng rượu theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN-3217:79, rượu vang trái giắc được xếp loại khá.

4 KẾT LUẬN

Trái giắc là nguồn nguyên liệu tiềm năng để lên men làm rượu với hàm lượng polyphenol và khả năng chống oxy hóa cao. Rượu vang giắc được lên men tốt với chủng nấm men chịu nhiệt *S. cerevisiae* CM3.2 ở các điều kiện là 21,09 °Brix, pH 4,5 với mật số nấm men là 10⁵ tb/mL và lên men ở nhiệt độ 35°C sau 5 ngày lên men; hàm lượng ethanol trong sản phẩm là 12,46% v/v. Rượu vang có hàm lượng polyphenol và khả năng kháng oxy hóa lần lượt là 0,53 mg GAE/mL và 44,9%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Đoàn Thị Kiều Tiên, Lữ Hằng Nghi, Nguyễn Ngọc Thanh, Huỳnh Xuân Phong, Hà Thanh Toàn và Ngô Thị Phương Dung, 2018. Phân lập và tuyển chọn nấm men chịu nhiệt lên men rượu vang trái giắc (*Cayratia trifolia* L.). Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm Nghiệp. 2/2018: 55-64.
 Gupta, A.K. and Shamar, M., 2007. Review on Indian Medical Plant. New Delhi: Indian Council of Medical Research. 7: 879-882.
 Kumar, D., Kumar, S., Gupta, J., Arya, R. and Gupta, A., 2011. A review on chemical and biological

properties of *Cayratia trifolia* L. (Vitaceae). Pharmacognosy Reviews. 5(10): 184-188.
 Huỳnh Xuân Phong, Danh Minh Lợi, Nguyễn Ngọc Thanh và ctv., 2017. Tuyển chọn nấm men chịu nhiệt và nghiên cứu điều kiện lên men rượu vang khóm. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 51B: 7-15.
 Ngô Thị Phương Dung, Lý Huỳnh Liên Hương, Huỳnh Xuân Phong, 2011. Phân lập, tuyển chọn nấm men và xác định điều kiện ảnh hưởng quy trình lên men rượu vang dưa hấu. Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ. 18(B): 137-145.
 Nguyễn Đình Thường và Nguyễn Thanh Hằng, 2005. Công nghệ sản xuất và kiểm tra cồn etylic. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật. Hà Nội, 281 trang.
 Nguyễn Phúc Tường, 2011. Phân lập và tuyển chọn nấm men lên men tự nhiên dùng sản xuất rượu vang cam. Luận văn Thạc sĩ Công nghệ sinh học. Trường Đại học Cần Thơ
 Phong, H. X., Giang, N.T.C., Nitiyon, S., Yamada, M., Thanonkeo, P. and Dung, N.T.P., 2016. Ethanol production from molasses at high temperature by thermotolerant yeasts isolated from cocoa. Can Tho University Journal of Science. 3: 32-37.
 Rabeta, M.S. and Lin, S.P., 2015. Effects of different drying methods on the antioxydant activities of leaves and berries of *Cayratia trifolia*. Sains Malaysiana. 44(2): 275-280.

- Singleton, V.L. and Rossi, J.A., 1956. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16: 144-158.
- Tabart, J., Kevers, C., Sipel, A., Pincemail, J., Defraigne, J.O. and Dommes, J., 2007. Optimisation of extraction of phenolics and antioxidants from black currant leaves and buds and of stability during storage. *Food Chemistry*. 105(3): 1268-1275.
- Techaparin, A., Thanonkeo, P. and Klanrit, P., 2017. High-temperature ethanol production using thermotolerant yeast newly isolated from Greater Mekong Subregion. *Brazilian Journal of Microbiology*. 48(3): 461-467.
- Tiêu chuẩn Việt Nam 3217:1997 (TCVN 3217:1997), (1997). Rượu - Phân tích cảm quan – Phương pháp cho điểm. Hà Nội.
- Tsao, R., 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenol. *Nutrients*. 2(12): 1231- 1246.