# LÊN MEN SẢN XUẤT CIDER DỨA

**Tóm tắt**

Cider là đồ uống có cồn được lên men từ các dịch ép trái cây, thường là từ nguyên liệu táo và có độ cồn 4,0-6,0%. Mục đích của nghiên cứu này là tìm các điều kiện tối ưu của quá trình lên men dịch ép dứa bằng chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae*. Quả dứa được lựa chọn, xử lý bằng enzyme pectinase (0,2g/l) trước khi thực hiện quá trình thanh trùng bằng phương pháp sunfit hóa (35mg/l SO2) và lên men trong điều kiện nhiệt độ phòng (25±10C). Nghiên cứu đã xây dựng được mô hình toán thể hiện mối quan hệ của hai hàm mục tiêu là điểm chất lượng cảm quan (Y1), độ cồn (Y2) với các biến: Z1- độ Bx (18÷240Bx); Z2- tỷ lệ nấm men (200÷500 mg/l); Z3- pH của dịch lên men (3,5÷5,0); Z4-Thời gian lên men (3÷5 ngày). Ma trận thí nghiệm được xây dựng và phân tích bằng phần mềm Design Expert 11.0. Kết quả đã xác định được các giá trị tối ưu để thực hiện quá trình lên men như sau: Độ Bx của dịch lên men, 24; Tỷ lệ nấm men, 326,3mg/l; pH, 4,3; Thời gian, 5,0 (ngày). Độ cồn thu được ở thí nghiệm tối ưu là 6,0. Sản phẩm nước cider dứa được hội đồng đánh giá cảm quan theo thang điểm 20, hệ số quan trọng 4 đánh giá được 18,1 điểm, đạt loại tốt.

**1. ĐẶT VẤN ĐỀ**

Việt Nam là một nước nhiệt đới có nền nông nghiệp phát triển. Trong những năm gần đây, nhu cầu về đồ uống có cồn từ trái cây ở nước ta ngày một tăng cao. Để giải quyết vấn đề đầu ra cho một số mặt hàng nông sản cũng như đáp ứng nhu cầu đa dạng hóa sản phẩm đồ uống trên thị trường thì định hướng ưu tiên nghiên cứu các sản phẩm đồ uống từ nguồn nguyên liệu sẵn có ở Việt Nam là cần thiết. Sản phẩm nước quả lên men có độ cồn thấp là một sản phẩm mới có giá trị dinh dưỡng cao đồng thời có lợi cho sức khỏe. Sản phẩm này hiện đang là một loại đồ uống giải khát rất được ưa chuộng trên thị trường thế giới, đặc biệt là các nước Anh, Pháp, Mỹ. Người tiêu dùng yêu thích sản phẩm này không chỉ bởi có giá trị dinh dưỡng của nó mà nó còn là một loại đồ uống giá rẻ, thích hợp với mọi lứa tuổi, đặc biệt là phụ nữ và trẻ em. Hàm lượng cồn không cao trong sản phẩm tạo nên sự kích thích tiêu hóa, khiến bữa ăn trở nên ngon miệng mà không gây say như một số sản phẩm đồ uống có cồn khác.

Dứa có các tên gọi khác như là: Khóm, thơm, tên khoa học *Ananas comosus*, là một loại quả [nhiệt đới](https://vi.wikipedia.org/wiki/Nhi%E1%BB%87t_%C4%91%E1%BB%9Bi). Trong 100g quả dứa, phần ăn được cho 25kcal, 0,03mg caroten, 0,08mg vitamin B1, 0,02mg vitamin B2, 16mg vitamin C (thơm tây). Các chất khoáng là 16mg Ca, 11mg phospho, 0,3mg Fe, 0,07mg Cu, 0,4g protein, 0,2g lipid, 13,7g hydrat cacbon, 85,3g nước, 0,4g xơ. Trong quả dứa có chứa enzyme bromelin hay bromelain, có thể phân hủy protein. Các nghiên cứu vào các năm 1960 - 1970 đã xác định bromelin của quả dứa có đặc tính kháng phù và kháng viêm. Bromelin giảm thiểu viêm xoang. Quả dứa tươi có tính kháng khuẩn, kháng virút cảm cúm, bôi trơn nhu động thành ruột, thanh lọc cholesterol nên giúp bài tiết các độc tố, chất thải thực phẩm ra khỏi đại tràng.

Phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) là phương pháp thống kê sử dụng dữ liệu định lượng dựa trên việc thu thập đầy đủ số liệu thí nghiệm để xác định đồng thời mức độ ảnh hưởng của các yếu tố và phản ánh bằng phương trình đa biến. Phương pháp này đã được sử dụng rộng rãi để tối ưu hóa trong lĩnh vực hóa học và sinh học, thực phẩm và các quá trình khác. Trong nghiên cứu này, quả dâu được sử dụng để thực hiện quá trình lên men cider. Chúng tôi xác định bốn các yếu tố cụ thể là độ Bx, tỷ lệ nấm men, pH, thời gian lên men theo phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) để đạt được điều kiện lên men tối ưu.

**2. VẬT LIỆU NGHIÊN CỨU**

**2.1. Quả dứa**:Tên khoa học là *Ananas comosus*, có tên gọi là khóm hay thơm. Nguyên liệu dứa được thu mua tại Chí Linh - Hải Dương. Quả dứa có độ chín thu hoạch có màu vàng từ 2/3 quả đến cả quả được lựa chọn, loại bỏ những quả dập nát, hư hỏng. Tác giả Ian A. Merwin và cộng sự (2007), đã đề xuất quy trình sản xuất cider từ táo: Nguyên liệu táo 🡪 rửa và nghiền 🡪 Ép 🡪 Dịch ép 🡪 Bổ sung sunfit, enzyme, giữ 1 giờ 🡪 Bổ sung các chất dinh dưỡng, nấm men và lên men 🡪 Cider: 🡪 (1) Điều chỉnh lượng SO2 và bảo quản và pha trộn 🡪 Lọc để loại bỏ vi sinh vật🡪 đóng chai; (2) Điều chỉnh lượng SO2, pha trộn và bão hòa CO2🡪 Lọc 🡪 đóng chai [11]. Ben Watson (2009) đã giới thiệu quy trình sản xuất cider từ trái cây: Thu hoạch trái cây 🡪 Rửa, nghiền và ép trái cây 🡪 Điều chỉnh acid, đường 🡪 Bổ sung SO2, dinh dưỡng, nấm men 🡪 Lên men 🡪 Sang chiết 🡪 Làm chín 🡪 Đóng chai [6].

## 2.2. Đường saccharose: Đường được sử dụng là đường kính của công ty cổ phần mía đường Biên Hòa. Địa chỉ: Khu công nghiệp Biên Hòa 1, phường An Bình, Thành phố Biên Hòa, Tỉnh Đồng Nai. Đảm bảo tiêu chuẩn TCVN 6958:2001. Tinh thể màu trắng, kích thước đồng đều, tơi khô không vón cục, không có mùi vị lạ.

### 2.3. Nước:Sử dụng nước ở xưởng nước khoa Thực phẩm và Hóa học, trường Đại học Sao Đỏ. Đạt QCVN 6-1:2010/BYT đối với nước khoáng thiên nhiên và nước khoáng đóng chai.

### 2.4. Rượu:Sản Volka có độ cồn 35%Vol được xuất tại công ty cổ phần Cồn Rượu Hà Nội. Địa chỉ: 94 Lò Đúc, Phạm Đình Hổ, Hai Bà Trưng, Hà Nội. Đảm bảo theo QCVN 6-3: 2010/BYT.

### 2.5. Môi trường đệm: CH3COOH/CH3COONa

Dung dịch được pha theo TCVN 4320-86, đủ điều kiện dùng trong thực phẩm.

**2.6. Enzyme pectinase:**Sử dụng enzyme pectinase do Công ty TNHH Một thành viên KOVIN cung cấp. Sản xuất tại ANGEL YEAST CO., LTD. Địa chỉ: 168 Chengdong Avenue, Yichang, Hubei, P.R.China, Trung Quốc sản xuất phù hợp quy định an toàn thực phẩm. Xác nhận công bố phù hợp số 21885/2016/ATTP-XNCB. Hoạt tính của chế phẩm 4.000 đơn vị polygalacturonase/mL. Phạm vi hoạt động từ pH đến 3,0 đến 5,0; pH tối ưu là từ pH 3,5 đến 4,0. Nhiệt độ hiệu dụng từ 25 đến 65oC, phạm vi nhiệt độ tối ưu là từ 40 đến 55oC.

**2.7. Nấm men *Saccharomyces cerevisiae***: Sử dụng nấm men khô do Công ty TNHH Một thành viên KOVIN cung cấp. Sản xuất tại ANGEL YEAST CO., LTD. Địa chỉ: 168 Chengdong Avenue, Yichang, Hubei, P.R.China, Trung Quốc sản xuất phù hợp quy định an toàn thực phẩm. Xác nhận công bố phù hợp số 22/2016/0104524022/-CBPH. Loại men sử dụng là RV100.

## 3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

**3.1. Quy trình nghiên cứu dụ kiến**

Quy trình sản xuất dự kiến được thực hiện như sau: Quả dứa 🡪 Phân loại 🡪 Rửa 🡪 Xử lý nguyên liệu 🡪 Ép, lọc 🡪 Dịch quả 🡪 Phối chế (Thêm nước theo tỷ lệ phù hợp); thêm saccharose để dịch lên men có 0Bx phù hợp) 🡪 Thanh trùng (35mg SO2/l)🡪 Bổ sung nấm men (xác định tỷ lệ) 🡪 Lên men (xác định pH; τ, t)🡪 Xử lý sau lên men 🡪 Thanh trùng (t = 650C, τ = 15 phút) 🡪 Làm nguội 🡪 Rót chai 🡪 Tàng trữ (1÷2 tháng) 🡪 Sản phẩm

**3.2. Bố trí thí nghiệm xác định tỷ lệ nước/dịch ép**

Nguyên liệu dứa được phân loại, lựa chọn những quả đạt yêu cầu cho quá trình sản xuất. Sau đó rửa bằng nước sạch, gọt vỏ, cắt mắt, cắt nhỏ thành từng miếng. Bổ sung 0,2g/l enzyme pectinase, đem đi ủ ở 400C trong 50 phút. Thu dịch bằng phương pháp ép và lọc, phối đường Saccharose để dịch lên men có độ Bx là 200. Thanh trùng dịch lên men bằng natri metabisunfit (Na2S2O5) trong thời gian khoảng 2 giờ nhằm ức chế và tiêu diệt các vi sinh vật không có lợi cho quá trình lên men rượu (nồng độ 30mg/l tính theo SO2), đồng thời chống oxy hóa các chất anthocyanin. Để xác định tỷ lệ nước/ dịch ép, tiến hành 5 thí nghiệm ở các tỷ lệ (v/v): 1/1,6; 1/1,8; 1/2,0; 1/2,2. Lên men ở nhiệt độ 25±10C, trong 4 ngày. Lắng, lọc nhằm loại bỏ sinh khối nấm men, tiến hành xác định độ cồn và đánh giá chất lượng cảm quan.

**3.3. Bố trí thí nghiệm tối ưu hóa điều kiện lên men**

Phương pháp bề mặt đáp ứng (Response Surface Methodology) được lựa chọn để tối ưu hóa điều kiện lên men. Bốn thông số quan trọng của quá trình chiết được nghiên cứu bao gồm: Z1- độ Bx của dịch lên men: 18÷24 0Bx; Z2- tỷ lệ nấm men: 200÷500 mg/l (1g nấm men dạng rắn được xác định bằng phương pháp đếm khuẩn lạc có 109 tế bào nấm men); Z3- pH của dịch lên men: 3,5÷5,0; Z4-Thời gian lên men: 3÷5 ngày. Miền nghiên cứu của các yếu tố thu được thông qua các thí nghiệm khảo sát trực tiếp tại phòng thí nghiệm [1]. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu trực tâm quay (Rotatable Central Composite Design) và ma trận thí nghiệm được xây dựng bằng phần mềm Design Expert 11.0. Trong các nghiên cứu thăm dò, đã xác định được giá trị biên của các nhân tố chiết như trình bày trong bảng 1. Trong số 27 thí nghiệm được tiến hành (Bảng 4), 16 (24) thí nghiệm ở hai mức (trên và dưới), 8 (2 × 4) thí nghiệm ở điểm sao và 3 thí nghiệm ở tâm. Mỗi thí nghiệm được tiến hành lặp lại ba lần và lấy kết quả trung bình. Mô hình toán học mô tả ảnh hưởng của các biến độc lập đối với biến phụ thuộc có dạng hàm đa thức bậc hai có dạng tổng quát như sau:

Trong đó:

Yk : Biến phụ thuộc (k = 1 ÷ 4)  
Xi,j: Nhân tố mã hóa của biến độc lập ảnh hưởng đến Yk

B0: Hệ số hồi qui bậc 0  
Bj: Hệ số hồi qui bậc 1 mô tả ảnh hưởng của biến Xj đến Yk  
Bij: Hệ số ảnh hưởng đồng thời của biến Xi và Xj đến Yk

Bjj: Hệ số hồi qui bậc hai mô tả ảnh hưởng của biến X2j đến Yk

**Bảng 1. Ma trận bố trí thí nghiệm mã hóa các biến độc lập**

Tên biến Mức nghiên cứu

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Biến thực | Biến mã | - α | -1 | 0 | +1 | +α |
| Z1: Độ Bx | x1 | 15 | 18 | 21 | 24 | 27 |
| Z2: Tỷ lệ nấm men (mg/l) | x2 | 50 | 200 | 350 | 500 | 650 |
| Z3: pH lên men | x3 | 2,75 | 3,5 | 4,25 | 5,0 | 5,75 |
| Z4: Thời gian lên men | x4 | 3 | 2 | 4 | 5 | 6 |

*Ghi chú:* α *= 2, xmax, xmin là giá trị cận trên (+1) và cận dưới (-1) của biến độc lập, x0 = (xmin + xmax)/2 là giá trị trung bình của cận trên và cận dưới.*

## 3.4. Các phương pháp phân tích, đánh giá

## Xác định hàm lượng axit tổng số bằng phương pháp chuẩn độ; Xác hàm lượng đường tổng số bằng phương pháp Bertrand; Xác hàm lượng protein bằng phương pháp Kjeldahn; Xác định độ ẩm bằng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi. Xác hàm lượng etanol bằng phương pháp chưng cất; Phương pháp xác định tổng số vi sinh vật hiếu khí, tổng coliform bằng phương pháp đổ đĩa.

Đánh giá cảm quantheo TCVN 3215-79:Tiêu chuẩn sử dụng hệ 20 điểm xây dựng trên một thang thống nhất có 6 bậc (từ 0-5) và điểm 5 là điểm cao nhất cho một chỉ tiêu. Các chỉ tiêu được lựa chọn là Màu sắc (hệ số quan trọng 1,2), mùi (hệ số quan trọng 1,0), vị (hệ số quan trọng 1,0), trạng thái (hệ số quan trọng 0,8).

## 3.5. Thiết bị phục vụ nghiên cứu

Thiết bị phân tích: Brix kế; Máy đo pH; Tủ ấm; Nồi thanh trùng; Kính hiển vi điện tử; Nhiệt kế; Thiết bị lên men:

**3.6. Xử lý số liệu**

Sử dụng phần mềm Design Expert 11.0 để thiết kế, xử lý và tối ưu hóa dữ liệu thống kê.

**4. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN**

**4.1. Kết quả xác định tỷ lệ dịch ép/ nước**

**Bảng 2. Kết quả nghiên cứu xác định tỷ lệ dịch ép/ nước**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Tỷ lệ dịch ép /nước (v/v)** | **Điểm cảm quan** | **Độ cồn (%v/v)** |
| 1/1,6 | 17,15 | 4,5 |
| 1/1,8 | 17,20 | 4,3 |
| 1/2,0 | 17,90 | 4,0 |
| 1/2,2 | 16,58 | 3,5 |

**Hình 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ nước/dịch ép (v/v)**

**đến chất lượng cảm quan và độ cồn**

Tỷ lệ nước/dịch quả ảnh hưởng trực tiếp đến màu sắc sản phẩm đồng thời làm thay đổi nồng độ chất dinh dưỡng trong dịch lên men ảnh hưởng trực tiếp đến quá sự phát triển của nấm men. Ở tỷ lệ dịch quả/nước là 1/1,6; 1/1,8 (v/v) màu sắc của sản phẩm khá đậm tác động đến chất lượng chung. Ở tỷ lệ này tốc độ phát triển của nấm men khá tốt (tổng độ Bx là 220), sau 4 ngày lên men độ cồn đạt tương ứng là 4,50, 4,30. Điều này là do khi thêm ít nước vào thì nồng độ các chất dinh dưỡng còn cao, khả năng trao đổi chất ở nấm men diễn ra thuận lợi. Ở các tỷ lệ 1/2,0; 1/2,2 (v/v) nấm men vẫn phát triển tương đối tốt, độ cồn đạt được là 4,0 và 3,50, lúc này điểm chất lượng cảm quan đạt được tốt hơn (17,90 ở tỷ lệ 1/2,0 v/v) là do màu sắc, mùi vị phù hợp với tiêu chí chất lượng của sản phẩm.

**4.3. Kết quả xác định ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình lên men**

Ảnh hưởng của các nhân tố, Z1- độ Bx của dịch lên men, Z2- tỷ lệ nấm men, Z3- pH của dịch lên men, Z4-Thời gian lên men được trình bày ở bảng 3 và hình 2.

**Bảng 3. Kết quả bố trí thí nghiệm đầy đủ theo phương pháp bề mặt đáp ứng**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| TT | Biến mã hóa | | | | Biến thực | | | | Y1: Điểm cảm quan | Y2: Độ cồn |
| **X1** | **X2** | **X3** | **X4** | **Z1:Độ**  **(Bx)** | **Z2:Tỷ lệ nấm men**  **(mg/l)** | **Z3:pH** | **Z4:Thời gian (ngày)** |
| 1 | -1 | -1 | -1 | -1 | 18 | 200 | 3.5 | 3 | 13.5 | 2.7 |
| 2 | 1 | -1 | -1 | -1 | 24 | 200 | 3.5 | 3 | 14.1 | 4.1 |
| 3 | -1 | 1 | -1 | -1 | 18 | 500 | 3.5 | 3 | 16.6 | 5.4 |
| 4 | 1 | 1 | -1 | -1 | 24 | 500 | 3.5 | 3 | 17.5 | 4.6 |
| 5 | -1 | -1 | 1 | -1 | 18 | 200 | 5 | 3 | 14.4 | 4 |
| 6 | 1 | -1 | 1 | -1 | 24 | 200 | 5 | 3 | 17.3 | 5.4 |
| 7 | -1 | 1 | 1 | -1 | 18 | 500 | 5 | 3 | 17 | 5.1 |
| 8 | 1 | 1 | 1 | -1 | 24 | 500 | 5 | 3 | 17.7 | 5.6 |
| 9 | -1 | -1 | -1 | 1 | 18 | 200 | 3.5 | 5 | 16.7 | 5.1 |
| 10 | 1 | -1 | -1 | 1 | 24 | 200 | 3.5 | 5 | 17.8 | 5.3 |
| 11 | -1 | 1 | -1 | 1 | 18 | 500 | 3.5 | 5 | 18.6 | 5.9 |
| 12 | 1 | 1 | -1 | 1 | 24 | 500 | 3.5 | 5 | 18.7 | 4.8 |
| 13 | -1 | -1 | 1 | 1 | 18 | 200 | 5 | 5 | 18.1 | 5.8 |
| 14 | 1 | -1 | 1 | 1 | 24 | 200 | 5 | 5 | 18.5 | 5.8 |
| 15 | -1 | 1 | 1 | 1 | 18 | 500 | 5 | 5 | 18.3 | 5.8 |
| 16 | 1 | 1 | 1 | 1 | 24 | 500 | 5 | 5 | 18.7 | 5.6 |
| 17\* | -2 | 0 | 0 | 0 | 15 | 350 | 4.25 | 4 | 11 | 1.5 |
| 18\* | 2 | 0 | 0 | 0 | 27 | 350 | 4.25 | 4 | 17 | 4.8 |
| 19\* | 0 | -2 | 0 | 0 | 21 | 50 | 4.25 | 4 | 12.5 | 2.6 |
| 20\* | 0 | 2 | 0 | 0 | 21 | 650 | 4.25 | 4 | 18 | 5.7 |
| 21\* | 0 | 0 | -2 | 0 | 21 | 350 | 2.75 | 4 | 12.2 | 2.7 |
| 22\* | 0 | 0 | 2 | 0 | 21 | 350 | 5.75 | 4 | 18.9 | 5.9 |
| 23\* | 0 | 0 | 0 | -2 | 21 | 350 | 4.25 | 2 | 17.1 | 5.3 |
| 24\* | 0 | 0 | 0 | 2 | 21 | 350 | 4.25 | 6 | 18.7 | 6.1 |
| 25t | 0 | 0 | 0 | 0 | 21 | 350 | 4.25 | 4 | 17.6 | 6.2 |
| 26t | 0 | 0 | 0 | 0 | 21 | 350 | 4.25 | 4 | 17.9 | 6 |
| 27t | 0 | 0 | 0 | 0 | 21 | 350 | 4.25 | 4 | 18.8 | 5.9 |
| 28t | 0 | 0 | 0 | 0 | 21 | 350 | 4.25 | 4 | 18.1 | 6.3 |
| 29t | 0 | 0 | 0 | 0 | 21 | 350 | 4.25 | 4 | 18.2 | 6 |
| 30t | 0 | 0 | 0 | 0 | 21 | 350 | 4.25 | 4 | 18.6 | 5.9 |

*Ghi chú: (\*) thí nghiệm được tiến hành ở điểm sao; (t) thí nghiệm được tiến hành ở điểm tâm.*

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
|  |  |
|  |  |

**Hình 2. Ảnh hưởng tương tác của các yếu tố (Z1, Z2, Z3, Z4) đến hàm mục tiêu**

Tiến hành xử lý bằng phần mềm Design Expert 11.0 thu được mô hình toán học như sau:

Với hàm mục tiêu là điểm chất lượng cảm quan:

Y1 = -68,3 + 4,26\*Z1 + 0,055Z2 + 8,66\*Z3+ 2,86Z4 -0,0004 \*Z1 \* Z2 +0,047 Z1\*Z3 -0,064 Z1\*Z4 - 0,0032 Z2\*Z3 - 0,0026 Z2\*Z4 - 0,242 Z3\*Z4 - 0,09Z1² -0,00002Z2² - 0,757 Z3² + 0,161Z4² (1)

Với hàm mục tiêu là nồng độ ethanol:

Y2 = 6,05 + 0,3333 Z1 + 0,45 Z2 + 0,4833 Z3 + 0,3667 Z4 - 0,2875Z1\*Z2 + 0,125 Z1\*Z3 -0,225 Z1 \* Z4 - 0,15 Z2 \* Z3 – 0,275 Z2 \* Z4 - 0,0875 Z3 \* Z4 – 0,6021 Z1² -0,3521Z2²-0,3146 Z3² + 0,0354 Z4² (2)

Mô hình (1) có giá trị p-value = 0,0097 < α=0,05 cho thấy mô hình hồi quy là phù hợp với thực nghiệm, tương tự như vậy ở mô hình (2) có giá trị p-value = 0,0065 < α=0,05 khẳng định mô hình tương thích. Kết quả phân tích phương sai (ANOVA) cho thấy ảnh hưởng của các nhân tố chiết đến hàm mục tiêu. Kết quả cho thấy các biến: Z1, Z2, Z3, Z4, và Z21, Z22, Z23 có ảnh hưởng đáng kể đến hàm mục tiêu (p < 0,05). Các biến khác mặc dù không có ảnh hưởng đáng kể đến hàm mục tiêu (p > 0,05), nhưng vì các biến đơn có ảnh hưởng đáng kể nên các biến tương tác của chúng cũng được giữ lại trong mô hình để tiến hành tối ưu hóa. Kết quả cho thấy cả bốn yếu tố đều ảnh hưởng đến hàm mục tiêu là nồng độ ethanol được tạo ra. Kết quả này cũng hoàn toàn phù hợp với lý thuyết về lên men bởi nấm men. Theo đó, các nhân tố là nồng độ chất hòa tan (0Bx), tỷ lệ nấm men (mg/l), pH lên men, thời gian lên men đều có ảnh hưởng đến việc tạo thành ethanol và trực tiếp ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm. Kết quả cũng chỉ ra, cả bốn yếu tố đều có tương tác với nhau và tương tác đến hàm mục tiêu Y1, Y2. Cụ thể, yếu tố Z1, Z2, Z3, Z4 có ảnh hưởng đồng biến với hàm mục tiêu. Điều này có nghĩa là, trong phạm vi miền tối ưu được nghiên cứu khi tăng giá trị pH, tăng thời gian lên men, tăng tỷ lệ dịch ép quả/nước, tăng nồng độ chất hòa tan thì hàm lượng ethanol được tạo thành càng lớn, điểm chất lượng cảm quan càng cao và ngược lại.

Để kiểm chứng sự chính xác của mô hình xây dựng so với thực nghiệm, các thí nghiệm kiểm chứng sự phù hợp của mô hình được tiến hành tại một số điểm trong vùng quy hoạch. Kết quả thế hình ở hình 3 cho thấy có sự tương quan khá cao giữa mô hình xác định được so với thực nghiệm với hệ số tương quan R2= 0,971. Kết quả này cho thấy sự phù hợp cao giữa mô hình xây dựng và thực nghiệm. Điều đó có thể cho phép sử dụng mô hình để đánh giá, dự đoán ảnh hưởng của các nhân tố đến chất lượng sản phẩm cider dứa.

**Hình 3. Mối tương quan giữ mô hình lý thuyết và thực nghiệm mô tả ảnh hưởng của các nhân tố đến điểm cảm quan**

**4.4.** **Tối ưu hóa một số điều kiện lên men**

Bằng các thuật toán phân tích tối ưu (optimization) sử dụng phần mềm Design Expert 11.0 thu được các giá trị tối ưu ứng với giá trị cực đại của hàm mục tiêu như sau: Độ Bx của dịch lên men 24Bx; Tỷ lệ nấm men 326,3(mg/l); pH, 4.3; Thời gian, 5,0 (ngày). Độ cồn thu được ở thí nghiệm tối ưu là 6,0, điểm chất lượng cảm quan là 18,9. Nồng độ chất khô trong dịch lên men tăng thì độ cồn tạo ra trong sản phẩm sau lên men cũng tăng theo.Tuy nhiên, khi nồng độ chất khô quá cao tạo ra áp suất thẩm thấu lớn, làm mất cân bằg trạng thái sinh lý của tế bào, gây ức chế hoạt động của nấm men. Kết quả nghiên cứu chứng minh khi bổ sung lượng đường thấp thì sẽ không tạo điều kiện thích hợp cho quá trình lên men, làm cho sản phẩm có mùi vị không ngon, nếu bổ sung lượng đường quá cao thì khả năng lên men giảm, sản phẩm sẽ có vị đắng và sốc. Giá trị pH có ý nghĩa quan trọng trong quá trình lên men. Chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* có khả năng lên men ethanol ở pH từ 3,0÷5,0. Ở pH≤ 4.0 tạp khuẩn hầu như không phát triển, nấm men phát triển chậm hơn so với pH=4,5÷5,0. Do đó ở các thí nghiệm tại pH = 2,0 hay 3,0, nồng độ cồn thu được thấp vì ở pH này nấm men phát triển chậm, quá trình chuyển hóa xảy ra kém nên lượng ethanol tạo thành ít, các axit hữu cơ tạo ra trong quá trình lên men không đủ làm thay đổi pH môi trường. Giá trị pH tối ưu này cao hơn so với nghiên cứu của Nguyễn Đức Hanh và cộng sự năm 2016 là pH = 3,4 [2], và pH = 3,8 của AndRew Lea, 2015 [4]

**Đánh giá chất lượng sản phẩm:**

Sau khi đánh giá cảm quan thì sản phẩm đạt được 18,9 điểm và theo bảng phân loại chất lượng TCVN 3215 – 79 thì sản phẩm được loại tốt, sản phẩm có màu vàng đặc trưng của dứa, mùi thơm của dứa, vị ngọt dịu hài hòa. Tổng số vi sinh vật hiếu khí, số khuẩn lạc trong 1ml sản phẩm: 8 (Giới hạn tối đa: 10); *Coliforms*, số vi khuẩn trong 1ml sản phẩm: Không phát hiện. Kết quả kiểm tra vi sinh của sản phảm ta thấy lượng vi sinh vật sản phẩm đạt yêu cầu theo quyết định 46/2007/QĐ-BYT [3].

**5. KẾT LUẬN**

Nghiên cứu đã xây dựng được mô hình toán thể hiện mới quan hệ giữa giá trị pH lên men, thời gian lên men, tỷ lệ nấm men với hàm lượng ethanol tạo thành và điểm chất lượng cảm quan. Các giá trị tối ưu để thực hiện quá trình lên men như sau: Độ Bx của dịch lên men 4; Tỷ lệ nấm men, 326,3mg/l; pH, 4,3; Thời gian, 5 (ngày). Dịch ép dứa được bổ sung nước theo tỷ lệ 1v dịch ép dứa/2v nước. Độ cồn thu được ở thí nghiệm tối ưu là 6,0. Sản phẩm cider dứa được hội đồng đánh giá cảm quan theo thang điểm 20, hệ số quan trọng 4 đánh giá được 18,9 điểm, đạt loại tốt.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Đỗ Tất Lợi (2004), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB Y học, tr. 721.
2. Nguyễn Đức Hanh, Hoàng Thị Lệ Hằng, Hoàng Thị Tuyết Mai, Nguyễn Văn Lợi. *Nghiên cứu sử dụng nấm men Saccharomyces cerevisiae trong chế biến nước quả táo mèo (Docynia indica) lên men có độ cồn thấp*”. Tạp chí Khoa học Công nghệ Việt Nam, số 8 (69)/2016
3. Quyết định 46/2007/QĐ-BYT, mục 6.7: Quy định giới hạn cho phép vi sinh vật trong nước khoáng và nước giải khát đóng chai.
4. Andrew Lea, 2015. “The Science of Cider making Part 3 – Juicing and Fermenting.
5. Bae SH, Suh HJ (2007). *Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea*. LWT - Food Sci. Technol. 40:955-962.
6. Ben Watson (2009), Cider, hard and sweet: history, traditions, and making your own, The Countryman Press.
7. Eric Wei-Chiang Chan, Phui-Yan Lye, Siu-Kuin Wong (2016), *"Phytochemistry, pharmacology, and clinical trials of Morus alba*", Chinese Journal of Natural Medicines, pp. 17-30. 12.
8. Fujie Yan, Xiaodong Zheng (2017). *Anthocyanin-rich mulberry fruit improves insulin resistance and protects hepatocytes against oxidative stress during hyperglycemia by regulating AMPK/ACC/mTOR pathway.* Journal of Functional Foods, Vol. 30, pp.270-281
9. Srivastava S., Kapoor R., Thathola A. & Srivastava R. P, 2006, Nutritional quality of leaves of some genotype of mulberry (Morus alba), International Journal of Food Science and Nutrition 57: 305-313.
10. Halliwell B (1992). *The role of oxygen radicals in human disease, with particular reference to the vascular system*. Haemostasis 23(Suppl 1):118-126.
11. Ian A. Merwin, Sarah Valois, Olga I. Padilla-Zakour, “Cider Apple and Cider – Making Techniques in Europe and North America, Horticultural Review, Volume 34, Edited bay Jules Janick, pp 376-377.
12. Srivastava S, Kapoor R, Thathola A, Srivastava RP (2006). *Nutritional quality of leaves of some genotypes of mulberry (Morus alba).* Int. J.Food Sci. Nutr. 57:305-313.
13. Tomoyuki O, Kobayashi M, Nakamura T, Okuyama A, Masuda M, Shiratsuchi H, Suda I (2006). *Changes in radical-scavenging activity and components of mulberry fruit during maturation*. J. Food Sci.71:18-22.
14. Wang CY, Fan T, Gui ZZ, Jia JQ (2011). *The research and development of mulberry*. J. China Food Indust. (in Chinese), 174:95-98.
15. Zadernowski R, Naczk M, Nesterowicz J (2005). *Phenolic acid profiles in some small berries*. J. Agric. Food Chem. 53:2118-2124.