

DOI:10.22144/ctu.jvn.2021.181

## KHẢO SÁT CÁC ĐIỀU KIỆN LÊN MEN VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA CỦA RƯỢU VANG CHÙM RUỘT (*Phyllanthus acidus* (L.) SKEELS)

Huỳnh Ngọc Thanh Tâm<sup>1\*</sup>, Nguyễn Ngọc Phương Trang<sup>2</sup>, Trần Thị Mai Thi<sup>2</sup>, Nguyễn Thanh Thảo Nguyễn<sup>2</sup> và Lâm Thảo Nhi<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup>Sinh viên ngành Công nghệ Sinh học K43, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>3</sup>Học viên cao học ngành Công nghệ Sinh học K26, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Huỳnh Ngọc Thanh Tâm (email: hnttam@ctu.edu.vn)

### ABSTRACT

This study was to determine the conditions effecting wine fermentation process of *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels using *Saccharomyces cerevisiae*. Design Expert 7.0 was used to determine optimal factors including pH, °Brix and yeast cell density. The results indicated that, with pH 4.77, 24.79°Brix and  $8.08 \times 10^6$  cells/mL, after 14 days of fermentation, the highest alcohol content reached 8.88 % v/v. Simultaneously, 11 compounds have been identified through spectroscopic methods, including steroids, triterpenoids, phenols, tannins, flavonoids, quinones, saponins, antocyanins, glucose, carotenoids and alkaloids from initial juice and wine product. The total polyphenol content of wine was higher than Otaheite gooseberry juice, particularly 297.573 mgGAE/L and 174.549 mgGAE/L respectively. After fermentation, the reduction DPPH capacity of wine reached an IC<sub>50</sub> value at 45.132 µL/mL, which is higher than otaheite gooseberry juice (IC<sub>50</sub> value at 59.973 µL/mL.), shows that wine has better antioxidant activities than the otaheite gooseberry juice.

### TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu xác định các điều kiện ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang chùm ruột (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) sử dụng dòng nấm men *Saccharomyces cerevisiae*. Phần mềm Design Expert 7.0 được sử dụng để xác định các thông số tối ưu bao gồm pH, độ Brix và MSNM. Kết quả cho thấy với pH 4,77, 24,79°Brix và MSNM ban đầu là  $8,08 \times 10^6$ , tế bào/mL sau 14 ngày lên men cho độ cồn cao nhất đạt 8,88 % v/v. Mười một hợp chất thực vật từ dịch trái và rượu vang chùm ruột được xác định thông qua phương pháp quang phổ bao gồm steroid, triterpenoid, phenol, tannin, flavonoid, quinone, saponin, antocyanin, glucose, carotenoid và alkaloid. Hàm lượng polyphenol tổng của rượu vang chùm ruột cao hơn dịch trái, cụ thể là 297,573 mg GAE/L và 174,549 mg GAE/L. Sau quá trình lên men, khả năng khử gốc DPPH của rượu vang chùm ruột có giá trị IC<sub>50</sub> là 45,132 µL/mL, tăng so với dịch chùm ruột ban đầu với giá trị IC<sub>50</sub> là 59,973 µL/mL, cho thấy rượu vang chùm ruột có khả năng kháng oxy hóa tốt hơn dịch trái chùm ruột ban đầu.

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 09/08/2021

Ngày nhận bài sửa: 14/10/2021

Ngày duyệt đăng: 25/12/2021

### Title:

Determination of fermentation conditions and antioxidant activity of *Phyllanthus acidus* (L.) SKEELS wine

### Từ khóa:

Chùm ruột, hoạt tính kháng oxy hóa, nấm men, rượu vang, *Saccharomyces cerevisiae*

### Keywords:

Antioxidant activity, *Phyllanthus acidus* (L.) SKEELS, *Saccharomyces cerevisiae*, yeast, wine

## 1. GIỚI THIỆU

Chùm ruột (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) thuộc họ Phyllanthaceae (Diệp hạ châu), là loài cây nhiệt đới và cận nhiệt đới có nguồn gốc từ Madagascar (đảo quốc ở Ấn Độ Dương) (Morton et al., 1987). Hầu hết các bộ phận của cây bao gồm lá, trái, thân cây đều có những hợp chất quý và góp phần trong việc điều trị bệnh cũng như cải thiện sức khỏe con người (Tan et al., 2020). Trái chùm ruột có vị chua, tính mát có chứa nhiều thành phần dinh dưỡng như chất xơ, kali, sắt, vitamin C (Monica et al., 2010). Chùm ruột có chứa nhiều hợp chất như terpenoid (diterpenoid, sesquiterpe-noid và triterpenoid), nucleoside, flavonoid và các hợp chất phenolic (Tan et al., 2020). Nhiều nghiên cứu trên thế giới cũng được thực hiện để đánh giá khả năng kháng khuẩn và hoạt tính chống oxy hóa đối với các bộ phận khác nhau của chùm ruột.

Ở Việt Nam, cây chùm ruột trồng phổ biến ở miền Nam, cho trái vào tháng 6-8 và có thể cho những đợt trái khác trong năm. Tuy nhiên, giá trị kinh tế của trái chùm ruột không cao và các sản phẩm từ trái chùm ruột còn hạn chế nên dẫn đến việc lãng phí nguồn nguyên liệu giàu dinh dưỡng này. Rượu vang là loại rượu đang được ưa chuộng do có độ cồn nhẹ, hương vị thơm tự nhiên, tốt cho sức khỏe như kích thích tiêu hóa... Sử dụng dòng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* là chủng nấm men truyền thống được ứng dụng trong lên men rượu và được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp lên men ethanol (Radecka et al., 2015). Bên cạnh đó, lựa chọn các yếu tố như độ pH, độ Brix và mật số nấm men (MSNM) là những yếu tố cơ bản ảnh hưởng nhiều đến quá trình lên men rượu vang. Kết hợp với phương pháp Box-Behnken là công cụ tối ưu hóa có hiệu quả, thể hiện các tác động của từng yếu tố ảnh hưởng và sự tương tác các yếu tố. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm tìm ra những điều kiện phù hợp cho quá trình lên men rượu vang chùm ruột cũng như góp phần đa dạng hóa các sản phẩm lên men từ trái cây. Đồng thời, nghiên cứu cũng xác định các hợp chất thực vật cũng như đánh giá các hoạt tính kháng oxy hóa có trong dịch trái chùm ruột trước và sau lên men rượu sẽ tạo tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo nhằm nâng cao giá trị kinh tế và khai thác giá trị y học của loài thực vật này.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu và hóa chất

**Vật liệu:** Trái chùm ruột được thu vào tháng 8/2020 ở Cần Thơ. Mẫu được thu thập và đóng gói

trong bao PE (polyetylen) và mẫu được trữ lạnh trong các thùng xốp, tránh ánh sáng mặt trời trực tiếp.

**Hóa chất:** NaHSO<sub>3</sub>, ethanol, NaOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HCl, gallic acid, ascorbic acid (vitamin C), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.12H<sub>2</sub>O, methanol, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, thuốc thử Folin-Ciocalteu, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (điều chỉnh pH), đường saccharose. Tất cả các hóa chất được sản xuất từ Trung Quốc ngoại trừ ethanol (Việt Nam) và Folin-Ciocalteu (Đức).

**Nguồn giống nấm men:** Sử dụng dòng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* 2.1 (Hoa Kỳ), được lưu giữ ở Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

### 2.2. Ảnh hưởng của độ Brix, pH và MSNM đến quá trình lên men rượu vang chùm ruột

Mục tiêu của thí nghiệm là xác định ảnh hưởng của độ Brix, pH và MSNM đến quá trình lên men rượu vang chùm ruột. Thí nghiệm được bố trí gồm 3 nhân tố theo thể thức Box-Behnken, phần mềm Design Expert 7.0. Nhân tố của thí nghiệm gồm có: Độ Brix (thấp nhất là 20, cao nhất là 30), pH (thấp nhất là 4,5, cao nhất là 5,5) và MSNM (tế bào/mL) (thấp nhất là 10<sup>3</sup>, cao nhất là 10<sup>7</sup>). Thí nghiệm được bố trí với các thông số được mô tả ở Bảng 1.

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

Số thí nghiệm	°Brix	pH	MSNM (tb/mL)
1	20	4,5	10 <sup>3</sup>
2	20	5,5	10 <sup>3</sup>
3	20	4,5	10 <sup>7</sup>
4	20	5,5	10 <sup>7</sup>
5	20	5	5x10 <sup>6</sup>
6	25	4,5	5x10 <sup>6</sup>
7	25	5,5	5x10 <sup>6</sup>
8	25	5	10 <sup>3</sup>
9	25	5	10 <sup>7</sup>
10	25	5	5x10 <sup>6</sup>
11	30	4,5	10 <sup>3</sup>
12	30	5,5	10 <sup>3</sup>
13	30	4,5	10 <sup>7</sup>
14	30	5,5	10 <sup>7</sup>
15	30	5	5x10 <sup>6</sup>

Dịch nấm men được chuẩn bị và kiểm tra mật số tế bào nấm men bằng phương pháp đếm trực tiếp bằng buồng đếm hồng cầu để có MSNM theo bố trí thí nghiệm. Trái chùm ruột được ép để lấy nước và

thanh trùng bằng NaHSO<sub>3</sub> (140 mg/L) trong 2 giờ để tiêu diệt vi sinh vật có trong dịch trái. Các nghiệm thức được điều chỉnh theo các thông số bố trí của độ Brix (20, 25, 30) bằng khúc xạ kế, pH (4,5, 5,0, 5,5) bằng pH kế. Sau đó, 1 mL dịch nấm men ở các mật số khác nhau được cho vào 99 mL mỗi dịch phối chế đã chuẩn bị sẵn trong bình tam giác, lắc đều bình tam giác để tế bào nấm men phân bố đều trong dịch trái chùm ruột. Các bình lên men được gắn waterblock và để ở nhiệt độ phòng. Sau thời gian 14 ngày, việc chưng cất được tiến hành để thu cồn, độ cồn được xác định bằng cồn kế và quy về nồng độ ethanol ở 20°C (Nguyễn Đình Thường & Nguyễn Thanh Hằng, 2007). Các chỉ tiêu theo dõi và đánh giá bao gồm pH, độ Brix và nồng độ ethanol.

### 2.3. Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của dịch trái chùm ruột và rượu vang chùm ruột

#### 2.3.1. Định tính các hợp chất thực vật

Mục tiêu là xác định sự hiện diện của các hợp chất thực vật là steroid, triterpenoid, quinone, phenol, tannin, flavonoid, carotenoid, anthocyanin, saponin, alkaloid trong dịch trái chùm ruột ban đầu và sản phẩm rượu vang chùm ruột ở thí nghiệm 2.2. Phương pháp quang phổ UV-VIS được sử dụng theo mô tả của Harbone (1973). Mỗi nghiệm thức sẽ được pha loãng ở nồng độ 10 µg/mL với dung môi methanol và đo độ hấp thụ với tia UV-VIS, sử dụng máy đo quang phổ (Hitachi U-1500) ở dãy bước sóng từ 215 nm đến 550 nm với đối chứng là methanol.

#### 2.3.2. Khảo sát hàm lượng polyphenol tổng

Mục tiêu là xác định hàm lượng polyphenol tổng có trong dịch trái chùm ruột và rượu vang chùm ruột. Hàm lượng polyphenol tổng được xác định dựa trên phương pháp Folin - Ciocalteu được mô tả bởi Hossain et al. (2013) có hiệu chỉnh bằng cách sử dụng gallic acid làm hợp chất polyphenol chuẩn, dung môi là methanol. Độ hấp thụ của dung dịch màu xanh được ghi nhận bằng máy đo quang phổ (Hitachi U-1500) ở bước sóng λ = 765 nm. Hàm

lượng polyphenol tổng được xác định theo công thức sau:

$$P = \frac{a \times V}{m}$$

Trong đó, P: hàm lượng polyphenol tổng (mg gallic acid/mL dịch trích), a: giá trị x từ đường chuẩn với gallic acid (µg/mL), V: thể tích dung dịch dịch quả (mL), m: khối lượng có trong thể tích (g).

#### 2.3.3. Khảo sát khả năng kháng sự oxy hóa

Mục tiêu là xác định khả năng khử gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) của dịch trái chùm ruột và rượu vang chùm ruột. Khả năng kháng oxy hóa được xác định dựa trên phương pháp thu nhật gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), được mô tả bởi Mohamed et al. (2013). Giá trị IC<sub>50</sub> được sử dụng để so sánh khả năng ức chế gốc DPPH của dịch trái chùm ruột và rượu vang chùm ruột. IC<sub>50</sub> là nồng độ của mẫu mà tại giá trị đó có thể ức chế 50% gốc tự do DPPH.

Khả năng khử gốc DPPH được xác định theo công thức sau:

$$IC = \frac{ADPPH - AS}{ADPPH} \times 100$$

Trong đó, IC: phần trăm ức chế (%), ADPPH: độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch DPPH, AS: độ hấp thụ của dung dịch khi chiết xuất mẫu được thêm vào.

### 2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được thu thập, xử lý và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 (Microsoft). Thí nghiệm được bố trí và xác định các thông số tối ưu theo phần mềm Design Expert 7.0 (Stat-Ease Inc). Số liệu thu thập được xử lý thống kê bằng phần mềm SPSS Statistics 20 (IBM).

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Ảnh hưởng của độ Brix, pH và MSNM

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các nhân tố độ Brix, pH và MSNM đến quá trình lên men rượu vang chùm ruột được thể hiện ở Bảng 2.

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

Nghiệm thức	°Brix	pH	MSNM	Độ Brix sau lên men	pH sau lên men	Độ cồn (% v/v)
1	20	4,5	10 <sup>3</sup>	7,83 <sup>ab</sup>	4,40	3,96 <sup>de</sup>
2	20	5,5	10 <sup>3</sup>	16,17 <sup>g</sup>	5,36	0,53 <sup>f</sup>
3	20	4,5	10 <sup>7</sup>	9,17 <sup>bcd</sup>	4,45	3,97 <sup>de</sup>
4	20	5,5	10 <sup>7</sup>	8,83 <sup>abc</sup>	5,12	3,32 <sup>e</sup>
5	20	5,0	5x10 <sup>6</sup>	7,67 <sup>a</sup>	4,59	4,96 <sup>bcd</sup>
6	25	4,5	5x10 <sup>6</sup>	10,67 <sup>e</sup>	4,38	7,86 <sup>a</sup>
7	25	5,5	5x10 <sup>6</sup>	14,83 <sup>g</sup>	5,33	5,40 <sup>bc</sup>
8	25	5,0	10 <sup>3</sup>	13,33 <sup>f</sup>	4,72	6,07 <sup>b</sup>
9	25	5,0	10 <sup>7</sup>	9,83 <sup>cde</sup>	4,65	8,09 <sup>a</sup>
10	25	5,0	5x10 <sup>6</sup>	10,33 <sup>de</sup>	4,54	8,86 <sup>a</sup>
11	30	4,5	10 <sup>3</sup>	18,67 <sup>h</sup>	4,24	4,65 <sup>cd</sup>
12	30	5,5	10 <sup>3</sup>	27,33 <sup>i</sup>	5,38	0,23 <sup>f</sup>
13	30	4,5	10 <sup>7</sup>	19,17 <sup>h</sup>	4,31	5,98 <sup>b</sup>
14	30	5,5	10 <sup>7</sup>	19,17 <sup>h</sup>	5,29	4,32 <sup>cde</sup>
15	30	5,0	5x10 <sup>6</sup>	18,17 <sup>h</sup>	4,50	5,97 <sup>b</sup>

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

Kết quả cho thấy hai nghiệm thức 9 và 10 cho hàm lượng ethanol trên 8% v/v trong 15 nghiệm thức với độ cồn trung bình ở 20°C lần lượt là 8,09% và 8,86% v/v. Các nhân tố độ Brix (A), pH (B) và MSNM (C) đều có ảnh hưởng đến độ cồn trong quá

trình lên men rượu vang. Kết quả phân tích thống kê thể hiện ở Bảng 3 cho thấy ảnh hưởng của từng biến độc lập riêng lẻ (A, B, C), giá trị bậc hai (A<sup>2</sup>, B<sup>2</sup>, C<sup>2</sup>) hay tương tác (BC) đều thể hiện có ý nghĩa (p<0,05).

**Bảng 3. Kết quả phân tích thống kê ANOVA mức độ ý nghĩa của các hệ số hồi quy cho quá trình lên men**

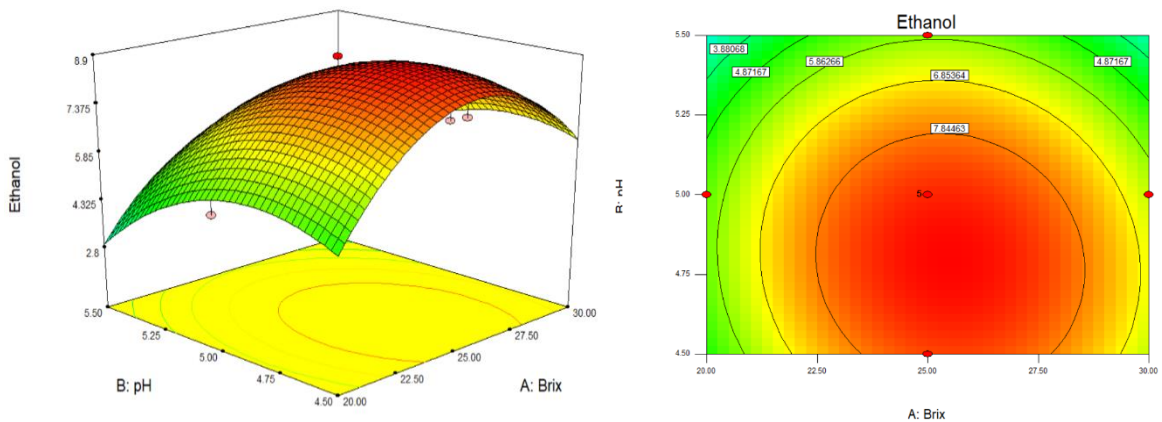
Nguồn	Tổng bình phương	Độ tự do	Bình phương trung bình	Giá trị F	Giá trị P
Mô hình (Model)	83,41	9	9,27	69,95	0,0001
A	1,94	1	1,94	14,62	0,0123
B	15,93	1	15,93	119,69	0,0001
C	10,49	1	10,49	78,80	0,0003
A <sup>2</sup>	16,64	1	16,64	125,06	0,0001
B <sup>2</sup>	4,89	1	4,89	36,74	0,0018
BC	3,84	1	3,84	28,83	0,0030
C <sup>2</sup>	2,22	1	2,22	16,68	0,0095

Mô hình tương quan xây dựng từ thí nghiệm đã thỏa điều kiện với thông số R<sup>2</sup> cao (R<sup>2</sup>=97,27%) và giá trị Adjusted (Adj.) R<sup>2</sup> đạt 96,85%. Trong đó, khoảng 2,7% tổng số biến không được giải thích bằng mô hình này. Mặt khác, giá trị hệ số xác định tương quan R<sup>2</sup> của mô hình còn thể hiện sự tương thích cao giữa các giá trị thực nghiệm và các giá trị dự đoán. Mô hình tương quan được đánh giá tốt khi hệ số xác định tương quan R<sup>2</sup> lớn hơn 0,8 (Guan & Yao, 2008). Như vậy, mô hình hồi quy đa chiều mô tả mối quan hệ giữa độ cồn sinh ra và các biến độc lập được thiết lập.

Để xác định điều kiện lên men tối ưu từ các thông số pH, °Brix và MSNM, độ cồn sau lên men được phân tích bằng chương trình Design Expert 7.0 với độ tin cậy 95%, thu được phương trình hồi quy như sau:

$$\text{Ethanol} = -206,28668 + 5,90261 \cdot A + 59,40293 \cdot B - 1,09259 \cdot 10^{-6} \cdot C - 0,10183 \cdot A \cdot B + 1,33180 \cdot 10^{-8} \cdot A \cdot C + 2,78861 \cdot 10^{-7} \cdot B \cdot C - 0,10745 \cdot A^2 - 6,07849 \cdot B^2 + 0,000000 \cdot C^2 \quad (1)$$

Trong đó A, B, C lần lượt là giá trị độ Brix, pH và MSNM.



**Hình 1. Biểu đồ bề mặt đáp ứng thể hiện sự tương quan giữa pH, °Brix.**

Tuy nhiên, việc lựa chọn điều kiện lên men phù hợp với dòng nấm men *S. cerevisiae* sao cho độ cồn thu hồi đạt giá trị cao nhất dựa vào mô hình tối ưu hóa theo phương trình (1) với các nghiệm thức tối

ưu được đề xuất từ phần mềm thống kê. Bảng 4 thể hiện các thông số tối ưu từ mô hình thống kê với hàm lượng ethanol dự đoán cao nhất được lựa chọn để thực hiện thử nghiệm xác nhận.

**Bảng 4. So sánh độ cồn thực tế và độ cồn lý thuyết từ phần mềm Design Expert 7.0**

Nghiệm thức	pH	°Brix	MSNM	pH	°Brix	Độ cồn lý thuyết (% v/v)	Độ cồn thực tế (% v/v)
1	4,77	24,79	8,08x10 <sup>6</sup>	3,97	10,33a	8,88	8,88a
2	4,90	26,53	5,68x10 <sup>6</sup>	4,06	11,17a	8,75	8,63ab
3	4,91	26,03	4,57x10 <sup>6</sup>	4,09	13,33b	8,60	8,40b

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

Bảng 4 cho thấy độ cồn thực tế thu được tương đương với độ cồn theo thuật toán đưa ra từ phần mềm Design Expert 7.0. Điều này chứng tỏ sự tính toán mô hình và thực nghiệm tương đối thống nhất với độ tin cậy là 95%. Độ cồn thực tế của nghiệm thức 1 đạt cao nhất là 8,88% v/v khác biệt không có ý nghĩa với nghiệm thức 2 có độ cồn là 8,63% v/v nhưng khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức 3. Tuy nhiên, nghiệm thức 1 với pH 4,77, 24,79°Brix và MSNM  $8,08 \times 10^6$  được lựa chọn là nghiệm thức tối ưu vì cho độ cồn thực tế cao nhất. Đồng thời, đây là nghiệm thức cho độ cồn thực tế gần với độ cồn lý thuyết nhất trong ba nghiệm thức.

Theo Jackisch (1985), khả năng cho hàm lượng rượu khác nhau từ quá trình lên men có thể thay đổi theo nguồn nguyên liệu lên men, dòng nấm men và

môi trường lên men. Điều kiện tối ưu cho lên men rượu vang chùm ruột với pH 4,77 và 24,79°Brix cao hơn so với nghiên cứu của Huỳnh Ngọc Thanh Tâm và ctv. (2020) trên dịch trái trám (pH 4,22; 24,6°Brix và MSNM  $5,7 \times 10^6$  tb/mL).

### 3.2. Hoạt tính kháng oxy hóa của dịch trái chùm ruột và rượu vang chùm ruột

#### 3.2.1. Các hợp chất thực vật

Các hợp chất thực vật được xác định bằng phương pháp quang phổ với các bước sóng khảo sát có độ hấp thụ cực đại tương ứng với từng hợp chất. Ở mỗi bước sóng, giá trị hấp thụ càng cao thì sự hiện diện của hợp chất thực vật càng nhiều. Một số hợp chất thực vật có trong dịch trái chùm ruột và rượu vang chùm ruột được khảo sát và kết quả thử nghiệm định tính được thể hiện ở Bảng 5.

**Bảng 5. Đánh giá sự hiện diện của các hợp chất thực vật trong dịch trái chùm ruột và rượu vang chùm ruột**

STT	Bước sóng (nm)	Hợp chất tự nhiên	Dịch quả chùm ruột	Rượu vang chùm ruột
1	215	Steroid	+++	+++
2	230	Terpenoid	++++	++++
3	255	Phenolic	++++	++++
4	260	Quinone	++++	++++
5	265	Tanin	++++	++++
6	300	Flavonoid	+++	+++
7	450	Carotenoid	+	++
8	543	Anthocyanin	+	++
9	545	Saponin	+	++
10	550	Alkaloid	+	++

Chỉ tiêu đánh giá định tính một số hợp chất tự nhiên:  $OD < 0,1$ :+,  $0,1 < OD < 0,5$ :++,  $0,5 < OD < 1$ :+++ ,  $OD > 1$ :++++.

Bảng 5 cho thấy sự hiện diện của 10 hợp chất thực vật tự nhiên trong dịch trái chùm ruột và rượu vang chùm ruột. Kết quả này phù hợp với Andrianto et al. (2017), tác giả đã định tính sơ bộ và chỉ ra sự hiện diện của flavonoid, alkaloid, phenolic, terpenoid, saponin và glycoside trên dịch trái chùm ruột. Hợp chất phenolic hiện diện nhiều nhất trong dịch trái chùm ruột, tuy nhiên sự hiện diện của hợp chất này chỉ đứng thứ hai trong rượu vang chùm ruột, xếp sau terpenoid.

3.2.2. Hàm lượng polyphenol tổng

Kết quả cho thấy hàm lượng polyphenol tổng của 2 nghiệm thức dịch trái và rượu vang chùm ruột khác biệt có ý nghĩa thống kê. Trong đó, nghiệm thức rượu vang chùm ruột có hàm lượng polyphenol tổng cao hơn dịch trái với giá trị lần lượt là 297,573 mg GAE/mL và 174,549 mg GAE/mL. Điều này cho thấy hàm lượng polyphenol tổng củ dịch trái đã giảm sau 14 ngày lên men, vì trong quá trình lên men, nấm men đã sử dụng một lượng nhỏ các hợp chất này cho quá trình sinh trưởng và phát triển. Kết quả này cũng tương đối phù hợp với kết quả định tính phenolic, tannin, quinone và flavonoid ở thí nghiệm trên.

Flavonoid và các hợp chất có liên quan đến polyphenol, có nhiều trong các loại trái cây và rau củ, được sử dụng cho mục đích ăn kiêng, dược liệu và phòng ngừa một số bệnh. Các hợp chất polyphenol là một trong những hợp chất lớn và phổ biến nhất của nhóm chuyển hóa thứ cấp thực vật (Yadava & Munin, 2011). Kết quả trên cho thấy hàm lượng polyphenol tổng có trong dịch trái và rượu vang chùm ruột cao hơn dịch trái tươi (57,0 mg GAE/mL) và nước lên men trái tươi (55,0 mg GAE/mL) trong nghiên cứu của Huỳnh Ngọc Thanh Tâm và ctv. (2020).

3.2.3. Khả năng kháng sự oxy hóa

Giá trị  $IC_{50}$  được sử dụng để so sánh khả năng ức chế DPPH của dịch quả và rượu vang chùm ruột là nồng độ của mẫu mà tại đó nó có thể ức chế 50% gốc tự do, tế bào hoặc enzyme.  $IC_{50}$  càng thấp thì khả năng ức chế gốc tự do của mẫu càng cao. Kết quả giá trị  $IC_{50}$  được thể hiện qua Bảng 6.

**Bảng 6. Giá trị  $IC_{50}$  của vitamin C, dịch trái và rượu vang chùm ruột**

STT	Mẫu	Giá trị $IC_{50}$ (µg/mL)
1	Vitamin C (đối chứng)	0,881 <sup>c</sup>
2	Dịch quả chùm ruột	59,973 <sup>a</sup>
3	Rượu chùm ruột	45,132 <sup>b</sup>

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

Bảng 6 cho thấy cả 2 nghiệm thức dịch trái và rượu vang chùm ruột đều có khả năng kháng oxy hóa với DPPH. Giá trị  $IC_{50}$  của vitamin C thấp hơn dịch quả chùm ruột gấp khoảng 73 lần và rượu chùm ruột gấp khoảng 55 lần. Điều này cho thấy khả năng kháng oxy hóa của vitamin C cao hơn dịch trái và rượu vang chùm ruột, tuy nhiên sản phẩm rượu vang chùm ruột có khả năng kháng oxy hóa cao hơn gấp 1,3 lần so với dịch trái, khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%. Rượu vang chùm ruột có khả năng khử gốc tự do DPPH cao hơn dịch trái là do sau quá trình lên men đã chuyển đổi và sinh ra nhiều hợp chất đa dạng, các hợp chất này đã tác động đến khả năng khử gốc tự do của rượu vang chùm ruột.

Kết quả định tính đã cho thấy trong dịch ép cũng như rượu vang chùm ruột tồn tại các hợp chất thực vật như phenol và tannin, alkaloid, saponin, steroid, flavonoid và triterpenoid. Đây là các hợp chất thực

vật điển hình đóng góp cho khả năng kháng oxy hóa của dịch ép và rượu vang chùm ruột.

#### 4. KẾT LUẬN

Với các điều kiện lên men tối ưu là pH 4,77, 24,79°Brix và MSNM  $8,08 \times 10^6$  tế bào/mL, dịch lên men trái chùm ruột sẽ đạt độ cồn cao nhất 8,88% v/v sau 14 ngày lên men. Có 11 hợp chất thực vật được xác định trong dịch trái chùm ruột và rượu vang chùm ruột bao gồm steroid, triterpenoid, phenol, tannin, flavonoid, quinone, saponin, antocyanin, glucose, carotenoid và alkaloid. Hàm lượng polyphenol tổng không thay đổi nhiều trong quá trình lên men, đạt giá trị 174,549 mg GAE/L của dịch trái chùm ruột và 297,573 mg GAE/L của rượu vang chùm ruột. Trong thí nghiệm, khả năng khử gốc tự do DPPH có giá trị  $IC_{50}$  của dịch trái và rượu vang trái chùm ruột lần lượt là 59,973  $\mu$ L/mL và 45,132  $\mu$ L/mL, chứng tỏ rượu vang chùm ruột có khả năng kháng oxy hóa tốt hơn dịch trái.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Andrianto, D., Widianti, W., & Bintang, M. (2017). Antioxidant and cytotoxic activity of *Phyllanthus acidus* fruit extracts. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 58. <http://iopscience.iop.org/1755-1315/58/1/012022>

Guan, X. & Yao, H. (2008). Optimization of viscozyme L assisted extraction of oat bran protein using response surface methodology. *Food Chemistry*, 106(1), 345-351. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.041>

Harbone, J. B. (1973). *Phytochemical methods*. Chapman & Hall

Hossain, S. J., Basar, M. H., Rokeya, B., Arif, K. M. T., Sultana, M. S., & Rahman M. H. (2013). Evaluation of antioxidant, antidiabetic and antibacterial activities of the fruit of *Sonneratia apetala* (Buch.-Ham.). *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 13, 95-102. <https://doi.org/10.1007/s13596-012-0064-4>

Huỳnh Ngọc Thanh Tâm, Đào Thanh Tâm, Nguyễn Thị Minh Trâm, Văn Thị Hồng Huệ, Dương Thị Mai Thảo & Nguyễn Đức Độ. (2020). Xác định điều kiện lên men và hoạt tính kháng oxy hóa của nước lên men trái trám (*Syzygium cumini* L.). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 5(2), 72-79. <https://doi.org/10.46826/hauf-jasat.v5n2y2021.427>

Jackisch, P. (1985). *Modern Winemaking*. Cornell University Press. <https://doi.org/10.7591/9781501721816>

Mohamed, Y.M. & Amr, A.R. (2013). Hepatoprotective effect of avocado fruits against carbon tetrachloride-induced liver damage in male rats. *World Applied Sciences Journal*, 21(10), 1445-1452.

Monica, H. C., Bente, L. H., Kari, H. (2010). Therapeutic potential of *Phyllanthus emblica* (amla): the ayurvedic wonder. *Nutrition journal*, 21(1), 93-105.

Morton, J., Morton, J. F., & Miami, F. L. (1987). Otaheite Gooseberry. In *Fruits of Warm Climates*, 217–219.

Nguyễn Đình Thường & Nguyễn Thanh Hằng. (2007). *Công nghệ sản xuất và kiểm tra cồn ethylic*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật. Hà Nội.

Radecka, D., Mukherjee, V., Mateo, R. Q., Stojiljkovic, M., Foulquié-Moreno, M. R., & Thevelein, J. M. (2015). Looking beyond *Saccharomyces*: the potential of non-conventional yeast species for desirable traits in bioethanol fermentation. *FEMS Yeast Research*, 15(6), fov053. <http://doi.org/10.1093/femsyr/fov053>

Tan, P. S., Tan, Y. E. N., L, Y. Q., & Nafiah, A. M. (2020). *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels: A review of its traditional uses, phytochemistry, and pharmacological properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 253, 112610. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112610>

Yadava, R. N. S., & Munin, A. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytochemistry*, 3(12), 10-14.