

NGHIÊN CỨU LÊN MEN TỎI ĐEN VÀ ĐÁNH GIÁ HÀM LƯỢNG CHẤT CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA TỎI ĐEN TRONG THỜI GIAN BẢO QUẢN

FERMENTATION OF BLACK GARLIC AND EVALUATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS OF BLACK GARLIC DURING STORAGE

Ngô Thị Minh Phương*

Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật - Đại học Đà Nẵng, Đà Nẵng, Việt Nam¹

*Tác giả liên hệ / Corresponding author: ntmphuong@ute.udn.vn

(Nhận bài / Received: 15/9/2023; Sửa bài / Revised: 29/10/2023; Chấp nhận đăng / Accepted: 06/11/2023)

Tóm tắt - Bài báo nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men tỏi đen từ giống tỏi tím Hà Nội. Kết quả cho thấy, điều kiện lên men tốt nhất để tạo ra sản phẩm tỏi đen là nhiệt độ 70°C, thời gian lên men 16 ngày, loại bia ngâm là Huda. Sản phẩm tỏi đen tạo thành có vị chua ngọt hài hoà, có mùi thơm nhẹ, dễ chịu. Hàm lượng phenolic trong tỏi đen là 4,34 mg GAE/g, tăng tương đối cao so với tỏi tươi nguyên liệu với hàm lượng 3,51GAE/g và hàm lượng flavonoid vẫn giữ được như tỏi tươi nguyên liệu là 6,99 mg QE/g. Kết quả xác định hàm lượng chất có hoạt tính sinh học của tỏi đen trong thời gian bảo quản 30 ngày bằng túi zip và hũ thủy tinh cho thấy hàm lượng phenolic và flavonoid không thay đổi. Điều này chứng tỏ các loại bao bì này và điều kiện bảo quản ở nhiệt độ 25°C có thể giữ được hợp chất có hoạt tính sinh học của tỏi đen. Kết quả nghiên cứu này góp phần hoàn thiện quy trình sản xuất tỏi đen.

Từ khóa - Tỏi đen; hoạt tính; flavonoid; lên men; phenolic

1. Đặt vấn đề

Tỏi (*Allium sativum* L.), là một loại thảo dược ăn được, được biết đến như là “kháng sinh tự nhiên”. Tỏi tươi chứa 26-30% carbohydrate, 1,5-2,1% protein, 0,1-0,2% lipid, 1,1%-3,5% hợp chất chứa lưu huỳnh, 0,1- 0,5% (tính theo chất tươi) hợp chất phenolic. Ngoài ra, tỏi còn chứa nhiều loại vitamin và khoáng chất như vitamin C, vitamin E, thiamine (B1), riboflavin (B2), niacin (PP), canxi, natri, sắt và selen. Tỏi có mùi vị hăng, nồng là do có chứa thành phần alliin hoặc S-allyl-cysteine sulfoxide. Một số nghiên cứu công bố tỏi có nhiều chức năng như chống oxy hóa, chống viêm, ngăn ngừa một số bệnh như đái tháo đường, mỡ trong máu cao, chống lão hóa, chống dị ứng, bảo vệ gan, chống ung thư, kháng khuẩn và tăng cường miễn dịch. Tuy nhiên, việc sử dụng tỏi tươi hoặc tỏi nấu chín cũng hạn chế do mùi hăng và nồng, thậm chí gây khó chịu cho dạ dày ở một số cơ thể [1-3].

Việc tạo ra sản phẩm tỏi đen giúp giảm thiểu mùi không mong muốn của tỏi, đồng thời cải thiện vị giác và duy trì hoặc tăng cường các chức năng có lợi của tỏi. Việc tạo tỏi đen từ tỏi tươi phải trải qua quá trình làm thay đổi về đặc điểm cảm quan như màu sắc (chuyển màu sẫm), mùi vị (tạo ra vị ngọt và chua), kết cấu (tạo độ dai, dẻo), và hương vị (giảm mùi hăng và vị lạ), thành phần của tỏi và các đặc tính hóa lý khác như giảm polysaccharides và tăng melanoidin, đường khử, acid hữu cơ, chất trung gian thơm (như furan, thiophene và pyrazine) và các chất có hoạt tính sinh học [1].

Cũng như nhiều nước trên thế giới, nguồn nguyên liệu tỏi ở nước ta phong phú và phổ biến. Hàng năm, sản lượng

Abstract - In this study, we investigate parameters affecting black garlic fermentation from the Hanoi purple garlic. The results showed that the best fermentation conditions are a temperature of 70°C, a fermentation time of 16 days, and using Huda beer. The final product has a harmonious sweet and sour taste, a light, pleasant aroma. The phenolic content of black garlic is 4.34 mg GAE/g, a relatively high increase compared to fresh garlic with phenolic content of 3.51GAE/g and flavonoid content remained the same as fresh garlic of 6.99 mg QE/g. The results of the bioactive compounds of black garlic during storage for 30 days in zip bags and glass jars showed that the content of phenolic and flavonoids remained at constant levels. This indicated that packaging types and the storage conditions at 25°C effectively retain the bioactive compounds of black garlic. This research contributes to perfecting the black garlic production process.

Key words - Black garlic; bioactive; flavonoid; fermentation; phenolic

tỏi của nước ta thu được lớn. Năm 2021, đạt 48.000 tấn/năm [4]. Nhằm nâng cao giá trị sử dụng của tỏi và tạo ra sản phẩm có giá trị kinh tế cao, nghiên cứu này xây dựng quy trình lên men tỏi đen và bước đầu khảo sát sự thay đổi hàm lượng một số hợp chất có hoạt tính sinh học của tỏi đen trong quá trình bảo quản.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

- Tỏi tím Hà Nội được thu mua tại cửa hàng ở Đà Nẵng (212 Hoàng Diệu, phường Nam Dương, quận Hải Châu, Đà Nẵng). Tỏi được chọn không bị trầy, xước, cùng kích cỡ, không bị thối, dập. Tại phòng thí nghiệm, tiến hành loại bỏ rễ và cắt cuống, tách lớp vỏ lụa phía ngoài và để lại khoảng 2-3 lớp vỏ lụa, bảo quản ở nhiệt độ phòng.

- Các loại bia: Heineken; Larue; Huda.



Hình 1. Tỏi nguyên liệu

¹ The University of Danang - University of Technology and Education, Danang, Vietnam (Thi Minh Phuong Ngo)

2.2. Phương pháp nghiên cứu

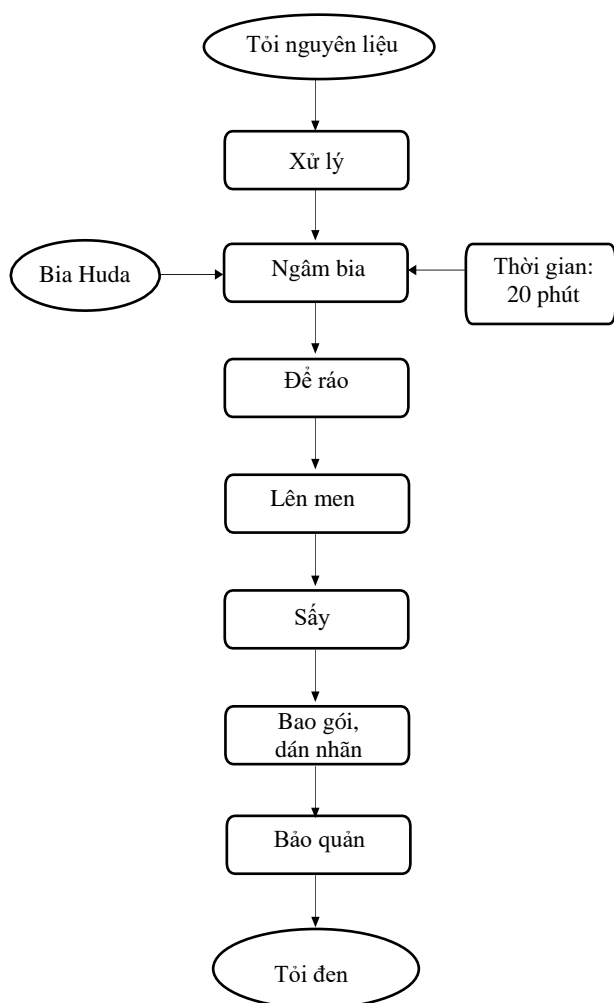
2.2.1. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men tòi tạo thành tòi đen

Quá trình lên men tòi đen được thực hiện như sơ đồ Hình 2.

- Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ lên men đến chất lượng tòi đen ở 2 mức nhiệt độ là 55°C; 70°C [5-7]. Trong quá trình lên men, tiến hành theo dõi sự thay đổi màu sắc của tòi lên men.

- Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian lên men đến chất lượng tòi đen, với các mốc thời gian lên men như sau: 4, 8, 12, 16 ngày [5-7]. Trong quá trình lên men, tiến hành theo dõi sự thay đổi hóa lý và màu sắc của tòi lên men. Từ đó xác định được thời gian lên men cho chất lượng tòi tốt nhất.

Chỉ tiêu đánh giá: độ ẩm, pH, tổng chất rắn hoà tan, cảm quan (màu sắc).



Hình 2. Sơ đồ quy trình lên men tòi đen

- Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của ba loại bia (Huda, Heineken, Larue) trong quá trình lên men đến chất lượng tòi đen. Trong quá trình lên men tiến hành đánh giá sự thay đổi hóa lý và màu sắc của tòi lên men sau thời gian thích hợp.

Chỉ tiêu đánh giá: phenolic, flavonoid, pH, tổng chất rắn hoà tan, cảm quan (màu sắc, mùi, vị, trạng thái).

2.2.2. Nghiên cứu sự thay đổi hoạt tính sinh học của tòi đen trong thời gian bảo quản

Tòi đen được bảo quản trong bao bì túi zip và hũ thủy tinh ở nhiệt độ 25°C. Trong quá trình bảo quản, tiến hành đánh giá sự thay đổi hàm lượng phenolic, flavonoid của tòi đen.

2.2.3. Phương pháp xác định chỉ tiêu hóa lý

Xác định độ ẩm: Sử dụng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi theo TCVN 1867:2001.

Xác định pH bằng máy đo pH/EC/TDS/Nhiệt độ thang cao CAL Check HI9813-61.

Xác định tổng chất rắn hoà tan (TSS) bằng chiết quang kế cầm tay: Lấy 3g tòi đen (phần không chứa vỏ) nghiền nát, thêm vào 15 ml nước cất, khuấy trong 2 phút cho đến khi được hỗn hợp đồng nhất và đem đi lọc. Hàm lượng chất rắn hòa tan tổng được đo bằng thiết bị chiết quang kế cầm tay ở 25°C và được biểu diễn là % lượng chất khô [8].

$$TSS = \frac{B \times V}{S}$$

Trong đó: TSS: tổng chất rắn hoà tan (%);

B: Độ brix đo được của mẫu;

V: Thể tích mẫu được pha loãng (ml);

S: Lượng mẫu (g).

2.2.4. Phương pháp xác định chỉ tiêu hóa học

Phương pháp đo quang OD bằng máy quang phổ UV – Vis.

- Xác định hàm lượng flavonoid

Hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định bằng phương pháp tạo màu với $AlCl_3$ trong môi trường kiềm được mô tả bởi Zhishen và cộng sự [9]. Hỗn hợp phản ứng gồm 1ml dịch chiết và 4ml nước cất. Cho vào 0,3ml $NaNO_2$ 5%, sau 5 phút thêm 0,3ml $AlCl_3$ 10%. Sau 5 phút, thêm 2ml $NaOH$ 1M và định mức đến 10ml. Độ hấp thụ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn được xác định ở bước sóng 510nm bằng máy quang phổ UV – Vis. Giá trị Abs được ghi nhận và tiến hành vẽ đường thẳng hiệu chuẩn để xác định hàm lượng flavonoid trong mẫu chiết. Hàm lượng flavonoid của dịch chiết được tính dựa trên phương trình đường chuẩn quercetin $y = ax + b$ [9-10].

Hàm lượng flavonoid tổng trong mẫu được tính dựa vào đường chuẩn QE theo công thức sau:

$$F = \frac{c \times V}{m}$$

Trong đó:

F: tổng hàm lượng flavonoid được biểu thị bằng mg QE/g;

c: hàm lượng flavonoid tổng được suy ra từ đường chuẩn quercetin (mg/g);

V: là thể tích dịch chiết (ml);

m: là khối lượng mẫu có trong V(g).

- Xác định hàm lượng phenolic

Xác định hàm lượng phenolic được thực hiện theo phương pháp Folin-Ciocalteu được mô tả bởi Mamelon và cộng sự [11]. Lấy 1 mL thể tích mẫu cần xác định (mẫu chuẩn acid gallic hoặc mẫu thử và 9ml nước cất được cho vào bình định mức 25 mL, thêm 1ml thuốc thử Folin-

Ciocalteu. Sau 5 phút, thêm 10 mL dung dịch Na_2CO_3 7%, định mức hỗn hợp đến 25 mL. Độ hấp thụ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn được xác định ở bước sóng 550 nm bằng máy quang phổ UV – Vis. Giá trị Abs được ghi nhận và tiến hành vẽ đường thẳng hiệu chuẩn để xác định hàm lượng phenolic trong mẫu dịch chiết. Hàm lượng phenolic của dịch chiết được tính dựa trên phương trình đường chuẩn acid gallic $y = ax+b$ [5, 11].

Hàm lượng phenolic tổng trong mẫu được tính dựa vào đường chuẩn GAE theo công thức sau:

$$P = \frac{c \times V}{m}$$

Trong đó:

P: tổng hàm lượng của các hợp chất phenolic (mg GAE/g);

c: nồng độ của acid gallic đương lượng từ đường chuẩn ($\mu\text{g/g}$);

V: thể tích dịch chiết (ml);

m: khối lượng cao chiết có trong V (g).

2.2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm Microsoft office Excel 2016, Minitab 18 để xử lý số liệu và vẽ biểu đồ.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ lên men đến chất lượng tỏi đen

Thực hiện lên men tỏi đen như sơ đồ Hình 1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ lên men đến chất lượng tỏi đen được biểu diễn ở Hình 3 và Bảng 1.



Hình 3. Hình ảnh tỏi sau 16 ngày lên men ở 2 mức nhiệt độ: (a) 55 °C và (b) 70 °C

Bảng 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men đến các chỉ tiêu hóa lý của tỏi đen sau 16 ngày lên men

Loại tỏi	Nhiệt độ (°C)	Độ ẩm (%)	pH	Chất rắn hoà tan (%)
Tỏi đen	55	48,3 ± 2,0 ^a	5,7 ± 0,2 ^a	6,5 ± 1,2 ^b
	70	28,4 ± 1,5 ^b	4,2 ± 0,1 ^b	11,5 ± 0,5 ^a
Tỏi tươi		54,2 ± 2,5 ^a	6,6 ± 1,9 ^a	4,0 ± 0,2 ^c

Kết quả ở Hình 3 cho thấy màu sắc của tỏi khi lên men ở 2 mức nhiệt độ 55°C và 70°C có sự khác biệt. Tỏi được lên men ở nhiệt độ 70°C hóa nâu nhiều hơn so với tỏi được lên men ở 55°C sau 16 ngày lên men.

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy, tỏi được lên men ở nhiệt độ 70°C có hàm lượng chất rắn hoà tan cao, pH và độ ẩm thay đổi nhiều hơn so với khi lên men ở nhiệt độ 55°C. Nguyên nhân thay đổi màu sắc và một số tính chất hoá lý của tỏi trong quá trình lên men là do phản ứng Maillard mà phản ứng này phụ thuộc nhiều vào nhiệt độ [4]. Hàm lượng chất

rắn hoà tan và pH của tỏi đen lên men ở 70°C trong nghiên cứu này gần tương đương với kết quả nghiên cứu của Piyachat Sunanta và cộng sự khi lên men tỏi đen ở nhiệt độ 75°C [12]. Theo tác giả Hao Jing, khi lên men trong 3 ngày ở nhiệt độ 60°C, sự thay đổi màu sắc của tỏi rất chậm và không thể chuyển sang màu đen hoàn toàn [13]; ở 70°C, sự thay đổi màu sắc nhanh hơn nhiều so với ở 60°C; ở 70–80°C tạo sản phẩm tỏi màu đen đồng nhất; ở 90°C sẽ xuất hiện vị đắng và chua. Tỏi đen được lên men ở 70°C khô, có độ đàn hồi và chất lượng tốt hơn; ở 80°C, tỏi đen khô và cháy; ở 90°C, rất cứng và có mùi cháy rõ rệt [13]. Qua kết quả phân tích trên, chọn nhiệt độ lên men 70°C để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian lên men đến chất lượng tỏi đen

Kết quả nghiên cứu sự ảnh hưởng của thời gian lên men đến chất lượng tỏi đen được biểu diễn ở Hình 4 và Bảng 2.

Thời gian lên men, ngày	Tỏi nguyên củ	Tỏi cắt đôi
0		
4		
8		
12		
16		

Hình 4. Sự thay đổi cường độ màu của tỏi trong thời gian lên men

Bảng 2. Ảnh hưởng của thời gian lên men đến các chỉ tiêu hóa lý của tỏi đen

Thời gian (ngày)	Độ ẩm (%)	pH	Chất rắn hoà tan (%)
0	54,2 ± 2,5 ^a	6,6 ± 1,9 ^a	4,0 ± 0,2 ^c
4	50,3 ± 2,1 ^{ab}	5,4 ± 1,4 ^b	7,3 ± 0,5 ^b
8	45,2 ± 1,9 ^b	5,1 ± 0,1 ^b	7,4 ± 0,6 ^b
12	37,9 ± 1,7 ^c	4,6 ± 0,2 ^c	8,4 ± 0,8 ^b
16	28,4 ± 1,5 ^d	4,2 ± 0,1 ^c	11,5 ± 0,5 ^a

Kết quả ở Hình 4 cho thấy, có sự thay đổi về màu sắc của tỏi từ màu trắng thành màu đen trong 16 ngày lên men. Quá trình hoá nâu diễn ra rõ và nhanh trong 8 ngày lên men đầu. Từ ngày 12 đến ngày 16 cường độ hoá nâu tiếp tục tăng lên nhưng không đáng kể và trong thời gian này, tỏi có màu đen đặc trưng và không bị khô. Khi lên men trong

thời gian lâu hơn (20 ngày) thì tòi chuyển thành màu đen cháy và khô cứng, có vị đắng.

Kết quả xác định các chỉ tiêu hoá lý của tòi đen ở Bảng 2 cho thấy trong thời gian lên men, các chỉ tiêu hoá lý của tòi thay đổi như tổng chất rắn hoà tan tăng và độ ẩm, pH giảm. Hàm lượng chất khô hoà tan của mẫu tòi tươi là 4%, sau 16 ngày quá trình lên men thì hàm lượng chất khô của tòi đen tăng đến 11,5%. Có thể giải thích là do thành phần carbohydrate của tòi tươi đã bị thay đổi đáng kể, chủ yếu là hàm lượng đường trong tòi đen tăng lên vì có sự thủy phân fructan bởi nhiệt và enzyme fructan exohydrolase tạo thành monosaccharide (chủ yếu là glucose và fructose) [14]. Dưới tác dụng của nhiệt độ 70°C, độ ẩm của tòi giảm từ 54,2% đến 28,4% sau 16 ngày lên men. Việc giảm pH có liên quan đến cơ chế quá trình hóa nâu dưới tác dụng của nhiệt [12]. Dưới tác dụng của nhiệt độ lên men 70°C, các phản ứng không có enzyme bao gồm phản ứng Maillard và có thể cả quá trình caramen hóa, kết quả là đã tạo thành các acid carboxylic và diễn ra quá trình oxy hóa hóa học các hợp chất phenol thành acid phenolic [12, 13]. Chính hàm lượng acid cao đã làm giảm pH và tạo thay đổi sinh hóa, góp phần tạo nên màu sắc và hương vị đặc trưng của tòi đen. Hơn nữa, pH có liên quan đến sự phát triển của vi sinh vật. Nếu pH < 4,3 thì hầu hết các vi khuẩn không thể phát triển được, ngoại trừ vi khuẩn lactic, một số loại nấm men và nấm mốc có thể phát triển ở pH < 4,3 [12]. Ngoài ra các bào tử vi khuẩn sẽ bị tiêu diệt nếu xử lý ở nhiệt độ cao và môi trường acid. Vì vậy trong nghiên cứu này, tòi lên men ở nhiệt độ 70°C trong ngày 16 có pH = 4,2 có thể ổn định hơn về mặt sinh học và hạn chế được sự phát triển của một số vi sinh vật.

Qua kết quả nghiên cứu về chỉ tiêu hóa lý và màu sắc của tòi có thể thấy thời gian lên men 16 ngày đã tạo ra sản phẩm tòi có màu đen, có độ ẩm giảm, pH giảm và tổng chất rắn hoà tan tăng, dự đoán tạo vị chua ngọt cho tòi đen.

3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của loại bia ngâm trước lên men đến chất lượng tòi đen

Tiến hành lên men tòi đen như sơ đồ Hình 2, ngâm với ba loại bia, sau đó lên men ở 70°C trong 16 ngày. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của loại bia ngâm ảnh hưởng đến chỉ tiêu cảm quan được biểu diễn ở Bảng 2 (đánh giá bằng phương pháp mô tả đặc tính). Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của loại bia ngâm trước đến chỉ tiêu hoá lý và hàm lượng chất có hoạt tính sinh học của sản phẩm tòi đen được trình bày ở Bảng 3, Bảng 4 và Bảng 5.

Dựa vào Bảng 3, có thể thấy tòi được ngâm trong ba loại bia đã tạo ra sản phẩm tòi đen khác nhau về giá trị cảm quan (được xác định bằng phương pháp mô tả đặc tính). Trong các loại bia thì bia Huda tạo ra sản phẩm tòi đen có chất lượng cảm quan tốt nhất và có sự khác biệt về vị so với hai loại bia còn lại. Tất cả các sản phẩm tòi đen đều không có mùi khó chịu như tòi tươi. Điều này có thể giải thích là do trong quá trình lên men, dưới tác dụng của nhiệt độ 70°C hợp chất chứa lưu huỳnh alliin trong tòi được biến đổi và phân hủy thành allixin. Allixin chuyển hóa thành S-Allcysteine có mùi nhẹ, làm giảm mùi hăng của lưu huỳnh, thay vào đó là mùi thơm dễ chịu, hài hòa, có khả năng chống oxy hoá [13, 14].

Bảng 3. Ảnh hưởng của loại bia đến chỉ tiêu cảm quan của tòi đen

Loại bia	Màu sắc	Mùi	Vị	Trạng thái
Heniken bạc	Màu đen	Thơm dễ chịu	Chua, ít ngọt	Tòi còn nguyên củ, vỏ tòi màu sáng, khô ráo, cứng chắc. Ruột tòi mềm dẻo
Larue	Màu đen	Thơm dễ chịu	Ngọt đậm, chua nhẹ	Tòi còn nguyên củ, vỏ tòi màu sáng, khô ráo, cứng chắc. Ruột tòi mềm nát
Huda	Màu đen	Thơm dễ chịu	Chua ngọt hài hòa	Tòi còn nguyên củ, vỏ tòi màu sáng, khô ráo, cứng chắc. Ruột tòi mềm dẻo

Bảng 4. Ảnh hưởng của loại bia ngâm đến các chỉ tiêu hóa lý của tòi đen

Chỉ tiêu	Loại bia	Ngày				
		0	4	8	12	16
pH	Heineken	6,6 ± 0,2 ^{Aa}	5,6 ± 0,1 ^{Ba}	5,1 ± 0,1 ^{Ca}	4,6 ± 0,1 ^{Da}	4,0 ± 0,2 ^{Eb}
	Larue	6,6 ± 0,2 ^{Aa}	5,5 ± 0,3 ^{Ba}	5,3 ± 0,1 ^{Ba}	4,7 ± 0,2 ^{Ca}	4,4 ± 0,1 ^{Ca}
	Huda	6,6 ± 0,2 ^{Aa}	5,4 ± 0,4 ^{Ba}	5,2 ± 0,1 ^{BCa}	4,6 ± 0,2 ^{CDa}	4,2 ± 0,1 ^{Dab}
°Brix	Heineken	4,0 ± 0 ^{Ca}	7,1 ± 0,9 ^{Bab}	8 ± 0,4 ^{Ba}	8,6 ± 0,7 ^{ABa}	9,8 ± 0,6 ^{Ab}
	Larue	4,0 ± 0,2 ^{Da}	5,4 ± 0,6 ^{CDb}	6,1 ± 0,9 ^{Cc}	9,4 ± 0,5 ^{Ba}	12,3 ± 0,8 ^{Aa}
	Huda	4,0 ± 0,2 ^{Ca}	7,3 ± 0,5 ^{Ba}	7,4 ± 0,6 ^{Bab}	8,4 ± 0,8 ^{Ba}	11,5 ± 0,5 ^{Aa}

Ghi chú: Các chữ cái thường (a, b, c và d) thể hiện sự khác nhau có nghĩa trong cùng một cột và các chữ cái in hoa (A, B, C, D, E) thể hiện sự khác nhau có nghĩa trong cùng một hàng ($p < 0,05$).

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy có sự thay đổi pH và tổng chất rắn hoà tan của các mẫu trong thời gian lên men. Nhìn chung, pH của các mẫu tòi đều giảm dần theo thời gian lên men, trong đó pH của mẫu ngâm bia Heniken giảm nhiều hơn làm cho sản phẩm có vị chua nhiều, mẫu bia Larue có pH giảm ít nên chua nhẹ. Hàm lượng chất rắn hoà tan của mẫu tòi đều tăng trong quá trình lên men, đặc biệt mẫu tòi ngâm trong bia Larue có hàm lượng chất rắn hoà tan tăng khoảng 3 lần so với tòi nguyên liệu nên sản phẩm có vị ngọt đậm hơn so với 2 loại bia còn lại, cũng có thể do quá trình thủy phân diễn ra mạnh nên ruột tòi của mẫu ngâm bia Larue bị mềm nát như kết quả đánh giá cảm quan.

Bảng 5. Ảnh hưởng của loại bia ngâm đến hàm lượng phenolic của tòi đen, đơn vị: mg GAE/g

Bia	Ngày	Ngày				
		0	4	8	12	16
Heineken		3,51 ± 0,1 ^{Ba}	3,71 ± 0,15 ^{Ba}	4,12 ± 0,11 ^{Aa}	4,22 ± 0,17 ^{Aa}	4,15 ± 0,11 ^{Aa}
Larue		3,51 ± 0,18 ^{Ca}	3,62 ± 0,12 ^{Ca}	3,82 ± 0,12 ^{BCab}	4,16 ± 0,12 ^{ABa}	4,26 ± 0,14 ^{Aa}
Huda		3,51 ± 0,18 ^{Ba}	3,63 ± 0,12 ^{Ba}	3,69 ± 0,13 ^{Bb}	3,78 ± 0,14 ^{Bb}	4,34 ± 0,13 ^{Aa}

Ghi chú: Các chữ cái thường (a, b, c) thể hiện sự khác nhau có nghĩa trong cùng một cột và các chữ cái in hoa (A, B, C) thể hiện sự khác nhau có nghĩa trong cùng một hàng ($p < 0,05$).

Bảng 6. Ảnh hưởng của loại bia ngâm đến hàm lượng flavonoid của tòi đen, đơn vị: mg QE/g

Ngày Bia	0	4	8	12	16
Heniken	6,69 ± 0,3 ^{Aa}	6,73 ± 0,25 ^{Aa}	6,84 ± 0,32 ^{Aa}	6,91 ± 0,37 ^{Aa}	6,89 ± 0,2 ^{Aa}
Larue	6,69 ± 0,33 ^{Aa}	6,69 ± 0,22 ^{Aa}	6,75 ± 0,35 ^{Aa}	6,84 ± 0,29 ^{Aa}	6,89 ± 0,32 ^{Aa}
Huda	6,69 ± 0,33 ^{Aa}	6,7 ± 0,26 ^{Aa}	6,72 ± 0,33 ^{Aa}	6,86 ± 0,36 ^{Aa}	6,99 ± 0,35 ^{Aa}

Ghi chú: Chữ cái thường (a) thể hiện sự khác nhau có nghĩa trong cùng một cột và chữ cái in hoa (A) thể hiện sự khác nhau có nghĩa trong cùng một hàng ($p < 0,05$).

Kết quả ở Bảng 5 và 6 cho thấy, cả ba mẫu tòi đen đã được ngâm bằng ba loại bia khác nhau đều có hàm lượng phenolic tăng so với tòi ban đầu nhưng hàm lượng flavonoid thì không thay đổi. Trong 3 loại mẫu thì mẫu tòi đen ngâm bia Huda có hàm lượng phenolic cao nhất. Hàm lượng phenolic tăng là do nhiệt độ lên men 70°C làm cấu trúc cellulose của tế bào thực vật bị phá vỡ, tạo điều kiện giải phóng các hợp chất phenolic tự do đồng thời giảm liên kết este, glycoside và dạng liên kết este dẫn đến sự gia tăng các dạng phenol tự do. Hàm lượng của nó thay đổi phụ thuộc vào nhiệt độ, thời gian và mức độ lên men [17-19]. Tuy nhiên, hàm lượng flavonoid giữ nguyên trong thời gian lên men bởi vì hàm lượng flavonoid tăng do được giải phóng từ tế bào thực vật bởi nhiệt nhưng trong quá trình lên men dưới tác dụng của các điều kiện như pH thấp và nhiệt độ 70°C làm cho hợp chất flavonoid phân giải một phần do đó tính tổng thể thì hàm lượng flavonoid không tăng trong suốt quá trình lên men [17-19].

Các kết quả trên đây cho thấy loại bia ngâm có ảnh hưởng đến tính chất hoá lý, hàm lượng phenolic và flavonoid của tòi đen. Có thể giải thích là do hàm lượng rượu etylic trong bia khác nhau (Bia Huda 4,7%; bia Heineken 4% và bia Larue 4,2%) ảnh hưởng đến khả năng thủy phân của enzyme fructan exohydrolase; hàm lượng acid amin, hàm lượng acid nicotinic trong bia khác nhau do đó ảnh hưởng đến cường độ phản ứng Maillard, phản ứng thủy phân các liên kết trong tòi. Tòi được ngâm trong bia Huda có chỉ tiêu cảm quan và tính chất hoá lý, hàm lượng chất có hoạt tính sinh học tốt nhất nên chọn bia Huda cho nghiên cứu tiếp theo.

3.4. Khảo sát sự thay đổi của các chất có hoạt tính sinh học của tòi đen trong thời gian bảo quản

Kết quả khảo sát sự thay đổi hàm lượng của các chất có hoạt tính sinh học của tòi đen là phenolic và flavonoid trong thời gian bảo quản được biểu diễn ở Bảng 7.

Kết quả ở Bảng 7 cho thấy hàm lượng phenolic và flavonoid của tòi đen không thay đổi trong thời gian bảo quản 30 ngày khi bảo quản trong túi zip và hũ thủy tinh. Điều này chứng tỏ hai loại bao bì này có khả năng thẩm oxy thấp nên duy trì được thành phần phenolic và flavonoid trong thời gian bảo quản 30 ngày. Về nguyên tắc, vật liệu nào có khả năng thẩm oxy ít hơn sẽ duy trì được hàm lượng chất chống oxy hoá như phenolic và flavonoid cao hơn trong quá trình bảo quản [12]. Do thời gian bảo quản tương

đôi ngắn nên nghiên cứu này đã chưa đánh giá hết được ảnh hưởng của loại bao bì đến hàm lượng chất có hoạt tính sinh học của tòi đen.

Bảng 7. Hàm lượng phenolic và flavonoid của tòi đen trong thời gian bảo quản bằng túi zip và hũ thủy tinh

Thời gian bảo quản (ngày)	Túi zip		Hũ thủy tinh	
	Phenolic (mg GAE/g)	Flavonoid (mg QE/g)	Phenolic (mg GAE/g)	Flavonoid (mg QE/g)
0	4,34±0,13 ^a	6,99±0,3 ^a	4,34±0,13 ^a	6,99±0,32 ^a
10	4,21±0,12 ^a	6,88±0,3 ^a	4,2±0,14 ^a	6,85±0,34 ^a
20	4,18±0,10 ^a	6,81±0,29 ^a	4,19±0,12 ^a	6,79±0,28 ^a
30	4,16±0,11 ^a	6,79±0,34 ^a	4,13±0,12 ^a	6,76±0,31 ^a

Ghi chú: Chữ cái thể hiện sự khác nhau có nghĩa trong cùng một cột ($p < 0,05$)

3.5. Đề xuất quy trình sản xuất tòi đen

Từ các kết quả thu được ở trên, nghiên cứu đã xác định được các yếu tố như nhiệt độ, thời gian, loại bia thích hợp cho quá trình lên men tòi đen. Trên cơ sở đó, đề xuất quy trình sản xuất tòi đen như Hình 5.

3.5.1. Thuyết minh quy trình

a. Nguyên liệu

Tòi sử dụng để lên men là giống tòi tím Hà Nội. Tòi được lựa chọn và phân loại theo nguyên tắc chọn những củ to tròn, chắc, vỏ tím trắng, không mọc mầm, không hư hỏng, dập nát, củ tòi khô.

b. Xử lý

Tòi nguyên liệu sau khi mua về được làm sạch bụi bẩn, bóc 1 – 2 lớp vỏ lụa bên ngoài. Cắt bỏ rễ, cuống nếu quá dài. Sau khi sơ chế xong, ngâm tòi với bia với tỉ lệ 1kg/1 lon. Trong thời gian 20 phút, cứ 5 phút đảo một lần, mục đích giúp cho tòi tiếp xúc với bia triệt để. Vớt tòi ra để ráo 5 phút, xếp đều tòi trong giấy bạc gói lại thật kín.

c. Ủ (Lên men)

Tòi sau khi được xử lý, được đưa vào tủ sấy ở điều kiện nhiệt độ 70°C, ủ trong 16 ngày đêm. Tòi sẽ chuyển dần từ màu trắng sang nâu, cuối cùng là đen.

d. Bóc vỏ

Tòi sau 16 ngày lên men, tiến hành bóc lớp vỏ bên ngoài bằng tay.

e. Sấy

Đề thuận tiện trong quá trình bảo quản, tiến hành sấy tòi đen ở 70°C trong vòng 24 giờ.

f. Bao gói

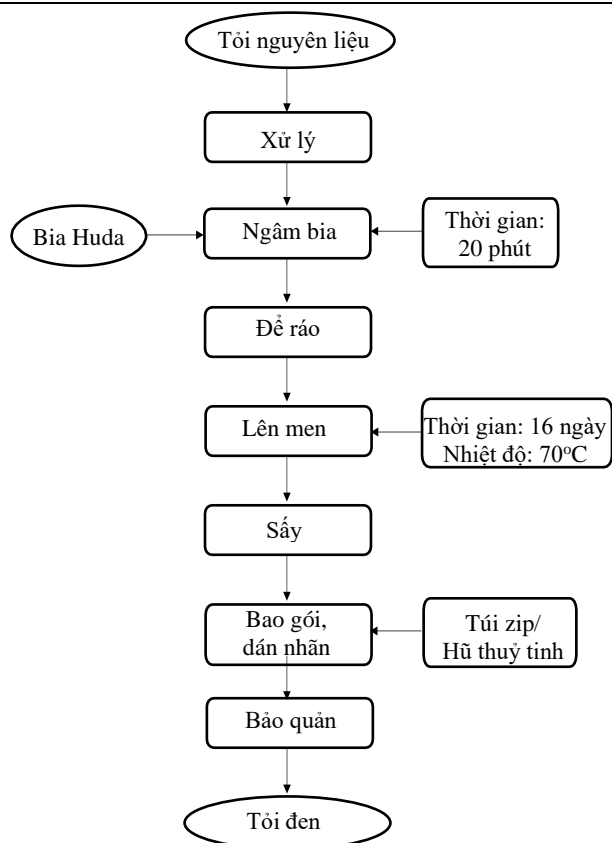
Sau khi sấy khô, tòi được để nguội và cho vào túi zip PE hoặc hũ thủy tinh để bảo quản.

h. Bảo quản

Tòi đen sau khi đóng gói được bảo quản ở nhiệt độ phòng 25°C.

i. Thành phẩm

Tòi đen có vị chua ngọt hài hoà, có mùi thơm nhẹ của thuốc bắc, dễ chịu, có cấu trúc dẻo, mịn và đàn hồi.



Hình 5. Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất và bảo quản tỏi đen



Hình 6. Hình ảnh sản phẩm tỏi đen

4. Kết luận

Bài báo đã nghiên cứu được các thông số công nghệ tốt nhất để lên men tỏi đen là nhiệt độ lên men 70°C, thời gian lên men 16 ngày, loại bia thích hợp để ngâm là Huda. Sản phẩm tỏi đen tạo thành có vị chua ngọt, có mùi thơm nhẹ, dễ chịu, có cấu trúc dẻo. Kết quả xác định hàm lượng chất có hoạt tính sinh học của tỏi đen cho thấy hàm lượng phenolic tăng và hàm lượng flavonoid không thay đổi so với tỏi tươi. Hàm lượng phenolic trong tỏi đen là 4,34 mg GAE/g so với hàm lượng phenolic 3,51 mg GAE/g trong tỏi tươi. Khi bảo quản tỏi đen bằng túi zip và hũ thủy tinh trong 30 ngày, hàm lượng phenolic, flavonoid của tỏi đen vẫn không thay đổi. Như vậy, nghiên cứu này đã xác định được một số thông số công nghệ để lên men tỏi đen và bước đầu đánh giá hàm lượng chất có hoạt tính sinh học (phenolic, flavonoid) của tỏi đen trong thời gian bảo quản.

- [1] Z. Qiu, B. Zhang, D. S. Waterhouse, and X. Qiao, "Formation, nutritional value, and enhancement of characteristic components in black garlic: A review for maximizing the goodness to humans", *Compr Rev Food Sci Food Saf.*, Vol. 19, No. 2, pp. 1–34, 2020. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12529>
- [2] H. Kimura, Y.C.Tung, M.H. Pan, N.W. Su, Y.J. Lai, and K.C. Cheng, "Black garlic: A critical review of its production, bioactivity, and application", *J Food Drug Anal.*, Vol. 25, No. 1, pp. 62–70, 2017.
- [3] T. Ahmed and C. K. Wang, "Black Garlic and Its Bioactive Compounds on Human Health Diseases: A Review", *Molecules*, Vol. 26, No. 16, pp. 1-38, 2021.
- [4] Committee for Ethnic Minority, "Market price information No. 16/2021", Affairs Electronic information portal of the Committee for Ethnic Minority Affairs, April 20th, 2021, [Online]. Available: <http://www.cema.gov.vn/tin-tuc/tin-tuc-su-kien/thong-tin-thi-truong-gia-ca/thong-tin-thi-truong-gia-ca-No.16-2021.htm> [Accessed March 15th, 2023]
- [5] X. Zhang, N. Li, X. Lu, P. Liu, and X. Qiao, "Effects of temperature on the quality of black garlic", *J Sci Food Agric*, Vol. 96, No. 7, pp. 2366 - 2372, 2016.
- [6] T. Lindriati, S. Sulistyani, M. Yunus, and S. Soekarno, "Effect of Duration and Temperature of Fermentation on Black Garlic Properties", *Adv. J. Food Sci. Technol.*, Vol. 17, No. 5, pp. 86–93, 2019.
- [7] N. T. Tinh *et al.*, "Study some factors affecting the fermentation process of black garlic from indigenous garlic varieties of Dong Mu Cao Bang", *TNU Journal of Science and Technology*, Vol. 194, No. 01, pp 67 - 74, 2019.
- [8] C. Yin, C. Huang, Jun Wang, Y. Liu, P. Lu, and L. Huang, "Effect of Chitosan- and Alginate-Based Coatings Enriched with Cinnamon Essential Oil Microcapsules to Improve the Postharvest Quality of Mangoes", *Materials*, Vol. 12, No. 2039, pp. 1-19, 2019.
- [9] Y. S. Wang, "Aged black garlic extract induces inhibition of gastric cancer cell growth in vitro and in vivo", *Mol Med Rep.*, Vol. 5, No. 1, pp. 66-72, 2012.
- [10] J. Zhishen, T. Mengcheng, and W. Jianming, "The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals", *Food chemistry*, Vol. 64, No. 4, pp.555-559, 1999.
- [11] J. Mamelon, P. Émilien, K. G. Lalancette, J. Legault, S. Karboune, and S. Kermasha, "Quantification of phenolic contents and antioxidant capacity of Atlantic sea cucumber, *Cucumaria frondosa*", *Food Chemistry*, Vol. 104, No. 3, pp. 1040-1047, 2007.
- [12] P. Sunanta, T. Pankasemsuk, K. J. T. Chaiyasoo, N. Leksawasdi, Y. Phimolsiripol, P. Rachtanapun, P. Seesuriyachan, and S. R. Sommano, "Does Curing Moisture Content Affect Black Garlic Physicochemical Quality?", *Horticulturae*, Vol. 7, No. 535, pp. 1-16, 2021.
- [13] H. Jing, "Black Garlic: Processing, Composition Change, and Bioactivity", *eFood*, Vol. 1, No. 3, p. 242–246, 2020.
- [14] S. E. Bae, S. Y. Cho, Y. D. Won, S. H. Lee, and H. J. P. Bae, "Changes in S-allyl cysteine contents and physicochemical properties of black and garlic during heat treatment", *LWT-Food Sci. Technol.*, Vol. 55, No. 1, pp. 397–402, 2014.
- [15] O. J. Kang, "Physicochemical Characteristics of Black Garlic after Different Thermal Processing Steps.", *Prev. Nutr. Food Sci.*, Vol. 21, No. 4, pp. 348–354, 2016.
- [16] S. Choi, H. S. Cha, and Y. S. Lee, "Physicochemical and antioxidant properties of black garlic", *Molecules*, Vol. 19, No. 10, pp. 16811–16823, 2014.
- [17] C. K. Leong, X. Shun-xin, and H. Xue-song., "Enzymologic characterization of garlic fructan exohydrolase", *J. Food Biochem.*, Vol. 36, No. 2, pp. 248-253, 2011.
- [18] M. Ichikawa, K. Ryu, J. Yoshida, N. Ide, S. Yoshida, T. Sasaoka, and S. I. Sumi, "Antioxidant effects of tetrahydro-P-carboline derivatives identified in aged garlic extract", *BioFactors*, Vol. 16, No. 3-4, pp. 57-72, 2002.
- [19] A. Sadowska and E. Hallmann, "Evaluation of Bioactive and Physicochemical Properties of White and Black Garlic (*Allium sativum* L.) from Conventional and Organic Cultivation.", *Appl. Sci.*, Vol. 11, No. 2, pp. 1-13, 2021.