

## MỞ ĐẦU

### 1. Tính cấp thiết của đề tài

Chất lượng hạt ca cao thành phẩm liên quan đến các yếu tố quan trọng đó là phải có các loại giống ca cao tốt; phải thực hiện đúng kỹ thuật canh tác và đặc biệt là kỹ thuật sơ chế hạt ca cao (ủ lên men và làm khô) đảm bảo. Áp dụng đúng kỹ thuật ủ lên men là cực kỳ quan trọng để có được hạt ca cao chất lượng.

Hương vị chocolate chỉ có được khi hạt ca cao đã trải qua quá trình lên men, do đó hạt ca cao chất lượng đồng nghĩa với hạt ca cao lên men đúng kỹ thuật. Lên men ca cao là quá trình chuyển hóa đường trong lớp cơm nhầy bao quanh hạt thành rượu và sau đó là thành acid. Acid sau khi hình thành sẽ thấm vào nhân hạt thủy phân protein thành các acid amin. Như vậy nguyên nhân chính của độ chua hạt là từ việc lên men đường để chuyển hóa thành acid thông qua hai quá trình: lên men yếm khí (đường chuyển hóa thành ethanol) và lên men hiếu khí (rượu chuyển hóa thành acid). Khi hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy cao dẫn đến quá nhiều acid hình thành làm cho hạt quá chua sau khi lên men. Vì vậy, kiểm soát đường ở lớp cơm nhầy là kiểm soát được phần cơ bản ở độ chua hạt sau khi lên men. Các thị trường hấp dẫn mua ca cao giá cao như Nhật Bản, Châu Âu đều yêu cầu hạt ca cao sau khi lên men ít chua ( $\text{pH} > 5,3$ ) với giá chênh lệch 200 - 300 USD/tấn so với giá thị trường.

Ca cao Việt Nam có pH chỉ đạt 4,7 - 5,0 nên có vị chua. Nếu giảm độ chua nguyên liệu bằng cách kiềm hóa trong quá trình sản xuất chocolate thì phải sử dụng hóa chất đó là điều mà người tiêu dùng e ngại dẫn đến hạn chế sử dụng sản phẩm. Vì vậy, việc nghiên cứu một số biện pháp kỹ thuật làm giảm hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi thông qua kỹ thuật canh tác (chế độ phân bón); xử lý hạt không dùng hóa chất giai đoạn lên men và làm khô hạt để tăng pH, giảm chua cho hạt ca cao thành phẩm Việt Nam là vấn đề rất cấp thiết hiện nay của ngành ca cao Việt Nam nhằm hướng tới tăng giá trị thương mại, bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng đồng thời tăng thêm lợi nhuận cho người sản xuất.

### 2. Mục tiêu tổng quát

Nghiên cứu ảnh hưởng của phân kali đến hàm lượng đường trong cơm nhầy hạt ca cao và một số biện pháp kỹ thuật sơ chế hạt nhằm góp phần hoàn thiện quy trình canh tác và chế biến hạt ca cao chất lượng cao.

### 3. Mục tiêu cụ thể

- Xác định được hiện trạng canh tác và một số yếu tố liên quan đến chất lượng hạt ca cao tại một số vùng trồng ca cao nhiều của Việt Nam.
- Xác định được loại và liều lượng phân bón kali thích hợp để hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi ở mức thấp đồng thời vẫn đảm bảo năng suất cho cây.
- Xác định được chủng nấm men bổ sung vào khối ủ hạt ca cao ngay khi bắt đầu quá trình lên men có tác dụng thúc đẩy giai đoạn lên men yếm khí hình thành nhiều ethanol sau đó là acid acetic, đồng thời giảm lượng acid lactic hình thành từ đó hạn chế lượng acid lactic tồn dư trong hạt thành phẩm làm cho hạt bớt chua.
- Xác định được tỷ lệ ép dịch cơm nhầy phù hợp nhất trước khi cho hạt vào thùng ủ lên men để giảm lượng đường tham gia vào quá trình chuyển hóa hình thành acid nhằm giảm chua cho hạt thành phẩm.
- Xác định được thông số phù hợp cho quá trình làm khô hạt bằng phương pháp sấy hạt và điều kiện cụ thể cho quá trình làm khô hạt bằng phương pháp phơi hạt.
- Đề xuất cải tiến quy trình canh tác và quy trình công nghệ sau thu hoạch hạt cho ca cao ở Việt Nam.

### 4. Giới hạn nghiên cứu

Thí nghiệm khảo sát hiện trạng canh tác tại nông hộ và một số yếu tố liên quan đến chất lượng hạt ca cao chỉ thực hiện trên ba tỉnh thuộc ba khu vực trồng nhiều ca cao ở Việt Nam là Đồng Nai (khu vực Đông Nam Bộ), Đắk Lắk (Tây Nguyên) và Bến Tre (Đồng bằng Sông Cửu Long).

Thí nghiệm đồng ruộng thực hiện đối với cây ca cao trồng trên hai loại đất là đất FRr (tên đất là FRr, theo FAO-UNESCO) ở huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng và đất xám phù sa cổ bạc màu (tên đất là Ach, theo FAO-UNESCO) ở huyện Trảng Bom, tỉnh Đồng Nai.

Phân lập nấm men từ khối ủ hạt ca cao lên men tự nhiên của Công ty TNHH ca cao Trọng Đức, huyện Tân Phú, tỉnh Đồng Nai.

Bổ sung từng loại nấm men riêng rẽ vào các khối hạt ngay khi bắt đầu quá trình lên men, do điều kiện về thời gian và kinh phí nên không thực hiện việc xác định mật độ của các loại nấm men bổ sung vào khối ủ theo thời gian lên men.

### **5. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài nghiên cứu**

Kết quả đạt được của đề tài đóng góp cụ thể vào việc nâng cao chất lượng hạt ca cao thành phẩm: Thông qua kiểm soát lượng đường ở lớp cơm nhầy bằng biện pháp nông học và kỹ thuật sơ chế dẫn đến pH hạt khô tăng lên nhằm giảm chua cho hạt thành phẩm từ đó tăng giá trị hạt thương phẩm; Góp phần vào việc hoàn thiện quy trình trồng và sơ chế hạt ca cao.

### **6. Đối tượng nghiên cứu**

Loại, liều lượng phân kali và kỹ thuật sơ chế ảnh hưởng đến chất lượng hạt ca cao thành phẩm.

### **7. Phạm vi và địa điểm nghiên cứu**

Thí nghiệm đồng ruộng được thực hiện trên vườn ca cao 7 năm tuổi, trồng thuần, nhóm giống Trinitario.

Địa điểm thực hiện thí nghiệm đồng ruộng và lên men được tiến hành tại tỉnh Lâm Đồng và tỉnh Đồng Nai.

Thí nghiệm phân lập nấm men từ khối ủ hạt ca cao tự nhiên được thực hiện tại Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Đà Lạt.

Giải trình tự gen để định danh nấm men được thực hiện tại Công ty TNHH Dịch vụ và Thương mại Nam khoa TP.HCM.

Thí nghiệm nhân sinh khối nấm men dưới loại bột nhão (paste) được thực hiện tại vườn ca cao huyện Tân Phú, tỉnh Đồng Nai.

Thí nghiệm ép hạt và bổ sung nấm men vào khối ủ được thực hiện tại Công ty TNHH ca cao Trọng Đức, huyện Tân Phú, tỉnh Đồng Nai.

Các thí nghiệm làm khô hạt được thực hiện tại Trường Cao đẳng Công nghệ và Kinh tế Bảo Lộc và Công ty TNHH ca cao Trọng Đức, huyện Tân Phú, tỉnh Đồng Nai.

Thời gian thực hiện đề tài nghiên cứu: Từ năm 2012 - 2016

### **8. Đóng góp mới của đề tài**

- Đánh giá được tác động của loại, liều lượng phân kali ảnh hưởng đến hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi, từ đó có thể kiểm soát hàm lượng đường tích lũy trong cơm nhầy hạt ca cao thông qua quá trình canh tác.

- Xác định được một số chủng nấm men tham gia vào quá trình lên men hạt ca cao tự nhiên.

- Xác định được chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* tham gia vào quá trình lên men hạt ca cao là tốt nhất cho mục tiêu chất lượng: pH hạt cao hơn đối chứng, hạn chế sự hình thành acid lactic, tổng lượng acid tồn dư trong hạt thành phẩm không quá cao.

## **Chương 1**

### **TỔNG QUAN TÀI LIỆU**

#### **1.1. Sơ lược về cây ca cao**

Mỗi trái ca cao chứa 30 - 40 hạt ca cao tươi nằm trong lớp cơm nhầy rất giàu đường lên men như glucose, fructose, sucrose và có độ pH thấp 3,0 - 3,5 chủ yếu là do sự có mặt của acid citric (Ardhana và Fleet, 2003).

Hiện nay có 3 vùng chính trên thế giới trồng ca cao là Nam Mỹ (Brazil, Ecuador), Tây Phi (Bờ biển Ngà, Ghana, Cameroon, Nigeria) và Đông Nam Á (Indonesia, Malaysia, Việt Nam).

#### **1.2. Kỹ thuật canh tác cây ca cao**

##### **1.2.1. Mật độ trồng cây ca cao**

Trồng ca cao ở mật độ 3 x 3m là trồng thuần (1.100 cây/ha). Khi trồng xen thì mật độ ca cao có thể chỉ đạt 600 - 1000 cây/ha (Nguyễn Văn Uyển, 2008).

##### **1.2.2. Mô hình canh tác cây ca cao**

Cây ca cao có thể trồng thuần hoặc trồng xen với cây điều, dừa và các loại cây ăn trái khác.

#### **1.3. Tình hình phát triển ca cao ở Việt Nam**

Theo số liệu của Cục trồng trọt, hiện cả nước có 11.229 ha ca cao. Trong đó, 70% diện tích đang cho thu hoạch, diện tích trồng thuần chiếm khoảng 10%, trồng xen 90%.

#### **1.4. Các giống ca cao được trồng trên thế giới hiện nay**

Trên thế giới, ca cao có nhiều dòng, nhóm. Ba giống trồng phổ biến hiện nay là Forastero, Criollo và Trinitario, các giống thể hiện sự khác biệt trong sự xuất hiện của quả, năng suất hạt, và khả năng kháng sâu bệnh (Wood và Lass, 1985).

Ở Việt Nam, các giống ca cao đang trồng phổ biến hiện nay là hỗn hợp các dòng Trinitario đã được Bộ Nông nghiệp và PTNT công nhận để trồng đại trà.

#### **1.5. Vai trò các loại chất khoáng chính đối với cây ca cao**

##### **1.5.1. Đạm**

Đây là thành phần quan trọng trong tất cả bộ phận của cây và đặc biệt cần thiết cho sự sinh trưởng dinh dưỡng. Sự hiện diện thường xuyên của đạm trong đất rất cần thiết cho việc mọc lá mới và sự phát triển của trái ca cao.

##### **1.5.2. Lân**

Cây ca cao chỉ cần một lượng nhỏ lân. Bón lót phân lân trong hố trước khi trồng sẽ giúp cây tăng trưởng tốt trong giai đoạn đầu. Ở đất chua nếu bón dạng lân dễ tiêu thường bị giới hạn bởi việc cố định do các phản ứng hóa học.

##### **1.5.3. Kali**

###### **1.5.3.1. Kali trong đất**

Trong các loại đất nhiệt đới, hàm lượng K tổng số có thể khá thấp do nguồn gốc phát sinh của đất, mưa nhiều và nhiệt độ liên tục cao (Lê Văn Dũ, 2003).

###### **1.5.3.2. Đặc tính chức năng sinh lý của kali**

Kali là nguyên tố dễ dàng vận chuyển qua màng tế bào, có tính linh động cao, chúng đóng vai trò chính tạo cơ chế đóng mở khí khổng, cơ chế vận động của lá. Kali tham gia vào quá trình vận chuyển điện tử, tăng cường quá trình tạo ra năng lượng cho tế bào. Về mặt sinh hóa, người ta đã phát hiện kali tham gia vào thành phần của trên 50 enzyme khác nhau. Kali thúc đẩy quá trình tổng hợp hữu cơ và quang hợp, tăng độ ngọt sản phẩm. Đôi khi tồn tại dạng liên kết không bền với hợp chất hữu cơ. Sự hấp thụ kali bị tác động bởi Na (Na đối kháng với K).

Kali là một trong những khoáng chất thiết yếu trong số các chất dinh dưỡng của thực vật được cây trồng hấp thụ từ dung dịch đất dạng ion qua rễ cây. Kali có liên quan đến

nhiều quá trình sinh lý như kiểm soát sự tăng trưởng của cây trồng, năng suất và các thông số chất lượng như đường, tính acid có thể định lượng (TA), chất rắn hoà tan (SS), tổng chất rắn hoà tan (TSS), hương vị, màu sắc, độ cứng và độ mịn của trái cây (Wuzhong, 2002; Lester và ctv, 2005).

Việc vận chuyển các chất của quá trình quang hợp phụ thuộc vào kali di động tập trung trong tế bào (Archer, 1985; Fageria, 1942).

Bón phân K sẽ làm hạt chắc, khối lượng hạt tăng, củ mẩy, tăng hàm lượng tinh bột và đường trong sản phẩm, tăng năng suất kinh tế và phẩm chất nông sản (Hoàng Minh Tấn và ctv 2004).

### **1.6. Nhu cầu phân bón cho cây ca cao giai đoạn kinh doanh**

Nhu cầu bón kali cho cây trồng căn cứ trên: loại cây trồng và năng suất dự định thu hoạch; tính chất đất; tập quán sử dụng phân hữu cơ của từng địa phương. Ở vùng nhiệt đới mưa nhiều, đất phong hóa mạnh, các khoáng nguyên sinh đều phân rã gần hết đất thường nghèo kali hơn các vùng ôn đới. Đất xám bạc màu trên phù sa cổ là loại đất rất cần bón phân kali.

Từ năm thứ tư trở đi, cây bắt đầu đi vào giai đoạn kinh doanh. Bón phân ở thời kỳ này giúp cây vẫn duy trì sự sinh trưởng và bù trả lại lượng dinh dưỡng cây lấy đi để tạo trái và hạt. Trong thời kỳ kinh doanh nhu cầu sử dụng kali cao hơn nhiều so với thời kỳ kiến thiết cơ bản. Lượng phân cần bón tùy thuộc vào điều kiện đất đai tại chỗ và sản lượng ca cao thu hoạch. Nguyên tắc bón phân cho ca cao trong giai đoạn kinh doanh là dựa vào lượng dinh dưỡng mà cây trồng lấy đi để tạo trái và sự thất thoát do các yếu tố môi trường tác động.

### **1.7. Một số loại sâu, bệnh hại thường xuất hiện trên cây ca cao thời kỳ kinh doanh**

Sâu hại cây chủ yếu là côn trùng như: mối, bọ xít muỗi, rệp sáp, bọ cánh cứng, sâu ăn lá (sâu bao, sâu khoang, sâu đo xám), ....

Bệnh hại cây chủ yếu là do nấm gây ra, phổ biến nhất là bệnh *Phytophthora*, bệnh khô cành, nấm hồng... đây là những đối tượng có thể phòng trừ.

### **1.8. Thu hoạch và sơ chế ca cao**

Chỉ nên thu hoạch trái khi vừa chín (vỏ có màu vàng hoặc đỏ cam tùy theo giống) vì trái chín thuận lợi cho việc lên men, hàm lượng bơ trong hạt cao và có hương thơm tốt nhất. Nếu hái trái khi chưa chín thì vỏ cứng khó tách, khi lên men hạt bị chai, xám, Nếu để trái quá chín rất dễ bị sâu, bệnh, chuột, sóc phá hại hay nảy mầm trong trái.

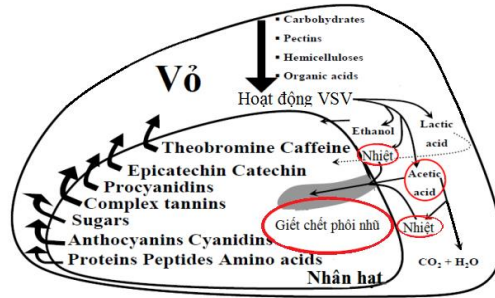
#### **1.8.1. Lên men hạt ca cao tươi**

Hạt ca cao chưa lên men thì rất chát và đắng, hoàn toàn không có hương vị và mùi thơm của chocolate. Quá trình lên men được thực hiện do sự xâm nhập của các vi sinh vật từ bề mặt của vỏ ca cao, dụng cụ lên men, tay của người lao động, côn trùng, không khí và đất, bao gồm nấm men, vi khuẩn acid acetic, vi khuẩn acid lactic và vi khuẩn *Bacillus* spp. (Dougan và ctv, 1981; Carr và ctv, 1979; Schwan, 1998; Nielsen và ctv, 2007b; Camu và ctv, 2007).

#### **1.8.2. Sự tham gia của vi sinh vật trong quá trình lên men hạt ca cao**

Các nhóm vi sinh vật chủ yếu tham gia quá trình lên men hạt ca cao là nấm men, vi khuẩn acid lactic (LAB) và vi khuẩn acid acetic (AAB). Nấm men tham gia vào quá trình hình thành ethanol từ đường trong giai đoạn đầu của quá trình lên men, khi khối lượng lớp cơm nhầy tạo điều kiện kỵ khí, độ pH và nhiệt độ thấp (Ardhana và Fleet, 2003; Camu và ctv, 2007, 2008a). Ngoài ra, nấm men đóng góp lớn cho pectinolysis để loại bỏ cơm nhầy, cho phép xâm nhập không khí vào trong khối cơm nhầy, hạt ca cao (Schwan và ctv, 1995; Schwan và Wheals, 2004). Vi khuẩn acid lactic sản xuất chủ yếu là acid lactic làm tăng nhẹ độ pH của hạt ca cao (Camu và ctv, 2007, 2008a). Vi khuẩn acid acetic xuất hiện ở giai đoạn sau của quá trình lên men, khi oxy thẩm thấu khối lượng hạt, chủ yếu là oxy hóa ethanol sản xuất bởi nấm men thành acid acetic (Camu và ctv, 2007, 2008a).

### 1.8.3. Các biến đổi hoá sinh trong quá trình lên men hạt ca cao



(De Vuyst và cv, 2010)

#### Hình 1.1. Những biến đổi sinh hóa trong nhân hạt

Hiệu quả quan trọng nhất của quá trình ủ hạt cacao là sự xuất hiện của những tiền chất của hương vị chocolate. Theo Rohan (1958) những chất đường khử tìm thấy trong hạt cacao đã lên men là một thành phần của các tiền chất. Chỉ có những tiền chất này mới truyền cho hạt cacao khi rang có hương vị chocolate. Các tiền chất ấy không hề có sẵn trong các loại tế bào của phôi nhũ khi hạt cacao còn tươi, mà chỉ được sinh ra trong quá trình lên men.

#### 1.8.4. Làm khô hạt ca cao

Sau khi ủ ẩm độ của hạt ca cao khoảng 55 - 60% và ẩm độ này cần phải giảm xuống đến giá trị 6 - 7% mới bảo quản an toàn được. Mục đích của việc phơi sấy, ngoài việc hạ thấp ẩm độ nhằm ngăn ngừa mốc phát triển còn để hoàn tất các biến đổi hóa học xảy ra tiếp tục bên trong hạt sau thời kỳ lên men để tạo hương vị đặc trưng cho ca cao.

### 1.9. Một số kết quả nghiên cứu trong nước và trên thế giới liên quan lĩnh vực nghiên cứu của đề tài

#### 1.9.1. Nghiên cứu về ảnh hưởng của kali đến việc tích lũy đường trên thực vật

Nghiên cứu của Trung tâm Nghiên cứu Quốc gia, Ai Cập, 2009: phân kali bón lá sẽ làm thay đổi lượng đường hòa tan so với lô đối chứng không bón kali trên cây tùng bách.

Lester (2005): đường tổng số trong trái cây được bón kali hàng tuần cao hơn đáng kể (8%) so với trái cây không được bón kali (fructose cao hơn 17% và glucose cao hơn 8%).

Sử dụng phân bón K ở giai đoạn phát triển trên cây cà phê làm cho quả cà phê thay đổi màu sắc và tích lũy đường (Jeremy, 2008).

Lifang và ctv (2001) đã thực hiện một nghiên cứu về ảnh hưởng của của việc bón phân kali tới năng suất và chất lượng đường trên cây mía. Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra hàm lượng đường bị ảnh hưởng bởi hầu hết các hàm lượng phân bón kali khi mà các chất dinh dưỡng khác đã đầy đủ.

Bón kali cho cây ăn trái như dâu, dưa hấu... trái cây ngọt, màu sắc được cải thiện, và chất lượng trái cây tăng (John và Lester, 2007).

#### 1.9.2. Nghiên cứu sử dụng vi sinh vật để định hướng cho quá trình lên men hạt ca cao

Dircks (2009) đã phân lập được từ khối ủ ca cao tự nhiên ở Úc các chủng nấm men chính là *Hanseniaspora guillermondii*, *Idastrandia orientalis* và *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia membranifaciens* cũng được phân lập từ một số lượng nhỏ của quá trình lên men.

#### 1.9.3. Nghiên cứu biện pháp kỹ thuật làm khô hạt ca cao

Law và Cloke (2009) đã nghiên cứu phương pháp làm khô hạt bằng không khí nóng. Phân tích pH và kiểm tra cắt hạt cho thấy chất lượng hạt ca cao khô sấy ở 60°C có độ acid thấp hơn và chất lượng hương vị tốt hơn so với các nhiệt độ sấy khác.

Nghiên cứu của Guehi và ctv, 2010: hạt ca cao được phơi khô bằng năng lượng mặt trời từ 9 giờ sáng đến 6 giờ chiều hàng ngày trong 1 tuần và sau đó sấy khô lại trong lò sấy ở 60°C

có chất lượng tương đương với ca cao phơi nắng. Cả hai nghiệm thức này đều có chất lượng tốt hơn so với ca cao chỉ sấy khô trong lò sấy ở 60°C.

## **Chương 2**

### **NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP**

#### **2.1. Nội dung nghiên cứu**

- Nội dung 1: Điều tra về hiện trạng canh tác và chất lượng của ca cao Việt Nam.
- Nội dung 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của loại và liều lượng phân bón kali đến hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi và năng suất trái của vườn cây ở giai đoạn kinh doanh.
- Nội dung 3: Chủ động bổ sung các dòng nấm men đã được phân lập từ khối ủ hạt ca cao tự nhiên vào các khối ủ lên men hạt với mục tiêu xác định loài nấm men thích hợp nhằm từng bước kiểm soát quá trình lên men hạt ca cao chất lượng.
- Nội dung 4: Chủ động giảm hàm lượng đường trong cơm nhầy trước khi lên men bằng phương pháp ép hạt loại bớt dịch cơm nhầy nhằm giảm lượng acid hình thành trong quá trình lên men để giảm chua cho hạt thành phẩm.
- Nội dung 5: Nghiên cứu cải tiến một số biện pháp kỹ thuật làm khô hạt ca cao đã lên men theo hướng giảm lượng acid tồn dư cho hạt thành phẩm.
- Nội dung 6: Đề xuất cải tiến quy trình sản xuất ca cao chất lượng tại Việt Nam.

#### **2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm**

##### **2.2.1. Nội dung 1:**

Khảo sát kỹ thuật canh tác ca cao của các nông hộ: Chọn điểm khảo sát tại ba tỉnh có trồng ca cao đại diện cho ba khu vực trồng ca cao chủ yếu ở Việt Nam là Đồng Nai (Miền Đông Nam Bộ); Đắk Lắk (Tây Nguyên), Bến Tre (Đồng bằng Sông Cửu Long). Mỗi điểm phỏng vấn 50 hộ nông dân.

##### **2.2.2. Nội dung 2:**

Có hai thí nghiệm đồng ruộng được bố trí thực hiện song song, thí nghiệm thứ nhất trên vườn ca cao của huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng, thí nghiệm thứ hai trên vườn thực nghiệm ca cao Trảng Bom, tỉnh Đồng Nai.

Phương pháp bố trí thí nghiệm đồng ruộng

- Thí nghiệm hai yếu tố được bố trí theo kiểu có lô phụ.
- + Lô chính (A) gồm ba loại phân bón kali:
  - A1: KCl, A2: KNO<sub>3</sub>, A3: K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- + Lô phụ (B) gồm sáu lượng phân kali
  - B1: 160, B2: 260, B3: 360, B4: 460, B5: 560 (đối chứng) và B6: 660 kg K<sub>2</sub>O/ha
- Diện tích ô thí nghiệm : 114 m<sup>2</sup>, mỗi ô có 16 cây (4 x 4), 3 lần nhắc lại.
- Kỹ thuật sử dụng:
  - + Lượng đạm (N) và lân (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) bón ở mức 297 kg N và 209 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha/năm, tương ứng với lượng 660 kg urê và 1.320 kg supe lân/ha/năm.
  - + Công thức thí nghiệm bón phân KNO<sub>3</sub>, lượng phân urê bón bổ sung cho các ô thí nghiệm lần lượt là 550, 473, 407, 330, 264, 198 kg/ha/năm do đã trừ đi lượng đạm có sẵn trong phân KNO<sub>3</sub>.
  - + Phân lân được bón trước phân đạm và kali một tuần. Phân kali và urê được trộn chung trước khi bón.
  - + Lượng phân được bón thành 3 đợt trên năm vào các thời điểm.

##### **Chỉ tiêu phân tích:**

- Xác định hàm lượng một số chất dinh dưỡng chủ yếu trong đất vườn trước khi bố trí các công thức của nghiên cứu. Các chỉ tiêu: Độ ẩm (%), pH (H<sub>2</sub>O), N tổng số (%), N dễ

tiêu (mg/100 g), P tổng số (%), P dễ tiêu (mg/100 g),  $K^+$  (mg/100 g), Carbon hữu cơ (mg/100 g),  $Ca^{2+}$  (mg/100 g),  $Mg^{2+}$  (mg/100g).

+ Phương pháp thu thập mẫu đất: Thực hiện theo Thông tư số 33/2011/TT-BTNMT của Bộ Tài nguyên môi trường ra ngày 01/8/2011 về quy định quy trình kỹ thuật quan trắc môi trường đất.

- Tình hình sâu, bệnh trên vườn cây trong quá trình thí nghiệm dựa vào tỷ lệ cây bị nhiễm bệnh từ đó đánh giá mức độ gây hại cho vườn cây.

$$\text{Tỷ lệ cây bị hại} = \frac{\text{Tổng số cây bị nhiễm sâu (bệnh) hại}}{\text{Tổng số cây của vườn thí nghiệm}} * 100\%$$

Từ tỉ lệ đánh giá mức độ phổ biến của sâu, bệnh theo thang phân cấp sau:

Ít phổ biến: tần suất bắt gặp từ 0 - 25% (+)

Phổ biến: tần suất bắt gặp từ 25 - 50% (++)

Rất phổ biến: tần suất bắt gặp > 50% (+++)

(Theo phương pháp nghiên cứu của Nguyễn Thị Phượng và ctv, 2010)

- Năng suất hạt ca cao (kg/ha)

Thu hoạch trái chín theo từng ô thí nghiệm, đếm số trái chín của từng ô, tính trọng lượng trái tươi; trọng lượng hạt ướt, trọng lượng hạt khô/ô.

- Hàm lượng đường tổng số trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi (%)

+ Cách thức lấy mẫu:

Phương pháp lấy mẫu theo TCVN 9017 : 2011 (lấy mẫu đơn theo đường chéo, mỗi ô gồm 16 cây nhưng chỉ thu trái của 4 cây ở 4 góc của đường chéo ô vuông nhỏ bên trong).

- Phân tích hàm lượng đường tổng số bằng phương pháp Bertrand.

$$\text{Tỷ lệ hạt khô/hạt tươi} = \frac{\text{Trọng lượng hạt đã lên men phơi khô}}{\text{Trọng lượng của hạt tươi chưa lên men}} * 100\%$$

- Xác định số lượng hạt trong 100 g:

$$\text{Số đếm hạt} = \frac{\text{Số lượng hạt nguyên}}{\text{Khối lượng hạt nguyên}} * 100\%$$

- Xác định tạp chất

$$\text{Rác thải ca cao} = \frac{\text{Khối lượng tạp chất}}{\text{Khối lượng hạt mẫu}} * 100\%$$

$$\text{Hiệu suất thu hồi} = \frac{\text{Trọng lượng hạt đã lên men phơi khô}}{\text{Trọng lượng của trái tươi}} * 100\%$$

- Hiệu quả kinh tế:

+ Lợi nhuận tăng thêm/năm = Tổng thu tăng thêm/năm - Tổng chi phí tăng thêm/năm;

$$\text{Tỷ suất lợi nhuận} = \frac{\text{Lợi nhuận}}{\text{Chi phí}}$$

Chỉ tiêu này phản ánh cứ một đồng chi phí bỏ ra thì sẽ thu được bao nhiêu đồng lợi nhuận. Chỉ tiêu này càng lớn thì chứng tỏ tính hiệu quả kinh tế càng cao.

### 2.2.3. Nội dung 3:

#### 2.2.3.1. Thí nghiệm 1: Phân lập nấm men từ khối ủ hạt ca cao

Các bước phân lập nấm men

- Lấy mẫu: lấy ngẫu nhiên 0,5 kg hạt trong thùng ủ ca cao tự nhiên ở thời điểm 24 h, 48 h; 72 h tính từ lúc bắt đầu lên men hạt cho vào túi nilon đựng mẫu, bảo quản ở 4°C, chuyển về Viện nghiên cứu khoa học Tây Nguyên, Đà Lạt để tiến hành phân lập nấm men.

- Chuẩn bị mẫu cấy: Trộn đều túi đựng hạt mẫu, cân 250 g hạt, cho vào 250 mL dung dịch Peptone 0,1% bóp mạnh để tách riêng phần dịch cơm nhầy.

- Pha loãng mẫu để có dịch mẫu có độ pha loãng  $10^{-1}, 10^{-2}, \dots, 10^{-6}$ .
- Chuẩn bị môi trường nuôi cấy: Môi trường Sabourau, pH = 7
- Cấy mẫu: Dùng pipet vô trùng chuyển 0,1 mL dịch mẫu pha loãng vào giữa đĩa petri chứa môi trường vô trùng (tương ứng mỗi độ pha loãng cấy 2 đĩa) rồi để vào tủ ấm  $25^{\circ}\text{C}$  trong 4 - 5 ngày.

- Làm thuần: Cấy chuyển các mẫu nấm men trên môi trường Sabouraud trong đĩa petri cho đến khi không còn nhiễm các loại khuẩn lạc khác thì cấy trên môi trường thạch nghiêng trong ống nghiệm thành đường ziczắc. Mỗi mẫu cấy 10 ống nghiệm.

- Xác định số lượng các loài nấm men sau khi làm thuần.

### 2.2.3.2. Thí nghiệm 2: Định danh các chủng nấm men đã được phân lập

Các loài nấm men sau khi làm thuần được định danh bằng giải trình tự gen 16S, 28S rRNA và tra cứu trên BLAST SEARCH để định danh theo phương pháp PSJ được hướng dẫn trong tài liệu Sức khỏe cộng đồng của Hiệp hội Dược phẩm Nhật Bản (Pharmaceutical Society of Japan, 2002).

### 2.2.3.3. Thí nghiệm 3: Xác định số tế bào nấm men có trong bột nhão

Đếm số lượng tế bào nấm men bằng phương pháp đếm trực tiếp dưới kính hiển vi, sử dụng buồng đếm hồng cầu (của Hirschmann, Đức; rãnh sâu 0.1 mm, diện tích ô đếm  $0.0025 \text{ mm}^2$ ). Mỗi mẫu đếm lặp lại 03 lần, ở cùng độ pha loãng phù hợp.

### 2.2.3.4. Thí nghiệm 4: Lên men chủ động bổ sung nấm men vào khối ủ hạt ca cao

+ Nguyên liệu là hạt ca cao ướt từ hỗn hợp các dòng Trinitario. Thí nghiệm 1 yếu tố, 6 công thức, mỗi công thức 35 kg hạt ca cao tươi được ủ trong các thùng bằng gỗ để lên men hạt, cụ thể: CT1: Lên men tự nhiên (đối chứng); CT2: Bổ sung nấm men *Saccharomyces ludwigii* có mật độ  $4,3 \times 10^9$  CFU/g; CT3: Bổ sung nấm men *Schizosaccharomyces pombe* có mật độ  $1,2 \times 10^{10}$  CFU/g; CT4: Bổ sung nấm men *Saccharomyces cerevisiae* có mật độ  $1,5 \times 10^{10}$  CFU/g; CT5: Bổ sung nấm men *Pichia kudriavzevii* có mật độ  $2,5 \times 10^{10}$  CFU/g; CT6: Bổ sung nấm men *Candida tropicalis* có mật độ  $2,6 \times 10^9$  CFU/g.

Các thùng ủ được bố trí sắp xếp hoàn toàn ngẫu nhiên trong phòng có mái che và tường bao quanh. Thời gian lên men 120 h, đảo trộn 1 lần tại thời điểm lên men được 48 h.

#### Các chỉ tiêu theo dõi

- **Trong quá trình lên men:** Nhiệt độ khối hạt đo bằng nhiệt kế điện tử cầm tay, cứ sau 24 h đo một lần tại 3 điểm chéo góc của thùng lên men, ở độ sâu 10 cm; pH cơm nhày (bóc cơm nhày của 30 hạt ca cao, cho thêm nước cất theo tỉ lệ 1:1 về trọng lượng rồi xay nhuyễn để đo); pH nhân hạt (bóc lấy nhân của 30 hạt ca cao, cho thêm nước cất theo tỉ lệ 1:1 về trọng lượng rồi xay nhuyễn để đo). Đo pH cơm nhày và pH nhân hạt bằng máy đo pH - 2012, đo 1 lần/ngày, mỗi lần đo lặp lại ba lần theo phương pháp của Ardhana và Fleet (2003).

#### - Phân tích chất lượng hạt khô

### 2.2.4. Nội dung 4:

Thí nghiệm đơn yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, sáu công thức và ba lần lặp lại.

CT1: không ép (đối chứng), CT2: ép 4%, CT3: ép 7% , CT4: ép 10%, CT5: ép 13%, CT6: ép 16%.

Thí nghiệm gồm 6 công thức x 3 lần lặp lại = 18 ô cơ sở; mỗi ô cơ sở là một thùng; mỗi thùng chứa 50 kg hạt tươi. Tổng khối lượng hạt sử dụng  $50 \times 6 \times 3 = 900 \text{ kg}$ . Các thùng chứa hạt được ủ lên men trong 120h, đảo trộn 1 lần vào thời điểm lên men được 48 h.

Chỉ tiêu theo dõi và phương pháp phân tích như thí nghiệm 5 (mục 2.4.3.5)

### 2.2.5. Nội dung 5:

#### 2.2.5.1. Thí nghiệm 1: Làm khô hạt bằng phương pháp sấy

Thí nghiệm hai yếu tố, gồm 18 công thức, ba lần lặp lại.



- Yếu tố A: Khối lượng dịch nhày ép từ 50 kg hạt tươi  
E<sub>0</sub>: không ép (đối chứng); E<sub>1</sub>: 2,0 kg; E<sub>2</sub>: 3,5 kg; E<sub>3</sub>: 5,0 kg; E<sub>4</sub>: 6,5 kg; E<sub>5</sub>: 8,0 kg.

- Yếu tố B: nhiệt độ sấy

T<sub>1</sub>: 50°C, T<sub>2</sub>: 60°C và T<sub>3</sub>: 70°C.

Số ô cơ sở: 18 x 3 = 54 ô. Số lượng hạt sau lên men/ô cơ sở: 2,0 kg.

Tổng khối lượng hạt sử dụng cho thí nghiệm : 2 x 54 = 108 kg.

**Các chỉ tiêu theo dõi:** pH hạt khô; Hàm lượng acid lactic và acid acetic hạt khô (%)

### 2.2.5.2. Thí nghiệm 2: Làm khô hạt bằng phương pháp phơi

Thí nghiệm 2 yếu tố.

Yếu tố A là khối lượng hạt phơi/m<sup>2</sup>: K<sub>1</sub>: 10kg; K<sub>2</sub>: 20kg; K<sub>3</sub>: 30 kg.

Yếu tố B là cách thức phơi (phơi trực tiếp hoặc phơi gián tiếp): L<sub>0</sub>: Phơi trực tiếp; L<sub>1</sub>: giảm cường độ chiếu sáng còn 50% (Sử dụng lưới che nắng loại che nắng 50%, ánh nắng chỉ lọt xuống dưới 50%); L<sub>2</sub>: giảm cường độ chiếu sáng còn 40% (Sử dụng lưới che nắng loại che nắng 60%, ánh nắng chỉ lọt xuống dưới 40%).

+ Thí nghiệm lặp lại 3 lần. Số nghiệm thức: 3 x 3 = 9. Khối lượng hạt sử dụng cho thí nghiệm: (10 x 3) + (20 x 3) + (30 x 3) = 180 kg

**Các chỉ tiêu theo dõi:** pH hạt khô; Hàm lượng acid lactic và acid acetic hạt khô (%)

Thời gian thực hiện: năm 2014, 2015

### 2.2.6. Đề xuất cải tiến quy trình sản xuất ca cao nguyên liệu tại Việt Nam

Dựa vào các kết quả thí nghiệm, đề xuất cải tiến quy trình sản xuất ca cao nguyên liệu tại Việt Nam.

### 2.3. Phương pháp xử lý số liệu

- Sử dụng phần mềm SAS phiên bản 9.1.3 để:

+ T-test để so sánh sự khác biệt giá trị trung bình giữa các kết quả khảo sát.

+ Phân tích ANOVA để đánh giá sự khác biệt giữa các công thức, xếp nhóm tương tác các nghiệm thức, các trung bình tương tác Dunnett.

+ Phân tích hồi quy để xác định quan hệ giữa loại, lượng phân bón kali với hàm lượng đường trong cơm nhày hạt ca cao tươi và năng suất hạt khô/ha, chọn tương quan hồi qui nào có giá trị  $p < 0,05$  hoặc  $p < 0,01$ .

- Xử lý số liệu và vẽ đồ thị bằng Excel.

## Chương 3

### KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Khảo sát về hiện trạng canh tác và sơ chế ca cao ở một số vùng trồng ca cao nhiều ở Việt Nam

Kết quả thống kê từ phiếu khảo sát các nông hộ ở Đồng Nai, Đắk Lắk, Bến Tre cho thấy:

- Kết quả khảo sát về loại cây giống ca cao trồng tại các nông hộ cho thấy ở Đồng Nai 100% số hộ dùng giống ghép có nguồn gốc rõ ràng. Một số hộ gia đình ở Đắk Lắk (6%) và một số hộ gia đình ở Bến Tre (4%) sử dụng giống thực sinh từ hạt lai F1. Không có hộ nào trồng loại giống thực sinh tự gieo ươm.

- Kết quả thống kê chỉ ra rằng qui mô sản xuất từng hộ nhỏ, số hộ canh tác có diện tích trên 1 ha rất ít, 2% số hộ ở Đồng Nai, 2% số hộ ở Đắk Lắk có diện tích vườn ca cao trên 10.000 m<sup>2</sup>. 74% số hộ ở Đồng Nai, 86% số hộ ở Đắk Lắk có diện tích vườn ca cao từ 5.000 – < 10.000 m<sup>2</sup>. Ở Bến Tre diện tích trồng ca cao của các nông hộ nhỏ, chủ yếu trồng xen với cây ăn quả khác, có đến 82% số hộ có diện tích trồng ca cao dưới 3.000 m<sup>2</sup> nên sản xuất manh mún, thiếu tính đồng bộ về chăm sóc đầu tư, kỹ thuật canh tác không đồng nhất, thị trường tiêu thụ thiếu ổn định, luôn chịu áp lực cạnh tranh với các cây trồng khác.

- Mô hình canh tác ca cao: Ở Bến Tre 92% số hộ trồng ca cao xen với cây dứa, 8% số

hộ trồng ca cao xen với cây bưởi. Ở Đắk Lắk hầu hết các nông hộ được khảo sát chủ yếu trồng thuần (96% số hộ), trong vườn chỉ trồng xen cây che bóng, có 4% số hộ trồng xen với cây điều. Khu vực Đồng Nai phát triển cây ca cao sau này nên chủ yếu là trồng thuần (74% số hộ), có 24% số hộ trồng ca cao xen với cây điều và 2% số hộ trồng xen với cây ăn quả khác như đu đủ, chuối.

- Năng suất hạt: năng suất đạt được của các nông hộ vẫn ở mức thấp, những vườn trồng giống ghép có nguồn gốc rõ ràng như ở Bến Tre, Đồng Nai năng suất đạt được của nông hộ vẫn thấp hơn kỳ vọng của giống. Ở Đắk Lắk mặc dù các vườn khảo sát chủ yếu là trồng thuần, nhưng một số vườn năng suất không cao, năng suất đặc biệt thấp ở vườn của nông hộ là người đồng bào dân tộc thiểu số, các vườn trồng giống thực sinh.

- Thu hoạch trái tươi

+ Hái trái: có 64% số hộ trồng ca cao thu hoạch trái khi đã chín, 36% số hộ thu hoạch trái đồng loạt dẫn đến chất lượng hạt sau lên men không ổn định. Mặc dù khi hái trái và trữ trái, quá trình chín trái và chín tiếp của hạt vẫn tiếp tục xảy ra, nhưng trái non thì hạt non không thể chín tiếp và hạt khô dần tạo vị lạ, mùi kém khi ủ men chung với hạt chín (Lê Quang Hưng, 2012).

+ Trữ trái: Sau khi thu hoạch, trái được cất trữ 5 - 7 ngày. Việc lưu trữ trái nằm trong khuyến cáo nâng cao chất lượng hạt ca cao sau lên men. Trên thực tế, qua khảo sát có 38,67% số hộ trữ trái theo khuyến cáo, 61,33% số hộ trữ trái do lượng trái hái mỗi lần không đủ cho một thùng lên men, do chưa tìm được công lao động đập trái, Một số giống khi trái chín nảy mầm trong trái như dòng TD1 và TD6 cần thu hoạch khi trái vừa chín và trữ trái trước khi đập vỏ cho lên men với thời gian ngắn hơn, nếu để lâu hạt nảy mầm nhiều (Lê Quang Hưng, 2012).

- Sơ chế hạt tươi

+ Xử lý hạt ướt: Kết quả thống kê cho thấy 100% số hộ sau khi tiến hành đập trái, tách hạt thì trộn đều cho vào thùng ủ lên men. 4% số hộ ép hạt để lấy dịch cơm nhậy lên men rượu để tận dụng chế biến thêm sản phẩm phụ là rượu ca cao

+ Lên men hạt: Theo quy trình lên men truyền thống thì quá trình lên men từ 5 - 7 ngày nhưng chỉ có 4,67% số hộ thực hiện việc lên men hạt trong thời gian trên 4,5 ngày và có đến 95,33% số hộ thực hiện lên men dưới 4,5 ngày. Trong quá trình lên men có hộ đảo trộn 1 lần (8,67% hộ), có hộ đảo trộn 2 lần (91,33% hộ), không có hộ đảo trộn 3 lần.

- Làm khô hạt: 31,33% số hộ phơi trực tiếp trên sân xi măng, 10% số hộ phơi trên bạt nhựa để dễ gom hạt cuối buổi chiều, để tủ lại khi trời mưa bất chợt 58,67% số hộ phơi hạt trên giàn có mái che nên đảm bảo chất lượng cho hạt khô từ từ, trong quá trình phơi hạt vẫn tiếp tục chuyển hóa tạo tiền chất hương vị cho hạt ca cao, hạt sạch không bị nhiễm mùi lạ. Không có hộ nào sử dụng phương pháp sấy.

- Sử dụng phân bón cho cây ca cao

Qua số liệu thu thập được có thể thấy mức đầu tư phân bón cho ca cao có sự khác nhau giữa các vùng miền và các hộ sản xuất. Có nhiều hộ không đầu tư phân bón cho ca cao nên năng suất rất thấp tương đương 40kg hạt khô/ha nhất là các vườn ca cao trồng xen với cây điều và hộ sản xuất là hộ nghèo, cận nghèo, hộ đồng bào dân tộc thiểu số. Lượng phân bón không căn cứ vào khuyến cáo mà phụ thuộc kinh nghiệm, khả năng tài chính của gia đình. Rất ít hộ bón phân vi sinh, có hộ không bón phân hữu cơ và vôi để cải tạo đất nếu có là do gia đình có kèm theo chăn nuôi. Kết quả khảo sát phù hợp với kết quả nghiên cứu của Viện Khoa học Kỹ thuật Nông lâm nghiệp Tây Nguyên năm 2013.

Đa số người dân bón phân ít và bón rải trên mặt đất khi trời mưa do không có kinh phí đầu tư, không có nhân công lao động trong gia đình, thiếu kiến thức về phân bón và nhằm giảm kinh phí đầu tư nên đạt hiệu quả thấp. Một số ít hộ gia đình đã đầu tư hệ thống tưới nhỏ giọt,

chia lượng bón phân cần thiết cho một cây/ năm thành nhiều đợt nên đạt được kết quả cao.

- Một số loại sâu bệnh trên cây ca cao thường gặp: Các loại sâu bệnh thường xuất hiện trên cây ca cao là thối trái do *Phytophthora*; Rệp sáp *Planococcus citri*; Bọ xít muỗi *Helopeltis* xuất hiện tỷ lệ 100% ở tất cả các vườn, các địa điểm được khảo sát. Các loại sâu bệnh khác như bệnh khô thân (63,33%), bệnh vết sọc đen (12,67%), bệnh nấm hồng (10,67%) xuất hiện ở mức độ ít ở một số khu vực. Kết quả khảo sát tương tự báo cáo trước đó của Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên, 2011.

- Tình hình sử dụng thuốc bảo vệ thực vật tại các nông hộ: Các hộ sản xuất ca cao sử dụng thuốc hóa học bảo vệ thực vật là chính. Có 89,33% số hộ sử dụng thuốc bảo vệ thực vật khi xuất hiện sâu, bệnh. Có 10,67% số hộ phun thuốc định kỳ, không có vườn cây áp dụng thiên địch.

### 3.2. Đánh giá chất lượng ca cao thành phẩm qua một số chỉ tiêu phân tích

- Số hạt/100 gam: Số hạt/100 g của ca cao Việt Nam (98,6 hạt) nhiều hơn ca cao Ghana 90 - 95 hạt do tỉ lệ com nhầy của hạt ca cao Việt Nam lớn ngoài ra còn phụ thuộc vào điều kiện tự nhiên như nước, dinh dưỡng, giống. Nhìn chung, hạt ca cao các vùng khảo sát vẫn  $\leq 100$  hạt/100 g nên vẫn thuộc nhóm hạt 1A theo tiêu chuẩn xếp loại TCVN 7518 : 2005

- Các loại hạt lên men: Tỷ lệ hạt lên men đạt 79,93% (Ghana từ 75 – 80%). 20,07% hạt sau lên men xếp vào loại hạt xấu, trong đó hạt một phần tím/một phần nâu chiếm 14,28%. Tỷ lệ các loại hạt xấu sau khi được lên men và làm khô hạt đều nằm dưới ngưỡng quy định chất lượng hạt ca cao theo tiêu chuẩn TCVN 7518 : 2005.

- Tạp chất trong khối ủ

+ Theo kết quả khảo sát phân tích số liệu cho thấy tỷ lệ vỏ các vùng khảo sát từ 14,82% cao hơn tỉ lệ vỏ hạt của Ghana 11 - 13% một phần là do tỉ lệ com nhầy của hạt ca cao Việt Nam khá lớn chiếm 67,27% (ca cao Brazil tỉ lệ com nhầy 40% theo Schwan và ctv, 2004).

+ Tỷ lệ rác thải và vật lạ 1,58% điều này cho thấy quy trình sản xuất ca cao ở Việt Nam cần phải được chú trọng hơn từ khâu thu hoạch cho đến lên men và làm khô hạt để hạn chế tỉ lệ rác thải và vật lạ.

Kết quả khảo sát cho thấy nhiều nông hộ sản xuất nhỏ lẻ, hạn chế vốn đầu tư, sử dụng phân bón mất cân đối nghiêm trọng, lân bón quá nhu cầu của cây trong khi đó lượng kali bón dưới ngưỡng yêu cầu chỉ đạt tương đương 50 - 70% nhu cầu của cây, chưa nắm bắt tốt kỹ thuật sơ chế, bảo quản nên có thể ảnh hưởng đến chất lượng, giảm giá trị, gây thất thoát. Đây chính là những thách thức thật sự cho sự phát triển bền vững đối với cây ca cao ở Việt Nam.

### 3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của loại và lượng phân bón kali đến năng suất hạt cây ca cao trồng trên đất FRr ở huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng.

#### 3.3.1. Ảnh hưởng của loại, liều lượng phân kali đến năng suất hạt cây ca cao trồng trên đất FRr ở huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng.

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của loại và lượng bón phân kali đến năng suất hạt cây ca cao kinh doanh tại Lâm Đồng như sau:

**Bảng 3.1.** Ảnh hưởng của loại, liều lượng phân bón kali đến năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất FRr

Loại phân kali (A)	Liều lượng phân kali (B) kg $K_2O/ha$					
	160	260	360	460	560	660
<i>Đơn vị tính: kg hạt khô/ha</i>						
<b>Năm 2012</b>						
KCl	843 k	1.034 ij	1.287 bc	1.236 cde	1.170 def	1.016 ij
KNO <sub>3</sub>	953 j	1.078 f-i	1.320 bc	1.261cd	1.133fgh	1.041 hij
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1.063ghi	1.155 efg	1.478 a	1.371 b	1.261cd	1.159 efg

Loại phân kali (A)	Liều lượng phân kali (B) kg $K_2O/ha$					
	160	260	360	460	560	660
<b>Năm 2013</b>						
KCl	722 h	803 gh	1.313 def	1.100 efg	1.250 def	1.100 efg
KNO <sub>3</sub>	1.103 fgh	1.203 def	1.907 a	1.690 abc	1.536 bcd	1.397 c-f
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1.232 def	1.364 c-f	2.002 a	1.870 ab	1.463 cde	1.401 c-f

Các giá trị trung bình không có cùng ký tự theo sau cho biết sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ở mức  $p < 0,01$ ; CV (2012) = 3,49%; CV (2013) = 10,93%

Sự khác biệt về giá trị năng suất khi sử dụng loại, lượng phân kali khác nhau rất có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

Khi sử dụng loại phân KCl, KNO<sub>3</sub> và K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Bón ở mức 360 kg K<sub>2</sub>O/ha trên nền bón đạm (N<sub>2</sub>) và lân (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) là 297kg N<sub>2</sub>/ha/năm và 209 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg/ha/năm cho năng suất hạt cao nhất, nhưng khi sử dụng mức bón cao hơn ở cả 3 loại phân bón ka li trên, năng suất hạt có chiều hướng giảm.

Xét riêng từng loại phân kali thì bón phân K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> cho năng suất cao nhất, tiếp theo là bón phân KNO<sub>3</sub>, và bón KCl cho năng suất thấp nhất, sự khác biệt này rất có ý nghĩa về mặt thống kê.

Xét các mức bón phân kali khác nhau theo kết quả phân tích năng suất các ô thí nghiệm đạt cao nhất ở mức bón 360 kg K<sub>2</sub>O/ha/năm cho cả ba loại phân kali. Sự khác biệt về giá trị năng suất khi sử dụng các liều lượng phân kali khác nhau rất có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

### 3.3.2. Ảnh hưởng của loại, liều lượng phân kali đến năng suất hạt của cây cao trồng trên đất Ach bạc màu ở huyện Trảng Bom, tỉnh Đồng Nai

Phân tích ANOVA số liệu thu được cho kết quả xếp nhóm tương tác các nghiệm thức của yếu tố loại phân kali và liều lượng phân bón chia thành 10 nhóm a,b,c,d,e,f,g,h,I,j. Các trung bình tương tác Dunnett loại phân bón với từng liều lượng phân bón có ảnh hưởng và tương tác có ý nghĩa ( $p < 0,01$ ) đối với năng suất giữa các nghiệm thức.

Trình bày kết quả như sau:

**Bảng 3.2.** Ảnh hưởng của loại, liều lượng phân kali đến năng suất hạt cây cao trồng trên đất Ach

Loại phân kali (A)	Liều lượng phân kali (B) kg $K_2O/ha$					
	160	260	360	460	560	660
<i>Đơn vị tính: kg hạt khô/ha</i>						
<b>Năm 2012</b>						
KCl	671f	748 ef	1.232 bc	1.247 bc	1.221 bc	1.159 bc
KNO <sub>3</sub>	620 f	854 def	1.236 bc	1.386 ab	1.232 bc	1.107 bcd
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	836 ef	964 cde	1.258 b	1.613 a	1.309 b	1.159 bc
<b>Năm 2013</b>						
KCl	554 j	653 hij	719 ghi	1.210 c	1.034 d	858 ef
KNO <sub>3</sub>	627 ij	631 ij	759 g	1.283 bc	1.041 d	891 e
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	744 gh	770 fg	884 e	1.474 a	1.342 b	935 e

Các giá trị trung bình không có cùng ký tự theo sau cho biết sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ở mức  $p < 0,01$ ; CV (2012) = 10,08%; CV (2013) = 4,65%

Kết quả Bảng 3.2 cho thấy:

+ Loại phân kali bón cho cây cao trồng trên đất Ach có ảnh hưởng đến năng suất hạt của cây. Trong hai năm tiến hành thí nghiệm, các công thức ứng dụng loại phân K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> cho năng suất hạt cao hơn so với các công thức ứng dụng loại phân KNO<sub>3</sub> và KCl ở cùng một liều lượng bón và kết quả tương tự ở các liều lượng bón khác nhau (160; 260; 360;

460; 560; 660 kg K<sub>2</sub>O/ha).

Sự khác biệt về giá trị năng suất khi sử dụng các loại phân kali khác nhau rất có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

Kết quả nghiên cứu phù hợp với những báo cáo trước đó: Ca cao (*Theobroma cacao* L.) có tầm quan trọng kinh tế quan trọng ở một số nước nhiệt đới nhưng tiềm năng năng suất của nó thấp do độ phì đất kém, đặc biệt là mức kali thấp (K). Ca cao có nhu cầu K cao để duy trì tăng trưởng và tăng năng suất (Li và ctv, 2013); tăng cường nhiều quá trình chuyển hóa như hình thành carbohydrate (Evans và Sorger, 1966; Marchner, 1986), vận chuyển các chất của quá trình quang hợp (Archer, 1985; Fageria, 1942). Kali là một dưỡng chất có ảnh hưởng rất lớn đến năng suất và phẩm chất của nông sản nhất là trên cây ăn trái như làm tăng độ cứng, tăng hàm lượng tinh bột, tăng lượng đường trong trái (Suelter, 1970; Daryl và Brown, 1993).

Như vậy: loại, lượng phân kali có ảnh hưởng rõ rệt đến năng suất hạt khô ca cao trong điều kiện đất đai và khí hậu tại Lâm Đồng và Đồng Nai. Sử dụng phân bón K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> cho cây ca cao kinh doanh cho năng suất hạt cao hơn bón phân loại KCl và KNO<sub>3</sub>.

+ Cây ca cao trồng trên đất FRr, bón loại phân K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ở mức 360 kg K<sub>2</sub>O/ha/năm cho năng suất hạt cao nhất, cao hơn đối chứng (bón 560 kg K<sub>2</sub>O/ha/năm).

+ Cây ca cao trồng trên đất Ach, bón loại phân K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ở mức 460 kg K<sub>2</sub>O/ha/năm cho năng suất hạt cao nhất, cao hơn đối chứng (bón 560 kg K<sub>2</sub>O/ha/năm).

### 3.3.3. Ảnh hưởng của loại, liều lượng phân bón kali đến hàm lượng đường trong lớp com nhầy của hạt ca cao

#### - Đối với cây ca cao trồng trên đất FRr.

Phân tích ANOVA cho kết quả xếp nhóm tương tác các nghiệm thức của yếu tố loại phân kali và liều lượng phân bón chia thành 6 nhóm a,b,c,d,e,f. các trung bình tương tác Dunnett loại phân bón với từng liều lượng phân bón có ảnh hưởng và tương tác có ý nghĩa ( $p < 0,01$ ) đối với hàm lượng đường giữa các nghiệm thức.

Trình bày kết quả sau:

**Bảng 3.3.** Ảnh hưởng của loại, liều lượng phân bón kali đến hàm lượng đường trong lớp com nhầy của hạt ca cao thu từ cây ca cao trồng trên đất FRr

Loại phân kali (A)	Lượng phân kali (B) (kg K <sub>2</sub> O/ha)						Đơn vị tính %
	160	260	360	460	560	660	
KCl	8,07ef	8,87 d	9,07 d	10,50 c	12,17 a	11,03 b	
KNO <sub>3</sub>	7,33 g	7,90 ef	8,20 e	9,30 d	10,40 c	10,10 c	
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	6,10 h	6,37 h	7,60 fg	8,27 e	10,13 c	9,23 d	

Các giá trị trung bình không có cùng ký tự theo sau cho biết sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ở mức  $p < 0,01$ ; CV = 2,3%

+ Khi xem xét mối tương quan giữa loại, liều lượng phân bón kali đến hàm lượng đường trong lớp com nhầy thì thấy tương quan có ý nghĩa ( $p < 0,01$ ). Liều lượng phân K<sub>2</sub>O/ha tăng dần thì hàm lượng đường cũng tăng dần, các ô cơ sở ứng dụng liều lượng bón 660 kg K<sub>2</sub>O/ha/năm thì hàm lượng đường trong lớp com nhầy giảm

Như vậy qua phân tích số liệu bảng 3.3 cho thấy lượng và loại phân kali có ảnh hưởng đến hàm lượng đường trong com nhầy hạt ca cao tươi. Mức độ ảnh hưởng rất có ý nghĩa về mặt thống kê ( $p < 0,01$ ). Bón phân kali ở mức 560 kg K<sub>2</sub>O/ha cho hàm lượng đường cao nhất và thấp nhất là khi bón phân kali ở mức 160 kg K<sub>2</sub>O/ha cho cả ba loại phân kali. Ở các ô thí nghiệm có bón phân kali loại K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> hàm lượng đường tổng số trong com nhầy hạt ca cao tươi thấp nhất, kể đến là KNO<sub>3</sub> và bón KCl thì hàm lượng đường trong com nhầy hạt ca cao là cao nhất. Khi áp dụng các loại phân bón kali khác nhau thì hàm lượng đường trong lớp com nhầy hạt ca cao cũng khác nhau, sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê.

**- Đối với cây ca cao trồng trên đất Ach**

Phân tích ANOVA các số liệu thu được từ các công thức của thí nghiệm cho kết quả xếp nhóm tương tác các nghiệm thức của yếu tố loại phân kali và liều lượng phân bón chia thành 8 nhóm a,b,c,d,e,f,g,h. Các trung bình tương tác Dunnett loại phân bón với từng liều lượng phân bón có ảnh hưởng và tương tác có ý nghĩa ( $p < 0,01$ ) đối với hàm lượng đường giữa các nghiệm thức. Trình bày kết quả sau:

**Bảng 3.4.** Ảnh hưởng của loại, liều lượng phân bón kali đến hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy của hạt ca cao thu từ cây ca cao trồng trên đất Ach

Loại phân kali (A)	Liều lượng phân kali (B) (kg K <sub>2</sub> O/ha)						Đơn vị tính %
	160	260	360	460	560	660	
KCl	9,87 h	10,90 e-h	11,43 c-g	11,90 cde	14,53 a	13,40 ab	
KNO <sub>3</sub>	10,13gh	11,17 d-h	11,53 c-g	11,67 c-f	12,10 b-e	12,63 bcd	
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	9,87 h	10,33 fgh	11,27 d-h	11,87 cde	12,47 bcd	12,80 bc	

*Các giá trị trung bình không có cùng ký tự theo sau cho biết sự khác biệt có ý nghĩa thống kê đối với loại phân bón kali ở mức  $p < 0,05$ ; khác biệt rất có ý nghĩa thống kê đối với liều lượng phân bón kali ở mức  $p < 0,01$ ; CV = 5,07%*

Kết quả phân tích ANOVA ở Bảng 3.4 cho thấy loại phân kali có ảnh hưởng đến hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy của hạt ca cao tươi, trong điều kiện đất đai và khí hậu tại Trảng Bom, Đồng Nai, công thức bón phân kali loại K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ở liều lượng 160 kg K<sub>2</sub>O/ha lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi là thấp nhất (9,87%).

+ Ảnh hưởng của liều lượng phân bón kali đến hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi:

Các công thức ứng dụng phân bón kali với liều lượng 160 kg K<sub>2</sub>O/ha/năm cho hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi thấp nhất (9,87% ở các công thức bón kali loại KCl; 10,13% ở các công thức bón kali loại KNO<sub>3</sub>; 9,87% ở các công thức bón kali loại K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

Các công thức đối chứng, ứng dụng phân bón kali với liều lượng 560 kg K<sub>2</sub>O/ha/năm cho hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi cao nhất (14,53% ở các công thức bón kali loại KCl; 12,10% ở các công thức bón kali loại KNO<sub>3</sub>; 12,47% ở các công thức bón kali loại K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

Các công thức ứng dụng liều lượng phân bón cao hơn đối chứng (660 kg K<sub>2</sub>O/ha/năm) thì hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy của hạt ca cao có xu hướng giảm xuống.

Như vậy khi sử dụng loại phân KCl; KNO<sub>3</sub> và K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, bón ở liều lượng 460 kg K<sub>2</sub>O/ha, năm trên nền phân bón (297 kg N<sub>2</sub>/ha/năm và 209 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ha/năm), cây ca cao cho năng suất hạt lớn nhất đồng thời hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy của hạt thấp hơn đối chứng, thấp nhất là ở các công thức ứng dụng loại phân K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Theo kết quả phân tích ANOVA, loại phân bón kali không ảnh hưởng rõ đến hàm lượng đường tổng số trong cơm nhầy hạt ca cao tươi. Điều này có thể là do đất của vườn ca cao ở Trảng Bom nghèo dinh dưỡng, hàm lượng kali tổng số chỉ chiếm 0,02%, Hàm lượng ion K<sup>+</sup> thấp (0,10 mEq/100 g) không đủ cung cấp cho nhu cầu của cây ca cao vì vậy có thể cây đang ở trạng thái cần dinh dưỡng mà chưa có sự chọn lọc nên chưa thấy rõ ảnh hưởng của loại phân kali lên hàm lượng đường trong cơm nhầy của hạt.

Kali là một trong những khoáng chất thiết yếu trong số các chất dinh dưỡng của thực vật được cây trồng hấp thụ từ dung dịch đất dạng ion qua rễ cây. Kali có liên quan đến nhiều quá trình sinh lý như kiểm soát sự tăng trưởng của cây trồng, năng suất và các thông số chất lượng như đường, tính acid có thể định lượng (TA), chất rắn hoà tan (SS), tổng chất rắn hoà tan (TSS), hương vị, màu sắc, độ cứng và độ mịn của trái cây (Wuzhong, 2002;

Lester và ctv, 2005). Vị ngọt của trái cây được đánh giá bởi TSS (tổng chất rắn hòa tan), chịu ảnh hưởng đáng kể của K, tăng mức độ ứng dụng K dẫn đến sự gia tăng đáng kể TSS. Kali thúc đẩy sự chuyển vị đường trong thực vật, do đó được ứng dụng làm tăng hàm lượng đường cũng như TSS trong quả (Kumar và ctv. 2005).

Kết quả nghiên cứu phù hợp với giả thiết đặt ra đó là kali có liên quan đến sự hình thành đường trong cơm nhầy hạt ca cao tươi. Do đó có thể kiểm soát chất lượng hạt ca cao thành phẩm thông qua giảm hàm lượng đường trong cơm nhầy hạt ở giai đoạn trồng trọt bằng phân bón kali. Trong ba loại phân bón kali đã sử dụng thì loại phân  $K_2SO_4$  cho hàm lượng đường cơm nhầy hạt ca cao thấp nhất và giảm dần theo từng lượng bón.

**3.4. Chủ động bổ sung các dòng nấm men đã được phân lập từ khối ủ hạt ca cao tự nhiên vào các khối ủ lên men hạt với mục tiêu xác định loài nấm men thích hợp nhằm từng bước kiểm soát quá trình lên men hạt ca cao chất lượng.**

#### 3.4.1. Phân lập và định danh nấm men từ khối ủ hạt ca cao tự nhiên

Kết quả thu được như sau: thu được 5 dòng nấm men, định danh bằng phương pháp PSJ, giải trình tự 16S và 28S, tra cứu trên BLASH RESEARCH, các chủng nấm men thu được là: *Saccharomyces ludwigii*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia kudriavzevii*, *Candida tropicalis*

#### 3.4.2. Nhân sinh khối các chủng nấm men đã được định danh

##### - Xác định mật số các loại nấm men đã được định danh

Có sự dao động lớn về tổng số tế bào nấm men trong 1g bột nhão, từ  $2.2 \times 10^9$  đến  $2.8 \times 10^{10}$ . Trong đó, mẫu  $M_1$  và mẫu  $M_5$  là các mẫu có số lượng tế bào nấm men thấp nhất so với các mẫu còn lại. Ngược lại, 03 mẫu ( $M_2, M_3, M_4$ ) có tổng số tế bào nấm men cao hơn rất nhiều lần, cao nhất là mẫu 4 với  $2,5 \times 10^{10}$  CFU/g. Điều này cũng phù hợp với đặc tính vật lý của bột nhão: mẫu  $M_1$ , đặc biệt là mẫu  $M_5$  loãng so với các mẫu khác.

**3.4.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của việc bổ sung nấm men vào khối ủ đến chất lượng hạt ca cao thành phẩm**

##### 3.4.3.1. Biến thiên nhiệt độ khối ủ trong quá trình lên men

**Bảng 3.5.** Những biến đổi nhiệt độ khối ủ hạt ca cao trong quá trình lên men

Đơn vị tính: °C

Loại nấm men	Thời gian lên men (h)						CV%	F	LSD
	0	24	48	72	96	120			
$M_0$	26,0 <sup>f</sup>	32,53 <sup>e</sup> <sub>F</sub>	37,60 <sup>d</sup> <sub>E</sub>	48,47 <sup>a</sup> <sub>C</sub>	46,03 <sup>b</sup> <sub>A</sub>	44,10 <sup>c</sup> <sub>A</sub>	0,38	**	0,37
$M_1$	26,0 <sup>f</sup>	33,57 <sup>e</sup> <sub>D</sub>	39,40 <sup>d</sup> <sub>C</sub>	50,17 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	46,10 <sup>b</sup> <sub>A</sub>	44,40 <sup>c</sup> <sub>A</sub>	0,64	**	0,63
$M_2$	26,0 <sup>f</sup>	35,57 <sup>e</sup> <sub>C</sub>	38,47 <sup>d</sup> <sub>D</sub>	49,87 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	45,23 <sup>b</sup> <sub>C</sub>	44,17 <sup>c</sup> <sub>A</sub>	0,47	**	0,46
$M_3$	26,0 <sup>f</sup>	33,13 <sup>e</sup> <sub>E</sub>	39,67 <sup>d</sup> <sub>BC</sub>	50,67 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	45,73 <sup>b</sup> <sub>B</sub>	44,40 <sup>c</sup> <sub>A</sub>	0,31	**	0,31
$M_4$	26,0 <sup>f</sup>	35,83 <sup>e</sup> <sub>B</sub>	40,17 <sup>d</sup> <sub>AB</sub>	50,57 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	45,27 <sup>b</sup> <sub>C</sub>	44,03 <sup>c</sup> <sub>A</sub>	0,35	**	0,35
$M_5$	26,0 <sup>f</sup>	36,83 <sup>e</sup> <sub>A</sub>	40,60 <sup>d</sup> <sub>A</sub>	47,53 <sup>a</sup> <sub>D</sub>	45,17 <sup>b</sup> <sub>C</sub>	44,27 <sup>c</sup> <sub>A</sub>	0,26	**	0,26
CV%		0,24	0,76	0,29	0,15	0,49			
F		**	**	**	**	ns			
LSD		0,20	0,74	0,35	0,17	0,54			

( $M_1$ : *Saccharomyces ludwigii*;  $M_2$ : *Schizosaccharomyces pombe*;

$M_3$ : *Saccharomyces cerevisiae*;  $M_4$ : *Pichia kudriavzevii*;  $M_5$ : *Candida tropicalis*)

Trong đó: <sup>a,b,...,f</sup> là phân hạng theo hàng ngang (so sánh nhiệt độ khối ủ của cùng công thức theo thời gian lên men) <sub>A,B,...,F</sub> là phân hạng theo cột dọc (so sánh nhiệt độ khối ủ của các công thức tại cùng thời điểm lên men). Các giá trị trung bình cùng ký tự theo sau thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. F\*\*: giá trị F khác biệt có ý nghĩa ở mức ( $p < 0,01$ ); F\*: giá trị F khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ( $p < 0,05$ ); F<sup>ns</sup>: các giá trị F khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). LSD: khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa.

Trong quá trình lên men nhiệt độ xung quanh hạt ca cao sẽ tăng từ khoảng 50 - 55°C vì xảy ra các phản ứng oxy hóa sinh nhiệt (Wood và Lass, 1985).

Tất cả các công thức lên men trong thùng gỗ ở điều kiện tự nhiên với nhiệt độ môi trường 28°C, do lớp cơm nhầy còn dày và chứa nhiều nước nên nhiệt độ ban đầu của khối ủ thấp (26°C), sau 24 h lên men nhiệt độ tất cả các khối ủ đều tăng lên. Ở thời điểm 72 h nhiệt độ khối ủ đạt giá trị cao nhất, một số công thức nhiệt độ khối ủ lên đến trên 50°C sau đó giảm dần xuống 45 - 46°C ở thời điểm 96 h. Khi khối hạt đã trải qua 120 h lên men, nhiệt độ khối ủ xuống còn 44°C thì kết thúc quá trình lên men chuyển sang giai đoạn làm khô hạt.

Kết quả nghiên cứu cho thấy trong cùng thời điểm, nhiệt độ của các thùng ủ có bổ sung nấm men cao hơn so với đối chứng có nghĩa là các phản ứng oxy hóa trong các thùng ủ có bổ sung nấm men diễn ra mạnh mẽ hơn, nhiệt lượng sinh ra lớn hơn. Nấm men được bổ sung thêm vào khối ủ có tác dụng thúc đẩy quá trình lên men hiếu khí diễn ra nhanh hơn do đó tạo điều kiện cho các phản ứng hóa sinh theo hướng tạo nhiều ethanol hơn và hạn chế sự tạp nhiễm của các loại vi sinh lạ. Những hoạt động của hệ vi sinh vật trong cơm nhầy hình thành ethanol và acid acetic làm tăng nhiệt độ khối hạt lên đến 50°C (Camu và ctv, 2008a). Hiệu quả quan trọng nhất của quá trình ủ lên men hạt ca cao sinh nhiệt là sự xuất hiện của những tiền chất của hương vị chocolate. Chỉ có những tiền chất này mới truyền cho hạt ca cao khi rang có hương vị đặc trưng của chocolate. Các tiền chất ấy không hề có sẵn trong các loại tế bào của phôi nhũ khi hạt ca cao còn tươi, mà chỉ được sinh ra trong quá trình lên men (Rohan, 1957).

### **3.4.3.2. Những thay đổi giá trị pH cơm nhầy trong quá trình lên men**

Hạt ca cao tươi chuẩn bị lên men có pH cơm nhầy 3,7. pH cơm nhầy thấp chủ yếu là do sự có mặt của acid citric 1 - 3%. Trong quá trình lên men pH cơm nhầy tăng dần. Ở thời điểm 96h, pH cơm nhầy có giá trị cao nhất (4,12 - 4,53) sau đó lại giảm, biến thiên pH cơm nhầy phù hợp với nghiên cứu của Dircks, 2009. Những thay đổi giá trị pH là do các vi sinh vật chuyên hóa đường trong cơm nhầy thành acid lactic và ethanol thành acid acetic, sau đó các acid này xâm nhập vào nhân hạt (Biehl, 1984; Schwan và Wheals, 2004; Camu và ctv, 2007). Vào cuối quá trình lên men pH giảm là do acid trong nhân hạt thẩm ngược trở lại lớp cơm nhầy đã gần hết sinh khối.

Tại cùng một thời điểm lên men pH cơm nhầy của các công thức khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ). pH của cơm nhầy tăng lên từ một giá trị ban đầu là 3,70 đến giá trị cuối cùng 3,92 - 4,19. Sau khi kết thúc quá trình lên men, các công thức CT4 bổ sung nấm men *Saccharomyces cerevisiae* và CT6 bổ sung nấm men *Candida tropicalis* có pH cơm nhầy 4,19 cao hơn các công thức còn lại. Những thay đổi giá trị pH cơm nhầy của nghiên cứu tương tự nghiên cứu của Dircks, 2009 khi bổ sung *Saccharomyces cerevisiae* và *Kluyveromyces marxianus* vào khối ủ hạt ca cao ở Úc, pH cuối cùng của cơm nhầy là 4,0. Các loài nấm men *Saccharomyces cerevisiae* khá nổi bật và giống nấm men này sản xuất pectinase, có thể lên men tất cả các đường trong cơm nhầy ở pH 3,5 - 4,2 chịu được ethanol và đã có mặt khi bắt đầu quá trình lên men tự nhiên. (Schwan, 1998).

### **3.4.3.3. Những thay đổi giá trị pH nhân hạt trong quá trình lên men**

Kết quả thí nghiệm cho thấy pH của nhân hạt ca cao Việt Nam khi chưa lên men là 6,6 tương tự pH hạt ca cao Úc chưa lên men là 6,1 - 6,2 (Dircks, 2009) và giảm dần xuống sau 72 h lên men rồi lại tăng dần lên vào cuối quá trình lên men. Sau 120 h lên men, pH nhân hạt có giá trị 4,66 - 5,17. Kết quả nghiên cứu phù hợp với báo cáo của Biehl và ctv, 1989; Sanagi và ctv, 1997.

### **3.4.3.4. Những thay đổi giá trị độ Brix cơm nhầy trong quá trình lên men**

Ở thời điểm 0 giờ, độ Brix là 16% ở tất cả các công thức. Trong quá trình lên men độ Brix giảm dần, giảm mạnh nhất ở ngày đầu tiên của quá trình lên men do cơm nhầy giảm sinh khối đột ngột. Vào thời điểm kết thúc quá trình lên men độ Brix chỉ còn 5,34 - 6,44% ở các công thức có bổ sung nấm men. Riêng công thức đối chứng có độ Brix cao hơn các công thức khác (pH = 6,89), đây là sự khác biệt có ý nghĩa, các loại đường đã được sử dụng



nhiều hơn trong quá trình lên men ở các công thức có bổ sung nấm men. Điều này phù hợp với nghiên cứu của Dircks, 2009 khi lên men hạt ca cao ở Mossman, Úc: một sự khác biệt nhỏ đã được quan sát thấy đó là trong quá trình lên men, nồng độ glucose và fructose ở các công thức có bổ sung thêm nấm men giảm nhanh hơn một chút so với công thức đối chứng.

### 3.4.3.5. Một số chỉ tiêu chất lượng hạt ca cao thành phẩm

+ pH hạt khô: pH hạt khô giữa các công thức khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê với  $p < 0,01$ . Trong đó công thức CT4 bổ sung nấm men *Saccharomyces cerevisiae* có giá trị pH cao nhất (5,34). Công thức đối chứng không bổ sung nấm men cho pH có giá trị thấp nhất (4,98). Kết quả pH hạt khô đo được cũng tương đương với pH hạt khô của Tây Phi là 5,5 (Franke và ctv, 2008), của Malaysia từ 4,4 - 4,7 (Nazaruddin và ctv, 2006).

**Bảng 3.6.** Một số chỉ tiêu chất lượng hạt ca cao thành phẩm

Loại nấm men	pH hạt khô	acid lactic (mg/g)	acid acetic (mg/g)	Tổng acid lactic và acid acetic (mg/g)
M <sub>0</sub>	4,98 d	30,25 a	15,58 a	45,83 a
M <sub>1</sub>	5,12 c	27,63 b	15,38 a	43,01 abc
M <sub>2</sub>	5,11 c	30,10 a	15,32 a	45,42 a
M <sub>3</sub>	5,34 a	25,53 c	14,66 a	40,19 c
M <sub>4</sub>	5,18 b	30,03 a	14,72 a	44,75 ab
M <sub>5</sub>	5,16 b	27,39 b	14,54 a	41,93 bc
CV %	0,20	1,51	7,49	2,88
F tính	**	**	ns	**
LSD	0,03	1,07	2,81	3,12

(M<sub>1</sub>: *Saccharomyces ludwigii*; M<sub>2</sub>: *Schizosaccharomyces pombe*;

M<sub>3</sub>: *Saccharomyces cerevisiae*; M<sub>4</sub>: *Pichia kudriavzevii*; M<sub>5</sub>: *Candida tropicalis*)

Các giá trị trung bình cùng ký tự theo sau thì sự khác biệt không có nghĩa thống kê. F<sup>\*\*</sup>: giá trị F khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ); F<sup>\*</sup>: giá trị F khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ); F<sup>ns</sup>: các giá trị F khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). LSD: khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa.

Hàm lượng acid lactic có sự khác biệt có ý nghĩa ( $p \leq 0,05$ ) giữa các công thức. Công thức không bổ sung nấm men (đối chứng) có hàm lượng acid lactic cao nhất (30,25 mg/g). Hàm lượng acid acetic không có sự khác biệt giữa các công thức.

Tổng hàm lượng acid lactic và acid acetic hạt khô khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê với  $p < 0,01$ . Công thức CT1 và CT3 có tổng hai loại acid cao hơn, công thức CT4 có tổng hai loại acid và hàm lượng acid lactic thấp nhất. Hàm lượng acid acetic (bay hơi) giảm, trong khi hàm lượng acid lactic (không bay hơi) vẫn không đổi (Camu và ctv, 2008a).

Kết quả thu được phù hợp với các nghiên cứu đã báo cáo: bổ sung nấm men *Hanseniaspora guilliermondii*, *Idastrandia orientalis* và *Saccharomyces cerevisiae* vào thùng ủ chứa 35 kg hạt ca cao tươi cho hạt thành phẩm có các chỉ tiêu về chất lượng tốt hơn đối chứng không bổ sung nấm men (Dircks, 2009); việc chủ động bổ sung ngay từ lúc bắt đầu lên men nấm men *Saccharomyces cerevisiae* và bổ sung vi khuẩn *Acetobacter rancen* sau 48 h lên men cung cấp hạt ca cao với chất lượng cao hơn lên men bình thường (Schwan, 1998).

## 3.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của phương pháp ép hạt loại bột dịch com ngay trước khi lên men đến chất lượng hạt thành phẩm.

### 3.5.1. Biến thiên nhiệt độ khối ủ trong quá trình lên men hạt ca cao

Kết quả nghiên cứu cho thấy trong từng công thức nhiệt độ khối ủ thay đổi theo thời gian lên men, khác biệt có ý nghĩa với  $p < 0,01$ . Từ khi bắt đầu quá trình lên men nhiệt độ khối ủ tăng dần, các công thức đạt ngưỡng nhiệt độ cao nhất trong khoảng thời gian từ 72 h

của quá trình lên men sau đó nhiệt độ các khối ủ giảm dần cho đến khi kết thúc quá trình lên men (nhiệt độ đạt cao nhất ở công thức ép hạt 13% đạt 51,53°C và ép hạt 16% đạt 50,33°C).

### 3.5.2. Biến đổi độ Brix lớp cơm nhầy hạt cao trong quá trình lên men

Kết quả phân tích thống kê cho thấy độ Brix cơm nhầy thay đổi theo thời gian lên men, các công thức khác biệt ở mức  $p < 0,01$  và cao nhất là ở thời điểm bắt đầu lên men sau đó giảm dần do trong quá trình lên men các nấm men và vi khuẩn thực hiện chuyển hóa các chất làm tiêu hao cơ chất cơm nhầy. Trong quá trình lên men, nồng độ glucose và fructose trong cơm nhầy giảm và đến cuối quá trình lên men thì không còn tồn tại nữa (Dicrks, 2009).

### 3.5.3. Biến đổi pH cơm nhầy hạt cao trong quá trình lên men

Phân tích ANOVA đa chiều cho kết quả như sau:

Trong cùng một công thức: pH cơm nhầy thay đổi theo thời gian lên men, khác biệt giá trị pH cơm nhầy có ý nghĩa ở mức  $p < 0,01$  thấp nhất ở thời điểm lên men 24 h và cao nhất là ở thời điểm lên men 96 h.

Tại cùng một thời điểm lên men pH cơm nhầy giữa các công thức khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p < 0,01$ . Ở thời điểm lên men 96 h, công thức ép 16% có giá trị pH cơm nhầy cao nhất (5,41). Các công thức ép hạt từ 0 - 7% thì pH cơm nhầy có giá trị thấp nhất (5,00 - 5,17).

Những thay đổi giá trị pH trong quá trình lên men hạt cao là do các vi sinh vật chuyển hóa đường trong cơm nhầy thành acid lactic và ethanol thành acid acetic, sau đó các acid này được khuếch tán vào nhân hạt (Biehl, 1984; Schwan và Wheals, 2004; Camu và ctv, 2007). Vào cuối quá trình lên men pH giảm là do acid trong nhân hạt thẩm ngược trở lại lớp cơm nhầy đã gần hết sinh khối.

### 3.5.4. Biến đổi pH nhân hạt cao trong quá trình lên men

Phân tích ANOVA đa chiều cho kết quả như sau:

Trong cùng một công thức: pH nhân hạt thay đổi theo thời gian lên men, khác biệt giá trị pH nhân hạt có ý nghĩa ở mức  $p < 0,01$ . pH nhân hạt cao nhất là ở thời điểm bắt đầu lên men (6,60) sau đó giảm dần và tăng nhẹ vào cuối quá trình lên men. Ethanol và acid acetic hình thành trong lớp cơm nhầy thẩm qua vỏ vào trong nội nhũ giết chết phôi nhũ làm giảm pH nhân hạt (Camu và ctv, 2008a).

Tại cùng một thời điểm lên men pH nhân hạt giữa các công thức khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p < 0,01$ . Ở thời điểm lên men 120 h, công thức ép 13% có giá trị pH nhân hạt cao nhất (5,07). Các công thức ép hạt từ 0 - 7% thì pH nhân hạt có giá trị thấp nhất (4,65 - 4,73).

Ethanol và acid acetic hình thành trong lớp cơm nhầy thẩm qua vỏ vào trong nội nhũ giết chết phôi nhũ làm giảm pH nhân hạt (Camu và ctv, 2008a).

### 3.5.5. Một số chỉ tiêu chất lượng hạt cao thành phẩm

**Bảng 3.7.** Một số chỉ tiêu chất lượng hạt cao thành phẩm

Công thức	pH hạt khô	Acid lactic (mg/g)	Acid acetic (mg/g)	Tổng acid lactic và acid acetic (mg/g)
E <sub>0</sub>	5,04 c	23,33 c	12,06 a	35,39 a
E <sub>1</sub>	5,19 c	24,04 c	7,15 b	31,19 b
E <sub>2</sub>	5,16 c	25,04 b	5,14 c	30,18 b
E <sub>3</sub>	5,38 b	27,53 a	3,23 d	30,76 b
E <sub>4</sub>	5,56 a	20,39 d	4,76 c	25,15 c
E <sub>5</sub>	5,45 ab	20,02 d	5,13 c	25,15 c
CV %	1,26	1,51	3,10	1,59
F tính	**	**	**	**
LSD	0,17	0,88	0,48	1,18

(E<sub>0</sub>: đối chứng, hạt không ép, E<sub>1</sub>: ép lấy 4 kg dịch cơm nhầy, E<sub>2</sub>: ép lấy 7 kg dịch cơm nhầy,

$E_3$ : ép lấy 10 kg dịch com nhày,  $E_4$ : ép lấy 13 kg dịch com nhày,  $E_5$ : ép lấy 16 kg dịch com nhày).

Các giá trị trung bình cùng ký tự theo sau thì sự khác biệt không có nghĩa thống kê.  $F^{**}$ : giá trị  $F$  khác biệt có ý nghĩa ở  $p = 0,01$ ;  $F^*$ : giá trị  $F$  khác biệt có ý nghĩa ở  $p = 0,05$ ;  $F^{ns}$ : các giá trị  $F$  khác biệt không có ý nghĩa,  $p > 0,05$ . LSD: khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa.

### **pH hạt khô**

Giá trị pH hạt khô của các công thức biến thiên từ 5,04 đến 5,56. Giá trị pH của hạt khô cao nhất ở công thức có tỉ lệ ép hạt 13% (pH 5,56), tiếp đến là công thức ép 16% (pH 5,45); công thức ép 13% và 16% khác biệt có ý nghĩa so với các tỷ lệ ép hạt khác. Các công thức ép hạt từ 0 - 7% có giá trị pH hạt khô giao động trong khoảng 5,04 - 5,19 và không có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa các công thức này.

### **Hàm lượng acid lactic hạt khô (mg/g)**

Hàm lượng acid lactic khác biệt có ý nghĩa giữa các công thức có tỉ lệ ép hạt khác nhau, cao nhất là công thức tỉ lệ ép 10% (27,53 mg/g), thấp nhất là nhóm các công thức có tỉ lệ ép 13% và 16% (20,39 và 20,02 mg/g).

### **Hàm lượng acid acetic hạt khô (mg/g)**

Hàm lượng acid acetic khác biệt có ý nghĩa ở các công thức có tỉ lệ ép hạt khác nhau, cao nhất ở công thức đối chứng (12,06 mg/g) và thấp nhất ở công thức ép hạt tỉ lệ 7% (5,14 mg/g), 13% (4,76 mg/g) và 16% (5,13 mg/g).

Xét tổng hai loại acid thì phân hạng thành ba nhóm khác biệt rất có ý nghĩa. Nhóm có tổng hai loại acid cao nhất là công thức đối chứng. Nhóm có tổng hai loại acid thấp hơn là các công thức có tỷ lệ ép hạt trước khi lên men 4 - 10%. Nhóm có tổng hai loại acid thấp nhất là công thức có tỷ lệ ép hạt trước khi lên men 13% và 16%.

Như vậy, khi ép loại bột dịch com nhày cũng có nghĩa là hàm lượng đường tham gia vào quá trình chuyển hóa trong lên men hạt giảm. Theo sơ đồ chuyển hóa các chất trong com nhày hạt cao của De Vuyst, 2010 thì ethanol hình thành giảm kéo theo lượng acid acetic hình thành cũng giảm, lượng acid lactic hình thành cũng giảm. Tổng lượng acid lactic và acid acetic tồn dư hạt khô thấp so với lên men theo kiểu truyền thống (không ép hạt). Đó chính là nguyên nhân làm cho hạt cao thành phẩm có pH cao hơn hạt đối chứng dẫn đến hạt thành phẩm ít chua hơn.

## **3.6. Nghiên cứu cải tiến một số biện pháp kỹ thuật làm khô hạt cao đã lên men theo hướng giảm lượng acid tồn dư cho hạt thành phẩm**

### **3.6.1. Làm khô hạt cao sau lên men bằng phương pháp sấy**

#### **3.6.1.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến pH hạt cao khô**

**Bảng 3.8.** Giá trị pH của hạt cao thành phẩm

Nhiệt độ sấy (°C)	Khối lượng dịch com nhày ép loại ra khỏi 100 kg hạt cao tươi (kg)					
	0	4	7	10	13	16
50	4,96 e-j	5,10 b-g	5,15 b-f	5,26 bcd	5,56 a	5,35 ab
60	4,85 g-j	4,98 e-i	5,06 c-g	5,13 b-f	5,30 bc	5,19 b-e
70	4,70 j	4,73 ij	4,80 hij	4,91 f-j	5,14 b-f	5,03 d-g

Các trung bình cùng ký tự không khác biệt có nghĩa thống kê ở mức xác suất  $p < 0,01$ ;  $CV = 2,10\%$ .

Nhiệt độ ảnh hưởng có ý nghĩa ( $p < 0,01$ ) đến pH hạt khô. pH của hạt cao sau khi sấy khô đến ẩm độ 7,0 - 7,5% có giá trị trong khoảng từ 4,70 - 5,56. Hạt sấy ở 50°C có pH cao hơn so với sấy ở 60°C và 70°C ở tất cả các công thức, khi nhiệt độ sấy càng tăng thì pH càng giảm.

Hạt ép 13% và 16% được sấy ở 50°C có pH cao hơn so với hạt được ép ở các tỷ lệ khác và sấy ở các nhiệt độ khác. Sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với các

công thức khác. Tùy thuộc vào điều kiện thời tiết, tại thời điểm thu hoạch, mùa mưa, lượng nước cơm nhầy nhiều có thể ép 13 - 16 % dịch cơm nhầy, pH hạt khô đạt từ 5,35 - 5,56. Nhưng nếu trái thu hoạch vào mùa khô, lượng dịch cơm nhầy ít hơn, ép hạt từ 4 - 10% thì hạt vẫn lên men bình thường và pH hạt có thể đạt từ 5,10 - 5,26.

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Tagro và ctv, 2010 khi sấy bằng lò sấy pH hạt ca cao có giá trị nằm trong khoảng 4,5 - 5,5. 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 acid acetic trong các mẫu được hình thành từ các phản ứng oxy hóa trước đó ít bay hơi (Tagro và ctv 2010).

Kết quả nghiên cứu cũng phù hợp với báo cáo của Hii và ctv, (2009), nhiệt độ sấy quá cao không được khuyến cáo trong việc sấy ca cao vì sẽ giữ lại hầu hết các acid bên trong hạt ca cao và gây ra quá nhiều acid trong bột thành phẩm. Tính acid 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; Jinap và ctv, 1994). Sấy hạt ca cao ở nhiệt độ thấp hơn cho giá trị pH hạt khô ít tính acid hơn và bột ca cao thành phẩm chất lượng tốt hơn (Ajala và Ojewande, 2014).

### 3.6.1.2. Tổng hàm lượng acid lactic và acid acetic trong hạt ca cao khô thành phẩm

**Bảng 3.9.** Hàm lượng acid lactic và acid acetic có trong hạt ca cao khô

Nhiệt độ sấy (°C)	Khối lượng dịch cơm nhầy ép loại ra khỏi 100 kg hạt ca cao tươi (kg)					
	0	4	7	10	13	16
50	38,93 b	28,75 f	28,40 f	28,80 f	25,47 g	26,03 g
60	40,37 a	32,51 d	28,40 f	28,77 f	28,73 f	28,01 f
70	41,00 a	36,53 c	36,27 c	33,17 d	30,47 e	33,03 d

Các trung bình cùng ký tự không khác biệt có nghĩa thống kê ở mức xác suất  $p < 0,01$ ; CV = 1,88%.

Xét tổng hai loại acid thì phân hạng thành ba nhóm. Nhóm có tổng hai loại acid cao nhất là các công thức được làm khô bằng sấy hạt ở 70°C. Tiếp theo là nhóm có tổng hai loại acid thấp hơn gồm các công thức được làm khô bằng sấy hạt ở 60°C. Nhóm có tổng hai loại acid thấp nhất là các công thức được làm khô bằng sấy hạt ở 50°C. Sự khác biệt giữa các nhóm công thức này ở mức rất có ý nghĩa với độ tin cậy 99%. Công thức ép hạt 13 %, 16 % và sấy ở 50°C có tổng hai loại acid lactic và acid acetic thấp nhất (25,47 và 26,03 mg/g).

### 3.6.2. Làm khô hạt ca cao bằng phương pháp phơi hạt

#### 3.6.2.1. pH hạt ca cao khô thành phẩm

Hạt sau lên men được phơi trên giàn bằng gỗ, theo các phương thức khác nhau: không có lưới che; che lưới có độ che phủ 50 %; che lưới có độ che phủ 60 %. Đảo hạt 2 lần/ngày, khối lượng hạt phơi 10kg/m<sup>2</sup>; 20kg/m<sup>2</sup>; 30kg/m<sup>2</sup>, kết quả thu được như sau:

**Bảng 3.10.** pH hạt ca cao khô thành phẩm

Phương pháp phơi hạt (A)	Khối lượng hạt phơi/m <sup>2</sup> (B)		
	(10 kg)	(20 kg)	(30 kg)
L <sub>0</sub> (che phủ 0% - đc)	4,76 h	4,98 g	5,19 e
L <sub>1</sub> (độ che phủ 50%)	5,12 f	5,26 d	5,36 bc
L <sub>2</sub> (độ che phủ 60%)	5,31 cd	5,41 b	5,51 a

Các trung bình cùng ký tự không khác biệt có nghĩa thống kê ở mức xác suất  $p < 0,01$ ; CV = 0,46%.

Hạt được phơi trực tiếp dưới ánh nắng mặt trời do cường độ chiếu sáng mạnh nên thời gian hạt giảm độ ẩm nhanh hơn so với phơi trên giàn có lưới che. Hạt ca cao thành

phẩm (ẩm độ 7,0 - 7,5 %) có giá trị pH nằm trong khoảng từ 4,76 - 5,19. Sự sai khác giá trị pH hạt khô của các công thức này có ý nghĩa về mặt thống kê.

Các công thức phối hạt ca cao sau lên men trên giàn phơi có lưới che với độ che phủ 50 % có pH từ 5,12 - 5,36.

Các công thức phối hạt ca cao sau lên men trên giàn phơi có lưới che với độ che phủ 60 % có pH từ 5,31 - 5,51.

Hạt phơi khối lượng càng lớn, pH hạt càng cao có thể là do lớp hạt dày dẫn đến hạt khô chậm hơn các công thức khác có khối lượng hạt phơi ít hơn, lớp hạt mỏng hơn. Việc đảo trộn hạt hàng ngày tạo điều kiện cho acid lactic và acid acetic trong hạt thoát ra ngoài vỏ nhiều hơn.

Giá trị pH của công thức phối 30 kg/m<sup>2</sup>, lưới có độ che phủ 60 % (pH 5,51) khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với các công thức còn lại. Điều này có thể lý giải khi độ che phủ càng nhiều, cường độ chiếu sáng xuống giàn phơi sẽ giảm đáng kể, tốc độ giảm độ ẩm hạt sẽ khác nhau có ý nghĩa giữa các công thức. Ở công thức phối 30 kg/m<sup>2</sup> hạt sẽ khô chậm hơn cùng với việc đảo hạt hàng ngày khiến cho acid acetic bay hơi nhiều hơn, acid lactic cũng theo nước thoát ra ngoài vỏ nhiều hơn, quá trình chuyển hóa trong hạt vẫn tiếp tục diễn ra trong quá trình hạt khô từ từ vì vậy ở công thức này pH có giá trị cao nhất.

Kết quả phù hợp với nghiên cứu của Hii và ctv, 2009: quá trình làm khô hạt bằng phương pháp sấy cần ít thời gian hơn để hạt ca cao giảm độ ẩm so với quá trình phơi hạt tự nhiên. Vì thế giá trị pH đối với hạt ca cao phơi nắng thường cao hơn so với quy trình sấy hạt vì hạt khô chậm và nhẹ nhàng cho phép acid acetic bốc hơi nhiều hơn. pH hạt khô của các công thức trong nghiên cứu này cũng tương đương với giá trị pH của ca cao được lên men tốt nhất có nguồn gốc từ Tây Phi là khoảng 5,5 (Franke và ctv, 2008).

### 3.6.2.2. Tổng hàm lượng acid lactic và acid acetic có trong hạt ca cao khô thành phẩm

**Bảng 3.11.** Hàm lượng acid lactic và acid acetic tồn dư trong hạt ca cao khô

Phương pháp phơi hạt (A)	Khối lượng hạt/m <sup>2</sup> (B)		
	(10 kg)	(20 kg)	(30 kg)
L <sub>0</sub> (đôi chứng)	37,92 a	34,02 bc	32,86 cd
L <sub>1</sub> (độ che phủ 50%)	34,99 b	31,86 de	30,63 ef
L <sub>2</sub> (độ che phủ 60%)	29,28 f	30,38 ef	25,86 g

*Các trung bình cùng ký tự không khác biệt có nghĩa thống kê ở mức xác suất  $p < 0,01$ ; CV = 2,39%.*

Tổng hàm lượng acid lactic và acid acetic trong hạt khô cao nhất ở phương pháp phơi hạt trực tiếp dưới ánh sáng mặt trời (34,94 mg/g), kế tiếp là phương pháp phơi hạt có lưới che có độ che phủ 50 % (32,49 mg/g) và thấp nhất là phương pháp phơi hạt ưới che có độ che phủ 60 % (28,50 mg/g).

Acid lactic và acetic được hình thành trong quá trình lên men hạt ở lớp cơm nhầy. Vi khuẩn lên men lactic lên men đường tạo thành acid lactic, Vi khuẩn lên men acetic chuyển hóa rượu thành acid acetic, năng lượng và các sản phẩm khác.

Khối lượng hạt phơi càng nhiều thời gian phơi càng dài, tốc độ giảm độ ẩm hạt sẽ khác nhau rất có ý nghĩa giữa các công thức. Ở công thức phối 30kg/m<sup>2</sup>, lưới che có độ che phủ 60%, hạt sẽ khô chậm nhất cùng với việc đảo hạt hàng ngày khiến cho acid acetic bay hơi nhiều hơn vì vậy công thức này có hàm lượng acid acetic thấp nhất (16,77 mg/g), hàm lượng acid lactic thấp nhất (9,09 mg/g), pH hạt khô cao nhất (pH = 5,51).

Kết quả nghiên cứu thống nhất với nghiên cứu của Hii và ctv, 2009 trong quá trình phơi hạt khô, acid acetic bay hơi cùng với quá trình loại bỏ độ ẩm vì nó dễ bay hơi tự nhiên. Vì vậy, phơi nắng, nếu được thực hiện đúng, sản xuất ra hạt ca cao nguyên liệu chất lượng

tốt nhất (Crespo, 1985). Theo Bonaparte và ctv, 1998 phương pháp phơi hạt sẽ không hiệu quả và chất lượng không đều nhau khi điều kiện phơi không thuận lợi. Quá trình phơi (sau khi hạt được lên men) phải diễn ra chậm dưới trời nắng nhẹ. Tuy nhiên với thời gian ngắn như thế, lượng acid bên trong hạt (lượng acid này sinh ra từ quá trình lên men và thâm nhập vào bên trong hạt) không kịp thoát ra ngoài, sẽ làm cho sản phẩm chocolate có vị rất chua, hương thơm không mạnh mẽ.

Acid lactic chứa trong hạt không thể bốc hơi vì nó không phải là một hợp chất dễ bay hơi (Hii và ctv, 2009). Mặc dù độ chua của hạt chủ yếu do cả acid acetic và acid lactic được chuyển hóa trong quá trình lên men nhưng acid acetic có thể được loại bỏ vì dễ bay hơi trong khi acid lactic và các acid bên trong hạt không thể bốc hơi vì không phải là một hợp chất dễ bay hơi (Nazaruddin và ctv, 2006).

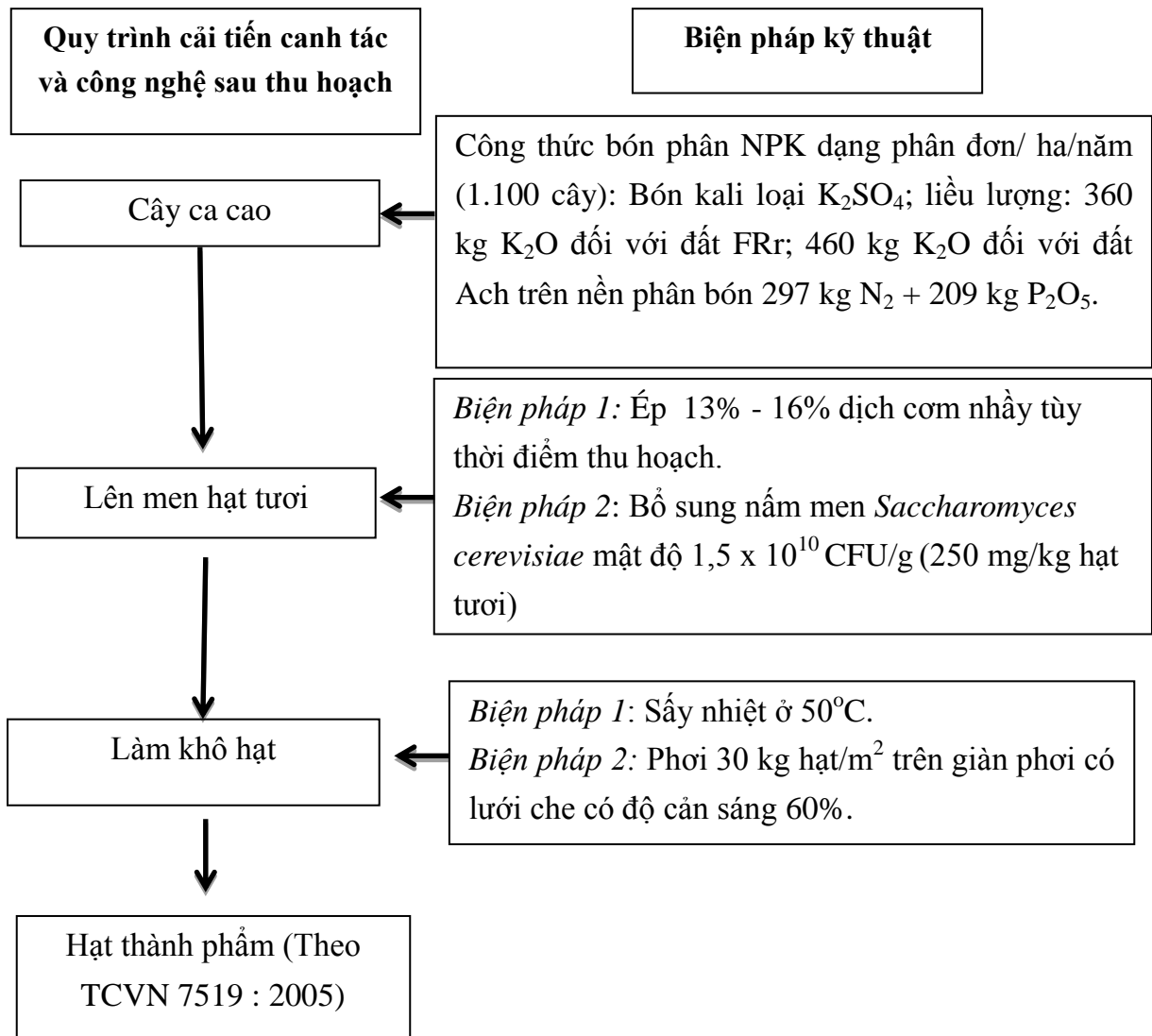
### **3.7. Hiệu quả thí nghiệm bón phân kali và kỹ thuật sơ chế hạt ca cao**

Hiệu quả kinh tế: Lợi nhuận thấp nhất là 33.700 ngàn đồng, tỷ suất lợi nhuận chi phí là 2,00. Lợi nhuận cao nhất là 51.970 ngàn đồng, tỷ suất lợi nhuận chi phí là 3,62. Chỉ tiêu này cho biết cứ bỏ thêm 1 đồng chi phí bón phân kali dạng  $K_2SO_4$  ở mức bón 360 kg  $K_2O/ha$  với các chi phí gồm: Khấu hao vườn cây, làm cỏ, tĩa chồi, tưới nước, thuốc bảo vệ thực vật, bón phân ure và lân, thu hoạch, ủ lên men, phơi /sấy không thay đổi sẽ cho lợi nhuận là 3,62 đồng, đây là mức hiệu quả cao nhất.

Bên cạnh hiệu quả kinh tế là hiệu quả về mặt xã hội (tạo uy tín thương hiệu ca cao Việt Nam trên thị trường thế giới, tận dụng sản phẩm phụ từ ca cao như rượu, vỏ trái lên men làm thức ăn cho gia súc, tạo nhiều công ăn việc làm, giải quyết lao động nông nhàn, tăng thu nhập cho nông hộ) và hiệu quả về mặt môi trường, sinh thái (hạn chế xói mòn đất, không bị ánh sáng trực tiếp hủy diệt các vi sinh vật của đất).

### **3.8. Quy trình cải tiến canh tác và sơ chế hạt ca cao chất lượng**

Từ kết quả của các thí nghiệm, hiệu quả kinh tế của các công thức bón phân kali và sơ chế hạt ca cao, chọn lựa các công thức cho kết quả tốt nhất theo mục tiêu đề ra, từ đó đề xuất cải tiến quy trình bón phân và sơ chế hạt ca cao chất lượng tốt hơn nhằm nâng giá trị thương mại cho hạt ca cao Việt Nam.



Hình 3.1. Quy trình bón phân và sơ chế hạt ca cao chất lượng

## KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

### 1. Kết luận

1- Tại một số vùng trồng ca cao chủ yếu của Việt Nam hiện nay nguồn giống chủ yếu là Trinitario, giống ghép có nguồn gốc rõ ràng, có tiềm năng năng suất cao từ 2 - 5 tấn hạt khô/ha/năm, các giống này khả năng kháng bệnh kém đặc biệt là với bệnh thối quả do *Phytophthora*. Phần lớn diện tích trồng ca cao của các nông hộ nhỏ lẻ, manh mún (< 1ha) và chủ yếu là trồng xen nên yếu tố coi ca cao là cây phụ, mức đầu tư thấp, sử dụng phân bón mất cân đối dẫn đến năng suất thấp hơn kỳ vọng của giống. Kỹ thuật thu hái, sơ chế bảo quản trong quá trình lên men và làm khô hạt mặc dù thực hiện theo quy trình cơ bản đã được hướng dẫn (khối lượng tối đa cho 1 thùng ủ là 100kg hạt tươi, thời gian lên men từ 4 - 6 ngày, đảo trộn khối hạt 1 - 2 lần trong suốt quá trình lên men...). Tuy nhiên, do các nông hộ có diện tích nhỏ, lượng hạt ướt thu được mỗi đợt ít nên không đáp ứng được yêu cầu tối thiểu của quy trình dẫn đến chất lượng hạt thành phẩm không ổn định, không đáp ứng tiêu chuẩn chất lượng TCVN 7519 : 2005 (tỉ lệ hạt tím, hạt chai xám, hạt mốc còn nhiều), kích cỡ hạt tăng lên so với trước đây nhưng số hạt /100g vẫn nhiều hơn ca cao của Ghana, pH nhân hạt khô thành phẩm thấp (<5.0) đã ảnh hưởng đến giá bán của hạt ca cao Việt Nam trên thị trường quốc tế.

2- Sử dụng phân bón đúng nhu cầu của cây sẽ đạt năng suất cao và tăng hiệu quả sử dụng đồng vốn. Bón phân sunfate kali cho cây ca cao ở thời kỳ kinh doanh, liều lượng bón 360 kg  $K_2O$ /ha/năm đối với cây ca cao trồng trên đất FRr; 460 kg  $K_2O$ /ha/năm cho cây ca cao trồng trên đất Ach (trên nền phân bón 297 kg  $N_2$ /ha/năm + 209 kg  $P_2O_5$ /ha/năm) cho hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy của hạt thấp hơn và năng suất hạt cao nhất.

3- Bổ sung nấm men *Saccharomyces cerevisiea*, mật độ  $1,5 \times 10^{10}$  CFU/g (250 mg/kg hạt ca cao tươi) ngay từ khi bắt đầu quá trình lên men hạt nhằm thúc đẩy quá trình lên men yếm khí, hạt ca cao thành phẩm (đã được làm khô đến 7% độ ẩm) có giá trị pH đạt 5,34 cao hơn so với các công thức khác. Tổng lượng acid lactic và acid acetic thấp hơn các công thức khác.

4- Áp dụng biện pháp kỹ thuật ép loại bột dịch cơm nhầy hạt tươi (13% và 16% tổng trọng lượng khối hạt) trước khi lên men tùy thuộc hạt ca cao được thu hoạch ở mùa khô hay mùa mưa, cho hạt ca cao thành phẩm (đã được làm khô đến 7% độ ẩm) có giá trị pH = 5,56 và 5,45.

5- Phơi hạt ca cao sau lên men với độ dày 30 kg hạt/m<sup>2</sup> trên giàn phơi được che bằng lưới che nắng loại cản sáng 60% cho hạt khô có giá trị pH = 5,51 cao hơn so với các công thức phơi hạt khác.

6- Nhiệt độ sấy thích hợp nhất cho phương pháp làm khô hạt bằng sấy nhiệt là 50°C mặc dù sẽ kéo dài thời gian sấy hạt hơn, ở công thức có tỷ lệ ép 13%, hạt khô có giá trị pH = 5,4 đạt cao nhất và tổng lượng acid tồn dư ở hạt khô thấp nhất so với các công thức sấy hạt khác.

## **2. Đề nghị**

Từ những kết quả thu được trong nghiên cứu này và do các giới hạn của đề tài đề nghị

1- Nghiên cứu ảnh hưởng đến hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi và năng suất hạt khi bón các lượng phân đạm, lân khác nhau trên nền phân kali khuyến cáo của nghiên cứu này.

2- Tiếp tục nghiên cứu việc bổ sung nấm men ở các khối lượng khác nhau và phối hợp nhiều loại nấm men vào khối ủ để đánh giá hiệu quả của phương pháp lên men chủ động nhằm điều khiển quá trình lên men theo mục tiêu đề ra.