

DOI:10.22144/ctu.jvn.2023.069

TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN LÊN MEN CIDER THANH LONG RUỘT ĐỎ (*Hylocereus polyrhizus*) SỬ DỤNG NẤM MEN *Saccharomyces cerevisiae* BV818

Hà Thanh Toàn¹, Lưu Minh Châu¹, Nguyễn Ngọc My², Trần Thị Yến Nhi³, Đào Tấn Phát³, Nguyễn Ngọc Thạch¹ và Huỳnh Xuân Phong^{1*}

¹Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ

²Sinh viên ngành Công nghệ Sinh học K43, Trường Đại học Cần Thơ

³Viện Ứng dụng Công nghệ và Phát triển bền vững, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Huỳnh Xuân Phong (email: hxphong@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 19/10/2022

Ngày nhận bài sửa: 18/11/2022

Ngày duyệt đăng: 01/12/2022

Title:

Optimization of fermentation conditions of cider from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) using yeast *Saccharomyces cerevisiae* BV818

Từ khóa:

Hylocereus polyrhizus, lên men ethanol, nước ép lên men, *Saccharomyces cerevisiae*, thanh long ruột đỏ

Keywords:

Cider, ethanol fermentation, *Hylocereus polyrhizus*, red dragon fruit, *Saccharomyces cerevisiae*

ABSTRACT

Red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) is a favorite fruit due to its delicious taste and attractive color. The fruit contains many nutrients that are good for health. The objective of this study is to optimize conditions for cider production from red dragon fruit, including the dilution ratios (1:1; 1:2; 1:3 w/v), fermentation time (2, 3, 4, 5 days), Brix (14 - 22°Brix), pH (3.8 - 5.0), and yeast cell concentrations (0.02 - 0.1% w/v) of *Saccharomyces cerevisiae* BV818. The new product may take advantage in diversifying the use and value of dragon fruit. The cider was successfully produced from red dragon fruit juice with an ethanol content of 4.79% v/v after 5 days of fermentation with the material and water ratio of 1:2 w/v, initial total sugar of 18.5 °Brix, pH 4.16, and yeast cell concentration of 0.07% w/v.

TÓM TẮT

Thanh long ruột đỏ (*Hylocereus polyrhizus*) là loại quả được yêu thích do có mùi vị thơm ngon, màu sắc hấp dẫn và chứa nhiều dinh dưỡng tốt cho sức khỏe. Mục tiêu của nghiên cứu nhằm xây dựng quy trình lên men cider thanh long ruột đỏ thông qua xác định các nhân tố ảnh hưởng đến quá trình lên men bao gồm tỉ lệ pha loãng (1:1; 1:2; 1:3 w/v), thời gian lên men (2, 3, 4, 5 ngày), độ Brix (14 - 22°Brix), pH (3,8 - 5,0) và nồng độ nấm men *Saccharomyces cerevisiae* BV818 (0,02 - 0,1% w/v). Qua đó, nguồn nguyên liệu dồi dào này có thể được sử dụng để đa dạng hóa sản phẩm, đồng thời nâng cao giá trị của trái thanh long ruột đỏ. Kết quả cho thấy sau 5 ngày lên men ở tỉ lệ nguyên liệu và nước là 1:2 w/v, 18,5 °Brix, pH 4,16, nồng độ nấm men 0,07% w/v tạo ra sản phẩm cider thanh long ruột đỏ có hàm lượng ethanol đạt 4,79% v/v.

1. GIỚI THIỆU

Thanh long nói chung hay thanh long ruột đỏ (*Hylocereus polyrhizus*) nói riêng có hàm lượng nước cao, giàu chất xơ và chứa nhiều nguyên tố dinh

dưỡng bao gồm vitamin, khoáng chất cùng các hợp chất chống oxy hóa, đặc biệt là flavonoid, polyphenol và betalain (Perween et al., 2018). Do đó, thanh long mang lại một số lợi ích sức khỏe cho con người bao gồm khả năng hỗ trợ giảm cân, cải

thiện tiêu hóa, giảm cholesterol trong máu, giúp ngăn ngừa ung thư và tăng cường hệ thống miễn dịch (Verma et al., 2017). Ngoài ra, trong quá trình canh tác, loại cây này không đòi hỏi yêu cầu cao, có khả năng chịu hạn, chịu mặn và dễ dàng thích nghi với cường độ ánh sáng hay nhiệt độ cao (Nie et al., 2015). Chính vì vậy, mặc dù là một loại trái cây nhiệt đới nhưng thanh long đã được trồng rộng rãi trên thế giới với hơn 20 vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới (Mercado-Silva, 2018).

Tại Việt Nam, thanh long có thể được trồng ở các địa phương trong cả nước với cả 2 loại thanh long ruột trắng và ruột đỏ với tổng diện tích trồng là 55,419 ha và tổng sản lượng là 1.074.241 tấn năm 2018; trong đó, 3 tỉnh có diện tích trồng trọt và sản lượng trái lớn nhất cả nước là Bình Thuận, Long An và Tiền Giang với sản lượng trái thanh long ở Bình Thuận chiếm đến 55,11%, tiếp đến là Long An (24,51%) và Tiền Giang (15,04%) (Phan, 2019). Hiện nay, với những tiến bộ về khoa học kỹ thuật trong việc tạo giống và chăm sóc cây trồng đã giúp thanh long ra trái quanh năm. Cùng với đó, diện tích canh tác thanh long ngày càng tăng đã làm cho sản lượng cung vượt cầu, nông dân bị ép giá, dẫn đến tình trạng thanh long dư thừa và lâu ngày sẽ gây hư hỏng. Các biện pháp đã được đưa ra nhằm nỗ lực “giải cứu” thanh long bao gồm sản xuất thanh long sấy, mứt, kem tươi hay bánh mì thanh long. Hơn nữa, các nghiên cứu trong và ngoài nước nhằm tạo ra các sản phẩm từ thanh long ruột đỏ cũng đã được báo cáo như nước thanh long lên men lactic (Ong et al., 2012), kẹo dẻo thanh long (Hani et al., 2014), nước ép thanh long tươi (Zhu et al., 2021), rượu vang thanh long (Thảo và ctv., 2019; Bình & Diệp, 2020).

Cider là một loại đồ uống có độ cồn thấp được làm từ nước ép táo. Tuy nhiên, tùy thuộc vào nguồn nguyên liệu và vị trí địa lý mà cider có thể sản xuất từ các nguồn trái cây khác nhau với độ cồn thường trong khoảng 3 - 9% (v/v) (Lea, 2015). Hiện nay, Việt Nam đã có một số nghiên cứu về lên men cider từ nhiều nguồn trái cây khác nhau như táo mèo (Hanh và ctv., 2016), dâu tằm (Tú, 2019), sơ ri (Mai, 2020). Cider thanh long ruột trắng cũng đã được thực hiện (Mi & Tiên, 2021) nên nghiên cứu này sẽ thử nghiệm quá trình lên men cider từ thanh long ruột đỏ. Đáng chú ý là thanh long ruột đỏ có chứa sắc tố betacyanin với màu sắc hấp dẫn và có khả năng chống oxy hóa (Choo et al., 2019; Le & Le, 2021; Khoo et al., 2022) nên có thể nghiên cứu để tạo ra sản phẩm có giá trị dinh dưỡng và hoạt tính sinh học. Hơn nữa, cider được lên men từ trái cây có độ cồn thấp nên phù hợp với nhiều đối tượng sử

dụng. Sản phẩm cider nổi riêng và nước trái cây lên men nổi chung còn có tác dụng giúp kích thích hệ tiêu hóa và giảm nguy cơ tim mạch (Horácková et al., 2018; Lorenzini et al., 2019; Zhang et al., 2021). Chính vì vậy, nghiên cứu được thực hiện nhằm tận dụng nguồn nguyên liệu dồi dào có màu sắc hấp dẫn này để đa dạng hóa sản phẩm, đồng thời nâng cao giá trị của trái thanh long ruột đỏ.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Thanh long ruột đỏ được thu mua tại chợ Hưng Lợi (quận Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ), lựa chọn những quả chín đều, không bị thối hay dập nát.

Nấm men thương mại là *Saccharomyces cerevisiae* BV818 (Angel Yeast, Trung Quốc). Nấm men được hoạt hóa trước khi sử dụng theo tỉ lệ 1:2:10 (nấm men, đường và nước w/w/v).

Các loại hóa chất được sử dụng gồm: đường sucrose (Biên Hòa, Việt Nam), enzyme pectinase (ICFOOD Vietnam), hóa chất điều chỉnh pH (Na_2CO_3 và acid citric, HiMedia, Ấn Độ), NaHSO_3 (HiMedia, Ấn Độ); potassium dichromate ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), potassium sodium tartrate, acid sulfuric (Merck, Đức); tri-butyl phosphate, acid 3,5-dinitrosalicylic (Sigma-Aldrich, Đức), NaOH 0,1N (Cemaco, Việt Nam), phenolphthalein (GHTech, Trung Quốc).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ pha loãng đến quá trình lên men cider thanh long ruột đỏ

Thanh long ruột đỏ được tách vỏ và ép lấy dịch quả bằng máy ép nguyên liệu (MJ-68MWRA, Panasonic, Malaysia). Tiếp theo, dịch quả được xử lý với enzyme pectinase ở nồng độ 0,2% (w/v) trong 8 giờ ở 30°C (Thảo và ctv., 2019). Dịch quả được pha loãng với nước theo tỉ lệ 1:1, 1:2 và 1:3 và được điều chỉnh đến 20°Brix và pH về 4,5 bằng acid citric và Na_2CO_3 . Dịch quả được thanh trùng bằng NaHSO_3 (140 mg/L) trong 2 giờ. Nấm men đã được hoạt hóa được bổ sung vào dịch quả với tỉ lệ 0,04% (w/v). Các bình tam giác chứa 100 mL dịch quả đã chủng nấm men sẽ được đậy bằng water-lock để lên men kỵ khí ở nhiệt độ phòng trong 3 ngày. Các chỉ tiêu sau lên men được đánh giá bao gồm hàm lượng ethanol, đường khử, độ Brix và pH.

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian đến quá trình lên men cider thanh long ruột đỏ

Thanh long ruột đỏ được xử lý như mô tả trong mục 2.2.1. Sau đó, dịch quả được pha loãng với

nước theo tỉ lệ thích hợp được chọn ở thí nghiệm trên và điều chỉnh đến 20°Brix và pH 4,5 bằng acid citric và Na₂CO₃. Dịch quả được thanh trùng bằng NaHSO₃ (140 mg/L) trong 2 giờ. Nấm men đã được hoạt hóa được bổ sung vào dịch quả với tỉ lệ 0,04% (w/v). Các bình tam giác đã được chủng nấm men sẽ được đậy bằng water-lock để lên men kỵ khí ở nhiệt độ phòng. Theo dõi các chỉ tiêu sau lên men (hàm lượng ethanol, đường khử, độ Brix, pH) trong 2, 3, 4 và 5 ngày.

2.2.3. Tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men cider thanh long ruột đỏ

Sau khi xác định tỉ lệ pha loãng và thời gian thích hợp cho quá trình lên men cider thanh long ruột đỏ, tiến hành tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men theo mô hình CCD (Central Composite Design), sử dụng phần mềm Design Expert 7.0 với các nhân tố bao gồm hàm lượng chất hòa tan (14 - 22°Brix), pH (3,8 - 5,0) và nồng độ nấm men (0,02 - 0,1% w/v). Mỗi nhân tố được mã hóa với 5 mức độ (-α, -1, 0, +1, +α) và được trình bày trong Bảng 1. Thí nghiệm lên men được thực hiện ở nhiệt độ phòng 28 - 32°C với thời gian được chọn ở thí nghiệm trên. Xác định hàm lượng ethanol, đường khử, độ Brix và pH sau lên men. Ba nhân tố được chọn trong thí nghiệm này là hàm lượng chất khô hòa tan, pH và nồng độ nấm men với 5 mức mã hóa) được khảo sát mức độ ảnh hưởng đến sự hình thành ethanol.

Bảng 1. Các nhân tố với 5 mức mã hóa theo mô hình CCD

Nhân tố	Mức				
	-α	-1	0	1	+α
Brix	14	1,6216	18	20,3784	22
pH	3,8	4,0432	4,4	4,7568	5
Nồng độ nấm men (%)	0,02	0,0362	0,06	0,0838	0,1

2.2.4. Xác nhận các điều kiện tối ưu

Dựa trên các kết quả thực nghiệm từ mô hình CCD, phần mềm Design Expert 7.0 đề xuất các nghiệm thức với các điều kiện tối ưu cho quá trình lên men cider thanh long ruột đỏ. Thử nghiệm xác nhận được thực hiện với 3 nghiệm thức tối ưu và lặp lại 3 lần.

2.2.5. Đánh giá đặc tính kháng oxy hóa của dịch quả và cider thanh long ruột đỏ

Hoạt tính kháng oxy hóa của dịch quả và dịch thanh long ruột đỏ sau lên men được xác định bằng phương pháp DPPH theo Ye et al. (2013): 200 µL dịch quả hay cider được trộn với 1 mL dung dịch

DPPH 0,1 mM. Hỗn hợp được lắc và ủ trong 15 phút trong điều kiện tối. Độ hấp thụ của hỗn hợp được đo ở bước sóng 517 bằng máy quang phổ (Genesys 10S, Thermo Scientific, Mỹ). Mẫu đối chứng (Ac) gồm 200 µL ethanol và 1 mL DPPH 0,1 mM. Phần trăm ức chế DPPH (%) = [(Ac - As)/Ac] × 100. Trong đó: Ac là bước sóng đo được của mẫu đối chứng và As là bước sóng đo được của mẫu thử.

2.2.6. Phương pháp phân tích chỉ tiêu và xử lý số liệu

- Xác định pH bằng máy đo pH Horiba (pH1100, Nhật Bản) và °Brix được xác định bằng khúc xạ kế Atago (Master-2α, Nhật Bản).

- Hàm lượng đường khử được phân tích bằng phương pháp DNS với thuốc thử là acid dinitrosalicylic. Cider thanh long được pha loãng thích hợp sao cho nằm trong đường chuẩn. Hai mL thuốc thử DNS thêm vào 1 mL cider và vortex đều; tiến hành đun cách thủy trong 5 phút, để nguội; đo mật độ hấp thụ ở bước sóng 540 nm. Hàm lượng đường khử trong cider được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn của glucose được xây dựng ở các nồng độ 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 và 1,0 mg/mL (Miller, 1959).

- Hàm lượng ethanol được xác định dựa trên phản ứng với tri-n-butyl phosphate và kali chromate. Hút 1 mL TBP vào ống eppendorf chứa 1 mL cider và vortex kỹ trong 1 phút; để yên đến khi dung dịch tách thành 2 lớp rồi hút 500 µL dung dịch lớp trên cho vào ống eppendorf mới, bổ sung 500 µL K₂Cr₂O₇ 10% được pha trong H₂SO₄ 5M trong và vortex kỹ trong 10 phút; sau đó giữ yên để dung dịch tách lớp, hút 100 µL lớp dưới cho vào eppendorf mới và pha loãng với 900 µL nước cất. Độ hấp thụ quang được đo ở bước sóng 595 nm. Hàm lượng ethanol của cider được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn của ethanol tuyệt đối được xây dựng ở các nồng độ 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6% w/v (Sriariyanun et al., 2019).

- Kết quả được xử lý và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, Hoa Kỳ). Số liệu được xử lý và phân tích thống kê phần mềm thống kê Statgraphics Centurion XV (Statpoint Technologies Inc., Hoa Kỳ) và Design Expert 7.0 (StatEase Inc., Hoa Kỳ).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của tỉ lệ pha loãng đến quá trình lên men cider thanh long ruột đỏ

Thanh long ruột đỏ là loại quả có màu sắc tươi, đẹp do chứa nhóm sắc tố betacyanin. Bảng 2 cho thấy nấm men đã sử dụng nguồn đường có trong

dịch quả ở 3 tỉ lệ phối chế để sinh trưởng và chuyển hóa thành ethanol. pH và độ Brix sau lên men đều giảm là do quá trình lên men, ngoài ethanol được chuyển hóa từ đường thì cũng có sự hình thành của CO₂ và một số acid hữu cơ (Nguyen et al., 2013). Hơn nữa, hàm lượng đường khử còn lại sau 3 ngày lên men trong khoảng 15,1 - 17,9 g/100 mL, tương ứng với độ Brix được ghi nhận sau lên men.

Bảng 2 cũng cho thấy việc pha loãng nguyên liệu có ảnh hưởng đến sự hình thành ethanol. Trong đó, hàm lượng ethanol tăng từ tỉ lệ 1:1 đến 1:2 và giảm dần ở tỉ lệ 1:3 với hàm lượng ethanol đạt cao nhất ở tỉ lệ pha loãng 1:2 (1,28% v/v) khác biệt có ý nghĩa với độ tin cậy 95% so với tỉ lệ 1:1 (0,63% v/v) và tỉ

lệ 1:3 (0,92% v/v). Nguyên nhân có thể là do ở tỉ lệ pha loãng 1:1, lượng nước bổ sung vào chưa đủ, dịch quả vẫn trong trạng thái có độ đặc sánh nhất định nên không thuận lợi cho sự hoạt động của nấm men. Tuy nhiên, khi bổ sung lượng nước gấp 3 lần nguyên liệu thì các thành phần dinh dưỡng có trong nguyên liệu cần thiết cho nấm men hoạt động đã bị loãng đi làm cho lượng ethanol sinh ra bị giảm đáng kể. Nhìn chung, bổ sung nước theo tỉ lệ 1:2 là thích hợp nhất cho quá trình lên men. Lúc này, nồng độ các chất dinh dưỡng có sẵn vẫn còn khá cao, dịch quả không quá sánh, từ đó đã tạo điều kiện thuận lợi cho sự trao đổi chất của nấm men để thực hiện quá trình lên men (Kumar et al., 2011; Paul et al., 2018).

Bảng 2. Ảnh hưởng của quá trình phối chế đến quá trình lên men (sau 3 ngày)

Tỉ lệ nguyên liệu và nước	pH sau lên men	Độ Brix sau lên men	Đường khử (g/100 mL)	Ethanol (% v/v)
1:1	3,98 ^a ±0,06	18,33 ^a ±0,29	17,91 ^a ±0,86	0,63 ^c ±0,02
1:2	3,42 ^b ±0,03	17,33 ^b ±0,29	15,13 ^b ±0,57	1,28 ^a ±0,05
1:3	3,57 ^b ±0,05	18,17 ^a ±0,29	17,82 ^a ±0,20	0,92 ^b ±0,02

Ghi chú: Giá trị trong bảng là trung bình của 3 lần lặp lại; trong cùng một cột các chữ số mũ giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy 95% (P<0,05)

Kết quả cho thấy tỉ lệ pha loãng phù hợp với nghiên cứu của Joshi et al. (2012) khi nghiên cứu lên men trái trám ở tỉ lệ pha loãng 1:2 đã thu được hàm lượng ethanol cao nhất. Nghiên cứu của Tú và Tú (2021) cho thấy tỉ lệ giữa quả sim và nước là 1:1,5 tạo ra sản phẩm có độ cồn cũng như chất lượng sản phẩm tốt nhất. Trong khi đó, nghiên cứu của Hanh và ctv. (2016) cho thấy rằng tỉ lệ pha loãng 1:5 sẽ cho nước quả táo mèo có hương vị và màu sắc đặc trưng. Như vậy, có thể thấy rằng, tùy vào đặc tính của từng loại trái cây mà xác định được tỉ lệ pha loãng cho quá trình lên men để tạo ra sản phẩm phù hợp.

3.2. Ảnh hưởng của thời gian đến quá trình lên men cider thanh long ruột đỏ

Thời gian là một trong những yếu tố có ảnh hưởng đến quá trình lên men. Đối với lên men rượu vang, cần xác định thời gian thích hợp để ngừng giai đoạn lên men chính. Bởi vì, trong sản xuất rượu vang, thời gian lên men quá nhanh sẽ không tạo hương vị cho sản phẩm sau lên men. Ngược lại, nếu kéo dài thời gian lên men có thể làm cho sản phẩm bị tiêu tốn ethanol do nấm men vẫn tiếp tục hoạt động và sử dụng ethanol sinh ra, tổn chi phí và thời gian nên làm giảm hiệu suất lên men (Tahir et al., 2010). Tuy nhiên, các sản phẩm lên men có độ cồn thấp, thời gian quyết định đến hàm lượng ethanol mong muốn của sản phẩm. Chính vì thế, việc xác định thời gian để kết thúc quá trình lên men là rất

quan trọng để đạt được độ cồn mong muốn cũng như chất lượng thành phẩm. Bảng 3 trình bày kết quả các giá trị về pH, độ Brix, đường khử và hàm lượng ethanol ở các ngày khảo sát.

Hàm lượng ethanol tăng dần theo các ngày khảo sát và đạt cao nhất vào ngày 5 (4,32% v/v) và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại ở mức ý nghĩa 5%. Nồng độ ethanol ở ngày 2 đạt thấp nhất với 0,76% v/v rồi tăng lên 1,15% v/v ở ngày thứ 3 và 2,71% v/v ở ngày thứ 4. Nguyên nhân là trong 2 ngày đầu nấm men còn trong quá trình sinh trưởng và thích nghi với môi trường dịch quả. Khi đã đủ thời gian phát triển, nấm men sử dụng đường trong điều kiện kỵ khí để chuyển hóa thành ethanol. Điều này cũng được thể hiện qua các chỉ tiêu như pH, độ Brix và lượng đường khử còn sót lại. Trong đó, pH giảm so với ban đầu và nằm trong khoảng (3,32 - 3,99) hay quá trình lên men làm thay đổi hàm lượng chất khô hòa tan có trong dịch quả, cụ thể là từ 20 °Brix ban đầu giảm còn 19,33 °Brix sau 2 ngày lên men và giảm dần ở các ngày tiếp theo và đến ngày 5 chỉ còn 16,33 °Brix. Kết quả lượng đường khử qua các ngày cũng giảm tương tự ở độ Brix. Do đó, dựa trên phân tích giữa các nghiệm thức và xử lý số liệu cho thấy ngày 5 là thời gian thích hợp để kết thúc quá trình lên men và cho hàm lượng ethanol phù hợp với sản phẩm nước ép lên men (thấp hơn 5% v/v).

Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian đến quá trình lên men

Ngày	pH sau lên men	Độ Brix sau lên men	Đường khử (g/100 mL)	Ethanol (% v/v)
0	4,5	20	21,43	0
2	3,99 ^a ±0,07	19,3 ^a ±0,58	19,1 ^a ±0,73	0,76 ^d ±0,09
3	3,56 ^b ±0,02	18,2 ^b ±0,29	18,2 ^b ±0,1,15	1,15 ^c ±0,04
4	3,51 ^b ±0,04	17,5 ^c ±0,50	15,4 ^c ±0,75	2,71 ^b ±0,03
5	3,32 ^c ±0,03	16,3 ^d ±0,29	15,4 ^c ±0,49	4,32 ^a ±0,21

Ghi chú: Giá trị trong bảng là trung bình của 3 lần lặp lại; trong cùng một cột các chữ số mũ giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$)

Kết quả trong nghiên cứu này có thời gian lên men dài hơn một số nghiên cứu trước đây đã được báo cáo. Trong đó, thời gian lên men nước dầu tầm tự nhiên cần 4 ngày để đạt độ cồn là 5% v/v (Nguyen et al., 2013) hay cần cho lên men nước dầu tầm có bổ sung nấm men thương mại là 4,4 ngày với hàm lượng ethanol thu được là 6% v/v (Tú & Tú, 2021). Bên cạnh đó, khi so sánh trên cùng loại nguyên liệu là thanh long, kết quả ở nghiên cứu này cũng có sự tương đồng với kết quả nghiên cứu của Mi và Tiên (2021). Khi lên men nước ép thanh long ruột trắng cũng cho thấy có sự thay đổi hàm lượng ethanol theo thời gian. Tuy nhiên, thời gian thích hợp cho quá

trình lên men nước ép thanh long ruột trắng là 3 ngày và sản phẩm sau lên men có hàm lượng ethanol đạt 3,19% v/v, có vị ngọt và chua hài hòa.

3.3. Tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men cider thanh long ruột đỏ

Thiết kế CCD được thực hiện để tối ưu hóa quá trình lên men cider và xác định mối tương tác giữa các yếu tố với nhau. Ba nhân tố được chọn trong thí nghiệm này là hàm lượng chất khô hòa tan, pH và nồng độ nấm men với 5 mức mã hóa (- α , -1, 0, +1, + α) được khảo sát mức độ ảnh hưởng đến sự hình thành ethanol. Kết quả thí nghiệm tối ưu 3 nhân tố theo mô hình CCD được thể hiện trong Bảng 4.

Bảng 4. Kết quả tối ưu hóa các nhân tố ảnh hưởng dựa trên mô hình tối ưu CCD

Tổ hợp	Nhân tố			Chỉ tiêu sau lên men		
	Độ Brix	pH	Nấm men (% w/v)	pH	Độ Brix	Ethanol (% w/v)
15	18,0	4,40	0,06	3,43 ^b ±0,05	15,4 ^{bcd} ±0,40	4,70 ^a ±0,33
14	18,0	4,40	0,10	3,48 ^a ±0,57	15,7 ^{bcd} ±1,15	4,41 ^{ab} ±0,33
20	18,0	4,40	0,06	3,44 ^b ±0,01	15,0 ^{bcd} ±1,00	3,80 ^{bcd} ±0,18
10	22,0	4,40	0,06	3,60 ^b ±0,01	17,8 ^a ±0,76	3,44 ^{cde} ±0,34
4	20,4	4,76	0,04	3,61 ^b ±0,01	16,7 ^{ab} ±1,61	3,94 ^{abcde} ±0,18
16	18,0	4,40	0,06	3,52 ^b ±0,03	14,0 ^{cde} ±1,00	4,24 ^{abc} ±0,55
8	20,4	4,76	0,08	3,62 ^b ±0,01	15,8 ^{bc} ±0,76	3,88 ^{abcde} ±0,33
17	18,0	4,40	0,06	3,58 ^b ±0,01	15,5 ^{bcd} ±0,87	4,33 ^{ab} ±0,56
7	15,6	4,76	0,08	3,54 ^b ±0,02	11,7 ^{ef} ±1,53	3,33 ^e ±1,13
6	20,4	4,04	0,08	3,63 ^b ±0,02	15,2 ^{bcd} ±1,89	3,63 ^{bcd} ±0,33
9	14,0	4,40	0,06	3,50 ^b ±0,00	9,7 ^g ±1,53	3,94 ^{abcde} ±0,70
19	18,0	4,40	0,06	3,53 ^b ±0,02	14,7 ^{cd} ±1,04	4,19 ^{abcd} ±0,02
13	18,0	4,40	0,02	3,43 ^b ±0,03	14,3 ^{cde} ±0,76	3,261 ^e ±0,39
2	20,4	4,04	0,04	3,58 ^b ±0,01	15,7 ^{bcd} ±0,58	3,38 ^{de} ±0,49
3	15,6	4,76	0,04	3,58 ^b ±0,01	11,2 ^{efg} ±0,29	3,401 ^{de} ±0,33
5	15,6	4,04	0,08	3,59 ^b ±0,02	10,3 ^{fg} ±2,08	4,23 ^{abc} ±0,61
18	18,0	4,40	0,06	3,55 ^b ±0,00	13,8 ^{de} ±1,04	4,40 ^{ab} ±0,50
1	15,6	4,04	0,04	3,57 ^b ±0,01	12,7 ^{de} ±0,58	2,34 ^f ±0,35
12	18,0	5,00	0,06	3,64 ^{ab} ±0,00	14,3 ^{cde} ±1,15	3,95 ^{abcde} ±0,49
11	18,0	3,80	0,06	3,56 ^b ±0,02	14,7 ^{cd} ±1,53	3,527 ^e ±0,68

Ghi chú: Giá trị trong bảng là trung bình của 3 lần lặp lại; trong cùng một cột các chữ số mũ giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$).

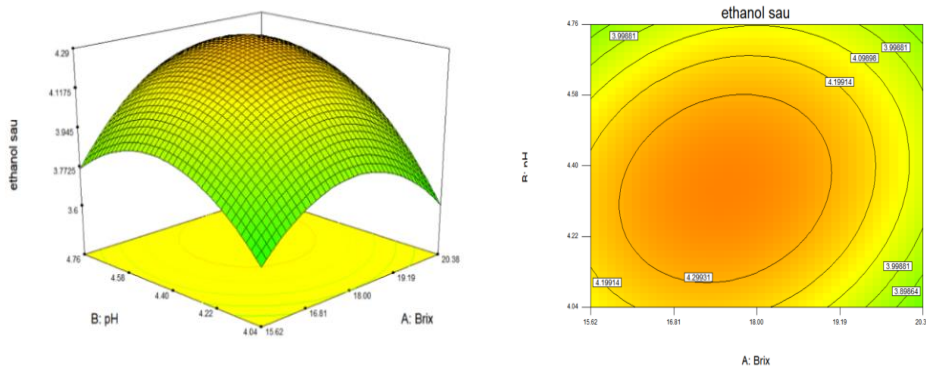
Bảng 5. Kết quả thống kê dựa trên mô hình CCD

Yếu tố	Tổng bình phương	Bậc tự do (df)	Trung bình bình phương	Giá trị F	Giá trị P
Mô hình	4,30	9	0,48	3,63	0,0284
A-Brix	0,034	1	0,034	0,26	0,6220
B-pH	0,21	1	0,21	1,59	0,2356
C-Nấm men	1,13	1	1,13	8,61	0,0149
AB	0,053	1	0,053	0,40	0,5401
AC	0,33	1	0,33	2,53	0,1430
BC	0,64	1	0,64	4,86	0,0520
A ²	0,91	1	0,91	6,93	0,0250
B ²	0,78	1	0,78	5,93	0,0351
C ²	0,58	1	0,58	4,39	0,0626
Lack of Fit	0,88	5	0,18	2,04	0,2256
Sai số	0,43	5	0,086		
Tổng	5,62	19			
Độ lệch chuẩn	0,36			R ²	0,7657
C.V. %	9,51			R ² hiệu chỉnh	0,5549

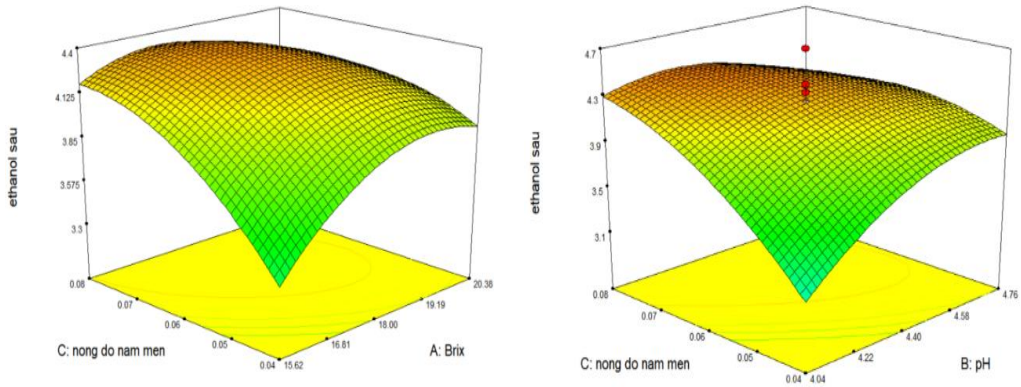
Kết quả phân tích phương sai (ANOVA) và mức ý nghĩa thống kê trình bày trong Bảng 5. Có thể thấy mô hình này có ý nghĩa khi giá trị P = 0,0284 < 0,05. Ngoài ra, để xác định mức độ phù hợp của mô hình thì hệ số xác định R² là một thước đo quan trọng (Osorio, 2001). Giá trị càng gần với 1 thì mối tương quan giữa giá trị thực nghiệm và giá trị dự đoán càng tốt (Liu et al., 2003). Trong mô hình này, giá trị R² là 0,7657. Do đó, bên cạnh chỉ số R² thì chỉ số R² hiệu chỉnh thường được sử dụng vì giá trị này phản ánh sát hơn mức độ phù hợp của mô hình hồi quy. Bảng 5 cho thấy R² hiệu chỉnh là 0,5549 và điều này có nghĩa là các nhân tố như độ Brix, pH, nồng độ nấm men giải thích được 55,5% sự biến thiên của hàm lượng ethanol và 44,5% còn lại ảnh hưởng bởi các nhân tố khác ngoài mô hình cũng như sai số ngẫu nhiên. Myers et al. (2016) đã chỉ ra rằng để đánh giá hiệu quả của mô hình thì không chỉ đánh giá R² mà còn đánh giá R² điều chỉnh, R² dự đoán và tổng sai số dự đoán của bình phương (PRESS).

Một mô hình được cho là tốt khi R² thường lớn và PRESS thấp. Trong nghiên cứu này, R² = 0,7657; R² hiệu chỉnh = 0,5549; R² dự đoán = -0,3997 và PRESS = 7,86. Trong đó, R² dự đoán có giá trị “âm” thể hiện giá trị trung bình tổng thể là một dự đoán phản hồi tốt hơn so với mô hình hiện tại.

Hơn nữa, dựa trên kết quả xử lý thống kê từ Bảng 5, có thể thấy rằng nồng độ nấm men, Brix×Brix, pH×pH là tác động có ý nghĩa đến sự hình thành ethanol với giá trị P-value lần lượt là 0,0149, 0,0250, 0,0351 (đều nhỏ hơn 0,05). Kết quả tương tác giữa nồng độ nấm men và độ Brix hay pH được thể hiện trong Hình 1 và Hình 2. Dựa vào đồ thị bề mặt đáp ứng và dữ liệu có thể thấy nồng độ nấm men có tác động mạnh mẽ đến sự hình thành ethanol. Nồng độ nấm men càng tăng thì ethanol cũng có xu hướng tăng tuyến tính; từ đó giúp cho quá trình lên men cider được tối ưu hóa với các yếu tố mong muốn và giảm thiểu các yếu tố không mong muốn.



Hình 1. Sự tác động giữa nồng độ pH và Brix đến ethanol hình thành



Hình 2. Sự tác động giữa nồng độ nấm men, độ Brix và pH đến ethanol hình thành

3.4. Thử nghiệm xác nhận điều kiện tối ưu

Kết quả phân tích số liệu từ mô hình CCD cho thấy mức độ phù hợp của mô hình có thể chấp nhận và có khoảng 30 nghiệm thức với các thông số tối

ưu được đề xuất bởi phần mềm Design-Expert. Ba tổ hợp (7, 10 và 17) có hàm lượng ethanol lý thuyết cao nhất được lựa chọn để thực hiện thí nghiệm xác nhận và kết quả được trình bày ở Bảng 6.

Bảng 6. Hàm lượng ethanol theo đề xuất và thực tế sau 5 ngày lên men

Tổ hợp	Độ Brix	pH	Nấm men (%)	Ethanol đề xuất (% w/v)	Ethanol thực tế (% w/v)
7	16,72	4,47	0,08	4,33	3,96
10	19,04	4,28	0,08	4,29	4,21
17	18,47	4,16	0,07	4,25	4,79



Hình 3. Sản phẩm cider thanh long ruột đỏ sau 5 ngày lên men

Kết quả ở Bảng 6 có thể thấy rằng hàm lượng ethanol từ thực nghiệm theo phần mềm đề xuất và hàm lượng ethanol lý thuyết có sự chênh lệch nhưng không đáng kể và chỉ dao động trong khoảng 0,08 - 0,5% v/v. Cụ thể là ở tổ hợp số 7 (ethanol thực tế 3,96% v/v và ethanol lý thuyết 4,33% v/v) và tổ hợp số 10 (ethanol thực tế 4,21% v/v và ethanol lý thuyết 4,29% v/v) có hàm lượng ethanol thực tế thấp hơn ethanol lý thuyết. Riêng ở tổ hợp số 17 lại ghi nhận được lượng ethanol thực tế (4,79% v/v) cao hơn ethanol lý thuyết (4,25% v/v). Từ đó cho thấy kết

quả dự đoán của mô hình có độ tin cậy để có thể ứng dụng trong nghiên cứu tối ưu hóa quá trình lên men men cider thanh long ruột đỏ. Như vậy, tổ hợp tối ưu nhất được lựa chọn là để lên men cider từ thanh long ruột đỏ là tổ hợp 17 với độ Brix ban đầu là 18,47, pH 4,16 và nồng độ nấm men bổ sung vào dịch quả là 0,07% v/v (Hình 3).

3.5. Hoạt tính kháng oxy hóa của dịch quả và cider thanh long ruột đỏ

Kết quả khảo sát về khả năng kháng oxy hóa của dịch quả và cider thanh long ruột đỏ (tổ hợp 17, độ Brix ban đầu là 18,5, pH 4,16 và nồng độ nấm men 0,07% w/v) cho thấy dịch quả thanh long ruột đỏ có khả năng kháng oxy hóa thấp hơn so với dịch thanh long ruột đỏ lên men (Bảng 7). Dịch quả có phần trăm ức chế DPPH đạt 32,7% trong khi đó dịch quả lên men thể hiện khả năng ức chế cao hơn với 53,7%. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Zou et al. (2017) khi đánh giá khả năng chống oxy hóa và hàm lượng phenol của quả hồng trong suốt quá trình lên men rượu và acetic đã giúp cải thiện khả năng chống oxy hóa của quả hồng. Nghiên cứu của Tâm và ctv. (2021) cũng cho thấy sản phẩm lên men rượu vang chùm ruột có khả năng kháng oxy hóa cao hơn gấp 1,3 lần so với dịch trái chùm ruột ban đầu. Điều này có thể giải thích bởi bản thân các loại trái cây có chứa nhiều hợp chất chống oxy hóa,

bao gồm các hợp chất phenolic, carotenoid, anthocyanins, tocopherols và các quá trình lên men đã góp phần cải thiện hoạt tính chống oxy hóa bằng cách giải phóng hay làm thay đổi cấu trúc các hợp chất thực vật này thông qua quá trình hoạt động của vi sinh vật (Hur et al., 2014).

Bảng 7. Khả năng ức chế DPPH của dịch quả và cider thanh long ruột đỏ

Mẫu	DPPH (% ức chế)
Dịch quả	32,7%
Cider thành phẩm	53,7%

Từ xưa, việc lên men đã được áp dụng để nâng cao thời hạn sử dụng cũng như chất lượng dinh dưỡng và cảm quan của thực phẩm. Các biến đổi sinh hóa xảy ra trong quá trình lên men, dẫn đến thay đổi tỉ lệ các thành phần dinh dưỡng cũng như ảnh hưởng đến các đặc tính của sản phẩm bao gồm hoạt tính sinh học (Frias et al., 2005). Nhiều nghiên cứu đã cho thấy rằng lên men là phương pháp hữu ích trong việc cải thiện hoạt động chống oxy hóa của các thực phẩm có nguồn gốc từ thực vật. Tuy nhiên, cơ chế ảnh hưởng đến hoạt động chống oxy hóa trong quá trình lên men rất đa dạng và việc sản xuất

các hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa trong quá trình lên men có thể khác nhau tùy thuộc vào vi sinh vật, nguyên liệu, thời gian, nhiệt độ, hay pH lên men (Hur et al., 2014). Do đó, không phải quá trình lên men nào cũng góp phần tăng khả năng chống oxy và điều này đã được công bố trong nghiên cứu của Kim et al. (2011), báo cáo rằng lượng glycoside flavonol, chiếm tới 18% tổng số phenolic các hợp chất có trong trà xanh bị giảm trong quá trình lên men trà hay nghiên cứu của Tiên và ctv. (2019) về hoạt tính kháng oxy hóa trước và sau khi lên men rượu vang từ trái giáng cho thấy phần trăm ức chế gốc tự do DPPH có sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy tỉ lệ pha loãng dịch quả thanh long và nước là 1:2 là thích hợp cho quá trình lên men cider. Đồng thời, các điều kiện tối ưu cho quy trình lên men cider từ dịch thanh long ruột đỏ cũng được xác định với dịch quả được pha loãng và điều chỉnh đến 18,47°Brix và pH 4,16, bổ sung 0,07% w/v nấm men. Kết quả lên men trong 5 ngày cho sản phẩm cider với hàm lượng ethanol đạt 4,79% v/v.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bình, H. Q. & Diệp, D. T. N. (2020). Nghiên cứu lên men rượu thanh long ruột đỏ (*Hylocereus polyrhizus*). *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển*, 19(4), 56-63.
- Choo, K. Y., Ong, Y. Y., Lim, R. L. H., Tan, C. P., & Ho, C. W. (2019). Study on bioaccessibility of betacyanins from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *Food Science and Biotechnology*, 28(4), 1163-1169.
- Frias, J., Miranda, M. L., Doblado, R., & Vidal-Valverde, C. (2005). Effect of germination and fermentation on the antioxidant vitamin content and antioxidant capacity of *Lupinus albus* L. var. Multolupa. *Food Chemistry*, 92(2), 211-220.
- Hanh, N. Đ., Hằng, H. T. L., Mai, H. T. T. & Lợi, N. V. (2016). 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 và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 8(69), 89-93.
- Hani, N. M., Romli, S. R., & Ahmad, M. (2014). Influences of red pitaya fruit puree and gelling agents on the physico-mechanical properties and quality changes of gummy confections. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(2), 331-339.
- Horáčková, Š., Rokytová, K., Bialasová, K., Klojdová, I., & Sluková, M. (2018). Fruit juices with probiotics – New type of functional foods. *Czech Journal of Food Sciences*, 36(4), 284-288.
- Hur, S. J., Lee, S. Y., Kim, Y. C., Choi, I., & Kim, G. B. (2014). Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chemistry*, 160, 346-356.
- Joshi, V. K., Sharma, R., Girdher, A., & Abrol, G. S. (2012). Effect of dilution and maturation on physico-chemical and sensory quality of jamun (Black plum) wine. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 3(2), 22-227.
- Kim, Y., Goodner, K. L., Park, J. D., Choi, J., & Talcott, S. T. (2011). Changes in antioxidant phytochemicals and volatile composition of *Camellia sinensis* by oxidation during tea fermentation. *Food Chemistry*, 129(4), 1331-1342.
- Khoo, H. E., He, X., Tang, Y., Li, Z., Li, C., Zeng, Y., Tang, J., & Sun, J. (2022). Betacyanins and anthocyanins in pulp and peel of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus* cv. Jindu), inhibition of oxidative stress, lipid reducing, and cytotoxic effects. *Frontiers in Nutrition*, 9, 894438.
- Kumar, V., Goud, P. V., Babu, J. D., & Reddy, R. S. (2011). Preparation and evaluation of custard apple wine: Effect of dilution of pulp on physico-chemical and sensory quality

- characteristics. *International Journal of Food and Fermentation Technology*, 1(2), 247-253.
- Le, T.T.H and Le, N. L. (2021). Antioxidant capacities and betacyanin lc-ms profile of red-fleshed dragon fruit juice (*Hylocereus polyrhizus*) extracted by ultrasound-assisted enzymatic treatment and optimized by response surface methodology. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(3), e15217.
- Lea, A. (2015). The history of cider. In: Andrew Lea: *Craft Cider Making*, 3rd Ed. Crowood Press: 9-14.
- Liu, J. Z., Weng, L. P., Zhang, Q. L., Xu, H., & Ji, L. N. (2003). Optimization of glucose oxidase production by *Aspergillus niger* in a benchtop bioreactor using response surface methodology. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(3), 317-323.
- Lorenzini, M., Simonato, B., Slaghenaufi, D., Ugliano, M., & Zapparoli, G. (2019). Assessment of yeasts for apple juice fermentation and production of cider volatile compounds. *LWT-Food Science & Technology*, 99(1), 224-230.
- Mai, T. T. N. (2020). Chế biến nước quả lên men từ sơ ri (*Malpighia glabra* L.) *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển*, 19(2), 99-105.
- Mercado-Silva, E. M. (2018). Pitaya - *Hylocereus undatus* (Haw). In: Rodrigues S., de Oliveira Silva E., de Brito E.S. (eds): *Exotic Fruits Reference Guide*. 1st Ed. Academic Press: 339-349.
- Mi, H. T. N., & Tiên, D. T. K. (2021). Khảo sát quy trình lên men nước thanh long ruột trắng (*Selenicereus undatus*) sử dụng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* RV100. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Thái Nguyên*, 226(14), 137-145.
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, 31(3), 426-428.
- Myers, R. H., Montgomery, D. C., & Anderson-Cook, C. M. (2016). *Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments*. John Wiley & Sons.
- Nguyen, T. D., Le, T. H., Nguyen, P. M. & Dong, T. A. D. (2013). Application of natural fermentation to ferment mulberry juice into alcoholic beverage. *International Journal of Scientific and Technology Research*, 2(11), 339-346.
- Nie, Q., Gao, G. L., Fan, Q. J., Qiao, G., Wen, X. P., Liu, T. & Cai, Y. Q. (2015). Isolation and characterization of a catalase gene "HuCAT3" from pitaya (*Hylocereus undatus*) and its expression under abiotic stress. *Gene*, 563(1), 63-71.
- Ong, Y. Y., Tan, S. W., Rosfarizan, M., Chan, E. S., & Tey, T. B. (2012). Isolation and identification of lactic acid bacteria from fermented red dragon fruit juices. *Journal of Food Science*, 77(10), M560-M564.
- Osório, N. M., Ferreira-Dias, S., Gusmão, J. H., & Da Fonseca, M. M. R. (2001). Response surface modelling of the production of ω -3 polyunsaturated fatty acids-enriched fats by a commercial immobilized lipase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 11(4-6), 677-686.
- Paul, G. P., Satav, P. D., Pethe, A. S., & More, S. M. (2018). Effect of must dilution on fermentation of banana fruit pulp into white wine. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 3(2), 207-208.
- Perween, T., Mandal, K. K. & Hasan, M. A. (2018). Dragon fruit: An exotic super future fruit of India. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(2), 1022-1026.
- Phan, T. T. H. (2019). *The dragon fruit export challenge and experiences in Vietnam. FFTC Agricultural Policy Platform*. http://ap.fttc.agnet.org/ap_db.php?id=1038.
- Sriariyanun, M., Mutrakulcharoen, P., Tepasamorndech, S., Cheenkachorn, K., and Rattanaporn, K. (2019). A rapid spectrophotometric method for quantitative determination of ethanol in fermentation products. *Oriental Journal of Chemistry*, 35(2), 744-750.
- Tahir, A., Aftab, M., & Farasat, T. (2010). Effect of cultural conditions on ethanol production by locally isolated *Saccharomyces cerevisiae* BIO-07. *Journal of Applied Pharmacy*, 3(2), 72-78.
- Tâm, H. N. T., Trang, N. N. P., Thi, T. T. M., Nguyễn, N. T. T. & Nhi, L. T. (2021). 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.
- Thảo, P. T. T., Thư, N. N. A., Duy, L. T., Thanh, N. T., Long, B. H. D., & Phong, H. X. (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.
- Tiên, D. T. K., Mi, H. T. N., Đệ, N. D., Toàn, H. T. & Dung, N. T. P. (2018). Khảo sát hàm lượng polyphenol và khả năng kháng oxy hóa của dịch trái giác (*Cayratia trifolia*) trước và sau lên men sử dụng nấm men chịu nhiệt *Saccharomyces cerevisiae* HG1.3. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam* 60(8), 60-64.
- Tú, B. V. (2019). Tối ưu hóa quá trình lên men nước giải khát cider dâu bằng phương pháp bề mặt đáp ứng bốn yếu tố. *Tạp chí Nghiên cứu khoa học Trường Đại học Sao Đỏ*, 2(65), 77-85.

- Tú, B. V. & Tú, N. N. (2021). Sử dụng *Saccharomyces cerevisiae* RV002 để lên men rượu vang từ quả sim (*Rhodomyrtus tomentosa*). *Tạp chí Nghiên cứu khoa học - Đại học Sao Đỏ* 1(72), 107-114.
- Verma, D., Yadav, R.K., Rani, M.Y.B., Punar, S., Sharma, A., Maheshwari, R.K. (2017). Miraculous health benefits of exotic dragon fruit. *Research Journal of Chemical and Environmental Sciences*, 5(5), 94-96.
- Ye, M., Ren, L., Wu, Y., Wang, Y., & Liu, Y. (2013). Quality characteristics and antioxidant activity of hickory-black soybean yogurt. *LWT-Food Science and Technology*, 51(1), 314-318.
- Zhang, C., Hu, C., Wang, X., Meng, Y., & Guo, Y. (2021). Polyphenols in fermented apple juice: beneficial effects on human health. *Journal of Functional Foods*, 76(2), 104294.
- Zhu, W., Ai, Y., Fang, F., & Liao, H. (2021). Application of thermosonication in red pitaya juice processing: impacts on native microbiota and quality properties during storage. *Foods*, 10(5), 1041.
- Zou, B., Wu, J., Yu, Y., Xiao, G., & Xu, Y. (2017). Evolution of the antioxidant capacity and phenolic contents of persimmon during fermentation. *Food Science and Biotechnology*, 26(3), 563-571.