

## NGHIÊN CỨU QUÁ TRÌNH LÊN MEN PHỤ (F2) TRÀ KOMBUCHA OOLONG NHÃN

**Nguyễn Lê Ý Nhi, Nguyễn Lê Ý Kha, Phan Thị Thuận,  
Thân Thị Thanh Truyền, Nguyễn Ngọc Đức, Hoàng Thị Ngọc Nhơn\***

*Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM*

*\*Email: hoangthingocnhon1002@gmail.com*

Ngày nhận bài: 26/7/2021; Ngày chấp nhận đăng: 08/9/2021

### TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành với mục đích xác định các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men phụ (F2), giai đoạn bổ sung thịt quả nhãn để tiếp tục hoàn thiện sản phẩm trà Kombucha Oolong nhãn. Các khảo sát bao gồm: lượng thịt nhãn (w/v), nhiệt độ lên men ( $^{\circ}\text{C}$ ), thời gian lên men và hương nhãn được bổ sung. Kết quả đánh giá cảm quan sản phẩm cho thấy nhãn xoàng com vàng với lượng bổ sung vào là 5% (w/v), sử dụng nhiệt độ phòng thực hiện quá trình lên men, thời gian lên men là 24 giờ và bổ sung 0,05% (v/v) hương nhãn cho sản phẩm cuối cùng đạt chất lượng tốt nhất.

*Từ khóa:* Kombucha, trà lên men, nhãn, trà Oolong.

### 1. GIỚI THIỆU

Triển vọng của thị trường thực phẩm và đồ uống hữu cơ của Việt Nam đang rất tiềm năng với doanh thu ước tính đạt 320.5 tỷ USD vào năm 2025. Trong đó ngành đồ uống hữu cơ trên 55 tỷ USD với mức tăng trưởng 13,1% [1]. Đặc biệt, những dòng sản phẩm thức uống tốt cho sức khỏe ngày càng được quan tâm nghiên cứu và sản xuất. Một trong số các sản phẩm rất được người tiêu dùng ưa chuộng là Kombucha. Là một loại trà lên men, Kombucha có tác dụng hiệu quả trong việc duy trì và hồi phục sức khỏe thông qua 4 đặc tính chính là thải độc, chống oxy hoá, tăng cường năng lượng và thúc đẩy hệ miễn dịch. Theo nghiên cứu thị trường của Global Market Insights, Quy mô thị trường Kombucha đã vượt qua 2655 triệu USD vào năm 2020 và ước tính sẽ đạt CAGR (Tốc độ tăng trưởng hằng năm kép) trên 17% từ năm 2021 đến năm 2027. Việc nâng cao nhận thức và chấp nhận Kombucha như một loại đồ uống chức năng nhờ các lợi ích sức khỏe khác nhau của nó dự kiến sẽ thúc đẩy tăng trưởng thị trường [2]. Sự quan tâm ngày càng lớn của người tiêu dùng đối với nhóm thực phẩm lên men tốt cho sức khỏe là nguyên nhân chính của sự tăng trưởng này. Nhận thấy nhu cầu thị trường về sản phẩm này tại Việt Nam rất cao, việc nghiên cứu để đa dạng hóa dòng sản phẩm này trên thị trường cũng như tạo ra những sản phẩm phù hợp với nhu cầu thị hiếu của người Việt Nam là điều cần thiết. Quá trình lên men phụ bổ sung trái cây và ép nước từ trái cây là một bước không bắt buộc trong quá trình làm Kombucha. Tuy nhiên, đây chính là một công đoạn quan trọng để tạo ra sự đa dạng và hoàn chỉnh chất lượng sản phẩm để tạo ra các dòng Kombucha có hương vị đặc trưng phù hợp với thị hiếu người tiêu dùng. Nghiên cứu này nghiên cứu quá trình lên men phụ (F2) để hoàn thiện quá trình lên men sản xuất trà Kombucha vị nhãn.

### 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Nguyên vật liệu

Trà Oolong: Trà Oolong Tâm Châu, đường thốt nốt thương hiệu Moun7ains, Nhãn tươi được mua ở Bách hóa xanh theo tiêu chuẩn VIETGAP (quả nhãn tươi mới, thơm; Không dùng

trái bị sâu, thối, úng, dập nát; Tỷ lệ hư hỏng dưới 1%); Hương nhãn: Dry Longan Flavor-Firmenich; Dung dịch giống khởi động SCOBY được cung cấp bởi công ty TNHH FoodPlus với mật độ nấm men ( $1,1 \times 10^5$  CFU/mL), vi khuẩn ( $3 \times 10^2$  CFU/mL).

## **2.2. Phương pháp nghiên cứu**

### *2.2.1. Thực hiện quá trình lên men Kombucha Oolong F1*

Thực hiện với 100 g trà, sau đó tiến hành đun nước sôi để pha trà ủ trong vòng 10 phút. Tiếp theo bổ sung đường vào dung dịch nước trà đang ủ, hòa tan hết lượng đường, để nguội và bổ sung 3% nước môi vào trong sản phẩm. Tiến hành lên men ở nhiệt độ phòng trong thời gian 72 giờ để tạo ra thành phẩm trà Kombucha Oolong F1.

### *2.2.2. Khảo sát quá trình lên men F2 Kombucha Oolong nhãn*

Lấy dịch trà lên men Kombucha Oolong F1 (chuẩn bị ở mục 2.2.1) tiến hành bổ sung lượng nhãn (5, 10, 15, 20, 25 g), ở nhiệt độ ( $35 \pm 1^\circ\text{C}$  và nhiệt độ phòng), trong thời gian lên men F2 (12, 24, 36, 48, 60 giờ), bổ sung hương nhãn (0,025; 0,05; 0,075; 0,1; 0,125%). Tiến hành xác định nồng độ chất khô hòa tan %Bx, pH dịch lên men và đánh giá cảm quan sản phẩm để chọn được điều kiện lên men phù hợp nhất.

### *2.2.3. Phương pháp đánh giá cảm quan sản phẩm*

*Phép thử cho điểm thị hiếu:* Xác định mức độ chấp nhận của người tiêu dùng trong một phép thử đa sản phẩm. Sau đó xác định mức độ ưu tiên của các sản phẩm đó một cách gián tiếp từ các điểm số có được [3].

*Phép thử so hàng thị hiếu:* Tiến hành trên một loạt mẫu, người thử được mời sắp xếp những mẫu này theo cường độ hay mức độ của một tính chất cảm quan nào đó [3].

### *2.2.4. Phương pháp phân tích*

Hàm lượng chất khô hòa tan: Sử dụng khúc xạ kế Alpha Atago theo TCVN 4414 - 87 [4]; Xác định pH: Sử dụng pH kế để bàn Hanna, theo TCVN 6492:2011 [4]; Hàm lượng chi được xác định theo TCVN 8008:2009; Hàm lượng chi được xác định theo AOAC 999:11; Xác định tổng vi sinh vật hiếu khí theo ISO 4833-1:2013; Xác định tổng nấm men và nấm mốc theo ISO 21527:2008; Xác định *Escherichia coli* theo ISO 16649-3: 2015.

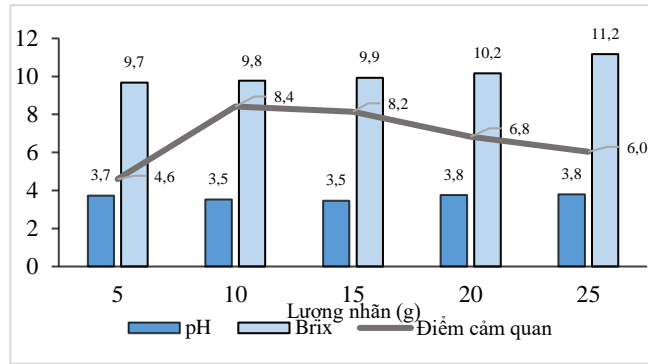
## **2.3. Phương pháp xử lý số liệu**

Trong nghiên cứu này, mỗi thí nghiệm tiến hành lặp lại 3 lần, kết quả được đánh giá sự khác biệt có ý nghĩa giữa các mẫu thí nghiệm được thực hiện bằng phương pháp thông kê ANOVA ( $\alpha = 5\%$ ), sử dụng phần mềm SPSS ver. 22 và Microsoft Excel 2016.

## **3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

### **3.1. Ảnh hưởng của lượng nhãn đến trà Kombucha Oolong nhãn (lên men F2)**

Quá trình sản xuất Kombucha có quá trình lên men phụ tạo ra sản phẩm có hương vị đặc trưng nên trở thành một lựa chọn phù hợp cho nhiều người tiêu dùng quan tâm đến sức khỏe. Quá trình lên men trà Kombucha tổng cộng thường từ 7 đến 60 ngày. Mặc dù hầu hết các hoạt tính chống oxy hóa thu được tăng lên theo thời gian ủ, quá trình lên men kéo dài không được khuyến khích do sự tích tụ của các acid hữu cơ,  $\text{CO}_2$  sinh ra có thể bắt đầu được tích tụ tại bề mặt phân cách giữa màng sinh học tạo cho sản phẩm có đặc điểm quan trọng không phù hợp [5]. Vì vậy, các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men phụ cần được kiểm soát. Quá trình lên men Kombucha F2 không bắt buộc phải có nhưng việc bổ sung trái cây trong lên men phụ F2 sẽ giúp hoàn thiện chất lượng và tạo ra các sản phẩm đặc trưng. Ảnh hưởng của lượng nhãn đến pH, Brix và cảm quan sản phẩm được thể hiện ở Hình 1.

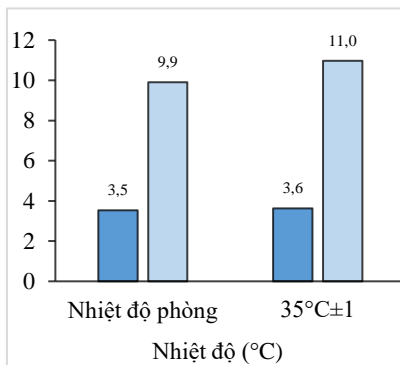


Hình 1. Ảnh hưởng của lượng nhân đến trà Kombucha Oolong nhân F2

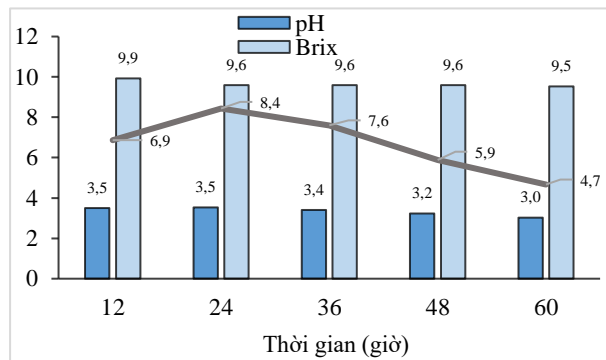
Kết quả cho thấy lượng nhân ở các mức khác nhau: 5 g, 10 g, 15 g, 20 g, 25 g có ảnh hưởng đến pH và Brix nhưng không đáng kể. Điều này do trong quá trình lên men chính F1, nấm men sẽ tiêu thụ hầu hết lượng đường trong trái cây thêm vào sau đó nấm men giải phóng CO<sub>2</sub>, quá trình lên men phụ Kombucha là quá trình kỵ khí [6]. Nước ép từ nhân sau khi lên men sẽ có sự chuyển biến rõ, sản phẩm có mùi chua gắt, đa dạng tùy thuộc vào thời gian của thời kỳ lên men với một trong những sự thay đổi như màu sắc thay đổi khi bổ sung lượng nhân khác nhau do biến đổi hóa học của các hợp chất phenol đặc biệt là anthocyanin [7]. Tương tự, nghiên cứu của Akbarirad *et al.* cho thấy việc bổ sung nước ép nho trong lên men Kombucha F2, độ pH giảm trong quá trình lên men và duy trì khá ổn định, hàm lượng phenolic, anthocyanin và hoạt tính chống oxy hóa của đồ uống lên men tăng cao. Hàm lượng vi khuẩn acid acetic và số lượng nấm men tăng trong quá trình lên men và sau đó giảm xuống [8]. Đánh giá cảm quan theo phương pháp cho điểm thị hiếu người tiêu dùng với 60 người thử, kết quả mẫu sản phẩm với lượng 10 g được đánh giá điểm cao nhất và có sự khác biệt ý nghĩa với thí nghiệm còn lại. Do đó, lượng nhân 10 g được chọn để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

### 3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian lên men đến trà Kombucha long nhân (lên men F2)

Nhiệt độ và thời gian lên men là hai yếu tố rất quan trọng nhất ảnh hưởng đến quá trình lên men dưới hoạt động của nấm men. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian lên men Kombucha F2 được thể hiện ở Hình 2 và 3.



Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men đến trà Kombucha Oolong nhân F2



Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian lên men đến trà Kombucha Oolong nhân F2

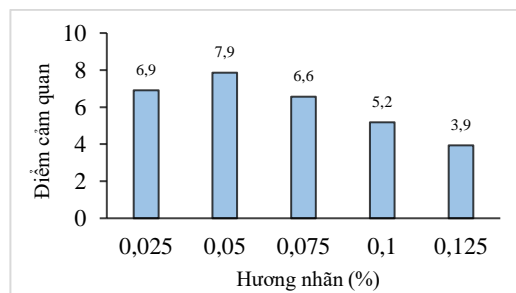
Hàm lượng chất khô hòa tan của mẫu Kombucha lên men ở nhiệt độ phòng nhỏ hơn mẫu lên men ở nhiệt độ 35±1 °C trong khi ảnh hưởng của nhiệt độ đến pH của sản phẩm sau 24 giờ lên men không đáng kể. Điều này có thể giải thích rằng duy trì ở nhiệt độ tối ưu trong suốt quá

trình lên men dẫn đến sự phát triển một cách tốt nhất của vi sinh vật và hoạt động của enzyme mà chúng tạo ra được tốt hơn, từ đó quá trình lên men được cải thiện về sinh khối và hàm lượng chất chuyển hoá [9]. Kết quả đánh giá cảm quan sản phẩm cho thấy, mẫu lên men ở nhiệt độ phòng được đánh giá điểm cao hơn ở nhiệt độ  $35\pm 1$  °C. Do đó, điều kiện lên men ở nhiệt độ phòng được chọn để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

Kết quả Hình 3 cho thấy thời gian lên men Kombucha Oolong nhân ở 12 giờ, 24 giờ, 36 giờ, 48 giờ, 60 giờ làm thay đổi đáng kể giá trị pH và độ Brix. pH của mẫu ở 12 giờ đến 60 giờ giảm từ 3,5 xuống 3,03 trong khi độ Brix tại các mốc khảo sát thay đổi không đáng kể. Sự thay đổi này là do thời gian lên men càng dài, các cơ chất trong quá trình lên men cạn dần, vi sinh vật bắt đầu vào cuối pha lũy thừa, cạnh tranh dinh dưỡng, cùng với đó là sản phẩm phụ của quá trình lên men, cụ thể là các loại acid hữu cơ gây ức chế sinh trưởng của vi sinh vật, làm giảm pH và cả độ Brix của thành phẩm [10, 11]. Đánh giá cảm quan sản phẩm theo phương pháp cho điểm thị hiếu người tiêu dùng với 60 người thử, kết quả cho thấy mẫu sản phẩm sau 24 giờ lên men được đánh giá điểm cao nhất và cho thấy có sự khác biệt ý nghĩa với các khoảng thời gian lên men F2 khác. Vì vậy, thời gian 24 giờ lên men được chọn để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

### 3.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ hương nhân đến trà Kombucha Oolong nhân (lên men F2)

Nhu cầu bổ sung hương liệu vào các sản phẩm đồ ăn nhẹ, nước ngọt, đồ tráng miệng, bánh kẹo, v.v. ngày càng tăng cao để đáp ứng nhu cầu của người tiêu dùng. Các nhà sản xuất thực phẩm và đồ uống đã sử dụng hương vị nhân tạo trong nhiều thập kỷ và chúng mang lại những lợi ích nhất định. Ví dụ hương vị nhân tạo cho phép những người bị dị ứng thực phẩm có thể thưởng thức thực phẩm một cách an toàn. Ngoài ra, hương nhân tạo cho phép người tiêu dùng thưởng thức nhiều loại hương vị thực phẩm ngay cả khi chúng trái mùa [12]. Việc bổ sung thêm hương nhân vào sản phẩm Kombucha Oolong nhân để đảm bảo sản phẩm giữ được hương nhân cần thiết và để bù đắp sự thất thoát hương vị trong quá trình chế biến và bảo quản sản phẩm. Ảnh hưởng của tỷ lệ hương nhân được thể hiện ở Hình 4.



Hình 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ hương nhân đến trà Kombucha Oolong nhân F2

Kết quả Hình 4 cho thấy mẫu có 0,05% hương được đánh giá điểm cao nhất và có sự khác biệt ý nghĩa so với các mẫu còn lại. Khi bổ sung thêm hương nhân vào sản phẩm, người thử có thể cảm nhận rõ được hương vị trái cây đặc trưng, nếu bổ sung quá nhiều người tiêu dùng cảm nhận được hương từ hóa chất, gây khó chịu. Từ đó chọn mẫu có tỷ lệ hương nhân là 0,05% để sản xuất Kombucha Oolong nhân.

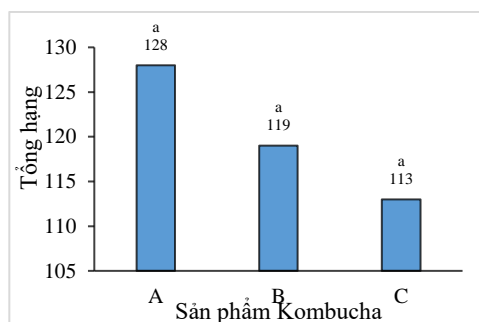
### 3.5. Đánh giá chất lượng sản phẩm

Căn cứ theo TCVN 12828:2019 về nước giải khát và tham chiếu theo QCVN (Quy chuẩn Việt Nam) 6-2:2010/BYT Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với các sản phẩm đồ uống không cồn bao gồm các chỉ tiêu sau: tổng vi sinh vật hiếu khí, *Coliforms*, *Echeriachia coli*, *Clostridium perfringens*, *Streptococcus faecal*, tổng số bào tử của nấm men - nấm mốc. Chọn 3 chỉ tiêu đại diện kiểm tra là tổng vi sinh vật hiếu khí, tổng số nấm men và nấm mốc, *Echerichia coli* được kiểm nghiệm tại công ty TNHH DV KHCN Khuê Nam, kết quả được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả kiểm tra chỉ tiêu hóa học và vi sinh sản phẩm Kombucha Oolong nhãn

STT	Chỉ tiêu	Đơn vị	Kết quả	Phương pháp thử
1	Ethanol	%v/v	0,0	TCVN 8008 : 2009
2	Hàm lượng chì (Pb)	mg/L	Không phát hiện (LOQ = 0,01)	AOAC 999.11
3	Tổng số vi sinh vật hiếu khí	CFU/mL	Không phát hiện	ISO 4833-1:2013
4	Tổng số nấm men và nấm mốc	CFU/mL	Không phát hiện	ISO 21527-1:2008
5	<i>Echerichia coli</i>	CFU/mL	Không phát hiện	ISO 16649-3:2015

Kombucha Oolong nhãn (B) sau khi hoàn thành tiến hành đánh giá cảm quan sản phẩm theo phương pháp so hàng thị hiếu và so sánh với 2 mẫu trên thị trường: Star Kombucha vị cam đào (A), và Star Kombucha vị dâu tây (C). Kết quả được thể hiện ở Hình 5.



Hình 5. So sánh điểm cảm quan của sản phẩm Kombucha Oolong nhãn và Star Kombucha vị đào, Star Kombucha vị dâu tây.

Dựa vào kết quả xử lý số liệu cho thấy không có sự khác nhau về mức độ yêu thích giữa mẫu Kombucha vị nhãn và hai mẫu thử đã có mặt trên thị trường. Kết quả kiểm nghiệm cho thấy sản phẩm Kombucha Oolong nhãn cho thấy chỉ tiêu ethanol, chỉ tiêu kim loại nặng (chì), chỉ tiêu vi sinh vật như *Echerichia coli*, tổng nấm men - nấm mốc, vi khuẩn hiếu khí phù hợp với TCVN 12828:2019 nước giải khát không cồn.

#### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã chọn lượng nhãn 5% (w/v), lên men ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ, với 0,05% (v/v) hương nhãn cho quá trình lên men phụ (F2) Kombucha. Bài báo này là tiền đề để nghiên cứu được các yếu tố ảnh hưởng và bị ảnh hưởng đến quá trình lên men, với mục đích là nghiên cứu sản xuất các sản phẩm từ thiên nhiên có lợi cho sức khỏe cũng như tìm được sản phẩm phù hợp với thị hiếu người tiêu dùng.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Miên - Báo cáo chuyên ngành ngành đồ uống Q3/2019, VIRAC, GSO, (2019).
2. Kunal Ahuja S.S. - Kombucha market size, Global Market Insights (2021).
3. Nguyễn Kim Phụng - Đánh giá cảm quan thực phẩm, Đại học Trà Vinh (2018).
4. Trần Linh Thuộc - Phương pháp phân tích vi sinh vật trong nước, thực phẩm và mỹ phẩm, Nhà xuất bản Giáo dục (2006).
5. Ng K.W., Cao Z.J., Chen H.B., Zhao Z.Z., Zhu L., Li T. - Oolong tea: a critical review of processing methods, chemical composition, health effects, and risk, Critical Reviews in Food Science and Nutrition **58** (17) (2018) 2957-2980.

6. Chakravorty S., Bhattacharya S., Chatzinotas A., Chakraborty W., Bhattacharya D., and Gachhui R. - Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics, *International journal of food microbiology* **220** (2016) 63-72.
7. Sanoppa K. - Evaluating the volatile compounds during alcoholic fermentation of different *saccharomyces cerevisiae* strains in mixed juices of cashew apple and longan, *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* **10** (4) (2021) 598-603.
8. Akbarirad H., Mazaheri Assadi M., Pourahmad R., Mousavi Khaneghah A. - Employing of the different fruit juices substrates in vinegar kombucha preparation, *Current Nutrition & Food Science* **13** (4) (2017) 303-308.
9. Malbaša R., Lončar E., and Djurić M. - Comparison of the products of Kombucha fermentation on sucrose and molasses, *Food Chemistry* **106** (3) (2008) 1039-1045.
10. Ulusoy A., Tamer C. - Determination of suitability of black carrot (*Daucus carota* L. spp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) juice concentrate, cherry laurel (*Prunus laurocerasus*), blackthorn (*Prunus spinosa*) and red raspberry (*Rubus ideaus*) for kombucha beverage production, *Journal of Food Measurement and Characterization* **13** (2) (2019) 1524-1536.
11. Khosravi S., Safari M., Emam-Djomeh Z., Golmakani M. - Development of fermented date syrup using Kombucha starter culture, *Journal of Food Processing and Preservation* **43** (2) (2019) 13872.
12. Yavari N., Assadi M. M., Larijani K., Moghadam M. - Response surface methodology for optimization of glucuronic acid production using kombucha layer on sour cherry juice, *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* **4** (8) (2010) 3250-3256.

## ABSTRACT

### A STUDY ON SECONDARY FERMENTATION OF KOMBUCHA LONGAN OOLONG TEA

Nguyen Le Y Nhi, Nguyen Le Y Kha, Phan Thi Thuan,  
Than Thi Thanh Truyen, Nguyen Ngoc Duc, Hoang Thi Ngoc Nhon\*  
*Ho Chi Minh City University of Food Industry*  
\*Email: [hoangthingocnhon1002@gmail.com](mailto:hoangthingocnhon1002@gmail.com)

The study was conducted with the aim of determining the factors affecting the secondary fermentation process (F2), the stage of adding longan pulp to further perfect the Kombucha oolong longan tea product. The surveys included the amount of longan meat (w/v), fermentation temperature (°C), fermentation time and added longan flavor. The results of sensory evaluation of the product showed that the longan with the amount of 5% (w/v), room temperature, the fermentation time was 24 hours and adding 0.05% (v/v) longan flavor for the best quality final product.

*Keywords:* Fermented tea, Kombucha, longan fruit, Oolong tea.