

ẢNH HƯỞNG MỘT SỐ YẾU TỐ ĐẾN HÀM LƯỢNG CÁC HỢP CHẤT TRONG DỊCH ÉP DƯA HẤU LÊN MEN BỞI *Saccharomyces cerevisiae* NM11

Đỗ Thị Bích Thủy*, Trần Thanh Quỳnh Anh

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

*Tác giả liên hệ: dothibichthuy@huaf.edu.vn

Nhận bài: 15/04/2023 Hoàn thành phản biện: 23/05/2023 Chấp nhận bài: 29/05/2023

TÓM TẮT

Quả dưa hấu giàu các hợp chất có hoạt tính sinh học như anthocyanin, lycopene, vitamin C, β -caroten và phenolic và có thành phần dinh dưỡng phù hợp để sản xuất rượu vang có tính chất chức năng. Mục đích của nghiên cứu này là xác định điều kiện thích hợp gồm mật độ nuôi cấy tế bào ban đầu, nồng độ chất khô hoà tan ban đầu, pH ban đầu và thời gian lên men cho quá trình lên men nước quả dưa hấu bởi chủng *Saccharomyces cerevisiae* NM11. Bên cạnh xác định nồng độ ethanol, các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch lên men như hàm lượng phenolic tổng số, anthocyanin tổng số và khả năng chống oxy hóa cũng được theo dõi. Kết quả cho thấy các điều kiện thích hợp cho quá trình lên men dịch ép dưa hấu của chủng này bao gồm mật độ tế bào gieo cấy ban đầu là 10^7 CFU/mL, nồng độ chất khô hoà tan ban đầu là 18 Bx, pH ban đầu là 4,5 và thời gian lên men là 5 ngày. Trong các điều kiện lên men tối ưu, dịch ép dưa hấu lên men bởi *S. cerevisiae* M11 có nồng độ ethanol là $13,000 \pm 0,500\%$ (v/v), hàm lượng phenolic tổng số là $0,181 \pm 0,055$ mg GAE/mL, hàm lượng anthocyanin là $0,820 \pm 0,031$ mg CGE/L, hoạt tính chống oxy hóa là $36,460 \pm 1,000\%$ và hàm lượng aldehyde là $49,640 \pm 3,900$ (mg/L ethanol 100%(v/v)). Kết quả này làm tiền đề cho các nghiên cứu sản xuất vang dưa hấu bởi chủng *S. cerevisiae* NM11.

Từ khóa: Anthocyanin, Dưa hấu, Lên men, Nấm men, *Saccharomyces cerevisiae*

EFFECT OF SOME FACTORS ON THE CONTENT OF THE COMPOUNDS IN WATERMELON JUICE FERMENTED BY *Saccharomyces cerevisiae* NM11

Do Thi Bich Thuy*, Tran Thanh Quynh Anh

University of Agriculture and Forestry, Hue University

ABSTRACT

Watermelon fruit has been known to be a rich source of bioactive compounds, such as anthocyanins, lycopene, vitamin C, β -caroten, phenolics, and possesses a nutritional profile suitable to produce wine with functional properties. The aim of this study was to determine the optimal conditions including initial cell density, initial dry matter, temperature, initial pH and fermentation time for fermentation of watermelon fruit juice by *Saccharomyces cerevisiae* NM11. Besides determining the ethanol concentration, bioactive compounds in fermented juice such as total phenolic content, anthocyanins and antioxidant capacity were also investigated. Results showed that the optimal conditions for wine fermentation from water melon fruit juice by this strain included an initial cell density of 10^7 CFUs/mL, initial dry matter concentration of 18 Bx, a pH of 4.5, and a fermentation time of 5 days. Under optimized conditions, watermelon juice fermented by *S. cerevisiae* M11 had an ethanol concentration of $13.000 \pm 0.500\%$ (v/v), total phenolic content of 0.181 ± 0.055 mg GAE/mL, anthocyanin content of 0.820 ± 0.031 mg CGE/L, antioxidant activity of $36.460 \pm 1.000\%$ and aldehyde content of 49.640 ± 3.900 (mg/L ethanol 100%(v/v)). This result is the first information for studies on watermelon wine production by *S. cerevisiae* NM11 strain.

Keywords: Anthocyanin, Watermelon, Fermentation, Yeast, *Saccharomyces cerevisiae*

1. MỞ ĐẦU

Dưa hấu (*Citrullus lanatus* (Thunb.)) là một loại cây nhiệt đới. Đây là loại quả theo mùa, thời gian bảo quản không dài, dễ hư hỏng làm giảm giá trị dinh dưỡng và giá thành. Do đó, việc chế biến và bảo quản dưa hấu sau thu hoạch là vấn đề đáng quan tâm. Loại quả này có chứa đường, vitamin, không chứa chất béo và cholesterol (Hafsar và cs., 2015). Đặc biệt, quả dưa hấu có chứa nhiều các hợp chất có hoạt tính sinh học như anthocyanin, flavonoid (Augustia và cs., 2020), lycopene, vitamin C, β -caroten và phenolic (Maoto và cs., 2019). Các hợp chất này có khả năng chống viêm, chống ung thư và chống oxy hóa. Chính vì vậy, dưa hấu có tiềm năng sử dụng để sản xuất các loại thực phẩm chức năng.

Rượu vang được sản xuất từ các loại quả nói chung và từ quả dưa hấu nói riêng là loại đồ uống có chứa ethanol và một lượng lớn các hợp chất phenolic, các chất chống oxy hóa và flavonoid nên nó có vai trò như một loại thực phẩm chức năng (Hafsar và cs., 2015). Bên cạnh được sử dụng ở dạng quả tươi, quả dưa hấu còn được làm nguyên liệu để lên men sản xuất rượu vang, đặc biệt là những quả chín quá. Việc lên men sản xuất rượu vang từ dịch quả dưa hấu này sẽ làm gia tăng giá trị của loại nguyên liệu này. Nó góp phần vào việc chế biến tạo sản phẩm xuất khẩu, tạo ra sản phẩm thực phẩm chức năng do chứa nhiều hợp chất có hoạt tính dược tính, giảm mất mát sau thu hoạch... (Jagta và cs., 2015). Tác nhân vi sinh vật cho quá trình lên men này là nấm men. Trong đó, chủng *Saccharomyces cerevisiae* là phổ biến nhất và đóng vai trò quan trọng (Walker và cs., 2016).

Hơn nữa, trong những năm gần đây nhu cầu về nước giải khát được chế biến và sản xuất các sản phẩm từ quả ngày một tăng. Vì vậy, nhiều nhà khoa học ở trong và ngoài

nước đã tập trung vào việc nghiên cứu sản xuất các loại đồ uống có độ rượu lên men từ trái cây. Nước ép cam và rượu vang của nó giàu hàm lượng các hợp chất phenolic như hydroxybenzoic acid, hydroxycinnamic acid và flavanone cùng với esperidin, narirutin và ferulic acid (Kelebek và cs., 2009). Các hợp chất polyphenol cũng như chống oxy hóa trong nguyên liệu quả vốn dĩ được liên kết với các hợp chất khác trong nên không tan. Dưới tác động của quá trình lên men với sự tạo thành ethanol mà các hợp chất có hoạt tính dược tính này được giải phóng vào rượu vang Shahidi, 2009). Nước ép dưa hấu được lên men bởi chủng nấm men phân lập từ vang cọ, *S. cerevisiae* tạo ra sản phẩm có độ rượu là 9,86% (v/v) (Hafsar và cs., 2015). Dịch ép táo (*Malus domestica* Borkh) được lên men bởi chủng *S. cerevisiae* CCTCC M201022. Sau 25 ngày lên men rượu vang táo đạt được độ rượu là 12% (v/v) (Wang và cs., 2004). Rượu vang chuối (*Musa sapientum* L.) sau khi lên men 10 ngày bởi chủng *Saccharomyces cerevisiae* có nồng độ rượu là 5% (v/v) và giá trị cảm quan không sai khác so với sản phẩm vang thương mại (Akubor và cs., 2003). Ảnh hưởng của một số yếu tố đến quá trình lên men rượu vang từ quả chùm ruột được thực hiện bởi Phạm Thị Cẩm Hoa và cs. (2017). Sản phẩm vang có độ cồn 12,57% (v/v) sau 5 ngày lên men. Trong số 21 chủng nấm men đã được tuyển chọn, chủng SM2 thể hiện hoạt lực lên men rượu tốt nhất được sử dụng để sản xuất rượu vang thốt nốt. Sản phẩm rượu thốt nốt được lên men bởi chủng này có hàm lượng ethanol 13,67% (v/v) (Nguyễn Minh Thủy và cs., 2011).

Như vậy, hầu hết các công trình chỉ mới xác định nồng độ ethanol của sản phẩm, chưa quan tâm đến sự biến đổi của các hợp chất có hoạt tính sinh học có khả năng chống oxy hóa tốt cho sức khỏe. Với mục

đích góp phần gia tăng giá trị của quả dưa hấu, chúng tôi nghiên cứu ảnh hưởng của một số thông số công nghệ đến hàm lượng của một số hợp chất trong dịch quả dưa hấu lên men bởi *S. cerevisiae* M11. Nghiên cứu này không chỉ tập trung đến chỉ tiêu ethanol mà còn quan tâm đến hàm lượng phenolic tổng số, hàm lượng anthocyanin, khả năng chống oxy hóa và hàm lượng aldehyde trong dịch lên men.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Quả dưa hấu giống Kame Sweet F1 được lựa chọn đã chín đều có ruột đỏ hoàn toàn. Dưa hấu được gọt loại bỏ vỏ, cắt nhỏ và chuyển vào máy ép chậm (Sharp KS 888, Thái Lan) để thu được dịch quả.

Tác nhân vi sinh vật gây lên men là chủng *Saccharomyces cerevisiae* M11. Chủng này được phân lập, tuyển chọn và định danh từ dịch quả dưa hấu lên men bởi bánh men thuốc bắc (Đỗ Thị Bích Thủy và cs., 2023), được bảo quản ở -80 °C.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Một số phương pháp phân tích

$$\text{Anthocyanin (mg/L)} = \frac{A \times MW \times DF \times 10^3}{\epsilon \times L} \quad (1)$$

Trong đó, A là độ hấp thụ của phần mẫu thử, tính được tính như sau:

$$A = (A_{520}^{1,0} - A_{700}^{1,0}) - (A_{520}^{4,5} - A_{700}^{4,5});$$

$A_{520}^{1,0}$ là độ hấp thụ của phần mẫu thử có pH bằng 1,0 đo được ở bước sóng 520 nm; $A_{700}^{1,0}$ là độ hấp thụ của phần mẫu thử có pH bằng 1,0 đo được ở bước sóng 700 nm; $A_{520}^{4,5}$ là độ hấp thụ của phần mẫu thử có pH bằng 4,5 đo được ở bước sóng 520 nm; $A_{700}^{4,5}$ là độ hấp thụ của phần mẫu thử có pH bằng 4,5 đo được ở bước sóng 700 nm; DF là hệ số pha loãng; MW là khối lượng phân tử của cyanidin-3-

glucoside, bằng 449,2 g/mol. L là chiều dài đường quang (chiều dày của cuvet đựng mẫu) (cm). ϵ là hệ số tắt phân tử (bằng 26900) của cyanidin-3-glucoside ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$); và 10^3 là hệ số chuyển đổi từ gam sang miligam.

Xác định hàm lượng anthocyanin:
Hàm lượng anthocyanin được xác định bằng phương pháp pH vì sai theo tiêu chuẩn TCVN 11028:2015 với nguyên tắc là chất tạo màu anthocyanin thay đổi màu sắc theo pH. Anthocyanin trong mẫu thí nghiệm (2 mL) được trích ly trong dung môi ethanol/nước (1:1) có 1% HCl ở nhiệt độ phòng trong 60 phút. Phần dịch trong được thu nhận sau khi ly tâm 7.000 vòng/phút trong 15 phút được sử dụng để xác định hàm lượng anthocyanin. Mẫu thử được pha loãng với dung dịch đệm pH 1,0 và pH 4,5 cho đến khi độ hấp thụ ở 520 nm nằm trong dải tuyến tính của máy đo quang phổ (có giá trị từ 0,2 đến 1,4). Độ hấp thụ của mẫu đã được pha loãng ở trên được đo ở 2 bước sóng 520 nm và 700 nm.

Nồng độ chất tạo màu anthocyanin tính theo đương lượng cyanidin-3-glucoside, theo công thức (1)

Xác định hàm lượng phenolic tổng số: Mẫu thí nghiệm (2 mL) được cho vào 20 mL dung môi ethanol và nước (80:20, v/v) để trích ly phenolic ở nhiệt độ phòng trong bóng

tối trong 2 giờ. Dịch chiết (0,2 mL) thu được sau khi ly tâm (7.000 vòng/phút, 15 phút) được cho thêm 1 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% đầy kín và lắc đều để yên 5 phút, sau đó thêm 1,2 mL dung dịch Na_2CO_3 10%, lắc đều và giữ yên trong 2 giờ ở nhiệt độ thường và đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 760 nm. Hàm lượng gallic acid trong mẫu phân tích được tính dựa vào đường chuẩn gallic acid (Hatamian và cs., 2020).

Xác định khả năng chống oxy hóa được thực hiện theo Ghafoor và cs., (2020).

$$\text{DPPH (\%)} = \frac{\text{OD mẫu trắng} - \text{OD mẫu thí nghiệm}}{\text{OD mẫu trắng}} \times 100 \quad (2)$$

Xác định hàm lượng ethanol: Mẫu dịch lên men (200 mL) và 100 mL nước cất được cho vào bình cầu và tiến hành chưng cất để thu cặn trong khoảng 90 phút. Mẫu rượu thu được sau khi chưng cất ở 20°C trong 30 phút và đo độ rượu bằng cồn kế (Lê Thanh Mai và cs., 2006).

Xác định hàm lượng aldehyde: Mẫu rượu đã chưng cất (50 mL) được cho vào bình tam giác 250 mL cùng với 25 mL NaHSO_3 1,2% lắc đều và để 1 giờ, sau đó tiếp tục bổ sung vào 6 mL HCl 1N và sử dụng dung dịch I_2 0,1N để oxy hóa lượng

Mẫu thí nghiệm (2 mL) được bổ sung 20 mL dung môi ethanol và nước (80:20, v/v) để ở nhiệt độ phòng trong bóng tối trong 2 giờ. Dịch chiết (0,4 mL) thu được sau khi ly tâm với (7.000 vòng/phút trong 15 phút) được trộn với 3,6 mL dung dịch DPPH 0,1 mM, lắc đều và để trong tối 1 giờ và đo độ hấp thụ quang học ở bước sóng 517 nm. Khả năng khử gốc tự do DPPH của mẫu được tính theo công thức (2).

NaHSO_3 dư với chỉ thị là dung dịch tinh bột 0,5%. Tiếp theo, 25 mL NaHCO_3 được cho vào bình phản ứng để giải phóng NaHSO_3 và aldehyde. Sau 1 phút, lượng NaHSO_3 vừa được giải phóng được chuẩn độ bằng dung dịch I_2 0,01N. Phản ứng kết thúc khi xuất hiện màu tím nhạt. Mẫu đối chứng được thực hiện bằng cách thay 50 mL rượu bằng 50 mL nước cất (Lê Thanh Mai và cs., 2006).

Kết quả: hàm lượng andehyde tính theo mg/l được xác định theo công thức (3)

$$\text{Aldehyde (mg/L)} = \frac{(V - V_0) \times 0,22 \times 1000 \times 100}{50 \times C} \quad (3)$$

Trong đó:

V và V_0 : số mL dung dịch I_2 0,01N trong thí nghiệm thực và kiểm chứng

0,02: số mg andehyde acetic tương ứng với 1 ml dung dịch I_2 0,01N

2.2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Khảo sát ảnh hưởng của mật độ tế bào nuôi cấy ban đầu lên hàm lượng ethanol, aldehyde, phenolic tổng số, anthocyanin và khả năng chống oxy hóa của dịch dưa hấu lên men

Dịch ép dưa hấu được bổ sung đường để đạt được nồng độ chất khô hoà tan ban đầu là 18 Bx (250 mL), pH 4 - 4,5, gia nhiệt

ở 80°C trong 15 phút và lên men bởi chủng *Saccharomyces cerevisiae* M11 ở 25°C. Mật độ tế bào nuôi cấy ban đầu ở các mẫu thí nghiệm được thay đổi ở các mức 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 CFU/mL. Sau khi lên men 5 ngày, dịch lên men được phân tích nồng độ ethanol, hàm lượng aldehyde, hàm lượng phenolic tổng số, anthocyanin và khả năng chống oxy hóa để xác định mật độ tế bào gieo cấy ban đầu thích hợp nhất.

Khảo sát ảnh hưởng chất khô hoà tan ban đầu (°Bx) lên hàm lượng ethanol, aldehyde, phenolic tổng số, anthocyanin và khả năng chống oxy hóa của dịch dưa hấu lên men

Dịch ép dưa hấu (250 mL) đã được điều chỉnh nồng độ chất khô hoà tan ban đầu ở các giá trị khác nhau (12, 15, 18, 21 Bx) bằng cách bổ sung đường saccharose, pH 4 - 4,5, gia nhiệt ở 80°C trong 15 phút và lên men bởi chủng *Saccharomyces cerevisiae* M11 ở 25°C với mật độ tế bào gieo cấy ban đầu thích hợp (kết quả thí nghiệm trên). Một số chỉ tiêu như nồng độ ethanol, hàm lượng aldehyde, hàm lượng phenolic tổng số, anthocyanin và khả năng chống oxy hóa được phân tích sau khi lên men 5 ngày để chọn nồng độ chất khô hoà tan ban đầu thích hợp nhất cho quá trình lên men.

Khảo sát ảnh hưởng pH ban đầu lên hàm lượng ethanol, aldehyde, phenolic tổng số, anthocyanin và khả năng chống oxy hóa của dịch dưa hấu lên men

Dịch ép dưa hấu (250 mL) sau khi được xử lý (bổ sung saccharose để đạt được nồng độ chất khô hoà tan ban đầu thích hợp (kết quả thí nghiệm trên), pH ban đầu thay đổi ở 3 mức (3,5; 4,5 và 5,5), gia nhiệt ở 80°C trong 15 phút. Sau khi làm nguội, các mẫu được lên men bởi chủng *Saccharomyces cerevisiae* M11 ở 25°C với mật độ tế bào gieo cấy ban đầu thích hợp (kết quả thí nghiệm trên) trong 5 ngày để chọn ra được pH ban đầu thích hợp nhất.

Khảo sát ảnh hưởng của thời gian lên men lên sự biến đổi của hàm lượng ethanol, aldehyde, phenolic tổng số, anthocyanin và khả năng chống oxy hóa trong dịch dưa hấu lên men

Dịch dưa hấu (250 mL) được gia nhiệt và lên men với các yếu tố thích hợp ở các thí nghiệm trên, nhiệt độ 25°C. Một số chỉ tiêu như nồng độ ethanol, hàm lượng aldehyde, hàm lượng phenolic tổng số, anthocyanin và khả năng chống oxy hóa được lấy mẫu theo mỗi 24 giờ nhằm theo dõi quá trình lên men và xác định thời gian kết thúc lên men chính.

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình \pm độ lệch chuẩn của 3 lần lặp lại. ANOVA 1 chiều và kiểm định Duncan được sử dụng để phân tích sự sai khác giữa các nghiệm thức. Toàn bộ các phân tích thống kê được thực hiện trên phần mềm SPSS phiên bản 20 (SPSS, Inc.).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần của dịch ép quả dưa hấu

Dịch quả dưa hấu được phân tích hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học ban đầu như phenolic, anthocyanin và khả năng chống oxy hóa. Kết quả cho thấy rằng, trong dịch quả có chứa $0,04\pm 0,008$ mg GAE/mL, $0,31\pm 0,012$ mg/L anthocyanin và có khả năng chống oxy hoá là $14,19\pm 0,810\%$.

3.2. Ảnh hưởng của mật độ tế bào ban đầu lên hàm lượng một số hợp chất trong vang dưa hấu

Mật độ tế bào là yếu tố quan trọng ảnh hưởng tới quá trình lên men rượu từ các loại nước ép quả bởi các chủng nấm men (Yuan và cs., 2022). Nhìn chung, khi mật độ tế bào ban đầu càng cao hàm lượng phenolic tổng số, anthocyanin và khả năng chống oxy hóa tăng theo sự tăng của nồng độ ethanol trong sản phẩm, trong khi đó, hàm lượng aldehyde có chiều hướng giảm (Bảng 1). Sự tăng lên của hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học so với dịch chiết ban đầu (kết quả phần 3.1) được giải thích là do ethanol được tạo thành trong quá trình lên men có vai trò như là dung môi trích ly. Cũng chính vì vậy mà khi nồng độ ethanol trong dịch lên men càng cao, hàm lượng các hợp chất này càng tăng. Trong đó, mức mật độ tế bào ban đầu là 10^7 CFU/mL cho kết quả tốt nhất với hàm lượng các hợp chất có trong dịch lên men là nồng độ ethanol, hàm lượng phenolic tổng số, anthocyanin, khả năng chống oxy hóa và

hàm lượng aldehyde lần lượt là $12,2 \pm 0,200$ (% v/v); $0,16 \pm 0,010$ (mg GAE/mL); $0,86 \pm 0,03$ (mg/L); $37,8 \pm 0,42$ $37,80 \pm 0,420$ (%) và $44,48 \pm 4,17$ (mg/L ethanol 100% (v/v)). So với mức mật độ tế bào nuôi cấy ban đầu là 10^5 CFU/mL, hàm lượng các hợp chất đó thấp hơn rất nhiều ngoại trừ aldehyde; các giá trị đó tương ứng là $10,40 \pm 0,100$ (% v/v); $0,094 \pm 0,057$ (mg GAE/mL); $0,64 \pm 0,063$ (mg/L); $33,97 \pm 0,420$ (%) và $67,69 \pm 4,230$ (mg/L ethanol 100% (v/v)).

Khi mật độ tế bào cao (10^8 CFU/mL), nồng độ ethanol, hàm lượng phenolic tổng số và hàm lượng aldehyde trong dịch lên men không sai khác thống kê so với thí nghiệm 10^7 CFU/mL. Trong khi đó, hàm lượng anthocyanin giảm có lẽ là do nấm

men có chuyển hóa hợp chất này. Mật độ tế bào nấm men ban đầu quá thấp sẽ làm quá trình lên men chậm, lượng cồn tạo ra thấp có lẽ là do nguồn carbon được sử dụng để phát triển sinh khối. Ngược lại, việc sử dụng nấm men với mật độ cao thì cần thời gian nhân giống dài, kém hiệu quả kinh tế. Kết quả mật độ tế bào ban đầu thích hợp này (10^7 CFU/mL) phù hợp với công trình của Nguyễn Văn Vũ và cs. (2018) khi lên men sản xuất rượu vang dâu Hạ Châu bởi chủng *S. cerevisiae* CB1.1, Nguyễn Văn Thành và cs. (2013) lên men rượu vang khóm và Ngô Thị Phương Dung Lý và cs. (2011) lên men vang dưa hấu. Mật độ tế bào ban đầu thích hợp gieo cấy vào dịch lên men là 10^7 CFU/mL được sử dụng để tiến hành các khảo sát tiếp theo.

Bảng 1. Ảnh hưởng của mật độ tế bào ban đầu lên hàm lượng một số hợp chất trong vang dưa hấu

Mật độ tế bào ban đầu (CFU/mL)	Hàm lượng phenolic tổng số (mg GAE/mL)	Hàm lượng anthocyanin (mg/L)	Khả năng chống oxy hóa (%)	Nồng độ ethanol (% v/v)	Hàm lượng aldehyde (mg/L ethanol 100%)
10^5	$0,09^c \pm 0,057$	$0,64^c \pm 0,063$	$33,97^b \pm 0,420$	$10,40^c \pm 0,100$	$67,69^a \pm 4,230$
10^6	$0,13^b \pm 0,045$	$0,77^b \pm 0,070$	$28,71^c \pm 0,710$	$11,20^b \pm 0,200$	$55,00^b \pm 7,860$
10^7	$0,16^a \pm 0,010$	$0,86^a \pm 0,030$	$37,80^a \pm 0,420$	$12,20^a \pm 0,200$	$44,48^c \pm 4,170$
10^8	$0,15^a \pm 0,049$	$0,53^d \pm 0,017$	$26,48^d \pm 1,220$	$12,40^a \pm 0,100$	$40,97^c \pm 3,550$

* Các mẫu thí nghiệm được lên men 5 ngày ở 25°C , dịch lên men 18 °Bx và pH ban đầu là $4,5 \pm 0,1$. (\pm là giá trị độ lệch chuẩn của thí nghiệm 3 lần lặp lại).

Các chữ cái khác nhau trên cùng một dòng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

3.3. Ảnh hưởng của nồng độ chất khô hoà tan ban đầu lên hàm lượng một số hợp chất trong dịch dưa hấu lên men

Nồng độ chất khô hoà tan ban đầu là một trong các yếu tố ảnh hưởng lớn nhất đến chất lượng rượu được sản xuất từ nước ép quả so với các yếu tố khác (Yuan và cs., 2022). Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã khảo sát quá trình lên men dịch dưa hấu bởi chủng *S. cerevisiae* M11 và thay đổi nồng độ chất khô hoà tan ban đầu từ 12 - 21 Bx, mật độ tế bào ban đầu 10^7 CFU/mL và pH tương ứng là 4,5.

Bảng 2 cho thấy, sau 5 ngày lên men, nồng độ ethanol trong sản phẩm tăng theo

sự tăng của nồng độ chất khô hoà tan ban đầu. Mẫu thí nghiệm với nồng độ chất khô hoà tan ban đầu là 21 có nồng độ ethanol cao nhất (14% (v/v)). Trong khi đó, nồng độ này trong sản phẩm thấp nhất (8% (v/v)) khi nồng độ chất khô hoà tan ban đầu là 12 Bx. Nồng độ này đạt được lần lượt là 10% (v/v) và 12% (v/v) tương ứng với hàm lượng chất khô hoà tan ban đầu 15 và 18 Bx. Tuy nhiên, lượng aldehyde, sản phẩm không mong muốn trong quá trình lên men, tạo thành trong mẫu thí nghiệm có nồng độ chất khô hoà tan ban đầu là 18 Bx (45,22 mg/L ethanol 100 % (v/v)), thấp hơn so với 21 Bx (52,8 mg/L ethanol 100% (v/v)). Hơn nữa, các giá trị về hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học (phenolic tổng số,

anthocyanin) và khả năng chống oxy hóa ở mẫu có nồng độ chất khô hoà tan ban đầu là 18 Bx khá cao so với mẫu 21 Bx. Như vậy, mẫu có nồng độ chất khô hoà tan ban đầu là 18 Bx được lựa chọn để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo. Charoenchai và cs., (1998) cho rằng nồng độ đường cao hơn 20% (v/v) làm giảm tốc độ tăng trưởng của

tế bào nấm men, điều này có thể làm chậm tốc độ sản xuất ethanol (Charoenchai và cs., 1998). Ngoài ra, quá trình lên men rượu vang với nồng độ đường cao ảnh hưởng đến việc sản sinh ra các hợp chất dễ bay hơi, ảnh hưởng không tốt đến chất lượng rượu vang (Lu và cs., 2015).

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ chất khô hoà tan ban đầu lên hàm lượng một số hợp chất trong vang dưa hấu

Nồng độ chất khô hoà tan ban đầu (Bx)	Hàm lượng phenolic tổng số (mg GAE/mL)	Hàm lượng anthocyanin (mg/L)	Khả năng chống oxy hóa (%)	Nồng độ ethanol (%(v/v))	Hàm lượng aldehyde (mg/L ethanol 100°)
12	0,10 ^b ±0,015	0,73 ^b ±0,035	22,96 ^d ±0,850	8,00 ^d ±0,500	88,00 ^a ±11,000
15	0,12 ^b ±0,082	0,77 ^b ±0,017	29,82 ^c ±0,700	10 ^c ,00±1,000	70,40 ^b ±4,400
18	0,18 ^a ±0,025	0,85 ^a ±0,044	37,69 ^a ±3,200	12,00 ^b ±0,100	45,22 ^c ±4,200
21	0,17 ^a ±0,090	0,67 ^c ±0,017	31,81 ^b ±0,580	14,00 ^a ±0,100	52,80 ^c ±2,900

*Các mẫu thí nghiệm được lên men 5 ngày ở 25 °C, dịch lên men với mật độ gieo cấy ban đầu là 10⁷ CFU/mL và pH ban đầu là 4,5±0,1. (± là giá trị độ lệch chuẩn của thí nghiệm 3 lần lặp lại).

Các chữ cái khác nhau trên cùng một dòng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.4. Ảnh hưởng của pH ban đầu lên hàm lượng một số hợp chất trong dịch lên men dưa hấu

Để khảo sát ảnh hưởng của pH ban đầu đến quá trình lên men bởi chủng *S. cerevisiae* M11, pH của dịch dưa hấu được điều chỉnh về 3,5; 4,5; 5,5 trước khi lên men. Kết quả cho thấy, hàm lượng ethanol sau lên men là 10±1% (v/v) và 12±1 % (v/v) tương ứng với pH ban đầu là 3,5 và 4,5. Tổng số hợp chất phenolic và hoạt tính chống oxy hoá lần lượt là 0,142±0,006; 0,182±0,010 mg GAE/mL và 37,16±1,17; 36,68±0,33% ở các mức pH ban đầu là 3,5; 4,5 và 5,5. Hàm lượng anthocyanin cao nhất ở pH ban đầu là 4,5 (0,83±0,017 mg/L). Việc tăng độ pH ban đầu của dịch dưa hấu ban đầu lên 5,5 làm giảm đáng kể quá trình sản sinh ethanol cũng như

hàm lượng phenolic, anthocyanin và hoạt tính chống oxy hoá của rượu. Các kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với những kết quả của Lu và cs. (2015), Nguyễn Minh Thủy và cs. (2011); Phạm Thị Thu Thảo và cs. (2019); Đoàn Thị Kiều Tiên và cs. (2019) và Nguyễn Nhật Minh Phương và cs. (2011). Như vậy, sau 5 ngày lên men trong điều kiện nồng độ chất khô hoà tan ban đầu là 18 Bx, mật độ tế bào ban đầu là 10⁷ CFU/mL ở 25°C, hàm lượng các chất trong các mẫu với pH ban đầu khác nhau là có sự khác nhau. Nhìn chung, với mẫu thí nghiệm có pH ban đầu 4,5, chất lượng sản phẩm dựa vào nồng độ ethanol, hàm lượng aldehyde và các hợp chất được tính đạt được tốt nhất.

Bảng 3. Ảnh hưởng của pH ban đầu lên hàm lượng một số hợp chất trong vang dừa hấu

pH ban đầu	Hàm lượng phenolic tổng số (mg GAE/mL)	Hàm lượng anthocyanin (mg/L)	Khả năng chống oxy hóa (%)	Nồng độ ethanol (%(v/v))	Hàm lượng aldehyde (mg/L ethanol 100%)
3,5	0,142 ^b ±0,006	0,785 ^b ±0,017	37,160 ^a ±1,170	10,000 ^b ±1,000	61,600 ^b ±4,400
4,5	0,182 ^a ±0,010	0,830 ^a ±0,017	36,680 ^a ±0,330	12,000 ^a ±1,000	46,440 ^c ±7,600
5,5	0,131 ^b ±0,011	0,440 ^c ±0,035	29,830 ^b ±1,680	11,000 ^a ±1,000	78,570 ^a ±5,400

*Các mẫu thí nghiệm được lên men 5 ngày ở 25 °C, dịch lên men với mật độ gieo cấy ban đầu là 10⁷ CFU/mL và nồng độ chất khô hoà tan ban đầu là 18 Bx.

(± là giá trị độ lệch chuẩn của thí nghiệm 3 lần lặp lại)

Các chữ cái khác nhau trên cùng một dòng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.5. Sự biến đổi của hàm lượng một số hợp chất trong vang dừa hấu theo thời gian lên men

Sự biến đổi của các chỉ tiêu có hoạt tính sinh học (phenolic tổng số, anthocyanin và khả năng chống oxy hóa) chỉ giảm nhẹ trong khi nồng độ ethanol tăng dần theo thời gian lên men (Bảng 4). Nồng độ ethanol đạt được giá trị lớn nhất sau 5 ngày lên men (13±0,5 %(v/v)) và không có sự sai khác thống kê sau khi lên men 6 ngày (12,5±0,025 %(v/v)). Điều này được giải thích là có thể chủng nấm men chịu đựng được ở nồng độ ethanol nhất định, hoặc có thể do môi trường đã cạn kiệt nên nồng độ ethanol không tăng. Trong khi đó, hàm lượng aldehyde sau 6 ngày lên men tăng lên nhiều (68,05±5,4 mg/L ethanol 100% (v/v)) so với sau 5 ngày lên men (49,64±3,9 mg/L ethanol 100% (v/v)) có thể do có sự chuyển hóa hóa học hoặc sinh học xảy ra. Hơn nữa, hàm lượng phenolic (0,181±0,055 mg GAE/mL), anthocyanin (0,820±0,031 mg/L) và khả năng chống oxy hóa (36,460±1,000%) trong dịch lên men ở ngày thứ 5 cao hơn rất nhiều so với dịch chưa lên men (xem kết quả Phần 3.1). Kết quả này một lần nữa khẳng định vai trò của sự lên men tạo ra ethanol có tác dụng là dung môi trích ly các hợp chất có hoạt tính sinh học. Dịch chum ruột được lên men bởi *S. cerevisiae* cũng được công bố là có hàm lượng phenolic tổng số (297,573 mg GAE/L) cao hơn dịch quả (174,549 mg GAE/L). Khả năng oxy hóa

của rượu vang chùm ruột (IC₅₀ = 45,132 µL/mL) cũng tăng so ban đầu (IC₅₀ = 59,973 µL/mL) (Phạm Thị Cẩm Hoa và cs., 2017). Huỳnh Ngọc Thanh Tâm và cs. (2020) cho thấy rằng dịch lên men quả trám (*Syzygium cumini* L.) bởi *S. cerevisiae* có hàm lượng các hợp chất phenolic tổng số (57,0 mg GAE/L) của nước lên men quả trám (55,0 mg GAE/L), khả năng chống oxy hóa cùng tăng lên thể hiện qua khả năng khử gốc peroxide tăng từ IC₅₀ là 8,56 µL/mL (dịch quả chưa lên men) lên IC₅₀ là 12,23 µL/mL (dịch quả đã lên men).

Như vậy, kết quả đạt thu được cho thấy, trong điều kiện thí nghiệm, thời gian lên men 5 ngày là thích hợp. Kết quả của Phạm Thị Cẩm Hoa và cs. (2017) công bố quá trình lên men rượu vang từ quả chùm ruột xảy ra trong vòng 4 ngày. Trong khi đó, Singh và cs. (2017) và Yuan và cs. (2022) cho rằng thời gian lên men 7 hoặc 8 ngày là tối ưu cho quá trình lên men rượu vang từ nước ép quả lựu và táo xanh. Sự khác nhau về thời gian tối ưu để lên men rượu vang giữa các nghiên cứu có thể là do sự khác biệt về chủng nấm men được sử dụng. Nhiệt độ lên men và bản chất của dịch ép vì những yếu tố này ảnh hưởng lớn đến sự phát triển và khả năng lên men của các chủng nấm men (Nguyễn Nhật Minh Phương và cs., 2011; Yuan và cs., 2022).

Bảng 4. Sự biến đổi của hàm lượng một số hợp chất trong quá trình lên men

Thời gian lên men (ngày)	Hàm lượng phenolic tổng số (mg GAE/mL)	Hàm lượng anthocyanin (mg/L)	Khả năng chống oxy hóa (%)	Nồng độ ethanol (%(v/v))	Hàm lượng aldehyde (mg/L ethanol 100%(v/v))
1	0,202 ^a ±0,072	0,880 ^a ±0,042	39,460 ^a ±1,450	3,000 ^c ±0,500	8,310 ^d ±1,700
2	0,195 ^{ab} ±0,001	0,870 ^a ±0,057	37,440 ^{ab} ±1,650	8,000 ^d ±0,500	12,830 ^d ±3,200
3	0,191 ^{bc} ±0,037	0,780 ^{bc} ±0,018	36,690 ^b ±0,840	10,000 ^e ±0,500	54,270 ^b ±5,100
4	0,183 ^{cd} ±0,055	0,850 ^{ab} ±0,044	35,880 ^b ±1,130	11,000 ^b ±0,500	44,610 ^c ±4,600
5	0,181 ^d ±0,055	0,820 ^{ab} ±0,031	36,460 ^b ±1,000	13,000 ^a ±0,500	49,640 ^{bc} ±3,900
6	0,156 ^e ±0,032	0,730 ^c ±0,035	33,360 ^c ±0,930	12,500 ^{ab} ±0,025	68,050 ^a ±5,400

*Các mẫu thí nghiệm được lên men ở 2 °C, dịch lên men với mật độ gieo cấy ban đầu là 10⁷ CFU/mL, nồng độ chất khô hoà tan ban đầu là 18 Bx và pH ban đầu là 4,5.
(± là giá trị độ lệch chuẩn của thí nghiệm 3 lần lặp lại)

Các chữ cái khác nhau trên cùng một dòng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu tối ưu từng yếu tố cho thấy rằng các thông số tối ưu cho quá trình lên men dịch ép dưa hấu là mật độ tế bào 10⁷ CFU/mL, nồng độ chất khô hoà tan ban đầu là 18 Bx, pH ban đầu là 4,5 và thời gian lên men là 5 ngày. Ở điều kiện tối ưu này, hàm lượng ethanol, hàm lượng phenolic, hàm lượng anthocyanin, hoạt tính chống oxy hoá và hàm lượng aldehyde lần lượt là 13,000±0,500%(v/v); 0,181±0,055 mg GAE/mL; 0,820±0,031 mg/L; 36,460±1,000%; 49,640±3,900 mg/L ethanol 100%(v/v). Hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học như phenolic, anthocyanin và khả năng oxy hóa tăng lên nhiều lần so với nguyên liệu ban đầu và lần lượt là 4,525 lần, 2,645 lần và 2,569 lần. Các nghiên cứu về ảnh hưởng của nồng độ SO₂, nồng độ oxy trong dịch lên men, CO₂ và áp suất bề mặt...; đồng thời để hoàn thiện sản phẩm cuối cùng cần khảo sát quá trình tàng trữ đến chất lượng dịch lên men dưa hấu cần được thực hiện tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

Phạm Thị Cẩm Hoa, Nguyễn Phan Khánh Hòa, Nguyễn Bảo Toàn và Nguyễn Thị Tố Nga. (2017). Khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố đến quá trình lên men rượu vang từ trái chùm ruột (*Phyllanthus acidus*). *Trường Đại học công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh*, 135-142.

Ngô Thị Phương Dung Lý, Huỳnh Liên Hương và 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 Trường Đại học Cần Thơ*, 18(B), 137-145.

Lê Thanh Mai, Nguyễn Thị Hiền, Phạm Thu Thủy, Nguyễn Thanh Hằng và Lê Thị Lan Chi. (2006). *Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội. 12.

Nguyễn Nhật Minh Phương, Chế Văn Hoàng, Lý Nguyễn Bình và Châu Trần Diễm Ái. (2011). Tác động enzyme pectinase đến khả năng trích ly dịch quả và các điều kiện lên men đến chất lượng rượu vang xoài sau thời gian lên men chính. *Tạp chí Khoa học*, 20(A), 127-136.

TCVN 11028:2015. *Xác định hàm lượng anthocyanin được xác định bằng phương pháp pH vi sai*

Huỳnh Ngọc Thanh Tâm, Đào Thanh Tâm, Nguyễn Thị Minh Trâm, Văn Thị Hồng Huê, Dương Thị Mai Thảo và 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*, 56(2), 72-79.

Nguyễn Văn Thành, Nguyễn Minh Thủy, Trần Thị Quế và Nguyễn Thị Mỹ Tuyền. (2013). Phân lập, tuyển chọn và định danh nấm men trong lên men rượu vang khóm. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 25, 27-35.

Phạm Thị Thu Thảo, Nguyễn Thị Ngọc Thư, Huỳnh Xuân Phong, Lê Thanh Duy, Nguyễn Ngọc Thanh và Bùi Đăng Hoàng Long. (2019). Phân lập và tuyển chọn nấm men có khả năng lên men rượu vang thanh long ruột đỏ

- (*Hylocereus polyrhizus*). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 61(8), 54-59.
- Đoàn Thị Kiều Tiên, Huỳnh Thị Ngọc Mi, Lữ Hằng 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 giắc ở tỉnh Cà Mau sử dụng *Saccharomyces cerevisiae* CM3.2. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 55(2), 285-291.
- Nguyễn Minh Thủy, Nguyễn Văn Thành và Bùi Thị Thúy Ngân. (2011). Tuyển chọn các dòng nấm men được phân lập từ nước thối nổi. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 18(B), 117-126.
- Đỗ Thị Bích Thủy, Trần Thanh Quỳnh Anh. (2023). Phân lập, tuyển chọn và định danh chủng nấm men từ men thuốc bắc có khả năng lên men tạo dịch dưa hấu (*Citrullus lanatus*) lên men có chất lượng cao. *Tạp chí khoa học Nông nghiệp Việt nam*, 21(2), 197-206.
- Nguyễn Văn Vũ và Nguyễn Văn Thành. (2018). Phân lập, tuyển chọn và định danh nấm men trong lên men rượu vang dầu Hạ Châu (*Baccaurea ramiflora* L.). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 54(7B), 22-32.
- 2. Tài liệu tiếng nước ngoài**
- Akubor, P. I., Obio, S. O., Nwodomere, K. A., & Obiomah, E. (2003). Production and quality evaluation of banana wine. *Plant Foods for Human Nutrition*, 58(3), 1–6.
- Augustia, V. A. S., Oktaviani, I. I., & Setyati, W. (2020). Anthocyanin and flavonoid extracted from watermelon rind (*Citrullus lanatus*) with two different colors of watermelon flesh: Yellow and red. *Materials Science Forum*, 998 MSF(May), 261–265.
- Charoenchai, C., Fleet, G. H., & Henschke, P. A. (1998). Effects of temperature, pH, and sugar concentration on the growth rates and cell biomass of wine yeasts. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49(3), 283.
- Ghafoor K., Ahmed I. A. M., Özcan M. M., Al-Juhaimi F. Y., Babiker E. E., & Azmi I. U., (2020). An evaluation of bioactive compounds, fatty acid composition and oil quality of chia (*Salvia hispanica* L.) seed roasted at different temperatures. *Food Chemistry*, 333, 127531.
- Hafsat, B. B., Omar, G. P., Yahaya, M. M., & Ezeribe, A. (2015). Wine from water melon juice using palm wine yeast isolate. *International Journal of Research in Engineering and Science*, 3(1), 35-40.
- Hatamian, M., Noshad, M., Abdanan-Mehdizadeh, S., & Barzegar, H. (2020). Effect of roasting treatment on functional and antioxidant properties of chia seed flours. *NFS Journal*, 21(March), 1-8.
- Kelebek, H., Selli, S., Canbas, A., & Cabaroğlu, T. (2009). HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositions and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish cv. Kozan. *Microchemical Journal*, 91(2), 187-192.
- Liu, X., Jia, B., Sun, X., Ai, J., Wang, L., Wang, C., Zhao, F., Zhan, J., & Huang, W. (2015). Effect of initial pH on growth characteristics and fermentation properties of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Food Science*, 80(4), 800-808.
- Lu, Y., Chan, L., Li, X., & Liu, S. (2018). Effects of sugar concentration on mango wine composition fermented by *Saccharomyces cerevisiae* MERIT ferm. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(1), 199-208.
- Maoto, M. M., Beswa, D., & Jideani, A. I. O. (2019). Watermelon as a potential fruit snack. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 355-370.
- Shahidi, F. (2009). Nutraceuticals and functional foods: Whole versus processed foods. *Trends in Food Science and Technology*, 20(9), 376–387.
- Singh, A. K., & Singh, G. (2017). Optimum parameters for wine production from pomegranate fruit juice. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(11), 4826-4831.
- Walker, G. M., & Stewart, G. G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. *Beverages*, 2(4), 1-12.
- Wang, L., Xu, Y., Zhao, G. & Li, J. (2004). Rapid analysis of flavor volatiles in apple wine using headspace solid-phase microextraction. *Journal of the Institute of Brewing*, 110(1), 57-65.
- Yuan, L., Li, G., Yan, N., Wu, J., & Due, J. (2022). Optimization of fermentation conditions for fermented green jujube wine and its quality analysis during winemaking. *Journal of Food Science and Technology*, 59(1), 288-299.