

NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT SẢN PHẨM NƯỚC CHANH LÊN MEN SỬ DỤNG VI KHUẨN LACTIC *Lactobacillus plantarum*

Vũ Thị Thanh Hằng*, Vi Đại Lâm, Vũ Thị Hạnh, Nguyễn Thị Hương
Trường Đại học Nông Lâm - ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Nước chanh là nguồn dồi dào vitamin C, chứa các hoạt chất sinh học tiềm năng bao gồm chủ yếu là nhóm chất chống oxy hóa phenolic, trong đó, các phenolic thiết yếu trong nước chanh thường được biết đến là flavonoid, tannin, oligomeric proanthocyanidins và lignan có nhiều lợi ích cho sức khỏe con người như chống ung thư, kháng viêm và chống béo phì. Nghiên cứu sản xuất nước chanh lên men sử dụng vi khuẩn lactic *Lactobacillus plantarum* đã tạo ra sản phẩm mới giàu dinh dưỡng, góp phần làm phong phú và đa dạng mặt hàng sản xuất từ chanh, đáp ứng nhu cầu ngày càng cao của người tiêu dùng trong nước. Kết quả nghiên cứu bước đầu đã xác định được các yếu tố công nghệ của quá trình lên men lactic dịch ép chanh: Sử dụng nồng độ giống *Lactobacillus plantarum* là 0,1%; nồng độ chất khô dịch ép chanh trước khi lên men là 20 °Brix; pH dịch ép chanh trước khi lên men là 4,0 và thời gian lên men là 72 giờ. Bên cạnh đó, nghiên cứu cũng chứng minh trong quá trình lên men, *Lactobacillus plantarum* giúp tăng cường cải thiện hoạt chất sinh học chống oxy hóa trong nước chanh.

Từ khóa: nước chanh, phenolic, *Lactobacillus plantarum*, lên men

Ngày nhận bài: 07/01/2019; Ngày hoàn thiện: 12/02/2019; Ngày duyệt đăng: 16/4/2019

RESEARCH PRODUCTION FERMENTED LEMON JUICE BY USING *Lactobacillus plantarum*

Vu Thi Thanh Hang*, Vi Dai Lam, Vu Thi Hanh, Nguyen Thi Huong
University of Agriculture and Forestry - TNU

ABSTRACT

Lemon juice containing phenolic compounds have been reported to possess an important antioxidant activity toward radicals which can scavenge reactive oxygen. Flavonoid, tannin, oligomeric proanthocyanidins và lignan, which are amongst the most common phenolic compounds in Lemon play a crucial role in prevention of diseases, such as cancer, inflammatory and obesity. The results show that fermentation of lemon juice using *Lactobacillus plantarum* increased the antioxidant activity significantly. The results from the analysis were identified the parameters of fermented lemon juice: 0.1 % (v/v) *Lactobacillus plantarum*; 20 °Brix, pH = 4.0 and the time for fermenting is 72 hours. This research demonstrated that fermentation of lemon juice by lactic acid bacteria would enhance health benefit of the juice.

Keywords: lemon juice, phenolic, *Lactobacillus plantarum*, fermentation

Received: 07/01/2019; Revised: 12/02/2019; Approved: 16/4/2019

* Corresponding author: Tel: 0942 181231, Email: hathu26@gmail.com

MỞ ĐẦU

Nước chanh là nguồn dồi dào vitamin C khoảng 50 – 100 mg/100 g quả tươi, có chứa các hoạt chất sinh học tiềm năng bao gồm chủ yếu là hợp chất phenolic, một nhóm chất chống oxy hóa quan trọng có lợi ích cho sức khỏe con người như chống ung thư, kháng virus, kháng viêm và chống béo phì. Các nhà khoa học Nhật Bản đã ghi nhận việc sử dụng nước chanh như một liệu pháp tác động tích cực đến bệnh tim mạch, béo phì và bệnh thoái hóa điểm vàng liên quan đến người lớn tuổi [1]. Phenolic là một nhóm chất chống oxy hóa quan trọng với hơn 8.000 hợp chất khác nhau, là sản phẩm của sự trao đổi chất thứ cấp ở thực vật. Trong đó, các hợp chất phenolic thiết yếu thường được biết đến như là flavonoid, tannin, oligomeric proanthocyanidins và lignan. Flavonoid đã được chứng minh là chất chống oxy hóa mạnh hơn vitamin C, vitamin E và carotenoid. Theo nghiên cứu của Okwu, các flavonoid phổ biến chứa trong nước chanh là quercetin, rutin, tengeritin, nagarin và hesperidin [2].

Vi khuẩn lactic có tác dụng cạnh tranh và đối kháng với các vi sinh vật gây bệnh, giúp cân bằng hệ vi sinh vật tự nhiên trong đường ruột, tiết các enzym tiêu hóa giúp tăng cường chuyển hóa thức ăn trong cơ thể người. Ngoài ra, chúng còn làm giảm lượng cholesterol trong máu, chữa các bệnh rối loạn đường ruột, bệnh viêm dạ dày cấp tính và chống lại hiện tượng nhờn thuốc sau thời gian điều trị kháng sinh dài ngày, đồng thời tạo ra các thức ăn bổ sung khoáng, vitamin cho người bệnh, cho những người ăn kiêng. Lên men lactic đã cải thiện rõ rệt giá trị dinh dưỡng chức năng của nhiều loại thực phẩm có nguồn gốc từ thực vật, do đó tăng cường các lợi ích về sức khỏe con người. Kuo và nhóm cộng sự đã tiến hành nghiên cứu khảo sát sự thay đổi hàm lượng flavonoid có hoạt tính chống oxy hóa trong quá trình lên men rau quả và đưa đến kết luận rằng vi khuẩn lactic có chứa enzyme thủy phân giúp tăng cường cải thiện hoạt chất sinh

học chống oxy hóa trong nước rau quả lên men có nguồn gốc tự nhiên [3]. Bên cạnh nền thực phẩm lên men truyền thống, ngày nay, các ứng dụng sáng tạo về lên men lactic đã được đề xuất và đưa vào thực tiễn sản xuất. Nghiên cứu của Bergqvist đã chứng minh *Lactobacillus pentosus* và *Leuconostoc mesenteroides* có khả năng cắt đứt gốc tự do, kim hãm phản ứng oxy hóa trong quá trình lên men nước ép cà rốt, bên cạnh đó, còn góp phần cải thiện hàm lượng khoáng trong lên men cà chua [4]. Tuy nhiên, trên thế giới hiện nay, nghiên cứu về quá trình lên men của nước chanh với vi khuẩn lactic còn khiêm tốn, thông tin tài liệu liên quan đến lên men nước chanh sử dụng vi khuẩn lactic còn hạn chế, do đó, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu “Nghiên cứu sản xuất sản phẩm nước chanh lên men sử dụng vi khuẩn lactic *Lactobacillus plantarum*”.

ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Quả chanh được thu mua tại thị trường Thái Nguyên. Chủng vi khuẩn lactic *Lactobacillus plantarum* được cung cấp bởi phòng thí nghiệm FP201, trường Đại học Quốc gia Bình Đông, Đà Loan.

Quả chanh mua về được rửa sạch để loại bỏ bụi bẩn và các vi khuẩn bám trên bề mặt vỏ quả. Sau khi để ráo nước bỏ đôi chanh, ép lấy phần dịch chanh. Dịch chanh được ly tâm 6000 vòng trong 10 phút bằng máy ly tâm lạnh để thu lấy dịch trong nước chanh. Sau đó, dịch chanh được thanh trùng ở 95°C trong thời gian 15 phút, và để nguội xuống khoảng 30°C.

Nội dung nghiên cứu

- Nghiên cứu chỉ tiêu hóa lý của dịch ép chanh.
- Nghiên cứu điều kiện lên men nước chanh (tỷ lệ giống *Lactobacillus plantarum*, nồng độ chất khô dịch lên men, pH trước khi lên men, thời gian lên men).

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp xác định pH và độ Brix

Dịch nước chanh trước và sau quá trình lên men được khuấy đều, sau đó đo pH và độ Brix bằng máy đo pH và Brix kế thông thường.

Phương pháp xác định khả năng chống oxy hóa

Nguyên tắc của phương pháp là sử dụng 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) [5]. Hoạt tính chống oxy hóa của mẫu thử được đánh giá dựa trên khả năng loại bỏ gốc tự do thông qua việc làm giảm màu của DPPH, được xác định bằng độ hấp thụ quang của dung dịch sau phản ứng đo tại bước sóng 550 nm. Để thời gian phản ứng 30 phút ở 37°C, trong bóng tối, sau đó đo độ hấp thụ quang của các mẫu thí nghiệm ở bước sóng 550 nm. Phần trăm quét gốc tự do (Scavenging effect) DPPH của mẫu thử được tính theo công thức sau:

$$\% \text{ DPPH bị ức chế} = \frac{A \text{ blank} - A \text{ mẫu}}{A \text{ blank}} \times 100\%$$

Trong đó: A mẫu là độ hấp thụ mẫu có chứa dung dịch chất oxy hóa, A blank là độ hấp thụ mẫu trắng.

Phương pháp đánh giá cảm quan

Sử dụng phương pháp cho điểm theo TCVN 3215:1979.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Xác định chỉ tiêu lý hóa của dịch ép chanh

Nghiên cứu đã xác định được một số chỉ tiêu hóa lý của dịch ép chanh, làm cơ sở để điều chỉnh các thông số sao cho phù hợp với quá trình lên men tạo ra sản phẩm nước chanh lên men đạt chất lượng tốt nhất.

Bảng 1. Một số chỉ tiêu hóa lý của dịch ép chanh

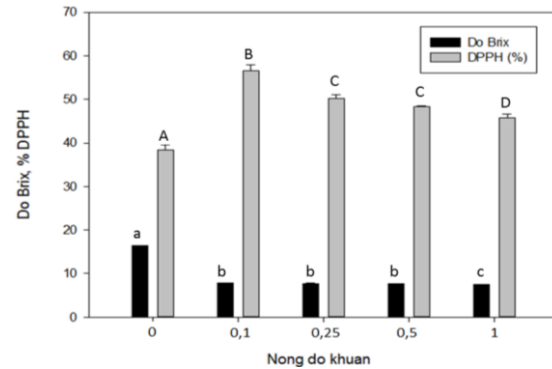
pH	2,363 ± 0,001
Độ Brix	11,240 ± 0,012

Xác định điều kiện lên men nước chanh

Kết quả khảo sát tỷ lệ giống Lactobacillus plantarum đến chất lượng sản phẩm

Vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* ban đầu với mật độ đạt khoảng 10⁷ CFU/ml được cấy vào 1 lít dịch ép chanh có nồng độ chất khô 20 °Bx; pH 4,0 với các tỷ lệ khác nhau 0,1;

0,25; 0,5; 1 (%) (v/v). Kết quả nghiên cứu được trình bày trong hình 1.



Hình 1. Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc của tỷ lệ giống *Lactobacillus plantarum* đến độ Brix và % DPPH bị ức chế của sản phẩm nước chanh lên men (Giá trị a-c là độ tin cậy khác nhau trong chỉ số Brix của các công thức. Giá trị A-D là độ tin cậy khác nhau trong chỉ số % DPPH bị bắt giữ của các công thức)

Các kết quả cho thấy giữa các công thức đều không có sự thay đổi đáng kể về chỉ số độ Brix, tuy nhiên khả năng chống oxy hóa của các mẫu nước chanh ép sử dụng tỷ lệ giống men khác nhau lại có sự thay đổi rõ rệt. Trong thí nghiệm khảo sát này, nước chanh chưa lên men có khả năng chống oxy hóa là 38,34%, điều này chứng tỏ trong tự nhiên, nước chanh cũng đã có tính oxy hóa (tỷ lệ giống 0%). Tuy nhiên, khi bổ sung vi khuẩn lactic thì dịch chanh ép tăng tính oxy hóa rõ rệt. Cụ thể, khi tăng tỷ lệ giống từ 0,1% đến 1% thì khả năng chống oxy hóa giảm, trong đó ở tỷ lệ giống *Lactobacillus plantarum* 0,1% thì % DPPH bị bắt giữ là cao nhất (56,47%). Điều này là do tỷ lệ khuẩn lớn sẽ sử dụng cơ chất nhiều hơn, tiêu tốn nhiều chất dinh dưỡng trong môi trường, làm cho quá trình lên men quá mức, ảnh hưởng đến hoạt chất chống oxy hóa sản sinh trong quá trình lên men.

Để lựa chọn được công thức tốt nhất, thí nghiệm đánh giá chất lượng cảm quan của sản phẩm lên men được tiến hành tiếp theo, kết quả được thể hiện trên bảng 2.

Kết quả bảng 2 cho thấy tỷ lệ giống *Lactobacillus plantarum* trong quá trình lên men có ảnh hưởng đến chất lượng cảm quan của nước uống lên men lactic từ nước ép

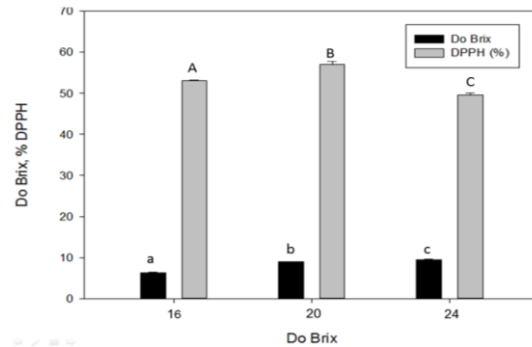
chanh ở cả 4 chỉ tiêu màu sắc, mùi, vị, trạng thái. Tỷ lệ giống 0,1% cho màu sắc và trạng thái sản phẩm tốt, mùi vị hài hòa. Từ các kết quả đánh giá trên, tỷ lệ giống là 0,1% được chọn lựa cho nghiên cứu tiếp theo. Kết quả này cũng phù hợp với một số sản phẩm lên men từ nước hoa quả của nhóm tác giả Mauro [6].

Kết quả khảo sát ảnh hưởng nồng độ chất khô dịch nước ép chanh đến chất lượng sản phẩm

Để tạo vị ngọt trong nước uống lên men lactic từ dịch ép chanh, đường là một nguyên liệu không thể thiếu. Việc bổ sung đường sao cho nước uống có vị ngọt hài hòa là một điều cần thiết. Nếu hàm lượng đường quá cao, vi sinh vật sẽ không sử dụng hết gây lãng phí và ức chế quá trình lên men. Nếu hàm lượng đường quá thấp sẽ không đủ cung cấp cho quá trình sinh trưởng và sinh tổng hợp của vi khuẩn. Vì vậy, nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ chất khô dịch ép chanh được tiến hành theo 3 nồng độ khác nhau, lần lượt là 16, 20, 24 °Brix; sau đó, dịch chanh lên men được kiểm tra độ Brix và khả năng chống oxy hóa % DPPH. Kết quả được thể hiện ở hình 2.

Kết quả thể hiện qua hình 2 cho thấy các công thức đều có sự thay đổi về chỉ số Brix, hoạt tính chống oxy hóa và các sản phẩm đều có mùi thơm đặc trưng khi lên men lactic, như vậy quá trình lên men lactic đã xảy ra tốt.

Kết quả chỉ ra rằng nồng độ chất khô dịch chanh trước lên men ở 20 °Brix cho hoạt tính chống oxy hóa cao nhất, xấp xỉ 57%.



Hình 2. Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc của nồng độ chất khô nước ép chanh trước khi lên men đến độ Brix và % DPPH bị ức chế của sản phẩm nước chanh lên men

(Giá trị a-c là độ tin cậy khác nhau trong chỉ số Brix của các công thức. Giá trị A-C là độ tin cậy khác nhau trong chỉ số % DPPH bị bắt giữ của các công thức)

Kết quả bảng 3 cho thấy nồng độ chất khô có ảnh hưởng đến chất lượng cảm quan của sản phẩm ở hai tính chất cảm quan là vị và trạng thái của sản phẩm. Nếu tỷ lệ đường bổ sung quá cao thì ức chế vi sinh vật lên men, làm cho sản phẩm khó sử dụng. Với nồng độ chất khô là 16 °Brix, 24 °Brix thì sản phẩm có vị không hài hòa. Với nồng độ chất khô là 20 °Brix thì sản phẩm có vị ngọt lẫn vị chua nhẹ, kích thích vị giác người sử dụng. Từ kết quả phân tích của thí nghiệm trên, nồng độ chất khô của dịch ép chanh trước khi lên men là 20 °Brix cho sản phẩm đạt kết quả chất lượng cảm quan cao nhất với điểm trung bình là 15,82. Sản phẩm có vị ngọt hài hòa hơi chua, trạng thái sản phẩm đồng nhất và sử dụng tỷ lệ này cho các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ giống *Lactobacillus plantarum* đến chất lượng cảm quan của sản phẩm

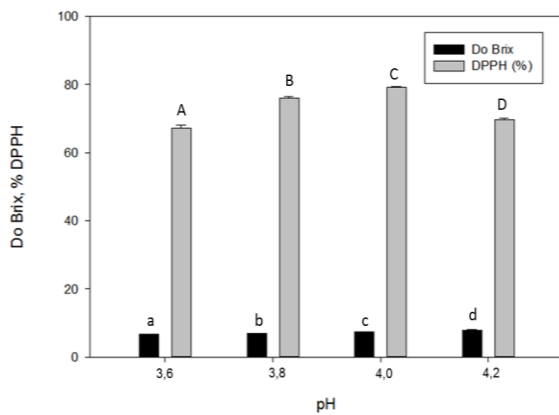
Tỷ lệ giống (%)	Mùi	Vị	Màu sắc	Trạng thái	Tổng điểm có hệ số trọng lượng
0	2,43	2,29	2,86	2,00	9,47
0,1	4,00	3,86	3,86	3,86	15,58
0,25	3,14	2,86	3,0	2,86	11,83
0,5	3,00	3,0	2,86	2,71	11,60
1	3,00	2,86	3,0	2,71	11,54

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ chất khô dịch nước ép chanh đến chất lượng cảm quan của sản phẩm

°Brix	Mùi	Vị	Màu sắc	Trạng thái	Điểm tổng có hệ số trọng lượng
16	2,57	3,43	2,71	3,86	12,71
20	3,57	4,00	3,43	4,71	15,82
24	2,57	3,57	3,14	3,86	13,23

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nồng độ pH nước ép chanh trước khi lên men đến chất lượng sản phẩm

Tiến hành lên men các mẫu dịch chanh thí nghiệm có các giá trị pH khác nhau (3,6; 3,8; 4,0; 4,2). Sau đó khảo sát độ Brix, hoạt tính chống oxy hóa của sản phẩm nước chanh sau khi lên men để lựa chọn được giá trị pH thích hợp nhất cho quá trình lên men. Kết quả thí nghiệm được biểu diễn bằng đồ thị nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ pH dịch ép chanh trước khi lên men đến độ Brix, hoạt tính chống oxy hóa % DPPH của sản phẩm nước chanh sau lên men qua hình 3.



Hình 3. Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc của pH nước ép chanh trước khi lên men đến độ Brix và % DPPH bị ức chế của sản phẩm nước chanh lên men

(Giá trị a-d là độ tin cậy khác nhau trong chỉ số Brix của các công thức. Giá trị A-D là độ tin cậy khác nhau trong chỉ số % DPPH bị bắt giữ của các công thức)

Các kết quả cho thấy khi tiến hành lên men dịch chanh ở các giá trị pH khác nhau dẫn đến sự thay đổi độ Brix và hoạt tính chống oxy hóa của các mẫu. Ở giá trị pH dịch chanh trước khi lên men là 3,6 thì độ Brix của sản

phẩm đạt thấp 6,76 °Brix, làm cho hương của sản phẩm không được hài hòa.

Từ kết quả của bảng 4, ở pH 4,0, nước chanh lên men cho điểm cảm quan cao nhất. Vì vậy, độ pH từ 3,8 – 4,0 là thích hợp để tiến hành lên men dịch ép chanh.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian lên men đến chất lượng sản phẩm

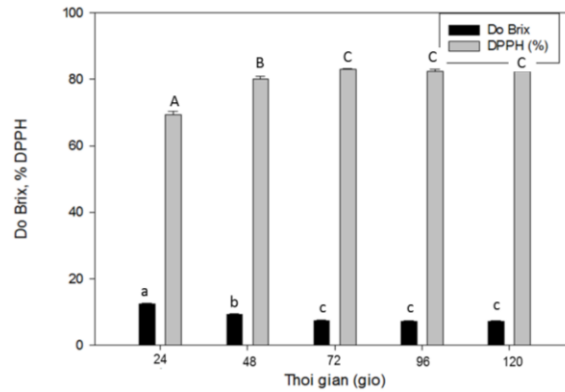
Thời gian lên men là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến quá trình lên men. Thời gian của quá trình lên men phụ thuộc vào nhiều yếu tố như: Tỷ lệ giống men sử dụng, nồng độ đường trong dịch lên men. Thời gian lên men quá nhanh sẽ không đảm bảo được mùi vị dịch nước uống lên men tạo thành. Ngược lại, thời gian lên men dài sẽ làm sản phẩm bị nhiễm vi sinh vật lạ, do đó sản phẩm dễ bị hỏng.

Tại mỗi mốc thời gian khác nhau (24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ và 120 giờ), nước chanh lên men được đo để xác định độ Brix và hoạt tính chống oxy hóa. Kết quả ở hình 4 cho thấy thời gian lên men ảnh hưởng tới độ Brix và hoạt tính kháng oxy hóa của sản phẩm nước chanh lên men có ý nghĩa ở độ tin cậy 95%, do có sự khác biệt ý nghĩa giữa các mẫu ở 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ và 120 giờ.

Độ Brix của sản phẩm giảm dần theo thời gian. Trong 72 giờ đầu lên men, độ Brix giảm mạnh từ 12,43 °Brix xuống còn 7,47 °Brix. Sau 72 giờ độ Brix giảm không đáng kể. Đồng thời, hoạt tính chống oxy hóa của các mẫu thí nghiệm cũng có xu hướng tăng theo thời gian. Hoạt tính chống oxy hóa tại thời điểm lên men sau 72 giờ là cao nhất, sau đó ổn định theo thời gian.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ pH nước ép chanh trước khi lên men đến chất lượng cảm quan của sản phẩm

pH	Mùi	Vị	Màu sắc	Trạng thái	Tổng điểm có hệ số trọng lượng
3,6	2,57	2,71	2,43	2,43	10,20
3,8	4,0	3,34	3,57	3,86	14,72
4,0	4,0	3,71	3,57	3,86	15,20
4,2	3,29	3,14	3,0	3,14	12,60



Hình 4. Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc thời gian lên men đến độ Brix và % DPPH bị ức chế của sản phẩm nước chanh lên men

(Giá trị a-c là độ tin cậy khác nhau trong chỉ số Brix của các công thức. Giá trị A-C là độ tin cậy khác nhau trong chỉ số % DPPH bị bắt giữ của các công thức)

Bảng 5. Ảnh hưởng của thời gian lên men đến chất lượng cảm quan của sản phẩm

Thời gian lên men (giờ)	Mùi	Vị	Màu sắc	Trạng thái	Điểm tổng có hệ số trọng lượng
24	2,86	2,57	2,86	2,71	10,94
48	3,0	2,86	2,43	2,86	11,24
72	3,86	3,86	3,71	3,86	15,32
96	3,14	3,00	2,86	3,14	12,17
120	3,0	2,86	2,43 ^a	2,86	11,24

(Các giá trị trong cùng một cột có chỉ số mũ khác nhau thì khác nhau ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$)

Theo kết quả cảm quan ở bảng 5, ở thời điểm 72 giờ sau lên men cho điểm cảm quan cao nhất là 14,60. Vì thế, thời gian thích hợp để lên men nước ép chanh là 72 giờ.

KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã xác định thành phần của nước chanh chưa lên men có pH = 2,363; hàm lượng chất khô là 11,240 và các thông số cho quá trình lên men lactic nước chanh: Sử dụng nồng độ vi khuẩn lactic *Lactobacillus plantarum* thích hợp cho quá trình lên men là 0,1 % (v/v), nồng độ chất khô dịch ép chanh thích hợp lên men là 20⁰Brix, pH dịch chanh thích hợp cho quá trình lên men là 4,0 và thời gian lên men thích hợp là 72 giờ. Nghiên cứu đã chỉ ra vi khuẩn lactic tác động tích cực đến quá trình lên men nước quả chanh, giúp tăng cường hoạt chất sinh học chống oxy hóa có sẵn trong nước chanh tự nhiên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. D. Okwu, "Citrus fruit: A rich source of phytochemicals and their roles in human health", *Int. J. Chem. Sci.*, 6 (2), pp. 451-471, 2008.
 [2]. D. Okwu, "Phytochemicals, vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants". *Int. J. Mol. Med. Adv. Sci* 1, (4), pp. 375-381, 2005.
 [3]. L. C. Kuo, W. Y. Cheng, R. Y. Wu, C. J. Huang and K. T. Lee, "Hydrolysis of black soybean isoflavone glycosides by *Bacillus subtilis* natto", *Applied microbiology and biotechnology*, 73 (2), pp. 314-320, 2006.
 [4]. S. Bergqvist, A. S. Sandberg, N. G. Carlsson, and T. Andlid, "Improved iron solubility in carrot juice fermented by homo-and hetero-fermentative lactic acid bacteria", *Food Microbiol*, 22 (1), pp. 53-61, 2005.
 [5]. J. Tarbart, Claire Keever, Joel Pincemail, Jean-Olivier Defraigne, Jacques Dommes, "Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests", *Food Chemistry*, 113, pp.1226-1233, 2009.
 [6]. K. Mauro Guergoletto, S. Garcia, (2016), "Development of Blueberry and Carrot Juice Blend Fermented by *Lactobacillus reuteri* LR92", *Beverages*, 2(4), pp. 37, 2016.