

KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ VÀ THỜI GIAN TRONG QUÁ TRÌNH LÊN MEN VÀ SẤY ĐẾN CHẤT LƯỢNG HẠT CA CAO TRỒNG TẠI ĐẮK LẮK

Lâm Thị Việt Hà¹, Phan Thị Bích Trâm¹, Trương Trọng Ngôn², Hà Thanh Toàn²

TÓM TẮT

Đề tài khảo sát sự thay đổi độ chua hạt (pH), hàm lượng axit, hàm lượng axit béo tự do (FFA) trong quá trình lên men hạt, đồng thời khảo sát điều kiện tối ưu của yếu tố nhiệt độ và thời gian trong quá trình sấy hạt ca cao trồng tại Eukar, Đắk Lắk. Lên men và sấy hạt là hai quá trình rất quan trọng ngay sau quá trình lên men hạt ca cao. Lên men giúp tiền sinh hương thơm ngon của các sản phẩm ca cao. Quá trình sấy giúp giảm vị đắng chát và tiền tố tạo màu nâu ca cao của các sản phẩm sô cô la, là quá trình quan trọng giúp bảo quản hạt khô. Khảo sát nhiệt độ lên men 40°C, 45°C, 50°C, 55°C trong thời gian từ 0 ngày đến 7 ngày. Kết quả ghi nhận hạt ca cao đạt chất lượng tốt nhất trong điều kiện lên men nhiệt độ 40°C trong thời gian 6 ngày, pH 5,93, hàm lượng FFAs ở mức thấp 0,30%. Kết quả tối ưu của quá trình lên men sử dụng cho nghiên cứu tiếp theo, quá trình sấy hạt. Nhiệt độ sấy thay đổi 4 mức 40°C, 45°C, 50°C, 55°C đến khi hạt đạt độ ẩm 5-7%. Các chỉ tiêu phân tích bằng phương pháp chuẩn AOAC, TCVN 7519 : 2005. Kết quả nhiệt độ sấy 50°C trong thời gian 21 giờ, hạt đạt giá trị pH 6,15; hàm lượng axit 0,82%, hàm lượng axit béo tự do cho phép 1,08%.

Từ khóa: *Ca cao, lên men hạt, sấy hạt.*

1. GIỚI THIỆU

Ca cao là loài cây công nghiệp có giá trị kinh tế và dinh dưỡng cao. Ở nước ta, loại cây này có thể trồng được tại nhiều vùng sinh thái khác nhau như: duyên hải Nam Trung bộ, Tây Nguyên, Đông Nam bộ và đồng bằng sông Cửu Long, trong đó Tây Nguyên được đánh giá là điều kiện lý tưởng cho sự phát triển cây ca cao. Theo thống kê, nhu cầu tiêu dùng sô cô la của Việt Nam khoảng 5.250 tấn/năm và hầu hết đều nhập khẩu từ nước ngoài. Hạt ca cao khô là nguyên liệu sản xuất các sản phẩm có nguồn gốc ca cao và mang lại giá trị dinh dưỡng cao và nguồn xuất khẩu tiềm năng cho nền kinh tế nông nghiệp.

Hạt ca cao khô được lên men từ hạt tươi, sau đó qua giai đoạn sấy khô và cuối cùng là bảo quản. Trong các quá trình sản xuất hạt khô, quá trình lên men đóng vai trò quan trọng quyết định hương vị ngon của sản phẩm nguồn gốc sô cô la. Quy trình lên men nhất thiết được thực hiện đúng hướng dẫn và kiểm soát chặt chẽ, từ việc chọn đúng loại thùng ủ đến kiểm soát nhiệt độ và thời gian lên men; tạo ẩm độ tốt cho quá trình (Afoakwa, 2015). Hiện nay, sự lên men hạt ca cao chủ yếu phụ thuộc vào yếu tố

nhiệt độ tự nhiên (nắng tự nhiên) và quá trình kéo dài từ 5 đến 7 ngày tùy mỗi hộ nông dân và cơ sở sản xuất hạt. Quá trình tự nhiên không kiểm soát được các yếu tố ảnh hưởng đến lên men hạt và sấy khô hạt. Hạt ca cao vùng Đông Nam Á thường có vị chua pH từ 4,6-4,8 (Phan Thanh Bình, 2017; Phạm Hồng Đức Phước 2009); nghiên cứu khác cho thấy nhiệt độ và thời gian lên men có ảnh hưởng đến chất lượng hạt ca cao, việc xử lý ở nhiệt độ 40°C trong 7 ngày cho kết quả tốt pH 5,88, axit tổng 0,5%, độ ẩm đạt 82% (Vương Thanh Tùng và Hà Thanh Toàn, 2006). Phan Thanh Bình (2017) khuyến nghị phương pháp lên men đảo hạt 2 lần trong 6 ngày có bổ sung nấm men *S. cerevisiae* cho kết quả hạt chất lượng sau 6 ngày lên men pH = 5,1, nhiệt độ tốt nhất vào ngày thứ 5 đạt 44,8°C. Một nghiên cứu tại Ghana, nước xuất khẩu hạt ca cao đứng thứ 2 thế giới cho kết quả lên men đến 6 ngày trong điều kiện tự nhiên sẽ giảm lượng axit trong hạt, giảm hàm lượng đường, protein và mức FFA ở mức chấp nhận. pH khoảng 5,26-5,56, hàm lượng axit béo tự do (FFA) từ 0,47% đến 0,55% (Afoakwa *et al.*, 2015). Các nghiên cứu trước sử dụng các giống ca cao tại vườn hoặc/và lên men tự nhiên.

Việt Nam chủ yếu trồng cây giống ca cao ghép đã được công nhận giống cho phép trồng tại các tỉnh phía Nam. Trong giai đoạn 2006 – 2011 Bộ Nông

¹ Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

² Viện Nghiên cứu và Phát triển CNSH, Trường Đại học Cần Thơ

ngiệp và Phát triển nông thôn đã công nhận cho sản xuất giống nông học: TD1, TD2, TD3, TD5, TD6, TD8, TD10, TD14 và 5 cây đầu dòng TC5, TC7, TC11, TC12 (Phạm Hồng Đức Phước, 2009). Trong số đó (03) giống TD3, TD5 và TD8 được trồng phổ biến nhất tại các vùng trồng ca cao do sản lượng và chất lượng trái cao nhất (Tây Nguyên và đồng bằng sông Cửu Long). Nghiên cứu này khảo sát các yếu tố trong điều kiện lên men và sấy có kiểm soát của 03 giống ca cao năng suất và hạt chất lượng tốt TD3, TD5 và TD8 với mục tiêu ghi nhận và đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố lý hóa trong suốt quá trình lên men và sấy hạt.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Trái ca cao chín của 3 giống TD3, TD5, TD8 được thu hái tại huyện Eukar, tỉnh Đắk Lắk.

- Thu hoạch: Trái ca cao chín được nông dân thu hoạch cẩn thận để tránh làm dập trái, hạn chế được tổn thất và hư hỏng trong quá trình tồn trữ.

- Tồn trữ: Ca cao chín khi thu hoạch được cho vào các bao tải vận chuyển vào nơi khô ráo, thoáng mát để tồn trữ cho đến khi đủ một mẻ lên men (3,8-4 kg hạt) và tiến hành bóc vỏ. Bên cạnh đó việc tồn trữ trái còn làm giảm thể tích lớp cơm nhầy góp phần hạn chế sự sinh ra axit lactic trong giai đoạn lên men yếm khí.

- Bóc vỏ, tách hạt: Việc bóc vỏ được thực hiện bằng cách dùng lực đập mạnh trái ca cao vào đá hoặc nền xi măng. Sau đó dùng tay tuốt lấy phần hạt cho vào thiết bị lên men.

- Lên men (ủ): Tiến hành cho phần hạt được bóc vỏ vào một túi vải the, cho hạt rỉ bớt dịch quả trong 1 giờ nhằm giảm lượng dịch rỉ từ 10%-12% (Nguyễn Minh Thủy, 2009). Sau đó, dùng lá chuối đã được khoét lỗ thưa và lót vào rổ để quá trình thoát dịch diễn ra dễ dàng. Dùng vải the dày đậy khối ủ lại. Tiến hành cho vào tủ lên men công nghiệp có điện trở điều khiển được nhiệt độ theo yêu cầu (kích thước tủ: chiều cao 120 cm x chiều dày 50 cm x chiều ngang 100 cm. Mỗi mẻ ủ sử dụng 10 kg nguyên liệu trái (thu 3,8-4 kg hạt ca cao). Trong quá trình lên men, tiến hành theo dõi các chỉ tiêu thí nghiệm.

- Hạt ca cao sau lên men được cho vào tủ sấy thiết kế có thời gian ngừng giúp cho quá trình sấy hạt ca cao hiệu quả.

- Hóa chất:

Dung dịch NaOH chuẩn 0,1N; dung dịch phenolphthalein 1%; Na_2CO_3 , CaCO_3 .

NaCl; Folin - Ciocalteu; Methanol; Ethanol; Axit acetic; Ether dầu hỏa 60 - 90.

Nutrient agar, MRS broth, Czapek-Dox Agar, Yeast extract, Pepton, YPGD agar.

2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

2.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian lên men đến chất lượng hạt ca cao

Mục đích: xác định nhiệt độ và thời gian lên men thích hợp thu được hạt ca cao sau lên men đạt chất lượng tốt nhất.

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên với 2 nhân tố và lặp lại 3 lần.

Nhân tố A: nhiệt độ lên men hạt ca cao ($^{\circ}\text{C}$):

$A_1 = 35$ $A_2 = 40$ $A_3 = 45$ $A_4 = 50$

Nhân tố B: thời gian lên men hạt ca cao (ngày):

$B_1 = 0$ $B_2 = 1$ $B_3 = 2$ $B_4 = 3$ $B_5 = 4$ $B_6 = 5$ $B_7 = 6$ $B_8 = 7$

Tổng số đơn vị thí nghiệm: $4 \times 7 \times 3 = 84$ đơn vị thí nghiệm (đvtn).

Chuẩn bị mẫu và đặt vào tủ lên men có kiểm soát nhiệt độ và đối lưu không khí với các nhiệt độ theo dõi lần lượt 35°C , 40°C , 45°C và 50°C ; tiến hành ghi nhận các chỉ tiêu từ ngày 0 đến ngày 7. Trong quá trình lên men, tiến hành đo nhiệt độ khối ủ ở 3 vị trí khác nhau và lấy mẫu để phân tích chỉ tiêu độ ẩm, pH, axit tổng, hàm lượng chất béo, hàm lượng axit béo tự do, vi sinh vật.

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian sấy đến chất lượng hạt ca cao

Nhân tố C: Nhiệt độ sấy hạt ca cao ($^{\circ}\text{C}$)

$C_1 = 40$ $C_2 = 45$ $C_3 = 50$ $C_4 = 55$

Tổng số đơn vị thí nghiệm: $4 \times 3 = 12$ đơn vị thí nghiệm.

Sau thời gian ủ tối ưu, tiến hành lấy mẫu sấy với các mức nhiệt độ 40°C , 45°C , 50°C , 55°C đến khi hạt đạt độ ẩm tối ưu $< 7\%$ (theo tiêu chuẩn hạt ca cao khô). Đồng thời, trong thời gian sấy tiến hành lấy mẫu phân phân tích các chỉ tiêu hóa lý.

2.2.3. Các chỉ tiêu theo dõi và phương pháp phân tích

Bảng 1. Các chỉ tiêu theo dõi và phương pháp phân tích

Chỉ tiêu theo dõi	Phương pháp phân tích
Hàm lượng ẩm (%)	Phương pháp sấy khô đến khối lượng không đổi (TCVN 8151-1-2009).
Hàm lượng chất béo (%)	Phương pháp bộ chiết Soxhlet (AOAC 2003.05.2012). TCVN 6127:2010: dầu mỡ thực vật.
pH	Sử dụng máy đo pH LabX (Japan).
Hàm lượng axit tổng (tính theo axit acetic K 0,006) %	Dùng dung dịch NaOH 0,1N trung hòa lượng axit trong mẫu (TCVN 4589 - 88: hàm lượng axit tổng số)
Hàm lượng axit béo tự do (%)	Dùng NaOH 0,1 N trung hòa lượng axit béo tự do trong mẫu (Afoakwa <i>et al.</i> , 2015).
Tro (%)	Nung 600°C (AOAC 972.15).
Hàm lượng polyphenol tổng số (mgGAE/g)	Phương pháp Folin - Ciocalteu (Hossain <i>et al.</i> , 2013; Afoakwa <i>et al.</i> , 2015).
Xác định tổng số vi sinh vật, VK lactic, VK acetic (CFU/g) Định lượng nấm men, nấm mốc (CFU/g)	TCVN 4884:2005/ ISO 4833:2003; - Vi khuẩn lactic: Cân 10 g mẫu cho vào các bình tam giác chứa 90 ml môi trường MRS broth đã thanh trùng, ủ kỵ khí ở 37°C trong 24 giờ để tăng sinh mẫu. Pha loãng và trải 0,1 mL mẫu trong đĩa petri chứa MRS broth agar (bổ sung 0,5% CaCO ₃ agar), ủ kỵ khí 37°C trong 48 giờ. Chọn các khuẩn lạc làm tan CaCO ₃ tạo vòng phân giải xung quanh khuẩn lạc. Đếm khuẩn lạc có tạo vòng trong suốt quanh khuẩn lạc (Khunajakr <i>et al.</i> , 2008). - Vi khuẩn axit axetic: YPGD agar (D-glucose 5g/L, yeast extract 5g/L, polypeptone 5g/L glycerol 5g/L và bổ sung ethanol 4% và CaCO ₃ 0,5%). Cân 1 g mẫu cho vào bình tam giác có sẵn 10 ml nước cất vô trùng và pha loãng mẫu. Sau đó, cấy trải trên môi trường YPGD agar có bổ sung 0,5% (w/v) CaCO ₃ . Ủ hiếu khí ở 37°C trong 24-48 giờ. Quan sát và lựa chọn các khuẩn lạc tạo vòng halo trên môi trường là AAB. Khuẩn lạc AAB sẽ tạo vòng sáng xung quanh vì vi khuẩn sinh axit acetic hòa tan CaCO ₃ làm mất màu trắng đục của CaCO ₃ (Phong và ctv, 2017). TCVN 8275-1, 2:2008/ ISO21527-1,2:2008.

Phương pháp cảm quan

Phân tích mô tả định lượng (QDA)

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả tính toán thống kê, phân tích phương sai ANOVA, kiểm định LSD sự sai khác trung bình các nghiệm thức bằng chương trình Statgraphics Centurion 16.1.18. Kết quả được xử lý phần mềm Excel, 2013.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Thành phần hóa học nguyên liệu

Kết quả ở bảng 2 cho thấy hàm lượng nước có trong ca cao nguyên liệu khá cao, đạt 53,94%, điều này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu trước đây của Peláez *et al.* (2016). Hàm lượng polyphenol trong hạt ca cao nguyên liệu khá cao, đạt 397,95 mgGEA/g. Hàm lượng axit có trong mẫu là 0,288%, cao hơn so

với hạt ca cao ở Tây Phi khoảng 0,12-0,15% (JINAP & DIMICK, 1990). Chất lượng hạt ca cao ban đầu còn phụ thuộc vào điều kiện địa lý, khí hậu đất đai canh tác, thời vụ và kỹ thuật canh tác.

Bảng 2. Thành phần hoá học nguyên liệu

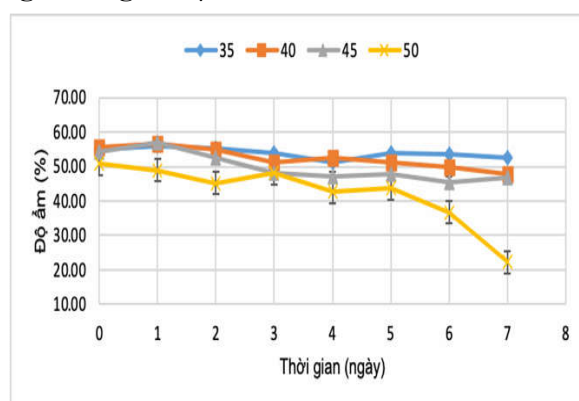
Thành phần hoá học	Giá trị
Độ ẩm (%)	53,94* ± 2,09**
pH	1,39 ± 0,11
Hàm lượng axit (%)	0,29 ± 0,07
Hàm lượng chất béo (%)	397,95 ± 0,75
Tro (%)	41,20 ± 0,58
Hàm lượng polyphenol tổng (mgGAE/g)	5,06 ± 0,13

*Ghi chú: *Giá trị trung bình của 3 lần lặp lại; ** Độ lệch chuẩn (STD) của giá trị trung bình*

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian ủ đến chất lượng hạt ca cao sau lên men

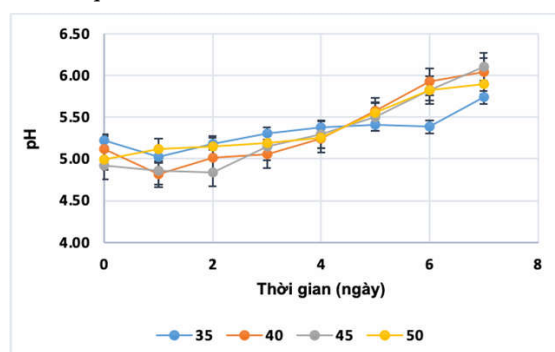
3.2.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian lên men đến độ ẩm của hạt

Kết quả phân tích thống kê cho thấy ở các mức nhiệt độ khác nhau có sự khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Độ ẩm của hạt có xu hướng giảm dần theo thời gian như sau: 35°C đạt 52,71%, 40°C đạt 47,89%, 50°C đạt 46,84% và giảm mạnh ở nhiệt độ 55°C đạt 22,3%. Độ ẩm hạt đạt giá trị cao nhất vào ngày thứ nhất ở 40°C là 56,71% và thấp nhất vào ngày 7 ở 50°C với độ ẩm là 22,3%. Do hoạt động của các vi sinh vật làm cho độ ẩm của hạt có xu hướng tăng nhẹ vào những ngày đầu và giảm ở các ngày gần cuối của quá trình lên men. Vi sinh vật thủy phân lớp cơm nhầy giải phóng lượng nước tự do có trong cơm. Do ảnh hưởng của nhiệt độ một phần nước sẽ bốc hơi ra bên ngoài làm giảm độ ẩm.



Hình 1. Sự thay đổi độ ẩm theo nhiệt độ và thời gian lên men

3.2.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian lên men đến pH khối ủ



Hình 2. Sự thay đổi pH theo nhiệt độ và thời gian lên men

Đồ thị hình 2 cho thấy pH có xu hướng giảm vào 2 ngày đầu và tăng nhanh ở các ngày tiếp theo. Nhiệt độ ủ càng tăng thì pH càng tăng. Cụ thể ở 35°C sau 1 ngày pH giảm còn 5,03 và tăng lên đến 5,74 vào ngày thứ 7. Tương tự ở các mức nhiệt độ sau 1 ngày ở 40° và 45°C là 4,82 và 4,86 tăng nhanh vào ngày cuối là 6,05 và 6,10. Riêng ở 55°C pH có xu hướng tăng dần theo thời gian cụ thể là 4,99 ở ngày đầu và pH đạt 5,9 vào ngày 7. Nhiệt độ càng cao thì pH càng lớn. Giữa pH và độ axit liên kết hạt giống trong đó pH chỉ ra giá trị thấp thì giá trị tăng hạt có tính axit. Chế biến hạt ca cao yêu cầu độ pH từ 5,2 đến 5,8 để sản xuất ca cao chất lượng cao (Wood và Lass, 2008).

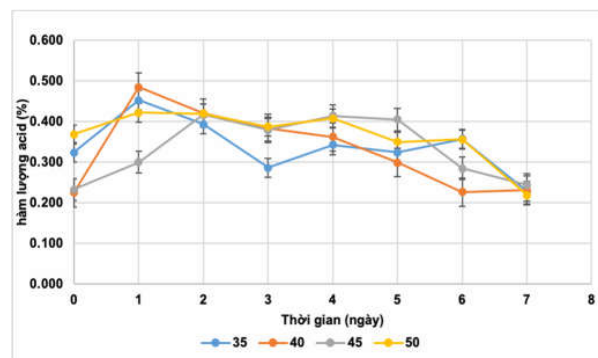
Theo Dircks (2009) hạt ca cao chưa lên men có thể đạt pH 6,10 - 6,20; kết quả thí nghiệm cho thấy hạt ca cao Đắc Lắc khi chưa lên men pH đạt 5,06 (pH thấp hơn nghiên cứu của Dircks do nguồn nguyên liệu khác nhau). Khi hạt còn tươi thì lớp vỏ lụa đóng vai trò như một màng không thấm, vì vậy dù cho pH của thịt quả là thấp (5,06) nhưng axit citric vẫn không thấm vào bên trong hạt được. Giá trị pH giảm dần sau 2 ngày lên men rồi lại tăng dần lên vào cuối quá trình lên men. Điều này có thể giải thích trong khi lên men các enzym thủy phân sẽ phá hủy một phần của lớp vỏ này và axit tạo thành sẽ thấm vào phôi hạt. Vì vậy, vào ngày thứ 3 tuy lượng axit tạo thành đã tương đối nhiều nhưng vẫn chưa thấm được nhiều vào hạt. Axit ngấm dần vào hạt đến ngày thứ 5 là đạt cực đại vì ethanol đã bị oxy hoá tạo thành axit axetic nhưng quá trình oxy hoá này không dừng lại ở đó mà có thể tiếp tục đến khi tạo thành sản phẩm cuối cùng là CO₂ và H₂O.

Vì vậy pH của hạt tăng kể từ ngày thứ 5 tương ứng với độ axit giảm dần. Giá trị pH của hạt vào ngày thứ 6 và 7 không có sự khác biệt đáng kể về mặt thống kê. Càng về cuối quá trình lên men thì phần thịt quả bao quanh hạt càng bị phân hủy nhiều nên hàm lượng oxy trong khối hạt cũng tăng lên, bên cạnh đó nhiệt độ tăng lên cũng thúc đẩy quá trình oxy hoá diễn ra mạnh mẽ hơn, ngoài ra các sản phẩm tạo thành do hoạt động của vi sinh vật như ethanol, axit, nước sẽ đóng vai trò là dung môi vận chuyển các chất trong các phản ứng do enzym xúc tác. Theo những kết quả phân tích có thể thấy thời gian lên men 6 ngày sẽ cho chất lượng hạt ca cao tốt nhất. Nếu kết thúc quá trình lên men quá sớm thì sự tạo thành các hợp chất tạo hương chưa hoàn toàn, đồng thời vị đắng chát không giảm như mong muốn do

lượng tanin trong hạt ca cao sau ủ lên men còn cao. Nếu quá trình lên men kéo dài quá mức sẽ gây ra mùi vị xấu cho sản phẩm. Samah *et al.* (1992) cũng đã phát hiện sau ngày lên men thứ 7, sự phát triển mạnh của nấm sợi và sự phân hủy protein bởi các proteaza tạo ra NH_3 gây mùi rất khó chịu cho hạt ca cao sau lên men.

3.2.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian lên men đến hàm lượng axit

Kết quả ở hình 3 cho thấy hàm lượng axit hầu như đạt giá trị cao nhất vào ngày thứ 1 của quá trình lên men, sau đó giảm dần và đạt cực tiểu ở những ngày cuối quá trình. Công bố của một số tác giả trước cho thấy hàm lượng axit acetic đạt cao nhất ở 24 giờ (1 ngày) lên men và giảm sau đó là do hầu hết axit đã khuếch tán vào tử diệp của hạt và bay hơi do quá trình đảo trộn làm thông thoáng khối ủ (Ardhana và Fleet, 2003). Độ axit trung bình ngày 6 và 7 ở mức thấp lần lượt là 0,31% và 0,23%. Điều này chứng tỏ thời gian lên men càng dài, hàm lượng axit trong hạt sẽ càng giảm nhưng thời gian lên men dài cũng là nguyên nhân làm cho hạt xuất hiện mùi hôi và sự xuất hiện của nấm mốc. Mặc dù, hàm lượng axit hạt ở 40°C trong 6 ngày lên men (0,23%) không đạt ở mức thấp nhất. Nhưng điều kiện này đã hạn chế được hàm lượng axit sinh ra và nấm mốc phát triển so với ở điều kiện nhiệt độ thấp hơn và dài ngày hơn.

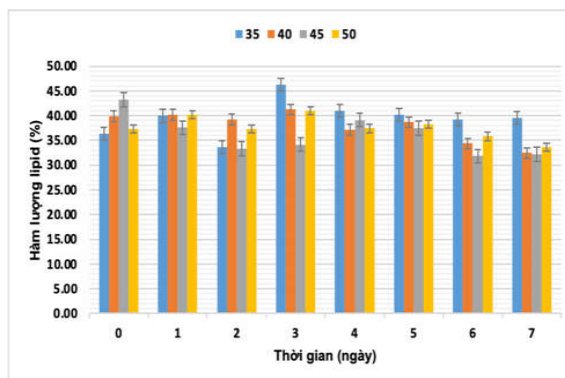


Hình 3. Sự thay đổi hàm lượng axit hạt theo nhiệt độ và thời gian lên men

3.2.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian lên men đến hàm lượng chất béo hạt ca cao

Hàm lượng chất béo trong hạt là một trong những tiêu chuẩn quan trọng khi chọn giống ca cao. Đồ thị hình 4 cho thấy ở 35°C hàm lượng chất béo giảm sau 2 ngày lên men nhưng lại tăng lên ở ngày 3 và giảm dần vào cuối quá trình lên men. Cụ thể hàm lượng chất béo đạt giá trị cao nhất vào thứ 3 với

46,22% và thấp nhất vào ngày 2 với 33,61%. Ở 45°C và 50°C hàm lượng chất béo không có sự khác biệt về ý nghĩa thống kê, giá trị chất béo trung bình lần lượt là 36,10% và 37,60%. Khi lên men nhiệt độ 40°C, hàm lượng chất béo ghi nhận đạt cao nhất ở ngày 6 với 41,24% (khác biệt ý nghĩa thống kê so với 40°C và 45°C). Sự tăng của hàm lượng béo trong hạt có khả năng chất béo này là các triglyceride dự trữ được tổng hợp trong suốt quá trình lên men hạt.



Hình 4. Sự thay đổi hàm lượng chất béo theo nhiệt độ và thời gian lên men

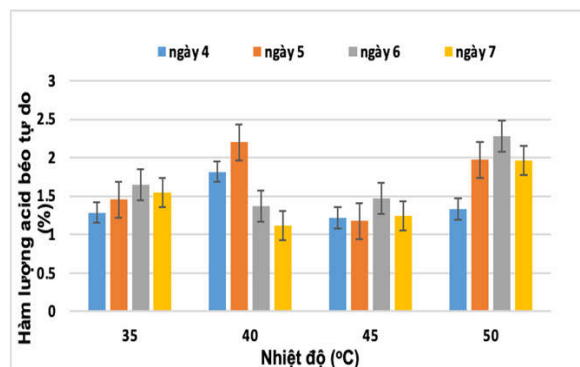
Việc giảm hàm lượng chất béo ở các ngày cuối quá trình lên men có thể do hoạt động của các enzyme lipase phân hủy chất béo trung tính trong hạt thành các nhóm axit béo riêng biệt, do đó làm tăng nồng độ axit béo tự do dẫn đến làm giảm hương vị trong hạt khi kéo dài quá trình lên men (Afoakwa, 2016).

3.2.5. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian lên men đến hàm lượng axit béo tự do

Trong đánh giá chất lượng ca cao, năng suất chất béo và đặc tính vật lý của chất béo rất quan trọng và là thông số đặc biệt cho chiết xuất bơ ca cao. Các đặc tính vật lý của chất béo được đánh giá bởi độ cứng chất béo và hàm lượng FFA (Beckett, 2008; Afoakwa, 2015). Mức độ FFA trong chất béo của hạt ca cao cho phép đo độ ôi dầu ca cao và hàm lượng FFA cao (1% trong hạt tươi và 1,75% trong hạt khô) trong ca cao không được chấp nhận. Giới hạn này đã được quy định vì mức FFA cao hơn cho thấy rằng thủy phân triglyceride đã xảy ra dẫn đến làm mềm bơ. Kết quả thống kê cho thấy không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê giữa các nhiệt độ ($p > 0,05$).

Đồ thị hình 5 cho thấy thời gian lên men kéo dài và nhiệt độ cao dẫn đến gia tăng hàm lượng axit béo sinh ra. Hàm lượng axit béo tự do đạt cao nhất vào

ngày 6 ở 50°C (2,28%) và thấp nhất vào ngày 4 ở 35°C (1,12%). Nguyên nhân dẫn đến sự tăng axit béo tự do có thể do nấm mốc kéo dài phá hoại. Mặt khác do hoạt động của enzyme lipase và hoạt động của vi sinh có mặt trong ca cao tự nhiên và có tác dụng phá vỡ triglyceride thành các nhóm axit béo riêng biệt và glycerol do đó giải phóng các axit béo dẫn đến sự ôi thiu của sản phẩm.



Hình 5. Sự thay đổi hàm lượng axit béo tự do theo nhiệt độ và thời gian lên men

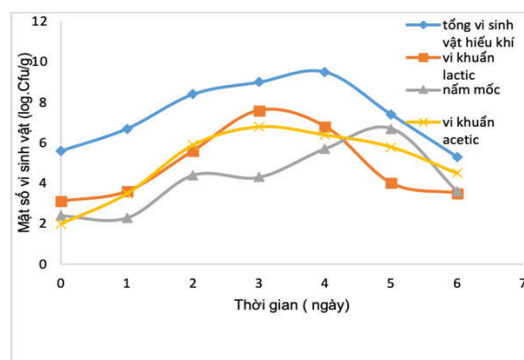
3.2.6. Sự thay đổi mật số vi sinh vật ở nhiệt độ 40°C trong 6 ngày lên men

Thịt quả hạt ca cao là môi trường thích hợp cho sự phát triển của vi sinh vật (82 - 87% nước, 10 - 15% đường, 2 - 3% pentosan, 1 - 3% axit citric, 1 - 1,5% pectin) (Nguyễn Minh Thủy, 2013) cho nên ngay từ khi bóc vỏ quả, cơm hạt ca cao đã nhiễm nhiều loại vi sinh vật. Nhìn chung, đây là một chuỗi các quá trình lên men nối tiếp nhau thể hiện qua sự biến động về mật độ của một số nhóm vi sinh vật. Đầu tiên là sự phát triển của nấm men tạo ra các sản phẩm như ethanol và các enzym phân cắt pectin, tiếp theo là sự phát triển của vi khuẩn mà chủ yếu là nhóm vi khuẩn lên men axit lactic và nhóm vi khuẩn lên men axit axetic, đến ngày thứ sáu của quá trình lên men, mật số các nhóm đều giảm. Vi khuẩn lactic hiện diện ngay khi bắt đầu lên men. Khi điều kiện phù hợp, pH gia tăng cùng với sự gia tăng nhẹ của nhiệt độ, vi khuẩn lactic chiếm ưu thế nhưng chỉ trong một thời gian ngắn. Sau đó chúng giảm dần đến cuối quá trình.

Tổng các vi khuẩn hiếu khí cũng tăng dần mật số ngay từ ngày ủ thứ 2 và đạt mật độ cao nhất vào ngày ủ thứ 4 với mật số là 9,5 log.cfu/g. Xu hướng phát triển này được giải thích bởi Schwan và ctv (2004) ban đầu lượng thịt quả bao quanh hạt còn nhiều ngăn cản quá trình xâm nhập của oxy vào

trong khối ủ nên các vi khuẩn hiếu khí khó phát triển được. Sau đó nhờ sự phát triển của nấm men phân hủy dần lớp cơm hạt, tạo điều kiện thông thoáng hơn thích hợp cho các vi khuẩn hiếu khí phát triển và đạt đỉnh cao vào ngày thứ 4 và giảm dần sau đó theo đường cong phát triển của vi sinh vật.

Sau thời gian lên men 6 ngày, mật độ vi sinh vật có ích giảm mạnh do điều kiện không còn phù hợp khoảng 5,3 log.cfu/g, thay vào đó là sự phát triển của bào tử vi khuẩn hiếu khí và nấm mốc. Vi khuẩn axit lactic chiếm ưu thế trong 36 đến 48 giờ đầu lên men (7,6 log.cfu/g). Càng về cuối quá trình lên men, sự hiện diện của nấm men và vi khuẩn axit lactic suy giảm (3,6 log.cfu/g vào ngày thứ 6), không khí bên trong khối hạt ca cao tăng lên. Vi khuẩn axit axetic xuất hiện ở giai đoạn sau của quá trình lên men (6,4-6,8 log.cfu/g vào ngày 3 và 4), khi oxy thẩm thấu khối lượng hạt, chủ yếu là oxy hóa ethanol sản xuất bởi nấm men thành axit axetic (Camu và ctv, 2007). Càng về cuối quá trình lên men, sự hiện diện của nấm men và vi khuẩn axit lactic suy giảm, không khí bên trong khối hạt ca cao tăng lên. Do đó, những điều kiện này có thể dẫn đến sự phát triển của vi khuẩn axit axetic tiến hành lên men hiếu khí. Vi khuẩn này oxy hóa ethanol thành axit axetic, và cũng oxy hóa thêm axit axetic thành carbon dioxide và nước. Vi khuẩn axit axetic chủ yếu tạo thành tiền chất của hương vị chocolate. Chúng bao gồm các thành viên của chi Acetobacter cũng như Gluconobacter.



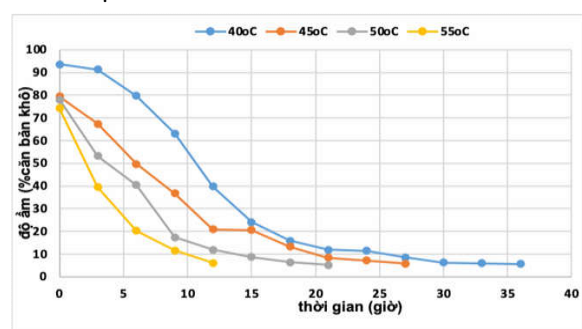
Hình 6. Sự thay đổi mật độ vi sinh vật theo thời gian lên men ở nhiệt độ 40°C

Nấm sợi cũng được tìm thấy trong các phần thoáng khí của khối lên men. Mật độ nấm mốc xuất hiện ở ngày đầu quá trình lên men (2,3-2,4 log.cfu/g) và tăng dần vào cuối quá trình, đạt cực đại ở ngày lên men thứ 5 (6,7 log.cfu/g). Chúng có thể gây ra sự

thủy phân “com nhầy” và tạo ra axit. Trong số các loại nấm sợi, *Aspergillus fumigatus* và *Mucor racemosus* là loài có mặt nhiều nhất trong quần thể nấm cho đến khi kết thúc quá trình lên men. Những loại nấm này không thể phát triển ở nhiệt độ cao hơn 45°C, nhưng có thể được phân lập ở nhiệt độ khoảng 50°C.

3.2.7. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian sấy đến độ ẩm hạt ca cao

Đồ thị hình 7 cho thấy khi tăng nhiệt độ sấy thì thời gian sấy được rút ngắn lại. Khi sấy ở nhiệt độ thấp (40°C) do chênh lệch áp suất hơi riêng phần của ẩm ở bên trong hạt và môi trường xung quanh thấp nên độ ẩm giảm chậm làm kéo dài thời gian sấy (36 giờ). Khi tăng nhiệt độ sấy (55°C) thì chênh lệch áp suất riêng phần giữa tác nhân sấy và áp suất bên trong hạt tăng lên làm ẩm dễ dàng thoát ra ngoài làm giảm thời gian sấy (18 giờ); điều này phù hợp với kết quả báo cáo của Lasisi và Engineering (2014). Có thể thấy trong quá trình sấy, nhiệt độ quá thấp hoặc quá cao đều ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm, nhiệt độ quá cao quá trình khuếch tán ẩm ra bên ngoài ở thời gian đầu nhanh nhưng thời gian sau sẽ tạo thành lớp màng cứng trên bề mặt cản trở không cho lớp nước bên trong di chuyển ra bên ngoài. Nếu nhiệt độ sấy quá thấp thì thời gian sấy kéo dài, dẫn đến nấm mốc phát triển và ảnh hưởng đến các hợp chất sinh học trong hạt. Như vậy trong cùng một hệ thống sấy, việc thay đổi nhiệt độ sấy là yếu tố ảnh hưởng đến tốc độ sấy. Đồ thị đường cong sấy cho kết quả nhiệt độ sấy 50°C thời gian 21 giờ, ẩm độ đạt giá trị tiêu chuẩn hạt khô 5-7%.



Hình 7. Sự thay đổi độ ẩm hạt ca cao theo thời gian ở các nhiệt độ sấy khác nhau

3.2.8. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến pH, hàm lượng axit và hàm lượng axit béo tự do

Chất lượng của hạt ca cao thô phụ thuộc rất nhiều vào hàm lượng axit béo tự do (FFA) của

chúng. FFA cao ảnh hưởng nghiêm trọng đến chất lượng và giá trị kinh tế của hạt ca cao (Guehi *et al.*, 2008). Hàm lượng FFA tìm thấy trong hạt ca cao tốt cho sức khỏe thường tuân thủ các tiêu chuẩn UE (tương đương 1,75% axit oleic). Bảng 3 ghi nhận hàm lượng axit béo tự do ở các nhiệt độ sấy khác nhau vẫn ở mức cho phép. Hàm lượng axit béo tự do cao nhất ở 55°C (1,09%) và có khác biệt ý nghĩa thống kê so với các nhiệt độ khác. Theo Afoakwa (2013) sự gia tăng hàm lượng FFA của hạt ca cao trong cả quá trình bảo quản và sấy khô hạt, có thể được quy cho hoạt động của enzyme lipase có trong hạt ca cao và hoạt động để phân hủy chất béo trung tính thành các nhóm axit béo riêng biệt, do đó glycerol giải phóng các axit béo. Ở 55°C hàm lượng axit béo tự do 1,09% cao hơn so với ở 50°C (1,076%) nhưng vẫn nằm ở mức cho phép (< 1,75%). Điều này cũng được giải thích, nhiệt độ sấy càng cao cũng làm cho hàm lượng axit béo tự do tăng (Lasisi và Engineering, 2014). Kết quả phân tích cho thấy, ở nhiệt độ sấy 50°C sẽ giúp rút ngắn thời gian và hạn chế sự gia tăng hàm lượng axit béo tự do. Kết quả pH hạt khô đo được cao hơn so với pH hạt khô của Tây Phi là 5,5 (Ndukwu *et al.*, 2010), của Malaysia từ 4,4 - 4,7 (Nazaruddin *et al.*, 2006).

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến pH, hàm lượng axit và hàm lượng axit béo tự do

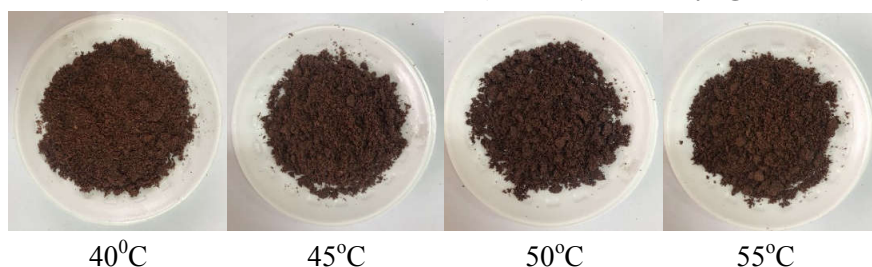
Nhiệt độ (°C)	Axit	pH	Axit béo (%)
40	0,68* ± 0,19**	6,54* ± 0,02**	0,69* ± 0,06**
45	0,88 ± 0,15	6,22 ± 0,06	1,08 ± 0,14
50	0,82 ± 0,24	6,15 ± 0,16	0,64 ± 0,03
55	0,98 ± 0,14	6,1 ± 0,07	1,09 ± 0,07
Trung bình	0,84	6,25	0,87

Ghi chú: * giá trị trung bình của 3 lần lặp lại, ** độ lệch chuẩn của giá trị trung bình

Trong quá trình lên men lượng axit tạo ra khá nhiều ảnh hưởng không tốt đến hương vị chocolate, làm cho hạt bị chua. Axit trong hạt ca cao chủ yếu là axit citric, axit lactic, axit acetic. Dấu hiệu của sự có mặt axit axetic là mùi hăng khó chịu, nhưng được loại bỏ phần lớn khi sản xuất chocolate. Axit lactic không bay hơi, ít thay đổi trong quá trình chế biến nên sản phẩm cuối cùng vẫn còn axit lactic, nguyên nhân làm cho pH của hạt khô thấp. Hạt ca cao chất

lượng tốt sau khi lên men phải có pH cao. Giá trị trong hạt khô biểu hiện mức độ chua của khối hạt, pH càng thấp thì độ chua càng lớn, với $\text{pH} \geq 5,2$, thì hạt ca cao được cho là tốt khi chế biến chocolate (Wood và Lass, 2008; Beckett, 2009). Độ pH của mẫu giảm khi nhiệt độ sấy tăng lên là bởi vì ở nhiệt độ cao hơn, sự bốc hơi nước xảy ra nhanh (Franke và ctv, 2008). Sấy ở nhiệt độ cao, hạt giảm độ ẩm nhanh chóng dẫn đến axit axetic trong các mẫu được hình thành từ các phản ứng oxy hóa trước đó ít bay hơi. Kết quả nghiên cứu cũng phù hợp với báo cáo của Hii (2009), nhiệt độ sấy quá cao không được khuyến cáo trong việc sấy ca cao vì sẽ giữ lại hầu hết các axit bên trong hạt ca cao và gây ra quá nhiều axit trong bột thành phẩm. Tính axit quá mức dẫn đến sự phát triển hương, vị không phù hợp và vị chua này không thể loại bỏ được đặc biệt là khi các mẫu được sử dụng cho quá trình sản xuất chocolate (McDonald và ctv, 1981). Sấy hạt ca cao ở nhiệt độ thấp hơn cho giá trị pH hạt khô ít tính axit hơn và bột ca cao thành phẩm chất lượng tốt hơn (Ajala và Ojewande, 2014).

3.2.9. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến giá trị cảm quan hạt ca cao khô



Hình 8. Hạt ca cao xay nhuyễn ở các nhiệt độ sấy khác nhau

Để đảm bảo chất lượng hạt ca cao thô, mang lại giá trị kinh tế và tiết kiệm thời gian sản xuất, nhiệt độ sấy 50°C là lựa chọn phù hợp nhất để phục vụ cho quá trình sấy hạt ca cao. Điều này cũng tương tự với kết quả của Wood và Lass (2008).

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Nghiên cứu đã cho thấy sự khả thi của việc kiểm soát nhiệt độ cho quá trình ủ lên men hạt với mục tiêu hạn chế vị chua của hạt ca cao sau lên men và đạt chất lượng hạt tốt hơn so với lên men tự nhiên không kiểm soát. Nhiệt độ sấy thích hợp cũng góp phần cải thiện hương vị hạt ca cao khô. Đồng thời, cũng đánh giá được chất lượng hạt ca cao sau lên men và sấy. Kết quả thí nghiệm đã xác định được các

Kết quả cảm quan ghi ở bảng 4 cho thấy chỉ tiêu màu sắc không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê khi ở các nhiệt độ sấy khác nhau. Điều này cho thấy quá trình lên men đã hoàn toàn, tử diệp hạt sau quá trình sấy đã chuyển nâu hoàn toàn. Chỉ tiêu mùi và vị có sự khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Ở chỉ tiêu mùi, hầu hết khi sấy ở nhiệt độ cao không có sự khác biệt về mùi. Đối với vị, kết quả cho thấy nhiệt độ sấy 55°C cho vị chua, chát hơn các nhiệt độ còn lại. Nhìn chung, hạt ca cao sấy ở 50°C trong 24 giờ cho kết quả về màu sắc, mùi và vị tốt nhất.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến giá trị cảm quan hạt ca cao khô

Nhiệt độ (°C)	Màu	Mùi	Vị
40	4,40 ^{*±0,1^{a**}}	3,77±0,21 ^b	3,73±0,21 ^a
45	4,20±0,1 ^a	4,20±0,1 ^a	3,60±0,26 ^a
50	4,33±0,15 ^a	4,27±0,15 ^a	3,53±0,15 ^a
55	4,23±0,15 ^a	4,07±0,15 ^a	3,13±0,15 ^b

Ghi chú: *Giá trị trung bình của 3 lần lặp lại; ** Độ lệch chuẩn (STD) của giá trị trung bình.

Các chữ cái giống nhau biểu thị sự không khác biệt theo cột với mức ý nghĩa 5%

thông số cơ bản của quá trình lên men và sấy hạt ca cao như sau: Hạt ca cao đạt chất lượng cao (độ chua, độ ẩm, hàm lượng FFAs đạt yêu cầu) khi lên men nhiệt độ 40°C trong thời gian 6 ngày. Độ ẩm hạt đạt 56,71%, pH đạt 5,93, hàm lượng axit béo tự do đạt mức cho phép 0,84%. Hạt ca cao sau lên men được sấy ở nhiệt độ 50°C trong 21 giờ sẽ cho chất lượng hạt tốt nhất, pH hạt sau khi sấy đạt 6,15, hàm lượng axit tổng đạt 0,82%, hàm lượng axit béo tự do FFAs cho phép 1,08%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ajala A.S. and K. O. Ojewande, 2014. Study on drying of fermented cocoa beans (*Theobroma cacao*). International Journal of Innovation and

Applied Studies. 9 (2): 931–936.

2. Afoakwa, E. O., Kongor JE, Budu AS, Mensah-Brown H, JF Takrama, 2015. Changes in Biochemical and Physico-chemical Qualities during Drying of Pulp Preconditioned and Fermented Cocoa (*Theobroma cacao*) Beans. J. Nutr. Heal. Food Sci. 2: 9651–9670.

3. Afoakwa, E. O., Quao, J., Budu, A. S., Takrama, J., Saalia, F. K., 2013. Chemical composition and physical quality characteristics of Ghanaian cocoa beans as affected by pulp preconditioning and fermentation. J. Food Sci. Technol. 50 (6): 1097–1105.

4. Beckett, S. T., 2009. Industrial chocolate manufacture and use. London: Chapman & Hall. Pp 20–23.

5. Camu N, De Winter T, Addo KS, Takrama JS, Bernaert H, L De Vuyst, 2007. Fermentation of cocoa beans: influence of microbial activities and polyphenol concentrations on the flavour of chocolate. J Sci Food Agric. 88: 2288–2297.

6. Dricks H. D., 2009. Investigation into the fermentation of Australian cocoa beans and its effect on microbiology, chemistry and flavour. NSW University.

7. Huỳnh Xuân Phong, Nguyễn Mỹ Vi, Nguyễn Ngọc Thanh, Bùi Hoàng Đăng Long, Toshiharu Yakushi, Kazunobu Matsushita, Ngô Thị Phương Dung, 2017. Tuyển chọn vi khuẩn acetic chịu nhiệt ứng dụng trong lên men acid acetic. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 20(9B): 44–49.

8. Guehi, S. T., Clement-Vidal, A., Dingkuhn, M., Cros, E., Fourny, G., Ratomahenia, R., Moulin, G., 2008. Impact of cocoa processing technologies in free fatty acids formation in stored raw cocoa beans. Impact of cocoa processing technologies in free fatty acids formation in stored raw cocoa beans. African J. Agric. Res. 3: 174–179.

9. Hii C. L, C. L, L., Cloke M, M, S., 2009. Thin layer drying kinematics of cocoa and dried product quality. J. Bio-sys. Eng., Elsevier Ltd 153–161.

10. Hossain M. A, K. A. S. AL-Raqmi, Z. H. AL-Mijizy, A. M. Weli, Q. Al-Riyami., 2013. Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of locally grown *Thymus vulgaris*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(9): 705–710.

11. Lasisi, D., and Engineering, B., 2014. A Comparative Study of Effects of Drying Methods on Quality of Cocoa Beans. *International Journal of Engineering Research and Technology*. 3(1): 991–996.

12. Mc. Donald, C. R., Lass, R. A., Lopez, A. S. F., 1981. Coco adrying - Areview. *Cocoa Grower's Bulletin*, 31, 5–41.

13. Nazaruddin, R., Seng, L. K., Hassan, O., Said, M., 2006. Effect of pulp preconditioning on the content of polyphenols in cocoa beans (*Theobroma cao*) during fermentation. *Industrial Crops and Products*, 24(1), 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.03.013>

14. Ndukwu M. C. and Agboola S. O., 2010. Cocoa bean (*Theobroma cacao* L.) drying Kinetics. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392010000400014>

15. Nguyễn Minh Thủy, 2013. Giáo trình kỹ thuật sau thu hoạch nông sản. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ, 370.

16. Phạm Hồng Đức Phước, 2009. Kỹ thuật trồng ca cao ở Việt Nam. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

17. Phan Thanh Bình, Phạm Văn Thao, Nguyễn Thị Thoa, 2017. Nghiên cứu bổ sung *saccharomyces cerevisiae* trong quá trình lên men hạt ca cao để nâng cao chất lượng sản phẩm. Viện Khoa học Kỹ thuật Nông lâm nghiệp Tây Nguyên.

18. Khunajakr, N., A. Wongwicharn, D. Moonmangmeeand, S. Tantipaiboonvut., 2008. Screening and identification of lactic acid bacteria producing antimicrobial compounds from pig gastrointestinal tracts. *KMITL Sci. Tech. J.*, 8(1): 8–17.

19. Schwan, R. F., & Wheals, A. E., 2004. The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4), 205–221. <https://doi.org/10.1080/10408690490464104>

20. Vương Thanh Tùng và Hà Thanh Toàn, 2006. Khảo sát ảnh hưởng của quá trình ủ lên men đến chất lượng hạt ca cao. Tạp chí Nghiên cứu Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ 5: 149–1572.

21. Wood G. A. R., and Lass R. A., 2008. Cocoa, 4th Edition. Longman's group. pp 444.

STUDY ON EFFECTIVE OF TEMPERATURE AND TIME CONDITION DURING FERMENTATION AND DRYING COCOA (*Theobroma cacao* L.) BEANS IN DAK LAK

Lam Thi Viet Ha, Phan Thi Bich Tram, Truong Trong Ngon, Ha Thanh Toan

Summary

Fermentation and drying is crucial to the development of chocolate flavour during cocoa industrial manufacturing. This could accompany with decrease in acidity and free fatty acids of beans. This study investigated change in temperature and time during cocoa bean fermentation; the effect of the proximate composition (moisture, total acid and chất béo content) and microbial community as well during the fermentation process. The full factorial experiment design with fermented temperature (35°C, 40°C, 45°C, 50°C) and time (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 days). The standard analytical methods were identified using AOAC and TCVN 7519: 2005. The results showed that the ideal conditions led to considerable quality cocoa bean which include 40°C for the sixth day of fermentation. pH and Acid content showed the acceptable value of, 5.93; 0.30%; respectively. The suitable condition of drying process showed at 50°C in 21 hours, with the free fatty acid content (FFAs) of the studied condition were below the acceptable limits of 1.08%; pH 6.15; acid content 0.82%. The present work is supporting for the cocoa cultivation and drying cocoa bean production of cocoa development projects in Highlands Vietnam.

Keywords: *Cocoa, cocoa bean fermentation, cocoa bean drying.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Thanh Hằng

Ngày nhận bài: 30/6/2021

Ngày thông qua phản biện: 30/7/2021

Ngày duyệt đăng: 6/8/2021