

2. Nguyễn Thị Huệ (1997). *Cây cao su - Kiến thức tổng quát và kỹ thuật nông nghiệp*, Nhà xuất bản Trẻ.
 3. Phan Thành Dũng., 2008. *Các tiến bộ kỹ thuật áp dụng cho canh tác cao su ở Việt Nam*.
<http://www.rriv.org.vn/uploads/userfiles/BNN-12-2008.pdf>.
 4. Quy trình kỹ thuật trồng cao su vùng miền núi phía Bắc do Tập đoàn Công nghiệp Cao su ban hành.
 5. Hà Văn Khương, 2006. *Áp dụng các tiến bộ KHKT vào vườn cây cao su Tổng Công ty cao su Việt Nam*. Báo cáo Hội nghị cao su tại TP. HCM 2006.
 6. Đào Thế Tuấn, 1977. *Cơ sở khoa học xác định cơ cấu cây trồng*. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
- Ngày nhận bài: 15/3/2012
Người phản biện: GS.TS. Trần Đình Long,
ngày 25/3/2012
Ngày duyệt đăng: 4/9/2012

MỘT SỐ KẾT QUẢ THEO DÕI QUÁ TRÌNH LÊN MEN NƯỚC GIẢI KHÁT KOMBUCHA VÀ NƯỚC GIẢI KHÁT LÊN MEN BẰNG NẤM MEN VÀ VI KHUẨN ACETIC ĐƯỢC PHÂN LẬP TỪ MÀNG KOMBUCHA

Đỗ Thị Kim Ngọc, Ngô Xuân Cường,
Nguyễn Thị Thanh Hương, Nguyễn Thị Thủy,
Nguyễn Thị Bích Ngọc

SUMMARY

Some research results on fermentation of Kombucha and beverage fermented by yeast and bacteria isolated from membrane of Kombucha

Experiments on the beverage fermented from green tea had carried out by two methods: fermentation by membrane of Scoby (Symbiotic Colony of Bacteria and Yeast: used in the production of Kombucha) and fermentation by yeast (denoted: HD2) and bacteria (denoted: HD4), that were isolated and selected from membrane of Scoby. The results has showed that the quality of beverage fermented from HD2 and HD4 is better than quality of beverage fermented from membrane of Scoby.

Keywords: Kombucha, Scoby membrane, fermented, yeast, bacteria.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Kombucha là sản phẩm đồ uống lên men từ chè, được lên men bởi sự cộng sinh của nấm men và vi khuẩn acetic. Kombucha có nhiều lợi ích cho sức khỏe. Kombucha đã được nghiên cứu chuyên sâu từ 1852, một số các thuộc tính y tế đã được chứng minh bởi nghiên cứu khoa học và thực nghiệm. Kombucha có những tác dụng tốt đối với sức khỏe vì nó chứa nhiều axit hữu cơ có lợi. Axit glucuronic một

loại axit quan trọng nhất, bởi khả năng giải độc của nó. Axit acetic có khả năng ức chế các vi khuẩn có hại. Usnic axit một kháng sinh tự nhiên có thể chống lại nhiều virus một cách hiệu quả. Axit oxalic khuyến khích việc sản xuất các tế bào năng lượng và chất bảo quản tự nhiên. Axit malic giúp giải độc gan. Axit gluconic hiệu quả chống lại các bệnh nhiễm nấm như candida và bệnh tưa miệng. Axit butyric khi kết hợp với gluconic cũng có thành ruột chống lại các bệnh về nấm. Một thành phần có lợi

khác trong Kombucha đó là chất polyphenol trong trà có khả năng kìm hãm quá trình oxy hóa gây lão hóa tế bào trong cơ thể, đồng thời còn giúp cơ thể chống các bệnh về tim mạch. Nghĩa là có tác dụng làm mạch máu co giãn tốt, hạn chế sự hình thành các khối máu tụ gây nên cơn đau tim, đột quy, không chế sự hình thành các tế bào ung thư. Ngoài ra các vitamin, axit amin trong Kombucha có tác dụng bồi bổ sức khỏe (Vijayaraghavan et al., 2000). Với các tác dụng tốt như vậy nên Kombucha được dùng khá phổ biến. Ở nước ta Kombucha chưa được sản xuất theo hướng công nghiệp mà chỉ là sản phẩm do người dân tự làm, do vậy các sản phẩm không có tính chất ổn định và thường bị nhiễm nấm mốc, vi khuẩn hay nấm men dại ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm. Do đó việc tạo ra các sản phẩm Kombucha thương mại có chất lượng ổn định là rất cần thiết.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu nghiên cứu

- Sản phẩm chè xanh LDP1.
- Đường trắng tinh luyện RE.
- Nấm men: Sử dụng chủng nấm men ký hiệu HĐ2 do Viện Công nghiệp Thực phẩm phân lập từ màng dấm ở Hà Đông.
- Vi khuẩn: Sử dụng chủng vi khuẩn acetic ký hiệu HĐ4 do Viện Công nghiệp Thực phẩm phân lập từ màng dấm ở Hà Đông.
- Màng Scoby (Symbiotic Colony of Bacteria and Yeast) dùng trong lên men Kombucha, nhập từ Trung Quốc.
- Dịch môi Kombucha.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Quy trình lên men

Tiến hành thí nghiệm nước giải khát lên men từ chè theo các bước sau:

Đun sôi nước → Cho chè, ngâm 5 phút → Lọc → Cho đường khuấy tan → Để nguội → Cấy men và vi khuẩn → Lên men → Lọc → Thanh trùng → Nước giải khát lên men từ chè.

- Chuẩn bị dịch lên men: Nước sạch sau khi đun sôi cho chè vào theo tỷ lệ 6g chè xanh/lít, ngâm trong 5 phút, lọc bằng vải sạch. Cho đường vào khuấy tan lúc dịch còn nóng theo tỷ lệ 90 g/lít. Sau đó làm mát ngay xuống nhiệt độ khoảng 25⁰C và cho vào bình thủy tinh có dung tích 5 lít trước đó đã được tiệt trùng bằng nước sôi, mỗi bình 3 lít dịch lên men.

Các dụng cụ được tiệt trùng bằng nước sôi.

- Tiến hành cấy men và vi khuẩn:

+ Thí nghiệm 1: Sử dụng nấm men HĐ2 và vi khuẩn HĐ4 (mẫu 1):

Nhân giống nấm men và vi khuẩn: Đảm bảo số lượng và chất lượng giống trước khi tiến hành lên men.

Lấy 0,3 lít dung dịch chứa nấm men HĐ2 và vi khuẩn HĐ4 đã nhân giống cấp 3, cho vào 3 lít dịch lên men; tiến hành lên men chìm.

+ Thí nghiệm 2: Sử dụng nấm Scoby 5% (w/v) dịch lên men (mẫu 2).

Cho màng Scoby đã được rửa sạch bằng nước sôi để nguội vào 3 lít dịch lên men. Bổ sung dịch môi Kombucha theo tỷ lệ 10% thể tích. Tiến hành lên men nổi.

Bịt miệng bình lên men bằng vải sạch.

- Lên men trong điều kiện: Nhiệt độ 20-26⁰C.

- Dịch sau khi lên men, tiến hành lọc và thanh trùng bằng máy UHT ở nhiệt độ vào

160⁰C, nhiệt độ ra 40⁰C trong thời gian 1 phút (Rasu Jayabalan *et al.*, 2008).

Các thí nghiệm được tiến hành song song và lặp lại 3 lần.

2.2. Phương pháp phân tích

- Đo pH dung dịch bằng máy đo pH HI98107 HANA - Ý.

- Đo độ Brix dung dịch bằng máy đo khúc xạ tỷ trọng (khúc xạ kế) MR32ATC.

- Xác định hàm lượng cồn, đường sót theo Lê Thanh Mai, 2007.

- Xác định nhiệt độ và ẩm độ phòng lên men bằng nhiệt ẩm kế.

2.3. Phương pháp đánh giá chất lượng cảm quan

a. Xây dựng thang điểm cảm quan

Dựa trên các tài liệu về kiểm nghiệm, cách đánh giá tiêu chuẩn của nước giải khát lên men, tiêu chuẩn Việt Nam - TCVN 3215-79, tiêu chuẩn phân tích cảm quan sản phẩm thực phẩm. Phương pháp đánh giá, cho điểm cảm quan đối với nước giải khát lên men từ chè được xây dựng dựa vào các chỉ tiêu gồm: Màu sắc, độ trong, mùi và vị.

Bảng 1. Mức cho điểm về độ trong, màu sắc của nước giải khát lên men từ chè.

Bậc đánh giá	Điểm	Cơ sở để đánh giá
1	5	Nước giải khát lên men trong suốt không vẩn đục và vật thể lạ nhỏ. Màu hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm
2	4	Nước giải khát lên men trong suốt, không vẩn đục và ít có vật thể lạ nhỏ. Màu đặc trưng cho sản phẩm
3	3	Nước giải khát lên men trong, có tương đối nhiều vật thể lạ nhỏ. Màu hơi khác ít so với màu đặc trưng
4	2	Nước giải khát lên men hơi đục, có khá nhiều vật thể lạ nhỏ, thô. Màu khác nhiều so với màu đặc trưng của sản phẩm.
5	1	Chất lỏng đục nhiều lắng cặn, có nhiều vật thể lạ nhỏ, thô. Màu không đặc trưng cho sản phẩm.
6	0	Có nhiều cặn trắng, màu bẩn, sản phẩm bị hỏng

Bảng 2. Mức cho điểm về mùi, vị của nước giải khát lên men từ chè

Bậc đánh giá	Điểm	Cơ sở để đánh giá
1	5	Vị ngọt của đường và mùi thơm của ethanol hài hòa với vị chua nhẹ của axit, vị chát nhẹ của tanin, vị đậm đà của muối khoáng tất cả tạo thành tổ hợp vị hài hòa đặc trưng cho nước giải khát lên men, dễ uống và lưu hậu vị.
2	4	Hơi thiếu đậm đà của muối khoáng nhưng vị chua nhẹ, ngọt dịu, vẫn đảm bảo vị hài hòa, lưu hậu vị. Có mùi thơm nhẹ, hài hòa, không có mùi lạ
3	3	Thiếu mặn mà, vị hơi chua làm cho vị ít được hài hòa, ít lưu vị. Mùi thơm rất nhẹ, khó cảm nhận được nhưng không có mùi lạ
4	2	Vị chua của axit hơi gắt, hay vị ngọt gắt làm ít hài hòa, ít lưu vị Có mùi thoảng qua, vẫn có mùi đặc trưng của nước giải khát lên men
5	1	Vị chua rất gắt, vị chát nhiều không cảm nhận được mùi
6	0	Chỉ người thấy mùi, không thấy có mùi đặc trưng.

Hội đồng cảm quan gồm 5 kiểm nghiệm viên tham ra đánh giá cho điểm. Kết quả trình bày là trung bình cộng điểm của các kiểm nghiệm viên nhân với hệ số quan trọng (k) của từng chỉ tiêu. Đối với nước giải khát lên men, hệ số quan trọng của các chỉ tiêu cảm quan như sau: Vị: K = 1,2; mùi: K = 1,2; màu sắc và độ trong có k = 0,8.

Điểm trung bình của một chỉ tiêu nhân với hệ số quan trọng là điểm trung bình có trọng lượng của chỉ tiêu đó. Điểm đánh giá chung về cảm quan mẫu là tổng số điểm có trọng lượng của tất cả các chỉ tiêu cảm quan.

b. Phương pháp cho điểm theo tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN)

Trong các phương pháp cho điểm các cảm quan viên dựa vào sự đánh giá để cho điểm theo thang điểm nhất định. Ở nước ta phương pháp này dựa theo TCVN 3215-79. Tiêu chuẩn này sử dụng hệ 20 điểm xây dựng trên một thang thống nhất có 6 bậc (0 đến 5) và cho điểm 5 là cao nhất cho một tiêu chuẩn.

Khi đánh giá mẫu kiểm nghiệm viên căn cứ kết quả ghi nhận được đối chiếu với bảng mô tả các chỉ tiêu này.

2.4. Xử lý kết quả thí nghiệm

Xử lý số liệu thống kê, sử dụng phần mềm MS.Excel 2007.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Tiến hành 2 thí nghiệm song song. Mẫu 1: Sử dụng chủng nấm men và vi khuẩn phân lập làm tác nhân lên men. Mẫu 2: Sử dụng màng Scoby làm tác nhân lên men. Các thông số thí nghiệm được theo dõi ở các khoảng thời gian lên men khác nhau gồm: 0 ngày, 3 ngày, 5 ngày, 7 ngày, 9 ngày và 11 ngày.

1. Sự thay đổi độ Brix trong quá trình lên men

Sự biến đổi độ Brix trong quá trình lên men được thể hiện qua bảng 3.

Bảng 3. Sự biến đổi độ Brix trong quá trình lên men

Thời gian lên men (ngày)	Độ Brix (°Bx)	
	Mẫu 1	Mẫu 2
0	9,1	9,1
3	8,8	8,9
5	8,6	8,7
7	8,2	8,4
9	7,5	7,8
11	6,8	7,2

Từ kết quả bảng 3 cho thấy: Độ Brix của 2 mẫu đều giảm trong quá trình lên. Các kết quả cho thấy không có sự khác biệt đáng kể trong sự giảm độ Brix giữa 2 mẫu thí nghiệm trong 5 ngày đầu. Tuy nhiên sau ngày thứ 5, độ Brix của mẫu 1 (mẫu sử dụng chủng nấm men và vi khuẩn phân lập, tiến hành lên men chìm) giảm nhanh hơn mẫu 2 (mẫu sử dụng màng Scoby), biểu hiện là độ Brix của mẫu 1 thấp hơn độ Brix của mẫu 2.

2. Sự thay đổi pH trong quá trình lên men

Trong quá trình lên men, sự biến đổi pH của dịch lên men phản ánh quá trình tạo thành các axit hữu cơ.

Theo dõi sự thay đổi pH trong quá trình lên men được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Sự thay đổi pH trong quá trình lên men

Thời gian lên men (ngày)	Giá trị pH	
	Mẫu 1	Mẫu 2
0	4,55	4,55
3	4,11	4,30

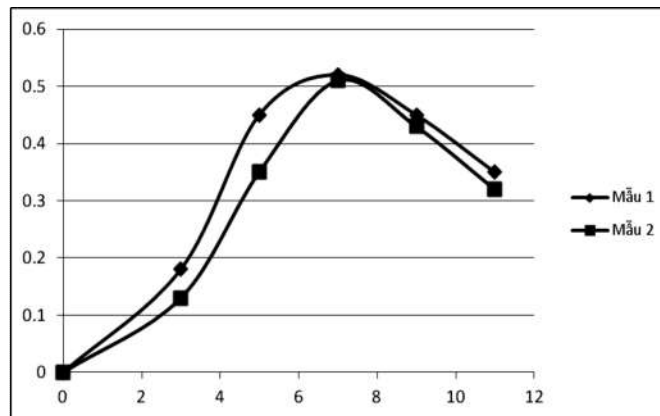
5	3,72	3,85
7	3,51	3,56
9	3,25	3,33
11	2,85	2,76

Từ bảng 4 cho thấy, giá trị pH giảm dần theo thời gian lên men đối với cả 2 mẫu. Sau các ngày lên men, giá trị pH của mẫu 1 đều thấp hơn giá trị pH mẫu 2. Điều này có thể thấy rằng lượng axit trong dịch lên men tạo ra nhiều khi thời gian lên men càng dài dẫn

đến pH của sản phẩm lên men giảm dần. Do vậy, mẫu 1 tạo axit nhanh hơn mẫu 2.

3. Sự thay đổi nồng độ cồn trong quá trình lên men

Thời gian lên men ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình hình thành cồn, trong thời gian thí nghiệm đã tiến hành xác định hàm lượng cồn của các mẫu thí nghiệm. Kết quả được thể hiện ở hình 1.

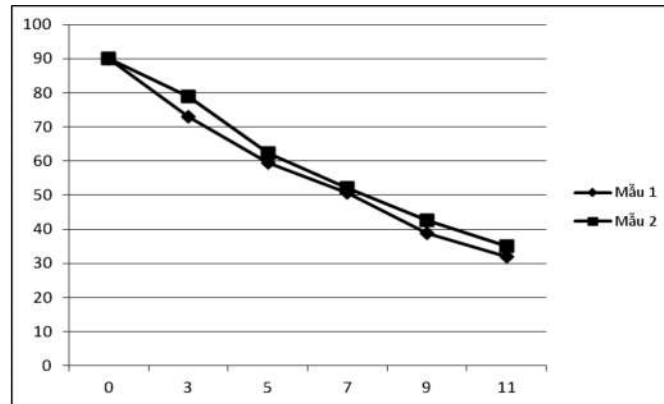


Hình 1. Sự thay đổi hàm lượng cồn trong dung dịch

Qua đồ thị trên cho thấy: Đối với mẫu 1, hàm lượng cồn tăng dần theo thời gian lên men trong 7 ngày đầu lên men và sau đó độ cồn có xu hướng giảm. Đối với mẫu 2, hàm lượng cồn tăng dần theo thời gian lên men trong 9 ngày đầu lên men và có xu hướng giảm ở ngày lên men thứ 9 đến ngày lên men thứ 11.

4. Sự thay đổi hàm lượng đường dư trong quá trình lên men

Trong thời gian thí nghiệm đã tiến hành xác định hàm lượng đường dư các mẫu thí nghiệm. Kết quả được thể hiện ở hình 2.



Hình 2. Sự thay đổi hàm lượng đường dư trong dung dịch

Qua đồ thị trên cho thấy: Hàm lượng đường có xu hướng giảm dần theo thời gian lên men, hàm lượng đường của mẫu 1 có giá trị thấp hơn mẫu 2.

sản phẩm, quyết định sản phẩm có được thương mại hóa hay không. Với điều kiện lên men là nhiệt độ phòng: Nhiệt độ dao động trong khoảng 20-26⁰C. Kết quả cảm quan của các mẫu thí nghiệm theo thời gian lên men được thể hiện ở bảng 5.

5. Đánh giá cảm quan

Kết quả cảm quan là một trong những chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng

Bảng 5. Kết quả cảm quan của các mẫu thí nghiệm theo thời gian lên men

Thời gian lên men (ngày)	Kết quả đánh giá cảm quan	
	Mẫu 1	Mẫu 2
3	Vàng sáng, trong, mùi thơm, chất dịu, vị chua nhẹ, hơi dư ngọt.	Vàng sáng, trong, mùi thơm nhẹ, chất dịu, chua nhẹ, dư ngọt.
5	Vàng sáng, trong, mùi thơm dịu, vị chua ngọt hài hòa.	Vàng sáng, trong, mùi thơm nhẹ, chất dịu, vị chua nhẹ, dư ngọt.
7	Vàng sáng, trong, mùi thơm dịu, vị hơi chua.	Vàng sáng, trong, thơm nhẹ, chua ngọt vừa, vị hơi thô.
9	Vàng sáng, trong, mùi thơm hơi chua, vị chua.	Vàng sáng, hơi kém trong, mùi thơm nhẹ, vị hơi chua, hơi thô.
11	Vàng sáng, trong, mùi chua, vị chua gắt.	Vàng hơi đục, mùi vị chua hơi gắt, hơi thô.

Từ bảng 5 cho thấy trong khoảng 3 ngày đầu, cả 2 mẫu đều chưa có biến đổi nhiều về cảm quan, từ màu nước đến mùi vị. Lên men từ 5-7 ngày, cả 2 mẫu đều cho kết quả đánh giá cảm quan khá tốt. Trong đó mẫu 1 được đánh giá tốt nhất ở ngày lên men thứ 5, mẫu 2 được đánh giá tốt nhất ở ngày lên men thứ 7. Trong giai đoạn này vi sinh vật đã tạo ra được chất lượng dung dịch có độ hài hòa về vị, hương thơm cũng

tích lũy và đạt được độ thơm ngon nhất. Đến ngày thứ 9 thì đã xuất hiện những biểu hiện xấu của sự lên men quá, vị bắt đầu dư chua. Đến ngày lên men thứ 11, cả 2 mẫu đều có vị chua gắt, mẫu 2 xuất hiện vẩn đục. Điều này cho thấy, thời gian lên men kéo dài thì chất lượng dịch lên men càng giảm. Như vậy ở điều kiện nhiệt độ dao động từ 20-26⁰C, thời gian lên men thích hợp của mẫu 1 là 5 ngày, mẫu 2 là 7 ngày.

So sánh điểm cảm quan của mẫu 1 ở thời gian lên men 5 ngày và mẫu 2 ở thời gian lên men 7 ngày, kết quả như sau:

Bảng 6. Điểm cảm quan trung bình đã nhân hệ số quan trọng của các mẫu sản phẩm nước giải khát lên men từ chè xanh

Chỉ tiêu \ Điểm	Mẫu 1	Mẫu 2
Mùi	5,4	4,2
Vị	5,4	4,2
Màu sắc	3,6	3,6
Độ trong	4,0	3,6
Tổng điểm	18,4	15,6

Từ các kết quả về độ cồn, hàm lượng đường dư và kết quả cảm quan cho thấy: Mẫu số 1 (lên men bằng chủng vi sinh vật phân lập) có nồng độ cồn 0,52%V, hàm lượng đường dư 50,6g/l là mẫu được ưa thích hơn. Kết quả đánh giá cảm quan cho thấy, các chỉ tiêu cảm quan về mùi, vị, độ trong của mẫu 1 đều tốt hơn mẫu 2. Mẫu 1 có tổng điểm cảm quan là 18,4 điểm, đạt loại tốt. Mẫu 2 có tổng điểm cảm quan là 15,6 điểm, đạt loại khá.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

1. Kết luận

Kết quả thí nghiệm nước giải khát lên men từ chè bước đầu cho thấy: Sử dụng chủng nấm men HĐ2 phối hợp với chủng vi khuẩn acetic HĐ4 thích hợp để lên men nước giải khát từ chè xanh. Thời gian lên men bằng chủng HĐ2 và HĐ4 ngắn hơn và cho sản phẩm đạt chất lượng cảm quan cao hơn khi lên men bằng màng Scoby theo phương pháp sản xuất Kombucha.

2. Đề nghị

Đề nghị được tiếp tục nghiên cứu để làm rõ khả năng ứng dụng chủng HĐ2 và HĐ4 để thay thế màng Scoby trong lên men nước giải khát từ chè ở các điều kiện sản xuất khác nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Thanh Mai, 2007. *Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men*. Nhà Xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
2. Balentine, D. A., Wiseman, S. A., & Bouwens, L. C. (1997). *The chemistry of tea flavonoids*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 37, 693±704.
3. Dufresne, C. and Farnworth, E., 2000. *Tea, Kombucha, and health: a review*. Food Research International 33: 409-421.
4. Dufresne, C. J.; Farnworth, E. R. *A review of latest research findings on the health promotion properties of tea*. J. Nutr.Biochem. 2001, 12, 404-421.
5. Greenwalt, C. J., Ledford, R.A., Steinkraus, K.H., 1998. *Determination and characterisation of the antimicrobial activity of the fermented tea Kombucha*. Lebensm. Wiss. - Technol. 31, 291-296.
6. Malbaša, R., Lonar, E. and Lj. Kolarov (2002): *Sucrose and Inulin Balance During Tea Fungus Fermentation*. Romanian Biotechnological Letters 7, 1 (2002) 573-576.

Ngày nhận bài: 2/3/2012

Người phản biện: PGS. TS. Nguyễn Văn Viét,
ngày 10/3/2012

Ngày duyệt đăng: 4/9/2012