



DOI:10.22144/ctu.jvn.2023.134

XÁC ĐỊNH CÁC ĐIỀU KIỆN LÊN MEN, CÁC HỢP CHẤT SINH HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA CỦA RƯỢU TRÁI CÂY LÊN MEN TỪ QUẢ CÀ NA (*Canarium album*)

Huỳnh Ngọc Thanh Tâm*, Nguyễn Thị Niềm và Lâm Thảo Nhi

Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Huỳnh Ngọc Thanh Tâm (email: hnttam@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 16/09/2022

Ngày nhận bài sửa: 01/11/2022

Ngày duyệt đăng: 20/04/2023

Title:

Determination of fermentation conditions and antioxidant activity of *Canarium album* and wine

Từ khóa:

Cà na, kháng oxy hóa, nấm men, rượu vang, *Saccharomyces cerevisiae*

Keywords:

Antioxidant, *Canarium album*, *Saccharomyces cerevisiae*, yeast, wine

ABSTRACT

This study aimed to determine the conditions effecting the wine fermentation process of *Canarium album* using *Saccharomyces cerevisiae*. The findings illustrate that the wine products reached a high volume of alcohol (9.04% v/v), in suitable conditions, including the yeast levels of 10^7 cells/mL, the added saccharose concentration at 25°Brix, pH 4,0, and the fermentation time for 12 days. There was the presence of biocompounds, including phenol, tannin, flavonoid, alkaloid, coumarin, quinone, saponin, terpenoid and steroid, in canarium solution and canarium wine. The total polyphenol content of *Canarium album* juice is higher than wine products, particularly 60.098 mgGAE/L and 29.001 mgGAE/L, respectively. After fermentation, the reduction DPPH capacity of wine reached an IC_{50} value at 1.17 μ L/mL, higher than the *Canarium album* juice (IC_{50} value at 4.97 μ L/mL.). In contrast, examination of the peroxide H_2O_2 radical scavenging capacity of wine indicated insignificant changes after the fermentation, namely 6.24 μ L/mL of IC_{50} value in canarium wine 4.47 μ L/mL of IC value in canarium juice. The results show that the original *Canarium album* juice and wine have good antioxidant capacity.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu xác định các điều kiện ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang cà na (*Canarium album*) sử dụng dòng nấm men *Saccharomyces cerevisiae*. Kết quả cho thấy sản phẩm rượu vang thu được có độ cồn cao (9,04% v/v) với mật số nấm men 10^7 tế bào/mL, dịch lên men được bổ sung đường saccharose đạt 25°Brix, pH 4,0 và lên men trong thời gian 12 ngày. Dịch quả và rượu vang cà na có sự hiện diện của các nhóm hợp chất sinh học như phenol, tannin, flavonoid, alkaloid, coumarin, quinone, saponin, terpenoid và steroid. Hàm lượng polyphenol tổng của dịch quả cà na cao hơn rượu vang cà na, cụ thể là 60,098 mg GAE/mL và 29,001 mg GAE/mL. Sau quá trình lên men, khả năng khử gốc tự do DPPH của rượu vang cà na đạt giá trị IC_{50} là 1,17 μ L/mL, tăng so với dịch cà na ban đầu với giá trị IC_{50} là 4,97 μ L/mL. Khả năng khử gốc peroxide H_2O_2 của rượu vang cà na có sự thay đổi không đáng kể sau quá trình lên men. Giá trị IC_{50} của rượu vang và dịch cà na lần lượt là 6,24 μ L/mL và 4,47 μ L/mL. Kết quả cho thấy dịch quả ban đầu và rượu vang cà na đều có khả năng kháng oxy hóa tốt.

1. GIỚI THIỆU

Hiện nay, để đáp ứng nhu cầu của người tiêu dùng, các sản phẩm lên men đã và đang được nghiên cứu rộng rãi nhằm cải tiến về chất lượng, năng suất cũng như quy mô sản xuất. Một trong những sản phẩm lên men phổ biến trên thế giới cũng như ở Việt Nam đó là rượu trái cây lên men, một loại thức uống có độ cồn nhẹ không thể thiếu trong các buổi tiệc. Ngoài ra, rượu rượu trái cây lên men còn mang lại nhiều lợi ích cho sức khỏe con người trong việc hỗ trợ tiêu hóa.

Cà na (*Canarium album*) là một loại quả phổ biến ở Việt Nam, đặc biệt là ở các tỉnh thuộc miền Tây Nam Bộ, thu hoạch vào tháng 8 đến tháng 10 hằng năm. Các bộ phận của cây cà na có nhiều công dụng trong cuộc sống. Rễ, quả và lá giúp thanh nhiệt, giải độc. Vỏ cây có tinh dầu và tannin được sử dụng như dược liệu chống dị ứng. Quả cà na được dùng để ăn tươi, muối dưa, làm mứt, ô mai (Chi, 2003). Ngoài ra, trong thành phần của quả cà na chứa nhiều hợp chất thực vật có hoạt tính sinh học cao, thường được dùng để làm thuốc trong y học, hỗ trợ khả năng chống oxy hóa và khử các gốc tự do (Chi, 2002). Tuy nhiên, các sản phẩm từ quả cà na còn khá ít nên dẫn đến việc lãng phí nguồn nguyên liệu giàu dinh dưỡng này. Vì vậy, nghiên cứu này nhằm tìm ra những điều kiện phù hợp cho quá trình lên men rượu vang cà na góp phần đa dạng hóa sản phẩm từ quả cà na, đáp ứng nhu cầu sử dụng thực phẩm lên men hiện nay. Đồng thời, các hợp chất sinh học có khả năng chống oxy hóa của quả cà na trước và sau quá trình lên men rượu vang cũng được xác định. Từ đó, những lợi ích về mặt dinh dưỡng khi sử dụng sản phẩm rượu vang cà na có thể xác định.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu và hóa chất

Vật liệu: Trái cà na được thu mua ở Cần Thơ, sau đó rửa sạch, gọt bỏ hạt, ép lấy nước và trữ đông ở nhiệt độ -20°C.

Hóa chất: CH₃COOH, NaHSO₃, ethanaol, CHCl₃, ethyl acetate (Việt Nam); DMSO (Pháp), dầu olive (Tây Ban Nha), Folin & Ciocalteu's phenol (Đức), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, Mỹ); Na₂HPO₄.2H₂O, NaH₂PO₄.12H₂O, NaOH, H₂SO₄, Pb(OAc)₄, FeCl₃, gallic acid, Na₂CO₃.H₂O₂, ascorbic acid (Trung Quốc).

Nguồn giống nấm men: Sử dụng dòng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* (Hoa Kỳ), được lưu giữ

ở 4°C tại Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2. Xác định các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang cà na

2.2.1. Ảnh hưởng của độ Brix và pH đến quá trình lên men rượu vang cà na

Mục tiêu của nghiên cứu là xác định ảnh hưởng của các nhân tố: độ Brix và pH của dịch quả đến quá trình lên men rượu cà na nhằm tìm ra điều kiện thích hợp nhất cho quá trình lên men rượu cà na.

Nghiên cứu được bố trí theo phương thức thừa số với 2 nhân tố, 3 mức độ và 3 lần lặp lại. Nhân tố A: Độ Brix: 20, 25, 30; nhân tố B: pH dịch lên men: 3,5, 4,0, 4,5 sử dụng mật số nấm men 10⁷ tế bào/mL.

Chuẩn bị dịch nấm men và kiểm tra mật số tế bào nấm men bằng phương pháp đếm trực tiếp bằng buồng đếm hồng cầu. Quả cà na được ép để lấy nước và thanh trùng bằng NaHSO₃ (140 mg/L) trong 2 giờ để tiêu diệt vi sinh vật có trong dịch quả (Phạm, 2010). Các nghiệm thức được điều chỉnh theo các thông số bố trí của độ Brix (20, 25, 30) bằng khúc xạ kế, pH (3,5, 4,0, 4,5) bằng pH kế. Sau đó, chủng 1 mL dịch nấm men ở mật số 10⁷ tế bào/mL vào 99 mL mỗi dịch phối chế đã chuẩn bị sẵn trong bình tam giác, lắc đều bình tam giác để tế bào nấm men phân bố đều trong dịch quả cà na. Các bình lên men được gắn waterblock và để ở nhiệt độ phòng (30±2°C.) Sau thời gian 10 ngày, tiến hành chưng cất để thu cồn, độ cồn được xác định bằng cồn kế và quy về nồng độ ethanol ở 20°C (Thường & Hằng, 2007). Các chỉ tiêu theo dõi và đánh giá bao gồm pH, độ Brix và nồng độ ethanol.

2.2.2. Ảnh hưởng của thời gian lên men đến quá trình lên men rượu vang cà na

Nghiên cứu được tiến hành nhằm xác định được thời gian lên men thích hợp trong quá trình lên men rượu cà na. Thời gian lên men được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên ở các thời gian lên men khác nhau (6 ngày, 8 ngày, 10 ngày, 12 ngày và 14 ngày) và được thực hiện với 3 lần lặp lại.

Dịch quả cà na được thu, thanh trùng bằng NaHSO₃ (140 mg/L trong 2 giờ) và điều chỉnh các yếu tố pH, độ Brix thu được ở bố trí thí nghiệm 2.2.1; cho vào bình tam giác 99 mL dịch quả và 1 mL dung dịch nấm men mật số 10⁷ tế bào/mL; sau đó, ủ ở nhiệt độ phòng (30±2°C.) và tiến hành chưng cất rượu vào các mốc thời gian: 6 ngày, 8 ngày, 10 ngày, 12 ngày và 14 ngày. Sau quá trình chưng cất, nồng độ ethanol được đo và quy về nồng độ ethanol ở 20°C (Thường & Hằng, 2007).

2.3. Xác định các chỉ tiêu hóa lí của dịch trái cà na và sản phẩm rượu vang cà na

2.3.1. Định tính một số hợp chất sinh học

Mục tiêu là xác định sự hiện diện và thay đổi của các hợp chất sinh học gồm phenol và tannin,

alkaloid, flavonoid, terpenoid, coumarin, quinone, saponin có trong dịch cà na và sản phẩm rượu vang cà na. Các hợp chất sinh học được định tính theo mô tả của Yadav et al. (2011), Tiwari et al. (2011), và Vishwakarma et al. (2014) được tóm tắt trong Bảng 1.

Bảng 1. Định tính một số hợp chất sinh học trong dịch cà na và rượu vang cà na

Nhóm chất	Tiến hành thí nghiệm	Hiện tượng
Phenolic và tannin	100 µL dịch/ rượu cà na + 1 mL H ₂ O + vài giọt FeCl ₃	Kết tủa xanh đen
Flavonoid	100 µL dịch/ rượu cà na + 1mL Pb(CH ₃ COO) ₂ 10%	Kết tủa vàng
Alkaloid	100 µL µL dịch/ rượu cà na + vài giọt wagner	Kết tủa nâu đỏ
Quinone	100 µL µL dịch/ rượu cà na + vài giọt HCl _{đđ}	Màu xanh lá
Coumarin	100 µL µL dịch/ rượu cà na + 1,5 mL NaOH 10%	Màu vàng cam
Saponin	100 µL µL dịch/ rượu cà na + 1 mL nước cất + vài giọt dầu oliu + đun sôi 90°C	Nhũ tương màu sữa
Terpenoid	100 µL µL dịch/ rượu cà na + 1 mL CHCl ₃ + vài giọt H ₂ SO _{4đđ}	Màu đỏ gạch hoặc xanh lá
Steroid	100 µL µL dịch/ rượu cà na + 1 mL CHCl ₃ + 1 mL H ₂ SO _{4đđ} + 1mL CH ₃ COOH	Màu nâu đỏ

2.3.2. Xác định hàm lượng polyphenol tổng

Mục tiêu nhằm xác định hàm lượng polyphenol tổng trong dịch cà na ban đầu và rượu vang cà na. Hàm lượng polyphenol tổng được xác định dựa trên phương pháp Folin - Ciolcateau được mô tả bởi Yadava et al. (2011) có hiệu chỉnh bằng cách sử dụng gallic acid làm hợp chất polyphenol chuẩn, dung môi là methanol. Sự hấp thụ của dung dịch màu xanh được ghi nhận bằng máy đo quang phổ (Hitachi U-1500) ở bước sóng λ = 765 nm. Hàm lượng polyphenol tổng được xác định theo công thức sau:

$$\text{Hàm lượng polyphenol tổng: } C = \frac{c \times V}{m}$$

Trong đó, C: Hàm lượng polyphenol tổng (mg GAE/mL chiết xuất), c: Giá trị x từ đường chuẩn với acid galic (µL/mL), V: Thể tích dịch cà na (L), m: Khối lượng dịch cà na có trong thể tích V (g).

2.3.3. Khảo sát khả năng kháng oxy hóa

***Khảo sát khả năng khử gốc tự do DPPH**

Mục tiêu nhằm xác định khả năng khử gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) của dịch cà na và rượu vang cà na. Phương pháp thí nghiệm được thực hiện theo mô tả của Saha (2016). Sử dụng giá trị IC₅₀ để so sánh khả năng ức chế gốc DPPH của dịch cà na và rượu vang cà na. IC₅₀ là nồng độ của mẫu mà tại giá trị đó có thể ức chế 50% gốc tự do DPPH.

Khả năng ức chế DPPH được tính theo công thức sau:

$$\% \text{ ức chế DPPH} = \frac{(A_0 - A) \times 100}{A_0}$$

Trong đó, A₀: Độ hấp thụ của mẫu trắng (không chứa DPPH), A: Độ hấp thụ của mẫu.

***Khảo sát khả năng khử gốc peroxide H₂O₂**

Mục tiêu nhằm xác định khả năng chống oxy hóa bằng khả năng khử gốc peroxide H₂O₂ của dịch cà na và rượu vang cà na. Giá trị IC₅₀ được sử dụng để so sánh khả năng ức chế gốc H₂O₂ của dịch cà na và rượu vang cà na. IC₅₀ là nồng độ của mẫu mà tại giá trị đó có thể ức chế 50% gốc tự do H₂O₂.

Khả năng khử gốc peroxide được tiến hành theo mô tả của Rahate et al. (2013). Chỉ tiêu đánh giá: Khả năng khử gốc tự do DPPH được tính theo công thức sau:

$$\% \text{ ức chế H}_2\text{O}_2 = \frac{(A_0 - A) \times 100}{A_0}$$

Trong đó, A₀: Độ hấp thụ của mẫu trắng (không chứa H₂O₂), A: Độ hấp thụ của mẫu.

Xây dựng phương trình đường chuẩn với phần trăm ức chế H₂O₂ thu được ở các nồng độ khác nhau. Từ đó, giá trị IC₅₀ được tính (nồng độ mẫu hay vitamin C hay mà tại đó ức chế 50% H₂O₂).

2.4. Xử lý số liệu

Phần mềm Microsoft Excel 2010 được sử dụng để xử lý số liệu thô, tính các số liệu thống kê như số trung bình, hệ số biến thiên (CV%), độ lệch chuẩn (SD). Phần mềm SPSS 22.0 được dùng để phân tích phương sai và kiểm định LSD các trung bình nghiệm thức

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Các điều kiện ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang cà na

3.1.1. Ảnh hưởng của độ Brix, pH đến quá trình lên men

Bảng 2. Giá trị pH, độ Brix và độ cồn sau lên men

STT	pH-°Brix	pH sau lên men	°Brix sau lên men	Độ cồn (% v/v)
1	3,5-20	3,44 ^d	10,00 ^a	8,50 ^{ab}
2	3,5-25	3,48 ^d	16,50 ^{ef}	7,00 ^{cde}
3	3,5-30	3,46 ^d	24,50 ^j	8,00 ^{abc}
4	4,0-20	3,76 ^{bc}	11,00 ^{abc}	7,50 ^{bcd}
5	4,0-25	3,73 ^c	17,00 ^{fg}	9,00 ^a
6	4,0-30	3,63 ^{cd}	23,50 ^{ij}	8,00 ^{abc}
7	4,5-20	3,94 ^{ab}	1,00 ^{abc}	8,00 ^{abc}
8	4,5-25	4,08 ^a	15,50 ^{de}	8,00 ^{abc}
9	4,5-30	3,94 ^{ab}	21,50 ^h	7,50 ^{bcd}

Ghi chú: Số liệu là trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột, các số có mang số mũ giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê ở mức 5% (P<0,05).

Kết quả cho thấy ở tất cả các nghiệm thức, pH có giảm so với ban đầu. Theo Hà (2000), nấm men phát triển tốt ở pH từ 3,8 đến 4,0. Nguyên nhân là do sự hoạt động của nấm men trong quá trình lên men kỵ khí sinh ra CO₂ và một số acid hữu cơ làm giảm pH của dịch phối chế ban đầu (Phẩm, 2009). Như vậy, pH ở các nghiệm thức mặc dù giảm vẫn phù hợp cho nấm men phát triển. Độ Brix sau khi lên men của sản phẩm giảm so với độ Brix được điều chỉnh ban đầu. Điều đó cho thấy một lượng đường lớn đã được sử dụng trong quá trình lên men rượu cà na, có thể được giải thích là có khoảng 10% glucose được sử dụng để nấm men tăng sinh khối và phần còn lại được chuyển hóa thành rượu và một số sản phẩm phụ khác (Larpent, 1991).

Khi lên men trong cùng điều kiện pH 4, độ Brix ở 25 cho độ cồn cao nhất là 9,00 (% v/v) khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% so với các nghiệm thức còn lại. Kết quả tương tự với các nghiên cứu khác như lên men rượu vang dâu Hạ Châu lên men từ nấm men CB1.1 với dịch phối chế từ các thông số °Brix 24,70, pH 4,20 và mật số tế bào nấm men 10⁷ tế bào/mL trong 10 ngày cho kết quả độ rượu 13,76% v/v (Vũ và Thành., 2018). Tương tự với nghiên cứu của Tâm và ctv. (2022), từ các thông số °Brix 24,79 pH 4,77 và mật số tế bào nấm men ban đầu là 8,08 x 10⁶, tế bào/mL sau 14 ngày lên men cho độ cồn cao nhất đạt 8,88 % v/v. Do đó, các thông số lên men được chọn là pH 4 và độ Brix là 25 thích hợp cho quá trình lên men tốt nhất. Các thông số này được sử dụng cho các thí nghiệm kế tiếp.

3.1.2. Ảnh hưởng của thời gian lên men

Từ kết quả thí nghiệm được trình bày ở phần 3.1.1., các thông số thích hợp gồm pH 4,0, °Brix 25 ở mật số nấm men là 10⁷ tế bào/mL được sử dụng, thực hiện khảo sát thời gian lên men trong 6 ngày, 8 ngày, 10 ngày, 12 ngày và 14 ngày. Kết quả pH, độ Brix và độ cồn sau lên men được ghi nhận ở Bảng 3.

Bảng 3. Giá trị pH, độ Brix, độ cồn theo thời gian sau lên men

STT	Thời gian (ngày)	pH sau lên men	°Brix sau lên men	Độ cồn (% v/v)
1	6	3,22 ^b	13,67 ^a	6,05 ^c
2	8	3,22 ^b	13,33 ^a	7,09 ^b
3	10	3,23 ^b	11,67 ^b	8,98 ^a
4	12	3,23 ^b	11,33 ^b	9,04 ^a
5	14	3,34 ^a	11,67 ^b	8,92 ^a

Ghi chú: Số liệu là trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột, các số có mang số mũ giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê ở mức 5% (P<0,05).

Kết quả cho thấy pH và độ Brix sau lên men giảm và có sự tạo thành rượu vì nấm men đã sử dụng đường trong dịch quả cà na và lượng đường bổ sung chuyển hóa thành rượu, đồng thời sinh ra một số acid hữu cơ làm giảm pH của môi trường. Khi lên men ở thời gian 6 ngày và 8 ngày, độ cồn thấp hơn so với lên men ở thời gian 10, 12, 14 ngày, khác biệt có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%. Thời gian lên men thích hợp nhất là 12 ngày (độ rượu đạt giá trị cao nhất 9,04% v/v), khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% so với thời gian lên men 14 ngày nhưng tiết kiệm được thời gian và chi phí khi đưa vào sản xuất. Kết quả tương tự với các nghiên cứu khác như thời gian lên men rượu vang dâu Hạ Châu trong 10 ngày cho kết quả độ rượu 13,76% v/v (Vũ và Thành., 2018), thời gian lên men rượu vang chùm ruột là 14 ngày lên men cho độ rượu cao nhất đạt 8,88 % v/v (Tâm và ctv., 2022). Theo Tahir et al. (2010), việc kéo dài thời gian lên men sẽ làm ảnh hưởng đến tiến độ, tổn chi phí, thời gian và làm giảm hiệu suất lên men do sự cạnh tranh chất dinh dưỡng của nấm men. Do đó, thời gian lên men thích hợp là 12 ngày sử dụng cho các thí nghiệm khảo sát các chỉ tiêu hóa lý của dịch trái cà na và sản phẩm rượu vang cà na.

3.2. Các chỉ tiêu hóa lý của dịch trái cà na và sản phẩm rượu vang cà na

3.2.1. Các hợp chất sinh học

Các thí nghiệm sinh hóa nhằm xác định một số hợp chất sinh học có trong dịch cà na và rượu vang cà na, kết quả từ các thử nghiệm định tính cho thấy

trong dịch cà na và rượu vang cà na đều có sự hiện diện của các hợp chất sinh học như: phenol và tannin, flavonoid, alkaloid, coumarin, terpenoid, quinone, steroid và saponin. Kết quả thử nghiệm định tính được thể hiện trong Bảng 4.

Bảng 4. Những hợp chất sinh học trong dịch cà na và rượu vang cà na

HCTV	Nghiệm thức	
	Dịch cà na	Rượu vang cà na
Phenol – tannin	+++	++
Flavonoid	+	++
Quinone	+	+
Coumarin	+	++
Alkaloid	+++	++
Terpenoid	+++	++
Saponin	+	+
Steroid	+++	+++

Ghi chú: (+), (++) , (+++): dựa vào màu sắc, kết tủa đậm nhạt của các phản ứng sinh hóa

Bảng 4 cho thấy sau quá trình lên men, rượu vang cà na đều không ảnh hưởng đến kết quả định tính hầu hết các hợp chất thực vật quan trọng có trong dịch quả cà na ban đầu. Các nghiên cứu về hợp chất thực vật của Xiang et al. (2010) cũng đã phát hiện ra rằng trong *Canarium album* chứa một số hợp chất phenolic và flavonoid như acid galic, brevifolin, scoparone, hyperoside, acid dihydroxybenzoic ete ethyl, flavon, flavonol, flavanonol,... Kết quả tương tự với nghiên cứu của Tâm và ctv. (2022), mười một hợp chất thực vật từ dịch trái và rượu vang chùm ruột được xác định thông qua phương pháp quang phổ bao gồm steroid, triterpenoid, phenol, tannin, flavonoid, quinone, saponin, antocyanin, glucose, carotenoid và alkaloid. Nghiên cứu được lý hiện đại cho thấy các hợp chất polyphenol trong *Canarium album* giúp tăng cường khả năng miễn dịch của con người và có chức năng chống oxy hóa, chống virus, chống viêm, chống say rượu cũng như kiểm soát lượng đường trong máu, tăng mật độ xương và hàm lượng canxi, chống virus viêm gan B (Gang et al., 2009).

3.2.2. Hàm lượng polyphenol tổng

Kết quả thu được hàm lượng polyphenol tổng của hai nghiệm thức dịch cà na và rượu vang cà na khác biệt có ý nghĩa thống kê. Trong đó, nghiệm thức dịch cà na có hàm lượng polyphenol tổng cao hơn với 60,098 mg GAE/mL so với nghiệm thức rượu vang cà na có hàm lượng polyphenol tổng thấp hơn với 29,001 mg GAE/mL. Điều này cho thấy hàm lượng polyphenol tổng của dịch cà na đã giảm đi một lượng đáng kể sau quá trình lên men, cụ thể

là giảm đi một nửa so với ban đầu. Kết quả nghiên cứu của Tâm và ctv. (2022) trong lên men rượu vang chùm ruột cho thấy hàm lượng polyphenol tổng của rượu vang chùm ruột cao hơn dịch trái, cụ thể là 297,573 mg GAE/L và 174,549 mg GAE/L.

Liu et al. (2008) chỉ ra rằng *Canarium album* có hàm lượng phenolic cao nhất (280,5 mg GAE/g) và khả năng chống oxy hóa mạnh nhất trong số 68 loại thực phẩm y dược Trung Quốc.

Các hợp chất polyphenol là một trong những hợp chất lớn và phổ biến nhất của nhóm chuyển hóa thứ cấp thực vật. Polyphenol có tính kháng oxy hóa, chống ung thư, kháng viêm, bảo vệ tim mạch và ức chế các hoạt động gia tăng tế bào. Chất chống oxy hóa tự nhiên chủ yếu ở dạng hợp chất phenolic như flavonoid, phenolic acid, tocopherol,...(Yadava & Munin, 2011).

3.2.3. Khả năng kháng oxy hóa

Khả năng khử gốc tự do DPPH

Khả năng khử gốc tự do của hai nghiệm thức dịch cà na và rượu vang cà na được thể hiện thông qua giá trị IC₅₀ (Bảng 5). Giá trị IC₅₀ là nồng độ tại đó khử đi 50% gốc tự do, do đó, giá trị IC₅₀ càng nhỏ khả năng khử gốc tự do càng cao và ngược lại.

Bảng 5. Giá trị IC₅₀ của vitamin C, dịch cà na và rượu vang cà na

Nghiệm thức	Giá trị IC ₅₀
Vitamin C (đối chứng)	3,86 ^b
Dịch cà na	4,97 ^c
Rượu vang cà na	1,17 ^a

Ghi chú: Số liệu là trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột, các số có mang số mũ giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê ở mức 5% (P<0,05).

Bảng 5 cho thấy dịch quả cà na và rượu vang cà na đều có khả năng khử gốc tự do DPPH. Trong đó, dịch quả cà na có giá trị IC₅₀ là 4,97 µL/mL và rượu vang cà na có giá trị IC₅₀ là 1,17 µL/mL. Điều này chứng tỏ rượu vang cà na có khả năng làm sạch DPPH cao hơn 4 lần so với dịch cà na, đồng thời, khả năng khử gốc tự do DPPH của rượu vang cà na cũng cao hơn gấp 3 lần so với vitamin C, khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%. Kết quả tương tự với nghiên cứu của Tâm và ctv. (2022), sau quá trình lên men, khả năng khử gốc DPPH của rượu vang chùm ruột có giá trị IC₅₀ là 45,132 µL/mL, tăng so với dịch chùm ruột ban đầu với giá trị IC₅₀ là 59,973 µL/mL, cho thấy rượu vang chùm ruột có khả năng kháng oxy hóa tốt hơn dịch trái chùm ruột ban đầu.

Rượu cà na có khả năng khử gốc tự do DPPH cao hơn dịch quả cà na là do sau quá trình lên men đã chuyển đổi và sinh ra nhiều hợp chất đa dạng, các hợp chất này đã tác động đến khả năng khử gốc tự do của rượu vang cà na. Một nghiên cứu cho thấy rằng sự khác biệt trong hoạt động chống oxy hóa của chiết xuất thực vật có thể là do sự khác nhau về thành phần phenolic, dao động từ các acid phenolic đến flavonoid và các dẫn xuất của nó (Wong et al., 2013). Cấu trúc của hợp chất polyphenol cũng là một yếu tố ảnh hưởng chính đến khả năng khử gốc tự do. Hơn nữa, hoạt động chống oxy hóa không chỉ dựa vào các hợp chất polyphenol mà còn có sự tác động của các thành phần khác như carotenoid, vitamin và các khoáng chất (Tan et al., 2011). Ngoài ra, nghiên cứu của Liu et al. (2008) đã chứng minh *Canarium album* có khả năng khử gốc DPPH (97,11 %) mạnh hơn so với Vitamin C.

Khả năng khử gốc peroxide H₂O₂

Giá trị IC₅₀ càng thấp thì chứng tỏ hoạt tính ức chế gốc peroxide càng cao. Kết quả giá trị IC₅₀ của dịch cà na và rượu vang cà na được thể hiện qua Bảng 6.

Bảng 6. Giá trị IC₅₀ của vitamin C, dịch cà na và rượu vang cà na

Nghiệm thức	Giá trị IC ₅₀
Vitamin C (đối chứng)	133,09 ^b
Dịch cà na	4,47 ^a
Rượu vang cà na	6,24 ^a

Ghi chú: Số liệu là trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột, các số có mang số mũ giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê ở mức 5% (P<0,05).

Bảng 6 cho thấy tất cả nghiệm thức dịch cà na và rượu vang cà na đều có khả năng chống oxy hóa với H₂O₂. Trong đó, nghiệm thức dịch cà na có giá trị IC₅₀ là 4,47 µL/mL và nghiệm thức rượu vang cà na có giá trị IC₅₀ là 6,24 µL/mL, khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Khi so sánh hai nghiệm thức với vitamin C có giá trị IC₅₀ 133,09 µg/mL thì giá trị IC₅₀ của cả 2 nghiệm thức đều thấp hơn, khác biệt có ý nghĩa thống kê. Kết quả này cho thấy dịch cà na có khả năng khử gốc tự do peroxide mạnh gấp 29 lần so với vitamin C và rượu vang cà na có khả năng

khử gốc tự do peroxide mạnh gấp 21 lần so với vitamin C.

Các hợp chất phenolic, flavonoid, triterpenoids, alkaloid, saponin và tannin... là thành phần hóa học chính chịu trách nhiệm cho việc khử gốc peroxide, kết quả này đã được báo cáo trong nghiên cứu của Hajdu et al. (2013). Trong đó, sự đóng góp của nhóm các hợp chất Polyphenol là thành phần đáng kể giúp loại bỏ các gốc tự do bởi nhóm hydroxyl, do đó, khi hàm lượng các hợp chất polyphenol tăng, hoạt tính chống oxy hóa cũng tăng (Saha et al., 2016). Điều này cũng được chứng minh bởi nghiên cứu của Khan et al. (2010), khả năng khử gốc peroxide có mối tương quan chặt chẽ với hàm lượng các hợp chất polyphenol. Bên cạnh đó, flavonoid (một hợp chất trong nhóm polyphenol) cũng được biết đến với khả năng chống oxy hóa cao, đặc biệt là hợp chất kaempferol có liên kết đôi tại C₂-C₃ kết hợp với nhóm oxo ở C₄ và nhóm hydroxyl (-OH) ở C₃, C₄, C₅ là một cấu trúc quan trọng liên quan đến hoạt tính chống oxy hóa. Kaempferol có khả năng khử gốc superoxide (O₂⁻), hydroxyl (OH⁻) ở nồng độ thấp. Giá trị IC₅₀ của kaempferol trong khử gốc tự do bằng H₂O₂ là 0,5 µM (Calderon-Montano et al., 2011).

4. KẾT LUẬN

Với các điều kiện lên men thích hợp là pH 4,0; °Brix 25 với mật số nấm men là 10⁷ tế bào/mL, thời gian lên men rượu thích hợp là 12 ngày, sản phẩm rượu vang cà na sau khi lên men với điều kiện tối ưu có độ cồn cao là 9,04% v/v. Dịch quả cà na và rượu vang cà na có sự hiện diện của các hợp chất sinh học như phenol, tannin, flavonoid, alkaloid, quinone, coumarin, steroid, terpenoid và saponin. Hàm lượng polyphenol tổng của rượu cà na giảm đi một nửa so với dịch cà na (29,001 mg GAE/mL). Sau quá trình lên men, khả năng khử gốc tự do DPPH của rượu cà na có giá trị IC₅₀ là 1,17 µL/mL cao hơn so với dịch quả cà na ban đầu (4,97 µL/mL). Khả năng khử gốc peroxide thay đổi không đáng kể, giá trị IC₅₀ của dịch quả cà na và rượu cà na lần lượt là 4,47 µL/mL và 6,34 µL/mL, cho thấy rằng cả dịch cà na và rượu vang cà na đều có khả năng kháng oxy hóa tốt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Calderon-Montano, J. M., Burgos-Morón, E., Pérez-Guerrero, C., & López-Lázaro, M. (2011). A review on the dietary flavonoid kaempferol. *Mini Reviews in Medicinal chemistry*, 11(4), 298-344. <https://doi.org/10.2174/138955711795305335>

Chi, V. V. (2003). *Từ điển thực vật thông dụng*. Tập 1. NXB Khoa học-Kỹ thuật.
 Chi, V.V. & Hợp, T. (2002). *Cây cỏ có ích ở Việt Nam*. NXB Giáo dục Việt Nam.

- Gang, C., Jiang, H., & Chun-hong, T. (2009). The function and application of the *Canarium album* polyphenols. *China Food Additives*.
- Hà, N. C. (2000). *Bài giảng kỹ thuật lên men rượu bia*. NXB Trường Đại học Cần Thơ
- Hajdu, Z., Hohmann, J., Forgo, P., Martinek, T., Dervarics, M., Zupko, I., et al. (2013). Diterpenoids and flavonoids from the fruits of *Vitex agnuscastus* and antioxidant activity of the fruit extracts and their constituents. *Phytother Res*, 21(4), 391-394.
<https://doi.org/10.1002/ptr.2021>
- Khan, Z. S., & Nasreen, S. (2010). Phytochemical analysis, antifungal activity and mode of action of methanol extracts from plants against pathogens. *Journal of Agricultural Technology*, 6(4), 793-805.
- Larpent, J. P. (1991). *Biotechnologie des levures*. Masson éditeur.
- Liu, H., Qiu, N., Ding, H., & Yao, R. (2008). Polyphenols contents and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or food uses. *Food Res Int.*, 41(4), 363-370.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.12.012>
- Phẩm, L. D. (2009). *Nấm men công nghiệp*. Nhà xuất bản khoa học và Kỹ thuật. Hà Nội.
- Phẩm, L. Đ. (2010). *Giáo trình công nghệ lên men*. NXB Giáo dục Việt Nam.
- Rahate, K.P., Padma, R., Parkavi, N.G., & Renjith, V. (2013). Quantitative estimation of tannins, phenols and antioxidant activity of methanolic extract of *Imperata cylindrica*. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 4(1), 73-77.
- Saha, S., & Verma, R. J. (2016). Antioxidant activity of polyphenolic extract of *Terminalia chebula* Retzius fruits. *Journal of Taibah University for Science*, 10(6), 805-812.
<https://doi.org/10.1016/j.jtusc.2014.09.003>
- Tahir, A., M. Aftab, & T. Farasat. (2010). Effect of cultural conditions on athanol production by locally isolated *Sacharomyces cerevisiae* bio-07. *Journal of Applied Pharmaceutical*, 3(2), 72-78.
- Tâm, H. N. T., Trang, N. N. P., Thi, T. T. M., Nguyễn, N. T. T. & Nhi, L. T. (2022). Khảo sát các điều kiện lên men và hoạt tính kháng oxy hóa của rượu vang chùm ruột (*Phyllanthus acidus* (L.) SKEELS). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 57(6B), 144-150.
[DOI:10.22144/ctu.jvn.2021.181](https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2021.181).
- Tan, P. W., Tan, C. P., & Ho, C. W. (2011). Antioxidant properties: Effects of solid-to-solvent ratio on antioxidant compounds and capacities of Pegaga (*Centella asiatica*). *International Food Research Journal*, 18(2), 557-562.
- Thường, N. D & Hằng, N. T. (2007). *Công nghệ sản xuất và kiểm tra cồn ethylic*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật. Hà Nội.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica scientia*, 1(1), 98-106.
- Vishwakarma, S., Chandan, K., Jeba, R. C., & Khushbu, S. (2014). Comparative study of qualitative phytochemical screening and antioxidant activity of *Mentha arvensis*, *Elettaria cardamomum* and *Allium porrum*. *Indo Am J Pharm Res*, 4, 2538-2556.
- Vũ, N. V., & Thành, N. V. (2018). Phân lập, tuyển chọn và định danh nấm men trong lên men rượu vang dâu hạ châu (*Baccaurea ramiflora* L.). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 54(7B), 22-32. [DOI:10.22144/ctu.jvn.2018.137](https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2018.137).
- Wong, B. Y., Tan, C. P., & Ho, C. W. (2013). Effect of solid-to-solvent ratio on phenolic content and antioxidant capacities of "Dukung Anak" (*Phyllanthus niruri*). *International Food Research Journal*, 20(1), 325-330.
- Xiang, Z., Chen, H., Jin, H., Wang, G., Xiang, L., & Chen, W. (2010). Phenolic constituents of *Canarium album*. *Chemistry of Natural Compounds*, 46(1), 119-120.
- Yadav, R. N. S., & Agarwala, M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *J. Phytol*, 3(12), 10-14.
- Yadava, R. N. S., & Munin, A. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology*, 3(12), 10-14.
- Yadava, T., Nakata, F., Hosotani, K., Nitta, A., & Okudat, T. (1992). Dimeric hydrolysable tannins from *Melastoma malabathricum*, 31(8), 2829-2833.