

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG THỦY PHÂN DỊCH NHẢY HẠT CA CAO BẰNG CHẾ PHẨM PECTINEX ULTRA SP-L VÀ ỨNG DỤNG TRONG SẢN PHẨM LÊN MEN

Cao Xuân Thủy^{1*}, Đặng Thúy Mùi¹

¹ Khoa Du lịch và Ẩm thực, Trường Đại học Công Thương thành phố Hồ Chí Minh

*Email: thuycx@huit.edu.vn

TÓM TẮT

Ca cao là cây công nghiệp nhiệt đới có giá trị cao được trồng phổ biến ở miền Nam Việt Nam. Tuy nhiên, giá trị của trái ca cao chưa được khai thác triệt để, một trong những nguyên nhân dẫn đến điều này là hàm lượng pectin có trong dịch nhầy của quả ca cao. Nghiên cứu này khảo sát điều kiện thủy phân dịch nhầy ca cao bằng enzyme thương mại Pectinex Ultra SP-L ở các mức nhiệt độ ($40 \div 50^\circ\text{C}$), thời gian ($10 \div 40$ phút) và hàm lượng enzyme ($0,025 \div 0,1\%$) khác nhau. Đồng thời, nghiên cứu khảo sát các điều kiện lên men như: Thời gian lên men ($10 \div 40$ phút), mật độ nấm men ($10^5 \div 10^7$ tế bào/mL) và hàm lượng chất khô hòa tan ($16 \div 20^\circ\text{Bx}$). Kết quả cho thấy, ở nhiệt độ 45°C , thời gian 20 phút, hàm lượng enzyme 0,075% cho hiệu suất thu hồi 95% và độ truyền suốt 96,9%; dịch quả sau thủy phân có độ trong phù hợp để sản xuất nước uống và các sản phẩm lên men. Về điều kiện lên men, với thời gian lên men 60 giờ, mật độ tế bào nấm men 10^6CFU/mL , hàm lượng chất khô hoà tan 18°Bx sẽ có độ cồn đạt 2,9, điểm cảm quan 15,2 sản phẩm đạt loại khá. Kết quả của nghiên cứu góp phần bổ sung thêm về điều kiện sơ chế, chế biến nhằm nâng cao giá trị gia tăng từ trái ca cao.

Từ khóa: *Pectinex Ultra SP-L, độ truyền suốt, mật độ nấm men, hàm lượng chất khô.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ca cao là cây công nghiệp nhiệt đới có giá trị cao được trồng phổ biến ở các vùng Nam Trung bộ, Tây Nguyên, miền Đông Nam bộ và đồng bằng sông Cửu Long [1]. Tuy nhiên, lợi nhuận thu được từ cây ca cao chưa cao, hạt ca cao chưa đạt được chất lượng ổn định trong quá trình lên men. Ngoài ra, quá trình sản xuất chưa tận thu được phụ phẩm của ngành chế biến ca cao, làm ảnh hưởng đến chất lượng hạt ca cao trong quá trình lên men hạt và gây ô nhiễm môi trường.

Hiện nay, sô cô la và các loại thực phẩm có nguồn gốc từ ca cao được lấy từ hạt ca cao sau khi chế biến tại nông hộ và nhà máy sản xuất. Tuy nhiên, trong quá trình chế biến tại các đơn vị sản xuất, khoảng 80% quả ca cao bị loại bỏ dưới dạng sản phẩm phụ [2]. Chất nhầy bao quanh hạt ca cao có hàm lượng đường cao. Đây được xem là phụ phẩm của ngành chế biến ca cao hạt, có thể được sử dụng để sản xuất nhiều loại thức uống lên men

và không lên men. Theo Puerari và cs (2012) [3], cơm nhầy ca cao chứa $82 \div 87\%$ nước, $10 \div 15\%$ đường (trong đó chiếm khoảng 60% là đường saccharose và 39% là hỗn hợp đường glucose và fructose), $2 \div 3\%$ pentose, $1 \div 3\%$ axit citric, $1 \div 1,5\%$ pectin, các protein, axit amin, vitamin (chủ yếu là vitamin C) và thành phần muối khoáng (chủ yếu là canxi với 316,92 mg/100 g, kali, natri, kẽm, sắt và magie). Các thành phần này giúp cho cơm nhầy ca cao trở thành môi trường giàu dinh dưỡng cho vi sinh vật phát triển. Phần cơm nhầy này, ngay sau khi tách khỏi vỏ được chuyển vào các thùng lên men, sẽ dần dần chuyển thành dịch lỏng dưới tác động của hệ thống enzyme pectinase có sẵn trong quả ca cao, dịch nhầy sẽ lên men làm ảnh hưởng đến chất lượng hạt ca cao. Vì vậy, việc loại bỏ một phần dịch cơm nhầy là rất cần thiết để tăng giá trị cảm quan của hạt ca cao khi lên men. Dịch cơm nhầy được tận thu sản xuất nước uống lên men. Đặc điểm của nước uống lên men từ dịch cơm nhầy ca cao là thời gian lên men ngắn ($20 \div 72$

giò), sản phẩm có vị ngọt, độ cồn thấp ($3 \div 5\%$) [4], khi uống có cảm giác hơi tê ở đầu lưỡi do vẫn còn CO_2 trong quá trình lên men [5]. Theo Duarte và cs (2010) [4], nước uống lên men từ dịch cơm nhầy cao cho hương vị đặc biệt của trái cây, đó là mùi hương của táo xanh, chuối, kẹo ngọt, chanh, vani, hoa hồng và mật ong. Các polysaccharides chính của bã cao được báo cáo là pectin ($3,7 \div 6,6\%$), hemicellulose ($1,5 \div 2,8\%$) và cellulose ($4,7 \div 5,1\%$) với nồng độ lignin thấp [5]. Độ nhớt cao của bã cao chủ yếu là do pectin gây ra. Sự phân hủy của chúng trong quá trình lên men hạt cao do hoạt động của pectinase từ nấm men tạo ra [6]. Trong công nghệ chế biến thực phẩm, enzyme pectinase thường được sử dụng để sản xuất các loại sản phẩm như: Rượu vang, nước quả, nước quả cô đặc, mứt nhừ, mứt đông... Mục đích của việc sử dụng enzyme pectinase trong xử lý dịch nhầy cao ép là tăng độ trong của dịch quả, tăng hiệu suất thu hồi dịch, đảm bảo thủy phân hoàn toàn các protein và pectin. Ngăn cản quá trình oxy hóa và cản trở sự phát triển của vi sinh vật hiếu khí. Ngoài ra, việc xử lý enzyme còn tăng hiệu suất trích ly bán thành phẩm sau lên men.

Nghiên cứu này tập trung xác định khả năng thủy phân cơm nhầy cao bằng enzyme Pectinex Ultra SP-L, trong đó nhiệt độ thủy phân, thời gian thủy phân và hàm lượng enzyme được khảo sát dựa trên hàm mục tiêu là hiệu suất thu hồi (%), độ truyền suốt (%T) và độ màu (ΔE). Bên cạnh đó, các điều kiện lên men bao gồm: Thời gian lên men, mật độ tế bào nấm men, hàm lượng chất khô hoà tan cũng đã được khảo sát nhằm tìm ra thông số phù hợp cho quá trình lên men.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Dịch ép từ dịch nhầy hạt cao được cung cấp bởi Công ty TNHH Đầu tư Phát triển Nông nghiệp Nguyên Lộc, tỉnh Đồng Nai. Dịch ép được bảo quản lạnh và xử lý trong ngày. Sau đó, cấp đông nguyên liệu ở nhiệt độ -18°C đến khi tiến hành thí nghiệm.

Đường cát trắng Biên Hòa - Đồng Nai, enzym Pectinex Ultra SP-L với hoạt tính $> 60.000 \text{ U/g}$, do

Công ty TNHH Thương mại - Dịch vụ Nam Giang cung cấp. Nấm men *Pichia* spp. được phân lập trên trái cao tại Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Mỗi thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Số liệu thu thập được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và JMP Pro 17. Các thí nghiệm lần lượt được bố trí và tiến hành như sau:

2.2.1. Thí nghiệm 1: Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng thủy phân pectin trong dịch nhầy của quả cao

Chuẩn bị dịch nhầy cao sau khi tách khỏi vỏ và hạt sẽ được ép, lọc sau đó đóng 250 mL nước dịch ép vào các cốc thủy tinh bổ sung 0,05% enzyme Pectinex Ultra SP-L và ủ trong bể ổn nhiệt memmert (Đức) Model: WNB14 ở các khoảng nhiệt độ: 40°C , 45°C , 50°C [7] trong thời gian 30 phút. Sau đó, dịch nhầy cao sẽ được lọc và đánh giá hiệu quả thủy phân bằng cách lọc dịch, đóng lại thể tích nhằm tính toán hiệu suất thu hồi (%), màu sắc (L^* , a^* , b^* , ΔE), độ truyền suốt (%T) của dịch bằng máy quang phổ Uv-vis photoLab® 7600 (nhà sản xuất: WTW - Đức) với bước sóng 660 nm [8].

2.2.2. Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của thời gian đến khả năng thủy phân pectin trong dịch nhầy của quả cao

Dịch ép cao sau khi bổ sung 0,05% enzyme Pectinex Ultra SP-L, đem ủ trong máy ổn nhiệt ở nhiệt độ tối ưu từ thí nghiệm 1 trong các khoảng thời gian 10, 20, 30, 40 phút. Sau đó, dịch nhầy cao sẽ được lọc và đánh giá hiệu quả thủy phân bằng cách lọc dịch đóng lại thể tích nhằm tính toán hiệu suất thu hồi (%), màu sắc (L^* , a^* , b^* , ΔE) và độ truyền suốt (%T) của dịch bằng máy quang phổ Uv-vis photoLab® 7600 (nhà sản xuất: WTW - Đức) với bước sóng 660 nm [8].

2.2.3. Thí nghiệm 3: Khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng enzyme đến khả năng thủy phân pectin trong dịch nhầy của quả cao

Dịch ép cao sau khi lọc, được bổ sung hàm lượng enzyme Pectinex Ultra SP-L ở các mức:

0,025%, 0,05%, 0,075%, 0,10% và đem ủ trong bể ổn nhiệt memmert (Đức) Model: WNB14 ở nhiệt độ của thí nghiệm 1 trong khoảng thời gian tối ưu thí nghiệm 2. Sau đó, dịch nhầy ca cao sẽ được lọc và đánh giá hiệu quả thủy phân bằng cách lọc dịch đông lại thể tích nhằm tính toán hiệu suất thu hồi (%), màu sắc (L^* , a^* , b^* , ΔE) và độ truyền suốt (%T) của dịch bằng máy quang phổ Uv-vis photoLab® 7600 (nhà sản xuất: WTW - Đức) với bước sóng 660 nm.

2.2.4. Thí nghiệm 4: Khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng chất khô hòa tan tới khả năng lên men dịch nhầy ca cao

Nước dịch com nhầy ca cao được xử lý theo các thí nghiệm trên, sau đó được bổ sung nấm men với tỷ lệ là 5% (v/v), bổ sung đường saccharose vào dịch ca cao đến khi đạt hàm lượng chất khô 16: 18: 20°Bx [9]. Nước dịch com nhầy ca cao được tiến hành lên men ở 48 giờ trong điều kiện yếm khí ở nhiệt độ phòng, sau lên men, tiến hành đóng chai và thanh trùng ở nhiệt độ 80°C trong 15 phút. Sau đó, tiến hành đánh giá các chỉ tiêu: Hàm lượng chất khô hòa tan, độ cồn, chỉ tiêu cảm quan về trạng thái, màu sắc, mùi vị của sản phẩm.

2.2.5. Thí nghiệm 5: Khảo sát ảnh hưởng của mật độ nấm men tới khả năng lên men dịch nhầy ca cao

Nước dịch com nhầy ca cao được xử lý theo các thí nghiệm trên và được bổ sung nấm men với mật độ bao gồm: 10^5 , 10^6 , 10^7 tế bào/mL [9], bổ sung đường saccharose để dịch ca cao đạt hàm lượng chất khô như được xác định ở thí nghiệm 4. Điều kiện lên men, thanh trùng và các chỉ tiêu theo dõi được thực hiện tương tự thí nghiệm 4.

2.2.6. Thí nghiệm 6: Khảo sát ảnh hưởng của thời gian lên men tới khả năng lên men dịch nhầy ca cao

Nước dịch com nhầy ca cao được xử lý theo thí nghiệm trên và được bổ sung đường saccharose để dịch ca cao theo kết quả tối ưu của thí nghiệm 4, hàm lượng nấm men với mật độ nấm men là kết quả của thí nghiệm 5. Sau đó, dịch com nhầy ca cao sẽ được lên men với thời gian lên men: 24 ÷ 96 giờ. Điều kiện lên men, thanh trùng và các chỉ tiêu

theo dõi được thực hiện tương tự thí nghiệm 4.

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Xác định nồng độ chất khô hòa tan

Sử dụng khúc xạ kế Atago loại có giới hạn đo $0 \div 32^\circ\text{Bx}$. Dùng nước cất rửa bề mặt lăng kính và lau khô bằng giấy thấm. Nhỏ giọt nước cất để chỉnh nồng độ về 0. Lấy 1 giọt dung dịch cần đo và cho lên mặt kính đặt nắp kính lại. Quan sát và đọc số bằng vạch phân chia vùng sáng và tối trên thang đo, sau đó rửa kính bằng nước cất và lau khô bằng giấy thấm.

2.3.2. Phương pháp xác định hàm lượng ethanol

Hàm lượng ethanol được xác định theo TCVN 6429: 2007 [10].

Trích ly ethanol: Pha loãng mẫu thử (thể tích của mẫu thử sao cho lượng ethanol thu được trong 100 mL dịch cất hơn 1 g) với khoảng 50 mL nước và chuyển toàn bộ khối lượng vào bình cầu của dụng cụ cất. Tráng rửa bình đựng phần mẫu thử bằng nước không quá 120 mL, thu lấy nước rửa cho vào bình cầu. Điều chỉnh cho sản phẩm có độ kiềm nhẹ (pH đến 8 ± 2) bằng canxi hydroxit huyền phù (110 ÷ 112 g canxi oxit/1 lít nước), lắc đều trước khi dùng.

Cho thêm các hạt thủy tinh hoặc các mảnh sứ để khống chế mức độ sôi. Rót 10 mL nước vào một bình định mức dung tích 100 mL và lắp vào ống sinh hàn để đuôi ống ngập vào trong nước. Chung cất phần mẫu thử đã pha loãng (đã điều chỉnh độ kiềm) sao cho dịch cất chảy vào bình định mức có nhiệt độ tương đối thấp ($15 \div 20^\circ\text{C}$). Lấy khoảng từ 80 ÷ 85 mL dịch cất, ngưng cất và rửa ống ngưng và phần đuôi bằng một vài mL nước. Lắc đều dịch cất trong bình định mức. Nếu cần, có thể ngâm bình định mức vào nước lạnh ($15 \div 20^\circ\text{C}$) trong ít phút. Pha loãng lượng dịch cất trong bình định mức đến vạch bằng nước và lắc đều.

2.3.3. Phương pháp đo màu

Cách tiến hành: Lắc đều dịch trước khi đo, thực hiện lấy 3 mẫu một cách ngẫu nhiên, đại diện, lặp lại 3 lần đo trên mỗi mẫu để lấy giá trị trung bình. Nước dịch com nhầy được cho vào đĩa petri trong suốt để đo màu được thuận tiện và đồng nhất.

Số liệu thu được gồm: L^* , a^* , b^* , ΔE^*

Giá trị L^* biểu thị cho độ sáng nằm từ 0 (đen hoàn toàn) đến 100 (trắng hoàn toàn). Giá trị a^* và b^* biểu thị giá trị của độ bão hòa tương ứng với trục màu đỏ - xanh lá và màu vàng - xanh dương. Giá trị a^* dương chỉ màu sắc thuộc tông màu đỏ và giá trị âm chỉ tông màu xanh lá. Giá trị b^* dương chỉ tông màu vàng và giá trị âm chỉ tông màu xanh dương.

$$\Delta E^* = \sqrt{(L^* - L_1)^2 + (a^* - a_1)^2 + (b^* - b_1)^2}$$

Trong đó:

L^* , a^* , b^* : Giá trị đo màu được ở nước dịch nhầy.

L_1 , a_1 , b_1 : Giá trị đo màu của mẫu chuẩn.

2.3.4. Xác định độ truyền suốt

Phương pháp đo độ truyền suốt dựa trên việc đo cường độ dòng ánh sáng bị hấp thụ hoặc bị khuếch tán bởi hệ keo được điều chế từ chất cần phân tích. Đo bằng máy quang phổ UV - VIS photoLab® 7600 (nhà sản xuất: WTW - Đức) ở

bước sóng 660 nm [8]. Chuẩn bị dịch nhầy ca cao sau khi được xử lý, ép, lọc. Điều chỉnh các thông số cần khảo sát. Sau đó, lọc dịch và tiến hành đánh giá hiệu quả bằng phương pháp đo quang phổ ở bước sóng $\lambda = 660$ nm.

Tính kết quả:

$$\%T = 100 \cdot 10^{-A}$$

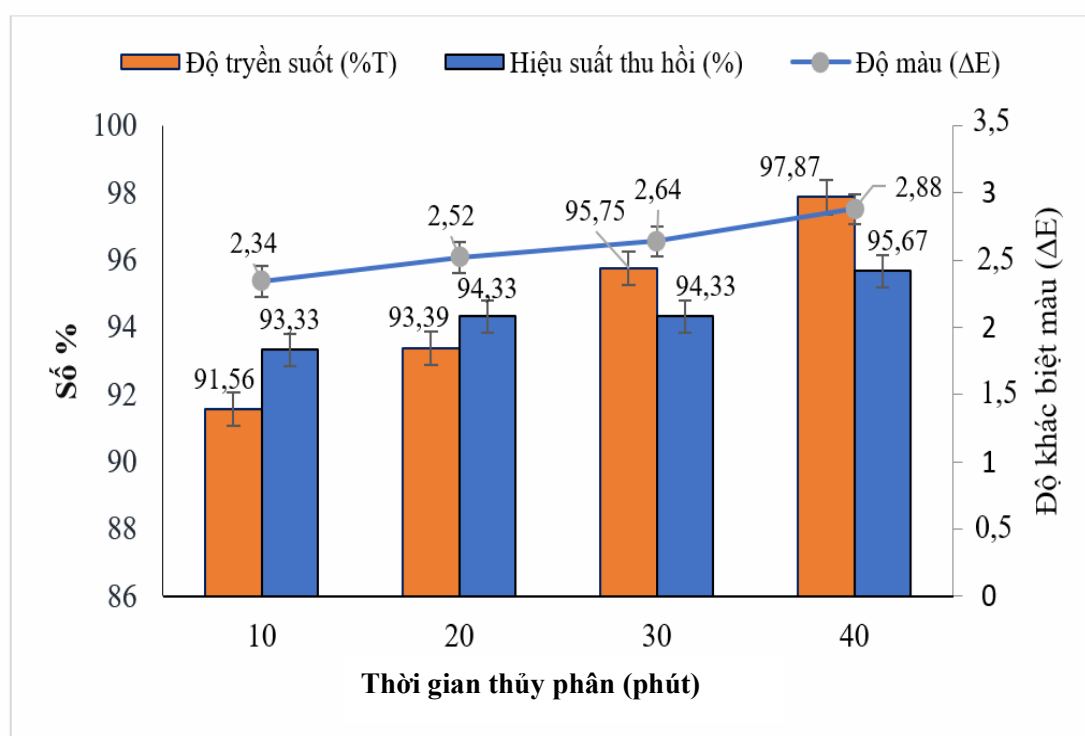
Trong đó: A là độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 660 nm.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Xử lý thống kê được thực hiện bằng phần mềm JMP Pro 17, sử dụng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định Tukey's range để đánh giá sự khác biệt giữa các mẫu ($p < 0,05$), phần mềm Microsoft Excel 2019 được sử dụng để tính toán các số liệu, vẽ đồ thị.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát quá trình thủy phân pectin bằng enzym Pectinex Ultra SP-L



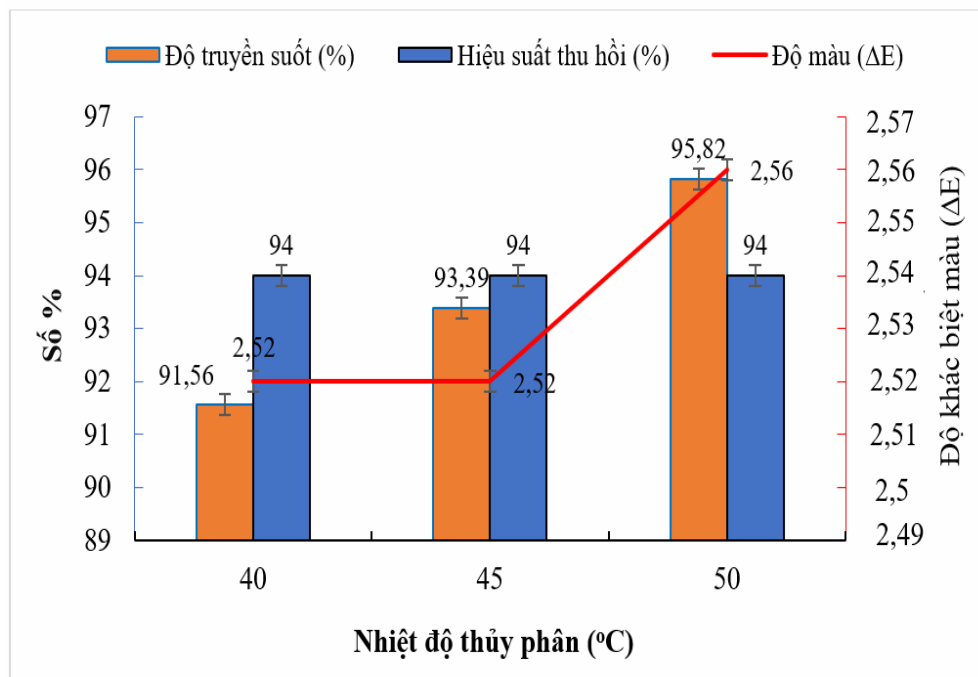
Hình 1. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian đến khả năng thủy phân dịch nhầy ca cao bằng enzyme Pectinex Ultra SP-L được thể hiện ở hình 1 cho thấy, khi tăng thời gian thủy phân dẫn tới độ

truyền suốt (%), hiệu suất thu hồi (%), độ khác biệt màu (ΔE) đều tăng. Cụ thể, độ truyền suốt tăng từ 91,56 - 97,86% và sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở các mức khảo sát ($p < 0,05$); độ khác biệt màu (ΔE) tăng từ 2,34 - 2,88, hiệu suất thu hồi tăng từ 93,33 - 95,67%. Trong quá trình thủy phân dịch quả, enzyme Pectinex Ultra SP-L có thể đã làm đứt gãy pectin, cellulose từ đó phá vỡ thành tế bào thực vật, điều này dẫn đến tăng khả năng giải phóng dịch quả cũng như các chất hòa tan [11].

Tuy nhiên, ở mức thời gian khảo sát 20 phút và 30 phút, hiệu suất thu hồi tăng không có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$), đồng thời khi thời gian thủy phân vượt quá 20 phút tuy có sự

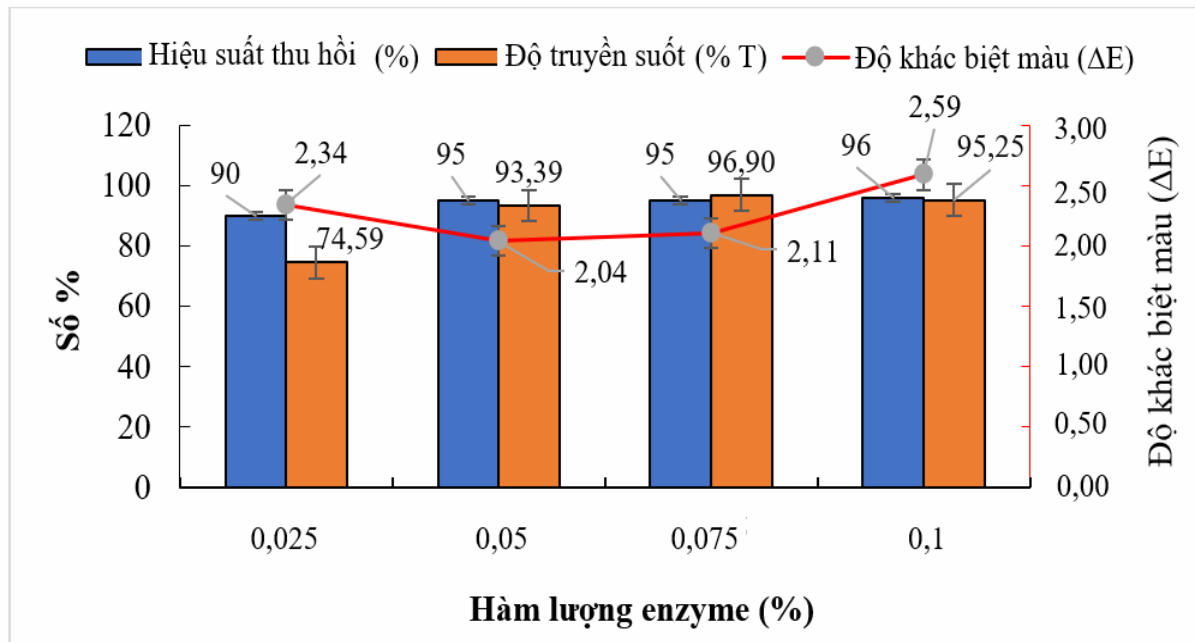
chênh lệch giữa các chỉ tiêu theo dõi (độ truyền suốt, độ màu) nhưng ở mức không đáng kể. Nguyên nhân có thể lúc này, lượng enzyme đã không còn đủ để phản ứng với cơ chất, do đó không có sự thay đổi nhiều về giá trị ở các chỉ số khảo sát [12]. Xét trên yếu tố công nghệ và kinh tế khi áp dụng ở điều kiện thực tế, nghiên cứu chọn 20 phút là thời gian phù hợp để tiến hành thủy phân dịch nhầy ca cao bằng enzyme Pectinex Ultra SP-L. Kết quả trên tương đồng với kết quả nghiên cứu của Rai và cs (2004) [8], theo đó thời gian từ 20 ÷ 22 phút là thời gian phù hợp để tiến hành thủy phân dịch nhầy ca cao bằng enzyme Pectinex Ultra SP-L.



Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ thủy phân

Sự ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng thủy phân dịch nhầy ca cao bằng enzyme Pectinex Ultra SP-L được thể hiện ở hình 2. Kết quả cho thấy, không có sự khác biệt về hiệu suất thu hồi ở các mức khảo sát ($p > 0,05$). Khi tăng nhiệt độ thủy phân, độ truyền suốt có xu hướng tăng theo (từ 91,56 - 95,82%) và sự khác biệt này có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$). Nguyên nhân là do tốc độ phản ứng tỷ lệ thuận với nhiệt độ phản ứng, hơn nữa các phân tử enzyme có động năng lớn, tăng phản ứng giữa enzyme và cơ chất. Nhiệt độ tăng

làm giảm độ nhớt dịch quả, tăng khả năng phân tán của enzyme trong dịch quả, tăng cơ hội tiếp xúc giữa enzyme với cơ chất điều, này làm cho độ truyền suốt tăng [12]. Tuy nhiên, ở độ khác biệt màu sắc khi tăng nhiệt độ từ 40 - 45°C không có sự khác biệt màu sắc ΔE (mức 2,52). Khi nhiệt độ thủy phân tăng lên 50°C có sự thay đổi đáng kể về màu sắc ($p < 0,05$). Nguyên nhân có thể do nhiệt độ tăng cao dẫn tới làm gia tăng các phản ứng gây sậm màu dịch nhầy, từ đó có thể kết luận, nhiệt độ 45°C là phù hợp để thủy phân.



Hình 3. Ảnh hưởng của hàm lượng enzyme

Kết quả ở hình 3 cho thấy, về hiệu suất thu hồi, khi tăng hàm lượng enzyme làm tăng hiệu suất thu hồi (từ 90 - 96%). Tuy nhiên, khi hàm lượng vượt quá 0,05% thì không có sự khác biệt về hiệu suất thu hồi ở các mức khảo sát ($p > 0,05$). Độ truyền suốt có xu hướng tăng theo hàm lượng enzyme và cao nhất ở hàm lượng 0,075%, sau đó có xu hướng trở nên bão hòa và đi ngang. Phản ứng enzyme là phản ứng thuận nghịch, phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố, trong đó nồng độ enzyme có ảnh hưởng đặc biệt tới khả năng phân giải cơ chất của enzyme. Khi nồng độ enzyme quá lớn (bão hòa với nồng độ cơ chất), nếu tiếp tục tăng nồng độ enzyme thì vận tốc phản ứng tăng chậm hoặc không thay đổi.

Về màu sắc, có sự khác biệt có ý nghĩa ở mức khảo sát 0,1% so với các mức khảo sát còn lại ($p < 0,05$). Qua đó có thể kết luận hàm lượng enzyme ở mức 0,075% là phù hợp để sử dụng trong quá trình thủy phân dịch nhầy ca cao. Sử dụng enzyme trong sản xuất có thể coi là giải pháp tiến bộ có triển vọng trong sản xuất các loại rượu vang, đồ uống có cồn, đồ uống không cồn. Các kết quả trên phù hợp với kết quả nghiên cứu của Duarte và cs (2010) [4], Schwan và Wheals (2004) [6], theo đó khi tối ưu hóa quá trình sử dụng enzyme Pectinex Ultra SP-L trong quá trình thủy phân dịch nhầy ca

cao, hàm lượng enzyme ở mức 0,68 - 0,82% là phù hợp.

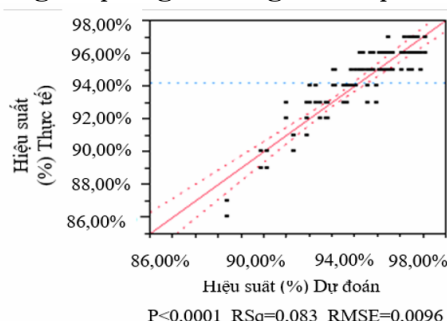
Kết quả phân tích ANOVA ở các yếu tố thí nghiệm với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$, R^2 và R hiệu chỉnh trong nghiên cứu không có sự sai khác đáng kể cho thấy, các số liệu thống kê có ý nghĩa thể hiện (Hình 4). Các nồng độ, nhiệt độ, thời gian thủy phân enzyme pectinase khác nhau có ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi, độ trong hay độ truyền suốt và màu sắc của dịch ép.

Các yếu tố thí nghiệm có ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi dịch, độ trong và màu sắc của dịch, thể hiện ở hình 5. Trong đó, hiệu suất thu hồi dịch và độ trong của dịch chịu ảnh hưởng bởi nồng độ enzyme Pectinex Ultra SP-L cao nhất, thời gian thủy phân ảnh hưởng nhiều đến màu sắc của dịch.

Hiệu suất thu hồi dịch khi xử lý bằng enzyme Pectinex Ultra SP-L chịu ảnh hưởng bởi các yếu tố: Nồng độ, nhiệt độ và thời gian thủy phân của enzyme. Lượng dịch thu được tăng khi tỷ lệ thuận với các yếu tố thí nghiệm nhưng khi nồng độ enzyme bão hòa với cơ chất thì vận tốc phản ứng không thay đổi. Nồng độ quá cao cũng không thu kết quả tốt, ngược lại dẫn đến tăng chi phí trong quá trình sản xuất. Phản ứng thủy phân enzyme cần có thời gian tối thiểu cho từng loại

enzym. Nhưng việc kéo dài thời gian cũng không tăng hiệu suất thu hồi mà còn bất lợi về thời gian. Ngược lại, thời gian quá ngắn không đủ cho phản

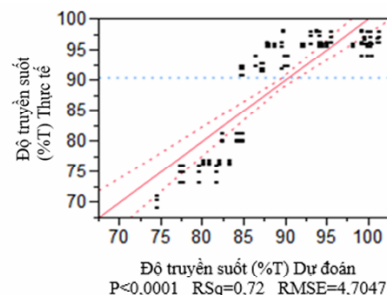
ứng thủy phân xảy ra lượng dịch thu được thấp, dịch còn đục.



Tóm tắt về sự phù hợp

R^2	0,828388
R^2_{Adj}	0,820873
Lỗi bình phương trung bình căn bậc hai	0,009572
Ý nghĩa của đáp ứng	0,942292

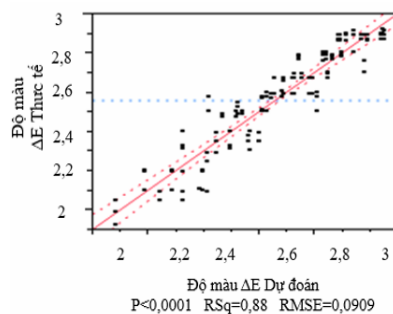
(a)



Tóm tắt về sự phù hợp

R^2	0,722432
R^2_{Adj}	0,710276
Lỗi bình phương trung bình căn bậc hai	4,704734
Ý nghĩa của đáp ứng	90,37481

(b)



Tóm tắt về sự phù hợp

R^2	0,882146
R^2_{Adj}	0,876985
Lỗi bình phương trung bình căn bậc hai	0,090879
Ý nghĩa của đáp ứng	2,558146

(c)

Hình 4. Đồ thị dự đoán kết quả về xử lý pectin bởi enzyme
(a) Hiệu suất thu hồi, (b) Độ truyền suốt, (c) Độ khác biệt màu ΔE



(a)

(b)

Hình 5. Dịch ca cao
(a) Dịch chưa xử lý enzyme, (b) Dịch đã xử lý enzyme

Ngoài ra, nhiệt độ thủy phân cũng ảnh hưởng đến hiệu suất và chất lượng của dịch quả. Khi tăng nhiệt độ thì hiệu suất thu hồi dịch, độ trong của dịch không tăng nhưng làm ảnh hưởng rất lớn đến màu sắc của dịch quả.

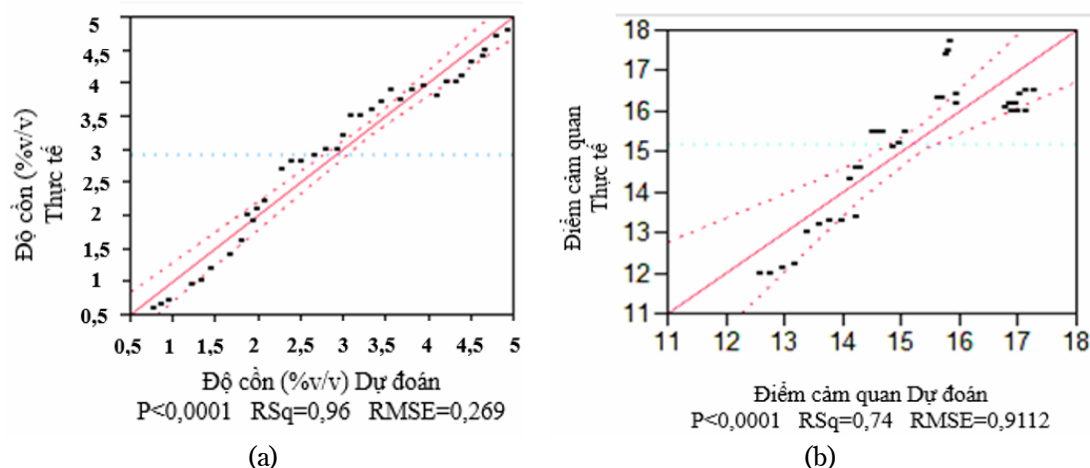
3.2. Kết quả ảnh hưởng của các điều kiện lên men đến chất lượng sản phẩm

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các điều kiện lên men tự do bao gồm: Mật độ tế bào nấm men $10^5 \div 10^7$ tế bào/mL, chất khô hòa tan $16 \div 20^\circ\text{Bx}$, thời gian lên men $24 \div 96$ giờ, với pH nguyên liệu 4,56, tỷ lệ nấm men 5% (cố định).

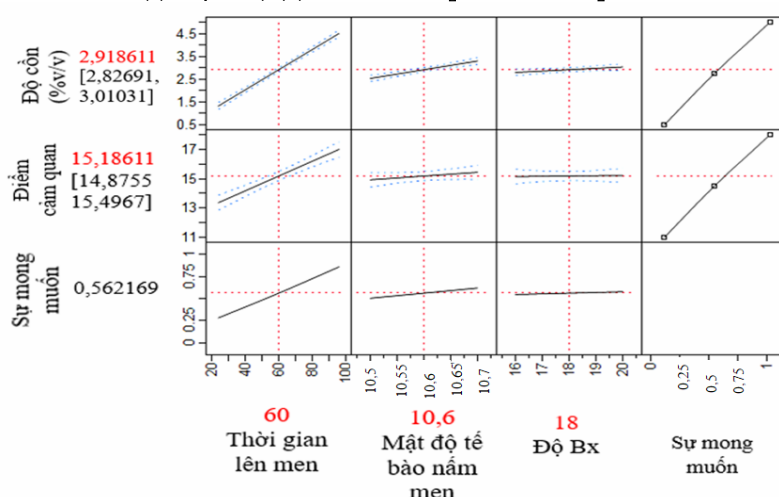
Kết quả, hình 6 cho thấy, hệ số tương quan của độ cồn và điểm cảm quan lần lượt là $R^2 = 0,96$

và $R^2 = 0,74$. Do đó, kết quả thực nghiệm và kết quả thực tế có sự tương thích với nhau với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$. Điều kiện ảnh hưởng nhiều nhất đến chất lượng nước lên men là yếu tố thời gian và mật độ tế bào nấm men. Độ Brix ảnh hưởng nhiều đến khả năng sinh cồn của quá trình lên men.

Thời gian lên men và mật độ nấm men càng lớn tạo ra độ cồn cao, hàm lượng chất khô hòa tan còn lại thấp làm ảnh hưởng đến điểm cảm quan của sản phẩm. Sản phẩm có vị đắng, mùi nồng, mất đi mùi tự nhiên của nguyên liệu. Ngoài ra, mật độ nấm men cao còn làm cho sản phẩm bị đục.



Hình 6. Đồ thị dự đoán kết quả về
(a) Độ cồn, (b) Điểm cảm quan của sản phẩm



Hình 7. Biểu đồ kết quả các thực nghiệm ảnh hưởng của các điều kiện lên men đến quá trình lên men tự do

Khi nồng độ chất khô hoà tan cao thì độ cồn càng tăng, tuy nhiên trong khoảng nồng độ từ 16 - 20°Bx nấm men còn khả năng cân bằng áp suất thẩm thấu với môi trường đến nồng độ 18°Bx lượng cồn sinh ra đạt cao nhất. Khi nồng độ tăng lên 20°Bx, lượng cồn có xu hướng giảm dần, nồng độ chất khô hoà tan còn lại sau lên men cao (12,5°Bx). Điều này chứng tỏ áp lực thẩm thấu từ dịch lên men bắt đầu ức chế quá trình hình thành màng tế bào nấm men [13]. Đây được gọi là hiện tượng co nguyên sinh chất. Riêng pH của dịch sau lên men không thay đổi nhiều $4,03 \pm 0,05$. Kết quả nghiên cứu này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Puerari và cs (2012) [3], Duarte và cs (2010) [4], Pettipher (1986) [5] khi khảo sát các điều kiện lên men hưởng đến chất lượng nước ca cao.

Kết quả xử lý số liệu thực nghiệm ở hình 7 cho thấy, với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$ và biểu đồ kết quả thực nghiệm nghiên cứu có thể kết luận điều kiện lên men như sau: Thời gian lên men 60 giờ, mật độ tế bào nấm men 10^6 CFU/mL, hàm lượng chất khô hoà tan 18°Bx. Với kết quả này cho điểm cảm quan 15,2 sản phẩm đạt loại khá, độ cồn đạt 2,9.

4. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu điều kiện thủy phân dịch nhầy ca cao bằng enzyme Pectinex Ultra SP-L ở nhiệt độ 45°C, thời gian 20 phút, hàm lượng enzyme 0,075% cho hiệu suất thu hồi cao, độ truyền suốt cao, dẫn tới dịch quả sau thủy phân có độ trong tốt, phù hợp để sản xuất nước uống và các sản phẩm lên men, đồng thời thời gian lên men 60 giờ, mật độ tế bào nấm men 10^6 CFU/mL, hàm lượng chất khô hoà tan 18°Bx. Với kết quả này cho điểm cảm quan 15,2 sản phẩm đạt loại khá, độ cồn đạt 2,9. Nghiên cứu hy vọng mở ra một hướng đi mới trong công nghiệp sản xuất đồ uống cũng như nâng cao giá trị cho trái ca cao. Các nghiên cứu tiếp theo có thể phối hợp dịch nhầy ca cao với một số loại trái cây như: Xoài, ổi làm phong phú thêm sự lựa chọn cho người tiêu dùng đồng thời tận dụng được ưu điểm vốn có của từng loại trái cây.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hồng Đức Phước (2009). *Kỹ thuật trồng ca cao ở Việt Nam*. Nxb nông Nghiệp.
2. Nieto, K. H., Mendoza, N. V., and Campos - Vega (2020). *Food wastes and by-products*. Wiley & Sons Ltd.
3. Puerari, C., Magalhães, K. T., and Schwan, R. F (2012). New cocoa pulp-based kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. *Food Research International*, 48(2), 634 - 40.
4. Duarte, W. F., Dias, D. R., Oliveira, J. M., Teixeira, J. A., de Almeida e Silva, J. B. and Schwan, R. F. (2010). Characterization of different fruit wines made from cacao, cupuassu, gabioba, jaboticaba and umbu. *LWT*, 43(10), 1564 - 1572.
5. Pettipher, G. L (1986). Analysis of cocoa pulp and the formulation of a standardised artificial cocoa pulp medium. *J Sci Food Agric*, 37(3), 297 - 309.
6. Schwan, R. F and Wheals, A. E (2004). The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 44(4), pp. 205 - 221.
7. Dias, D. R., Schwan, R. F., Freire, E. S and Dos Santos Serôdio, R. (2007). Elaboration of a fruit wine from cocoa (*Theobroma cacao* L.) pulp. *Int J Food Sci Technol*, 42(3), pp. 319 - 329.
8. Rai, P., Majumdar, G. C., DasGupta, S and De, S. (2004). Optimizing pectinase usage in pretreatment of mosambi juice for clarification by response surface methodology. *J Food Eng*, 64(3), pp. 397 - 403.
9. Ooi, T. S., Ting, A. S. Y and Siow, L. F (2020). Influence of selected native yeast starter cultures on the antioxidant activities, fermentation index and total soluble solids of Malaysia cocoa beans: A simulation study. *LWT*, 122(2), DOI:10.1016/j.lwt.2019.108977.
10. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 6429:2007. Sản phẩm rau quả - Xác định hàm lượng Etanol

11. Hoàng Quang Bình, Dương Thị Ngọc Diệp, Lê Thị Như và Mai Thanh Tòng (2020). Nghiên cứu điều kiện thủy phân dịch quả thanh long ruột đỏ (*Hylocereus polyrhizus*) và thử nghiệm lên men rượu. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 56(3B), p. 86 - 92.
12. Truong Bao Ngoc *et al.* (2024). Optimizing the hydrolysis of pectin in red dragon fruit using the pectinase enzyme. *Huit Journal of Science*, 24(4), 103, DOI:10.62985/j.huit_ojs.vol24.no4. 103
13. Yang, L. B., Zhan, X. B., Zheng, Z. Y., Wu, J. R., Gao, M. J and Lin, C. C (2014). A novel osmotic pressure control fed-batch fermentation strategy for improvement of erythritol production by *Yarrowia lipolytica* from glycerol. *Bioresour Technol*, 151, 120 - 127.

RESEARCH ON THE ABILITY TO HYDROLYZE COCOA BEAN MUCUS BY PECTINEX ULTRA SP AND ITS APPLICATION IN FERMENTED PRODUCTS

Cao Xuan Thuy¹, Dang Thuy Mui¹

¹ *Faculty of Tourism and Culinary, Ho Chi Minh city University of Industry and Trade (HUIT)*

Summary

Cocoa is a high-value tropical industrial tree that is commonly grown in southern Vietnam. However, the value of cocoa beans has not been fully exploited, one of the reasons for this is the pectin content in the mucus of cocoa berries. This study investigated the conditions of hydrolysis of cocoa mucus by Pectinex Ultra SP-L commercial enzyme at different temperature levels (40 ÷ 50°C), time (10 ÷ 40 minutes) and enzyme content (0.025 ÷ 0.1%). At the same time, the study investigated fermentation conditions such as fermentation time (10 - 40 minutes), yeast density (10⁵ ÷ 10⁷ cells/mL) and soluble dry matter content (16 ÷ 20 Bx). The results showed that at a temperature of 45°C, and a time of 20 minutes, the enzyme content of 0.075% gave a recovery efficiency of 95% and a throughput of 96.9%, and the fruit juice after hydrolysis had a clear consistency suitable for the production of drinking water and fermented products. Regarding fermentation conditions, with a fermentation time of 60 hours, yeast cell density of 10⁶CFU/mL, dissolved dry matter content of 18°Bx, the alcohol content will reach 2.9, the sensory score of 15.2 products will be good. The success of the study contributes to providing more understanding of preliminary processing and processing conditions to improve the added value of cocoa beans.

Keywords: *Pectinex Ultra SP-L enzyme, transmittance, yeast density, dry matter content.*

Ngày nhận bài: 14/11/2024

Ngày chuyển phản biện: 9/12/2024

Ngày thông qua phản biện: 25/12/2024

Ngày duyệt đăng: 6/01/2025