

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ LÊN QUÁ TRÌNH LÊN MEN GIẤM XOÀI

Lê Thị Thu Phương, Hoàng Anh Vũ*

Trường Đại học Quảng Bình

TÓM TẮT

Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường đến quá trình lên men giấm từ dịch quả xoài được nghiên cứu để sản xuất giấm từ loại trái cây này. Trong quá trình này, các yếu tố như chất khô hòa tan, nồng độ ethanol, pH ban đầu ảnh hưởng đến hàm lượng axit acetic sinh ra theo thời gian lên men đã được khảo sát. Sử dụng chủng vi khuẩn *Acetobacter aceti* để lên men dung dịch xoài trong các môi trường được cố định với các giá trị độ Brix, Ethanol, pH khác nhau. Mục đích của công trình này là tìm được môi trường lên men thích hợp, hoàn thiện quy trình sản xuất giấm xoài. Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng chất khô hòa tan tương ứng độ Brix bằng 6-7, nồng độ ethanol là 4% cho hàm lượng axit acetic sinh ra cao nhất trong quá trình lên men. Giá trị pH thích hợp cho quá trình lên men giấm xoài được xác định là pH bằng 5 là tốt nhất. Dưới điều kiện lên men đó, hàm lượng axit acetic tạo ra đạt được cao nhất sau 7 ngày lên men.

Từ khoá: Giấm, lên men, xoài.

MỞ ĐẦU

Xoài được trồng nhiều ở những vùng có nhiệt độ trung bình từ 21-26°C như Ấn Độ, Mianma, châu Phi, Nam Mỹ... Các nước ở Nam châu Á và Ôxtrâyliya có sản lượng xoài hàng năm cao là Inđônêxia, Malaixia, Philippin, Thái Lan. So với thế giới châu Á chiếm 80%, châu Mỹ chiếm 13%, châu Phi chiếm 7%; với tổng sản lượng khoảng 15 triệu tấn, mức tăng trưởng hàng năm là 2% (Nguyễn Thị Thu Hằng, 2009).

Ở Việt Nam, xoài cũng là một loại quả đặc sản được ưa chuộng, đa dạng về chủng loại và được trồng tập trung ở Tiền Giang, Đồng Tháp, Cần Thơ, Khánh Hòa. Đây là loại trái cây có giá trị kinh tế cao, khả năng xuất khẩu tốt. Tuy nhiên, việc xuất khẩu quả tươi còn gặp nhiều hạn chế về công nghệ bảo quản sau thu hoạch. Do đó, để đa dạng hóa sản phẩm cũng như nâng cao giá trị kinh tế của xoài, các sản phẩm chế biến từ nguyên liệu xoài ngày càng được quan tâm nghiên cứu. Giấm trái cây, trong đó có giấm sản xuất từ quả xoài là sản phẩm lên men từ chính dịch trái xoài tươi nên sản phẩm giữ được các chất dinh dưỡng và có hương thơm tự nhiên. Giấm xoài được làm qua nhiều công đoạn như công đoạn ủ, lắng lọc,... và tất cả các công đoạn được kiểm soát chặt chẽ nên đảm bảo chất lượng và vệ sinh an toàn thực phẩm. Tuy nhiên, có nhiều yếu tố ảnh hưởng lớn đến quá trình lên men nên cần chất lượng và số lượng giấm sản xuất thành công rất hạn chế. Vì vậy, việc nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố môi trường đến quá trình lên men giấm xoài nhằm tạo điều kiện cho việc sử dụng triệt để nguồn nguyên liệu, tạo ra sản phẩm giấm ăn có nguồn gốc dịch trái cây lên men, góp phần hạn chế thất thoát sau thu hoạch, nâng cao giá trị sử dụng của trái xoài cho người nông dân là một hướng đi cần thiết.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu

Nguyên liệu sử dụng cho các thí nghiệm là dịch quả xoài được ép từ quả những quả chín đều, tươi, không bị hư hỏng thối hay dập nát. Dịch xoài được chuẩn bị như sau: trái cây xoài đạt yêu cầu được gọt vỏ, xắt miếng với kích thước 3 - 5 cm, chần nước 70°C trong 5 phút và cho vào máy ép trái cây để thu dịch quả (Nguyễn Thị Mai, 2016).

Chủng vi khuẩn lên men giấm: Chủng *Acetobacter aceti* (Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế). Dịch giống vi khuẩn được nuôi cấy tăng sinh trong môi trường YPDG lỏng ở 30°C đạt nồng độ 10⁵ tế bào/mL. Nồng độ vi khuẩn được xác định bằng phương pháp đo mật độ quang ở bước sóng 600 nm (OD₆₀₀) trên máy Quang phổ U-2900 (Hitachi, Nhật Bản). Môi trường nuôi cấy vi khuẩn: Môi trường YPDG (5 g/L Yeast extract, 5 g/L Pepton, 5 g/L D- Glucose và 5 g/L Glycerol).

Phương pháp bố trí thí nghiệm

Trong thí nghiệm về ảnh hưởng của chất khô hoà tan đối với quá trình lên men giấm, độ Brix của dịch quả được điều chỉnh ở các giá trị 4, 5, 6 và 7. Dịch ép được thanh trùng ở nhiệt độ 85°C trong 2 - 3 phút rồi để nguội về 25 - 30°C ở nhiệt độ phòng. Dung dịch được bổ sung ethanol (96%) với tỷ lệ 4% (v/v) và độ pH được điều chỉnh đến 5,0 bằng axit acetic 1,0 M. Cấy giống vi khuẩn *Acetobacter aceti* với tỷ lệ 1,5-2% (v/v) (Nguyễn Thị Mai, 2016).

Nghiên cứu ảnh hưởng hàm lượng ethanol bổ sung trong quá trình lên men giấm. Từ kết quả ở thí nghiệm 1, cố định độ Brix của dịch quả. Dịch ép được thanh trùng ở nhiệt độ 85°C trong 2 - 3 phút rồi để nguội về 25 - 30°C ở nhiệt độ phòng. Bổ sung ethanol (96%) theo các tỷ lệ 0%, 2%, 4%, 6%, 8% (v/v). Chính độ pH của dung dịch đến 5,0 bằng axit acetic 1,0 M. Cây giống vi khuẩn *Acetobacter aceti* với tỷ lệ 1,5 - 2% (v/v).

Nghiên cứu ảnh hưởng pH ban đầu đối với quá trình lên men giấm. Từ kết quả của thí nghiệm 1 và 2, cố định độ Brix của dịch quả. Dịch ép được thanh trùng ở nhiệt độ 85°C trong 2-3 phút rồi để nguội về 25 - 30°C ở nhiệt độ phòng. Bổ sung ethanol (96%) với tỷ lệ đã xác định ở thí nghiệm 2. Chính pH ở các giá trị: 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0 bằng axit acetic 1,0 M. Cây giống vi khuẩn *Acetobacter aceti* với tỷ lệ 1,5 - 2% (v/v).

Phương pháp vi khuẩn được thực hiện bằng cách dùng pipet hút 15 - 20 mL dịch giống vi khuẩn cho vào 980 - 985 mL dịch ép xoài. Các thí nghiệm tiến hành lên men tĩnh ở nhiệt độ 32°C trong tủ ấm (Mettler, Đức). Theo dõi hàm lượng axit acetic của dịch lên men theo thời gian, lấy mẫu phân tích 1 lần/ngày. Thể tích lên men 1000 mL. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Phương pháp phân tích

Sử dụng thiết bị Bx kế (Khúc xạ kế, Nhật Bản) để đo hàm lượng đường trong dịch quả lên men.

Sử dụng thiết bị đo HI2210 pH Meter (Hoa Kỳ) để xác định độ pH của dịch quả lên men.

Xác định hàm lượng axit acetic bằng phương pháp xác định hàm lượng axit tổng số theo phương pháp trung hòa.

Công thức tính hàm lượng axit acetic (TCVN 4589:1988)

$$(\%) X = \frac{V.k.V2.100}{V1.m}$$

V: thể tích NaOH 0,1N mL; V1: thể tích dung dịch hút để chuẩn; V2: dung dịch bình định mức; k = 0,0060; m: lượng mẫu (g).

Phương pháp thống kê xử lý số liệu

Số liệu thu thập được xử lý sơ bộ trên phần mềm Excel, sau đó phân tích phương sai trên phần mềm Minitab version 16.2. Sự sai khác giữa các giá trị trung bình được tiến hành phân tích theo phương pháp Tukey (HSD). Hai giá trị trung bình được cho là khác nhau khi $P < 0,05$.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của chất khô hoà tan đối với quá trình lên men giấm xoài

Quá trình khảo sát ảnh hưởng của chất khô hoà tan trong điều kiện nuôi cấy tĩnh đến quá trình lên men giấm xoài thu được kết quả ở Bảng 1.

Bảng 1. Nồng độ axit acetic ở các độ Brix khác nhau trong quá trình lên men giấm dịch quả xoài (%)

Ngày	Brix 4	Brix 5	Brix 6	Brix 7	P
1	0,0685 ^b	0,0905 ^{ab}	0,0771 ^b	0,1085 ^a	0,002
2	1,0354 ^{ab}	1,0546 ^a	0,6734 ^b	0,7845 ^{bc}	0,004
3	2,9746 ^a	2,6749 ^b	2,4732 ^b	2,4181 ^b	0,000
4	2,9652 ^{ab}	2,6984 ^b	3,0696 ^a	3,0792 ^a	0,009
5	2,5982 ^b	2,4454 ^b	3,2177 ^a	3,3406 ^a	0,000
6	2,1121 ^b	1,9365 ^c	3,3666 ^a	3,4137 ^a	0,000
7	1,6338 ^c	1,3358 ^d	2,7495 ^b	3,0573 ^a	0,000
8	0,9527 ^b	1,0047 ^b	2,5347 ^a	2,4455 ^a	0,000

Ghi chú: Các ký tự a, b, c trong cùng một hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Khi thử nghiệm lên men giấm với các độ Brix khác nhau thì quá trình lên men giấm đều diễn ra chậm trong 24 giờ đầu tiên. Nguyên nhân do vi khuẩn acetic cần thời gian để thích ứng với môi trường nuôi cấy (Phạm Hồng Quang, 2014). Sau quá trình thích ứng thì quá trình lên men ở các công thức có diễn biến khác nhau. Ở độ Brix 4 và Brix 5 quá trình lên men diễn ra nhanh trong 3 ngày đầu tiên và đạt nồng độ cao nhất vào ngày thứ 3 với C = 2,9746%. Sau đó bắt đầu giảm từ ngày thứ 4, giảm mạnh từ ngày thứ 5 đến ngày thứ 8. Nguyên nhân có thể giải thích ở đây là do nồng độ cơ chất bị cạn kiệt không đủ cho vi khuẩn acetic sử dụng cho quá trình sinh trưởng. Kết quả là nồng độ axit acetic sinh ra giảm đi (Nguyễn Phú Thọ, 2018).

Độ Bx 6 và Bx 7 quá trình lên men cho thấy hiệu quả hơn hẳn so với độ Bx 4, Bx 5. Mặc dù từ ngày 1 đến ngày 3 nồng độ axit sinh ra thấp hơn nhưng đến ngày thứ 4 thì quá trình lên men vẫn tiếp tục diễn ra mạnh do nồng độ cơ chất còn đủ duy trì quá trình lên men của vi khuẩn. Nồng độ axit đạt cao nhất ở ngày thứ 6 với nồng độ $C_{(Bx 6)} = 3,3666\%$ và $C_{(Bx 7)} = 3,4137\%$.

Vậy, xét về hiệu quả lên men và hiệu quả kinh tế có thể chọn độ Bx tối ưu là 6 để thực hiện thí nghiệm tiếp theo.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng ethanol đến quá trình lên men giấm xoài

Ethanol là một cơ chất cần thiết cho quá trình lên men giấm. Đối với quá trình lên men giấm, ethanol là cơ chất ban đầu cho vi khuẩn acetic sử dụng nhưng đối với các vi khuẩn khác là yếu tố gây ức chế, diệt khuẩn (Nguyễn Trương Bảo Trân, 2007). Vì vậy, việc bổ sung ethanol vào giai đoạn đầu của quá trình lên men là rất cần thiết.

Hàm lượng ethanol bổ sung trong lên men giấm thay đổi từ 2 - 10% thể tích tùy theo phương pháp lên men (Nguyễn Phú Thọ, 2018). Do đó thí nghiệm đã tiến hành khảo sát ảnh hưởng của ethanol đến quá trình lên men và theo dõi hàm lượng axit acetic sinh ra. Kết quả thu được ở Bảng 2.

Bảng 2. Nồng độ axit acetic ở các nồng độ ethanol bổ sung khác nhau trong quá trình lên men giấm Xoài (%)

Ngày	Ethanol 0%	Ethanol 2%	Ethanol 4%	Ethanol 6%	Ethanol 8%	p
1	0,0890 ^c	0,1486 ^a	0,1199 ^b	0,0599 ^d	0,0599 ^d	0,000
2	0,3258 ^b	0,4854 ^a	0,3748 ^b	0,1799 ^c	0,0750 ^d	0,001
3	0,3917 ^{bc}	0,9525 ^a	0,8359 ^a	0,4468 ^b	0,2239 ^c	0,000
4	0,6233 ^b	1,259 ^a	1,2448 ^a	0,8930 ^b	0,7552 ^b	0,002
5	0,8962 ^c	1,5336 ^{ab}	1,7576 ^a	1,3110 ^{bc}	1,5495 ^{ab}	0,002
6	1,2224 ^c	1,8087 ^b	2,2075 ^a	1,7878 ^b	2,3390 ^a	0,001
7	1,3280 ^c	2,4847 ^b	3,3140 ^{ab}	2,8340 ^{ab}	3,4030 ^a	0,000
8	1,2411 ^c	2,2707 ^{bc}	3,0658 ^a	2,7580 ^{ab}	3,3220 ^a	0,000

Ghi chú: Các ký tự a, b, c trong cùng một hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê (P<0,05).

Hàm lượng ethanol bổ sung có ảnh hưởng lớn đến hàm lượng axit sinh ra theo thời gian. Nồng độ axit có xu hướng tăng đều từ ngày thứ nhất đến ngày thứ 7 trong tất cả các mẫu, ngày thứ 8 bắt đầu giảm.

Quá trình lên men diễn ra khá tốt nếu bổ sung thêm ethanol nồng độ 2%, 4%, 6%, 8%. Ở mẫu không bổ sung ethanol thì quá trình lên men diễn ra rất chậm và không đạt hiệu quả cao. Nồng độ thu được thấp hơn nhiều so với các mẫu có bổ sung thêm ethanol.

Quá trình lên men giấm đạt hiệu quả nhất khi bổ sung nồng độ ethanol 4% và 8%. Nồng độ axit sinh ra đạt giá trị $C = 3,3140\%$ ở mẫu có bổ sung ethanol = 4%. Và $C = 3,4030\%$ ở mẫu bổ sung ethanol 8%.

Khi bổ sung ethanol 8% vào dịch lên men thì quá trình lên men ban đầu diễn ra rất chậm trong 5 ngày đầu, tuy nhiên đến ngày thứ 6 thì quá trình lên men được diễn ra nhanh và đạt nồng độ cao đuổi kịp với mẫu bổ sung ethanol 4%. Nguyên nhân do nồng độ ethanol cao làm ức chế sự sinh trưởng của cả vi khuẩn có hại và cả vi khuẩn acetic. Vi khuẩn acetic sinh sản chậm, kết quả là tốc độ chuyển hóa chậm. Sau quá trình lên men ngày thứ 1 đến ngày thứ 5 thì nồng độ ethanol đã được chuyển hóa một phần thành axit acetic, hàm lượng ethanol còn lại ở ngưỡng thích hợp cho vi khuẩn phát triển nên quá trình chuyển hóa diễn ra nhanh hơn.

Dựa vào kết quả thu được, chúng tôi nhận thấy quá trình lên men giấm xoài diễn ra tốt nhất khi bổ sung nồng độ ethanol = 4%. Chúng tôi sử dụng kết quả này để tiếp hành tiếp thí nghiệm sau.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của độ pH đến quá trình lên men giấm xoài

Dịch quả xoài ban đầu đo được nồng độ pH = 4,6. Tiến hành thí nghiệm điều chỉnh pH theo các công thức 4,5 - 5 - 5,5 - 6 - 6,5 - 7 để thực hiện quá trình lên men giấm. Kết quả thu được ở Bảng 3.

Bảng 3. Nồng độ axit acetic ở các điều kiện pH ban đầu khác nhau trong quá trình lên men giấm xoài

Ngày	pH = 4,5	pH = 5	pH = 5,5	pH = 6	pH = 6,5	pH = 7	P
1	0,2230 ^b	0,4560 ^a	0,1485 ^b	0,1491 ^b	0,1193 ^b	0,1535 ^b	0,001
2	0,5162 ^b	0,7266 ^a	0,3048 ^d	0,2993 ^d	0,4066 ^c	0,4562 ^{bc}	0,002
3	0,5660 ^c	1,0733 ^a	0,7490 ^{bc}	0,7434 ^{bc}	0,8156 ^b	0,9535 ^{ab}	0,000
4	0,8206 ^d	1,6037 ^a	1,4991 ^{ab}	1,0591 ^c	1,3933 ^b	1,3894 ^b	0,000
5	1,5165 ^e	2,4209 ^a	2,1345 ^b	1,8033 ^{cd}	1,9558 ^{bc}	1,6331 ^{de}	0,000
6	1,8570 ^b	3,0050 ^a	2,2835 ^b	2,0692 ^b	2,2648 ^b	2,1579 ^b	0,003
7	2,4440 ^c	3,5650 ^a	2,7487 ^b	2,6128 ^{bc}	2,5447 ^{bc}	2,5628 ^{bc}	0,004
8	2,2743 ^c	3,2552 ^a	2,4852 ^b	2,3070 ^{bc}	2,2522 ^c	2,2934 ^{b^c}	0,001

Ghi chú: Các ký tự a, b, c, d trong cùng một hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Kết quả bảng 3 cho thấy, với pH 4,5 quá trình lên men rất chậm và không ổn định. Quá trình lên men là kém nhất so với các nồng độ pH khác. Như vậy, nếu sử dụng nồng độ pH ban đầu của xoài để thực hiện quá trình lên men giấm thì vẫn có thể được, tuy nhiên hiệu suất lên men sẽ chậm và rất thấp.

Nếu điều chỉnh độ pH = 5 thì lại cho hiệu quả lên men cao. Cao hơn hẳn so với các công thức khác. Quá trình lên men tăng nhanh và ổn định từ ngày thứ 1 đến ngày thứ 7. Nồng độ axit acetic cao nhất thu được vào ngày thứ 7 với có giá trị C = 3,5650 %.

Ở các độ pH dao động từ 6 - 7 thì quá trình lên men không ổn định, hiệu quả lên men không cao. Điều này là do vi khuẩn acetic là giống vi khuẩn ưa axit, trong môi trường có độ axit thích hợp, chúng phát triển rất nhanh, còn trong môi trường hơi kiềm pH = 6 - 7 thì chúng lại bị ức chế và kém phát triển. Giá trị nồng độ axit acetic sinh ra ở các công thức điều chỉnh pH = 6; pH = 6,6; pH = 7 thu được ở Bảng 3 cho thấy không có sự sai khác nhiều về mặt thống kê. Như vậy là có sự tương đương nhau về giá trị.

Như vậy giá trị pH thích hợp nhất cho quá trình lên men giấm xoài là pH = 5.

KẾT LUẬN

Từ các kết quả thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố môi trường đến quá trình lên men giấm xoài, chúng tôi rút ra kết luận, hàm lượng chất khô hoà tan tương ứng độ Brix bằng 6, hàm lượng ethanol bổ sung là 4% cho hàm lượng axit sinh ra cao nhất trong quá trình lên men giấm xoài. Giá trị pH thích hợp cho quá trình lên men giấm là 5. Thời gian lên men dao động trong khoảng 8 ngày thì hàm lượng axit tạo ra đạt hiệu suất cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Thị Mai (2016). Nghiên cứu quá trình sản xuất giấm hoa quả từ chuối và táo, Luận văn kỹ sư, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên.
- Nguyễn Thị Thu Hằng (2009). Nghiên cứu đề xuất quy trình sản xuất sữa chua xoài, Đồ án tốt nghiệp, Trường Đại học Nha Trang.
- Phạm Hồng Quang (2014). Phân lập, tuyển chọn nấm men và vi khuẩn acid acetic thử nghiệm lên men trà thủy sâm (Kombucha), *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ* 34: 12-19.
- Nguyễn Phú Thọ (2018). Nghiên cứu lên men giấm nước dừa (*Cocos nucifera*) bằng vi khuẩn *Acetobacter indonesiensis*, *Tạp chí Công Thương* 11: 490-494.
- Nguyễn Trương Bảo Trân (2007). Chọn giống vi khuẩn và khảo sát một số điều kiện lên men acetic để làm giấm trái cây, Luận văn thạc sĩ sinh học, Trường Đại học Sư phạm TP. HCM.

STUDY ON THE EFFECT OF SOME FACTORS ON THE VINEGAR FERMENTATION FROM MANGO FRUIT

Le Thi Thu Phuong, Hoang Anh Vu*

Quang Binh University

SUMMARY

Study on the effect of environmental factors on the fermentation of vinegar Mango fruit was conducted to The effects of environmental factors on the fermentation of vinegar from the Mango fruit juice has been studied to produce vinegar from this fruit. In this process, factors such as dissolved solids, ethanol concentration, and initial pH influencing the acetic acid content generated by fermentation time were investigated. Using strains of *Acetobacter aceti* to ferment the mango solution in fixed media with different values of Brix, Ethanol and pH. The purpose of this study is to find an appropriate fermentation environment, complete the process of producing mango vinegar. The results of the study showed that the content of soluble solids, equivalent to Brix of 6-7, ethanol concentration of 4% gives the highest concentration of acetic acid during fermentation. The appropriate pH value for mango vinegar fermentation is determined to be a pH of 5. Under that fermentation condition, the content of acetic acid produced is highest after 7 days of fermentation.

Keywords: Vinegar, fermentation, mango.

*Author for correspondence: Tel: 0989179777; Email: vuhoang304@gmail.com