



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0003187

(51) **A23L 19/00**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2020-00587

(22) 18/11/2020

(45) 26/06/2023 423

(43) 27/12/2021 405

(73) Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh (VN)
Số 12 Nguyễn Văn Bảo, phường 4, quận Gò Vấp, Thành phố Hồ Chí Minh

(72) Đàm Sao Mai (VN); Trần Thị Mai Anh (VN); Nguyễn Thị Mai Hương (VN);
Nguyễn Đức Vượng (VN); Trần Gia Bửu (VN); Nguyễn Ngọc Thuần (VN); Đặng
Trần Minh Đăng (VN).

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT NƯỚC QUẢ MĂNG CẦU GAI (*ANNONA MURICATA* L.)
LÊN MEN

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất nước quả măng cầu gai (*Annona muricata* L.) lên men bao gồm các bước: (i) chuẩn bị dịch phối chế từ thịt quả măng cầu gai; (ii) hoạt hoá *Lactobacillus plantarum*; (iii) bổ sung dịch phối chế thu được từ bước (i) và sinh khối *Lactobacillus plantarum* thu được từ bước (ii) vào bồn lên men và lên men để thu được dung dịch quả măng cầu gai thu được sau lên men; (iv) phối trộn dung dịch quả măng cầu gai thu được sau lên men thu được từ bước (iii) với các nguyên liệu điều vị và điều hương để thu được nước quả măng cầu gai lên men thành phẩm.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực công nghệ đồ uống để sản xuất nước quả mãng cầu gai lên men. Cụ thể hơn, giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất nước quả mãng cầu gai lên men lactic bằng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum*.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Nước trái cây lên men là một dạng nước uống từ trái cây, thông qua quá trình lên men hương vị được chuyển đổi hình thành các dòng sản phẩm mới. Hiện tại thị trường có nhiều dòng sản phẩm nước trái cây lên men khác nhau: các dòng nước trái cây lên men cồn không qua chưng cất, có độ cồn thấp, ví dụ nước chanh leo lên men; các dòng nước trái cây lên men lactic, với vị chua nhẹ của axit lactic hình thành trong quá trình lên men; các dòng nước trái cây lên men axit axetic, với vị chua hơi gắt, nhưng lại có tác dụng tăng cường hương thơm của sản phẩm; các dòng nước trái cây lên men hỗn hợp, bao gồm cả 3 loại trên và một số quá trình lên men phụ cũng tác động đến chất lượng sản phẩm. Các dòng nước lên men ngoài việc bổ sung các dưỡng chất cần thiết cho cơ thể, còn tạo ra hương vị tự nhiên, phù hợp với thị hiếu người tiêu dùng.

Mãng cầu gai (*Annona muricata* L.) còn được gọi là mãng cầu xiêm là loài cây đặc trưng tại miền Tây Nam bộ, Việt Nam, đặc biệt là tại các tỉnh như Sóc Trăng, Tiền Giang, v.v. Đây là loài cây có thể phát triển trên vùng đất nhiễm mặn, hỗ trợ sự phát triển của vùng đất này. Các thành phần của cây có thể sử dụng trong chế biến chủ yếu là quả, lá và hoa, nhằm tạo ra các sản phẩm như trà quả/lá mãng cầu gai túi lọc sản xuất theo phương thức cũ (xắt nhỏ, xay, nghiền, đóng túi), lá mãng cầu gai sấy khô, bột lá mãng cầu gai, mứt mãng cầu gai, sinh tố mãng cầu gai, mãng cầu gai nguyên chất đóng chai, v.v.

Theo các nghiên cứu khoa học, quả cây mãng cầu gai chứa rất nhiều hợp chất tốt cho sức khỏe như các hợp chất polyphenol, carbohydrat, flavonoid, caroten, tanin, alkaloid, saponin và axetogenin. Tuy nhiên, việc sử dụng các sản phẩm được chế biến từ quả mãng cầu gai còn ít được quan tâm so với sử dụng trực tiếp quả tươi. Quả mãng cầu gai tươi sau khi chín rất nhanh bị thối, hỏng. Tiềm năng kinh tế và dinh dưỡng của quả mãng cầu gai là rất lớn, do đó có nhu cầu để khai thác đúng và triệt để quả mãng cầu gai nhằm đem lại thu nhập thêm cho người nông dân ngoài thu nhập từ bán quả tươi. Hiện tại, các nghiên cứu phát triển các sản phẩm từ quả mãng cầu gai chưa nhiều và mới chỉ dừng lại ở việc trích ly

các hợp chất hay sản xuất quả sấy khô để dùng làm nguyên liệu thô hoặc sấy khô quả để sử dụng như trà. Vì vậy, việc chế biến các thành phần từ quả măng cầu gai để làm sản phẩm có thời gian sử dụng dài hơn mà vẫn giữ được giá trị dinh dưỡng là một trong các phương án làm tăng giá trị gia tăng của cây măng cầu gai.

Hiện tại, thị trường đang có rất nhiều sản phẩm nước đóng chai và nước đóng lon, kể cả các sản phẩm trà như trà xanh không độ, trà chanh, trà cam, trà bí đao, v.v. Tuy nhiên, các giải pháp chỉ liên quan tới dòng sản phẩm trà quả măng cầu gai lên men từ nấm men, và có hàm lượng etanol (cồn) nhất định ở dạng đóng chai. Với các sản phẩm đóng lon, mới chỉ có dòng sản phẩm nước quả măng cầu gai tươi.

Các tác giả giải pháp hữu ích bất ngờ phát hiện ra rằng khi lên men nước quả măng cầu gai bằng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* sẽ tạo ra sản phẩm đồ uống lên men axit tự nhiên, tốt cho sức khỏe, có đặc tính cảm quan tốt hơn, cũng như mang tính tiện dụng hơn với người tiêu dùng.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là đề xuất quy trình sản xuất nước quả măng cầu gai lên men axit lactic, tốt cho sức khỏe, có đặc tính cảm quan tốt hơn, cũng như mang tính tiện dụng hơn với người tiêu dùng bằng cách sử dụng vi khuẩn *L. plantarum*.

Quy trình theo giải pháp hữu ích bao gồm các bước:

- (i) chuẩn bị dịch phối chế từ thịt quả măng cầu gai,
- (ii) hoạt hoá *Lactobacillus plantarum*;
- (iii) bổ sung dịch phối chế thu được từ bước (i) và sinh khối *Lactobacillus plantarum* thu được từ bước (ii) vào bồn lên men và lên men để thu được dung dịch quả măng cầu gai thu được sau lên men;
- (iv) phối trộn dung dịch quả măng cầu gai thu được sau lên men thu được từ bước (iii) với các nguyên liệu điều vị và điều hương để thu được nước quả măng cầu gai lên men thành phẩm.

Theo một khía cạnh cụ thể, quy trình sản xuất nước quả măng cầu gai lên men còn bao gồm bước (v) đóng lon, và (vi) thanh trùng, bảo ôn lon chứa nước quả măng cầu gai lên men thành phẩm.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 mô tả sơ đồ quy trình sản xuất nước quả măng cầu gai lên men theo một phương án của giải pháp.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất nước quả mãng cầu gai lên men theo giải pháp bao gồm các bước:

(i) chuẩn bị dịch phối chế từ thịt quả mãng cầu gai,

trong đó, chọn, phân loại quả mãng cầu gai 90-105 ngày tuổi, tách lấy thịt, xay thịt quả mãng cầu gai với nước theo tỷ lệ 1:5 (khối lượng/thể tích) thu được hỗn dịch, gia nhiệt hỗn dịch thu được đến 50°C, bổ sung pectinaza theo tỷ lệ 0,05% (thể tích/thể tích) để phân giải pectin trong 60 phút ở 50°C, lọc để thu dịch chiết quả mãng cầu gai;

bổ sung syrup ở khoảng 65-75°Bx vào dịch chiết quả mãng cầu gai, khuấy đều cho đến khi dịch phối chế đạt 10°Bx, thanh trùng ở 80°C trong thời gian 50 phút, làm nguội;

(ii) hoạt hoá *Lactobacillus plantarum* bằng cách nuôi cấy qua đêm ở 37°C, pH = 6,2±0,2 trong môi trường nuôi cấy đến mật độ 10⁵CFU/mL và thu sinh khối;

(iii) bổ sung dịch phối chế thu được từ bước (i) và sinh khối *Lactobacillus plantarum* thu được từ bước (ii) vào bồn lên men, lên men ở 15-20°C trong 72 giờ để thu được dung dịch quả mãng cầu gai thu được sau lên men;

(iv) phối trộn dung dịch quả mãng cầu gai thu được sau lên men thu được từ bước (iii) với các nguyên liệu gồm axit xitric: đường isomalt: syrup bắp (55°Bx): hương mãng cầu tổng hợp khác theo tỷ lệ (% theo khối lượng): 94,21:0,38:0,57:4,71:0,14 để thu được nước quả mãng cầu gai lên men thành phẩm.

Mãng cầu gai chứa nhiều hoạt chất sinh học như: cardiac glycosid (27,19 mg/g), terpenoit (19,3 mg/g), tanin (13,1 mg/g), flavonoid (9,09 mg/g), saponin (4,63 mg/g), và antraquinon (1,1 mg/g); trong thịt quả còn có các este như axit ura béo (51%), metyl este của axit 2-hexanoic (24%), và etyl este của axit 2-hexenoic (8,6%) ở dạng tinh dầu tạo mùi thơm cho quả. Hoạt tính chống oxy hóa (BC-AMF) của mãng cầu gai được thể hiện trên các hợp chất phenol và flavonoid tổng. Ngoài ra, các chất như là tanin, saponin, glycosid, và axetogenin cũng có tác dụng chống oxy hóa.

L. plantarum là một loại vi khuẩn lactic phổ biến thường thấy trong thực phẩm lên men cũng như trong đường tiêu hóa của con người. *L. plantarum* là một loại vi khuẩn kỵ khí tùy nghi, trong trường hợp không có oxy có thể thực hiện quá trình lên men và biến đường thành axit lactic. *L. plantarum* có khả năng sử dụng nhiều loại đường khác nhau, sự hấp thu của peptit và hình thành hầu hết các axit amin. Vi khuẩn này thường được sử dụng để lên men thực phẩm như các sản phẩm sữa (sữa lên men và phô mát), rau (dưa chua, ô liu, dưa cải bắp, bột chua, v.v.), xúc xích thịt, cá và làm probiotic. Việc bổ sung vi khuẩn *L. plantarum* tạo vị chua đặc trưng cho sản phẩm.

Quá trình lên men lactic cũng tạo ra một số axit hữu cơ tạo hương, vị chua ngọt hài hòa, màu sắc phù hợp do sự kết hợp chuyển đổi của đường bổ sung và sự hình thành hương do tương tác giữa các thành phần trong quả và các nguyên liệu bổ sung làm nước quả măng cầu gai lên men có mùi vị dễ chịu và rất đặc trưng.

Yêu cầu về tiêu chuẩn của dòng nước giải khát không cồn và yêu cầu về chất lượng của sản phẩm nước quả măng cầu gai lên men được trình bày như sau:

a) *Tiêu chuẩn cảm quan:* Tiêu chuẩn cảm quan của sản phẩm được xác định theo (TCVN 7041:2009)

- Sản phẩm có màu trắng nhạt
- Sản phẩm có mùi thơm của men và mùi thơm nhẹ của quả măng cầu gai
- Sản phẩm có vị chua thanh, ngọt dịu tự nhiên, hơi chát nhẹ
- Trạng thái sản phẩm hơi đục do lên men tự nhiên

b) *Tiêu chuẩn hóa học:*

Tiêu chuẩn hóa học của sản phẩm được xác định theo Tiêu chuẩn hóa học của các loại đồ uống không cồn (TCVN 7041:2009). Nước quả măng cầu gai lên men có độ axit là pH 4,0 – 4,5 và 2,0 – 2,5g/L axit tổng, độ Brix là 8 -12, hàm lượng đường tổng số là 70 – 90 g/L.

c) *Tiêu chuẩn vi sinh:*

Tiêu chuẩn vi sinh của nước quả măng cầu gai lên men được áp dụng theo tiêu chuẩn vi sinh của các loại đồ uống không cồn (QCVN 6-2:2010/BYT).

Bảng 1. Tiêu chuẩn vi sinh của các loại đồ uống không cồn (QCVN 6-2:2010/BYT)

TT	Tên chỉ tiêu	Giới hạn cho phép (CFU/ 1ml sản phẩm)
1	Tổng số vi sinh vật hiếu khí	100
2	<i>Coliforms</i>	10
3	<i>E.coli</i>	0
4	<i>Streptococci faecal</i>	0
5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0
6	<i>Staphylococcus aureus</i>	0
7	<i>Cl.perfringens</i>	0
8	Tổng số bào tử nấm men – nấm mốc	10

d) *Giới hạn các chất nhiễm bẩn:* Giới hạn các chất nhiễm bẩn của nước quả măng cầu gai lên men được áp dụng theo tiêu chuẩn vi sinh của các loại đồ uống không cồn (QCVN 6-2:2010/BYT)

Bảng 2. Giới hạn các chất nhiễm bẩn của các loại đồ uống không cồn từ măng cầu gai
(QCVN 6-2:2010/BYT)

TT	Tên chỉ tiêu	Giới hạn cho phép tối đa
1	Chì, mg/L	0,05
2	Thiếc (với sản phẩm đóng hộp tráng thiếc), mg/L	150

Các bước của quy trình sản xuất nước quả măng cầu gai lên men được yêu cầu bảo hộ được mô tả cụ thể như sau:

(a) Chuẩn bị dịch phối chế từ thịt quả măng cầu gai:

Tiến hành chọn lựa những quả tươi, còn nguyên, không dập, không sâu. Quả chín màu xanh đều có độ tuổi từ 90 – 105 ngày tuổi, loại bỏ quả non hoặc đã ngả màu vàng. Đồng thời, quả còn nguyên mùi thơm, không có mùi mốc, không bị sâu bệnh, không dập nát. Quả măng cầu gai được bổ đôi, cắt bỏ cuống, gọt vỏ. Sau đó, quả được cắt thành các phần nhỏ, loại hạt, thu thịt quả. Thịt quả sau khi sơ chế sẽ được chuyển qua công đoạn xay trên máy xay công nghiệp. Nước được bổ sung vào máy xay theo tỷ lệ nước: thịt quả là 5:1, tiến hành xay hỗn hợp trong thời gian 5 phút.

Hỗn hợp nước măng cầu cho vào nồi ổn nhiệt, điều chỉnh lên 50°C. Enzym pectinaza được bổ sung với hàm lượng 0,05% so với tổng thể tích lượng dịch quả măng cầu. Enzym pectinaza phân giải pectin trong thịt quả măng cầu nhằm tăng lượng dịch quả thu được và giảm độ nhớt của dịch quả. Thời gian xử lý pectinaza là 1 giờ kể từ lúc đạt nhiệt độ 50°C.

Dịch quả măng cầu gai được cho vào nồi có cánh khuấy, dung dịch syrup (65-75°Bx) được bổ sung vào nồi và khuấy đều cho đến khi hỗn hợp đạt độ Brix 10. Sau đó, dịch phối chế được cho vào nồi thanh trùng, tiến hành thanh trùng ở 80°C trong thời gian 50 phút. Sau khi thanh trùng, dịch phối chế được làm nguội và đưa vào bồn lên men.

(ii) Hoạt hóa giống *L. plantarum*

Mục đích của bước hoạt hóa giống là kích hoạt vi khuẩn *L. plantarum* từ trạng thái bất sang trạng thái hoạt động để chuẩn bị cho quá trình lên men. Tiến hành hoạt hóa vi khuẩn từ ống giống trong môi trường MRS, ủ qua đêm ở 37°C.

- Thành phần môi trường MRS

Pepton: 10,0g

CH₃COONa: 5,0g

Cao thịt: 10,0g

K₂HPO₄: 2,0g

Cao nấm men: 5,0g

 $C_6H_{11}NO_7$: 2,0g

Glucosa: 20,0g

 $MnSO_4$: 0,05g

Tween 80: 1mL

 $MgSO_4$: 0,1g H_2O cho đủ 1000mLĐiều chỉnh pH = $6,2 \pm 0,2$ Hấp ở $121^\circ C$ trong 30 phút

Sau khi hoạt hóa, dịch hoạt hóa vi khuẩn được tiến hành ly tâm 5.000 vòng/phút, trong 5 phút để thu sinh khối của vi khuẩn. Sinh khối thu được sẽ được rửa 2-3 lần bằng nước muối sinh lý để loại bỏ hết các chất có trong môi trường MRS đối với vi khuẩn hoạt hóa trong môi trường MRS. Tiến hành kiểm tra mật độ vi khuẩn trong dịch hoạt hóa bằng phương pháp đo OD: Hút từ dịch hoạt hóa vi khuẩn 1 lượng dịch cho vào cuvet và tiến hành đo giá trị mật độ quang(OD) bằng máy đo quang phổ UV-VIS tại bước sóng 610nm và lấy kết quả tính mật độ vi khuẩn thông qua phương trình hồi quy $y = ax + b$ thể hiện sự tương quan tuyến tính giữa giá trị OD và mật độ vi khuẩn.

Sau đó, tiến hành tính toán lượng sinh khối cần và điều chỉnh lượng vi khuẩn bổ sung ban đầu có mật độ vi khuẩn là 10^5 CFU/ml.

(iii) bổ sung dịch phối chế thu được từ bước (i) và sinh khối *Lactobacillus plantarum* thu được từ bước (ii) vào bồn lên men, lên men ở $15-20^\circ C$ trong 72 giờ để thu được dung dịch quả mãng cầu gai thu được sau lên men.

(iv) phối trộn dung dịch quả mãng cầu gai thu được sau lên men thu được từ bước (iii) với các nguyên liệu gồm axit xitric 30%: đường isomalt: syrup bắp ($55^\circ Bx$): hương mãng cầu tổng hợp khác theo tỷ lệ (% theo khối lượng): 94,21:0,38:0,57:4,71:0,14 để thu được nước quả mãng cầu gai lên men thành phẩm.

(v) Nước quả mãng cầu gai lên men thành phẩm được dẫn vào hệ thống chiết rót đóng lon tự động để tạo sản phẩm. Sản phẩm sau khi chiết rót và đóng lon sẽ được tiệt trùng ở điều kiện $127^\circ C$, 2 atm, trong 45 phút để thu được lon chứa nước quả mãng cầu gai lên men sản phẩm.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất sản phẩm theo giải pháp hữu ích được minh họa bằng ví dụ nêu trong hình 1 để sản xuất 1L sản phẩm nước quả mãng cầu gai lên men bao gồm:

Chọn và phân loại quả mãng cầu gai từ 90-105 ngày tuổi, bỏ đôi, cắt bỏ cuống, gọt vỏ và cắt nhỏ, loại bỏ hạt. Thịt quả sau khi sơ chế sẽ được cho vào máy xay theo tỷ lệ 200 g thịt quả: 1L nước, xay trong 5 phút. Chuẩn bị 1L hỗn hợp nước mãng cầu cho vào nồi nấu, điều chỉnh lên 50°C. Enzym pectinaza được bổ sung với hàm lượng 0,05% (50mL) so với tổng thể tích lượng dịch quả mãng cầu. Ủ hỗn hợp trên trong nồi nấu với nhiệt độ 50°C trong thời gian là 1 giờ. Lọc để thu được dịch quả mãng cầu gai. Bổ sung syrup ở khoảng 65°Bx và khuấy đến khi đạt độ Brix là 10. Hỗn hợp dịch quả mãng cầu gai được tiến hành thanh trùng ở 80°C trong 50 phút. Sau đó, làm nguội hỗn hợp dịch lên men.

Hoạt hóa và bổ sung *Lactobacillus Plantarum* với mật độ 10^5 CFU/ml, tiến hành lên men ở 15-20°C, trong 72 giờ. Sau đó, tiến hành phối trộn dịch 942,1mL nước quả mãng cầu gai sau lên men, 3,8mL axit xitric 30%, 5,7g đường isomalt, 47,1mL syrup bắp (55°Bx) và 1,4mL hương mãng cầu tổng hợp để thu được 1L nước quả mãng cầu gai lên men thành phẩm. Nước quả mãng cầu gai lên men thành phẩm được tiến hành đóng lon và tiệt trùng.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất nước quả mãng cầu gai lên men theo giải pháp yêu cầu bảo hộ thu được nước quả mãng cầu gai lên men lactic bằng vi khuẩn *L. plantarum* có vị chua đặc trưng của quá trình lên men lactic với các thông số kỹ thuật đảm bảo an toàn thực phẩm (theo quy chuẩn QCVN 6-2:2010/BYT và TCVN 7041:2009).

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất nước quả măng cầu gai (*Annona muricata* L.) lên men bao gồm các bước:

(i) chuẩn bị dịch phối chế từ thịt quả măng cầu gai,

trong đó chọn, phân loại quả măng cầu gai 90-105 ngày tuổi, tách lấy thịt, xay thịt quả măng cầu gai với nước theo tỷ lệ 1:5 (khối lượng/thể tích) thu được hỗn dịch, gia nhiệt hỗn dịch thu được đến 50°C, bổ sung pectinaza theo tỷ lệ 0,05% (thể tích/thể tích) để phân giải pectin trong 60 phút ở 50°C, lọc để thu dịch chiết quả măng cầu gai;

bổ sung syrup ở khoảng 65°Bx vào dịch chiết quả măng cầu gai, khuấy đều cho đến khi dịch phối chế đạt 10°Bx, thanh trùng ở 80°C trong thời gian 50 phút, làm nguội;

(ii) hoạt hoá *Lactobacillus plantarum* bằng cách nuôi cấy qua đêm ở 37°C, pH = 6,2±0,2 trong môi trường nuôi cấy đến mật độ 10⁵CFU/mL và thu sinh khối;

(iii) bổ sung dịch phối chế thu được từ bước (i) và sinh khối *Lactobacillus plantarum* thu được từ bước (ii) vào bồn lên men, lên men ở 15-20°C trong 72 giờ để thu được dung dịch quả măng cầu gai thu được sau lên men;

(iv) phối trộn dung dịch quả măng cầu gai thu được sau lên men thu được từ bước (iii) với các nguyên liệu gồm axit xitric 30%: đường isomalt: syrup bắp (55°Bx): hương măng cầu tổng hợp theo tỷ lệ (% theo khối lượng): 94,21:0,38:0,57:4,71:0,14 để thu được nước quả măng cầu gai lên men thành phẩm.

2. Quy trình theo điểm 1, trong đó còn bao gồm bước (v) đóng lon, và (vi) thanh trùng, bảo ôn lon chứa nước quả măng cầu gai lên men thành phẩm.

Hình 1

