BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP.HCM

PHẠM THỊ HỒNG HẢI

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA LOẠI, LIỀU LƯỢNG PHÂN KALI VÀ MỘT SỐ KỸ THUẬT SƠ CHẾ ĐẾN CHẤT LƯỢNG HẠT CA CAO THÀNH PHẨM

Chuyên ngành : Khoa học cây trồng
Mã số: 9. 62. 01. 10

LUẬN ÁN TIẾN SĨ NGÀNH NÔNG NGHIỆP

Thành phố Hồ Chí Minh - Năm 2018

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP. HCM

PHẠM THỊ HỒNG HẢI

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA LOẠI, LIỀU LƯỢNG PHÂN KALI VÀ MỘT SỐ KỸ THUẬT SƠ CHẾ ĐẾN CHẤT LƯỢNG HẠT CA CAO THÀNH PHẨM

Chuyên ngành : Khoa học cây trồng
Mã số: 9. 62. 01. 10

LUẬN ÁN TIẾN SĨ NGÀNH NÔNG NGHIỆP

Người hướng dẫn khoa học:
1. TS. Phạm Hồng Đức Phước
2. TS. Võ Thái Dân

Thành phố Hồ Chí Minh - Năm 2018

LỜI CAM ĐOAN

Tôi cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi. Các số liệu, kết quả nêu trong luận án là trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

Tác giả luận án

Phạm Thị Hồng Hải

LỜI CẢM ƠN

Trong suốt thời gian nghiên cứu tôi đã luôn nhận được sự hướng dẫn và hỗ trợ tận tình của tập thể quý thầy cô, các cơ quan, đơn vị, cá nhân. Tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới:

- Ban Giám hiệu, Phòng Đào tạo Sau đại học, Khoa Nông học Trường Đại học Nông Lâm, thành phố Hồ Chí Minh.

- TS Phạm Hồng Đức Phước và TS Võ Thái Dân là người hướng dẫn khoa học.

- Quí thầy cô trong Hội đồng hướng dẫn khoa học cho Nghiên cứu sinh

- Lãnh đạo và tập thể Sở Giáo dục và Đào tạo Lâm Đồng.

- Viện nghiên cứu khoa học Tây Nguyên tại Đà Lạt; Trung tâm phân tích, Viện nghiên cứu Hạt nhân Đà Lạt.

- Gia đình và bạn bè.

Đã hướng dẫn, giúp đỡ, động viên và đóng góp nhiều ý kiến quý báu cho tôi trong quá trình thực hiện và hoàn thành luận án này.

Tác giả luận án

Phạm Thị Hồng Hải

TÓM TẮT

"Nghiên cứu ảnh hưởng của loại, liều lượng phân kali và một số kỹ thuật sơ chế đến chất lượng hạt ca cao thành phẩm". Luận án tiến sĩ nông nghiệp, ngành Khoa học cây trồng, Đại học Nông Lâm Tp Hồ Chí Minh, Việt Nam.

Mục tiêu của luận án này là nghiên cứu ảnh hưởng của phân bón 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 đạt chất lượng cao.

Nội dung của luận án gồm có: (i) Điều tra về hiện trạng canh tác và chất lượng hạt ca cao của một số vùng trồng ca cao nhiều ở Việt Nam, (ii) Nghiên cứu ảnh hưởng của loại, liều lượng phân bón kali đến hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi và năng suất trái của cây ca cao ở giai đoạn kinh doanh, (iii) Phân lập nấm men từ khối ủ hạt ca cao lên men tự nhiên, (iv) 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, (v) Chủ động giảm hàm lượng đường trong cơm nhầy trước khi lên men bằng phương pháp ép khối hạt để loại bớt dịch cơm nhầy nhằm giảm lượng đường tham gia vào quá trình lên men hạt kéo theo giảm lượng acid hình thành trong quá trình lên men để giảm chua cho hạt thành phẩm, (vi) 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, (vii) Đề xuất cải tiến quy trình sản xuất ca cao chất lượng tại Việt Nam.

Kết quả điều tra hiện trạng canh tác và chất lượng hạt ca cao ở một số vùng trồng ca cao nhiều ở Việt Nam cho thấy các giống ca cao nông dân đang trồng phần lớn có nguồn gốc rõ ràng, có tiềm năng năng suất cao từ 2 - 5 tấn hạt khô/ha, năm, có khả năng thích nghi rộng với nhiều vùng thổ nhưỡng, khí hậu của Việt Nam nhưng khả năng kháng sâu bệnh nhất là bệnh thối quả do *Phytophthora* kém nhưng người trồng ca cao chỉ sử dụng thuốc trừ sâu bệnh khi tỷ lệ cây bị nhiễm sâu bệnh xuất hiện từ mức độ phổ biến đến rất phổ biến mà không áp dụng biện pháp phòng ngừa sâu bệnh vì vậy ảnh hưởng do sâu bệnh gây ra đến năng suất cây trồng thường cao. Mặt khác, đa số nông hộ diện tích canh tác nhỏ lẻ, mức đầu tư của dưới ngưỡng yêu cầu của cây dẫn

đến năng suất thực tế thấp hơn kỳ vọng năng suất của giống.

Một số chỉ tiêu chất lượng hạt ca cao như số hạt/100g, tỷ lệ hạt lên men, ngang ngửa với hạt ca cao của Ghana nhưng hạt ca cao Việt Nam có vị chua (pH < 5,0), hương ca cao thấp do đó giá trị thương mại của hạt ca cao Việt Nam trên thị trường quốc tế có phần thua kém các nước sản xuất ca cao chất lượng một cách tự nhiên.

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 + 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.

Bổ sung nấm men *Saccharomyces cerevisiea*, mật độ 1,5 x 10^{10} CFU/g (250 mg/kg hạt ca cao tươi) ngay từ khi bắt đầu quá trình lên men hạt, cho hạt ca cao thành phẩm (đã được làm khô đến 7% độ ẩm) có giá trị pH đạt 5,34.

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

Làm khô hạt bằng phương pháp phơi 30 kg/m^2 trên giàn phơi có lưới che có độ che phủ 60% cho đến khi độ ẩm hạt giảm xuống còn 7% thì hạt thành phẩm có pH đạt 5,51, cao hơn so với phơi khối lượng hạt 10; 20 kg/m^2 trên giàn phơi có lưới che có độ che phủ 50% hoặc phơi trực tiếp dưới ánh sáng mặt trời.

Áp dụng biện pháp kỹ thuật ép loại bớt dịch cơm nhầy với khối lượng ép 13% và 16% tổng trọng lượng khối hạt, tiến hành lên men và làm khô hạt bằng phương pháp sấy ở nhiệt độ 50^oC, hạt thành phẩm có pH đạt 5,56 và 5,35 cao hơn khi sấy ở nhiệt độ 60^oC và 70^oC.

Khi hạt được làm khô chậm, lượng acid lactic và acid acetic tồn dư trong hạt có điều kiện thoát ra ngoài vỏ hạt và bay hơi (acid acetic), pH hạt tăng, hạt ca cao sẽ giảm chua khi được sử dụng làm nguyên liệu sản xuất chocolate.

Nghiên cứu này là cơ sở khoa học có ý nghĩa thực tiễn quan trọng trong việc cải tiến kỹ thuật chăm sóc, sơ chế hạt ca cao chất lượng tại Việt Nam. Tùy thuộc vào mục tiêu của người sử dụng hạt ca cao nguyên liệu mà người trồng và sơ chế hạt có thể áp dụng toàn bộ hoặc một phần quy trình cải tiến này, trong đó cần lưu ý đến phương

pháp bón phân để đạt hiệu quả cao nhất (bón nhiều lần vào các giai đoạn sinh trưởng phát triển của cây trong năm, kết hợp với nguồn nước tưới và lấp phân). Cần chú ý sử dụng thuốc phòng sâu bệnh nhất là phòng bọ xít muỗi và *Phytophthora* vào mùa mưa khi độ ẩm môi trường cao để tránh phát sinh thành dịch ảnh hưởng đến năng suất cây trồng.

SUMMARY

Effect of Potassium (formula and quantity) and post-harvest technologies on quality of fermented dried cocoa beans. Dissertation in Crop Science, Nong Lam University, Ho Chi Minh City Vietnam.

The objective of this thesis is to investigate the effect of potassium fertilizers on sugar content in cocoa mucilage and finding out post-harvest technologies of cocoa beans to improve the cultivation and processing of high-quality cocoa beans in sustainable development.

The content of the research included (i) Conducting a survey on current cocoa development situation and cocoa quality on some main cocoa growing areas in Vietnam, (ii) Studying effects of types of Potassium, different quantities of Potassium on the content of sugar in cocoa pulp and the crop productivity of cacao, (iii) Yeast isolation from naturally fermented heaps of cacao beans, (iv) Actively adding yeast was isolated from naturally fermented heaps of cacao beans in the process of fermentation to identifying the right yeast spieces as important step in controlling good cocoa fermentation, (v) Actively reduce the sugar content in the cocoa pulb before fermentation by pressing bean method to remove a part of the mucus in order to cut down the weight of beans before fermention, limited acid formed in the fermentation, (vi) finding out technical measurements which keep the content of acid left in dried beans to a minimum to dry cacao beans, (vii) Improving quality process of producing cacao in Vietnam.

Results of the survey on cultural practices and bean quality in some main cocoa planting areas showed that the planting materials are indentified and certified and having potential yield from 2 - 5 tons of dry bean/ha/year. These cocoa clones adapt well on different agroecosystem in Vietnam. However, the resistance of these clones to pests and diseases, especially *Phytophthora* palmivora is not clear. As consequence, lost from pests and diseases is high, thus affected to potential yield. Furthermore, most farmers grow cocoa on small areas, nutrition for cocoa is not enough, most of cocoa farmers are poor ones. In reality, the yield of cocoa is low.

Some bean parameters such as bean count/100 g, brown bean are the same as

compared with the ones of Ghana. However, acidity of Vietnamese beans in Vietnam is high (pH < 5.0) and low cocoa note. So, cocoa bean can not be sold with premium price.

Fertilizing Potassium sulfate with the dosage of 360 kg of K_2O/ha/a year for production stage cocoa planted on red basaltic soil, Potassium sulfate with the dosage of 460 kg of K_2O/ha/a year for production stage cocoa planted on old alluvium gray soil (as well as supplying 297 kg of N_2/ha/a year and 209 kg of P_2O_5/ha/a year for all experiments) lead to the lower content of sugar in cocoa pulp and the highest productivity.

Supplying *Saccharomyces cerevisiae* in pastry with the density of 1,5 x 10^{10} CFU/g (250 mg/kg fresh cocoa seeds) from the beginning of the fermentation led to dried cacao bean product (humidity of 7%) with pH 5.34.

Pressing cocoa to remove the juice (from 13 to 16% of total initial weight) before fermentation (depending on the cocoa beans harvested in the dry or rainy season) resulted in pH value of 5.45 - 5.56.

Beans sun dried with the thickness 30 kg/m^2 on raising platform and cover with shade cloth to prevent 60% of direct sunlight until the humidity of cocoa beans 7% resulted in pH of 5.51 which was higher than the ones 10 - 20 kg/m^2, shading 50% or direct sunlight.

Pressing cocoa to remove the juice (from 13 to 16% of total initial weight) before fermentation with drying in oven at 50^{o}C, beans had pH of 5.56 and 5.35 which was higher than the ones dried at 60^{o}C and 70^{o}C.

When beans were dried gradually, the amount of acid residue in the dried seeds went out and evaporated (acid acetic), high pH means low acid residue in the beans when making chocolate.

The research is scientific basics which is practically significant in improving quality process of producing cacao in Vietnam. According to the aim of using cacao nuts, farmers who grow and have post-harvest technologies cacao beans could apply the whole process or part of the process. It's neccessary to use chemical fertilizer effectively (adding chemical fertilizer many times a year according to different stages of growth and development, along with watering and covering the fertilizer with soil).

Using medicine for preventing cacao trees from stinkbugs and *Phytophthora* in rainy season whose humidity in the environment is high should be noteworthy to stop outbreak of epidemic which is bad for crop productivity.

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN i
LỜI CẢM ƠN ii
TÓM TẮT iii
SUMMARY vi
MỤC LỤC ix
DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT xvi
DANH MỤC CÁC BẢNG xvii
DANH MỤC CÁC HÌNH xx
MỞ ĐẦU 1
1. Tính cấp thiết của đề tài 2
2. Mục tiêu tổng quát 2
3. Mục tiêu cụ thể 3
4. Giới hạn nghiên cứu 3
5. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài nghiên cứu 3
6. Đối tượng nghiên cứu 4
7. Phạm vi và địa điểm nghiên cứu 4
8. Đóng góp mới của đề tài 4
Chương 1 TỔNG QUAN TÀI LIỆU 6
1.1. Sơ lược về cây ca cao 6
1.2. Yêu cầu sinh thái của cây ca cao 6
1.2.1. Yêu cầu về khí hậu thời tiết của cây ca cao 6
1.2.2. Yêu cầu về thổ nhưỡng của cây ca cao 7
1.3. Kỹ thuật canh tác cây ca cao 7
1.3.1. Mật độ trồng cây ca cao 7
1.3.2. Mô hình canh tác cây ca cao 8
1.3.2.1. Trồng xen dừa 8
1.3.2.2. Trồng xen điều 8
1.4. Tình hình phát triển cây ca cao ở Việt Nam 9
1.5. Các giống ca cao được trồng trên thế giới hiện nay 10

1.6. Vai trò các loại chất khoáng chính đối với ca cao 11
1.6.1. Đạm 11
1.6.2. Lân 12
1.6.3. Kali 12
1.6.3.1. Kali trong đất 12
1.6.3.2. Đặc tính chức năng sinh lý của kali 12
1.6.3.3. Các triệu chứng khi cây trồng thiếu kali 13
1.6.3.4. Một số loại phân bón kali thông dụng trên thị trường hiện nay 14
1.7. Hàm lượng phân bón cung cấp cho cây ca cao thời kỳ kinh doanh 14
1.8. Một số loại sâu, bệnh hại thường xuất hiện trên cây ca cao thời kỳ kinh doanh 15
1.9. Thu hoạch và sơ chế ca cao 17
1.9.1. Thu hoạch trái ca cao chín 17
1.9.2. Lên men hạt ca cao tươi 18
1.9.3. Sự tham gia của vi sinh vật trong quá trình lên men hạt ca cao 20
1.9.4. Các biến đổi hoá sinh trong quá trình lên men hạt ca cao 22
1.9.5. Làm khô hạt ca cao 24
1.10. Tiêu chuẩn Việt Nam về hạt ca cao 25
1.11. Một số kết quả nghiên cứu trong nước và thế giới liên quan lĩnh vực nghiên cứu của đề tài 25
1.11.1. Nghiên cứu về ảnh hưởng của kali đến việc tích lũy đường trên thực vật 25
1.11.2. Nghiên cứu sử dụng vi sinh vật để định hướng cho quá trình lên men hạt ca cao 26
1.11.3. Nghiên cứu biện pháp kỹ thuật làm khô hạt ca cao 27
1.11.4. Nghiên cứu về chất lượng hạt ca cao tại một số vùng của Việt Nam 27
Chương 2 NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP 29
2.1. Nội dung nghiên cứu 29
2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu 29
2.3. Vật liệu nghiên cứu 30
2.3.1. Vật liệu sử dụng cho các thí nghiệm khảo sát nông hộ 30
2.3.2. Vật liệu sử dụng cho các thí nghiệm đồng ruộng 31
2.3.3. Vật liệu sử dụng cho các thí nghiệm lên men 31
2.3.4. Vật liệu sử dụng cho các thí nghiệm làm khô hạt 32
2.4. Phương pháp bố trí thí nghiệm 33

2.4.1. Nội dung 1: Khảo sát về hiện trạng canh tác và chất lượng hạt ca cao của một số vùng trồng ca cao nhiều ở Việt Nam. 33
2.4.2. Nội dung 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của loại, liều lượng phân bón kali đến hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi và năng suất trái của cây ca cao ở thời kỳ kinh doanh. 34
2.4.2.1. Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của loại, liều lượng phân bón kali đến hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi và năng suất trái của cây ca cao ở thời kỳ kinh doanh trồng trên đất FRr tại huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng. 34
2.4.2.2. Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của loại, liều lượng phân bón kali đến hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi và năng suất trái của cây ca cao ở thời kỳ kinh doanh trồng trên đất Ach tại huyện Trảng Bom, tỉnh Đồng Nai. 34
2.4.2.3. Phương pháp bố trí thí nghiệm đồng ruộng 37
2.4.3. Nội dung 3: Xác định loài nấm men thích hợp cho quá trình lên men hạt ca cao chất lượng. 42
2.4.3.1 Thí nghiệm 3: Phân lập nấm men từ khối ủ hạt ca cao 42
2.4.3.2. Thí nghiệm 4: Định danh các chủng nấm men đã được phân lập 43
2.4.3.3. Thí nghiệm 5: Nhân sinh khối các chủng nấm men phân lập được 43
2.4.3.4. Thí nghiệm 6: Xác định số tế bào nấm men có trong bột nhão 44
2.4.3.5. Thí nghiệm 7: Lên men hạt có bổ sung nấm men vào khối ủ 44
2.4.4. Nội dung 4: Nghiên cứu ảnh hưởng của phương pháp ép khối hạt nhằm loại bớt dịch cơm nhầy trước khi lên men đến độ chua hạt thành phẩm. 47
2.4.5. 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. 47
2.4.5.1. Thí nghiệm 9: Làm khô hạt bằng phương pháp sấy 47
2.4.5.2. Thí nghiệm 10: Làm khô hạt bằng phương pháp phơi 48
2.4.6. Nội dung 6: Đề xuất cải tiến quy trình sản xuất ca cao nguyên liệu tại Việt Nam 49
2.5. Phương pháp xử lý số liệu 49
Chương 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN 52
3.1.1. Cơ cấu giống cây ca cao đã trồng hiện nay 52
3.1.2. Diện tích trồng cây ca cao của các nông hộ 54
3.1.3. Mô hình canh tác cây ca cao của các nông hộ 55
3.1.4. Năng suất hạt ca cao của các nông hộ 55
3.1.5. Thu hoạch quả tươi và sơ chế sau thu hoạch tại các nông hộ 56

3.1.6. Sử dụng phân bón cho cây ca cao ở giai đoạn kinh doanh của các nông hộ 60
3.1.7. Khảo sát về tình hình sâu, bệnh trên vườn ca cao của các nông hộ 62
3.1.8. Sử dụng thuốc bảo vệ thực vật tại các nông hộ 64
3.2. Đánh giá chất lượng hạt ca cao Nguyên liệu qua một số chỉ tiêu phân tích 64
3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của loại, liều lượng phân bón kali đến năng suất quả của cây ca cao và hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi. 68
3.3.1. Tình hình sâu, bệnh trên các vườn thí nghiệm trong quá trình nghiên cứu 69
3.3.2. 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. 72
3.3.3. Ảnh hưởng của loại, liều lượng phân kali đến năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất Ach ở huyện Trảng Bom, tỉnh Đồng Nai 77
3.3.4. Ảnh hưởng của loại, liều lượng phân bón kali đến hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy của hạt ca cao 83
3.3.5. Hiệu quả kinh tế của nghiên cứu so với trước khi thực hiện thí nghiệm 91
3.3.6. Hiệu suất thu hồi hạt ca cao khô 93
3.3.7. Đánh giá chất lượng hạt ca cao khô thu từ vườn thí nghiệm theo TCVN 7519 : 2005 95
3.4. Phân lập và định danh nấm men từ khối ủ hạt ca cao tự nhiên 95
3.4.1. Phân lập và làm thuần nấm men từ khối ủ hạt ca cao tự nhiên trên môi trường Sabouraud 97
3.4.2. Định danh các chủng nấm men đã được phân lập 100
3.4.3. Nhân sinh khối các chủng nấm men đã được định danh 104
3.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của việc bổ sung nấm men vào khối ủ hạt ca cao đến chất lượng hạt khô thành phẩm 107
3.5.1. Những biến đổi nhiệt độ khối ủ hạt ca cao trong quá trình lên men 108
3.5.2. Những biến đổi giá trị pH cơm nhầy của hạt ca cao trong quá trình lên men 110
3.5.3. Những thay đổi giá trị pH nhân hạt ca cao trong quá trình lên men 113
3.5.4. Những biến đổi của độ Brix cơm nhầy hạt ca cao trong quá trình lên men 115
3.5.5. Một số chỉ tiêu chất lượng hạt ca cao khô thành phẩm 116
3.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của phương pháp ép khối hạt lấy bớt dịch cơm nhầy trước khi lên men đến chất lượng hạt thành phẩm. 118
3.5.1. Biến đổi nhiệt độ khối ủ trong quá trình lên men hạt ca cao 118
3.5.2. Biến đổi pH cơm nhầy hạt ca cao trong quá trình lên men 119

3.5.3. Biến đổi pH nhân hạt ca cao trong quá trình lên men 120
3.5.4. Biến đổi độ Brix lớp cơm nhầy hạt ca cao trong quá trình lên men 121
3.5.5. Một số chỉ tiêu chất lượng hạt ca cao khô thành phẩm 122
3.6. 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 124
3.6.1. Làm khô hạt ca cao sau lên men bằng phương pháp sấy 124
3.6.1.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến pH hạt ca cao khô 124
3.6.1.2. Hàm lượng acid lactic trong hạt ca cao khô thành phẩm 125
3.6.1.3. Hàm lượng acid acetic trong hạt ca cao khô thành phẩm 125
3.6.1.4. Tổng hàm lượng acid lactic và acid acetic trong hạt ca cao khô thành phẩm 126
3.6.2. Làm khô hạt ca cao bằng phương pháp phơi hạt 127
3.6.2.1. pH hạt ca cao khô 127
3.6.2.2. Hàm lượng acid lactic hạt ca cao khô thành phẩm 129
3.6.2.3. Hàm lượng acid acetic hạt ca cao khô 130
3.6.2.4. Tổng hàm lượng acid lactic và acid acetic có trong hạt ca cao khô 131
3.7. Hiệu quả thí nghiệm bón phân kali và kỹ thuật sơ chế hạt ca cao 133
3.7.1. Hiệu quả về mặt kinh tế 133
3.7.2. Hiệu quả về mặt xã hội 134
3.7.3. Hiệu quả về mặt môi trường, sinh thái 134
3.8. Cải tiến quy trình canh tác và quy trình công nghệ sau thu hoạch hạt ca cao 134
3.8.1. Cải tiến quy trình canh tác cây ca cao 134
3.8.1.1. Bón phân cho cây ca cao ở giai đoạn kinh doanh trồng trên đất FRr 134
3.8.1.2. Bón phân cho cây ca cao ở giai đoạn kinh doanh trồng trên đất Ach. 135
3.8.2. Cải tiến quy trình công nghệ sau thu hoạch đối với hạt ca cao 135
3.8.2.1. Lên men hạt: phương pháp lên men trong thùng gỗ. 135
3.8.2.2. Làm khô hạt 136
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ 138
1. Kết luận 138
2. Đề nghị 139
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU ĐÃ CÔNG BỐ 140
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO 141

PHỤ LỤC 1. MẪU CÂU HỎI PHỎNG VẤN NÔNG HỘ 149
PHỤ LỤC 2. THỐNG KÊ KẾT QUẢ KHẢO SÁT CÁC NÔNG HỘ 151
PHỤ LỤC 3. MẪU CÂU HỎI PHỎNG VẤN NÔNG HỘ 154
PHỤ LỤC 4. PHIẾU KHẢO SÁT CƠ SỞ THU MUA VÀ SƠ CHẾ HẠT CA CAO 156
PHỤ LỤC 5. MẪU CÂU HỎI PHỎNG VẤN CƠ SỞ THU MUA VÀ SƠ CHẾ HẠT CA CAO 157
PHỤ LỤC 6. CÁC LOẠI THUỐC BẢO VỆ THỰC VẬT NÔNG HỘ THƯỜNG SỬ DỤNG 159
PHỤ LỤC 7. BỘ TIÊU CHUẨN VIỆT NAM ĐỐI VỚI CA CAO 160
PHỤ LỤC 8. TÌNH HÌNH THỜI TIẾT KHÍ HẬU TỈNH ĐỒNG NAI NĂM 2012, 2013 161
PHỤ LỤC 9. TÌNH HÌNH THỜI TIẾT KHÍ HẬU TỈNH LÂM ĐỒNG NĂM 2012, 2013 161
PHỤ LỤC 10. KẾT QUẢ T-TEST VỀ CÁC CHỈ TIÊU CHẤT LƯỢNG HẠT CA CAO MỘT SỐ VÙNG Ở VIỆT NAM 162
PHỤ LỤC 11. SƠ ĐỒ BỐ TRÍ CÁC THÍ NGHIỆM CỦA NGHIÊN CỨU 167
PHỤ LỤC 12. KẾT QUẢ XỬ LÝ SỐ LIỆU CÁC THÍ NGHIỆM ĐỒNG RUỘNG 168
PHỤ LỤC 13: THÀNH PHẦN VÀ CÁCH PHA MÔI TRƯỜNG SABOURAUD 178
PHỤ LỤC 14. KẾT QUẢ XỬ LÝ SỐ LIỆU CÁC THÍ NGHIỆM LÊN MEN CÓ BỔ SUNG NẤM MEN 179
PHỤ LỤC 15. KẾT QUẢ XỬ LÝ SỐ LIỆU CÁC THÍ NGHIỆM LÊN MEN ÉP HẠT 203
PHỤ LỤC 16.KẾT QUẢ XỬ LÝ SỐ LIỆU CÁC THÍ NGHIỆM SẤY HẠT 227
PHỤ LỤC 17. KẾT QUẢ XỬ LÝ SỐ LIỆU CÁC THÍ NGHIỆM PHƠI HẠT 231
PHỤ LỤC 18. KẾT QUẢ PHÂN TÍCH ĐẤT 234
PHỤ LỤC 19. KẾT QUẢ PHÂN TÍCH HÀM LƯỢNG ĐƯỜNG 235
PHỤ LỤC 20. KẾT QUẢ PHÂN LẬP VÀ ĐỊNH DANH NẤM MEN 237
PHỤ LỤC 21. PHÂN TÍCH ACID ACETIC VÀ ACID LACTIC TRONG THÍ NGHIỆM LÊN MEN CÓ BỔ SUNG NẤM MEN 253
PHỤ LỤC 22. PHÂN TÍCH ACID ACETIC VÀ ACID LACTIC TRONG THÍ NGHIỆM LÊN MEN CÓ ÉP HẠT 255
PHỤ LỤC 23. PHÂN TÍCH ACID ACETIC VÀ ACID LACTIC TRONG THÍ NGHIỆM SẤY 257

PHỤ LỤC 24. PHÂN TÍCH ACID ACETIC VÀ ACID LACTIC TRONG THÍ NGHIỆM PHƠI.....260
PHỤ LỤC 25. CÁC CHỈ TIÊU VỀ NĂNG SUẤT THU HOẠCH QUẢ CỦA VƯỜN CA CAO.....262

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

Ach: Đất xám (Haplic Acrisols)

AOAC: Hiệp hội phân tích hoá học (Association of Official Analytical Chemists)

BVTV: Bảo vệ thực vật

CT: Công thức

ctv: Cộng tác viên

CV: Hệ số biến thiên (Coefficience of variance)

FRr: Đất đỏ ba zan, loại đất nâu đỏ (Rhodic Ferralsols)

HPLC: phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (High Performance Liquid Chromatography)

LSD: Khác biệt có ý nghĩa nhỏ nhất (sử dụng trong phân tích thống kê)

PTNT: Phát triển nông thôn

TCVN: Tiêu chuẩn Việt Nam

TCN: Tiêu chuẩn ngành

TNHH: Trách nhiệm hữu hạn

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1. Điều kiện thời tiết thích hợp cho trồng cây ca cao 7
Bảng 1.2. Diện tích, năng suất, sản lượng ca cao các vùng ở Việt Nam.....10
Bảng 1.3. Lượng dinh dưỡng (kg) cây lấy đi để tạo ra 1.000 kg hạt ca cao khô 15
Bảng 1.4. Thời điểm bón phân và lượng phân bón/cây (cho năng suất 1 kg hạt khô/cây/năm) 15
Bảng 1.5. Các thành phần của hạt ca cao tươi, tính theo % trọng lượng tươi.....18
Bảng 1.6. Chỉ số phân loại hạt ca cao theo TCVN 7519 : 2005.....25
Bảng 1.7. Một số chỉ tiêu về chất lượng của hạt ca cao Việt Nam 28

Bảng 2.1. Đặc tính hóa lý của đất vườn ca cao trước khi bố trí các công thức của nghiên cứu 36

Bảng 3.1. Các loại cây giống ca cao hiện trồng ở các nông hộ.....52
Bảng 3.2. Diện tích trồng cây ca cao của nông hộ 54
Bảng 3.3. Mô hình canh tác cây ca cao của các nông hộ 55
Bảng 3.4. Năng suất hạt ca cao khô đạt được của các nông hộ.....55
Bảng 3.5. Kỹ thuật hái và trữ quả khi thu hoạch ca cao của các nông hộ.....56
Bảng 3.6. Xử lí hạt ướt trước khi ủ lên men.....58
Bảng 3.7. Kỹ thuật lên men hạt của các nông hộ 58
Bảng 3.8. Phương pháp làm khô hạt ca cao của các nông hộ 59
Bảng 3.9. Phân bón sử dụng cho cây ca cao giai đoạn kinh doanh.....60
Bảng 3.10. Các loại sâu, bệnh thường gặp trên cây ca cao 63
Bảng 3.11. Sử dụng thuốc bảo vệ thực vật tại các nông hộ 64
Bảng 3.12. Số hạt ca cao/100g của các vùng trồng ca cao chủ yếu 64
Bảng 3.13. Các loại hạt lên men.....66
Bảng 3.14. Tỷ lệ vỏ hạt và rác thải trong khối ủ 67
Bảng 3.15. Một số loại sâu, bệnh hại được phát hiện ở cây ca cao trồng trên đất FRr.69
Bảng 3.16. Một số loại sâu, bệnh hại được phát hiện ở cây ca cao trồng trên đất Ach 70

Bảng 3.17. Ảnh hưởng của loại, liều lượng phân bón kali đến năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất FRr.....73
Bảng 3.18. Ảnh hưởng của loại, liều lượng phân kali đến năng suất hạt cây ca cao trồng trên đất Ach.....78
Bảng 3.19. 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 FRr.....83
Bảng 3.20. 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.....87
Bảng 3.21. Hiệu quả kinh tế của vườn ca cao trồng trên đất FRr ở huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng.....91
Bảng 3.22. Hiệu quả kinh tế vườn ca cao trồng trên đất Ach ở huyện Trảng Bom, tỉnh Lâm Đồng.....92
Bảng 3.23. Tổng hợp các chỉ tiêu về năng suất thu hoạch trái ca cao năm 2012, 2013 94
Bảng 3.24. Hệ số thu hồi hạt ca cao khô.....94
Bảng 3.25. So sánh chất lượng hạt ca cao khô thu từ vườn thí nghiệm với TCVN 7519:2005 và hạt ca cao chất lượng của Ghana.....95
Bảng 3.26. Biến thiên nhiệt độ dịch nấm men trong quá trình nhân sinh khối.....106
Bảng 3.27. Kết quả đếm tế bào nấm men.....107
Bảng 3.28. Những biến đổi nhiệt độ khối ủ hạt ca cao trong quá trình lên men.....108
Bảng 3.29. Những biến đổi giá trị pH cơm nhầy hạt ca cao trong quá trình lên men.111
Bảng 3.30. Những thay đổi giá trị pH nhân hạt ca cao trong quá trình lên men.....114
Bảng 3.31. Biến đổi độ Brix cơm nhầy hạt ca cao trong quá trình lên men 115
Bảng 3.32. Một số chỉ tiêu chất lượng hạt ca cao thành phẩm.....117
Bảng 3.33. Biến đổi nhiệt độ khối ủ trong quá trình lên men (^{o}C).....118
Bảng 3.34. Biến đổi pH cơm nhầy hạt ca cao trong quá trình lên men.....119
Bảng 3.35. Biến đổi giá trị pH nhân hạt trong quá trình lên men 120
Bảng 3.36. Biến đổi độ Brix lớp cơm nhầy hạt ca cao trong quá trình lên men (%) ..121
Bảng 3.37. Một số chỉ tiêu chất lượng hạt ca cao thành phẩm.....122
Bảng 3.38.Giá trị pH của hạt ca cao thành phẩm.....124
Bảng 3.39. Hàm lượng acid lactic có trong hạt ca cao khô (mg/g).....125

Bảng 3.40. Hàm lượng acid acetic có trong hạt ca cao khô (mg/g) 125
Bảng 3.41. Hàm lượng acid lactic và acid acetic có trong hạt ca cao khô.....126
Bảng 3.42. pH hạt ca cao khô thành phẩm.....127
Bảng 3.43. Hàm lượng acid lactic hạt ca cao khô (mg/g) 129
Bảng 3.44. Hàm lượng acid acetic hạt ca cao khô 130
Bảng 3.45. Hàm lượng acid lactic và acid acetic tồn dư trong hạt ca cao khô 131

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Cây ca cao *Theobroma cacao* L 6
Hình 1.2. Cây ca cao bị rệp sáp 17
Hình 1.3.Biến thiên nhiệt độ khối hạt ca cao trong quá trình lên men.....19
Hình 1.4.Những biến đổi sinh hóa trong nhân hạt ca cao trong quá trình lên men.....23
Hình 1.5. Sự thay đổi hương vị của hạt ca cao trước và sau lên men 24

Hình 2.1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm đồng ruộng.....38
Hình 2.2. Sơ đồ bố trí thí nghiệm lên men hạt ca cao có bổ sung thêm nấm men.....45
Hình 2. 3. Sơ đồ bố trí thí nghiệm lên men hạt ca cao có ép loại bớt dịch cơm nhầy từ khối hạt ca cao tươi trước khi lên men. 47
Hình 2. 4. Sơ đồ bố trí thí nghiệm làm khô hạt bằng phương pháp sấy hạt.....48
Hình 2. 5. Sơ đồ bố trí thí nghiệm làm khô hạt bằng phương pháp phơi hạt.....49
Hình 2. 6. Vườn ca cao Trảng Bom, Đồng Nai.....50
Hình 2. 7. Đo nhiệt độ khối ủ hạt ca cao bằng nhiệt kế cầm tay.....50
Hình 2. 8. Chuẩn bị mẫu để đo pH cơm nhầy và nhân hạt.....50
Hình 2. 9. Chuẩn bị mẫu đo pH cơm nhầy 50
Hình 2. 10. Đo pH cơm nhầy.....50
Hình 2. 11. Chuẩn bị mẫu đo pH hạt.....51
Hình 2. 12. Đo pH hạt 51

Hình 3.1. So sánh số hạt/100 g của ca cao Việt Nam với ca cao 65
Hình 3.2. So sánh tỷ lệ các loại hạt xấu và tạp chất trong khối hạt sau lên men với hạt loại 1A theo tiêu chuẩn TCVN 7518 : 2005.....68
Hình 3.3.Bọ xít muỗi gây hại cho quả ca cao tại Trảng Bom, Đồng Nai 70
Hình 3.4.Quả ca cao bị bọ xít muỗi chích hút nhựa (vườn ca cao Di Linh,.....70
Hình 3.5. Quả ca cao bị thối do *Phytophthora* gây ra.....71
Hình 3.6. Quả ca cao bị rệp sáp tấn công ở vườn ca cao Trảng Bom, Đồng Nai 71
Hình 3.7. Quả ca cao bị rệp sáp tấn công ở vườn ca cao Di Linh, Lâm Đồng.....71
Hình 3.8. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KCl với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất FRr, năm 2012. 74

Hình 3.9. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KCl với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất FRr, năm 2013. 74
Hình 3.10. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KNO_3 với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất FRr, năm 2012 75
Hình 3.11. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KNO_3 với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất FRr, năm 2013 75
Hình 3.12. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón K_2SO_4 với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất FRr, năm 2012 76
Hình 3.13. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón K_2SO_4 với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất FRr, năm 2013 76
Hình 3.14. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KCl với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất Ach, năm 2012 79
Hình 3.15. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KCl với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất Ach, năm 2013 79
Hình 3.16. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KNO_3 với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất Ach, năm 2012 80
Hình 3.17. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KNO_3 với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất Ach, năm 2013 80
Hình 3.18. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón K_2SO_4 với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất Ach, năm 2012 81
Hình 3.19. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón K_2SO_4 với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất Ach, năm 2013 81
Hình 3.20. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KCl với hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy của hạt thu từ cây ca cao trồng trên đất FRr. 84
Hình 3.21. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KNO_3 với hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy của hạt thu từ cây ca cao trồng trên đất FRr. 84
Hình 3.22. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón K_2SO_4 với hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy của hạt thu từ cây ca cao trồng trên đất FRr. 85
Hình 3.23. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KCl với hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy của hạt thu từ cây ca cao trồng trên đất Ach. 87

Hình 3.24. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KNO_3 với hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy của hạt thu từ cây ca cao trồng trên đất Ach. 88
Hình 3.25.Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón K_2SO_4 với hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy của hạt thu từ cây ca cao trồng trên đất Ach. 88
Hình 3.26.Khuẩn lạc dòng M1 trên môi trường Sabouraud sau 72 h nuôi cấy ở 32^oC....97
Hình 3.27. Tế bào nấm men dòng M1 dưới kính hiển vi sau 72 h nuôi cấy ở 32^oC 97
Hình 3.28. Khuẩn lạc dòng M_2 trên môi trường Sabouraud sau 72 h nuôi cấy ở 32^oC..98
Hình 3.29. Tế bào nấm men dòng M2 trên môi trường Sabouraud sau 72 h nuôi cấy ở 32^oC. 98
Hình 3.30. Khuẩn lạc dòng M3 trên môi trường Sabouraud sau 72 h nuôi cấy ở 32^oC ...98
Hình 3.31. Tế bào dòng M3 trên môi trường Sabouraud sau 72 h nuôi cấy ở 32^oC 99
Hình 3.32. Khuẩn lạc và tế bào dòng M4 trên môi trường Sabouraud, sau 72 h nuôi cấy ở 32^oC 99
Hình 3.33. Khuẩn lạc và tế bào dòng M5 trên môi trường Sabouraud, sau 72 h nuôi cấy ở 32^oC.....100
Hình 3.34.Tế bào nấm men *Saccharomycodes ludwigii* 101
Hình 3.35. Tế bào nấm men *Schizosaccharomyces pombe*.....101
Hình 3.36. Tế bào nấm men *Saccharomyces cerevisiae* 102
Hình 3.37. Tế bào nấm men *Pichia kudriavzevii* 103
Hình 3.38. Tế bào nấm men *Candida tropicalis* 104
Hình 3.39. Sự khác biệt về màu sắc giữa mẫu dịch nấm men đang nhân sinh khối với mẫu đối chứng. 105
Hình 3.40. Nấm men tăng sinh khối theo thời gian.....105
Hình 3.41. Số tế bào nấm men từ 05 mẫu qua 3 lần đếm lặp lại.....107
Hình 3.42. Biến thiên nhiệt độ khối ủ hạt ca cao trong quá trình lên men.....109
Hình 3.43. Chuẩn bị mẫu để đo pH cơm nhầy và pH nhân hạt ca cao.....110
Hình 3.44. Biến thiên pH cơm nhầy hạt ca cao trong quá trình lên men 112
Hình 3.45. Biến thiên pH nhân hạt ca cao trong quá trình lên men 113
Hình 3.46. Phơi hạt ca cao sau khi kết thúc quá trình lên men 116
Hình 3.47. Ảnh hưởng của phương pháp phơi hạt lên pH hạt ca cao khô. 129

Hình 3.48. Sơ đồ tóm tắt quy trình cải tiến canh tác và quy trình cải tiến công nghệ sau thu hoạch hạt ca cao.....137

MỞ ĐẦU

Ca cao là cây công nghiệp nhiệt đới, có thể trồng được trên nhiều loại đất khác nhau như đất đỏ, đất xám, đất phù sa cổ, đất có thành phần cơ giới trung bình đến nhẹ. Ở Việt Nam, ca cao chủ yếu được trồng ở Tây Nguyên, Miền Đông Nam bộ, Đồng bằng Sông Cửu Long và cả vùng Duyên hải Miền Trung. Chủ trương chung của nhà nước trong vấn đề đa loại hóa cây trồng, vật nuôi và chuyển đổi cơ cấu cây trồng nhằm tăng tính bền vững trong canh tác nông nghiệp, phá vỡ thế độc canh nhiều rủi ro đã trở thành một thuận lợi to lớn cho sự phát triển diện tích trồng ca cao.

Trên thế giới hiện nay, nguồn nguyên liệu ca cao đang trở nên khan hiếm do một số nước sản xuất ca cao lớn vì nhiều lý do bất ổn trong kinh tế chính trị như Bờ Biển Ngà (nước sản xuất ca cao lớn nhất thế giới) bị giảm sản lượng khoảng 38%, Ghana giảm 19% trong khi nhu cầu sử dụng ca cao tiếp tục tăng dẫn đến tình trạng cung không đủ cầu. Nhiều nhà chế biến ca cao đã hướng sang tìm nguồn cung thay thế từ các nước Đông Nam Á, nơi cây ca cao vẫn được coi là cây trồng mới và đang trên đà phát triển mạnh mẽ. Đây là cơ hội cho Việt Nam phát triển diện tích và sản lượng ca cao. Trong mục tiêu xây dựng và phát triển một cách bền vững ngành ca cao, ngoài vấn đề cải thiện năng suất và khả năng chống chịu đối với các yếu tố môi trường thì vấn đề chất lượng cũng luôn được đặt lên hàng đầu vì ca cao là nguyên liệu làm chocolate, một trong những sản phẩm bánh kẹo đòi hỏi sự tinh tế của chất lượng nguyên liệu cũng như kỹ thuật chế biến. Theo Cargill (2010), hạt ca cao Việt Nam có tiêu chuẩn về số hạt/100 g đạt tiêu chuẩn quốc tế (< 100 hạt), tỉ lệ hạt chai xám, tỉ lệ thành phần chất béo ngang ngửa với hạt ca cao của Ghana, Indonesia và Bờ biển Ngà (là những nước có chất lượng ca cao nổi tiếng thế giới). Tuy nhiên chỉ tiêu về độ pH của hạt ca cao Việt Nam lại tương đối thấp (pH $\leq$ 5,0) làm cho hạt ca cao thành phẩm có vị chua nên giá bán trên thị trường quốc tế thấp hơn các nước khác. Việc cải thiện nhằm nâng độ pH đòi hỏi phải có những tìm hiểu cặn kẽ nguyên nhân gốc của hiện tượng này. Xuất phát từ các lý do trên, đề tài "Nghiên cứu ảnh hưởng của loại, liều lượng phân kali và một số kỹ thuật sơ chế đến chất lượng hạt ca cao thành phẩm" được thực hiện nhằm mục đích giảm độ chua cho hạt sau lên men, góp phần vào việc nâng cao chất lượng hạt ca cao Việt Nam, từ đó xây dựng sản phẩm nông nghiệp mới theo hướng bền vững với sức mạnh cạnh tranh

cao.

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. Làm 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 háo 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. Do đó 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 (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. Việc nghiên cứu một số biện pháp kỹ thuật 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 vùng thuộc ba khu vực trồng nhiều ca cao ở Việt Nam là Đồng Nai (khu vực Đông Nam Bộ), Đăk Lăk (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 đất FRr ở huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng và đất Ach 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

Cây ca cao (*Theobroma cacao* L.) có nguồn gốc từ các lưu vực sông Amazon và được trồng phổ biến ở nơi này từ hơn 500 năm trước (Braudeau, 1984). 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. Hạt ca cao là nguyên liệu chính của sản xuất chocolate (Ardhana và Fleet, 2003).

Hiện nay có ba 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. Với đặc tính chịu rợp nên ở Việt Nam, ca cao có thể trồng xen được với nhiều loại cây trồng có giá trị kinh tế khác như dừa, điều, sầu riêng, chuối, nhãn, cam góp phần tăng thêm thu nhập cho người dân trên cùng một diện tích canh tác.

Hình 1.1. Cây ca cao *Theobroma cacao* L

Phân loại: Cây ca cao thuộc Giới Plantea, Bộ Malvales, Họ Sterculiaceae, Chi *Theobroma*, Loài : có hơn 20 loài nhưng chủ yếu là *Theobroma cacao* L. Phân loài: Criollo, Forastero, Trinitario, Nacional.

1.2. Yêu cầu sinh thái của cây ca cao

1.2.1. Yêu cầu về khí hậu thời tiết của cây ca cao

Ca cao có thể trồng ở vùng đồng bằng hay các vùng có cao độ < 800 m so với mực nước biển, trên các vùng có lượng mưa khoảng 1.500 - 2.000 mm/năm. Cây ca cao thích nghi tốt ở nhiệt độ tối đa là 30 - 32^{o}C và nhiệt độ tối thiểu là 18 - 21^{o} C. Cây bị thiệt hại nghiêm trọng ở nhiệt độ nhỏ hơn 10^{o}C. Ẩm độ thích hợp cho ca cao khoảng

70 - 80%. Ca cao đặc biệt sinh trưởng phát triển tốt trong điều kiện che bóng (độ che phủ 30%).

Bảng 1.1. Điều kiện thời tiết thích hợp cho trồng cây ca cao

Chỉ tiêu	Đặc điểm
Nhiệt độ	Nhiệt độ thấp nhất: 18 - 21ºC Nhiệt độ cao nhất: 30 - 35ºC
Lượng mưa	1.500 - 2.500 mm mỗi năm. Cung cấp nước cho cây là cần thiết nếu 2 hoặc nhiều tháng liên tục có lượng mưa ít hơn 50 mm.
Độ ẩm	100% trong thời gian ban đêm 70 - 80% trong thời gian ngày
Độ cao	Dưới 300 m. Có thể lên đến 1300 m ở các vùng xích đạo.
	Cây giống còn trẻ yêu cầu che bóng 50%. Che bóng nhiều hơn có thể làm giảm năng suất cây trưởng thành.
Gió	Không thích nghi với vùng có gió thổi mạnh và liên tục. Ở những khu vực này cần trồng cây chắn gió hoặc trồng xen với các loài cây khác để ngăn rụng lá

Alvim (1977); Minifie (1980); Wood và Lass (1985)

(Trích dẫn bởi Dircks, 2009)

Trong quá trình phát triển trái, lượng mưa thấp có thể dẫn đến hàm lượng bơ thấp, nhiều hạt nhỏ, vỏ hạt dày. Trong quá trình sau thu hoạch, chế biến mà lượng mưa thấp có thể kéo theo lớp cơm nhầy ít, lên men tốt, sấy nhanh, ít hạt ca cao bị mốc (Lambert, 2010).

1.2.2. Yêu cầu về thổ nhưỡng của cây ca cao

Ca cao thích hợp với nhiều loại đất khác nhau, đất cát, đất phù sa ven sông, đất trên các triền dốc và cả trên đất nghèo dinh dưỡng nhưng có bóng che và gần nguồn nước. Ca cao sinh trưởng và phát triển tốt nhất với đất có độ pH trong khoảng 5,5 - 6,7, đất phải đảm bảo khả năng thoát nước tốt, lớp đất mặt sâu ≥ 1,5 m; tỉ lệ C : N ≥ 9, hơn 50% cát, 20% bùn hoặc 40% đất sét. Có thể phát triển trong đất nghèo với việc bổ sung phân bón (Alvim, 1977, Minifie, 1980; Wood và Lass, 1985). Ở nước ta ca cao thường được trồng ở Tây Nguyên, Duyên hải Miền Trung, Đông Nam Bộ và một số tỉnh Miền Tây Nam Bộ.

1.3. Kỹ thuật canh tác cây ca cao

1.3.1. Mật độ trồng cây ca cao

Trồng ca cao ở mật độ 3 x 3 m là trồng thuần (1100 cây/ha). Khi trồng xen thì mật độ ca cao có thể chỉ đạt 600 - 1000 cây/ha (Nguyễn Văn Uyển, 2008). Để tận dụng điều kiện khí hậu thổ nhưỡng thuận lợi, cây đạt năng suất kỳ vọng của giống/đơn vị diện tích nên chọn khoảng cách trồng thuần là 3 x 2 m.

1.3.2. Mô hình canh tác cây ca cao

Cây ca cao có thể trồng thuần hoặc trồng xen với các loại cây khác. Ở Đồng bằng sông Cửu Long và Bà Rịa Vũng Tàu nông dân trồng xen ca cao với các loại cây ăn trái như đu đủ, măng cụt. Tại Lâm Đồng có mô hình trồng xen ca cao dưới tán rừng, tán cây cao su.

1.3.2.1. Trồng xen dừa

+ Mật độ trồng xen: Hàng ca cao nằm giữa hai hàng dừa, cách gốc dừa 4 - 4,5 m, cây cách cây 3 m. Nếu vườn làm theo kiểu liếp đôi 10 m, mương 8 m, mật độ đạt 400 cây/ha. Nếu vườn liếp đơn 5 m, mương 5 m mật độ đạt 750 - 850 cây/ha. Nguyên lý chung để xác định mật độ và khoảng cách của ca cao khi trồng xen vào vườn dừa để ca cao đạt năng suất cao nhất là dừa che tối đa 25% ánh sáng trực tiếp khi ca cao vào giai đoạn kinh doanh.

+ Thuận lợi: có sẵn bóng che. Rất thuận lợi trong giai đoạn kiến thiết cơ bản, tán dừa cao, năng suất dừa tăng (do ẩm độ tăng, hữu cơ tăng), tăng thu nhập trên đơn vị diện tích đất, nhiều thiên địch, nhu cầu dinh dưỡng tương đối giống nhau (nhu cầu K_2O cao từ 1,5 - 2 lần nhu cầu N) do đó khi trồng xen ca cao vào dừa không cần phải thay đổi công thức bón phân và số lần bón phân mà chỉ cần tăng số lượng phân bón phù hợp với lượng ca cao và dừa thu hoạch. Ngoài ra cả hai loại cây này đều có đặc điểm ra hoa trái quanh năm và ra hoa trái từ thân cây nên đều cần phân bón quanh năm. Sâu bệnh phát sinh trên hai loại cây này cũng khác nhau.

+ Khó khăn: Mật độ dừa trồng trước thường cao, tâm lý người nông dân rất khó đốn thưa theo nhu cầu của cây ca cao do đó cây ca cao rất khó cạnh tranh và năng suất thường thấp.

1.3.2.2. Trồng xen điều

+ Mật độ trồng xen: Hàng ca cao nằm giữa hai hàng điều, cây cách cây 3 m hoặc giữa 2 cây điều trồng 1 cây ca cao. Mật độ ca cao đạt 280 - 380 cây/ha.

+ Thuận lợi: có sẵn bóng che. Rất thuận lợi trong giai đoạn kiến thiết cơ bản.

Tán điều cao, cải thiện đất (do chất hữu cơ tăng, ẩm độ tăng, xói mòn giảm), thiên địch thường có sẵn.

+ Khó khăn: Thu hoạch điều dễ bị sót, tỉa cành cho điều dễ làm gãy cành ca cao, sâu bệnh chung cả trên 2 loại cây (nấm hồng, bọ xít muỗi). Về phân bón thì thiếu thông tin phân bón thích hợp cho cả 2 loại cây do nhu cầu phân bón rất khác biệt ở giai đoạn kinh doanh. Cây điều N > 2K. Bón theo vụ (2 lần/năm). Cây ca cao K > 2N. Bón quanh năm, chia đều lượng phân cho mỗi lần bón (8 lần/ năm nếu có nguồn nước tưới). Vào mùa mưa do tán điều dày, độ ẩm không khí cao không đủ ánh sáng cho ca cao nên thân cây ca cao thường mọc cao, ít phát triển cành ngang, bệnh nấm hồng, thối trái phát triển nhanh (Phạm Hồng Đức Phước, 2017).

1.4. Tình hình phát triển cây ca cao ở Việt Nam

Trong giai đoạn 2004 - 2012, có rất nhiều chương trình hỗ trợ của các chính phủ, các tổ chức phi chính phủ cũng như tập đoàn sản xuất chocolate trên thế giới cho sự phát triển của cây ca cao ở Việt Nam như dự án PSOM được Chính phủ Hà Lan tài trợ, Winrock và WWF hỗ trợ cho dự án ca cao sinh thái ở Lâm Đồng, dự án Success Alliance hỗ trợ cho người trồng ca cao các tỉnh phía Nam, các dự án ở loại hợp tác công tư (PPP) trong việc xây dựng các trung tâm trình diễn, khảo nghiệm các giống ca cao phù hợp với từng địa phương.

Trong giai đoạn từ 2005 - 2012, theo số liệu của Cục Trồng trọt, diện tích ca cao từ 1.183,4 ha năm 2004 lên 8.972 ha năm 2007, diện tích đạt cao nhất là 25.700 ha năm 2012. Tuy nhiên, sau năm 2012, giá ca cao đột ngột giảm sâu chỉ còn 3.000 đồng/kg trái tươi, giảm hơn 50% so với trước đó, một số vùng bị ảnh hưởng biến đổi khí hậu trở nên khô hạn, một số nơi đất xấu, cây ca cao được đưa vào trồng như một loại cây xóa đói giảm nghèo, không được đầu tư chăm sóc nên cây kém phát triển, nhiễm sâu bệnh nặng (Đăk Nông, Lâm Đồng). Một số diện tích ca cao chết do nhiễm mặn (Bến Tre). Những sản phẩm cạnh tranh đất trồng với cây ca cao như dừa, bưởi da xanh, hồ tiêu giá tăng mạnh. Vì thế, người dân đã chặt bỏ ca cao để thay bằng cây trồng có giá trị kinh tế cao hơn làm cho diện tích trồng cây ca cao đột ngột giảm nhanh (Ban điều phối ca cao Việt Nam, 2015).

Theo Cục Trồng trọt, từ năm 2012 đến nay diện tích ca cao nước ta liên tục giảm. Hiện cả nước có 11.229 ha ca cao, giảm khoảng 14.471 ha. Trong đó, 70% diện

tích đang cho thu hoạch, diện tích trồng thuần chiếm khoảng 10%, trồng xen 90%. Mặc dù diện tích trồng liên tục giảm nhưng sản lượng ca cao trên cả nước lại liên tục tăng. Từ 30 tấn hạt khô lên men của niên vụ 2005 - 2006 tăng lên 6.777 tấn năm 2015, tăng 226 lần.

Bảng 1.2. Diện tích, năng suất, sản lượng ca cao các vùng ở Việt Nam.

TT	**Tỉnh**	**Diện tích** (ha)	**Năng suất** (tạ/ha)	**Sản lượng** (tấn hạt)
1	Đắk Lắk	2.001,0	7,10	1.429,0
2	Đắk Nông	459,2	4,20	194,0
3	Lâm Đồng	709,0	9,90	608,0
4	Gia Lai	9,6		
5	Bình Phước	617,3	11,00	493,5
6	Đồng Nai	490,0	10,00	490,0
7	Bà Rịa-Vũng Tàu	306,0	13,10	402,2
8	Bình Thuận	171,0	2,80	51,9
9	Tiền Giang	1.337,0	6,60	828,0
10	Bến Tre	2.792,0	5,53	1.362,0
11	Vĩnh Long	1.419,0	5,60	0,61
12	Hậu Giang	150,0	20,00	300,0
13	Sóc Trăng	666,0	-	300,0
14	Trà Vinh	543,8	-	136,0
15	Cần Thơ	27,8	0,9	0,9
	Tổng cộng	**11.698,7**	**8,00**	**6.596,1**

Cục Trồng trọt (2015)

Mặc dù cây ca cao trải qua những giai đoạn thăng trầm nhưng Việt Nam vẫn đang hội tụ đầy đủ những yếu tố để trở thành một quốc gia sản xuất ca cao có tầm cỡ ở châu Á đó là điều kiện tự nhiên phù hợp với cây ca cao, nông dân Việt Nam có thể tiếp thu nhanh kỹ thuật trồng, chăm sóc ca cao đã nâng năng suất thu hoạch hạt ca cao lên khá cao, có thể đạt đến 3 kg hạt khô/cây, tức là gấp 3 lần so với khi chưa được tập huấn. Bên cạnh đó Chính phủ Việt Nam đang có những chính sách nhằm hỗ trợ hơn nữa cho cây ca cao phát triển theo hướng bền vững bằng cách hướng đến chất lượng sản phẩm và tăng năng suất hơn là tìm cách tăng trưởng nóng diện tích ca cao như trước đây.

1.5. Các giống ca cao được trồng trên thế giới hiện nay

Trên thế giới, ca cao có nhiều dòng, nhóm. Mỗi dòng, nhóm đều mang những

đặc tính khác nhau, thích hợp trên những vùng sinh thái khác nhau. 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). Forastero và Trinitario là giống cho năng suất cao hơn và có nhiều khả năng kháng bệnh, hai giống này hiện đang đóng góp tới 95% tổng sản lượng trên thế giới, phần còn lại là của Criollo (Hoskin, 1994).

Giống Criollo: Hoa có nhị màu vàng nhạt, trước khi chín quả có màu xanh hoặc đỏ, quả dài, chóp nhọn và có 10 khía đều nhau, vỏ quả sần sùi, mỏng, mềm, dễ cắt, hạt có tiết diện tròn, có từ 20 - 30 hạt/trái, phôi nhũ có màu trắng, ngà hoặc tím rất nhạt. Hạt có chất lượng rất cao do có hương ca cao đặc trưng và ít đắng. Tuy nhiên cây phát triển kém, lá nhỏ, rất mẫn cảm với sâu bệnh, 4 - 5 năm mới có trái.

Giống Forastero: Hoa có nhị màu tím, quả màu xanh, sau chuyển sang màu vàng, đuôi quả tròn, vỏ dày, cứng, khó cắt, ít hoặc không có khía, phôi nhũ màu tím, tím đậm, một trái có trên 30 hạt. Giống Forastero có loại cây cao, khỏe, hạt nhỏ hơn Criollo nhưng hương vị đậm hơn và hạt chứa nhiều chất béo hơn. Do vậy, Forastero có giá trị trên thương trường và được trồng trên hầu hết các vùng trồng ca cao trên thế giới ngày nay và tạo nên khoảng 80% sản lượng thế giới của ca cao.

Giống Trinitario: Có đặc tính trung gian giữa 2 nhóm Forastero và Criollo đó là có mùi thơm của Criollo cộng với khả năng chống chịu bệnh và năng suất của Forastero. Hầu hết vỏ cứng khó cắt, màu sắc thay đổi. Phôi nhũ có màu sắc thay đổi, đôi khi có hạt màu trắng, trái có từ 30 hạt trở lên.

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. Các giống ca cao trước đây được trồng ở các địa phương là thế hệ con cháu của sự tạp giao giữa 3 nhóm trên (Phạm Hồng Đức Phước, 2009). Các vườn ca cao được chọn để bố trí thực hiện thí nghiệm đồng ruộng ở Di Linh, Lâm Đồng và Trảng Bom, Đồng Nai đều là hỗn hợp các dòng Trinitario.

1.6. Vai trò các loại chất khoáng chính đối với ca cao

1.6.1. 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. Triệu chứng thiếu đạm khi lá có màu xanh vàng hay xanh nõn chuối. Thiếu nặng lá rụng nhiều, năng suất giảm. Hiện tượng thiếu đạm thường xảy ra trên đất nghèo dinh dưỡng và bón không đủ lượng đạm cây cần.

1.6.2. 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 loại lân dễ tiêu thường bị giới hạn bởi việc cố định do các phản ứng hóa học. Triệu chứng thiếu lân khi lá chuyển màu tối, mép lá non ửng đỏ, thiếu nặng lá rụng và cành chết.

1.6.3. Kali

1.6.3.1. Kali trong đất

K hiện diện với hàm lượng khá lớn trong phần lớn các loại đất, trung bình 1,9% K. Hàm lượng K tổng số trong đất có thể biến động từ vài trăm kg/ha - 15 cm trong các loại đất có sa cấu thô hình thành trên sa thạch hay quartzite cho đến 50000 kg/ha hay cao hơn trên các loại đất có sa cấu mịn và được hình thành trên các loại đá có chứa các loại khoáng mang K. 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).

Ở vùng nhiệt đới, kali trong đất chiếm khoảng 0,2 – 0,3% (đất giàu sét chứa nhiều kali), kali có tính linh động cao. Sự hấp thụ kali bị tác động bởi Na (Na đối kháng với K).

1.6.3.2. 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 có tính linh động cao và chúng rất cần cho hoạt động sản sinh tế bào mới. Kali có nhiều ở bộ phận non và đang có hoạt động sinh lý mạnh. Đây là cation có nhiều nhất trong dịch bào (100 - 120 mM trong dịch bào; 20 - 200 mM trong lục lạp). Kali điều tiết các hoạt động sống thông qua việc làm biến đổi mức độ giữ nước, độ nhớt chất nguyên sinh, trung hòa acid trong tế bào tác động lên áp suất thẩm thấu tế bào, điều tiết pH, 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, kali tham gia vào thành phần của trên 50

enzyme khác nhau. Kali cũng là nguyên tố chính tạo nên tiềm năng thẩm thấu của hầu hết thực vật (không kể nhóm chịu mặn). Kali thúc đẩy quá trình tổng hợp hữu cơ và quang hợp tăng độ ngọt sản phẩm. Đôi khi tồn tại loại liên kết không bền với hợp chất hữu cơ. Sự hấp thụ kali bị tác động bởi Na (Na đối kháng với K). Đòi hỏi kali cho sự sinh trưởng tối ưu: 2 - 5% (Bùi Minh Trí, 2008).

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).

Hàm lượng đường tổng số, hương vị và đặc điểm chất lượng rất quan trọng ảnh hưởng đến thị hiếu tiêu dùng của nhiều loại trái cây và rau quả. Đặc điểm chất lượng liên quan trực tiếp với kali (K) qua quá trình trung gian. Tuy nhiên, lượng K trong đất hiếm khi đáp ứng đủ nhu cầu của cây nhằm đảm bảo chất lượng cho trái cây.

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 loại 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 axit có thể định lượng (TA), chất rắn hoà tan (SS), tổng chất rắn hòa 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 kali cho cây ăn quả nói chung sẽ làm tăng quá trình phân hóa mầm hoa, giảm tỷ lệ rụng, tăng tỷ lệ đậu quả và nâng cao chất lượng sản phẩm thông qua tích lũy đường trong quả (nongnghiep.vn).

K được cây hấp thu chủ yếu do K di chuyển đến rễ bằng các cơ chế khuếch tán và dòng chảy khối lượng. Hàm lượng K được vận chuyển do khuếch tán có quan hệ trực tiếp với nồng độ K trong dung dịch đất.

1.6.3.3. Các triệu chứng khi cây trồng thiếu kali

Năng lượng trong cây trồng thấp không đủ để kali vận chuyển trong lục lạp, thể hạt sợi gây ảnh hưởng đến quá trình sinh tổng hợp đường và tinh bột, lipid, ascorbate. Thiếu kali dẫn đến sự tổng hợp amin độc hại như putrescine, agmatine làm cho cây phát triển chậm lại, triệu chứng không rõ ràng nên rất khó nhận biết thiếu hụt K^+. Lá

trưởng thành sẽ biểu hiện vàng sớm, bắt đầu từ chóp và chạy dọc theo mép lá và lan rộng. K^+ di chuyển từ lá già qua lá non làm cháy mép lá hoặc tạo các đốm trên lá, Fe^{3+} chuyển hóa thành Fe^{2+} gây độc bên trong tế bào. Tính đàn hồi và ổn định thân cây giảm, cây dễ bị đổ ngã.

1.6.3.4. Một số loại phân bón kali thông dụng trên thị trường hiện nay

- Clorua kali (KCl): KCl có chứa 50 - 52% K (60 - 63% K_2O) và có màu sắc khác nhau, từ hồng hay đỏ đến nâu hay trắng tùy thuộc vào mỏ khai thác và qui trình chế biến. Không có sự khác nhau về mặt giá trị nông học giữa các sản phẩm này. Nó được sử dụng rất rộng rãi trên thế giới, tuy nhiên muối này có chỉ số POD tương đối cao vì vậy nó không được sử dụng bón qua lá vì POD cao làm tăng nguy cơ kết tinh sau xịt lá. Khi bón trực tiếp vào đất, KCl nhanh chóng hòa tan vào dung dịch đất.

- Sulfate kali (K_2SO_4): màu trắng, có chứa 42 - 44% K (50 - 53% K_2O) và 17%S.

- Nitrate kali (KNO_3): chứa 13% N và 37% K **(**44% K_2O). Về mặt nông học đây là loại phân N và K tốt tuy nhiên giá bán khá cao so với các loại phân kali khác.

1.7. Hàm lượng phân bón cung cấp cho cây ca cao thời kỳ 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 Achtrên phù sa cổ là loại đất rất cần bón phân kali, đất.

Từ năm thứ tư trở đi, cây ca cao bắt đầu của thời kỳ 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.

Bảng 1.3. Lượng dinh dưỡng (kg) cây lấy đi để tạo ra 1.000 kg hạt ca cao khô

Dinh dưỡng	N	P	K	Ca	Mg
Hạt	21,3	4,0	9,5	1,0	3,0
Vỏ	14,5	1,8	63,0	6,0	3,1
Tổng số	35,8	5,8	72,5	7,0	6,1

Wood và Lass (2001)

Để sản xuất 1.000 kg hạt ca cao khô cần bón 600 kg/ha phân bón có chứa 6 - 10% N, 8 - 12% lân P_20_5 hòa tan, 15 - 18% K_2O và 2% MgO (Wyrley – Birch, 1973).

Áp dụng chế độ phân bón như sau để đạt năng suất 2,5 kg hạt/cây: Loại phân bón NPK (10 - 10 - 15), 2 tháng bón 1 lần. Mỗi lần bón 320 g/cây. Nếu đất có pH = 5 thì nên bón thêm vôi 1 lần/năm với lượng 1000 kg/ha (Ngit-Ming Hong, 2002).

Người trồng có thể mua phân rời để tự trộn theo công thức: 1 Urê + 2 Super lân + 1.5 KCl và bón theo hướng dẫn như sau:

Bảng 1.4. Thời điểm bón phân và lượng phân bón/cây (cho năng suất 1 kg hạt khô/cây/năm)

Tháng	1	4	5	7	9	11
Loại phân	NPK	Vôi	NPK	NPK	NPK	NPK
Lượng phân (g/cây)	100	500	100	100	100	100

Phạm Hồng Đức Phước (2008)

Lượng phân bón được tăng theo tuổi của cây và kỳ vọng năng suất sẽ thu hoạch. Cần bón nhiều gấp đôi hay ba cho năng suất tăng tương ứng (2 - 3 kg/cây/năm). Hiệu quả sử dụng phân bón sẽ cao nếu được chia nhỏ và bón nhiều lần. Phân bón có thể bón đều quanh năm nếu sử dụng biện pháp tưới nhỏ giọt. Có hai thời điểm cây đặc biệt cần phân bón đó là lúc vừa hình thành trái và trước khi thu hoạch 2 tháng. Trong những năm đầu, phân bón cần chôn quanh gốc nhưng khi cây đã giáp tán và vào thời kỳ kinh doanh chỉ cần rải trên mặt đất, sau đó phủ đậy bằng lá mục vốn có sẵn trong tất cả các vườn ca cao.

1.8. 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). Mô tả về một số loại sâu, bệnh hại ca cao chủ yếu (Nguyễn Đức Hiền, 2001)

- Bọ cánh cứng hại lá (*Adoretus compressus* và *Apogonia* spp.)

Bọ cánh cứng hại lá thuộc họ Scarabaeidae, còn gọi là bọ rầy màu nâu, xám, hung kim. Ban ngày chúng trú ngụ nơi tối hay dưới đất, chạng vạng tối đến đêm chúng mới gây hại. Bọ ăn phần thịt lá, chừa lại gân làm lá thủng lỗ chỗ, mất khả năng quang hợp.

- Bọ xít muỗi (*Helopeltis* spp)

Bọ xít muỗi chích hút nhựa trái, chồi non để lại các vết chích thâm đen làm khô chồi, khô trái non, trái phát triển dị loại, ít hạt. Với trái già và trái sắp chín bị bọ xít muỗi tấn công thì không ảnh hưởng đến năng suất chất lượng nhưng tạo ra vết thương nấm bệnh dễ xâm nhập.

- Sâu khoang (*Spodoptera litura*)

Sâu khoang còn có tên khác là *Mamestra, Prodenia* thuộc họ ngài đêm (*Noctuidae*) còn gọi là sâu ăn tạp. Thành trùng đẻ trứng vào sáng sớm lên chồi non vừa nhú lá, sâu non sống tập trung và gặp phần phiến lá. Sâu lớn sống rải rác và ăn thủng lá thành những lỗ lớn, gây hại mạnh vào ban đêm, ban ngày ẩn nấp trong tán lá, cỏ dại, dưới đất.

- Sâu đo xám (*Hiposidra talaca*)

Sâu non phá lá non, chồi ngọn làm héo ngọn, chết chồi, sâu lớn gây hại nụ hoa, trái làm cho hoa và trái non hư rụng.

- Sâu bao (*Pagodiella hekmeyei*)

Sâu non có màu nâu xám, sống trong bao làm bằng cách nhả tơ kết lá và các cành khô, sâu cánh phá lá, cành non, cành già, thân. Trường hợp gây hại nặng làm cho cây trụi lá, chết chồi non, vườn cây còi cọc.

- Rệp sáp (*Planococcus citri*)

Rệp sáp sống bám vào cuống lá, trái, thân, trái non hay cổ rễ để hút nhựa làm cây, trái chậm phát triển, còi cọc. Rệp tiết ra chất hơi dính như mật ong nên thường có nhiều loại kiến sống kết hợp với rệp. Cần chú ý theo dõi để phát hiện những ổ rệp sáp mới hình thành tránh hiện tượng lây lan. Có thể diệt rệp sáp bằng cách phun các loại thuốc trừ sâu như Bi 58 40 EC.

Hình 1.2. Cây ca cao bị rệp sáp

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.

- Bệnh khô thân

Thân, cành bị nắng chiếu trực tiếp làm tổn thương các mô dưới biểu bì dẫn đến bị tạp nhiễm các loại nấm như *Collectotrichum, Fusarium* và tảo. Tảo không làm hại cây nhưng cái loại nấm hại phát triển và làm khô chết cành.

- Bệnh nấm hồng (*Cortcium salmoncolor*)

Bệnh thường chỉ xuất hiện vào mùa mưa, ở những vườn ca cao quá ẩm và rợp do tán lá dày và mật độ cây trồng cao. Nấm tấn công những cành đã hóa nâu, lúc đầu có màu mốc trắng nhưng dần chuyển sang màu trắng hồng hoặc vàng nấm mọc sâu vào phần gỗ cành.

1.9. Thu hoạch và sơ chế ca cao

1.9.1. Thu hoạch trái ca cao chín

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, mặc dù Ardhana và Fleet (2003) phát hiện ra rằng một tỷ lệ nhỏ hạt chưa chín không ảnh hưởng xấu đến quá trình lên men. Nếu để trái quá chín rất dễ bị sâu, bệnh, chuột, sóc phá hại hay nảy mầm trong trái.

1.9.2. Lên men hạt ca cao tươi

Lên men là tầm quan trọng sống còn trong việc chuẩn bị hạt ca cao cho thị trường, khi hạt ca cao chưa lên men thì rất chát và đắng, hoàn toàn không có hương vị và mùi thơm của chocolate. Về bản chất, quá trình lên men hạt ca cao bao gồm tất cả những biến đổi hóa sinh bên trong hạt và lá mầm, trong quá trình đó tiền thân của hương vị và màu sắc được tạo ra. Những thay đổi này là do các hoạt động sinh hóa của vi sinh vật phát triển trong quá trình, cũng như các phản ứng sinh hóa nội sinh bên trong hạt ca cao.

Các thành phần chứa trong hạt ca cao tươi được trình bày ở Bảng 1.5

Bảng 1.5. Các thành phần của hạt ca cao tươi, tính theo % trọng lượng tươi

Thành phần	Chất nhầy *(Mucilage/Sweating)*	Vỏ hạt *(Shell/Testa)*	Phôi nhũ *(Otyledon/Kernel)*
Nước	84,5	9,4	35
Chất béo *(Bơ Ca cao)*	-	3,8	31,3
Carbohydrater			
Cellulose	-	13,8	3,2
Tinh bột	-	46,0	4,5
Pentosans	2,7	-	4,9
Sucrose	0,7	-	-
Glucose + Fructose	10,0	-	1,1
Nitrogen			
Protein	0,6	18,0	8,4
Theobromine	-	-	2,4
Enzyme	-	-	0,8
Polyphenols	-	0,8	5,2
Acid hữu cơ			
Citric và Acetic, Oxalic	0,7	-	0,6
Muối khoáng	0,8	8,2	2,6
Tổng số	100,0	100,0	100,0

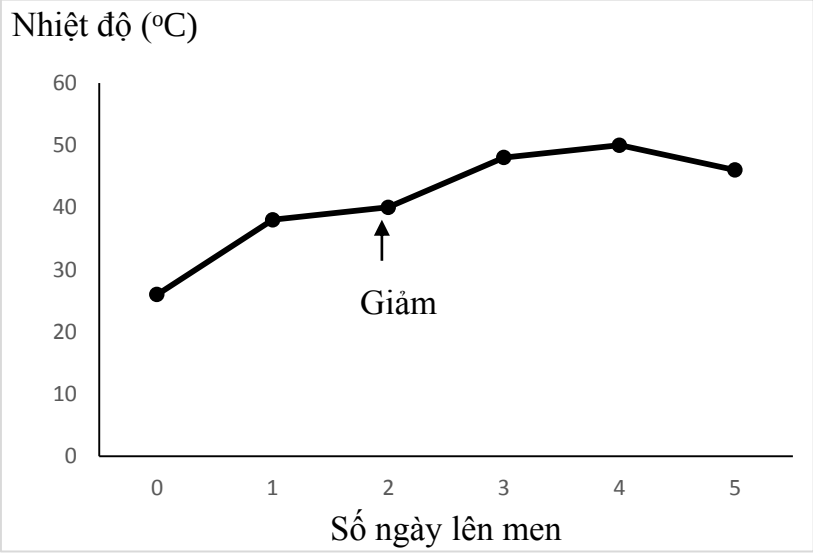
Hardy và Rodrigues (1952)

Sự lên men của các hạt *Theobroma cacao* liên quan đến nấm men, vi khuẩn acid

lactic, vi khuẩn acid acetic, có ảnh hưởng lớn đến chất lượng hạt ca cao. 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. Các nấm men, vi khuẩn acid acetic và vi khuẩn acid lactic phát triển rất nhanh chóng trong khối hạt ủ, đạt số lượng tối đa khoảng 108 cfu/g trong vòng 24 - 72 giờ. Sau đó, số lượng giảm dần, khi nhiệt độ khối ủ đạt (45 - 50°C) thì sự tăng trưởng của các loài *Bacillus* sẽ cao hơn vào giai đoạn cuối của quá trình lên men (Dougan và ctv, 1981; Carr và ctv, 1979; Schwan, 1998; Nielsen và ctv, 2007b; Camu và ctv, 2007).

Nhiệt độ khối hạt tăng do quá trình lên men sinh nhiệt. Nhiệt độ tăng mạnh từ ngày thứ hai trở đi. Nhiệt độ khối hạt trong quá trình lên men có thể tăng lên đến 50^0C, tuy nhiên hạt sẽ bị lên men quá mức nếu nhiệt độ khối hạt lên đến mức 60^0C. Theo Lambert, 2010 Nhiệt độ môi trường cũng ảnh hưởng đến chất lượng ca cao. Khi nhiệt độ môi trường thấp sẽ làm chậm quá trình lên men trong giai đoạn ủ hạt, có thể làm giảm chất lượng bơ ca cao (độ cứng).

Hình thức lên men hạt ca cao ở tất cả các nước trồng ca cao trên thế giới hiện nay đang áp dụng gồm lên men đống, lên men thúng và lên men thùng.



Lambert (2010)

Hình 1.3.Biến thiên nhiệt độ khối hạt ca cao trong quá trình lên men

Quá trình lên men hạt kết thúc khi cấu trúc bên trong hạt mở, hạt có màu nâu, nhiệt độ khối hạt giảm, nếu kéo dài thời gian lên men trong giai đoạn này sẽ làm cho

hạt ca cao có các mùi, vị không mong muốn (Lambert, 2010).

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

Khi cắt bỏ lớp vỏ bên ngoài, hạt ca cao được tiếp xúc với môi trường, quá trình lên men tự nhiên bắt đầu. Hoạt động của vi sinh vật gồm nấm men, vi khuẩn acid lactic và vi khuẩn acid acetic dẫn đến sự hình thành của một loạt sản phẩm trao đổi chất như rượu, acid lactic và acid acetic, là tiền thân của sự hình thành hương vị ca cao (Ardhana và Fleet, 2003; Schwan và Wheals, 2004; Camu và ctv, 2007; Nielsen và ctv, 2007). Nấm men sinh sôi nảy nở trong giai đoạn đầu và giảm khi quá trình lên men kéo dài do cạn kiệt nguồn năng lượng thích hợp, sản xuất ethanol và chuyển đổi nó thành acid acetic, và sự gia tăng nhiệt độ lên đến 50°C do phản ứng oxy hóa hiếu khí (Schwan và Wheals, 2004; Camu và ctv, 2007).

Nấm men chủ yếu là chịu trách nhiệm về sản xuất ethanol từ đường trong giai đoạn đầu của quá trình lên men, khi khối lượng lớp cơm nhầy là kỵ khí, độ pH và nhiệt độ thấp (Ardhana và Fleet, 2003; Camu và ctv, 2007; 2008). 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 acicd lactic sản xuất chủ yếu là acid lactic làm tăng nhẹ độ pH của hạt ca cao (Camu và ctv, 2007, 2008). 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, 2008).

Sự đa dạng các loài vi sinh vật trong quá trình lên men hạt ca cao đã được chứng minh là có thay đổi theo địa điểm và một số yếu tố chẳng hạn như lượng dinh dưỡng, nhiệt độ, độ pH, hàm lượng oxy và các hoạt động trao đổi chất (Baker và ctv, 1994; Camu và ctv, 2007; 2008). Một số nghiên cứu cổ điển cho thấy có sự tham gia của một hệ nấm men đa loại phong phú, bao gồm *Candida* spp. (gồm cả *Torulopsis* spp. trước đây), *Cryptococcus* spp, *Hanseniaspora* spp. (và *Anamorphs kloeckera* spp.), *Kluyveromyces spp.* (gồm cả *Lachancea thermotolerans*), *Meyerozyma* (*Pichia* spp. trước đây), *Millerozyma* (*Pichia* spp. trước đây), *Pichia* spp. (Bao gồm cả *Issatchenkia* spp., *Hansenula* spp. trước đây), *Rhodotorula* spp., *Saccharomyces* spp. (gồm cả *Kazachstania exigua*), *Saccharomycopsis* spp., *Schizosaccharomyces* spp., *Torulaspora* spp., và *Wickerhamomyces* spp. (gồm cả *Pichia* spp. trước đây) (Schwan

và ctv, 1995; Fowler và ctv, 1998;. Ardhana và Fleet, 2003; Schwan và Wheals, 2004; Jespersen và ctv, 2005; Lagunes-Galvez và ctv, 2007; Nielsen và ctv, 2007; Thompson và ctv, 2007). Có khả năng do chúng tăng trưởng nhanh chóng, hoạt động pectin và chịu được ethanol, *Saccharomyces cerevisiae* là loài thường được phát hiện và cũng là loài phổ biến trong quá trình lên men hạt ca cao, tiếp theo là *Pichia kudriavzevii* (trước đây là *Issatchenkia orientalis*) và *Membranifaciens pichia*, thường thì giai đoạn lên men đầu tiên thường xuyên được thống trị bởi *Hanseniaspora guilliermondii* (Schwan và ctv, 1995; Ardhana và Fleet, 2003; Jespersen và ctv, 2005; Nielsen và ctv, 2005; 2007).

Ardhana và Fleet (2003) đã khảo sát tại ba cơ sở lên men ở Đông Java, Indonesia xác định các quần thể vi sinh vật cho thấy trong 2 - 3 ngày đầu tiên của quá trình lên men được đặc trưng bởi sự tăng trưởng của các loài nấm sợi, nấm men, vi khuẩn acid lactic và vi khuẩn acid acetic. Các loài chủ yếu tìm thấy được là *Penicillium citrinum*, một basidiomycete không xác định, *Kloeckera apis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus plantarum* và *Acetobacter pasteurianus*. Giai đoạn cuối của quá trình lên men bị chi phối bởi sự hiện diện của các loài vi khuẩn Bacillus, chủ yếu là vi khuẩn *Bacillus licheniformis pumilus* và *Bacillus*. Glucose, fructose, sucrose, acid citric của cơm nhầy đã được sử dụng trong quá trình lên men, với việc sản xuất ethanol, acid acetic và acid lactic khuếch tán vào bên trong nhân hạt.

Các loài nấm men thường xuyên nhất được phân lập là *Saccharomyces cerevisiae*, *Hanseniaspora guilliermondii* (*Anamorph kloeckera apis*), *Hanseniaspora opuntiae*, *fermentans pichia*, *Pichia kluyveri*, *Pichia kudriavzevii* (trước đây là *Issatchenkia orientalis*, *Anamorph candida krusei*), *Membranifaciens pichia* và *Wickerhamomyces anomalus* (trước đây là *Pichia anomala*) (Schwan và ctv, 1995; Ardhana và Fleet, 2003; Schwan và Wheals, 2004; Jespersen và ctv, 2005; Nielsen và ctv, 2005, 2007; Lagunes - Gálvez và ctv, 2007; Leal và ctv, 2008; Daniel và ctv, 2009). Dựa trên sự kết hợp của phân tích phân tử và dữ liệu hình thái và sinh lý, Daniel và ctv, 2009 đã xác định *Pichia kudriavzevii*, *Saccharomyces cerevisiae và Hanseniaspora opuntiae* như các loài nấm men chính liên quan đến lên men kiểu đống ở Ghana, xác nhận dữ liệu từ các nghiên cứu trước đó (Jespersen và ctv, 2005; Nielsen và ctv, 2005, 2007). Một số loài không

được tìm thấy trong quá trình lên men hạt ca cao trước đây, chẳng hạn như *Candida carpophila, Candida orthopsilosis, Kodamaea ohmeri, Meyerozyma caribbica* và *Saccharomycodes ludwigii* (Daniel và ctv, 2009). Ngoài ra, các loài mới *Candida halmiae* và *Candida awuaii* đã được báo cáo gần đây (Nielsen và ctv, 2010).

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

Các biến đổi hoá sinh đầu tiên là sự lên men rượu, lên men lactic lớp chất nhầy bên ngoài và sự lên men acetic trong giai đoạn tiếp theo sau đó.

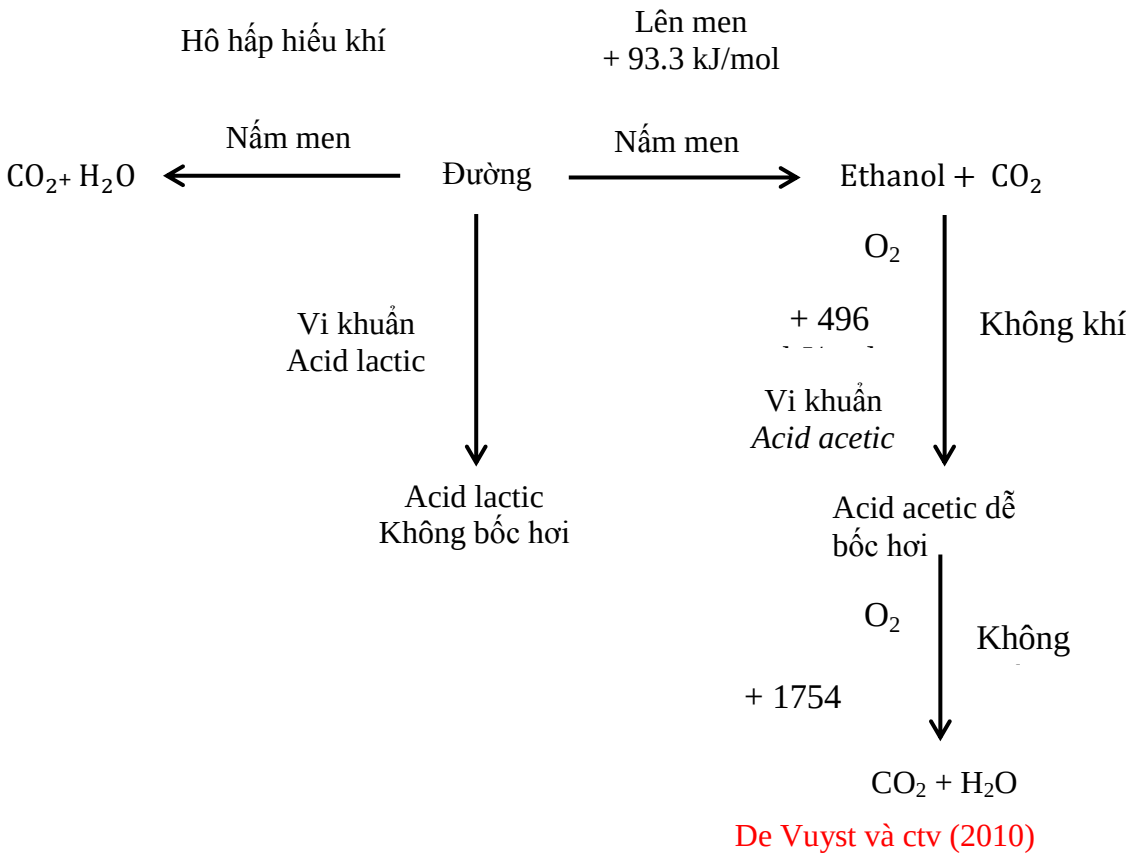
Lớp chất nhầy bao quanh hạt ca cao mới lấy ra từ quả có trữ lượng đường khá cao, độ pH thấp do sự có mặt của các acid hữu cơ là môi trường rất thích hợp cho sự phát triển của nấm men. Trong giai đoạn đầu của quá trình lên men, sự hiện diện của lớp chất nhầy làm giảm lượng oxy khuếch tán vào bên trong khối hạt tạo nên điều kiện kị khí. Trong giai đoạn này, nấm men và các vi khuẩn lactic chuyển hoá đường và acid hữu cơ trong chất nhầy thành ethanol, acid lactic, CO_2

$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2 + 93{,}3$ kJ

$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3\text{-}CHOH\text{-}COOH + 393{,}56$kJ

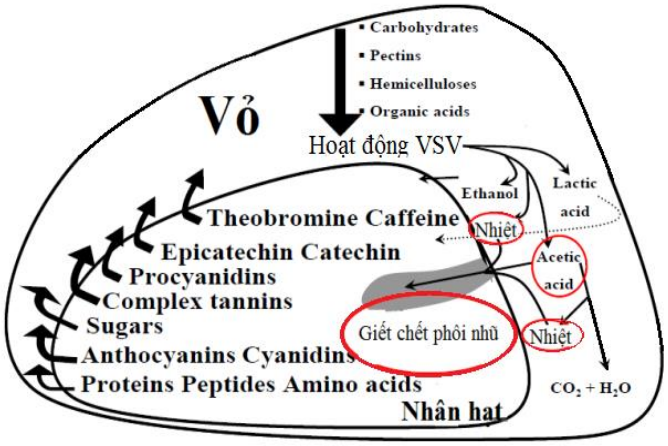
Có thể tóm tắt quá các biến đổi hoá sinh trong quá trình lên men như sau:

Trong lớp cơm nhầy



De Vuyst và ctv (2010)

Những nội phản ứng trong các mô của cotyledon



De Vuyst và ctv (2010)

Hình 1.4. Những biến đổi sinh hóa trong nhân hạt ca cao trong quá trình lên men.

Các mô của cotyledon do hai tế bào tạo thành: tế bào có các sắc tố chứa các polyphenols (tanin, catechins, anthocyanin, leucoanthocyanin); các purin (theobromine và caffenine), và các tế bào dự trữ không có màu sắc chứa những tinh thể bơ ca cao; những hạt tinh bột; những protein (hạt aleuron) và các enzyme.

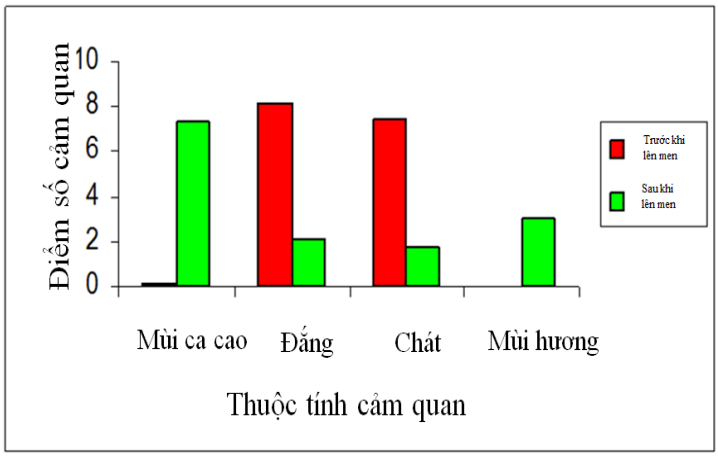
Khi phôi nhũ của hạt ca cao đã chết, cotyledon sẽ hút ẩm làm cho vách tế bào trở nên thấm nước và nội chất của tế bào có thể khuếch tán qua các mô. Những enzyme của tế bào dự trữ nhờ thế được tiếp xúc với những polyphenols của tế bào sắc tố mà trước kia hoàn toàn bị ngăn cách, enzyme hoạt hóa thủy phân protein.

Trong các polyphenols những sắc tố anthocyanin bị thủy phân cho ra cyanidin và hai đường khử là những chất không màu mà sau khi bị oxy hóa sẽ có màu nâu đặc trưng (màu nâu ca cao). Những polyphenols khác sẽ tản đi một phần qua lớp vỏ của hạt hoặc chịu những biến đổi hóa học, cả hai tiến trình đều góp phần làm giảm vị đắng và chát. Các biến đổi này xảy ra cho tới cuối đợt lên men và còn tiếp tục trong quá trình phơi khô, bớt chát là một đặc điểm của ca cao đã lên men tốt.

Đối với những phức chất đạm, trong quá trình lên men trữ lượng đạm tổng số giảm đều vì chất theobromine giảm. Chừng 40% theobromine của phôi nhũ tươi khuếch tán vào các mô và di chuyển vào các vỏ của hạt làm trữ lượng theobromine ở vỏ hạt tăng lên rất nhiều. Vì thế vị đắng của hạt ủ tốt giảm đi. Các protein trong cotyledon bị thủy phân hóa thành các amino acid và chuyển sang các loại không hòa

tan do các phản ứng với polyphenols. Các biến đổi này phản ánh qua các vị, hương và màu sắc của các hạt.

Hiệu quả quan trọng nhất của quá trình ủ hạt ca cao là sự xuất hiện của những tiền chất của hương vị chocolate. Theo Rohan (1958), những chất đường khử tìm thấy trong hạt ca cao đã lên men là một thành phần của các tiền chất. Chỉ có những tiền chất này mới truyền cho hạt ca cao khi rang có hương vị 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.



Lambert (2010)

Hình 1.5. Sự thay đổi hương vị của hạt ca cao trước và sau lên men

1.9.5. Làm khô hạt ca cao

Sau khi hoàn thành giai đoạn lên men, hạt ca cao có ẩm độ 55 - 60% và ẩm độ này cần phải giảm xuống 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 biệt cho ca cao. Hạt ca cao có thể phơi nắng hay sấy để hạ độ ẩm xuống 6 - 7%. Hạt được ủ và phơi sấy tốt sẽ có màu tím nhạt và màu nâu chocolate. Khi bóc hạt bằng tay sẽ nghe âm thanh rắc rắc và dễ nghiền thành bột. Nếu ẩm độ hạt cao hơn 8% nấm mốc dễ phát triển, nếu hạt quá khô, ẩm độ nhỏ hơn 6% hạt sẽ dòn dễ vỡ.

Khi phơi hoặc sấy mà hạt khô quá nhanh, lớp ngoài của hạt khô cứng làm lượng acid bên trong (hình thành trong quá trình lên men) không thể thấm ra ngoài và bốc thoát được lên hạt sẽ chua, ngoài ra một số quá trình chuyển hóa hóa học sẽ không được hoàn thành. Tuy nhiên, nếu thời gian phơi sấy kéo dài nấm mốc và các mùi lạ sẽ

phát triển. Nhiệt độ trong quá trình phơi sấy không nên vượt quá 65^{o}C. Thời gian phơi sấy thường kéo dài từ 5 - 10 ngày. Người ta còn dựng mái che cố định hoặc di động để che phủ ca cao vào ban đêm và khi gặp trời mưa.

Mục đích của việc phơi sấy, ngoài việc hạ thấp ẩm độ từ 45% xuống còn 7% ngăn ngừa mốc phát triển còn kéo dài thêm quá trình lên men, cho đến khi đủ độ ẩm cần thiết, những phản ứng tạo mùi vị vẫn tiếp tục diễn ra bên trong hạt, phản ứng nâu hóa - oxy hóa polyphenol làm giảm vị đắng và chát; các biến đổi hóa học xảy ra tiếp tục bên trong hạt sau thời kỳ lên men để tạo hương vị đặc biệt cho ca cao. Trong quá trình phơi sấy làm khô chậm, một lượng acid lactic không bốc hơi được sẽ theo nước thấm từ hạt qua vỏ rồi thoát ra bên ngoài góp phần giảm độ chua cho hạt.

1.10. Tiêu chuẩn Việt Nam về hạt ca cao

Hạt ca cao được phân thành 03 loại: 1A, 1B, 1C.

Khi một hạt có nhiều hơn một loại khuyết tật, thì chỉ tính loại khuyết tật nặng nhất theo thứ tự giảm dần như sau: Hạt mốc; Hạt chai xám; Hạt bị hư hại/bị nhiễm côn trùng; Hạt nẩy mầm.

Các yêu cầu cụ thể như Bảng 1.6.

Bảng 1.6. Chỉ số phân loại hạt ca cao theo TCVN 7519 : 2005

Chỉ tiêu	Loại		
	1A	1B	1C
Số hạt có trong 100 g (số đếm hạt), không lớn hơn	100	110	120
Độ ẩm, %, không lớn hơn	7,5	7,5	7,5
Hạt chai xám, %, không lớn hơn	3,0	3,0	3,0
Hạt mốc, %, không lớn hơn	3,0	3,0	3,0
Hạt bị hư hại do côn trùng, hạt nảy mầm, %, không lớn hơn	2,5	2,5	2,5
Tạp chất (rác thải ca cao), %, không lớn hơn	1,0	1,0	1,0

Bộ Khoa học công nghệ (2005)

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

1.11.1. 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 năm 2009 về ảnh

hưởng của phân kali đối với sự tăng trưởng và các thành phần hóa học của cây tùng bách. Dữ liệu thu được cho thấy khi sử dụng phân kali bón lá sẽ làm thay đổi lượng đường hòa tan so với lô đối chứng không bón kali. Dữ liệu thu được nhấn mạnh rằng tỷ lệ đường hòa tan tăng cao nhất khi phân kali được bón ở tỉ lệ 2,0 và 2,5. Tỷ lệ phân bón lá kali càng thấp thì tỷ lệ đường hòa tan càng thấp. Những kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Sladky (1959); Chen và Avaid (1990). Kali tăng cường mật độ quang hợp dẫn đến tác động tích cực trên các thông số tăng trưởng và tăng hàm lượng đường hòa tan tổng số của cây tùng bách.

Lester (2005) khi nghiên cứu trên cây dưa đỏ đã chứng minh ảnh hưởng của việc bón phân kali đến chất lượng trái, hàm lượng carbohydrate đơn giản, acid ascorbic và mức beta-carotene trong trái đều tăng, 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. Hàm lượng đường trong cây sẽ càng cao khi sử dụng hàm lượng phân bón kali càng cao. Trong công thức không bón kali còn các chất khác vẫn bón đầy đủ thì hàm lượng đường trong cây vẫn giảm. Trong trường hợp bón Kali mà không bón S hoặc Mg thì hàm lượng đường vẫn tăng tỉ lệ thuận với hàm lượng kali bón vào đất.

Javaria và ctv (2009) đã tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của bón phân kali đến hàm lượng các chất trong quả. Kết quả cho thấy tổng chất rắn, đường và tính acid tăng đáng kể cùng với tỷ lệ tăng kali.

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).

1.11.2. 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. Giai đoạn đầu của quá trình lên men ca cao được thúc đẩy bởi sự tăng trưởng và hoạt động trao đổi chất của nấm men *Saccharomyces cerevisiae, Hanseniaspora guillermondii, Candida krusei*. Một số lượng lớn các loài nấm men khác cũng đóng góp nhỏ cho giai đoạn đầu của quá trình lên men ca cao. Các loài nấm men chiếm ưu thế trong 36 - 48 giờ đầu tiên của quá trình lên men và tạo điều kiện cho sự tăng trưởng của vi khuẩn acid lactic và vi khuẩn acid acetic. Số lượng và sự đa loại của vi khuẩn sẽ bị ảnh hưởng trực tiếp và bị kiểm soát bởi số lượng và các loài nấm men được tìm thấy trong giai đoạn ban đầu. Các thí nghiệm được tiến hành tại Úc cho thấy rằng bằng cách xác định các loài nấm men ban đầu, các loài vi khuẩn có thể được kiểm soát ở một số phạm vi. Những thí nghiệm này cũng cho thấy rằng việc sử dụng men với nấm menđược xác định sẽ có thể cho kết quả sau: (1) Chọn mùi vị đặc trưng cho chocolate một cách dự đoán, (2) Tăng số lượng hạt lên men/lần ủ, rút ngắn thời gian lên men, (3) Giảm nấm mốc phát triển trong quá trình sấy.

1.11.3. 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, quá trình sấy theo các điều kiện được kiểm tra (60, 70 và 80°C). 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) thu được kết quả: 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 công thức này đều có chất lượng tốt hơn so với ca cao chỉ sấy khô trong lò sấy ở 60°C.

1.11.4. Nghiên cứu về chất lượng hạt ca cao tại một số vùng của Việt Nam

Công ty Mars Inc (2007) đã phân tích một số chỉ tiêu liên quan chất lượng và đánh giá hương vị ca cao ở một số vùng trồng ca cao trọng điểm của Việt Nam

Bảng 1.7. Một số chỉ tiêu về chất lượng của hạt ca cao Việt Nam

Chỉ tiêu phân tích	Bà Rịa - Vũng Tàu	Bến Tre	Bình Phước	Đăk Lăk	Tiền Giang	Trung Bình
Hàm lượng chất béo (%)	52,57	52,25	55,51	54,21	52,70	52,93
Độ ẩm bột nhão (%)	2,87	3,01	3,00	2,94	2,93	2,95
Acid béo tự do (%)	0,77	0,65	0,60	0,54	0,60	0,63
Độ lệch so với mẫu chuẩn	3,57	3,36	3,00	3,44	3,00	3,27
(*)Vị ca cao	4	4	6	4	3	4
(*) Hương ca cao	3	4	3	4	3	3

Mars Inc (2007)

(*) Hương, vị ca cao được đáng giá bằng điểm số. Số càng lớn thì mùi hương ca cao và vị chua lệch.

Hiện nay một số vấn đề phát sinh mà cây ca cao của Việt Nam gặp phải là độ lên men thấp và không đồng đều, mùi đặc trưng không rõ ràng, độ axít còn cao, hạt ca cao bị nhiễm khói, có mùi lạ do quá trình phơi sấy chưa tốt (Lambert, 2010).

Chương 2
NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nội dung nghiên cứu

Để đáp ứng được mục tiêu đã đề ra, đề tài được triển khai theo sáu nội dung chính sau:

- Nội dung 1: Khảo sát về hiện trạng canh tác và chất lượng hạt ca cao của một số vùng trồng ca cao nhiều ở Việt Nam.

- Nội dung 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của loại, lượng phân bón kali đến hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi và năng suất trái của cây ca cao ở thời kỳ kinh doanh.

- Nội dung 3: Xác định loài nấm men thích hợp cho quá trình lên men hạt ca cao chất lượng.

- Nội dung 4: Nghiên cứu ảnh hưởng của phương pháp ép hạt loại bớt dịch cơm nhầy trước khi lên men đến độ chua 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. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Các nội dung của đề tài nghiên cứu được thực hiện từ năm 2012 đến năm 2016, bao gồm:

a) Nội dung khảo sát về hiện trạng canh tác và chất lượng của hạt ca cao Việt Nam tại một số tỉnh trồng ca cao nhiều ở Việt Nam gồm huyện Châu Thành và huyện Giồng Trôm (tỉnh Bến Tre), huyện Trảng Bom, huyện Định Quán, huyện Tân Phú (tỉnh Đồng Nai) và huyện Ea Kar (tỉnh ĐắK Lắk). Thời gian khảo sát từ khi bắt đầu thực hiện đề tài đến khi kết thúc đề tài.

b) Nội dung 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 cây được thực hiện trên hai vườn ca cao cùng 7 năm tuổi, trồng thuần, giống ca cao gồm hỗn hợp các dòng Trinitario. Vườn ca cao thứ nhất tại Trại Phong, huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng, ca cao được trồng trên đất FRr. Vườn thứ 2 tại Trảng Bom, tỉnh Đồng Nai,

ca cao được trồng trên đất Ach.

Thời gian thực hiện: năm 2012, 2013.

c) Nội dung Xác định loài nấm men thích hợp cho quá trình lên men hạt ca cao nhằm từng bước kiểm soát quá trình lên men hạt ca cao chất lượng.

Nghiên cứu gồm các bước sau:

- Phân lập và làm thuần các chủng nấm men trên môi trường Sabouraud được thực hiện tại Viện nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Đà Lạt.

- Định danh các chủng nấm men được thực hiện tại Công ty TNHH Dịch vụ và Thương mại Nam khoa TP. HCM.

- Nhân sinh khối và thu sinh khối nấm men dưới loại bột nhão (paste) được thực hiện tại vườn ca cao huyện Tân Phú, tỉnh Đồng Nai.

- Chủ động bổ sung nấm men vào khối ủ hạt ca cao lên men được thực hiện tại Công ty TNHH Ca cao Trọng Đức, huyện Định Quán, tỉnh Đồng Nai.

d) Nội dung Nghiên cứu ảnh hưởng của phương pháp ép hạt loại bớt dịch cơm nhầy trước khi lên men đến độ chua hạt thành phẩm.

Thời gian thực hiện các thí nghiệm: Năm 2014, tại Công ty TNHH Ca cao Trọng Đức, huyện Định Quán, tỉnh Đồng Nai.

e) Các thí nghiệm làm khô hạt gồm:

- Làm khô hạt bằng phương pháp sấy trong lò điện được thực hiện tại Trường Cao đẳng Công nghệ và Kinh tế Bảo Lộc.

- Làm khô hạt bằng phương pháp phơi trên giàn phơi có lưới che nhằm giảm cường độ ánh sáng chiếu xuống hạt được thực hiện tại Công ty TNHH Ca cao Trọng Đức, huyện Tân Phú, tỉnh Đồng Nai.

Thời gian thực hiện các thí nghiệm: Năm 2015.

f) Đề xuất quy trình sản xuất ca cao chất lượng tại Việt Nam

Thời gian thực hiện: Năm 2016.

2.3. Vật liệu nghiên cứu

2.3.1. Vật liệu sử dụng cho các thí nghiệm khảo sát nông hộ

Bảng câu hỏi phỏng vấn nông hộ về hiện trạng sản xuất ca cao, về tiền thưởng cộng thêm vào giá bán cho hạt ca cao chất lượng (phần phụ lục).

2.3.2. Vật liệu sử dụng cho các thí nghiệm đồng ruộng

- Vườn ca cao bố trí thí nghiệm

Hai vườn ca cao trồng cùng thời điểm (năm 2007) đến nay đã bước vào giai đoạn kinh doanh, mô hình trồng thuần, cây giống ca cao trồng tại hai vườn là loại cây giống ghép có nguồn gốc từ trường Đại học Nông Lâm Tp Hồ Chí Minh, gồm hỗn hợp các dòng Trinitario (các dòng vô tính TD1, TD2, TD3, TD5, TD6, TD8, TD10, TD14) trồng xen kẽ nhau. Đây là các dòng ca cao đã được Bộ Nông nghiệp và PTNT công nhận để trồng đại trà. Vườn ca cao để tránh thoái hóa giống được Trung tâm Khuyến nông Quốc gia khuyến cáo trồng xen kẽ nhiều dòng cho cây thụ phấn chéo.

- Các loại phân bón sử dụng cho thí nghiệm

+ Clorua kali KCl chứa 60% K_2O.

+ Sulfate kali K_2SO_4 chứa 50% K_2O.

+ Nitrate kali KNO_3 chứa 44% K_2O.

+ Urea chứa 46% N_2.

+ Super lân chứa 16,5% P_2O_5.

2.3.3. Vật liệu sử dụng cho các thí nghiệm lên men

- Hạt tươi: Hạt ca cao được thu từ trái đã đạt độ chín thu hái của giống Trinitario. Trái ca cao sau khi hái xuống được ủ 5 ngày sau đó tiến hành đập trái lấy hạt tươi sử dụng trong các thí nhiệm lên men hạt.

- Hạt sau lên men: hạt đã trải qua lên men trong thùng gỗ trong thời gian 120 h, đảo trộn 1 lần sau 48 h ủ.

- Thùng ủ hạt: làm bằng gỗ, hình vuông, đóng kín 4 phía, kích thước 50 x 50 x 50 cm, chân thùng cao 5 cm; các thanh gỗ làm đáy thùng có chiều ngang 7 cm, đóng cách nhau 3 - 5 mm để nước dịch hạt rút ra trong quá trình lên men.

- Hộp nhựa đựng mẫu: hộp nhỏ có nắp đậy, kích thước 12 x 6 x 5 cm, đựng đủ 500 g hạt tươi.

- Các hóa chất dùng trong pha môi trường nuôi cấy nấm men

Glucose	40 g
Peptone	10 g
Chloramphenicol	100 mg
Agar	20 g

Nước cất 1.000 mL

- Các hóa chất dùng trong nhân sinh khối nấm men

KH_2PO_4: 1,2 kg; NH_4Cl: 1,2 kg; HCl: 100 mL; $Ca(OCl)_2$: 1kg; NaCl: 5 g; dung dịch Buffered Peptone Water (BPW). Bột chiết malt: 20 g; Peptone: 10 g; Agar: 50 g; Nước cất: 2.000 mL; Glucose: 60 g; Chloramphenicol: 0,1 g; Mật rỉ đường mía: 60 kg.

- Các loại hóa chất dùng trong đếm số tế bào nấm men: BPW, dùng để pha loãng mẫu thành các độ pha loãng thập phân 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}… 10^{-6}.

NaCl 5 g

Peptone 10 g

Nước cất 1.000 mL

- Các loại hóa chất dùng trong xác định hàm lượng đường tổng số trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi:

Acid clohydric 1/3;

$Pb(CH_3COO)_2$ 1g;

kali oxalat bão hòa;

natri hydroxit 20%;

phenolphtalein 0,1% trong etanola 60^0;

$Fe_2(SO_4)_3$ 0,1M: 10 mL;

$KMnO_4$ 0,1N.

- Các loại máy móc thiết bị sử dụng trong các thí nghiệm:

+ Máy đo pH và độ ẩm đất của nhà sản xuất Takemura, xuất xứ Nhật Bản.

+ Máy đo nhiệt độ điện tử với đầu dò rời SK250WPIIN Model SK-250WPII-N, Cat.No.8062-00, Hãng sản xuất Sato - Nhật.

+ Cân tiểu ly điện tử Cas MWP-150N, Hãng sản xuất CaS, xuất xứ Hàn Quốc.

+ Máy sục khí, máy ly tâm, 2 xilanh (loại 10 mL và 100 mL), 6 thùng nhựa loại 80 lít và các vật liệu khác.

2.3.4. Vật liệu sử dụng cho các thí nghiệm làm khô hạt

+ Hạt ca cao sau lên men: được lấy từ các thùng ủ lên men tự nhiên (công thức đối chứng) và các thùng ủ của thí nghiệm ép loại bớt dịch cơm nhầy trước khi lên men nhằm giảm hàm lượng đường có trong lớp cơm nhầy bao quanh nhân hạt tham gia vào các quá trình chuyển hóa trong thời gian ủ lên men hạt (nội dung 4).

+ Giàn phơi che bằng lưới, loại có độ che phủ 50% và 60% (chỉ cho 50% và 40% ánh sáng lọt xuống lớp hạt nhằm kéo dài thời gian khô hạt (Loại lưới che nắng trồng rau, màu xanh đen, xuất xứ Việt Nam, nhãn hiệu Chuông Vàng).

+ 03 tủ sấy điện cùng nhãn hiệu, cùng năm sản xuất, được nhập về cùng lúc tại Trường Cao đẳng Công nghệ và Kinh tế Bảo Lộc.

2.4. Phương pháp bố trí thí nghiệm

2.4.1. Nội dung 1: Khảo sát về hiện trạng canh tác và chất lượng hạt ca cao của một số vùng trồng ca cao nhiều ở Việt Nam.

- Khảo sát kỹ thuật canh tác ca cao của các nông hộ:

+ Tiêu chí chọn hộ: chọn ngẫu nhiên từ danh sách các nông hộ trồng ca cao

+ Phương pháp chọn mẫu điều tra: 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 để thu thập số liệu từ các hộ trực tiếp sản xuất. Phương pháp điều tra khảo sát kỹ thuật canh tác ca cao của các nông hộ được triển khai theo hướng dẫn đánh giá điểm nghiên cứu hệ thống canh tác bằng phiếu phỏng vấn hộ nông dân. Phiếu câu hỏi điều tra bao gồm chỉ số định tính và định lượng liên quan đến nội dung cần thu thập (phụ lục 3). Tổng số mẫu điều tra là 50 hộ x 3 tỉnh = 150 hộ gia đình nông dân đại diện cho các hộ có trồng cây ca cao. Thông tin thu thập được từ phiếu điều tra được xử lý thống kê bằng phần mềm EXCEL kết hợp với đối chiếu phân tích số liệu thứ cấp từ báo cáo của các Sở Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn các tỉnh, Cục trồng trọt, Ban điều phối ca cao Việt Nam và kết quả nghiên cứu về thực trạng sản xuất ca cao tại các vùng trồng ca cao chính của Viện Khoa học Kỹ thuật Nông lâm nghiệp Tây Nguyên.

Các câu hỏi trên phiếu khảo sát khảo sát bao gồm cơ cấu giống cây ca cao đã trồng; diện tích trồng cây ca cao của các nông hộ; mô hình canh tác ca cao; năng suất hạt; thu hoạch quả tươi; sơ chế hạt tươi; làm khô hạt; sử dụng phân bón cho cây ca cao; một số loại sâu bệnh trên cây ca cao thường gặp và cách phòng trừ sâu bệnh của nông hộ, các loại thuốc phòng trừ sâu bệnh mà nông hộ thường sử dụng (Phụ lục 1). Thông tin thu thập được từ phiếu khảo sát được xử lý thống kê trên máy vi tính bằng phần mềm Excel.

- Phân tích một số chỉ tiêu liên quan đến chất lượng hạt ca cao trong quá trình lên men.

+ Mẫu phân tích: được lấy từ các điểm thu mua ca cao tập trung tại các tỉnh Đồng Nai, Đăk Lăk, Bến Tre. Dung lượng mấu phụ thuộc mục tiêu sử dụng

Để phân lập nấm men thì khối lượng hạt tươi được lấy từ các thùng ủ hạt đang lên men là 500 g/mẫu x 3 lần lặp lại = 1500 g

+ Để phân tích các chỉ tiêu chất lượng hạt: hạt ca cao được lấy mẫu theo hướng dẫn trong TCVN 7521 : 2005 (ISO 2292 : 1973). Dùng ống xiên để lấy ngẫu nhiên từ phía trên, vị trí giữa và dưới đáy của các bao chứa hạt ca cao đã được làm khô đến 7% độ ẩm,. Trộn đều lượng hạt ca cao thu được, lấy ngẫu nhiên 2 kg sau đó tiếp tục lấy ngẫu nhiên 300 hạt để cắt hạt kiểm tra (cut test), lấy 350g hạt khô để phân tích các chỉ tiêu chất lượng khác của hạt như: đo độ ẩm, pH vỏ, pH nhân hạt, đếm số hạt/100g… theo các phương pháp được hướng dẫn trong các TCVN do do Bộ Khoa học và Công nghệ ban hành (Xác định độ ẩm, theo TCVN 7520 : 2005 (ISO 2291 : 1980); định các dạng khuyết tật sau khi cắt, theo TCVN 7522 : 2005 (ISO 1114 : 1977)…

+ Số lần phân tích: 3 lần lặp lại/mẫu.

+ Các chỉ tiêu phân tích gồm: Tỷ lệ hạt lên men, hạt tím, hạt có một phần tím/một phần nâu, hạt sâu, hạt mốc, hạt chai xám, hạt lép, hạt dính cục, hạt vỡ, độ ẩm hạt khô, rác thải và vật lạ, số lượng hạt/100 g.

2.4.2. Nội dung 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của loại, liều lượng phân bón kali đến hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi và năng suất trái của cây ca cao ở thời kỳ kinh doanh.

2.4.2.1. Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của loại, liều lượng phân bón kali đến hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi và năng suất trái của cây ca cao ở thời kỳ kinh doanh trồng trên đất FRr tại huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng.

2.4.2.2. Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của loại, liều lượng phân bón kali đến hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi và năng suất trái của cây ca cao ở thời kỳ kinh doanh trồng trên đất Ach tại huyện Trảng Bom, tỉnh Đồng Nai.

Các thí nghiệm được bố trí thực hiện song song, phương pháp bố trí thí nghiệm tương tự nhau.

***Đặc điểm thời tiết khu vực nghiên cứu**

Nhiệt độ, số giờ nắng, lượng mưa, độ ẩm không khí trong các tháng thực nghiệm tại hai vùng bố trí thí nghiệm đồng ruộng có sự biến động thấp (số liệu thống kê ở phần phụ lục).

Khu vực Di Linh, Lâm Đồng, năm 2012 và 2013 nhiệt độ trung bình là 22,4^{o}C. Nhiệt độ cao nhất là 23,3 - 24,2^{o}C vào tháng 5 và thấp nhất 20,1 - 21,0^{o}C vào tháng 12 và tháng 1. Trong hai năm 2012 và 2013 lượng mưa giao động từ 2.899 - 2.927 mm. Độ ẩm không khí 84 - 85%. Khu vực Trảng Bom, Đồng Nai, năm 2012 và 2013 nhiệt độ trung bình là 26,4^{o}C. Nhiệt độ cao nhất là 29,5 - 30,4^{o}C vào tháng 4; 5 và thấp nhất là 26,6 - 27,5^{o}C vào tháng 9 và tháng 12.

Nhiệt độ trung bình, biến thiên nhiệt độ từ thấp nhất đến cao nhất trong năm của cả hai khu vực này đều nằm trong giới hạn sinh thái về nhiệt độ của cây ca cao. Đặc điểm thời tiết khí hậu ở các khu vực này phù hợp với đặc tính sinh trưởng và phát triển của cây ca cao.

*** Đặc điểm đất đai khu vực nghiên cứu**

Đề tài nghiên cứu được thực hiện trên hai loại đất khác nhau là đất đỏ bazan tại Di Linh, Lâm Đồng (tên đất là FRr- theo FAO-UNESCO) và đất xám phù sa cổ bạc màu (tên đất là Ach - theo FAO-UNESCO) tại Trảng Bom, Đồng Nai. Cả hai vườn có bố trí thí nghiệm đều có độ dốc không đáng kể, dưới 8^{o}.

Trước khi tiến hành thí nghiệm bón phân theo công thức, phân tích mẫu đất để xác định thành phần cơ giới và hàm lượng một số chất dinh dưỡng trong đất gồm N tổng số ; P tổng số; K_2O tổng số; Cacbon hữu cơ ; N dễ tiêu; P_2O_5 dễ tiêu; K^+; Ca^{2+}; Mg^{2+}; pH đất. Kết quả phân tích cho thấy có sự khác biệt đáng kể về thành phần cơ giới và hàm lượng dinh dưỡng của hai loại đất này.

Kết quả Bảng 2.1 cho thấy:

- Đất FRr ở Di Linh Lâm Đồng có thành phần cơ giới nặng với tỉ lệ cấu thành gồm cát 45,59%, thịt 31,92%, sét 22,49%, khả năng thoát nước tương đối, hàm lượng mùn thấp 2,81%. Kết quả phân tích đất cho thấy đất vườn ca cao nơi bố trí thí nghiệm có hàm lượng đạm tổng số trung bình (0,17%), đạm dễ tiêu trung bình (7,2 mg/100 g đất); lân tổng số khá (0,6%), lân dễ tiêu khá (34 mg/100 g đất), kali tổng số 0,04%. Hàm lượng K^+ (1,18 meq/100 g đất), Ca^{++} (2,15 meq/100 g đất), Mg^{++} (0,67 meq/100 g đất) khả năng trao đổi cation trung bình, chua vừa (pH_{H2O} = 5,2).

- Đất Ach tại Trảng Bom, Đồng Nai có thành phần cơ giới nhẹ với tỉ lệ cấu thành gồm cát 65,72%, thịt 13,11%, sét 21,17%, thoát nước tốt, chua vừa (pH_{H2O} = 4,3). Hàm lượng mùn rất thấp (1,94%), đạm tổng số nghèo (0,12%), đạm dễ tiêu trung bình (3,1 mg/100g đất); lân tổng số trung bình (0,05%) nhưng lân dễ tiêu rất nghèo (1,4 mg/100g đất); kali tổng số rất nghèo (0,02%). Hàm lượng K^+ (0,10 meq/100 g đất), Ca^{++} (0,73 meq/100 g đất), Mg^{++} (0,48 meq/100 g đất) khả năng trao đổi cation thấp.

Bảng 2.1. Đặc tính hóa lý của đất vườn ca cao trước khi bố trí các công thức của nghiên cứu

Chỉ tiêu phân tích	Đất FRr ở Di Linh, Lâm Đồng	Đất Ach ở Trảng Bom, Đồng Nai
Thành phần cơ giới (%)		
Cát	45,59	65,72
Thịt	31,92	13,11
Sét	22,49	21,17
Chỉ tiêu hóa học		
$N_{tổng\ số}$ (%)	0,17	0,12
$P_{tổng\ số}$ (%)	0,60	0,05
K_2O tổng số (%)	0,04	0,02
Cacbon hữu cơ (%)	2,81	1,94
N dễ tiêu (mg/100g)	7,2	3,1
P_2O_5 dễ tiêu (mg/100g)	34,0	1,4
K^+ (meq/100g)	1,18	0,10
Ca^{++} (meq/100g)	2,15	0,73
Mg^{++} (meq/100g)	0,67	0,48
pH_{H2O}	5,2	4,3

(Các mẫu đất được phân tích tại Trung tâm phân tích, Viện nghiên cứu Hạt nhân Đà Lạt, 2012).

*** Kỹ thuật canh tác:** Trong quá trình thực hiện nghiên cứu, vườn cây được chăm sóc theo hướng dẫn trong tài liệu Kỹ thuật trồng ca cao ở Việt Nam của tiến sĩ Phạm Hồng Đức Phước, 2011. Cây được tỉa cành tạo tán hai lần mỗi năm, cành nhánh

sau khi cắt tỉa được dọn sạch sẽ (các hộ sống gần vườn đem về làm củi đốt) nên vườn luôn thoáng, sạch cỏ, các nhánh cây sà xuống gần mặt đất được cắt bỏ để phòng chống *Phytophthora*, các loại vi sinh vật, sâu hại từ lớp lá mục, từ đất phát tán lên cây và trái. Vườn Di Linh có hệ thống tưới nhỏ giọt nhưng tại thời điểm bố trí thí nghiệm hệ thống ống ngầm bị hỏng chưa kịp sửa chữa nên trong các tháng mùa khô từ tháng 12 đến tháng 4 hàng năm sử dụng nước tưới từ giếng đào và cứ 20 ngày tưới một lần do khoảng thời gian này là thời điểm cây ra hoa cho vụ chính.

Vườn ca cao Trảng Bom có hệ thống tưới nhỏ giọt nên khi thời tiết khô hạn sử dụng hệ thống tưới này vừa tiết kiệm nước, tiết kiệm chi phí và đảm bảo cho sự sinh trưởng phát triển của vườn cây. Quy trình chăm sóc vườn cây giống như vườn thí nghiệm ở Di Linh. Tuy nhiên ở vườn cây này không được thông thoáng do lượng cành nhánh khá nhiều sau tỉa cành tạo tán nhưng không thể dọn dẹp mà để tự mục dưới gốc nên lớp thực bì khá dày tạo nên sự ẩm ướt cho vườn cây. Năm 2012 và 2013 ở Đồng Nai mưa nhiều, tập trung từ tháng 6 đến tháng 10, cộng với lớp lá mục, cành nhánh nhiều đã khiến cho vườn cây phát sinh sâu, bệnh thành dịch ảnh hưởng không nhỏ đến năng suất vườn cây.

2.4.2.3. 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_3, A3: K_2SO_4

+ Lô phụ (B) gồm sáu lượng phân kali

B1: 160 kg K_2O/ha/năm;

B2: 260 kg K_2O/ha/năm;

B3: 360 kg K_2O/ha/năm;

B4: 460 kg K_2O/ha/năm;

B5: 560 kg K_2O/ha/năm (đối chứng);

B6: 660 kg K_2O/ha/năm.

- Diện tích ô thí nghiệm : 114 m^2, mỗi ô có 16 cây (4 x 4), 3 lần nhắc lại.

- Kỹ thuật sử dụng:

+ Lượng đạm (N_2) và lân (P_2O_5): bón cố định ở mức 297 kg N_2/ha/năm và 209 kg P_2O_5/ha/năm, tương ứng với 660 kg urê/ha/năm và 1.320 kg supe lân/ha/năm.

+ Các công thức thí nghiệm bón phân KNO_3, 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_3.

+ 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.

Đợt 1: ngày 1/4, đầu mùa mưa, kết thúc đợt thu quả cuối cùng của vụ thu hoạch năm trước.

Đợt 2: ngày 15/7, giữa mùa mưa, cây đang ra hoa tập trung.

Đợt 3: ngày 1/10, giai đoạn cây đang nuôi quả non.

+ Nước tưới cho cây ca cao trong thí nghiệm theo qui trình hiện hành.

	A3	A2	A1
B3	A3B3	A2B3	A1B3
B6	A3B6	A2B6	A1B6
B2	ẢB2	A2B2	A1B2
B5	A3B5	A2B5	A1B5
B1	A3B1	A2B1	A1B1
B4	A3B4	A2B4	A1B4

Lần nhắc 1

	A2	A1	A3
	A2B3	A1B3	A3B3
	A2B6	A1B6	A3B6
	A2B2	A1B2	A3B2
	A2B5	A1B5	A3B5
	A2B1	A1B1	A3B1
	A2B4	A1B4	A3B4

Lần nhắc 2

	A1	A3	A2
	A1B3	A3B3	A2B3
	A1B6	A3B6	A2B6
	A1B2	A3B2	A2B2
	A1B5	A3B5	A2B5
	A1B1	A3B1	A2B1
	A1B4	A3B4	A2B4

Lần nhắc 3

Hình 2.1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm đồng ruộng

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 : $N_{tổng\ số}$ (%); $P_{tổng\ số}$ (%); K_2O tổng số (%);Cacbon hữu cơ (%); N dễ tiêu (mg/100g); P_2O_5 dễ tiêu (mg/100g); K^+ (meq/100g); Ca^{++} (meq/100g); Mg^{++} (meq/100g); pH_{H2O}.

+ 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.

+ Mẫu đất được thu vào thời điểm chuẩn bị bố trí thí nghiệm;

+ Phương pháp thu mẫu đất: Chọn 01 điểm chính, 04 điểm phụ theo hình chữ

X. Thu mẫu ở độ sâu từ 0 - 30 cm ở tầng mặt, trộn đều, cân 500g đất mang về phòng thí nghiệm của trung tâm phân tích Viện nghiên cứu Hạt nhân Đà Lạt, để khô tự nhiên trong không khí, nghiền mịn qua rây 0,5 mm, tiến hành phân tích một số các chỉ tiêu hóa học đất bằng các phương pháp cụ thể như sau:

Thành phần cơ giới đất (%).

N tổng số (%). Đo bằng phương pháp đo TCVN 6645 - 2000.

P tổng số (%): Đo bằng phương pháp đo AOAC 990.08 - 2000.

Cac bon hữu cơ (%). Đo bằng phương pháp đo TCVN 6645 - 2000.

N dễ tiêu (mg/100g).: Đo bằng phương pháp đo TCN - STPT 1999.

P dễ tiêu (mg/100g): Đo bằng phương pháp đo TCN - STPT 1999.

K^+ (meq/100g).: Đo bằng phương pháp đo TCN - STPT 1999.

Ca^{2+} (meq/100g): Đo bằng phương pháp đo TCN - STPT 1999.

Mg^{2+} (meq/100g) : Đo bằng phương pháp đo TCN - STPT 1999.

pH_{H2O} đất: Đo pH đất tại hiện trường: lấy mẫu tương tự như lấy mẫu để phân tích trong phòng thí nghiệm, pH đất được đo bằng pH kế với tỷ lệ ly trích 1: 2,5 (đất : nước).

- 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 xuất hiện của sâu, bệnh trên vườn cây.

Phương pháp xác định: Đếm số cây bị nhiễm sâu bệnh hại, tính tỷ lệ giữa cây bị nhiễm sâu bệnh hại với tổng số cây của vườn thực nghiệm theo công thức:

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

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 thu từ trái của cây 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; Đập trái lấy hạt, tính trọng lượng hạt ướt; tiến hành lên men, phơi khô hạt trên giàn phơi che bằng lưới, có độ che phủ 50%, mật độ phơi 10 kg hạt

tươi/m^2. Khi độ ẩm hạt còn 7% tiến hành cân hạt khô để tính trọng lượng hạt khô, từ đó tính năng suất thu được của vườn cây.

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

+ Cách thức lấy mẫu:

Sau hai năm bón phân theo các công thức khác nhau, tiến hành thu hoạch trái chín chính vụ thu hoạch theo từng ô thí nghiệm. 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, mỗi cây lấy 1 quả ở phần giữa thân) tiến hành đập trái, trộn đều, lấy ngẫu nhiên 0,5 kg hạt tươi cho vào túi nilon, bảo quản lạnh.

+ Phân tích hàm lượng đường tổng số trong lớp cơm nhầy của hạt ca cao tươi bằng phương pháp Bertrand (theo hướng dẫn trong TCVN 4594: 1988).

Bóc lớp cơm nhầy bao quanh nhân hạt, lấy 5 g cơm nhầy cho vào bình tam giác 500 ml đã có 100 mL nước cất, đun cách thuỷ trong 15 phút. Để nguội đến nhiệt độ phòng cho thêm 1g $Pb(CH_3COO)_2$, thêm dd Na_2CO_3 bão hoà đến môi trường kiềm để kết tủa tạp chất, thêm nước cất đến 500 mL.

Lấy 50 mL dung dịch lọc cho vào bình tam giác 250 mL đã có sẵn 10 mL dd Feling A ($CuSO_4$ 0,4M) và 10 mL dung dịch Feling B (Kali natri tartrat 1,6M và NaOH 2,5M). Đun sôi hỗn hợp trong 5 phút, Cu_2O kết tủa sẽ xuất hiện. Lọc, rửa kết tủa.

Hoà tan kết tủa bằng dung dịch $Fe_2(SO_4)_3$0,1M nóng (khoảng 10 mL). Dung dịch hứng được chuẩn độ bằng $KMnO_4$ 1/30.

Từ số mL kalipemanganat 0,1N đã dùng tra bảng Bertrand được số mg glucoza tương ứng, chuyển ra gam.

Hàm lượng đường tổng số (X) tính bằng % theo công thức:

$$X = \frac{a.V_1.V_3 * 100\%}{m.V.V_2}$$

Trong đó:

a - lượng glucoza tương ứng (g);

V_1 - thể tích mẫu lấy để thủy phân (ml);

V_2 - thể tích bình định mức mẫu đã thủy phân (ml);

V_3 - thể tích mẫu lấy để làm phản ứng với pheling (ml);

m - lượng cân mẫu (g).

- Tỷ lệ hạt khô/hạt tươi: là tỷ lệ phần trăm giữa hạt ủ đã lên men phơi khô với hạt tươi chưa lên men:

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

- Xác định số lượng hạt trong 100 g:

Lấy ngẫu nhiên 1 kg hạt khô. Đếm số hạt nguyên thực tế sau khi đã loại bỏ các hạt lép và hạt vỡ. Cân số hạt nguyên chính xác đến 0,05 g. Số hạt có trong 100 g được tính như sau:

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

Kết quả được lấy đến số nguyên theo qui tắc làm tròn số.

- Xác định tạp chất (%)

Lấy ngẫu nhiên 1 kg hạt khô. Tách riêng phần tạp chất và cân. Lượng tạp chất được tính như sau:

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

- Hiệu suất thu hồi hạt ca cao khô (%): Trái ca cao sau khi hái sẽ được trữ trong cũi bằng gỗ 5 ngày, tiến hành đập trái lấy hạt. Tùy thuộc vào vùng đất, điều kiện khí hậu thời tiết mà trọng lượng trung bình trái tươi**,** trọng lượng trung bình hạt tươi/trái, trọng lượng trung bình hạt khô/trái, số lượng hạt/100g có thể có sự chênh lệch. Tại vườn thí nghiệm ở Di Linh, thời điểm thực nghiệm thu được các chỉ tiêu như sau:

Hiệu suất thu hồi hạt ca cao khô được xác định dựa vào khối lượng hạt khô thu được nghĩa là để thu được 1 kg hạt khô thì cần phải có bao nhiêu kg trái ca cao.

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

- Hiệu quả kinh tế:

Từ kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của loại, lượng phân bón kali đến năng suất hạt của cây ca cao, tiến hành đánh giá hiệu quả kinh tế của các công thức bón phân trong nghiên cứu này so với mức bón của nông hộ trước khi bố trí thí nghiệm. Để đánh giá hiệu quả kinh tế vườn cây trước và sau thí nghiệm bón phân, xem các khoản chi

phí có giá trị đầu tư là như nhau. Riêng chênh lệch chi phí phân bón và năng suất thu được từ các công thức khác nhau là cơ sở để xác định hiệu quả kinh tế, từ đó lựa chọn công thức nào cho hiệu quả kinh tế cao nhất.

+ 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.

2.4.3. Nội dung 3: Xác định loài nấm men thích hợp cho quá trình lên men hạt ca cao chất lượng.

2.4.3.1 Thí nghiệm 3: Phân lập nấm men từ khối ủ hạt ca cao

Các bước phân lập nấm men

- Ủ hạt: trái ca cao đã đạt độ chín thu hái của giống Trinitario được lưu trữ 5 ngày sau khi hái, đập trái lấy hạt, cho hạt vào thùng ủ, đậy một lớp lá chuối, một lớp bao gai, đảo trộn khối ủ một lần vào thời điểm khối hạt đã ủ được 48 h.

- 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^oC và 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

+ Hút 5 mL dịch mẫu cho vào bình tam giác chứa 45 mL dung dịch Peptone 0,1%, lắc đều. Dung dịch mẫu thu được có độ pha loãng là 10 lần so với ban đầu (hay nói cách khác dung dịch mẫu này có độ pha loãng là 10^{-1})

+ Dịch mẫu đồng nhất được tiếp tục pha loãng theo dãy thập phân bằng cách dùng pipet vô trùng chuyển 1 mL dịch mẫu vào ống nghiệm chứa 9 mL dung dịch pha loãng. Trộn mẫu trong ống nghiệm cho đồng nhất (dung máy rung hoặc dung pipet hút đảo dịch mẫu lên xuống 5 đến 10 lần). Dung dịch mẫu này có độ pha loãng là 10^{-2}.

+ Thao tác tương tự để có dịch mẫu có độ pha loãng 10^{-3},10^{-4},10^{-5},10^{-6}.

- Chuẩn bị môi trường nuôi cấy: Môi trường Sabouraud, pH = 7

- Cách pha môi trường: Hòa tan hoàn toàn 65 g môi trường Sabouraud trong 1.000 mL nước cất vô trùng (pH = 7,0). Đun sôi và khuấy đều. Hấp khử trùng 121°C trong 15 phút (pH cuối cùng: 5,6 ± 0,2). Để nguội 45 - 50°C rồi phân phối vào các đĩa petri.

- 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^{o}C trong 4 - 5 ngày.

- Làm thuần: Cấy chuyền 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 zichzắc. Mỗi mẫu cấy 10 ống nghiệm.

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

2.4.3.2. Thí nghiệm 4: Định danh các chủng nấm men đã được phân lập

Các chủng nấm men được dịnh danh dựa trên phân tích chuỗi ADN tại Công ty TNHH Dịch vụ và Thương mại Nam Khoa Thành phố Hồ Chí Minh 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). Gồm các bước sau:

+ Tách chiết ADN nấm men.

+ Khuếch đại đoạn gen 16S rRNA; 28S rRNA bằng PCR.

+ Tinh sạch sản phẩm PCR.

+ Tủa và tinh sạch sản phẩm PCR giải trình tự.

+ Điện di mao quản trên hệ thống ABI 3130XL.

+ Xuất trình tự giải được và sử dụng công cụ BLAST của NCBI để đọc kết quả.

2.4.3.3. Thí nghiệm 5: Nhân sinh khối các chủng nấm men phân lập được

Nhân sinh khối nấm men cấp 1: theo trình tự các bước như sau

+ 0,5 kg mật rỉ + 4,5 kg nước: trộn đều, ly tâm lắng cặn; đun sôi tiệt trùng 20 phút, để nguội.

+ Bổ sung vào nước mật rỉ đã pha loãng ở trên 25g KH_2PO_4 + 25g NH_4Cl, pH dung dịch = 4,5

+ Cho vào mỗi bình 5 lít: 300 mL nước (pH = 4,5) + 30 mL mật rỉ pha loãng + 10 ống nghiệm chứa nấm men/1 chủng.

+ Sục khí với tốc độ 9 lít/phút. Sục trong 18 tiếng với nhiệt độ dịch nấm men ban đầu là 35^{o}C, nhiệt độ môi trường 25^{o}C.

+ Cho đường vào từ từ, mỗi tiếng bổ sung nước đường một lần với liều lượng: 40 mL; 50 mL; 60 mL; 70 mL; 80 mL; 100 mL; 150 mL; 200 mL; 220 mL.

+ Quan sát: màu sắc, mùi của các thùng nhân sinh khối: Lấy mẫu dịch ủ cho vào ống nghiệm (20 mL/ống/chủng) so sánh màu sắc của ống chứa dịch nấm men đang sục khí để nhân sinh khối với ống đối chứng (chỉ chứa dịch nấm men ban đầu, không sục khí nhân sinh khối).

Sau 2h các ống chứa dịch nấm men có kết tủa trắng ở đáy ống nghiệm, ống đối chứng thì không có. Chứng tỏ nấm men đã có tăng sinh khối trong dịch.

Nhân sinh khối nấm men cấp 2:

Cho vào mỗi thùng lớn các thành phần: 40 lít nước, nâng nhiệt lên 35 độ C; 200g KH_2PO_4 ; 200g NH_4Cl

+ Chuẩn pH = 4.5

+ Cho 2 kg mật rỉ đã pha loãng 50%, tiệt trùng.

+ Cho nấm men từ mỗi bình nhỏ sang một bình lớn.

+ Sục khí 9 lít/phút trong 24 giờ

+ Đo nhiệt độ hàng giờ.

+ Lấy mẫu để so sánh màu của dịch thùng nhân sinh khối nấm men với mẫu đối chứng là dịch rỉ đường pha loãng không có nấm men.

+ Ly tâm: sau 18 giờ sục khí thì tiến hành ly tâm dịch nấm men từ các thùng ủ với gia tốc gia tốc ly tâm 49.298 m/s^2 để thu sinh khối nấm men dạng paste (bột nhão).

2.4.3.4. Thí nghiệm 6: 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 mm^2). Mỗi mẫu đếm lặp lại 03 lần, ở cùng độ pha loãng phù hợp.

2.4.3.5. Thí nghiệm 7: Lên men hạt có bổ sung nấm men vào khối ủ

Các loại nấm men được bổ sung vào khối ủ lúc bắt đầu quá trình lên men do nấm men chiếm ưu thế lên men trong 24 h đầu. Sau đó, chúng sẽ bị ức chế bởi vi khuẩn acid lactic (Schwan, 1998). Các loại nấm men được bổ sung riêng rẽ vào các khối ủ, do mật số các nấm men khác nhau nên khối lượng bột nhão nấm men bổ sung

vào các khối ủ cũng khác nhau để đảm bảo độ đồng đều về mật độ nấm men bổ sung thêm giữa các công thức.

+ Nguyên liệu là hạt ca cao ướt từ trái đã đạt độ chín thu hái của hỗn hợp các dòng Trinitario.

+ Thí nghiệm 1 yếu tố (loài nấm men), gồm 6 công thức với 3 lần lặp lại, mỗi công thức 35 kg hạt ca cao tươi được ủ trong các thùng bằng gỗ để lên men hạt, cụ thể như sau:

Công thức 1 (ký hiệu M_o): Lên men tự nhiên (đối chứng);

Công thức 2 (ký hiệu M_1): Bổ sung nấm men *Saccharomycodes ludwigii,* mật độ 4,3 x 10^9 CFU/g;

Công thức 3 (ký hiệu M_2): Bổ sung nấm men *Schizosaccharomyces pombe,* mật độ 1,2 x 10^{10} CFU/g;

Công thức 4 (ký hiệu M_3): Bổ sung nấm men *Saccharomyces cerevisiae,* mật độ 1,5 x 10^{10} CFU/g;

Công thức 5 (ký hiệu M_4): Bổ sung nấm men *Pichia kudriavzevii*, mật độ 2,5 x 10^{10} CFU/g;

Công thức 6 (ký hiệu M_5): Bổ sung nấm men *Candida tropicalis*, mật độ 2,6 x 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

Sau khi cho bột nhão nấm men vào khối ủ tiến hành trộn đều rồi tủ bề mặt thùng ủ bằng 1 lớp lá chuối, bên trên phủ 1 lớp bao gai.

Thí nghiệm 1 yếu tố, kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD).

CT6	CT5	CT3
CT1	CT2	CT6
CT3	CT5	CT4
CT1	CT4	CT3
CT2	CT4	CT6
CT1	CT2	CT5

Hình 2.2. Sơ đồ bố trí thí nghiệm lên men hạt ca cao có bổ sung thêm nấm men

+ Lấy mẫu:

Trong quá trình lên men: Mẫu được lấy 24 h/lần tại 3 điểm chéo góc của thùng lên men, ở độ sâu 10 cm, khối lượng mỗi lần lấy để phân tích các chỉ tiêu là 250 g hạt tươi.

Hạt khô: Hạt sau lên men được phơi trên giàn che bằng lưới có độ che phủ 50% nhằm hạn chế 50% cường độ ánh sáng chiếu xuống lớp hạt, khi độ ẩm hạt xuống đến 7%, lấy ngẫu nhiên 2,0 kg hạt khô để phân tích các chỉ tiêu liên quan.

Các chỉ tiêu theo dõi

***- Trong quá trình lên men*:**

+ Nhiệt độ khối hạt (^oC): 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, nhiệt độ khối ủ là nhiệt độ trung bình của các số liệu thu thập được.

+ pH cơm nhầy: pH cơm nhầy (bóc cơm nhầy 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 nhầy 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)**.**

+ Độ Brix hạt (%): đo bằng máy đo độ Brix cầm tay. Làm sạch mặt kính bằng nước cất, phết lớp mỏng cơm nhầy lên mặt kính. Đọc kết quả hiển thị lên ống kính.

- Phân tích chất lượng hạt khô

pH hạt khô: Cân ngẫu nhiên 250 g hạt ca cao trong ¼ mẫu hạt ca cao. Sấy ở nhiệt độ 115^oC trong 55 phút. Làm vỡ hạt bằng máy làm vỡ hạt. Làm sạch vỏ bằng máy làm sạch vỏ hạt. Nghiền hạt sau khi làm sạch vỏ thành bột nhão bằng máy nghiền hạt. Lấy 10 ± 0,1 g bột nhão bỏ vào bình định mức 100 mL. Cho thêm 70 ml nước nóng ở 70 - 80^oC vào bình và lắc đều khoảng 20 giây. Để nguội đến nhiệt độ phòng sau đó định mức đến 100 mL. Bỏ vào máy lọc sau đó lấy dung dịch đã được lọc đo pH bằng thiết bị cầm tay (theo phương pháp được hướng dẫn trong chương trình CARD cocoa project, AusAid, 2009).

Hàm lượng acid lactic, acid acetic trong hạt khô (%): Khi hạt được phơi khô đến 7% độ ẩm thì tiến hành lấy mẫu. Các mẫu được lấy với khối lượng 500 g, bảo quản 3 tháng trước khi phân tích HPLC (theo phương pháp được hướng dẫn trong

chương trình CARD cocoa project, AusAid, 2009) tại Viện Nghiên cứu khoa học Tây nguyên, Đà Lạt.

2.4.4. Nội dung 4: Nghiên cứu ảnh hưởng của phương pháp ép khối hạt nhằm loại bớt dịch cơm nhầy trước khi lên men đến độ chua hạt thành phẩm.

Thí nghiệm 8: Thí nghiệm 1 yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), sáu công thức và ba lần lặp lại. Số ô cơ sở: 18 ô; mỗi ô cơ sở là một thùng ủ; mỗi thùng chứa 50 kg hạt tươi. Tổng khối lượng hạt sử dụng 50 x 6 x 3 = 900 kg. Số hạt của mỗi thùng ủ được trộn đều nhiều lần trong quá trình ép để bảo đảm dịch cơm nhầy ép ra đều giữa các hạt.

Công thức 1 (ký hiệu E_o): không ép (đối chứng);

Công thức 2 (ký hiệu E_1): ép loại 2 kg dịch cơm nhầy từ 50 kg hạt ca cao tươi;

Công thức 3 (ký hiệu E_2): ép loại 3,5 kg dịch cơm nhầy từ 50 kg hạt ca cao tươi;

Công thức 4 (ký hiệu E_3): ép loại 5 kg dịch cơm nhầy từ 50 kg hạt ca cao tươi;

Công thức 5 (ký hiệu E_4): ép loại 6,5 kg dịch cơm nhầy từ 50 kg hạt ca cao tươi;

Công thức 6 (ký hiệu E_5): ép loại 8 kg dịch cơm nhầy từ 50 kg hạt ca cao tươi;

Các thùng chứa hạt được ủ lên men trong 120 h, đảo trộn 1 lần vào thời điểm lên men được 48 h.

CT2	CT1	CT4
CT1	CT2	CT6
CT3	CT4	CT1
CT6	CT5	CT3
CT5	CT3	CT5
CT4	CT6	CT2

Hình 2. 3. Sơ đồ bố trí thí nghiệm lên men hạt ca cao có ép loại bớt dịch cơm nhầy từ khối hạt ca cao tươi trước khi lên men.

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

2.4.5. 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.

2.4.5.1. Thí nghiệm 9: Làm khô hạt bằng phương pháp sấy

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

- Yếu tố thứ nhất: mức độ ép loại dịch nhầy trước khi lên men

+ E_o: không ép (đối chứng);

+ E_1: ép loại 2 kg dịch cơm nhầy từ 50 kg hạt ca cao tươi;

+ E_2: ép loại 3,5 kg dịch cơm nhầy từ 50 kg hạt ca cao tươi;

+ E_3: ép loại 5 kg dịch cơm nhầy từ 50 kg hạt ca cao tươi;

+ E_4: ép loại 6,5 kg dịch cơm nhầy từ 50 kg hạt ca cao tươi;

+ E_5: ép loại 8 kg dịch cơm nhầy từ 50 kg hạt ca cao tươi;

- Yếu tố thứ hai: nhiệt độ sấy hạt.

+ T1: Sấy hạt ở 50^oC;

+ T2: Sấy hạt ở 60^oC;

+ T3: Sấy hạt ở 70^oC.

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 x 3 = 108 kg.

Bố trí thí nghiệm kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD-2)

$T_2 E_3$	$T_1 E_0$	$T_1 E_3$	$T_1 E_5$	$T_1 E_1$	$T_2 E_3$	$T_1 E_3$	$T_1 E_2$	$T_1 E_4$
$T_2 E_0$	$T_1 E_5$	$T_2 E_4$	$T_2 E_5$	$T_3 E_0$	$T_1 E_0$	$T_2 E_2$	$T_2 E_1$	$T_3 E_2$
$T_1 E_1$	$T_2 E_1$	$T_1 E_2$	$T_3 E_2$	$T_2 E_4$	$T_2 E_0$	$T_3 E_1$	$T_2 E_4$	$T_2 E_0$
$T_1 E_4$	$T_3 E_0$	$T_3 E_3$	$T_1 E_3$	$T_3 E_3$	$T_1 E_2$	$T_1 E_1$	$T_3 E_1$	$T_1 E_0$
$T_3 E_2$	$T_2 E_2$	$T_3 E_0$	$T_3 E_5$	$T_3 E_1$	$T_1 E_4$	$T_2 E_3$	$T_3 E_3$	$T_2 E_2$
$T_2 E_5$	$T_3 E_4$	$T_3 E_4$	$T_3 E_4$	$T_3 E_4$	$T_3 E_4$	$T_2 E_1$	$T_1 E_5$	$T_2 E_5$

Hình 2. 4. Sơ đồ bố trí thí nghiệm làm khô hạt bằng phương pháp sấy hạt

Các chỉ tiêu theo dõi

+ pH hạt khô

+ Hàm lượng acid lactic và acid acetic hạt khô (%)

2.4.5.2. Thí nghiệm 10: Làm khô hạt bằng phương pháp phơi

Hạt ca cao sau khi lên men được phơi theo 3 cách khác nhau:

- Phơi trên giàn, không có lưới che, ánh sáng mặt trời chiếu trực tiếp xuống khối hạt;

- Phơi trên giàn, có lưới che, giảm 50% cường độ chiếu sáng xuống khối hạt;

- Phơi trên giàn, có lưới che, giảm 60% cường độ chiếu sáng xuống khối hạt.

Thí nghiệm 2 yếu tố.

+ Yếu tố thứ nhất là khối lượng hạt phơi/m^2:

K_1: 10 kg/m^2;

K_2: 20 kg/m^2;

K3: 30 kg/m^2.

+ Yếu tố thứ hai là cách thức phơi (phơi trực tiếp hoặc phơi gián tiếp):

Lo: Phơi trực tiếp;

L1: giảm cường độ chiếu sáng còn 50% (Sử dụng lưới che nắng loại che nắng 50%, ánh nắng chỉ lọt xuống lớp hạt 50%);

L2: giảm cường độ chiếu sáng còn 40% (Sử dụng lưới che nắng loại che nắng 60%, ánh nắng chỉ lọt xuống lớp hạt 40%).

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

Bố trí thí nghiệm kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD-2)

$K_3 L_2$	$K_1 L_0$	$K_3 L_2$	$K_1 L_2$	$K_3 L_0$	$K_1 L_1$	$K_2 L_2$	$K_2 L_0$	$K_2 L_2$
$K_1 L_1$	$K_3 L_1$	$K_3 L_0$	$K_2 L_0$	$K_1 L_0$	$K_2 L_1$	$K_1 L_2$	$K_3 L_1$	$K_2 L_1$
$K_2 L_0$	$K_2 L_1$	$K_1 L_1$	$K_3 L_2$	$K_2 L_2$	$K_3 L_1$	$K_3 L_0$	$K_1 L_0$	$K_1 L_2$

Hình 2. 5. Sơ đồ bố trí thí nghiệm làm khô hạt bằng phương pháp phơi hạt

Các chỉ tiêu theo dõi

+ pH hạt khô.

+ Hàm lượng acid lactic và acid acetic hạt khô (%)

Thời gian thực hiện: năm 2014, 2015

2.4.6. Nội dung 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 qui trình sản xuất ca cao nguyên liệu tại Việt Nam.

2.5. 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 nhầy 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.

Hình 2. 6. Vườn ca cao Trảng Bom, Đồng Nai

Hình 2. 7. Đo nhiệt độ khối ủ hạt ca cao bằng nhiệt kế cầm tay

Hình 2. 8. Chuẩn bị mẫu để đo pH cơm nhầy và nhân hạt

Hình 2. 9. Chuẩn bị mẫu đo pH cơm nhầy

Hình 2. 10. Đo pH cơm nhầy

Hình 2. 11. Chuẩn bị mẫu đo pH hạt

Hình 2. 12. Đo pH hạt

Chương 3
KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

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

3.1.1. Cơ cấu giống cây ca cao đã trồng hiện nay

Bảng 3.1. Các loại cây giống ca cao hiện trồng ở các nông hộ

Đơn vị tính: % số hộ

Địa điểm	Giống ghép	Giống thực sinh từ hạt lai F1	Giống thực sinh người dân tự gieo ươm
Đồng Nai	100	0	0
Đăk Lăk	94	6	0
Bến Tre	96	4	0
Trung bình	96,67	3,33	0

Kết quả khảo sát cho thấy ba vùng trồng ca cao nhiều ở Việt Nam chủ yếu trồng giống ca cao ghép (Bộ giống gồm 8 dòng ca cao thương mại nhập nội từ Malaysia đã qua khảo nghiệm và được công nhận giống cho phép trồng tại các tỉnh phía Nam). 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 Đăk Lăk (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.

Năm 2006, Bộ Nông nghiệp và PTNT đã chính thức công nhận 8 dòng ca cao vô tính là TD1, TD2, TD3, TD5, TD6, TD8, TD10, TD14 (đây là bộ giống ca cao ghép gồm 8 dòng ca cao thương mại nhập nội từ Malaysia đã qua khảo nghiệm) và 5 cây đầu dòng TC5, TC7, TC11, TC12 (Quyết định số 321/QĐ/BNN-BKHCN ngày 26 tháng 1 năm 2006).

Năm 2011, Bộ Nông nghiệp và PTNT công nhận cho sản xuất thử giống PBC157 và PBC159 (Quyết định số 174/QĐ-TT-CCN, ngày 04 tháng 5 năm 2011). Các giống ca cao hiện đang trồng tại Việt Nam có năng suất tiềm năng từ 2 đến 5 tấn hạt khô/ha, có khả năng thích nghi rộng với điều kiện khí hậu thổ nhưỡng của các địa phương nhưng có nhược điểm là khả năng chống chịu với bệnh thối quả do

Phytophthora kém, quả bị hư hỏng, bị rụng do nhiễm bệnh ảnh hưởng đến năng suất thu hoạch nhất là trong những tháng mùa mưa độ ẩm không khí cao, số ngày mưa liên tục kéo dài.

Tổng hợp kết quả thống kê cả ba khu vực khảo sát cho thấy 96,67% số hộ được khảo sát sử dụng giống ca cao ghép, 3,33% số hộ sử dụng giống thực sinh từ hạt lai F1 và không còn hộ sử dụng giống thực sinh người dân tự gieo ươm.

Ở khu vực Tây Nguyên, nguồn giống ca cao chủ yếu là sử dụng nguồn giống từ Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh. Trong cơ cấu giống ca cao hiện trồng tại Việt Nam, các dòng vô tính nhập nội đã qua khảo nghiệm chiếm khoảng 82,2% và 17,8% giống lai từ các cặp lai đã biết trước bố mẹ (Cục Trồng trọt, 2010).

Số liệu khảo nghiệm của Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên năm 2011 cho thấy Việt Nam chủ yếu trồng giống ca cao ghép, tỷ lệ giống đã trồng ở Việt Nam có cơ cấu 75,02% giống ca cao ghép, 24,98% giống trồng từ hạt (dòng vô tính tuyển chọn từ hạt giống lai F1 và một số ít trồng bằng hạt lai không rõ nguồn gốc).

Qua khảo sát thực tế cho thấy các vườn cây ca cao có diện tích lớn (trên 2 ha), trồng thuần thì được quy hoạch khá bài bản, giống trồng 100% là giống ghép nằm trong bộ giống được Bộ Nông nghiệp và PTNT công nhận, được mua từ các địa chỉ rõ ràng, cho năng suất khá nhưng chỉ có rất ít vườn cây đạt được năng suất tiềm năng của giống. Chỉ có một số ít vườn cây ca cao có diện tích nhỏ (dưới 0,5 ha), trồng xen vào vườn cây thu trái thì giống trồng là cây thực sinh từ hạt lai F1.

Vì ca cao là cây thụ phấn chéo nên người dân được khuyến cáo trồng từ 3 đến 5 giống xen lẫn với nhau trong cùng một vườn cây, việc trồng xen kẽ các dòng gần nhau để đảm bảo đạt năng suất cao nhất đồng thời góp phần tăng tuổi thọ cho vườn cây. Trong cùng một khu vực có điều kiện khí hậu, thổ nhưỡng giống nhau nhưng sản lượng ca cao trung bình thu được giữa các nông hộ rất khác nhau. Ở Đăk Lăk, hộ đạt năng suất cao nhất là 3 tấn hạt khô/ha,năm. Nhưng cũng có hộ cùng khu vực chỉ đạt năng suất 1 tấn hạt khô/ha,năm. Ở Đồng Nai hộ đạt cao nhất là 1,5 tấn hạt khô/ha,năm nhưng hộ ở gần vườn ca cao cùng năm tuổi, cùng điều kiện tự nhiên thì chỉ đạt 6 - 7 tạ hạt khô/ha,năm, sự khác biệt có ý nghĩa về năng suất có liên quan mật thiết đến sự khác biệt về mức đầu tư, nước tưới và áp dụng kỹ thuật canh tác. Cây ca cao có phổ

thích nghi rộng với điều kiện khí hậu và đất đai của các địa phương nhưng cũng không phải là loại cây dễ trồng vì nếu không chăm sóc đúng kỹ thuật, đầu tư nước tưới phân bón không đầy đủ khoa học, không đúng giai đoạn sinh trưởng phát triển của cây thì cây không ra hoa kết trái hoặc năng suất sẽ rất thấp.

3.1.2. Diện tích trồng cây ca cao của các nông hộ

Bảng 3.2. Diện tích trồng cây ca cao của nông hộ

Đơn vị tính: % số hộ

Địa điểm	Diện tích trồng ca cao của nông hộ (m^2)			
	< 3.000	**3.000 - < 5.000**	**5.000 - < 10.000**	**≥ 10.000**
Đồng Nai	6	16	74	2
Đăk Lăk	0	12	86	2
Bến Tre	82	14	4	0

Kết quả thống kê chỉ ra rằng sản xuất ca cao tại một số vùng trồng ca cao nhiều ở Việt Nam bộc lộ những hạn chế, đó là: 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 Đăk Lăk có diện tích vườn ca cao trên 10.000 m^2. 74% số hộ ở Đồng Nai, 86% số hộ ở Đăk Lăk có diện tích vườn ca cao từ 5.000 – < 10.000 m^2. 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^2 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. Vì vậy yếu tố giá đầu ra của nông sản tác động mạnh và nhanh đến diện tích trồng ca cao của các nông hộ. Kết quả tổng hợp từ phiếu khảo sát cho thấy có 90% số hộ cho rằng nếu có tiềm lực kinh tế và đầu tư đúng cách vẫn có thể thu nhập khá với cây ca cao. 10% số hộ có khó khăn với loại cây trồng này và có thể sẽ chuyển đổi sang trồng loại cây khác thay thế. Kết quả này phù hợp với kết quả khảo sát của Cục Trồng trọt trong báo cáo tại hội nghị 10 năm sản xuất ca cao tại thành phố Hồ Chí Minh năm 2015.

3.1.3. Mô hình canh tác cây ca cao của các nông hộ

Bảng 3.3. Mô hình canh tác cây ca cao của các nông hộ

Đơn vị tính: % số hộ

Địa điểm	Trồng thuần	Trồng xen dừa	Trồng xen điều	Trồng xen cây khác
Đồng Nai	74	0	24	2
Đăk Lăk	96	0	0	4
Bến Tre	0	92	0	8

Thống kê kết quả khảo sát cho thấy: Ở Bến Tre hầu hết các nông hộ trồng xen cây ca cao với các loại cây ăn quả khác, 92% số hộ trồng ca cao xen với cây dừa, 8% số hộ trồng ca cao xen với cây bưởi. Ở Đăk Lăk 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. Kết quả khảo sát cũng tương đồng với khảo sát thực trạng sản xuất ca cao ở các vùng trồng ca cao chính tại Việt Nam của Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên. Việc trồng xen là để tăng thu nhập trên cùng một đơn vị diện tích đất, tận dụng công lao động nhàn rỗi, tiết kiệm công lao động vì một công đôi việc.

3.1.4. Năng suất hạt ca cao của các nông hộ

Bảng 3.4. Năng suất hạt ca cao khô đạt được của các nông hộ

Đơn vị tính: % số hộ

Địa điểm	Năng suất hạt ca cao khô (kg/cây)			
	< 0,5	**0,5 - < 1,0**	**1,0 - < 1,5**	**≥ 1,5**
Đồng Nai	12	8	66	14
Đăk Lăk	6	14	16	64
Bến Tre	6	6	20	68

Kết quả khảo sát cho thấy 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 Đồng Nai, vườn 7 năm tuổi kỳ vọng năng suất 2 kg hạt khô/cây, nhưng chỉ đạt từ 1,5 - 1,8 kg hạt khô/cây (14% số hộ). Ở Đăk Lăk mặc dù các vườn khảo sát chủ yếu là trồng thuần, nhưng một số vườn năng suất không cao, 14% số hộ năng suất đạt 0,5 – 1,0 kg hạt khô/cây và có 16% số hộ đạt được năng suất từ 1,0 - 1,5 kg hạt khô/cây, năng suất đặc biệt thấp ở vườn của nông hộ là người đồng bào dân tộc thiểu số, các vườn trồng giống thực sinh với 6% số hộ thu hoạch dưới 0,5 kg hạt khô/cây. Bến Tre phát triển cây ca cao thương mại sau so với các tỉnh trồng ca cao chủ yếu khác, nhưng năng suất cao nhất trong ba vùng khảo sát. Bến Tre có tới 68% số hộ đạt năng suất ≥ 1,5 kg hạt khô/cây, 20% số hộ năng suất từ 1,0 - < 1,5 kg hạt khô/cây, 6% số hộ năng suất từ 0,5 - < 1,0 kg hạt khô/cây, chỉ có 6% số hộ năng suất < 0,5 kg hạt khô/cây.

Nhìn chung: năng suất trung bình các nông hộ còn thấp. Năng suất thấp có thể xuất phát từ các nguyên nhân: đất nghèo dinh dưỡng, đầu tư chăm sóc thấp, chăm sóc không đúng yêu cầu kỹ thuật, tuổi cây, sử dụng phân bón chưa đủ. Kết quả khảo sát tương đồng với báo cáo của Sở Nông nghiệp và PTNT các tỉnh.

3.1.5. Thu hoạch quả tươi và sơ chế sau thu hoạch tại các nông hộ

Bảng 3.5. Kỹ thuật hái và trữ quả khi thu hoạch ca cao của các nông hộ

Đơn vị tính: % số hộ

Địa điểm	Lựa trái chín	Hái đồng loạt	Trữ trái có mục đích (5 - 7 ngày)	Trữ trái không mục đích
Đồng Nai	82	18	46	54
Đăk Lăk	10	90	0	100
Bến Tre	100	0	70	30

- Hái trái

Để có hạt ca cao thành phẩm chất lượng tốt thì quả ca cao chỉ được hái khi đã chín. Kết quả tổng hợp từ phiếu khảo sát cho thấy ở Bến Tre, người trồng ca cao tuân thủ rất tốt về điều này. 100% số hộ trồng ca cao đều thu hoạch quả khi đã chín, 70% số hộ trữ quả theo đúng quy trình được khuyến cáo vì vậy các nhà thu mua rất yên tâm với hạt ca cao khô được sơ chế từ Bến Tre và ca cao Bến Tre cũng trở nên nổi tiếng về mặt chất lượng trên thị trường. Một số nơi khác thu hoạch quả đồng loạt như ở Đăk Lăk

(90% số hộ) do yếu tố tâm lý vì nghĩ rằng trái xanh sẽ nặng ký hơn, mặt khác sợ mất trộm, thà "xanh nhà còn hơn già đồng" vả lại các công ty chế biến cũng không có chế tài về giá nếu quả thu hoạch không chín đồng loạt dẫn đến chất lượng hạt sau lên men không ổn định. Thu hoạch khi quả chín để đạt chất lượng hạt ca cao ủ men tốt, không hái quả còn xanh vì hạt non có màu trắng tím nhạt chưa đủ chín không thể lên men tạo vị chocolate. Mặc dù sau khi hái và trữ quả, quá trình chín quả và chín tiếp của hạt được xảy ra, nhưng quả 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 quả*

Sau khi thu hoạch, quả được cất trữ 5 - 7 ngày nhằm giảm lượng cơm nhầy hạt ca cao, rút ngắn giai đoạn lên men yếm khí, lượng acid lactic hình thành thấp, hàm lượng alcohol/acid acetic thấp (Lambert, 2010) do dó việc lưu trữ quả nằm trong khuyến cáo nâng cao chất lượng hạt ca cao sau lên men. Ưu điểm của việc trữ trái là cải thiện hương vị ca cao, tăng tốc độ lên men hạt, giảm lượng acid trong hạt (Lambert, 2010). Qua khảo sát thực tế, ở Đăk Lăk hầu hết các nông hộ không trữ quả hoặc trữ quả không mục đích. Ở Đồng Nai 46% số hộ trữ quả theo khuyến cáo và 54% số hộ trữ quả không mục đích. Có rất nhiều lý do người trồng ca cao giải thích cho việc lưu trữ quả không mục đích, đó là: do giá nông sản đang lên cao, người thu mua không phân biệt giá các loại hạt, do diện tích ít nên lượng quả hái mỗi lần không đủ cho một thùng lên men, do chưa tìm được công lao động đập quả, do quả chín và quả xanh lẫn lộn trong đó tỷ lệ quả xanh nhiều nên phải tồn trữ một thời gian để quả tiếp tục quá trình chuyển hóa thuận lợi cho quá trình lên men hạt. Một số giống khi quả chín nảy mầm trong quả như dòng TD1 và TD6 cần thu hoạch khi quả vừa chín và trữ quả trước khi đập vỏ cho lên men với thời gian ngắn hơn, nếu để lâu hạt nảy mầm nhiều (Lê Quang Hưng, 2012).

- *Xử lý hạt ướt*

Kết quả thống kê Bảng 3.6 cho thấy 100% các nông hộ đều thực hiện lên men hạt. Đây là ưu điểm của ca cao Việt Nam vì chocolate chỉ có hương vị đặc trưng khi hạt nguyên liệu đã trải qua quá trình lên men. Sau khi tiến hành đập quả, hạt được tách ra khỏi vỏ, trộn đều rồi cho vào thùng ủ lên men.

Ở Đồng Nai có 12% số hộ thực hiện việc ép hạt trước khi lên men để lấy dịch cơm nhầy lên men rượu nhưng không thường xuyên do sản phẩm rượu ca cao lên men từ dịch

ép cơm nhầy tiêu thụ hạn chế trên thị trường, một số hộ ép lấy dịch lên men rượu sử dụng quy mô gia đình nên thường ép vào các dịp chuẩn bị cho lễ, tết. Ép lấy dịch cơm nhầy qua khảo sát được thấy chủ yếu thực hiện ở các điểm thu mua sơ chế hạt tập trung. Khối lượng dịch cơm nhầy lấy ra thường chiếm 7 - 10% khối lượng khối hạt ủ lên men. Hạt lên men sau đó được trộn chung với hạt lên men của các thùng ủ khác thành hạt thương mại nên không đánh giá được ảnh hưởng của việc ép lấy bớt dịch cơm nhầy đến chất lượng hạt ca cao nguyên liệu.

Bảng 3.6. Xử lí hạt ướt trước khi ủ lên men

Đơn vị tính: % số hộ

Địa điểm	Ủ hạt lên men theo truyền thống	Ép hạt lấy dịch trước khi ủ lên men
Đồng Nai	100	12
Đăk Lăk	100	00
Bến Tre	100	00

- Lên men hạt

Bảng 3.7. Kỹ thuật lên men hạt của các nông hộ

Đơn vị tính: % số hộ

Địa điểm	Ủ hạt lên men (ngày)		Phương pháp lên men			Đảo trộn (lần)		
	> 4,5	< 4,5	thúng	đống	thùng	1	2	3
Đồng Nai	00	100	00	00	100	6	94	00
Đăk Lăk	14	86	00	00	100	10	90	00
Bến Tre	00	100	00	00	100	10	90	00

Theo quy trình lên men truyền thống thì quá trình ủ hạt ca cao tươi để lên men hạt kéo dài từ 5 - 7 ngày nhưng do yếu tố giá, nhà thu mua không phân biệt chất lượng nông sản nên các nông hộ đã kết thúc quá trình lên men sớm để giảm chi phí đầu tư, thu lợi sớm. Chỉ có 14 % số hộ ở Đăk Lăk thực hiện việc lên men hạt trong thời gian trên 4,5 ngày, tất cả các hộ còn lại thực hiện lên men dưới 4,5 ngày. Hầu hết các hộ đều sử dụng phương pháp lên men thùng (100% số hộ). Không có hộ nào lên men

thúng và lên men đống, phương pháp lên men đống thường được thực hiện ở các nông trường có diện tích lớn tập trung. Kết quả thống kê tại Bảng 3.7 cho thấy trong quá trình lên men một hộ đảo trộn 1 lần (< 10% số hộ), đa số hộ đảo trộn 2 lần (> 90% số hộ) và không có hộ nào đảo trộn 3 lần.

- *Làm khô hạt*

Bảng 3.8. Phương pháp làm khô hạt ca cao của các nông hộ

Đơn vị tính: % số hộ

Địa điểm	Phơi hạt			Sấy hạt
	trên nền xi măng	trên bạt nhựa	trên giàn có mái che	
Đồng Nai	12	16	72	00
Đăk Lăk	82	14	04	00
Bến Tre	00	00	100	00

Có hai phương pháp làm khô hạt tại các nông hộ là phơi hạt dưới ánh nắng mặt trời và sấy hạt bằng lò sấy đốt bằng củi. Kết quả khảo sát như sau:

- *Phơi hạt:* Các hộ tận dụng sân xi măng sẵn có để phơi hạt, 80% số hộ ở Đăk Lăk, 12% số hộ ở Đồng Nai phơi hạt trực tiếp trên mặt sân xi măng, hạt mau khô nhưng dễ nhiễm tạp chất, lẫn với đất cát. 16% số hộ ở Đồng Nai và 14% số hộ ở Đăk Lăk phơi hạt ca cao trên bạt nhựa để dễ gom hạt cuối buổi chiều, dễ tủ lại khi trời mưa bất chợt, phương pháp phơi hạt này thuận lợi cho người nông dân nhưng hạt dễ bị nhiễm mùi lạ như mùi nhựa của bạt, tạp chất, đất cát. 72% số hộ ở Đồng Nai và đặc biệt là 100% số hộ được khảo sát ở Bến Tre sử dụng phương pháp làm khô hạt bằng phơi hạt trên giàn có hoặc không có mái che. Phương pháp làm khô hạt này người trồng phải đầu tư giàn phơi, hạt khô chậm hơn nhưng hạt sạch không bị nhiễm tạp chất và mùi lạ.

- *Sấy hạt:* Các hộ được khảo sát không sử dụng phương pháp sấy vì phải xây lò sấy, tốn nhiên liệu đốt. Chỉ các nông trường (Nông trường Krông Ana; Nông trường Tháng 10, Buôn Hồ), các công ty thu mua lớn như công ty Cao Nguyên Xanh ở Đắk Lắk sử dụng phương pháp sấy hạt vào mùa mưa. Sấy giúp hạt mau khô, không sợ hạt bị tồn, đen do mưa nhưng rất dễ nhiễm mùi khói, mùi lạ trong quá trình sấy.

Kết quả khảo sát cho thấy nhiều nông hộ sản xuất hạn chế vốn đầu tư, 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.

Kết quả nghiên cứu cũng tương đồng với nghiên cứu của tiến sĩ Lambert, 2010 về chất lượng ca cao Việt Nam: Trong quá trình sản xuất ca cao, phương pháp lên men rất quan trọng, nông dân khi thu hoạch cần phải hái những trái đã chín, quá trình trữ trái để lên men là từ 7-9 ngày. Tuy nhiên, tại nhiều nơi do đặc điểm vườn ca cao ở xa nhà, nhiều người sợ mất trộm nên đã hái trái ca cao sớm dẫn đến chất lượng ca cao bị giảm đi. Ngoài ra, độ axít cao cũng ảnh hưởng lớn đến chất lượng, hạt ca cao cũng phải đủ lớn để có đủ nhiệt trong quá trình lên men.

3.1.6. Sử dụng phân bón cho cây ca cao ở giai đoạn kinh doanh của các nông hộ

Bảng 3.9. Phân bón sử dụng cho cây ca cao giai đoạn kinh doanh

Đơn vị tính: % số hộ

Địa điểm	NPK hỗn hợp		Phân đơn	Phương pháp bón phân		
	20-20-15 /16-16-8	13-11-21 /12-12-17	(urê, lân, kali)	Bón rải trên mặt đất	Bón lấp phân	Bón qua hệ thống tưới nhỏ giọt
Đồng Nai	64	34	02	80	10	10
Đăk Lăk	80	12	08	94	06	0
Bến tre	48	00	52	70	30	0

Số liệu thống kê tại Bảng 3.9 cho thấy mức đầu tư phân bón cho ca cao có sự khác nhau giữa các vùng miền và các hộ sản xuất. Có hộ không đầu tư phân bón cho ca cao nên năng suất rất thấp, nhất là vườn ca cao của các hộ sản xuất là hộ nghèo, cận nghèo, hộ đồng bào dân tộc thiểu số.

Tại Đồng Nai có 64% số hộ, Đăk Lăk có 80% số hộ sử dụng phân hỗn hợp NPK 16 - 16 - 8 hoặc NPK 20 - 20 - 15 để bón cho ca cao. Có 34% số hộ ở Đồng Nai, 12% số hộ ở Đăk Lăk sử dụng phân hỗn hợp NPK 13 - 11 - 21 hoặc NPK 12 - 12 - 17, nhưng ở Bến Tre lại có đến 52% số hộ sử dụng phân đơn urê, lân, kali bón cho cây ca cao giai đoạn kinh doanh. Việc lựa chọn loại phân NPK bón cho cây ca cao chủ yếu là sử dụng cùng loại phân bón cho cây trồng chính nhưng lượng phân bón cho cây ca cao thường

thấp hơn cây trồng chính, hoặc từ kinh ngiệm sản xuất của người khác truyền lại hoặc chỉ mang tính chất phụ thêm vì coi ca cao là cây trồng phụ. Qua khảo sát 150 nông hộ ở cả ba vùng cho thấy 90% số hộ gia đình sử dụng phân bón không căn cứ vào tài liệu khuyến nông đối với cây ca cao ở địa phương. Chỉ có 10% hộ gia đình sử dụng phân bón cho cây ca cao có tham khảo hướng dẫn trong tài liệu khuyến nông của các Trung tâm khuyến nông tại địa phương (bón phân NPK 13 - 11 - 21 cho cây ca cao trồng ở khu vực Đồng bằng sông Cửu Long, và bón phân NPK 12 - 12 - 17 cho cây ca cao trồng ở khu vực miền Đông Nam Bộ và Tây Nguyên). Kết quả này tương đồng với báo cáo của Sở Nông nghiệp và PTNT các tỉnh khảo sát và kết quả khảo sát của Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên năm 2011 về việc sử dụng phân bón trên cây ca cao của các nông hộ.

Theo Wood và Lass, 2001 để sản xuất 1000 kg hạt ca cao khô cần bón 600 kg/ha phân bón NPK 10 - 10 - 15. Nhưng qua thực tế khảo sát các hộ sản xuất thì thấy mức đầu tư vào vườn cây 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 của Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên năm 2011 cũng phản ánh nông dân trồng ca cao đang sử dụng phân bón mất cân đối nghiêm trọng, phân 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. Nông dân sử dụng phân bón mất cân đối nghiêm trọng ở các vùng khảo sát là do sản xuất nhỏ lẻ, manh mún, trình độ canh tác chưa cao, sự quan tâm của các ngành tại địa phương (Sở Nông nghiệp và PTNT, Trung tâm Khuyến nông) trong công tác tuyên truyền phổ biến kiến thức canh tác cho người dân còn hạn chế. Bên cạnh đó còn có nguyên nhân là do một số địa phương coi ca cao là cây trồng xóa đói giảm nghèo cho người dân vùng sâu, vùng xa, vùng đồng bào dân tộc nên khi chương trình hỗ trợ của chính quyền, của các công ty thu mua kết thúc thì nông hộ không tiếp tục bón phân cho cây nữa mà chủ yếu nhờ điều kiện tự nhiên. Ở khu vực Tây Nguyên, nông hộ sử dụng lượng phân bón cho ca cao thấp hơn khuyến cáo nên năng suất chỉ đạt từ 1 tấn hạt khô/ha; rất ít vườn đạt được 1,5 đến 2 tấn hạt khô/ha và không đều giữa các vụ.

Đa số người dân bón rải phân trên mặt đất khi trời có mưa nhằm giảm chi phí đầu tư và do thiếu kiến thức về phân bón nên đạt hiệu quả thấp (Đồng Nai 80% số hộ,

Đăk Lăk 94% số hộ, Bến Tre 70% số hộ). có 10% số hộ ở Đồng Nai, 6% số hộ ở Đăk Lăk và 30% số hộ ở Bến Tre bón lấp phân để hạn chế sự rửa trôi. Chỉ có một số ít hộ gia đình ở Đồng Nai (10% số hộ) đã đầu tư hệ thống tưới nhỏ giọt, chia lượng phân bón trong năm thành nhiều đợt để tăng hiệu quả sử dụng phân bón.

Kết quả khảo sát cũng chỉ ra có khá nhiều hộ sử dụng liều lượng các chất dinh dưỡng chủ yếu sai xa so với yêu cầu của cây ca cao (N - P_2O_5 - K_2O : 80 - 86 - 194). Lượng phân bón được chia thành 3 - 4 lần/năm phụ thuộc thời tiết, chỉ bón lúc trời mưa không phù hợp đối với cây ca cao cho trái quanh năm dẫn đến cây sử dụng phân không hiệu quả, thừa lúc vừa bón, thiếu trước khi bón lần sau.

3.1.7. Khảo sát về tình hình sâu, bệnh trên vườn ca cao của các nông hộ

- *Một số loại sâu bệnh trên cây ca cao thường gặp*

Kết quả khảo sát ở Bảng 3.10 cho thấy bọ xít muỗi *Helopeltis* xuất hiện ở tất cả các vườn, các địa điểm được khảo sát và là mối lo của các vườn ca cao ở Tây Nguyên, *Phytophthora* gây hại cho hầu hết các vùng ca cao ở Việt Nam. Rệp sáp *Planococcus citri* cũng là đối tượng gây hại và lây lan nhanh làm cho cây sinh trưởng phát triển kém, năng suất giảm. Các loại sâu, bệnh khác như nấm hồng, khô thân, vệt sọc đen xuất hiện rải rác một số cây ca cao, ở một số điểm khảo sát với mức độ ít phổ biến. Việc phát triển quy mô lớn và thâm canh cũng là điều kiện phát sinh, phát triển các loại dịch hại, kể cả trên cây ca cao và cây trồng chính.

- Các loại sâu, bệnh thường gặp trên cây ca cao

Bảng 3.10. Các loại sâu, bệnh thường gặp trên cây ca cao

Đơn vị tính: % số hộ

Các loại sâu, bệnh thường xuất hiện	Địa điểm khảo sát					
	Đồng Nai		Đăk Lăk		Bến Tre	
	Xuất hiện	Không xuất hiện	Xuất hiện	Không xuất hiện	Xuất hiện	Không xuất hiện
Thối quả do *Phytophthora*	100	00	100	00	100	00
Nấm hồng *Cortcium salmoncolor*	14	86	12	88	6	94
Khô thân *Collectotrichum, Fusarium*	84	16	90	10	16	84
Rệp sáp *Planococcus citri*	100	00	100	00	100	00
Bệnh VSĐ *Oncobasidium theobromae*	26	74	00	100	12	88
Bọ xít muỗi *Helopeltis*	100	00	100	00	100	00

Kết quả khảo sát tương tự với một số nghiên cứu đã báo cáo trước đó : Cây ca cao bị nhiều loại sâu bệnh tấn công, đã xác định được 13 loài sâu hại trên cây ca cao tại các vùng khảo sát. Các loại sâu hại này xuất hiện và gây hại hầu hết các bộ phận của cây ca cao, trong đó phổ biến nhất là bọ xít muỗi. Tại Đông Nam Bộ và Tây Nguyên, diện tích bị bọ xít muỗi gây hại nặng hơn so với vùng Tây Nam Bộ. Có 10 loại bệnh gây hại trên cây ca cao Việt Nam, song bệnh thối quả do *Phytophthora* gây hại nặng và phổ biến. Nhiều vườn ca cao tỷ lệ quả bị hại lên tới 90%, làm ảnh hưởng rất lớn đến năng suất của vườn cây (Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên, 2011).

3.1.8. Sử dụng thuốc bảo vệ thực vật tại các nông hộ

Bảng 3.11. Sử dụng thuốc bảo vệ thực vật tại các nông hộ

Đơn vị tính: % số hộ

Địa điểm	Phun thuốc BVTV khi xuất hiện cây bị sâu bệnh hại	Phun thuốc BVTV định kỳ	Biện pháp khác phòng sâu, bệnh hại
Đồng Nai	88	12	00
Đăk Lăk	80	20	00
Bến Tre	100	00	00

Hầu hết các hộ trồng cây ca cao đều thực hiện việc tỉa cành tạo tán cho vườn cây nhưng số lần tỉa cành tạo tán, mức độ thông thoáng của vườn cây cũng khác nhau nên mức độ ngăn ngừa sâu bệnh phát triển lây lan cũng khác nhau. Các hộ sản xuất ca cao sử dụng thuốc hóa học bảo vệ thực vật là chính và chỉ sử dụng thuốc bảo vệ thực vật khi xuất hiện cây ca cao bị nhiễm sâu bệnh (Đồng Nai 88% số hộ, Đăk Lăk 80% số hộ, Bến Tre 100% số hộ), có rất ít nông hộ phun thuốc định kỳ phòng bệnh cho vườn cây, không có nông hộ nào áp dụng biện pháp thiên địch như nuôi bọ gậy, kiến đen, không dùng phương pháp dân gian như sử dụng khói đuổi bọ xít muỗi.

Kết quả khảo sát phù hợp với báo cáo của Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên, 2011 về biện pháp phòng trừ sâu bệnh chủ yếu cho cây ca cao đối với các loại sâu, bệnh hại chính vẫn là biện pháp hóa học, số lần phun thuốc khá nhiều (từ 1 đến trên 6 lần/năm) nhưng hiệu quả chưa cao, chỉ đạt trên 40 % do chỉ phun khi sâu bệnh hại xuất hiện.

3.2. Đánh giá chất lượng hạt ca cao Nguyên liệu qua một số chỉ tiêu phân tích

- Số hạt/100 g

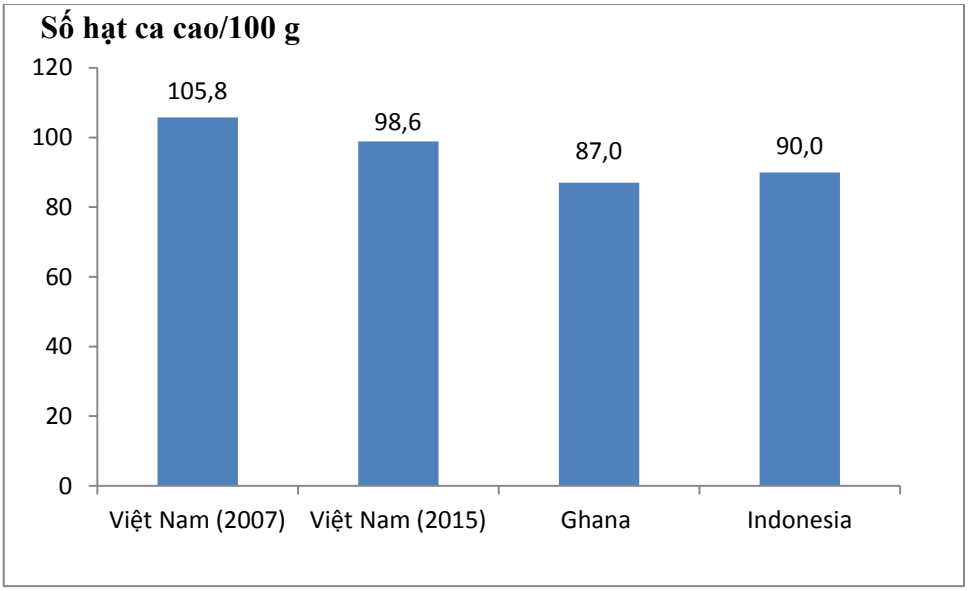
Bảng 3.12. Số hạt ca cao/100g của các vùng trồng ca cao chủ yếu

Chỉ tiêu phân tích	**Đồng Nai**	**Đăk Lăk**	**Bến Tre**	**Trung Bình**
Số hạt/ 100 g	99,01 a	98,72 a	98,06 b	98,60
	LSD = 0,39	p < 0,01	CV = 0,13	

Kết quả Bảng 3.12 cho thấy số hạt/100 g cao nhất ở Đồng Nai, thấp nhất ở Bến Tre. Hạt ca cao của Bến Tre lớn hơn các vùng khác mặc dù không có sự khác biệt về

giống là do cây ca cao được trồng trên đất phù sa bồi nhiều dinh dưỡng, người trồng tiếp thu ứng dụng kỹ thuật chăm sóc, bón phân hiệu quả. Nhìn chung, hạt ca cao cả ba vùng khảo sát dưới 100 hạt/100 g nên đều thuộc nhóm hạt 1A theo tiêu chuẩn xếp loại TCVN 7518 : 2005.

So sánh số lượng hạt ca cao Việt Nam với hạt ca cao Ghana ở Hình 3.1 cho thấy số lượng hạt ca cao khô/100g của ca cao Việt Nam có nhiều thay đổi, số lượng hạt giảm dần chứng tỏ trình độ canh tác của người trồng ca cao ngày càng cao hơn, người sản xuất đầu tư dinh dưỡng cho cây tốt hơn nên hạt ca cao lớn hơn so với trước đây. Năm 2007, hạt ca cao thu mua từ các tỉnh Miền Đông Nam Bộ có số lượng 97,6 - 102,5 hạt/100 g, hạt ca cao thu mua từ các tỉnh Đồng bằng Sông Cửu Long có số lượng 103,69 - 119,4 hạt/100 g (Mars Inc, 2007). Năm 2015, số liệu khảo sát từ ba vùng cho kết quả số lượng hạt ca cao 98,6 - 99,1 hạt/100 g. Hạt ca cao của Ghana là nước sản xuất ca cao chất lượng trên thế giới có số lượng 90 - 95 hạt/100 g. Hạt ca cao Việt Nam nhỏ hơn so với hạt ca cao Ghana do tỉ lệ cơm nhầy của hạt ca cao Việt Nam lớn, ngoài ra còn phụ thuộc vào điều kiện tự nhiên như nước, dinh dưỡng, giống.



Hình 3.1. So sánh số hạt/100 g của ca cao Việt Nam với ca cao tiêu chuẩn *Ghana và ca cao tiêu chuẩn *Indonesia

(* Tiêu chuẩn ngành cho ca cao của khu vực được cung cấp bởi Cadbury-chweppes, 2006).

- Phân loại các loại hạt lên men

Bảng 3.13. Các loại hạt lên men

Đơn vị tính: %

Chỉ tiêu phân tích	Đồng Nai	Đăk Lăk	Bến Tre	LSD	CV	p
Hạt lên men	82,03 a	73,09 b	83,05 a	1,51	0,63	< 0,01
Hạt tím	1,28 c	5,67 a	4,00 b	1,12	10,11	< 0,01
Một phần tím/ một phần nâu	14,29 b	17,69 a	10,86 c	1,68	3,89	< 0,01
Hạt bị côn trùng phá hại	0,31 a	0,05 b	0,02 b	0,06	15,48	< 0,01
Hạt mốc	1,01 a	0,95 a	0,51 b	0,16	6,38	< 0,01
Hạt chai xám	0,02b	1,02 a	0,07 b	0,1	9,2	< 0,01
Hạt lép	0,33 c	0,61b	0,86 a	0,12	6,38	< 0,01
Hạt dính cục	0,10 b	0,17 a	0,15 ab	0,05	11,95	< 0,01
Hạt vỡ	0,61 b	0,75 a	0,48 c	0,08	4,36	< 0,01

Tỷ lệ hạt lên men cao nhất ở Bến Tre (83,05%) và Đồng Nai (82,03%), thấp nhất ở Đăk Lăk (73,09%). Tỉ lệ hạt lên men của Ghana từ 75 - 80%. Điều này chứng tỏ chất lượng lên men của hạt ca cao Việt Nam khá tốt, chỉ có hạt ca cao của Đăk Lăk có tỉ lệ hạt lên men thấp (73,09%) có thể do người trồng hái trái đồng loạt, trong đó có cả trái chưa chín, nếu có lưu trữ trái thì cũng không thể tiếp tục chín được dẫn đến tỉ lệ hạt lên men thấp hơn các vùng khác.

Tỷ lệ hạt tím cao nhất ở Đăk Lăk, thấp nhất ở Đồng Nai.

Tỷ lệ hạt một phần tím/ một phần nâu cao nhất ở Đăk Lăk, thấp nhất ở Bến Tre.

Tỷ lệ hạt bị côn trùng phá hại cao nhất ở Đồng Nai.

Tỷ lệ hạt mốc thấp nhất ở Bến Tre.

Tỷ lệ hạt chai xám cao nhất ở Đăk Lăk, thấp nhất ở Đồng Nai và Bến Tre. Tỉ lệ hạt chai xám cao là do kỹ thuật lên men chưa tốt.

Tỷ lệ hạt lép cao nhất ở Bến Tre và thấp nhất ở Đồng Nai. Hạt lép chiếm tỉ lệ cao liên quan tới chế độ phân bón dùng cho ca cao. Cần kiểm soát quy trình bón phân theo khuyến cáo cả về lượng và loại phân sử dụng phù hợp với từng giai đoạn để giảm tỉ lệ hạt lép.

Tỷ lệ hạt dính cục thấp nhất ở Đồng Nai.

Tỷ lệ hạt vỡ cao nhất ở Đăk Lăk, thấp nhất ở Bến Tre.

Trong quá trình sản xuất ca cao, phương pháp lên men rất quan trọng, nông dân khi thu hoạch cần phải hái những trái đã chín, quá trình trữ trái để lên men là từ 7-9 ngày. Tuy nhiên, tại nhiều nơi ở Việt Nam do đặc điểm vườn ca cao ở xa nhà, nhiều người sợ mất trộm nên đã hái trái ca cao sớm dẫn đến chất lượng ca cao bị giảm đi. Ngoài ra, độ axít cao cũng ảnh hưởng lớn đến chất lượng, hạt ca cao cũng phải đủ lớn để có đủ nhiệt trong quá trình lên men(Lambert, 2010).

- Tạp chất trong khối ủ

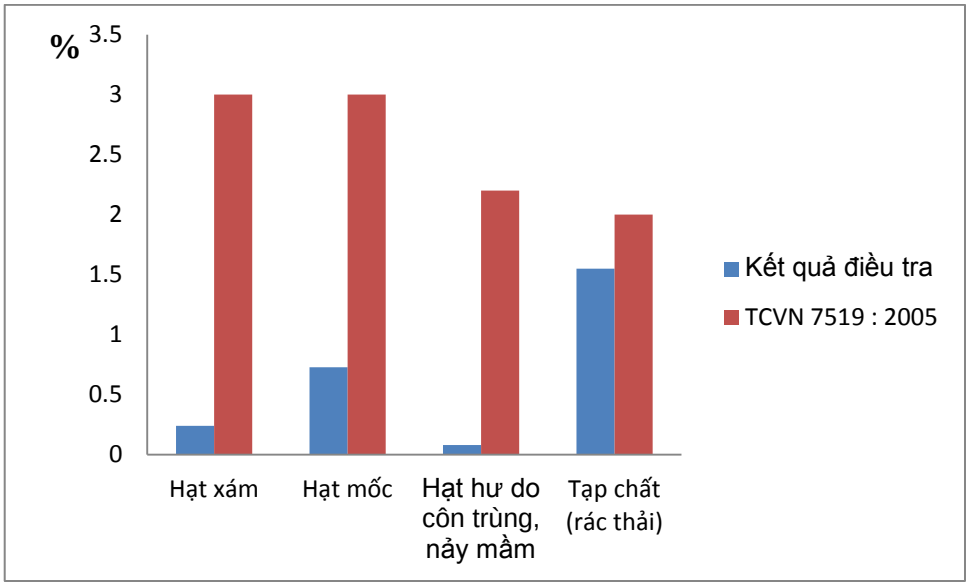
Bảng 3.14. Tỷ lệ vỏ hạt và rác thải trong khối ủ

Đơn vị tính: %

Chỉ tiêu phân tích	**Đồng Nai**	**Đăk Lăk**	**Bến Tre**	**LSD**	**CV**	**p**
Vỏ	15,12 b	13,59 c	15,76 a	0,5	1,11	< 0,01
Rác thải và vật lạ	0,73 b	2,00 a	2,01a	0,47	9,87	< 0,01

Theo kết quả khảo sát phân tích số liệu cho thấy tỷ lệ vỏ ca cao các vùng khảo sát từ 13,59% - 15,76% cao hơn tỉ lệ vỏ hạt của ca cao Ghana (chỉ chiếm 11 - 13%) một phần là do tỉ lệ cơm nhầy của hạt ca cao Việt Nam khá lớn (67,27%) so với ca cao Brazil (40%) (Schwan và ctv, 2004) và các nước khác trên thế giới.

Tỷ lệ rác thải và vật lạ cao nhất ở Đăk Lăk (2%) và Bến Tre (2,01%) và thấp nhất ở Đồng Nai 0,73%. Theo tiêu chuẩn TCVN 7518 : 2005 thì chỉ có hạt ca cao Đồng Nai có tỉ lệ rác thải và vật lạ < 1%, các vùng khảo sát khác đều có tỉ lệ rác thải và vật lạ > 1% 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.



Hình 3.2. So sánh tỷ lệ các loại hạt xấu và tạp chất trong khối hạt sau lên men với hạt loại 1A theo tiêu chuẩn TCVN 7518 : 2005.

Hình 3.2 chỉ ra tỉ lệ các loại hạt xấu trong khối ủ sau khi được lên men và làm khô hạt đều nằm dưới ngưỡng quy định chất lượng hạt ca cao loại 1A theo tiêu chuẩn TCVN 7518 : 2005.

3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của loại, liều lượng phân bón kali đến năng suất quả của cây ca cao và hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi.

Vườn ca cao của Trại phong, huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng được trồng từ kinh phí của đề tài phát triển cây ca cao cho vùng Lâm Đồng do Sở Khoa học Công nghệ chủ trì phối hợp với Trường Đại học Nông Lâm TP. HCM thực hiện nên nguồn giống được tuyển chọn kỹ càng, giống trồng là hỗn hợp các dòng Trinitario bao gồm các dòng vô tính TD1, TD2, TD3, TD5, TD6, TD8, TD10, TD14 do Trường Đại học Nông Lâm TP. HCM tuyển chọn, đây là các dòng đã được Bộ Nông nghiệp và PTNT phê duyệt cho phép sử dụng rộng rãi trên cả nước. Các dòng vô tính này có tiềm năng năng suất từ 2 đến 5 tấn/ha, vườn ca cao được trồng đúng kỹ thuật, đảm bảo về khoảng cách, cây cách cây 3 m, hàng cách hàng 3 m, mật độ che bóng đạt 30% rải đều khắp vườn cây. Hệ thống tưới tự động được thiết kế ngay từ khi mới kiến thiết vườn cây rất thuận tiện cho việc tưới nước chống hạn vào mùa khô và bón phân theo yêu cầu, tuy nhiên do mùa mưa ở Di Linh trùng với mùa ra hoa và kéo dài 5 - 6 tháng nên người nông dân ở đây thường nương theo mùa mưa để bón phân nhằm tiết kiệm chi phí đầu tư. Trong thời gian thực hiện thí nghiệm, hệ thống tưới nhỏ giọt bị hỏng nên phải sử dụng nước giếng bơm.

3.3.1. Tình hình sâu, bệnh trên các vườn thí nghiệm trong quá trình nghiên cứu.

Theo số liệu thu thập được tại 2 khu vực bố trí thí nghiệm thì các loại sâu, bệnh hại cây xuất hiện nhiều nhất là bọ xít muỗi, tiếp đến là *Phytophthora* và sau đó là rệp sáp. Các loại sâu, bệnh hại khác như nấm hồng, khô thân xuất hiện rải rác ở một số cây trong vườn, mức độ xuất hiện ít phổ biến (< 25% số cây được phát hiện nhiễm sâu, bệnh hại).

Bảng 3.15. Một số loại sâu, bệnh hại được phát hiện ở cây ca cao trồng trên đất FRr

Loại sâu hại	Số cây bị sâu, bệnh	Tỷ lệ (%)	Mức độ phổ biến của sâu, bệnh hại
Rệp sáp *Planococcus citri*	15	2,0	+
Sâu đục thân *Endoctila Hosei*	9	1,0	+
Bọ xít muỗi *Helopeltis* spp.	156	18,1	++
Thối quả do *Phytophthora*	89	4,5	+

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% (+++)

Số liệu thu thập được ở Bảng 3.15 và Bảng 3.16 cho thấy cả hai vườn ca cao bố trí thí nghiệm đều có bọ xít muỗi xuất hiện. Bọ xít muỗi xuất hiện nhiều nhất từ tháng 4 đến tháng 9 hàng năm do khoảng thời gian này là mùa mưa ở Lâm Đồng và Đồng Nai, lượng mưa nhiều khiến vườn cây ẩm ướt là điều kiện thích hợp để bọ xít muỗi sinh sản tăng số lượng. Vào mùa mưa cũng là mùa các hộ sản xuất bón phân cho cây nuôi quả non, vì vậy giai đoạn này quả cây non bị chích hút nhựa nhiều nhất. Vườn ca cao tại Di Linh, Lâm Đồng, bọ xít muỗi xuất hiện ở mức phổ biến (18,1% số cây bị hại). Vườn ca cao tại Trảng Bom, Đồng Nai bọ xít muỗi xuất hiện ở mức rất phổ biến (21,9% số cây bị hại). Bọ xít muỗi chích hút nhựa chồi non làm cháy khô chồi non, chích hút nhựa quả non tạo thành vết thâm đen trên bề mặt quả làm cho quả phát triển dị dạng, ít hạt và dễ bị nấm bệnh xâm nhập (Phạm Hồng Đức Phước, 2009). Phun thuốc *Permethrin* (Permecide 50 EC, Peran, Perkill) diệt bọ xít muỗi vào buổi chiều mát (hết nắng) là thời điểm bọ xít muỗi tập trung gây hại, ít di chuyển

để phát huy tối đa hiệu quả của thuốc.

Hình 3.3.Bọ xít muỗi gây hại cho quả ca cao tại Trảng Bom, Đồng Nai (Phạm Hồng Đức Phước, 2013)

Hình 3.4.Quả ca cao bị bọ xít muỗi chích hút nhựa (vườn ca cao Di Linh, Lâm Đồng)

Bảng 3.16. Một số loại sâu, bệnh hại được phát hiện ở cây ca cao trồng trên đất Ach

Loại sâu hại	Số cây bị sâu, bệnh	Tỷ lệ (%)	Mức độ phổ biến của sâu, bệnh hại
Rệp sáp *Planococcus citri*	46	5,3	++
Sâu đục thân Endoctila Hosei	26	3,0	+
Bọ xít muỗi *Helopeltis* spp	189	21,9	++
Thối quả do *Phytophthora*	335	38,77	+++

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% (+++)

Quả ca cao bị thối do *Phytophthora* gây ra là bệnh hại chính trên cây ca cao. Bệnh xuất hiện trong tất cả các giai đoạn phát triển của cây, bệnh tấn công khắp các bộ phận trên cây (thân, lá, hoa, quả non, quả già), bệnh đặc biệt phát triển mạnh trong điều kiện mùa mưa kéo dài, độ ẩm không khí cao, không dọn vệ sinh cho vườn cây, cành lá mục dày. Nước mưa bắn các hạt đất mang theo mầm bệnh lên các bộ phận của cây làm bệnh phát triển lây lan nhanh trong vườn. Ngoài ra côn trùng cũng là nguồn lây lan bệnh thối quả từ bộ phận này sang bộ phận khác, từ cây này sang cây khác. Các vườn ca cao ở giai đoạn kinh doanh đã khép tán, nếu không tỉa thưa hợp lý, để tán dày làm hạn chế ánh sáng chiếu xuống mặt đất sẽ khiến cho mầm bệnh phát triển gây hại càng mạnh. Qua thực tế

khảo sát theo dõi nhận thấy các giống khác nhau thì tỷ lệ số cây bị hại và mức độ hại của sâu, bệnh cũng khác nhau, các giống TD1, TD2, TD5 có tỷ lệ bị nhiễm bệnh *Phytophthora* cao hơn các giống khác có lẽ là do sức đề kháng với *Phytophthora* của các giống này yếu hơn. Ở vườn ca cao Trảng Bom, Đồng Nai lượng quả non bị thối, chín héo, rụng khá nhiều. Số cây bị nhiễm *Phytophthora* lên đến 38,77% (mức rất phổ biến). Vườn ca cao Di Linh, Lâm Đồng, *Phytophthora* xuất hiện mức độ ít phổ biến, chỉ có 4,5% số cây có quả bị rụng do thối vì nhiễm *Phytophthora*, lượng quả rụng cũng ít hơn so với vườn ca cao Trảng Bom. Phun thuốc BVTV loại Cos 85 để phòng trừ bệnh thối quả.

Hình 3.5. Quả ca cao bị thối do *Phytophthora* gây ra ở vườn ca cao Trảng Bom, Đồng Nai

Rệp sáp sống bám ở ngọn thân cành non, chùm hoa, quả để hút nhựa cây làm thân cành còi cọc, dị dạng, quả chậm lớn. Mùa khô rệp sáp còn phát triển mạnh vùng cổ rễ làm cây chậm lớn còi cọc. Vườn ca cao Di Linh có rệp sáp xuất hiện ở 2% số cây, mức độ ít phổ biến. Vườn ca cao Trảng Bom có rệp sáp xuất hiện trên 5,3% số cây, mức độ phổ biến. Phun thuốc BVTV để trừ rệp sáp cho vườn cây.

Hình 3.6. Quả ca cao bị rệp sáp tấn công ở vườn ca cao Trảng Bom, Đồng Nai (Phạm Hồng Đức Phước, 2013)

Hình 3.7. Quả ca cao bị rệp sáp tấn công ở vườn ca cao Di Linh, Lâm Đồng.

Các loại sâu hại khác như sâu đục thân, mối, sùng đất xuất hiện với mức độ ít phổ biến, gây hại không đáng kể.

Các loại bệnh hại khác như nấm hồng, khô thân, bệnh VSĐ chỉ xuất hiện rải rác ở một số cây với mức độ ít phổ biến, gây hại không đáng kể.

3.3.2. 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.

Vườn ca cao trồng trên đất FRr, trước khi thực hiện thí nghiệm năng suất trái không ổn định giữa các năm và thấp hơn tiềm năng năng suất của giống do phụ thuộc vào thời tiết, khả năng đầu tư chăm sóc của nông hộ. Từ số liệu khảo sát và thu thập thông tin từ thực tế cho thấy chủ vườn nắm kỹ thuật canh tác và sơ chế ca cao theo tài liệu của Trung tâm khuyến nông quốc gia nhưng việc áp dụng vào thực tế thì lại phụ thuộc chủ yếu vào nguồn vốn của trại, sức lao động của người nông dân có tới đâu thì đầu tư đến đó, lượng phân bón, kỹ thuật chăm sóc, tỉa cành, phòng trừ sâu bệnh luôn thấp hơn mức khuyến cáo đối với nhu cầu của cây ca cao đang ở thời kỳ kinh doanh trồng trên địa bàn.

Phân tích ANOVA kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của loại và liều lượng phân bón kali đến năng suất hạt của cây ca cao, xếp nhóm tương tác các nghiệm thức của yếu tố loại phân kali và liều lượng phân bón kali chia thành 11 nhóm a,b,c,d,e,f,g,h,i,j, k. Các trung bình tương tác Dunnett của 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 3.17. Ảnh hưởng của loại, liều lượng phân bón kali đến năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất FRr

Đơn vị tính: kg hạt khô/ha

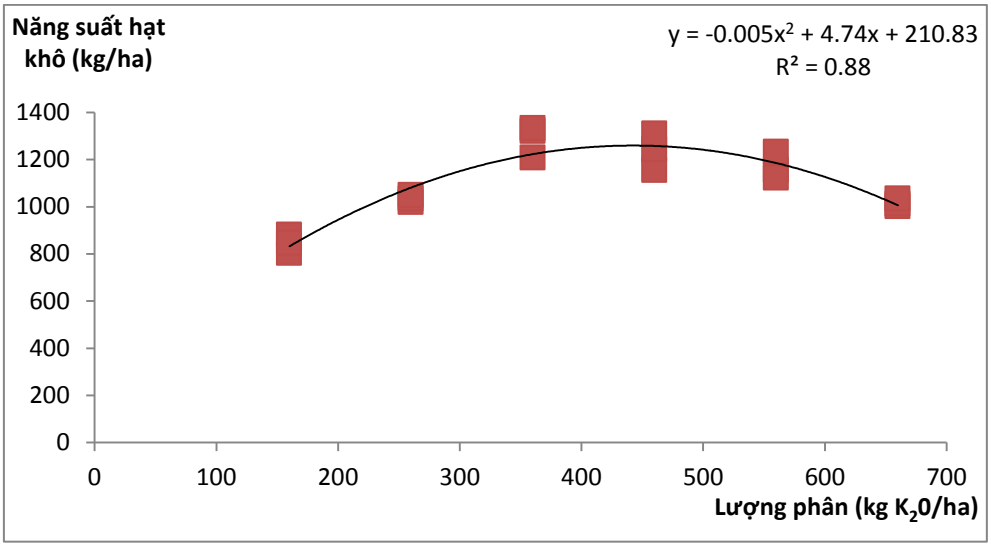
Loại phân kali (A)	Liều lượng phân kali (B) *kg K_2O/ha*					
	160	260	360	460	560	660
Năm 2012						
KCl	843 k	1.034 ij	1.287 bc	1.236 cde	1.170 def	1.016 ij
KNO_3	953 j	1.078 f-i	1.320 bc	1.261cd	1.133fgh	1.041 hij
K_2SO_4	1.063ghi	1.155 efg	1.478 a	1.371 b	1.261cd	1.159 efg
Năm 2013						
KCl	722 h	803 gh	1.313 def	1.100 efg	1.250 def	1.100 efg
KNO_3	1.103 fgh	1.203 def	1.907 a	1.690 abc	1.536 bcd	1.397 c-f
K_2SO_4	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%

Cây ca cao từ năm thứ tư trở đi chuyển sang giai đoạn kinh doanh. Trong thời kỳ kinh doanh nhu cầu sử dụng kali của cây cao hơn nhiều so với thời kỳ kiến thiết cơ bản. Bón phân cho cây ở giai đoạn này giúp cây vẫn duy trì sự sinh trưởng và bù trả lại lượng dinh dưỡng cây lấy đi để tạo quả và hạt. 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 (Phạm Hồng Đức Phước, 2008).

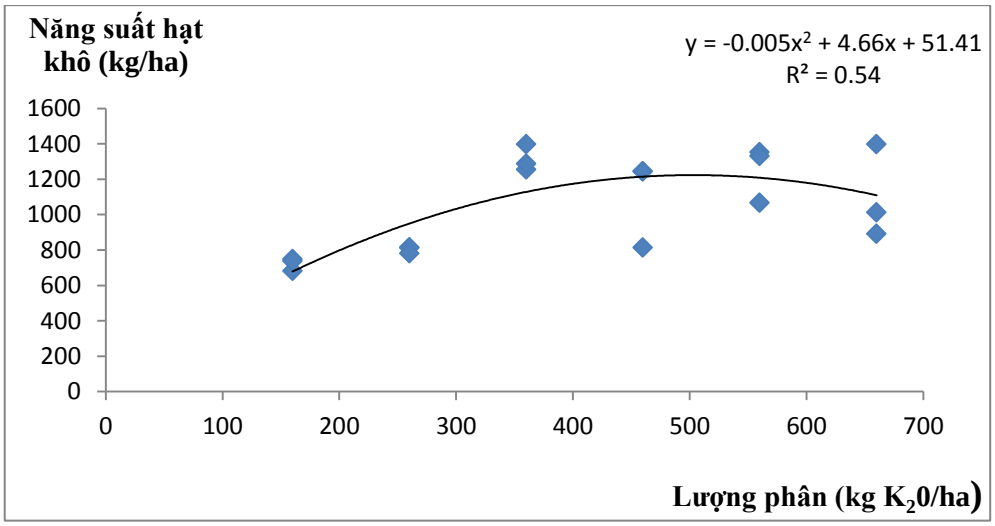
Sử dụng phương pháp phân tích tương quan hồi quy bậc 2 để xác định mối tương quan giữa liều lượng phân bón kali với năng suất thực thu của vườn cây để lựa chọn liều lượng phân bón tối ưu nhất áp dụng trong kỹ thuật chăm sóc cây ca cao trồng trên đất FRr. Kết quả ta có đồ thị, phương trình hồi qui và hệ số tương quan khi bón các loại phân kali trong năm 2012 và 2013 như sau:

- Bón phân kali loại KCl:



Hình 3.8. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KCl với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất FRr, năm 2012.

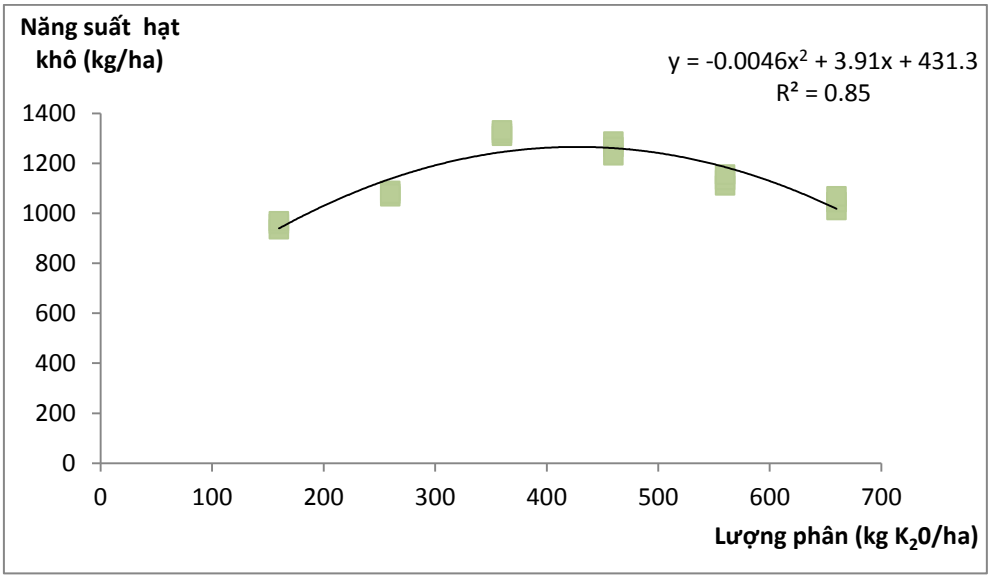
Phương trình hồi quy thu được: $y = - 0,005\ x^2 + 4,74\ x + 210,83$ với hệ số xác định $R^2 = 0,88$ (y là năng suất, x là liều lượng bón phân kali KCl).



Hình 3.9. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KCl với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất FRr, năm 2013.

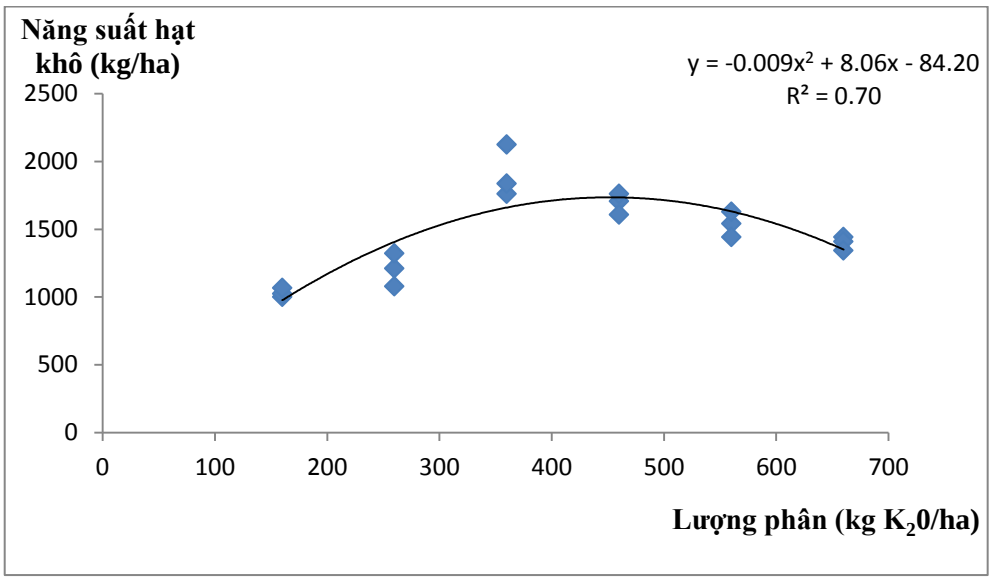
Phương trình hồi quy thu được: $y = - 0,005\ x^2 + 4,66\ x + 51,41$ với hệ số xác định $R^2 = 0,54$ (y là năng suất, x là liều lượng bón phân kali KCl).

- Bón phân kali loại KNO_3:



Hình 3.10. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KNO_3 với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất FRr, năm 2012

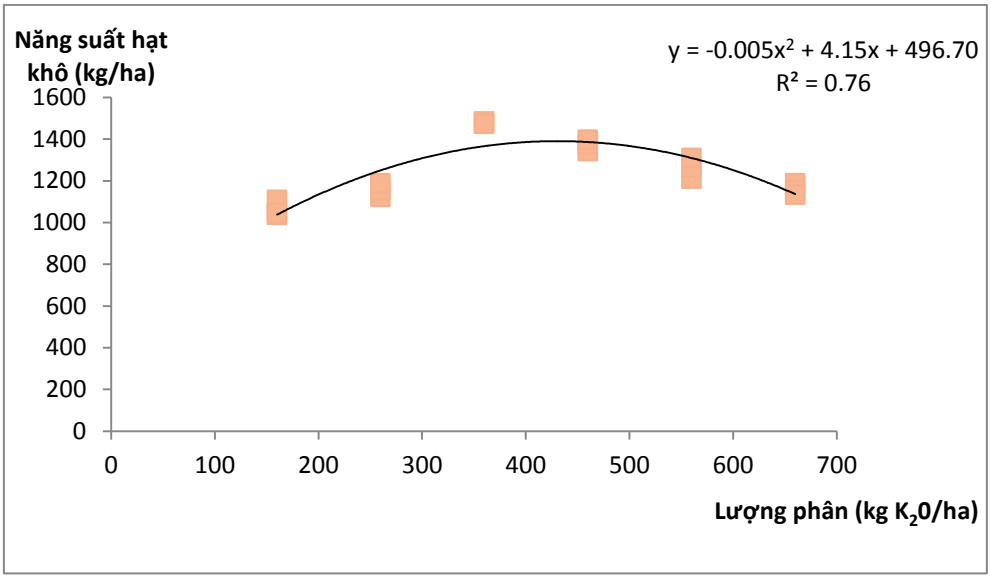
Phương trình hồi quy thu được: y = - 0,005 x^2 + 3,91 x + 431,30 với hệ số xác định R^2 = 0,85 (y là năng suất, x là liều lượng phân bón kali KNO_3).



Hình 3.11. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KNO_3 với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất FRr, năm 2013

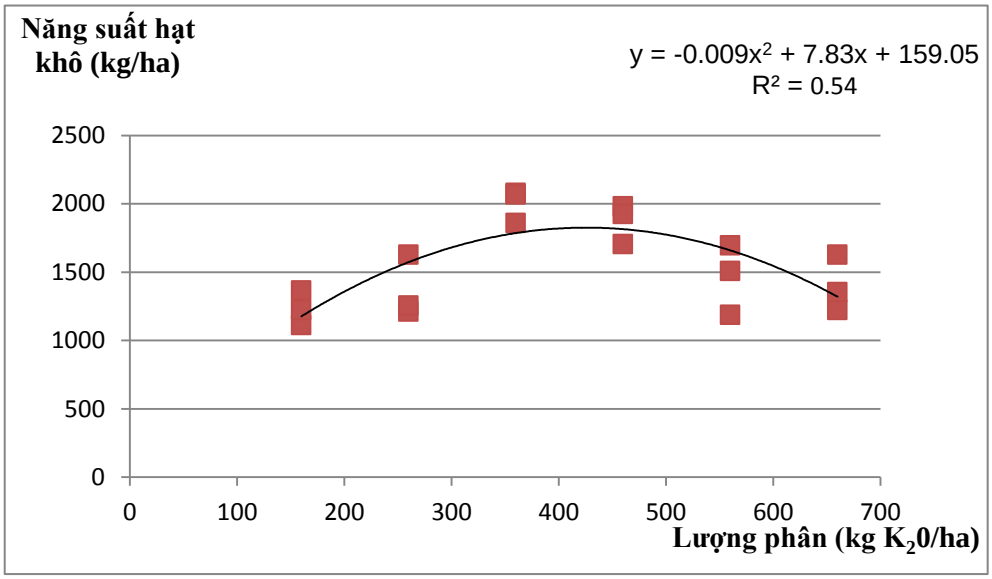
Phương trình hồi quy thu được: y = - 0,009 x^2+ 8,06 x - 84,20 với hệ số xác định R^2 = 0,70 (y là năng suất, x là liều lượng phân bón kali KNO_3)

- Bón phân kali loại K_2SO_4:



Hình 3.12. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón K_2SO_4 với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất FRr, năm 2012

Phương trình hồi quy thu được: y = - 0,005 x^2 + 4,15 x + 496,70 với hệ số xác định R^2 = 0,76 (y là năng suất, x là liều lượng phân bón kali K_2SO_4).



Hình 3.13. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón K_2SO_4 với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất FRr, năm 2013

Phương trình hồi quy thu được: y = - 0,009 x^2 + 7,83 x + 159,05 với hệ số xác định R^2 = 0,54 (y là năng suất, x là liều lượng phân bón kali K_2SO_4).

Kết quả Bảng 3.17 cho thấy:

+ Loại phân kali có ảnh hưởng rõ rệt đến năng suất cây ca cao trồng trên đất FRr trong điều kiện khí hậu thời tiết của Di Linh, Lâm Đồng. Các công thức bón phân

kali loại K_2SO_4 cho năng suất hạt cao hơn các công thức bón phân kali loại KCl và KNO_3 có cùng liều lượng bón (160; 260; 360; 460; 560; 660 kg K_2O/ha).

Công thức bón phân kali loại K_2SO_4, liều lượng bón 360 kg K_2O/ha, năng suất năm 2012 đạt 1.478 kg hạt khô/ha, năng suất năm 2013 đạt 2.002 kg hạt khô/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 $p < 0,01$.

+ Liều lượng phân bón kali có ảnh hưởng đến năng suất cây ca cao trồng trên đất FRr trong điều kiện khí hậu thời tiết của Di Linh, Lâm Đồng.

Bón phân KCl ở liều lượng 360 kg K_2O/ha cho năng suất hạt cao nhất, năng suất năm 2012 đạt 1.287 kg hạt khô/ha, cao hơn đối chứng (1.170 kg hạt khô/ha). Năng suất năm 2013 đạt 1.313 kg hạt khô/ha, cao hơn đối chứng (1.250 kg hạt khô/ha).

Bón phân KNO_3 ở liều lượng 360 kg K_2O/ha cho năng suất hạt cao nhất, năng suất năm 2012 đạt 1.320 kg hạt khô/ha, cao hơn đối chứng (1.133 kg hạt khô/ha). Năm 2013 năng suất đạt 1.907 kg hạt khô/ha, cao hơn đối chứng (1.536 kg hạt khô/ha).

Bón phân K_2SO_4 ở liều lượng 360 kg K_2O/ha cho năng suất hạt cao nhất, năng suất năm 2012 đạt 1.478 kg hạt khô/ha, cao hơn đối chứng (1.261 kg hạt khô/ha). Năm 2013 đạt 2.002 kg hạt khô/ha, cao hơn đối chứng (1.463 kg hạt khô/ha).

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 $p < 0,01$.

Như vậy: Các loại phân kali KCl, KNO_3 và K_2SO_4 khi bón ở liều lượng 360 kg K_2O/ha trên nền phân bón (297 kg N_2 và 209 kg P_2O_5)/ha,năm cho năng suất hạt cao nhất. Các ô cơ sở ứng dụng liều lượng phân bón kali cao hơn cho cả ba loại phân kali nói trên thì năng suất hạt có chiều hướng giảm cả năm 2012 và năm 2013 được thể hiện ở đồ thị mối tương quan giữa liều lượng phân bón kali với năng suất hạt ca cao qua hai năm thực nghiệm (Hình 3.8, Hình 3.9, Hình 3.10, Hình 3.11, Hình 3.12, Hình 3.13).

3.3.3. Ảnh hưởng của loại, liều lượng phân kali đến năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất Ach 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 3.18. Ảnh hưởng của loại, liều lượng phân kali đến năng suất hạt cây ca cao trồng trên đất Ach

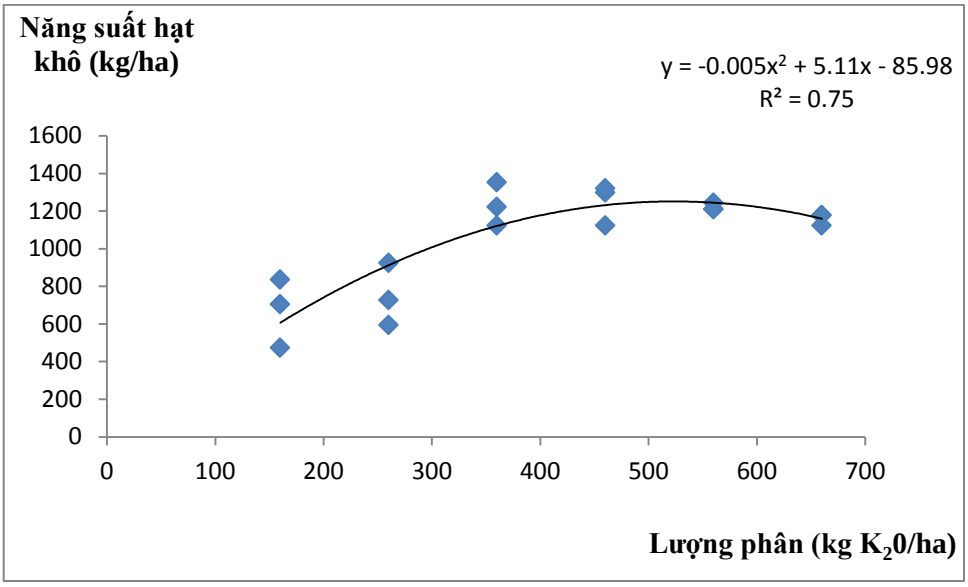
Đơn vị tính: kg hạt khô/ha

Loại phân kali (A)	Liều lượng phân kali (B) *kg K_2O/ha*					
	160	260	360	460	560	660
Năm 2012						
KCl	671f	748 ef	1.232 bc	1.247 bc	1.221 bc	1.159 bc
KNO_3	620 f	854 def	1.236 bc	1.386 ab	1.232 bc	1.107 bcd
K_2SO_4	836 ef	964 cde	1.258 b	1.613 a	1.309 b	1.159 bc
Năm 2013						
KCl	554 j	653 hij	719 ghi	1.210 c	1.034 d	858 ef
KNO_3	627 ij	631 ij	759 g	1.283 bc	1.041 d	891 e
K_2SO_4	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%

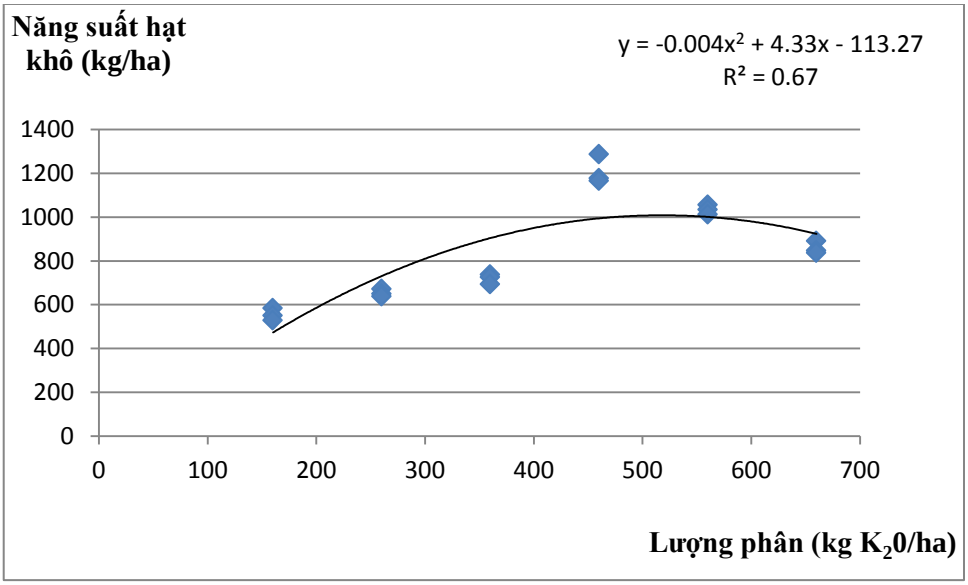
Sử dụng phương pháp phân tích tương quan hồi quy bậc 2 để xác định mối tương quan giữa mức phân bón kali với năng suất thực thu của vườn cây để lựa chọn mức phân bón tối ưu nhất áp dụng trong kỹ thuật chăm sóc cây ca cao trồng trên đất Ach. Kết quả ta có đồ thị, phương trình hồi qui và hệ số tương quan khi bón các loại phân kali như sau:

- Bón phân kali loại KCl:



Hình 3.14. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KCl với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất Ach, năm 2012

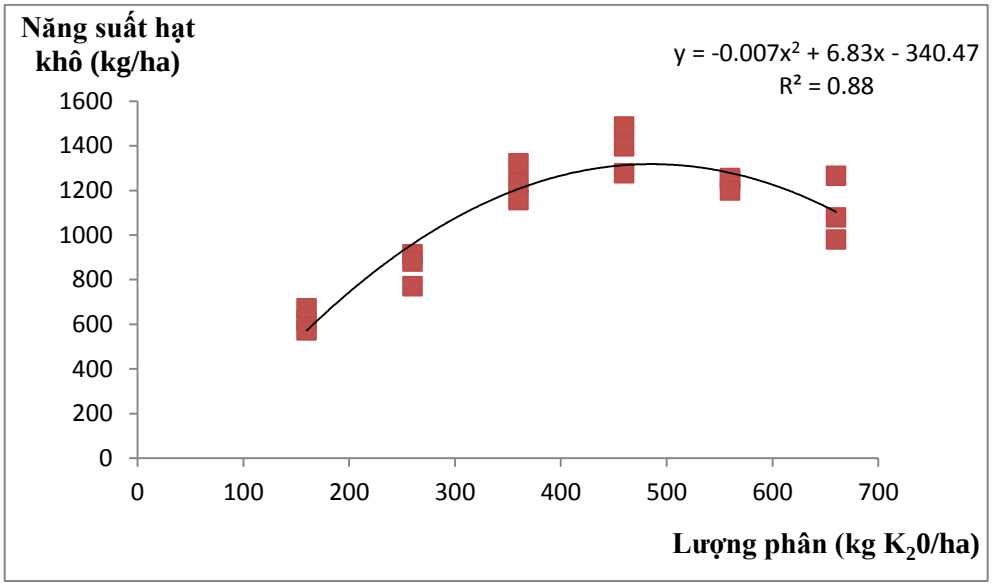
Phương trình hồi quy thu được: y = - 0,005 x^2 + 5,11 x - 85,98 với hệ số xác định R^2 = 0,75 (y là năng suất, x là liều lượng bón phân kali KCl).



Hình 3.15. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KCl với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất Ach, năm 2013

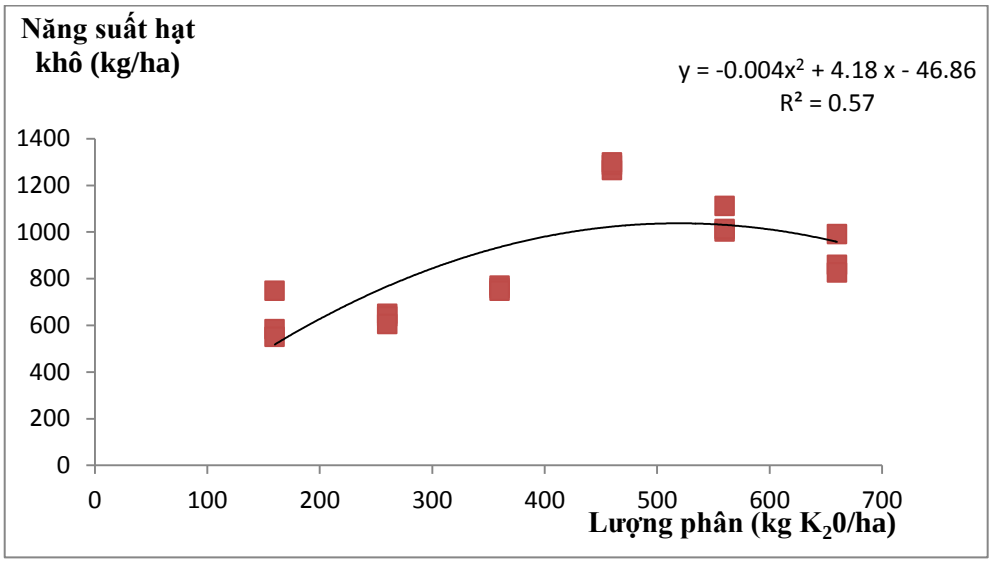
Phương trình hồi quy thu được: y = - 0,004 x^2 + 4,33 x - 113,27 với hệ số xác định R^2 = 0,67 (y là năng suất, x là liều lượng bón phân kali KCl).

- Bón phân kali loại KNO_3:



Hình 3.16. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KNO_3 với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất Ach, năm 2012

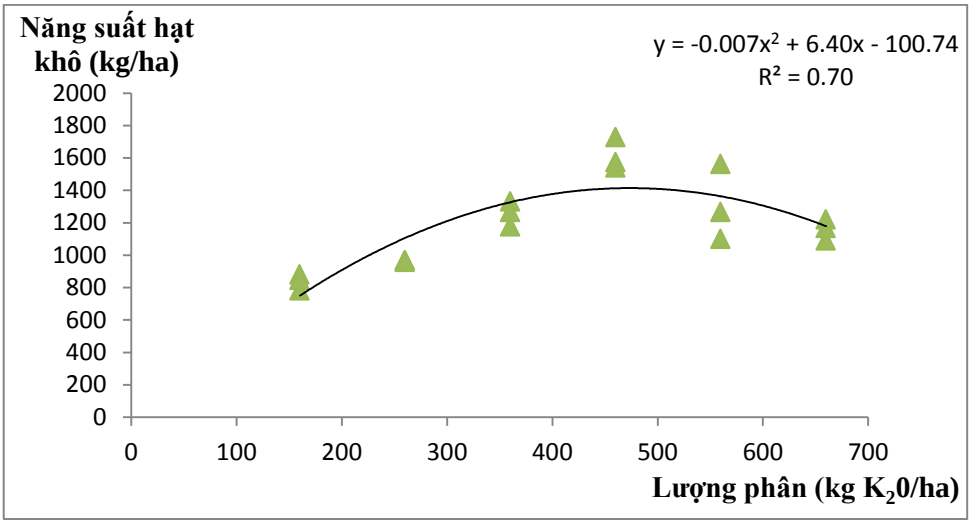
Phương trình hồi quy thu được: $y = - 0,007 x^2 + 6,83 x - 340,47$ với hệ số xác định $R^2 = 0,88$ (y là năng suất, x là liều lượng bón phân kali KNO_3).



Hình 3.17. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KNO_3 với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất Ach, năm 2013

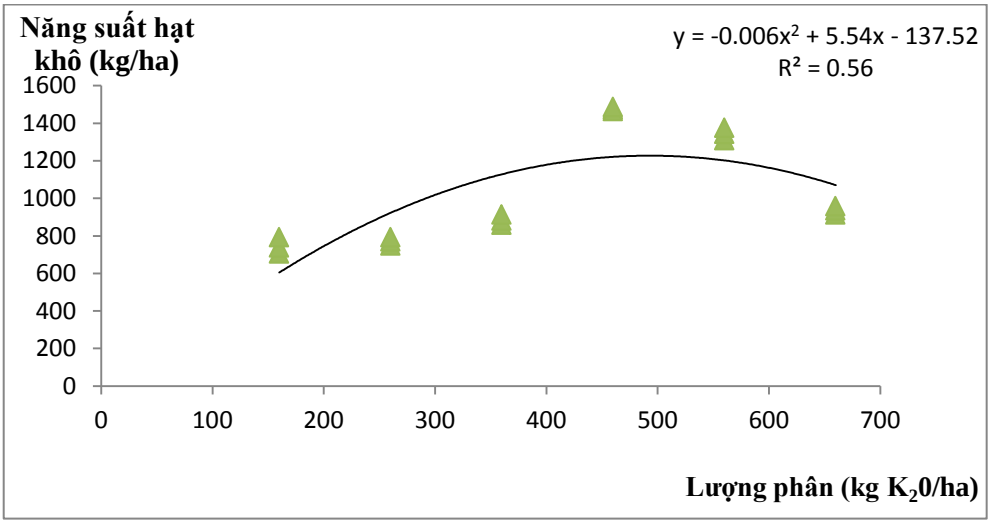
Phương trình hồi quy thu được: $y = - 0,004 x^2 + 4,18 x - 46,86$ với hệ số xác định $R^2 = 0,57$ (y là năng suất, x là liều lượng bón phân kali KNO_3).

- Bón phân kali loại K_2SO_4:



Hình 3.18. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón K_2SO_4 với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất Ach, năm 2012

Phương trình hồi quy thu được: y = - 0,007 x^2 + 6,40 x + 100,74 với hệ số xác định R^2 = 0,70 (y là năng suất, x là liều lượng bón phân kali K_2SO_4).



Hình 3.19. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón K_2SO_4 với năng suất hạt của cây ca cao trồng trên đất Ach, năm 2013

Phương trình hồi quy thu được: y = 0,006 x^2 + 5,54 x + 137,52 với hệ số xác định R^2 = 0,56 (y là năng suất, x là liều lượng bón phân kali K_2SO_4).

Kết quả Bảng 3.18 cho thấy:

+ Loại phân kali bón cho cây ca 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_2SO_4 cho năng suất hạt cao hơn so với các công thức ứng dụng loại phân KNO_3 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_2O/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 $p < 0,01$.

+ Liều lượng phân bón kali có ảnh hưởng đến năng suất cây ca cao trồng trên đất Ach, trong điều kiện khí hậu thời tiết của Trảng Bom, Đồng Nai.

Bón phân KCl ở liều lượng 460 kg K_2O/ha cho năng suất hạt cao nhất, năng suất năm 2012 đạt 1.247 kg hạt khô/ha, cao hơn đối chứng (1.221 kg hạt khô/ha). Năng suất năm 2013 đạt 1.210 kg hạt khô/ha, cao hơn đối chứng (1.034 kg hạt khô/ha).

Bón phân KNO_3 ở liều lượng 460 kg K_2O/ha cho năng suất hạt cao nhất, năng suất năm 2012 đạt 1.386 kg hạt khô/ha, cao hơn đối chứng (1.232 kg hạt khô/ha). Năm 2013 năng suất đạt 1.283 kg hạt khô/ha, cao hơn đối chứng (1.041 kg hạt khô/ha).

Bón phân K_2SO_4 ở liều lượng 460 kg K_2O/ha cho năng suất hạt cao nhất, năng suất năm 2012 đạt 1.613 kg hạt khô/ha, cao hơn đối chứng(1.309 kg hạt khô/ha). Năm 2013 đạt 1.474 kg hạt khô/ha, cao hơn đối chứng (1.342 kg hạt khô/ha).

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 $p < 0,01$.

Như vậy: Các loại phân kali KCl, KNO_3 và K_2SO_4 khi bón ở liều lượng 460 kg K_2O/ha trên nền phân bón (297 kg N_2 và 209 kg P_2O_5)/ha,năm cho năng suất hạt cao nhất. Các ô sơ sở ứng dụng liều lượng phân bón kali cao hơn cho cả ba loại phân kali nói trên thì năng suất hạt có chiều hướng giảm ở năm 2012 và năm 2013 được thể hiện ở đồ thị mối tương quan giữa liều lượng phân bón kali với năng suất hạt ca cao qua hai năm thực nghiệm (Hình 3.14, Hình 3.15, Hình 3.16, Hình 3.17, Hình 3.18, Hình 3.19).

Xét riêng từng loại phân kali, cùng liều lượng bón thì bón phân K_2SO_4 cho năng suất cao nhất, tiếp theo là bón phân KNO_3, và bón KCl cho năng suất thấp nhất, sự khác biệt này rất có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,01$).

Đất vườn ca cao ở Trảng Bom, Đồng Nai có hàm lượng dinh dưỡng trong đất thấp, năm 2013 bọ xít muỗi phát triển mạnh, quả bị thối, rụng do *Phytophthora* khá nhiều nên năng suất năm 2013 của vườn ca cao Trảng Bom thấp hơn năm 2012.

Xét các liều lượng bón phân kali khác nhau theo kết quả phân tích tại Bảng 3.18 năng suất các ô cơ sở đạt cao nhất ở liều lượng bón 460 kg K_2O/ha cho cả ba loại phân kali.

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 liều lượng kali thấp (K). Ca cao có nhu cầu K cao để duy trì tăng trưởng và tăng năng suất (Li và ctv, 2013); K tăng cường nhiều quá trình chuyển hóa như hình thành carbohydrate (Evans và Sorger, 1966; Marschner, 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 quả như làm tăng độ cứng, tăng hàm lượng tinh bột, tăng lượng đường trong trái (Suelter, 1970; Daryl và Brown, 1993).

Như vậy: loại, liều lượng phân bón kali có ảnh hưởng đến năng suất hạt ca cao trong điều kiện đất đai và khí hậu tại Lâm Đồng và Đồng Nai. Sử dụng phân bón K_2SO_4 cho cây ca cao ở giai đoạn kinh doanh cho năng suất hạt cao hơn so với bón phân loại KCl và KNO_3.

3.3.4. Ảnh hưởng của loại, liều lượng phân bón kali đến hàm lượng đường trong lớp cơm 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 3.19. 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 FRr

Đơn vị tính %

Loại phân kali (A)	Lượng phân kali (B) *(kg K_2O/ha)*					
	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_3	7,33 g	7,90 ef	8,20 e	9,30 d	10,40 c	10,10 c
K_2SO_4	6,10 h	6,37 h	7,60 fg	8,27 e	10,13 c	9,23 d

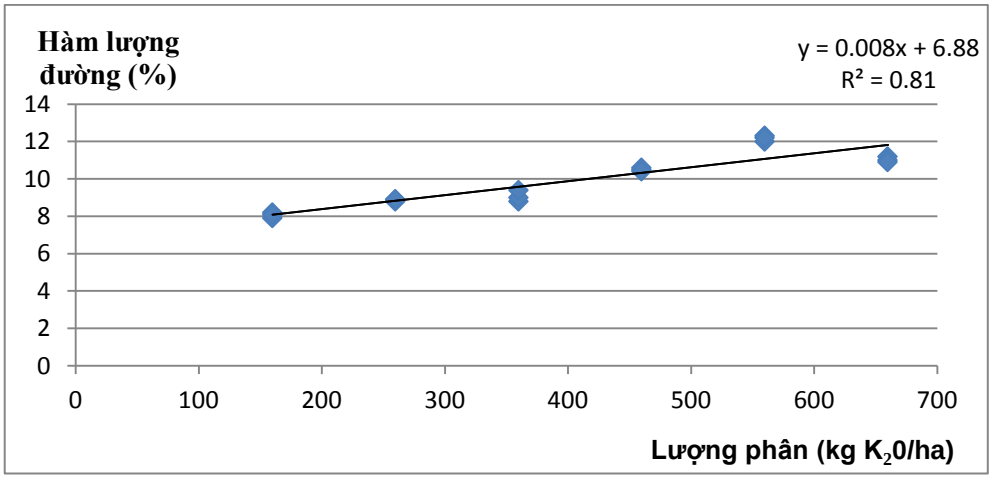
Các giá trị trung bình không có cùng ký tự theo sau cho biết sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ở mức p < 0,01; CV = 2,3%

+ Khi xem xét mối tương quan giữa loại, liều lượng phân bón kali đến hàm

lượng đường trong lớp cơm nhầy thì thấy tương quan có ý nghĩa ($p < 0,01$). Liều lượng phân K_2O/ha tăng dần thì hàm lượng đường cũng tăng dần, các ô cơ sở ứng dụng liều lượng bón 660 kg K_2O/ha/năm thì hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy giảm thể hiện ở Hình 3.20, Hình 3.21, Hình 3.22.

Kết quả phân tích tương quan hồi quy giữa loại, liều lượng phân bón kali với hàm lượng đường trong cơm nhầy hạt ca cao tươi như sau:

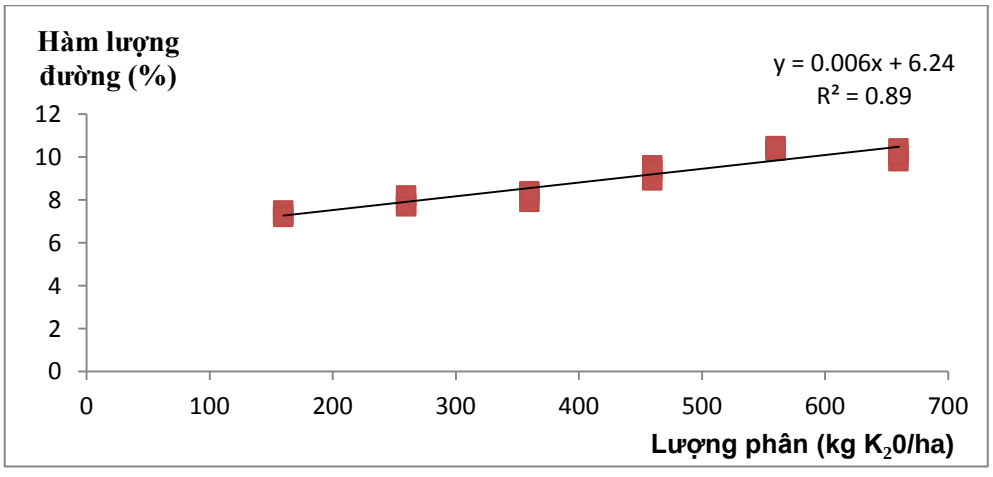
+ Bón phân KCl:



Hình 3.20. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KCl với hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy của hạt thu từ cây ca cao trồng trên đất FRr.

Phương trình hồi quy có nghĩa ở mức $p < 0,01$; giá trị x của phương trình có xác suất $p < 0,01$ nên rất có ý nghĩa. Phương trình được viết $y = 0,008x + 6,88$ với hệ số xác định $R^2 = 0,81$ (y là hàm lượng đường, x là liều lượng phân bón KCl).

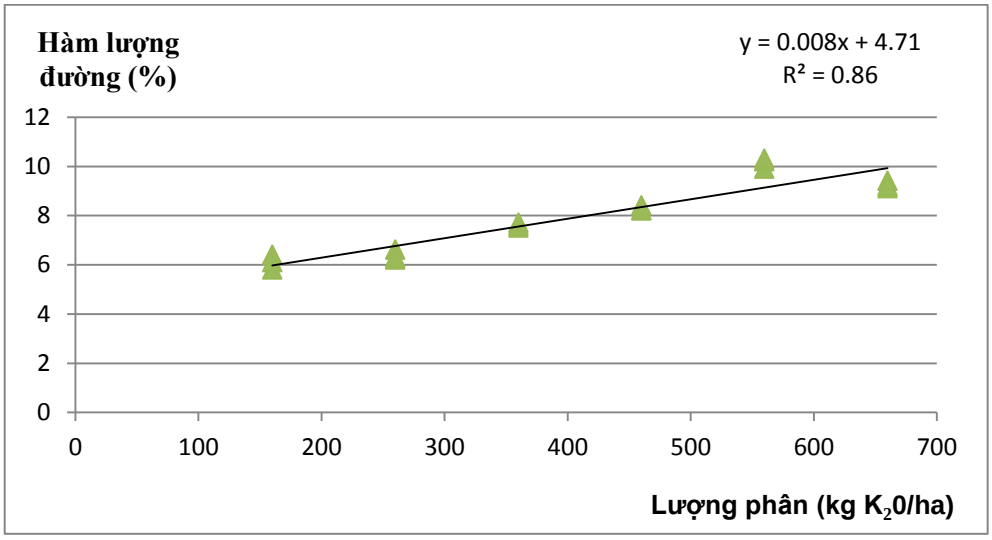
+ Bón phân KNO_3:



Hình 3.21. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KNO_3 với hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy của hạt thu từ cây ca cao trồng trên đất FRr.

Phương trình hồi quy có nghĩa ở mức p < 0,01, giá trị x của phương trình có xác suất p < 0,01 nên rất có ý nghĩa. Phương trình được viết: y = 0,006x+ 6,24 với hệ số xác định R^2 = 0,89 (y là hàm lượng đường, x là liều lương bón phân KNO_3).

+ Bón phân K_2SO_4:



Hình 3.22. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón K_2SO_4 với hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy của hạt thu từ cây ca cao trồng trên đất FRr.

Phương trình hồi quy có nghĩa ở mức p < 0,01, giá trị x của phương trình có xác xuất p < 0,01 nên rất có ý nghĩa. Phương trình được viết: y = 0,008x + 4,71 với hệ số xác định R^2 = 0,86 (y là hàm lượng đường, x là liều lượng bón phân K_2SO_4).

Kết quả Bảng 3.19 cho thấy:

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

Bón phân KCl cho hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt cao nhất, kế đến là bón KNO_3 và hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt thấp nhất khi bón K_2SO_4.

Khi bón phân kali loại K_2SO_4 ở các liều lượng 160; 260; 360; 460; 560; 660 kg K_2O/ha/năm, lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi thấp hơn so với bón phân KCl và thấp hơn so với bón phân KNO_3.

Như vậy loại phân kali có ảnh hưởng rõ rệt đến hàm lượng đường trong cơm nhầy hạt ca cao tươi, trong điều kiện đất đai và khí hậu tại Lâm Đồng. Các ô cơ sở ứng dụng bón phân kali loại K_2SO_4, liều lượng 160 kg K_2O/ha, lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi là thấp nhất (6,10%).

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

Đối với phân KCl khi bón ở liều lượng 160 kg K_2O/ha/năm cho hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi thấp nhất (8,03%). Khi bón ở liều lượng 360 kg K_2O/ha/năm hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi 9,07% thấp hơn đối chứng (12,17%).

Đối với phân KNO_3 khi bón ở liều lượng l60 kg K_2O/ha/năm cho hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi thấp nhất (7,33%). Khi bón ở liều lượng 360 kg K_2O/ha/năm hàm lượng đường trong lớp cơm nhấy hạt ca cao tươi là 8,20%, thấp hơn đối chứng (10,40%).

Đối với phân K_2SO_4 khi bón ở mức 160 kg K_2O/ha/năm cho hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi thấp nhất (6,10%). Khi bón ở liều lượng 360 kg K_2O/ha/năm hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi là 7,60%, thấp hơn đối chứng (10,13%).

Đường tổng số trong cơm nhầy hạt ca cao tươi là thành phần quan trọng liên quan đến quá trình lên men hạt trong sơ chế hạt sau thu hoạch. Trong thí nghiệm này bón phân kali càng cao thì hàm lượng đường trong cơm nhầy hạt tươi càng tăng. Lý do tăng lượng đường có thể là do sự tham gia của kali trong quá trình tổng hợp và chuyển giao đường được kết luận bởi Karam và ctv (2009).

Qua phân tích số liệu Bảng 3.19 cho thấy loại và liều lượng phân bón kali có ảnh hưởng đến hàm lượng đường trong cơm nhầy hạt ca cao tươi, mức độ ảnh hưởng rất có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,01$). Bón phân kali ở liều lượng 560 kg K_2O/ha cho hàm lượng đường cao nhất và thấp nhất là khi bón phân kali ở liều lượng 160 kg K_2O/ha cho cả ba loại phân kali. Ở các ô thí nghiệm có bón phân kali loại K_2SO_4 hàm lượng đường tổng số trong cơm nhầy hạt ca cao tươi thấp nhất, kế đến là KNO_3 và bón KCl thì hàm lượng đường trong cơm nhầy hạt ca cao là cao nhất. Khi áp dụng các loại phân bón kali khác nhau thì hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao cũng khác nhau, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,01$.

- 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 3.20. 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

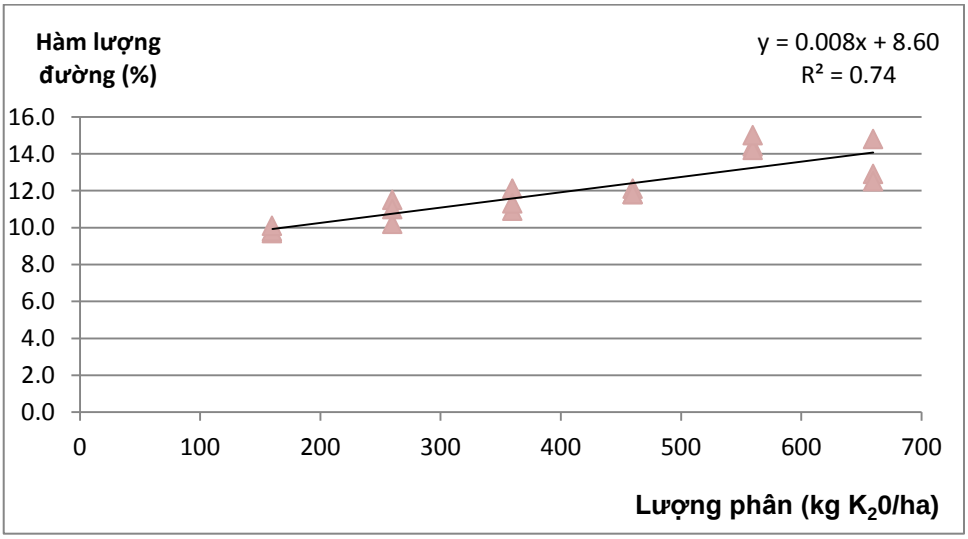
Đơn vị tính %

Loại phân kali (A)	Liều lượng phân kali (B) *(kg K_2O/ha)*					
	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_3	10,13gh	11,17 d-h	11,53 c-g	11,67 c-f	12,10 b-e	12,63 bcd
K_2SO_4	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%

Phân tích tương quan hồi quy giữa loại, liều lượng phân bón kali với hàm lượng đường trong cơm nhầy hạt ca cao tươi

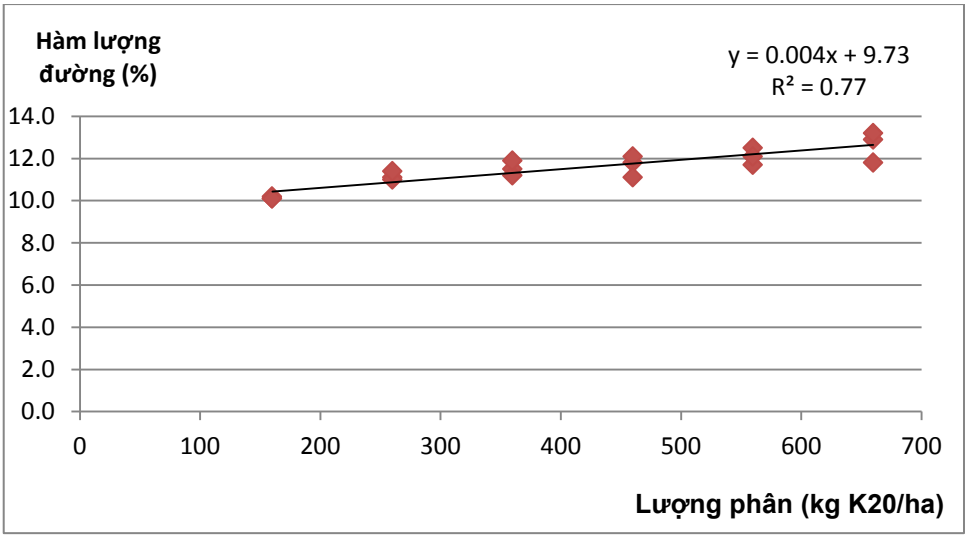
+ Bón phân KCl:



Hình 3.23. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KCl với hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy của hạt thu từ cây ca cao trồng trên đất Ach.

Phương trình hồi quy có nghĩa ở mức p < 0,01, giá trị x của phương trình có xác suất p < 0,01 nên rất có ý nghĩa. Phương trình được viết y = 0,008x + 8,60 với hệ số xác định R^2 = 0,74 (y là hàm lượng đường, x là liều lượng phân bón KCl).

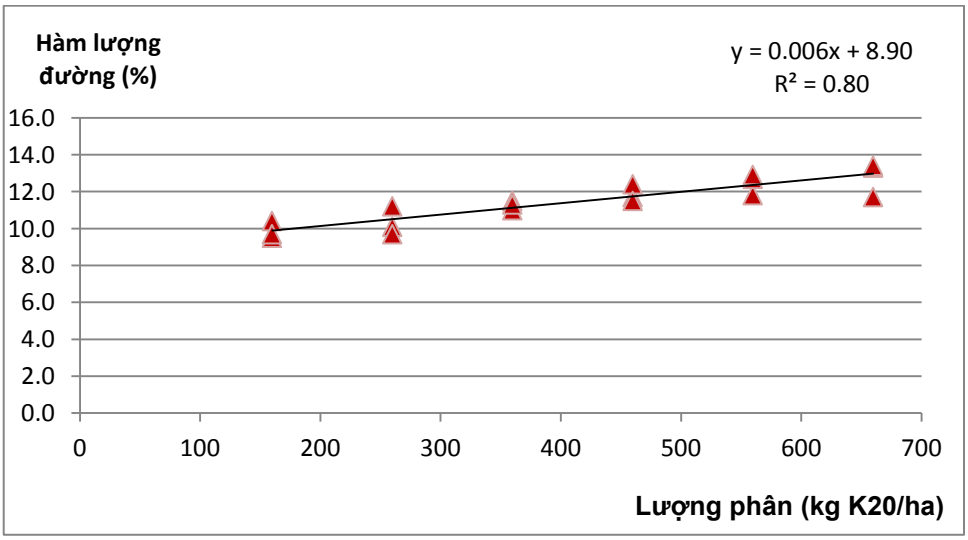
+ Bón phân KNO_3:



Hình 3.24. Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón KNO_3 với hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy của hạt thu từ cây ca cao trồng trên đất Ach.

Phương trình hồi quy có nghĩa ở mức p < 0,01, giá trị x của phương trình có xác suất p < 0,01 nên rất có ý nghĩa. Phương trình được viết: y = 0,004x + 9,73 với hệ số xác định R^2 = 0,77 (y là hàm lượng đường, x là liều lượng bón phân KNO_3).

+ Bón phân K_2SO_4:



Hình 3.25.Mối quan hệ giữa liều lượng phân bón K_2SO_4 với hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy của hạt thu từ cây ca cao trồng trên đất Ach.

Phương trình hồi quy có nghĩa ở mức p < 0,01, giá trị x của phương trình có xác

xuất p < 0,01 nên rất có ý nghĩa, Phương trình được viết: y = 0,006x + 8,90 với hệ số xác định R^2 = 0,80 (y là hàm lượng đường, x là liều lượng bón phân K_2SO_4).

Kết quả Bảng 3.20 cho thấy:

- Mối tương quan giữa loại, lượng phân bón kali với hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy là tương quan có ý nghĩa (p < 0,01). Liều lượng phân K_2O/ha/năm tăng dần thì hàm lượng đường cũng tăng dần, các ô cơ sở ứng dụng liều lượng phân bón 660 kg K_2O/ha/ năm thì hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy giảm thể hiện ở Hình 3.23, Hình 3.24, Hình 3.25.

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

Bón phân KCl cho hàm lượng đường trong cơm nhầy hạt cao nhất, kế đến là bón KNO_3 và hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy của hạt thấp nhất khi bón K_2SO_4.

Các công thức ứng dụng phân bón kali loại K_2SO_4 ở các liều lượng bón 160; 260; 360; 460; 560; 660 kg K_2O/ha/năm, lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi thấp hơn so với bón phân KCl, thấp hơn so với bón phân KNO_3.

Kết quả phân tích ANOVA ở Bảng 3.20 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_2SO_4 ở liều lượng 160 kg K_2O/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_2O/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_3; 9,87% ở các công thức bón kali loại K_2SO_4).

Các công thức đối chứng, ứng dụng phân bón kali với liều lượng 560 kg K_2O/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_3; 12,47% ở các công thức bón kali loại K_2SO_4).

Các công thức ứng dụng liều lượng phân bón cao hơn đối chứng (660 kg

K_2O/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_3 và K_2SO_4, bón ở liều lượng 460 kg K_2O/ha,năm trên nền phân bón (297 kg N_2/ha/năm và 209 kg P_2O_5/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_2SO_4.

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^+ 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 axit có thể định lượng (TA), chất rắn hoà tan (SS), tổng chất rắn hòa 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. Do ảnh hưởng của việc sử dụng super lân có H_2SO_4 dư, phân kali vô cơ có gốc acid sẽ làm cho đất ngày càng chua, cần bón thêm vôi để giảm chua cho đất với liều lượng 300 kg vôi/ha để cải tạo độ chua của đất (Lê Duy Mì, 1979; Phạm Thế

Trịnh, 2012)

3.3.5. Hiệu quả kinh tế của nghiên cứu so với trước khi thực hiện thí nghiệm

Cây ca cao ở thời kỳ kinh doanh, chi phí đầu tư hàng năm để cho thu hoạch hạt ca cao thành phẩm bao gồm tám khoản chi phí: Khấu hao vườn cây, chi phí làm cỏ, chi phí tỉa chồi, chi phí tưới nước, chi phí thuốc sâu, chi phí bón phân, chi phí thu hoạch, chi phí sơ chế hạt (ủ hạt lên men, làm khô hạt).

Từ kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của loại, liều lượng phân bón kali đến năng suất hạt của cây ca cao và hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi, tiến hành đánh giá hiệu quả kinh tế của các công thức bón phân trong nghiên cứu này so với mức bón của nông hộ trước khi bố trí thí nghiệm. Để đánh giá hiệu quả kinh tế của vườn cây trước và sau khi thí nghiệm bón phân, xem các khoản chi phí có giá trị đầu tư là như nhau. Riêng chênh lệch chi phí phân bón và năng suất thu được từ các công thức khác nhau là cơ sở để xác định hiệu quả kinh tế, từ đó xác định công thức nào có hiệu quả kinh tế cao nhất.

Bảng 3.21. Hiệu quả kinh tế của vườn ca cao trồng trên đất FRr ở huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng.

Công thức	Liều lượng phân	Doanh thu (1.000đ)		Chi phí (1.000đ)	Lợi nhuận (1.000đ)		Tỷ suất lợi nhuận	
		Năm 2012	Năm 2013		Năm 2012	Năm 2013	Năm 2012	Năm 2013
Loại phân KCl								
CT1	160	-2.035	-8.690	4.440	-6.475	-13.130	-1,5	-3
CT2	260	8.470	-4.235	6.820	1.650	-11.055	0,24	-1,6
CT3	360	22.385	23.815	9.060	13.325	14.755	1,47	1,63
CT4	460	19.580	12.100	11.440	8.140	660	0,71	0,06
CT5	560	15.950	20.350	13.820	2.130	6.530	0,15	0,47
CT6	660	7.480	12.100	16.060	-8.580	-3.960	-0,5	-0,3
Loại phân KNO_3								
CT1	160	4.015	8.250	13.610	-9.595	-5.360	-0,7	-0,4
CT2	260	10.890	19.250	21.660	-10.770	-2.410	-0,5	-0,1
CT3	360	24.200	56.485	29.360	-5.160	27.125	-0,2	0,92
CT4	460	20.955	44.550	37.410	-16.455	7.140	-0,4	0,19

CT5	560	13.915	36.080	45.460	-31.545	-9.380	-0,7	-0,2
CT6	660	8.855	28.435	53.160	-44.305	-24.725	-0,8	-0,5
Loại phân K_2SO_4								
CT1	160	10.065	19.360	6.740	3.325	12.620	0,49	1,87
CT2	260	15.125	26.620	10.540	4.585	16.080	0,44	1,53
CT3	360	32.890	61.710	14.340	18.550	47.370	1,29	3,3
CT4	460	27.005	54.450	18.140	8.865	36.310	0,49	2
CT5	560	20.955	30.580	21.940	-985	8.640	-0	0,39
CT6	660	15.345	29.150	25.740	-10.395	3.410	-0,4	0,13

Kết quả Bảng 3.21 cho thấy

Bón phân K_2SO_4 trong năm 2012, 2013 đều có hiệu quả kinh tế cao hơn so với sử dụng phân KNO_3 và KCl ở các mức bón. Các công thức bón phân kali loại K_2SO_4, lượng bón 360 kg K_2O/ha,năm, lợi nhuận năm 2012 tăng thêm là 18.550 ngàn đồng/ tấn, tỷ suất lợi nhuận là 1,29. Lợi nhuận năm 2013 tăng thêm là 47.370 ngàn đồng/ tấn, tỷ suất lợi nhuận là 3,3. Bón phân K_2SO_4, với mức bón phân từ 360 kg K_2O/ha/ năm sẽ cho hiệu quả kinh tế nhất.

Bảng 3.22. Hiệu quả kinh tế vườn ca cao trồng trên đất Ach ở huyện Trảng Bom, tỉnh Lâm Đồng

Công thức	Liều lượng phân	Doanh thu (1.000đ)		Chi phí (1.000đ)	Lợi nhuận (1.000đ)		Tỷ suất lợi nhuận	
		Năm 2012	Năm 2013		Năm 2012	Năm 2013	Năm 2012	Năm 2013
Loại phân KCl								
CT1	160	-5.445	-11.880	3.120	-8.565	-15.000	-2,75	-4,81
CT2	260	-1.210	-6.435	5.500	-6.710	-11.935	-1,22	-2,17
CT3	360	30.415	-2.805	7.740	22.675	-10.545	2,93	-1,36
CT4	460	26.235	24.200	10.120	16.115	14.080	1,59	1,39
CT5	560	24.805	14.520	12.500	12.305	2.020	0,98	0,16
CT6	660	21.395	4.840	14.740	6.655	-9.900	0,45	-0,67
Loại phân KNO_3								
CT1	160	-8.250	-7.865	12.290	-20.540	-20.155	-1,67	-1,64
CT2	260	4.620	-7.645	20.340	-15.720	-27.985	-0,77	-1,38

CT3	360	25.630	-605	28.040	-2.410	-28.645	-0,09	-1,02
CT4	460	33.880	28.215	36.090	-2.210	-7.875	-0,06	-0,22
CT5	560	25.410	14.905	44.140	-18.730	-29.235	-0,42	-0,66
CT6	660	18.535	6.655	51.840	-33.305	-45.185	-0,64	-0,87
Loại phân K_2SO_4								
CT1	160	3.630	-1.430	5.420	-1.790	-6.850	-0,33	-1,26
CT2	260	10.670	0	9.220	1.450	-9.220	0,16	-1,00
CT3	360	26.840	6.270	13.020	13.820	-6.750	1,06	-0,52
CT4	460	46.365	38.720	16.820	29.545	21.900	1,76	1,30
CT5	560	29.645	31.460	20.620	9.025	10.840	0,44	0,53
CT6	660	21.395	9.075	24.420	-3.025	-15.345	-0,12	-0,63

Kết quả Bảng 3.22 cho thấy các công thức bón phân kali loại K_2SO_4 cho cây ca cao trong năm 2012, 2013 đều có hiệu quả kinh tế cao hơn các công thức ứng dụng phân KNO_3 và KCl ở các mức bón.

Công thức bón phân kali dạng K_2SO_4, liều lượng bón 460 kg K_2O/ha, lợi nhuận năm 2012 tăng thêm là 29.545 ngàn đồng/ tấn, tỷ suất lợi nhuận là 1,76. Lợi nhuận năm 2013 tăng thêm là 29.100 ngàn đồng/ tấn, tỷ suất lợi nhuận là 1,30. Đây là công thức cho hiệu quả kinh tế cao nhất trong thí nghiệm.

3.3.6. Hiệu suất thu hồi hạt ca cao khô

Trái ca cao sau khi hái sẽ được lưu trữ trong cũi bằng gỗ từ 5 đến 7 ngày rồi mới tiến hành đập trái lấy hạt. Tùy thuộc vào vùng đất, điều kiện khí hậu thời tiết tại thời điểm thu hoạch mà trọng lượng trung bình trái tươi**,** trọng lượng trung bình hạt tươi/trái, trọng lượng trung bình hạt khô/trái, số lượng hạt/100g có thể có sự chênh lệch.

Tại vườn thí nghiệm ở Di Linh, Lâm Đồng và Trảng Bom, Đồng Nai, thời điểm thực nghiệm thu được các chỉ tiêu tổng hợp và từ các bảng 1,2,3,4 (phụ lục ..) hệ số thu hồi hạt ca cao khô tính chung cho vườn cây được xác định như sau:

Bảng 3.23. Tổng hợp các chỉ tiêu về năng suất thu hoạch trái ca cao năm 2012, 2013

Đất vườn	**Năm**	**Số trái/ha**	**Tổng trọng lượng trái tươi*(kg/ha)***	**Tổng trọng lượng hạt ướt *(kg/ha)***	**Tổng trọng lượng hạt khô *(kg/ha)***	**Tỷ lệ hạt khô/ hạt tươi (%)**
1	2	3	4	5	6	7=6/5
FRr	2012	1.942.046	689.845	149.675	62.579	41,81
	2013	2.215.611	781.798	169.688	73.150	43,11
	Cộng	4.157.657	1.471.643	319.363	135.729	42,50
Ach	2012	1.941.002	611.586	142.083	59.554	41,92
	2013	1.358.857	492.917	114.775	49.225	42,89
	Cộng	3.299.859	1.104.503	256.858	108.779	42,35

Bảng 3.24. Hệ số thu hồi hạt ca cao khô

Chỉ tiêu phân tích	Trên đất FRr	Trên đất Ach
Trọng lượng trái tươi (kg/ha)	1.471.643	1.104.500
Trọng lượng vỏ trái đã tách hạt (kg/ha)	1.152.281	847.642
Trọng lượng hạt tươi (kg/ha)	319.362	256.858
Tỷ lệ thu hồi hạt tươi/trái tươi (%)	21,73	23,25
Trọng lượng hạt khô (kg/ha)	135.729	108.779
Tỷ lệ thu hồi hạt khô /hạt tươi (%)	42,50	42,35
Hệ số thu hồi hạt ca cao khô	9,22	9,85

Kết quả bảng 3.23, 3.24 cho thấy:

-Tỷ lệ ngót hạt (Tỷ lệ giữa trọng lượng hạt khô/trọng lượng hạt tươi)

Vườn ca cao trồng trên đất FRr năm 2012 có tỉ lệ ngót hạt là 41,81%, năm 2013 có tỉ lệ ngót hạt là 43,11%. Tính bình quân cho 02 năm tỉ lệ ngót hạt là 42,50%**.**

Vườn ca cao trồng trên đất Ach năm 2012 có tỉ lệ ngót hạt là 41,92%, năm 2013 có tỉ lệ ngót hạt là 42,89%. Tính bình quân cho 02 năm tỉ lệ ngót hạt là 42,35%.

- Hệ số thu hồi hạt ca cao (Tỷ lệ giữa trọng lượng hạt khô/trọng lượng trái tươi)

Vườn ca cao trồng trên đất FRr có hệ số thu hồi hạt là 9,22 có nghĩa là để có 01 kg hạt ca cao khô thì cần 9,22 kg trái ca cao tươi.

Vườn ca cao trồng trên đất Ach có hệ số thu hồi hạt là 9,85 có nghĩa là để có 01 kg hạt ca cao khô thì cần 9,85 kg trái ca cao tươi.

3.3.7. Đánh giá chất lượng hạt ca cao khô thu từ vườn thí nghiệm theo TCVN 7519 : 2005

Bảng 3.25. So sánh chất lượng hạt ca cao khô thu từ vườn thí nghiệm với TCVN 7519:2005 và hạt ca cao chất lượng của Ghana

Loại	Ca cao trồng trên đất FRr	Ca cao trồng trên đất Ach	1A	1B	1C	Ca cao Ghana
Số hạt/100g	98,61	99,01	<100	<110	<120	90 - 95
Độ ẩm (%)	7,0	7,0	7,5	7,5	7,5	7,5
Hạt xám (%)	0,15	0,91	Tối đa 3,0	Tối đa 3,0	Tối đa 3,0	-
Hạt mốc (%)	0	0	Tối đa 3,0	Tối đa 3,0	Tối đa 3,0	-
Hạt bị hư do côn trùng, hạt nảy mầm	1,4	1,8	Tối đa 2,5	Tối đa 2,5	Tối đa 2,5	-
Tạp chất (rác thải)	0	0	Tối đa 2,0	Tối đa 2,0	Tối đa 2,0	-
Vỏ hạt (%)	14,35	13,91	-	-	-	11-13
Tỉ lệ hạt nâu (%)	73,7	82,5	-	-	-	75 - 80
pH	5,09	4,97	-	-	-	5,35

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

Trái ca cao thu từ cây *Theobroma cacao* L. được tách vỏ lấy hạt, trải qua quá trình lên men và sau đó hạt được làm khô trở thành hạt nguyên liệu. Ca cao là nguyên liệu chính của các nhà máy sản xuất chocolate (Ardhana và Fleet, 2003).

Lớp cơm nhầy hạt ca cao tươi rất giàu đường lên men như glucose, fructose và sucrose và có độ pH thấp 3,0 - 3,5 chủ yếu là do sự hiện diện của acid citric (Ardhana và Fleet, 2003). Lên men ca cao là quá trình vi sinh vật có trong tự nhiên thâm nhập

vào khối ủ, tạo ra những điều kiện giết chết phôi nhũ, gây ra một loạt các phản ứng sinh hóa nội sinh và ngoại sinh hình thành các tiền chất hóa học tạo ra hương vị và màu sắc đặc trưng cho chocolate (Beckett, 2000). Các nghiên cứu trên ca cao thực hiện trong thế kỷ trước đã mô tả về sự tham gia của vi sinh vật; các biến đổi sinh hóa trong quá trình lên men hạt ca cao và cố gắng liên kết kiến thức này với chất lượng chocolate (Schwan và Wheals, 2004).

Mặc dù có nhiều tiến bộ đáng kể trong việc ứng dụng các tiến bộ khoa học kỹ thuật vào quá trình lên men và sản xuất chocolate nhưng vẫn còn nhiều vấn đề liên quan cần phải được nghiên cứu và quá trình lên men ca cao trên thế giới vẫn chủ yếu là lên men theo kiểu truyền thống. Cây ca cao *(Theobroma cacao* L.*)* được du nhập vào Việt Nam rất sớm, theo chân các nhà truyền giáo phương Tây. Từ năm 2000, nhu cầu các sản phẩm từ ca cao tăng, tình hình tiêu thụ thuận lợi, cây ca cao bắt đầu được chú trọng phát triển. Với sự tham gia của các tổ chức quốc tế, các doanh nghiệp tiêu thụ và sự vào cuộc của chính quyền các tỉnh đã thúc đẩy tăng nhanh diện tích ca cao từ 1.183,4 ha (năm 2004) lên 8.972 ha (năm 2007), diện tích đạt cao nhất là 25.700 ha (năm 2012). Cùng với việc mở rộng diện tích, hầu hết các vùng trồng ca cao đã hình thành hệ thống sơ chế lên men, đến nay có 232 điểm sơ chế lên men hạt ca cao tại 8 tỉnh/thành phố, chủ yếu tập trung tại nông hộ, do các điểm thu mua nhỏ lẻ dẫn đến chất lượng hạt ca cao không đồng đều. Để đạt được chất lượng hạt tốt và đồng đều, một số doanh nghiệp có quy mô sơ chế và lên men lớn như Puratos Grand Place, đã thu mua quả hoặc hạt ướt để sơ chế, lên men tập trung tại công ty. Cây ca cao được phát triển tại 15 tỉnh/thành phố thuộc khu vực phía Nam, khẳng định vị thế trong mô hình trồng xen với dừa, cây ăn quả (tại các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long), với cây điều tại các tỉnh Đông Nam bộ và Tây Nguyên và trồng thuần trên diện tích chuyển đổi từ cà phê kém hiệu quả tại tỉnh Đắk Lắk, Đắk Nông, Đồng Nai, Lâm Đồng… năng suất ca cao từng bước được cải thiện, hiện nay đạt bình quân 8 tạ hạt khô/ha. Do diện tích, tuổi cây, trình độ canh tác ca cao ngày càng tăng, sản lượng ca cao của Việt Nam cũng tăng theo. Tổng sản lượng ca cao Việt Nam từ 30 tấn hạt năm 2005 lên 6.595 tấn năm 2015. Mặc dù Việt Nam là một trong những nước xuất khẩu ca cao nhưng chất lượng hạt ca cao của Việt Nam không tốt và ổn định (Cục Trồng trọt, 2010).

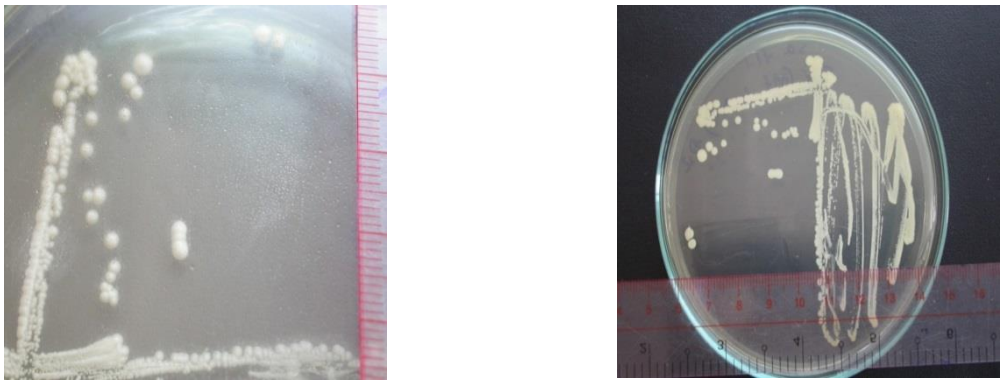
Để hạt ca cao nguyên liệu sản xuất chocolate Việt Nam đạt chất lượng tốt ổn

định, có giá bán phù hợp trên thị trường quốc tế nhất thiết phải kiểm soát hiệu quả quá trình lên men và làm khô hạt. Thí nghiệm này nghiên cứu một số biện pháp kỹ thuật lên men hạt ca cao Việt Nam với mục tiêu sản xuất ra hạt ca cao nguyên liệu chất lượng.

3.4.1. Phân lập và làm thuần nấm men từ khối ủ hạt ca cao tự nhiên trên môi trường Sabouraud

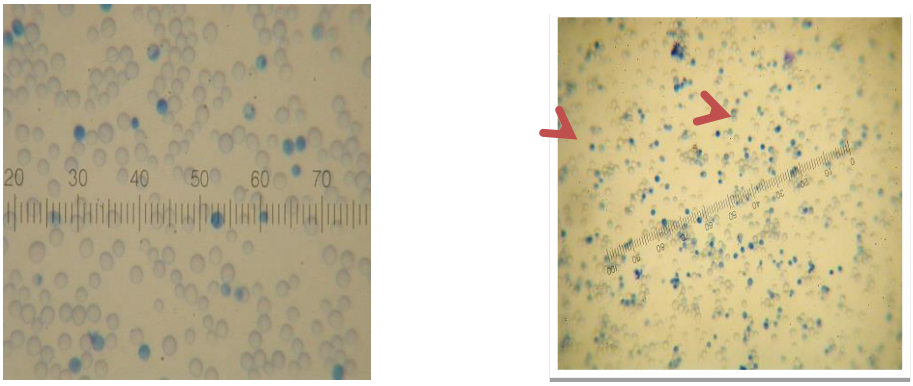
Kết quả thu được như sau:

- Dòng nấm men ký hiệu M_1



Hình 3.26.Khuẩn lạc dòng M1 trên môi trường Sabouraud sau 72 h nuôi cấy ở 32^{o}C

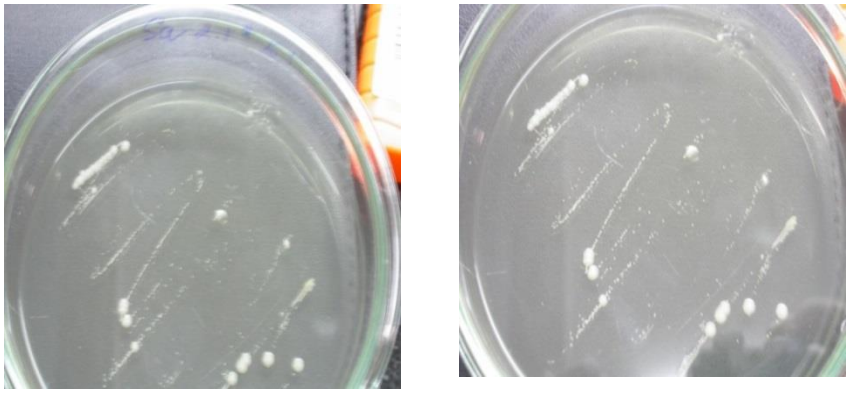
Khuẩn lạc màu trắng sữa (đục), có tâm, mọc rời rạc, đôi lúc dính liền nhau. Khuẩn lạc mềm, đùn lại tạo thành đỉnh ở giữa, lồi. Hình tròn, mép đều, cấu trúc nhầy đồng nhất, tạo nên chất giống gel.



Hình 3.27. Tế bào nấm men dòng M1 dưới kính hiển vi sau 72 h nuôi cấy ở 32^{o}C

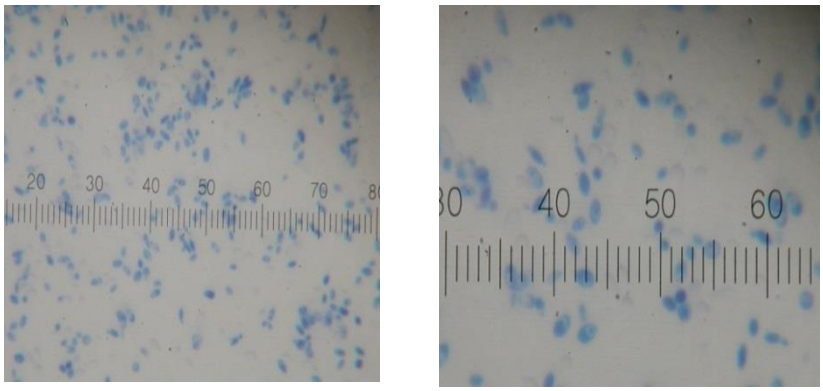
Tế bào hình cầu hơi ovan, kích thước 4 - 7µm, sinh sản bằng cách nảy chồi.

- Dòng nấm men ký hiệu M_2



Hình 3.28. Khuẩn lạc dòng M_2 trên môi trường Sabouraud sau 72 h nuôi cấy ở 32^oC

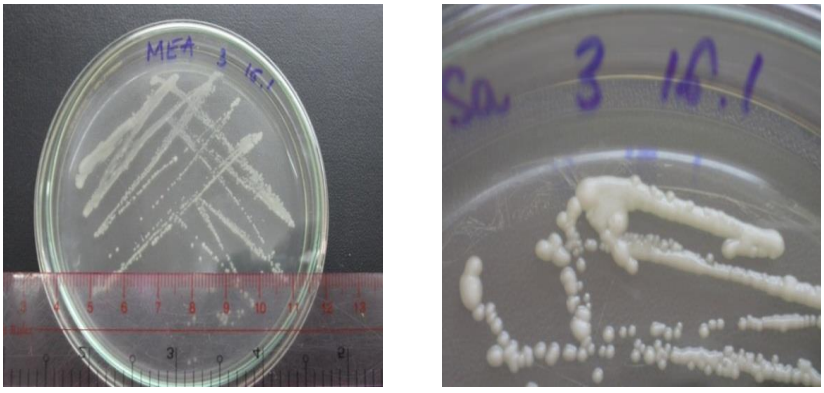
Khuẩn lạc trắng đục, nhầy nhớt, viền phẳng, kích thước khuẩn lạc < 2mm.



Hình 3.29. Tế bào nấm men dòng M2 trên môi trường Sabouraud sau 72 h nuôi cấy ở 32^oC.

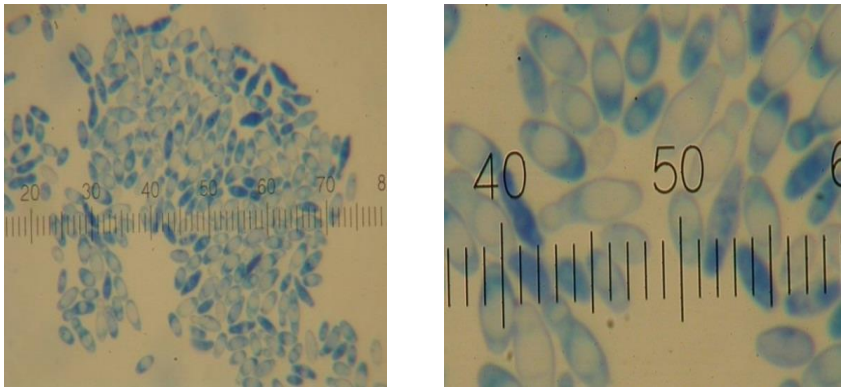
Tế bào nấm men hình elip, sinh sản bằng hình thức nảy chồi đơn cực, kích thước 5 x 7,5 µm.

- Dòng nấm men ký hiệu M_3



Hình 3.30. Khuẩn lạc dòng M3 trên môi trường Sabouraud sau 72 h nuôi cấy ở 32^oC

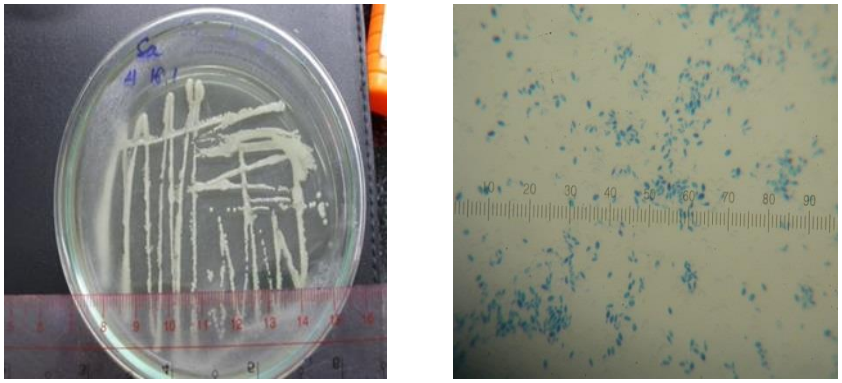
Khuẩn lạc hình tròn, trắng đục, nhầy nhớt, lồi nhưng không tạo đỉnh như M1, viền phẳng, kích thước trung bình khuẩn lạc 1-2 mm.



Hình 3.31. Tế bào dòng M3 trên môi trường Sabouraud sau 72 h nuôi cấy ở 32^{o}C

Tế bào nấm men hình elip, thuôn dài và nhỏ lại ở hai đầu, chiều dài tế bào trong khoảng 10 -17.5 µm, chiều ngang 6 - 8 µm, sinh sản bằng hình thức nảy chồi (có thể là đa cực).

- Dòng nấm men ký hiệu M_4

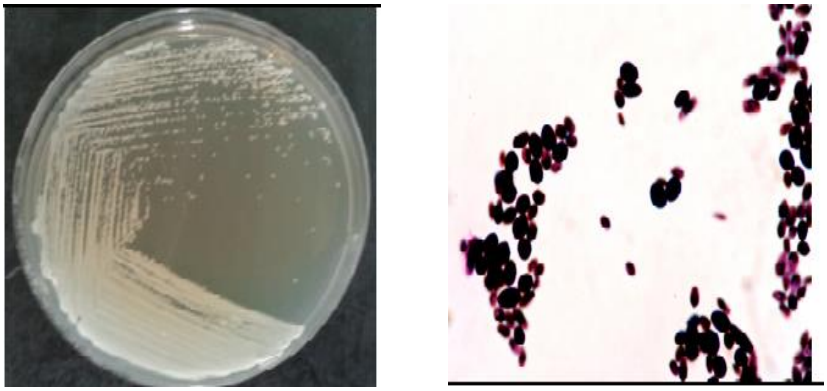


Hình 3.32. Khuẩn lạc và tế bào dòng M4 trên môi trường Sabouraud, sau 72 h nuôi cấy ở 32^{o}C

Khuẩn lạc hình tròn, trắng đục, nhầy nhớt, hơi lồi, viền phẳng, kích thước trung bình khuẩn lạc 1 – 2,5 mm.

Tế bào nấm men hình elip, kích thước lại ở hai đầu, chiều dài tế bào 5 – 7,5 µm, chiều ngang 2 – 5 µm, sinh sản bằng hình thức nảy chồi (đơn cực).

- Dòng nấm men ký hiệu M_5



Hình 3.33. Khuẩn lạc và tế bào dòng M5 trên môi trường Sabouraud, sau 72 h nuôi cấy ở 32^{o}C

Tế bào nấm men có hình ovan, hoặc hình tròn, khá lớn, kích thước trung bình của nấm men thường là (5 - 10) x (4 - 8) μm. Phần lớn các tế bào kết thành nhánh, hiếm khi đứng riêng lẽ. Hệ sợi giả phát triển tốt từ những sợi giả kéo dài, phân nhánh thành chuỗi, không tạo bào tử túi.

3.4.2. Định danh các chủng nấm men đã được phân lập

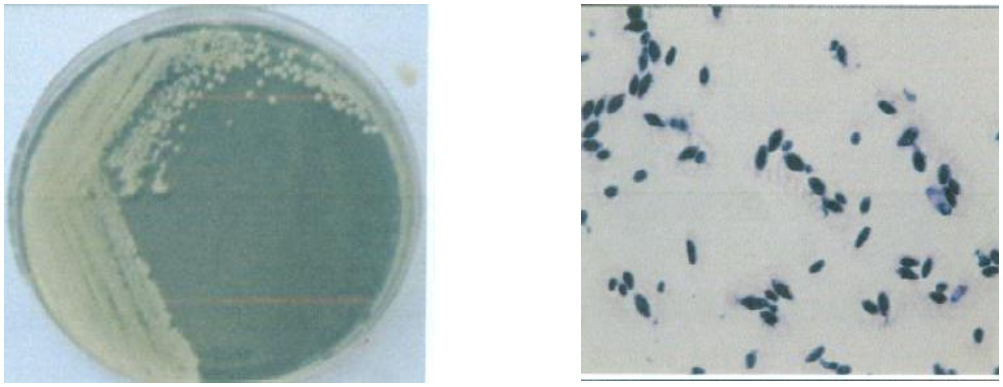
Mỗi loại nấm men phân lập đã được xác định đến mức độ loài bằng cách phân tích chuỗi của vùng D1/ D2 của rDNA 16S và 28S.

- Dòng nấm men ký hiệu M_1

Kết quả giải trình tự gen 16S

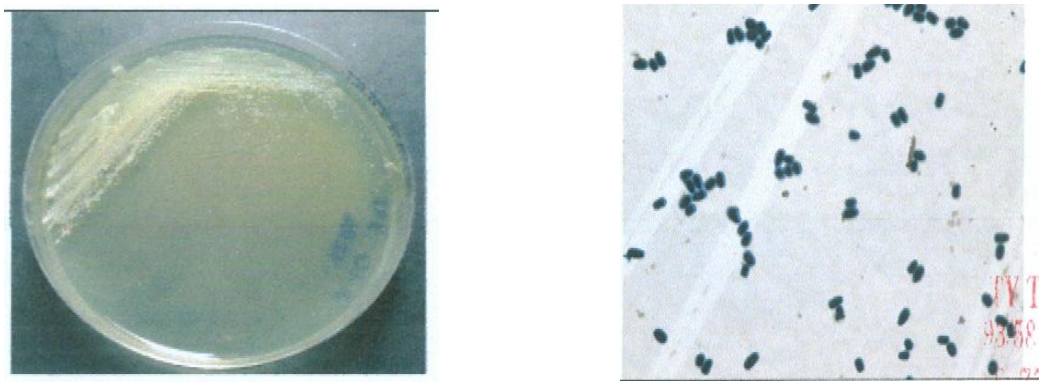
GTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTTGATCAGACATGGTGTTTCGTGCT
TCTTGCTCCTTGTGGGCGGGGAGACTCACACGGTTCACTGGGCCAACATCAGTTTT
GGCAGCAGGATAAAACTTTGGGAACGTAGCTTTCTTCGGGAAGTATTATAGCCCT
TGGCAATACTGCTAGCCGGGATTGAGGACTGCGCATTTATGCAAGGATGTTGGCT
TAATGGTTAAATGCCGCCCGTCTTGAAACACGGACCAAGGAGTC

Tra cứu trên BLASH RESEARCH, giải trình tự trên thuộc chủng nấm men *Saccharomycodes ludwigii*



Hình 3.34.Tế bào nấm men *Saccharomycodes ludwigii*

- Dòng nấm men ký hiệu M_2



Hình 3.35. Tế bào nấm men *Schizosaccharomyces pombe*

Kết quả giải trình tự gen 28S

AAAAAAATATATTTTTTCTTCGTTAAGGTACAAATATAAAAGAGATTAA
AACTTTAGTTATTTTTCTTTCCTAATTTCTTTTTCTATCAAACAAAGTGGTAAAA
CCTATTACGTTCAATAGAAAAAAAATGAAAAAAAGGTATAGAAAAATAATTC
CAATCTTCCTTTTGTTTTCACCAATCGATTTCAAACTAAATTTATTTTTAAAAAA
AAACAAATTTTCGTTCAACACCTCATCAAAAATATTTAAAAA

Tra cứu trên BLASH RESEARCH giải trình tự trên thuộc chủng nấm men *Schizosaccharomyces pombe*

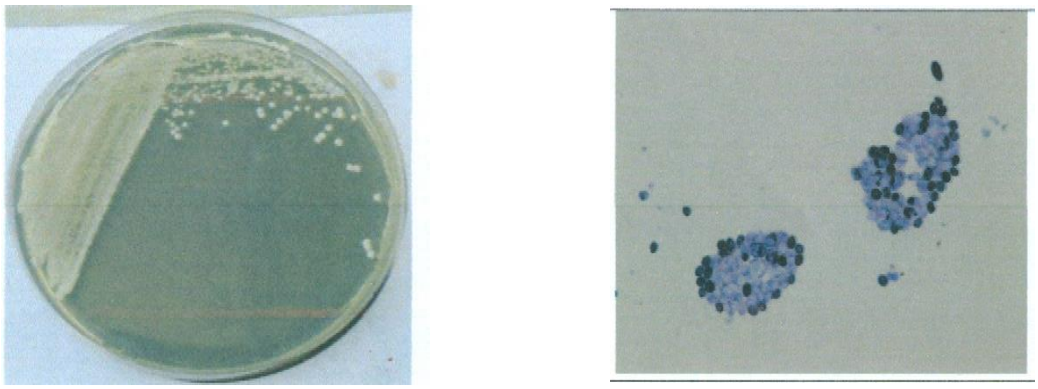
- Dòng nấm men ký hiệu M_3

Kết quả giải trình tự gen 16S

GAATGGCTTAGTGAGGCCTCAGGATCTGCTTAGAGAAGGGGGCAACTCC
ATCTCAGAGCGGAGAATTTGGACAAACTTGGTCATTTAGAGGAACTAAAAGTC
GTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAAGAAATTTAAT
AATTTTGAAAATGGATTTTTTTGTTTTGGCAAGAGCATGAGAGCTTTTACTGGGC
AAGAAGACAAGAGATGGAGAGTCCAGCCGGGCCTGCGCTTAAGTGCGCGGTCT

TGCTAGGCTTGTAAGTTTCTTTCTTGCTATTCCAAACGGTGAGAGATTTCTGTGC
TTTTGTTATAGGACAATTAAAACCGTTTCAATACAACACACTGTGGAGTTTTCAT
ATCTTTGCAACTTTTTCTTTGGGCATTCGAGCAATCGGGGCCCAGAGGTAACAA
ACACAAACAATTTTATTTATTCATTAAATTTTTGTCAAAAACAAGAATTTTCGTA
ACTGGAAATTTTAAAATATTAAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGC
ATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCCG
TGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCAGGGGGCAT
GCCTGTTTGAGCGTCATTTCCTTCTCAAACATTCTGTTTGGTAGTGAGTGATACT
CTTTGGAGTTAACTTGAAATTGCTGGCCTTTTCATTGGATGTTTTTTTTCCAAAG
AGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTATAATGCAAGTACGGTCGTTTTAGGTTTTA
CCAACTGCGGCTAATCTTTTTTATACTGAGCGTATTGGAACGTTATCGATAAGA
AGAGAGCGTCTAGGCGAACAATGTTCTTAAAGTTTGACCTCAAATCAGGTAGG
AGTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACCGG
GATTGCCTTAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGG
TACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCTT
GTCTATGTTCCTTGGAACA

Tra cứu trên BLASH RESEARCH giải trình tự trên thuộc chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae*



Hình 3.36. Tế bào nấm men *Saccharomyces cerevisiae*

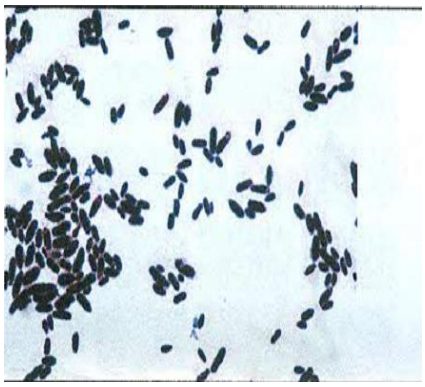
- Dòng nấm men ký hiệu M_4

Kết quả giải trình tự gen 28S

TGGCGCCGCGGGAGGGGCAACTTTCCCATGGGGCCGAGAATCTAGT
CAAACTTGGTCATTTAGAGGTCGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGT
GAACCTGCGGAAGGATCATTACTGTGATTTAGTACTACACTGCGTGAGCGG

AACGAAAACAAAAACACCTAAAATGTGGAATCTCTTGGTTCTCGCATCGAT
GAAGAGCGCAGCGAAATGCGATACCTAGTGTGAATTGCAGCCATCGTGAA
TCATCGAGTTCTTGAACGCACATTGCGCCCCTCGGCATTCCGGGGGGCATG
CCTGTTTGAGCGTCGTTTCCATCTTGCGCGTGCGCAGATTGGGGGAGCGGA
GCGGACGACTAGACTTTTTTTCAGGGACGCTTGGCGGCCGAGAGCGAGTGT
TGCGAGACAACAAAAAGCTCGACCTCAAATCAGGTAGGAATACCCGCTGA
ACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCTC
AGTAGCGGCGAGTGAAGCGGCAAGAGCTCAGATTTGAAATCGTGCTTTGC
GGCACGAGTTGTAGATTGCAGGTTGGAGTCTGTGTGGAAGGCGGTGTCCA
AGTCCCTTGGAACAGGGCGCCCAGGAGGGTGAGAGCCCCGTGGGATGCCG
GCGGAAGCAGTGAGGCCCTTCTGACGAGTCGAGTTGT

Tra cứu trên BLASH RESEARCH giải trình tự trên thuộc chủng nấm men *Pichia kudriavzevii*



Hình 3.37. Tế bào nấm men *Pichia kudriavzevii*

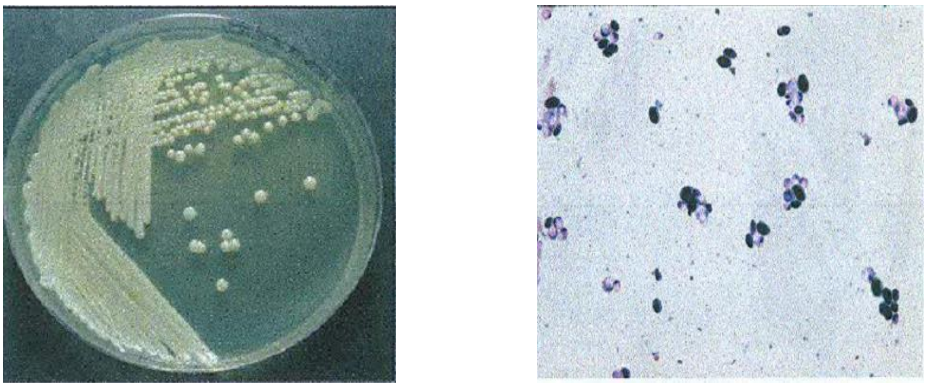
- Dòng nấm men ký hiệu M_5

Kết quả giải trình tự gen 28S

GGGGGCAACTCCATTCTGGAACCGAGAAGCTAGTCAAACTTGGTCATTTA
GAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCAT
TACTGATTTGCTTAATTGCACCACATGTGTTTTTTATTGAACAAATTTCTTTGGTG
GCGGGAGCAATCCTACCGCCAGAGGTTATAACTAAACCAAACTTTTTATTTACAG
TCAAACTTGATTTATTATTACAATAGTCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTT
CTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATATGAATTGCAGATA
TTCGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGG
CATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTCCCTCAAACCCCCGGGTTTGGTGTTGAGCAAT

ACGCTAGGTTTGTTTGAAAGAATTTAACGTGGAAACTTATTTTAAGCGACTTAGG
TTTATCCAAAACGCTTATTTTGCTAGTGGCCACCACAATTTATTTCATAACTTTGA
CCTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA
AAGAAACCAACAGGGATTGCCTTAGTAGCGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCA
AATTTGAAATCTGGCTCTTTCAGAGTCCGAGTTGTAATTTGAAGAAGGTATCTTT
GGGTCTGGCTCTTCTCTATGTTTCTTGGAACAGAACGTCACA

Tra cứu trên BLASH RESEARCH giải trình tự trên thuộc chủng nấm men *Candida tropicalis*



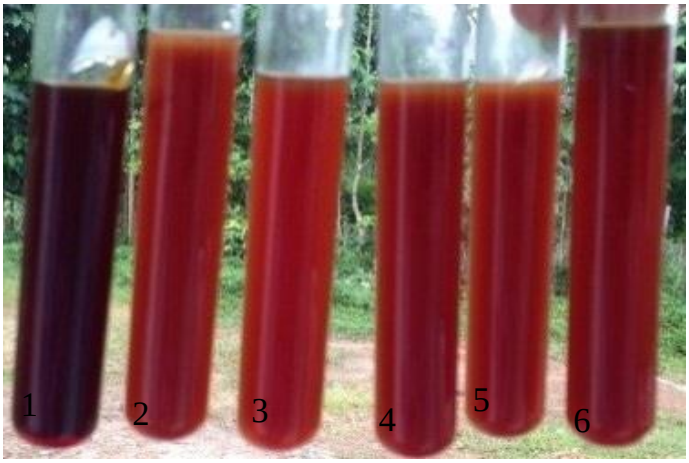
Hình 3.38. Tế bào nấm men *Candida tropicalis*

Các loài nấm men phân lập được trong nghiên cứu này cũng đã được phát hiện trong quá trình lên men ca cao ở các quốc gia khác như ở Ghana (Daniel và ctv, 2009) và ở Úc (Dircks, 2009).

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

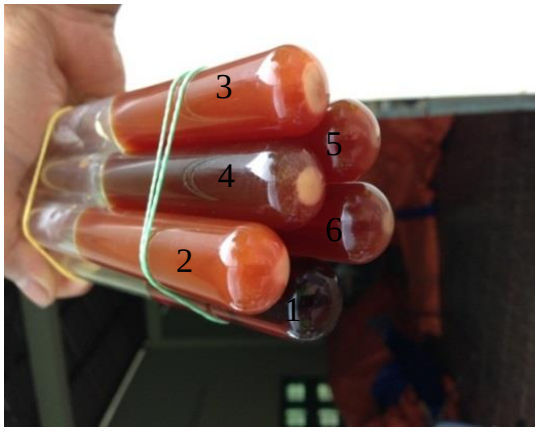
- Sự thay đổi màu sắc và mùi của dịch nấm men trong quá trình nhân sinh khối

Cho vào mỗi ống nghiệm 10 mL dịch nấm men từ các thùng ủ đang sục khí để nhân sinh khối so sánh với ống đối chứng chỉ chứa dịch nấm men nhưng không sục khí nhân sinh khối. Kết quả cho thấy các ống chứa dịch nấm men trong các thùng ủ nhân sinh khối có mùi men ngày càng tăng theo thời gian, màu nhạt và đục dần, ống đối chứng màu nâu sậm.

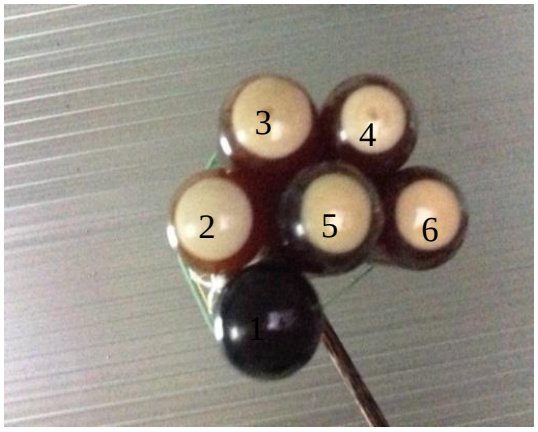


Hình 3.39. Sự khác biệt về màu sắc giữa mẫu dịch nấm men đang nhân sinh khối với mẫu đối chứng.

Sau 2 h các ống chứa dịch nấm men từ các thùng ủ có kết tủa trắng ở đáy ống nghiệm, ống đối chứng thì không có, chứng tỏ nấm men đã có tăng sinh khối trong dung dịch.



Sau 2 h sục khí dịch ủ (ống đối chứng không có nấm men)



Sau 4 giờ sục khí dịch ủ: Nấm men lắng xuống dưới đáy ống nghiệm, (ống đối chứng không có nấm men)

Hình 3.40. Nấm men tăng sinh khối theo thời gian

- Sự thay đổi nhiệt độ thùng ủ trong quá trình nhân sinh khối nấm men

Bảng 3.26. Biến thiên nhiệt độ dịch nấm men trong quá trình nhân sinh khối

Đơn vị tính: %

Chủng nấm men nhân sinh khối	Thời điểm đo nhiệt độ trong ngày (h)										Nhiệt độ TB
	16	18	20	22	24	2	4	6	8	10	
M_1	35	33	32	32	28	29	29	30	30	30	30
M_2	35	33	32	32	28	29	29	30	30	30	30
M_3	35	33	32	32	28	29	28	29	29	29	30
M_4	35	33	32	32	28	29	28	30	30	31	31
M_5	35	33	32	32	28	29	29	29	29	30	30

(M_1: *Saccharomycodes ludwigii*; M_2: *Schizosaccharomyces pombe*; M_3: *Saccharomyces cerevisiae*; M_4: *Pichia kudriavzevii*; M_5: *Candida tropicalis*)

Theo dõi sự biến thiên nhiệt độ dịch nấm men trong các thùng ủ trong thời gian sục khí nhân sinh khối cho thấy. Nhiệt độ dịch nấm men chứa trong thùng ủ ban đầu là 35^{o}C. Nhiệt độ môi trường ban ngày 31 - 32^{o}C, nhiệt độ môi trường ban đêm 25 - 2^{o}C. Nhiệt độ môi trường có ảnh hưởng đến nhiệt độ dịch nấm men chứa trong thùng ủ.

Trong thời gian 6 h kể từ khi sục khí: nhiệt độ giảm dần từ 35^{o}C xuống 31,7^{o}C; trong 9 h đồng hồ tiếp theo: nhiệt độ dịch nấm men trong thùng ủ giao động 28 - 29^{o}C; trong 4 h ở giai đoạn cuối: nhiệt độ dịch nấm men các thùng ủ tăng hơn một chút, giao động từ 29 - 30^{o}C, nhiệt độ dịch nấm men các thùng ủ ở giai đoạn giữa thấp hơn các thời điểm khác trong ngày có thể là do nhiệt độ môi trường thấp nên nhiệt độ dịch nấm men trong các thùng ủ cũng bị ảnh hưởng bởi không khí lấy từ ngoài môi trường vào trong thùng ủ.

Tốc độ sinh trưởng thể hiện qua màu dung dịch nhạt dần, mùi chua tăng dần. Nhiệt độ dịch nấm men trong các thùng ủ ổn định từ 28 - 31^{o}C. Sau khi dừng sục khí, kết thúc quá trình nhân sinh khối, tiến hành ly tâm dịch nấm men để thu sinh khối nấm men dạng paste (bột nhão).

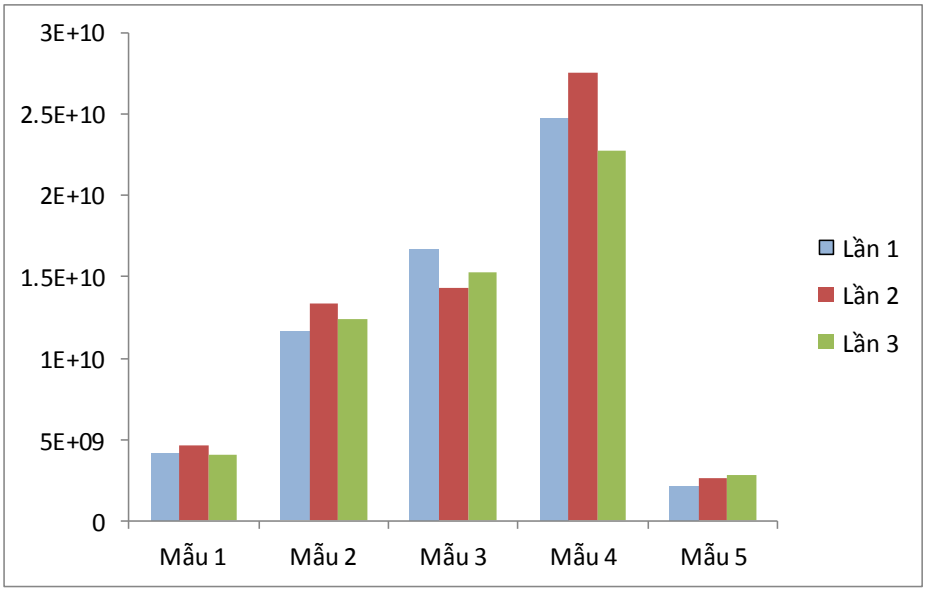
- Xác định mật độ các loài nấm men đã được định danh

Bảng 3.27. Kết quả đếm tế bào nấm men

Mẫu	Lần 1	Lần 2	Lần 3	CV (%)	Trung bình
M_1	4,1E+09	4,6E+09	4,1E+09	6,737	4,3E+09
M_2	1,2E+10	1,3E+10	1,2E+10	6,919	1,2E+10
M_3	1,7E+10	1,4E+10	1,5E+10	7,849	1,5E+10
M_4	2,5E+10	2,8E+10	2,3E+10	9,713	2,5E+10
M_5	2,2E+09	2,7E+09	2,9E+09	14,099	2,6E+09

Thể hiện số liệu: 4,1E + 09 = 4,1 x 10^9

(M_1: *Saccharomycodes ludwigii*; M_2: *Schizosaccharomyces pombe*; M_3: *Saccharomyces cerevisiae*; M_4: *Pichia kudriavzevii*; M_5: *Candida tropicalis*)



Hình 3.41. Số tế bào nấm men từ 05 mẫu qua 3 lần đếm lặp lại

Từ Bảng 3.30 và Hình 3.41 cho thấy có sự dao động lớn về tổng số tế bào nấm men trong 1g bột nhão(2,2 x 10^9 CFU.g^{-1} đến 2,8 x 10^{10} CFU.g^{-1}. 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 (< 5,0 x 10^9 CFU.g^{-1}). 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 M_4 với 2,5 x 10^{10} CFU.g^{-1}. 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.

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

Ca cao là một loại cây trồng có hạt cần được sơ chế trước khi trở thành hàng

hóa thương mại. Quá trình sơ chế hạt ca cao bao gồm hai bước chính là lên men và làm khô hạt (Wood và Lass, 1985), cả hai bước này rất cần thiết cho chất lượng của sản phẩm cuối cùng. Ca cao tươi được lên men trong 5 - 7 ngày và làm khô ngay sau khi lên men đến độ ẩm an toàn 7,5%. Nhiều nghiên cứu đã được tiến hành ở các quốc gia khác nhau để xác định các loài vi sinh tham gia trong quá trình này (Schwan và ctv, 1995). Vi sinh vật hoạt động trong quá trình lên men chuyển hóa các chất trong cơm nhầy thành các sản phẩm chuyển hóa (ví dụ như rượu, acid hữu cơ) khuếch tán vào trong nhân hạt làm chết phôi nhũ gây ra một loạt các phản ứng sinh hóa bên trong nhân hạt, tạo ra tiền chất hóa học của hương vị và màu sắc đặc trưng của chocolate (Lehrian và Patterson, 1983; Jones và Jones, 1984; Hansen và ctv, 1998; Hashim và ctv, 1998; Thompson và ctv, 2001).

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

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^{o}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^{o}C sau đó giảm dần xuống 45 - 46^{o}C ở thời điểm 96 h. Khi khối hạt đã trải qua 120 h lên men, nhiệt độ khối ủ xuống còn 44^{o}C thì kết thúc quá trình lên men chuyển sang giai đoạn làm khô hạt.

Bảng 3.28. Những biến đổi nhiệt độ khối ủ hạt ca cao trong quá trình lên men

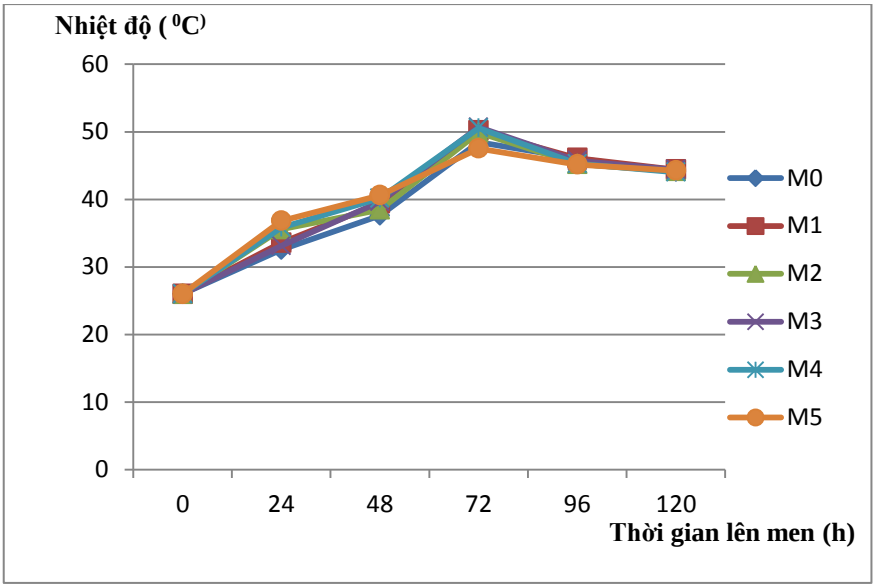
Đơn vị tính: ^{o}C

Loại nấm men	Thời gian lên men (h)						CV%	F	LSD
	0	24	48	72	96	120			
M_0	$26,0^{f}$	$32,53^{e}{}_{F}$	$37,60^{d}{}_{E}$	$48,47^{a}{}_{C}$	$46,03^{b}{}_{A}$	$44,10^{c}{}_{A}$	0,38	**	0,37
M_1	$26,0^{f}$	$33,57^{e}{}_{D}$	$39,40^{d}{}_{C}$	$50,17^{a}{}_{B}$	$46,10^{b}{}_{A}$	$44,40^{c}{}_{A}$	0,64	**	0,63
M_2	$26,0^{f}$	$35,57^{e}{}_{C}$	$38,47^{d}{}_{D}$	$49,87^{a}{}_{B}$	$45,23^{b}{}_{C}$	$44,17^{c}{}_{A}$	0,47	**	0,46
M_3	$26,0^{f}$	$33,13^{e}{}_{E}$	$39,67d_{BC}$	$50,67^{a}{}_{A}$	$45,73^{b}{}_{B}$	$44,40^{c}{}_{A}$	0,31	**	0,31
M_4	$26,0^{f}$	$35,83^{e}{}_{B}$	$40,17^{d}{}_{AB}$	$50,57^{a}{}_{A}$	$45,27^{b}{}_{C}$	$44,03^{c}{}_{A}$	0,35	**	0,35
M_5	$26,0^{f}$	$36,83^{e}{}_{A}$	$40,60^{d}{}_{A}$	$47,53^{a}{}_{D}$	$45,17^{b}{}_{C}$	$44,27^{c}{}_{A}$	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: *Saccharomycodes ludwigii*; M_2: *Schizosaccharomyces pombe*;

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

Trong đó: $^{a,b,....f}$ *là phân hạng theo hàng ngang (so sánh nhiệt độ khối ủ của cùng công thức theo thời gian lên men)* $_{A,B,...F}$ *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^{ns}*: các giá trị F khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05). LSD: khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa.*



Hình 3.42. Biến thiên nhiệt độ khối ủ hạt ca cao trong quá trình lên men

Thường trong giai đoạn đầu của quá trình lên men (trước khi đảo trộn khối hạt), lên men yếm khí chuyển hóa đường thành rượu không sinh nhiệt chiếm ưu thế (Vuyst và Weckx, 2016). Kết quả nghiên cứu cho thấy trong giai đoạn này nhiệt độ của các thùng ủ có bổ sung nấm men cao hơn so với đối chứng có nghĩa là các phản ứng sinh hóa diễn ra trong lớp cơm nhầy bao quanh hạt trong các thùng ủ có bổ sung nấm men diễn ra mạnh mẽ hơn, nhiệt lượng sinh ra nhiều hơn.

Sau khi tiến hành đảo trộn khối hạt tại thời điểm 48 h và tiếp tục quá trình lên men hạt, nhiệt độ các khối ủ đều tăng nhanh và đạt ngưỡng cao nhất ở thời điểm 72 h. 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). Nhiệt độ tối đa của khối ủ lên men hạt của nghiên cứu này tương đồng với nhiệt độ tối đa đạt được cho quá trình lên men hạt ca cao ở Indonesia (Ardhana và Fleet, 2003), ở Brazil (Schwan, 1998), ở Ghana (Camu và ctv, 2008a) và ở Úc (Dircks, 2009). Nhiệt độ tăng cao là do khi đảo trộn khối hạt, hàm lượng cơm nhầy giảm mạnh ở giai đoạn lên men yếm khí

tạo điều kiện cho oxy không khí xâm nhập vào khối hạt tạo thuận lợi cho lên men hiếu khí sinh nhiệt. Nhưng khi nhiệt độ khối hạt tăng cao sẽ ức chế hoạt động của nấm men. Vi khuẩn acid acetic sẽ chuyển hóa ethanol thành acid acetic và vi khuẩn acid lactic chuyển hóa đường thành acid lactic. Một khi lượng ethanol hình thành nhiều hơn đồng nghĩa với việc acid acetic cũng được hình thành nhiều hơn và acid lactic sẽ được hình thành ít hơn.

Các công thức có bổ sung nấm men M_1, M_3, M_4 nhiệt độ khối ủ lên hơn 50^oC. Trong đó các công thức đạt giá trị nhiệt độ khối ủ cao nhất là công thức có bổ sung nấm men M_3 ($50,67^0C$) và công thức có bổ sung nấm men M_4 ($50,57^oC$. 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^oC (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 hạt (Rohan, 1958).

3.5.2. Những biến đổi giá trị pH cơm nhầy của hạt ca cao 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 giai đoạn đầu của quá trình lên men, sự hiện diện của lớp cơm nhầy ngăn cản oxy không khí tiếp xúc khối hạt tạo nên điều kiện kị khí tương đối.

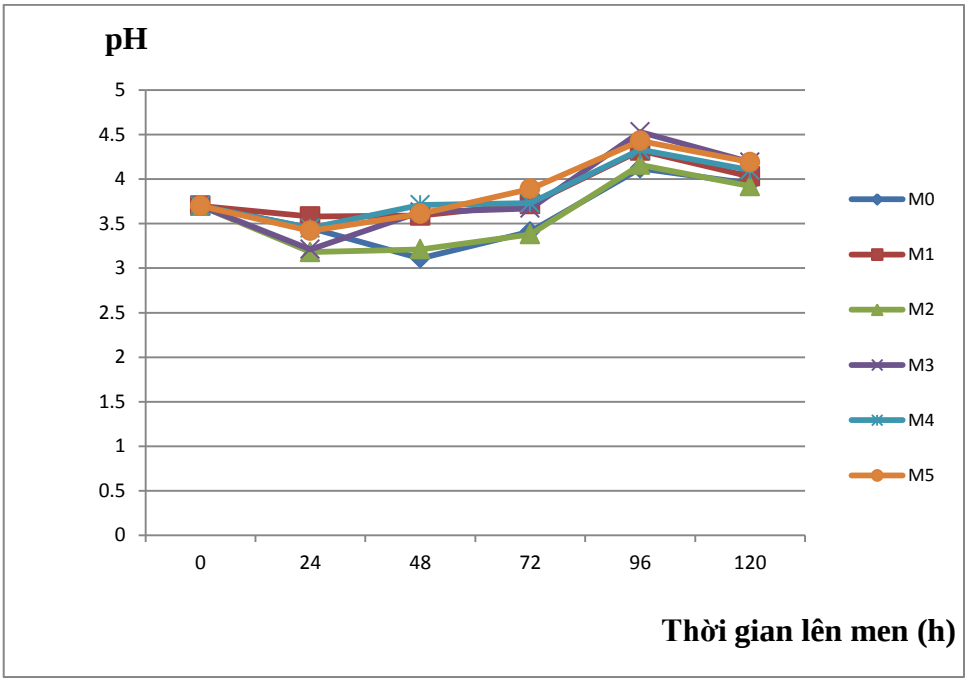
Hình 3.43. Chuẩn bị mẫu để đo pH cơm nhầy và pH nhân hạt ca cao

Bảng 3.29. Những biến đổi giá trị pH cơm nhầy hạt ca cao trong quá trình lên men

Loại nấm men	Thời gian lên men (h)						CV%	F	LSD
	0	24	48	72	96	120			
M_0	$3,7^{c}$	$3,45^{d}{}_{B}$	$3,11^{e}{}_{D}$	$3,41^{d}{}_{C}$	$4,12^{a}{}_{B}$	$3,95^{b}{}_{C}$	1,53	**	0,14
M_1	$3,7^{c}$	$3,58^{c}{}_{A}$	$3,59^{c}{}_{B}$	$3,72^{c}{}_{B}$	$4,32^{a}{}_{AB}$	$4,03^{b}{}_{BC}$	2,22	**	0,21
M_2	$3,7^{c}$	$3,18^{e}{}_{C}$	$3,21^{e}{}_{C}$	$3,38^{d}{}_{C}$	$4,16^{a}{}_{B}$	$3,92^{b}{}_{C}$	0,75	**	0,07
M_3	$3,7^{c}$	$3,21^{e}{}_{C}$	$3,63^{d}{}_{B}$	$3,67^{cd}{}_{B}$	$4,53^{a}{}_{A}$	$4,19^{b}{}_{A}$	0,58	**	0,06
M_4	$3,7^{c}$	$3,45^{d}{}_{B}$	$3,71^{c}{}_{A}$	$3,73^{c}{}_{B}$	$4,33^{a}{}_{AB}$	$4,10^{b}{}_{AB}$	2,26	**	0,22
M_5	$3,7^{d}$	$3,42^{f}{}_{B}$	$3,61^{e}{}_{B}$	$3,89^{c}{}_{A}$	$4,43^{a}{}_{A}$	$4,19^{b}{}_{A}$	0,55	**	0,05
CV%		0,80	0,54	0,67	2,87	1,22			
F		**	**	**	*	**			
LSD		0,07	0,05	0,06	0,22	0,12			

(M_1: *Saccharomycodes ludwigii*; M_2: *Schizosaccharomyces pombe*;
M_3: *Saccharomyces cerevisiae*; M_4: *Pichia kudriavzevii*; M_5: *Candida tropicalis*)

Trong đó: $^{a,b,....,f}$ *là phân hạng theo hàng ngang (so sánh pH cơm nhầy trong cùng công thức theo thời gian lên men)* $_{A,B,...F}$ *là phân hạng theo cột dọc (so sánh pH cơm nhầy 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 nghĩa thống kê. F**: giá trị F khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,01); F*: giá trị F khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05);* F^{ns}*: các giá trị F khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p >0,05). LSD: khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa.*



Hình 3.44. Biến thiên pH cơm nhầy hạt ca cao trong quá trình lên men

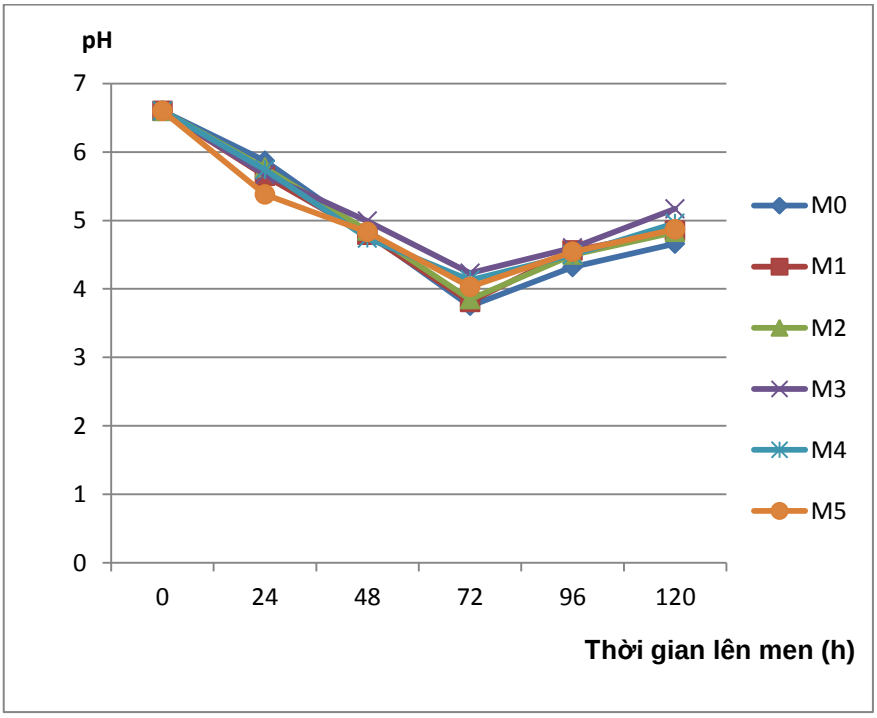
Giá trị pH cơm nhầy của cùng công thức theo thời gian lên men: Trong giai đoạn đầu của quá trình lên men, pH cơm nhầy giảm do các phản ứng sinh hóa diễn ra trong cơm nhầy sinh tổng hợp acid lactic và acid acetic. Sau đó các acid này thấm qua vỏ vào trong nhân hạt nên hàm lượng acid trong cơm nhầy giảm, pH cơm nhầy tăng dần. Ở thời điểm 96 h, pH cơm nhầy có giá trị cao nhất (4,12 - 4,53) sau đó lại giảm nhẹ vào cuối quá trình lên men. Kết quả nghiên cứu tương tự báo cáo của Dircks, 2009 khi lên men ca cao ở Úc: Trước khi lên men giá trị pH của lớp cơm nhầy bao quanh hạt nằm trong khoảng 3,5 - 3,9, sau khi lên men pH của cơm nhầy tăng. Những thay đổi giá trị pH trong quá trình lên men hạt ca 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 thấm ngược trở lại lớp cơm nhầy đã gần hết sinh khối.

Giá trị pH cơm nhầy giữa các công thức cùng thời điểm lên men: 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 Dicrcks, 2009 khi bổ sung nấm men *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).

3.5.3. Những thay đổi giá trị pH nhân hạt ca cao trong quá trình lên men

Trong quá trình lên men hạt ca cao, vi sinh vật chuyển hóa đường trong lớp cơm nhầy thành rượu và acid hữu cơ khuếch tán vào trong hạt ca cao khởi nguồn cho các phản ứng sinh hóa xảy ra bên trong hạt. Có mối tương quan nghịch giữa giá trị pH và độ chua hạt; giá trị pH thấp hơn khi hàm lượng acid trong hạt cao hơn.



Hình 3.45. Biến thiên pH nhân hạt ca cao trong quá trình lên men

Bảng 3.30. Những thay đổi giá trị pH nhân hạt ca cao trong quá trình lên men

Loại nấm men	Thời gian lên men (h)						CV(%)	F	LSD
	0	24	48	72	96	120			
M_0	$6,6^{a}$	$5,87^{b}{}_{A}$	$4,82^{c}{}_{BC}$	$3,75^{f}{}_{E}$	$4,32^{e}{}_{C}$	$4,66^{d}{}_{D}$	0,57	*	0,07
M_1	$6,6^{a}$	$5,65^{b}{}_{D}$	$4,79^{c}{}_{BC}$	$3,81^{e}{}_{DE}$	$4,56^{d}{}_{AB}$	$4,85^{c}{}_{C}$	0,62	**	0,08
M_2	$6,6^{a}$	$5,77^{b}{}_{B}$	$4,85^{c}{}_{B}$	$3,85^{e}{}_{D}$	$4,50^{d}{}_{B}$	$4,83^{c}{}_{C}$	0,71	**	0,09
M_3	$6,6^{a}$	$5,67^{b}{}_{CD}$	$4,99^{d}{}_{A}$	$4,23^{f}{}_{A}$	$4,60^{e}{}_{A}$	$5,17^{c}{}_{A}$	0,52	**	0,07
M_4	$6,6^{a}$	$5,74^{b}{}_{BC}$	$4,74^{d}{}_{C}$	$4,13^{f}{}_{B}$	$4,50^{e}{}_{B}$	$4,96^{c}{}_{B}$	0,53	**	0,07
M_5	$6,6^{a}$	$5,38^{b}{}_{E}$	$4,83^{c}{}_{B}$	$4,03^{e}{}_{C}$	$4,54^{d}{}_{AB}$	$4,87^{c}{}_{BC}$	0,66	**	0,08
CV %		0,56	0,72	0,74	0,69	0,82			
F		**	**	**	**	**			
LSD		0,08	0,09	0,07	0,08	0,10			

(M_1: *Saccharomycodes ludwigii*; M_2: *Schizosaccharomyces pombe*; M_3: *Saccharomyces cerevisiae*; M_4: *Pichia kudriavzevii*; M_5: *Candida tropicalis*)

Trong đó: $^{a,b,....,f}$ *là phân hạng theo hàng ngang (so sánh pH nhân hạt trong cùng công thức theo thời gian lên men)* $_{A,B,...F}$ *là phân hạng theo cột dọc (so sánh pH nhân hạt 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 nghĩa thống kê. F**: giá trị F khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,01); F*: giá trị F khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05);* F^{ns}*: các giá trị F khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p >0,05). LSD: khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa.*

Kết quả thí nghiệm ở Bảng 3.33 và Hình 3.52 cho thấy pH nhân hạt ca cao khi chưa lên men là 6,6 và giảm dần sau 72 h lên men rồi lại tăng nhẹ vào cuối quá trình lên men. Ethanol và acid acetic hình thành trong lớp cơm nhầy thấm qua vỏ vào trong nội nhũ giết chết phôi nhũ làm giảm pH nhân hạt (Camu và ctv, 2008a). Việc giảm nhanh pH của nhân hạt là không mong muốn, vì nó có thể ức chế sự phát triển các tiền chất hương vị của chocolate (Biehl, 1984; Biehl và Voigt, 1996).

Sau 120 h ủ lên men, pH nhân hạt có giá trị 4,66 - 5,17. Trong đó công thức bổ sung nấm men *Saccharomeces cerevisiae* có pH cao nhất (5,17), công thức đối chứng không bổ sung nấm men có pH nhân hạt thấp nhất (4,66), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức p < 0,01. Các công thức bổ sung các loại nấm men khác có pH nhân

hạt nằm trong khoảng 4,83 - 4,96. Kết quả của nghiên cứu tương đồng với một số nghiên cứu đã báo cáo trước đây: pH nhân hạt ca cao chưa lên men nằm trong khoảng từ 5,7 - 6,0 (Schwan và Wheals, 2004); pH hạt ca cao Úc chưa lên men là 6,1 - 6,2 và pH nhân hạt sau lên men có bổ sung nấm men *Saccharomyces cerevisiae* và *Kluyveromyces marxianus* đạt 5,8 (Dicrks, 2009). Sự hình thành các chất tiền thân của hương vị chocolate tốt nhất xảy ra khi pH nhân hạt giảm xuống dưới 6,0 (Biehl và ctv, 1985, Guilloteau và ctv, 2005).

3.5.4. Những biến đổi của độ Brix cơm nhầy hạt ca cao trong quá trình lên men

Bảng 3.31. Biến đổi độ Brix cơm nhầy hạt ca cao trong quá trình lên men

Đơn vị tính: %

Loại nấm men	Thời gian lên men (h)						CV(%)	F	LSD
	0	24	48	72	96	120			
M_0	$16,00^{a}$	$11,56^{b}{}_{A}$	$10,93^{c}{}_{A}$	$9,83^{d}{}_{A}$	$8,70^{e}{}_{A}$	$6,89^{f}{}_{A}$	0,61	**	0,16
M_1	$16,00^{a}$	$10,81^{b}{}_{C}$	$10,25^{c}{}_{B}$	$9,37^{d}{}_{B}$	$8,62^{e}{}_{a}$	$6,72^{f}{}_{AB}$	0,42	**	0,11
M_2	$16,00^{a}$	$11,06^{b}{}_{B}$	$10,87^{b}{}_{A}$	$9,72^{c}{}_{A}$	$8,69^{d}{}_{A}$	$6,44^{e}{}_{C}$	0,76	**	0,20
M_3	$16,00^{a}$	$10,05^{b}{}_{E}$	$8,64^{c}{}_{E}$	$7,35^{d}{}_{E}$	$6,69^{e}{}_{C}$	$5,34^{f}{}_{D}$	0,47	**	0,11
M_4	$16,00^{a}$	$10,59^{b}{}_{D}$	$9,40^{c}{}_{D}$	$8,35^{d}{}_{D}$	$7,25^{e}{}_{B}$	$6,59^{f}{}_{BC}$	0,69	**	0,17
M_5	$16,00^{a}$	$10,57^{b}{}_{D}$	$9,71^{c}{}_{C}$	$8,49^{d}{}_{C}$	$7,36^{e}{}_{B}$	$6,51^{f}{}_{BC}$	0,34	**	0,08
CV%		0,60	0,41	0,60	0,77	1,35			
F		**	**	**	**	**			
LSD		0,16	0,10	0,13	0,15	0,22			

(M_1: *Saccharomycodes ludwigii*; M_2: *Schizosaccharomyces pombe*; M_3: *Saccharomyces cerevisiae*; M_4: *Pichia kudriavzevii*; M_5: *Candida tropicalis*)

Trong đó: $^{a,b,....f}$ *là phân hạng theo cột ngang (so sánh độ Brix trong cùng một công thức trong quá trình lên men);* $_{A,B,...F}$ *là phân hạng theo cột dọc (so sánh độ Brix giữa các công thức trong cùng thời điểm); 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 thống kê (p < 0,01); F*: giá trị F khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05);* F^{ns}*: các giá trị F*

khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p >0,05). LSD: khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa.

Kết quả Bảng 3.34 cho thấy những thay đổi của độ Brix trong suốt quá trình lên men hạt ca cao. 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 - 6,72% ở các công thức có bổ sung nấm men. Riêng công thức đối chứng có độ Brix 6,89% cao hơn các công thức khác, 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. Công thức M_3 có độ Brix thấp nhất (5,34%). Điều này phù hợp với nghiên cứu của Dircks, 2009 khi tiến hành lên men hạt ca cao có bổ sung nấm men với các liều lượng khác nhau ở tỉnh Mossman, thuộc nước Úc thì trong cơm nhầy hạt ca cao trước lên men có 5,3% fructose và 4,8% glucose là các loại đường chủ yếu, một lượng nhỏ sucrose (1 - 1,5%), glucose (0 - 0,5%) và fructose (0,5 - 1%) đã được phát hiện trong nhân hạt chưa lên men. Trong quá trình lên men, nồng độ glucose và fructose trong lớp cơm nhầy giảm và đến cuối quá trình lên men thì không còn tồn tại nữa. Một sự khác biệt nhỏ đã được Dircks, 2009 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.

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

Sau khi kết thúc quá trình lên men, hạt được làm khô trên giàn phơi có mái che bằng lưới có độ che phủ 50% (chỉ cho 50% ánh sáng lọt xuống lớp hạt).

Hình 3.46. Phơi hạt ca cao sau khi kết thúc quá trình lên men

Khi độ ẩm hạt giảm xuống đến 7,0 - 7,5 %, tiến hành thu mẫu đo pH, phân tích hàm lượng acid lactic và acid acetic tồn dư trong nhân hạt thành phẩm.

Bảng 3.32. 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_0	4,98 d	30,25 a	15,58 a	45,83 a
M_1	5,12 c	27,63 b	15,38 a	43,01 abc
M_2	5,11 c	30,10 a	15,32 a	45,42 a
M_3	5,34 a	25,53 c	14,66 a	40,19 c
M_4	5,18 b	30,03 a	14,72 a	44,75 ab
M_5	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_1: *Saccharomycodes ludwigii*; M_2: *Schizosaccharomyces pombe*; M_3: *Saccharomyces cerevisiae*; M_4: *Pichia kudriavzevii*; M_5: *Candida tropicalis*)

*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 thống kê ($p < 0,01$); F*: giá trị F khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$); F^{ns}: các giá trị F khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). LSD: khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa.*

Kết quả thí nghiệm thu được ở Bảng 3.35 cho thấy:

+ *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 bổ sung nấm men *Saccharomyces cerevisiae* cho hạt khô có giá trị pH cao nhất (5,34). Công thức đối chứng không bổ sung nấm men cho hạt khô có giá trị pH thấp nhất (4,98). Kết quả nghiên cứu pH hạt khô thành phẩm của nghiue6n cứu này cũng tương đương với pH hạt khô của hạt ca cao Tây Phi là 5,5 (Franke và ctv, 2008), cao hơn pH hạt ca cao khô của Malaysia (4,4 - 4,7) (Nazaruddin và ctv, 2006).

+ *Hàm lượng acid lactic*: Hàm lượng acid lactic giữa các công thức khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức $p < 0,01$. Công thức bổ sung nấm men *Saccharomyces cerevisiae* có hàm lượng acid lactic thấp nhất (25,53 mg/g).

+ *Hàm lượng acid acetic*: Hàm lượng acid acetic không có sự khác biệt giữa các công thức về mặt thống kê. Acid acetic được sinh tổng hợp trong cơm nhầy và thấm vào bên trong hạt (Dircks, 2009). Acid acetic dễ bay hơi khi hạt được bóc vỏ, gia

nhiệt trong quá trình chế biến sản xuất chocolate. Hàm lượng acid acetic (bay hơi) giảm, trong khi hàm lượng acid lactic (không bay hơi) vẫn không đổi (Camu và ctv, 2008a). Acid acetic bay hơi sẽ dẫn đến tăng giá trị pH nhân hạt, giảm chua cho bột nhão nguyên liệu và không ảnh hưởng đến mùi vị đặc trưng của chocolate.

+ Tổng hàm lượng acid lactic và acid acetic hạt khô ở Bảng 3.35 khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,01$). Công thức đối chứng và công thức có bổ sung nấm men M_2 (*Schizosaccharomyces pombe*) có tổng hai loại acid cao hơn, công thức bổ sung nấm men *Saccharomy cescerevisiae* có tổng hai loại acid và hàm lượng acid lactic thấp nhất.

Kết quả thu được phù hợp với các nghiên cứu đã báo cáo: bổ sung nấm men *Hansenniaspora guilliermondii*, *Idastrandia orientalis* và *Saccharomy cescerevisiae* vào thùng ủ chứa 35 kg hạt ca cao tươi cho hạt thành phẩm có các chỉ tiêu về chất lượng tốt hơn lên men hạt 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 thành phẩm có chất lượng cao hơn lên men bình thường (Schwan, 1998).

3.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của phương pháp ép khối hạt lấy bớt dịch cơm nhầy trước khi lên men đến chất lượng hạt thành phẩm.

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

Bảng 3.33. Biến đổi nhiệt độ khối ủ trong quá trình lên men (^oC)

Công thức	Thời gian lên men (h)						CV (%)	F	LSD
	0	24	48	72	96	120			
E_0	$26,50^{e}$	$28,23^{d}{}_{D}$	$35,53^{c}{}_{E}$	$50,13^{a}{}_{BC}$	$43,77^{b}{}_{C}$	$44,20^{b}{}_{C}$	0,55	**	0,53
E_1	$26,50^{f}$	$29,83^{e}{}_{BC}$	$36,83^{d}{}_{D}$	$50,20^{a}{}_{B}$	$44,30^{b}{}_{AB}$	$43,80^{c}{}_{F}$	0,23	**	0,22
E_2	$26,50^{e}$	$30,30^{d}{}_{AB}$	$37,27^{c}{}_{CD}$	$49,63^{a}{}_{BC}$	$44,27^{b}{}_{ABC}$	$44,40^{b}{}_{B}$	0,83	**	0,80
E_3	$26,50^{e}$	$29,67^{d}{}_{C}$	$37,50^{c}{}_{BC}$	$49,40^{a}{}_{C}$	$43,87^{b}{}_{BC}$	$44,00^{b}{}_{D}$	0,62	**	0,59
E_4	$26,50^{e}$	$30,33^{d}{}_{AB}$	$40,23^{c}{}_{A}$	$51,53^{a}{}_{A}$	$43,93^{b}{}_{BC}$	$43,90^{b}{}_{E}$	0,43	**	0,42
E_5	$26,50^{f}$	$30,83^{e}{}_{A}$	$37,77^{d}{}_{B}$	$50,33^{a}{}_{B}$	$44,47^{c}{}_{A}$	$46,90^{b}{}_{A}$	0,32	**	0,31
CV %		0,73	0,48	0,60	0,65				
F		**	**	**	ns	**			
LSD		0,55	0,45	0,76	0,51				

(E_0: đối chứng, hạt không ép, E_1: ép lấy 4 kg dịch cơm nhầy, E_2: ép lấy 7 kg dịch cơm nhầy, E_3: ép lấy 10 kg dịch cơm nhầy, E_4: ép lấy 13 kg dịch cơm nhầy, E_5: ép lấy 16 kg dịch cơm nhầy).

*Phân tích số liệu: $^{a,b,....f}$ là phân hạng theo hàng ngang (so sánh nhiệt độ khối ủ trong cùng công thức theo thời gian lên men) $_{A,B,...F}$ 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 thống kê (p < 0,01); F*: giá trị F khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05); F^{ns}: các giá trị F khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p >0,05). LSD: khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa.*

Kết quả Bảng 3.36 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 13 kg dịch cơm nhầy (51,53^{o}C) và ép 16 kg dịch cơm nhầy (50,33^{o}C).

3.5.2. Biến đổi pH cơm nhầy hạt ca cao trong quá trình lên men

Bảng 3.34. Biến đổi pH cơm nhầy hạt ca cao trong quá trình lên men

Công thức	Thời gian lên men (h)						CV (%)	F	LSD
	0	24	48	72	96	120			
E_0	3,40^{e}	3,17^{f} $_{AB}$	3,77^{d} $_{C}$	4,17^{c} $_{D}$	5,00^{a} $_{D}$	4,38^{b} $_{E}$	0,92	**	0,09
E_1	3,40^{e}	3,17^{f} $_{AB}$	3,80^{d} $_{C}$	4,25^{c} $_{CD}$	5,06^{a} $_{D}$	4,44^{b} $_{DE}$	0,69	**	0,07
E_2	3,40^{e}	3,22^{f} $_{AB}$	3,85^{d} $_{BC}$	4,27^{c} $_{C}$	5,17^{a} $_{D}$	4,47^{b} $_{CD}$	0,99	**	0,10
E_3	3,40^{e}	3,25^{f} $_{A}$	3,93^{d} $_{AB}$	4,31^{c} $_{BC}$	5,28^{a} $_{C}$	4,64^{b} $_{BC}$	0,90	**	0,09
E_4	3,40^{e}	3,14^{f} $_{B}$	3,95^{d} $_{A}$	4,38^{c} $_{AB}$	5,32^{a} $_{B}$	4,38^{b} $_{AB}$	0,79	**	0,08
E_5	3,40^{e}	3,12^{f} $_{B}$	3,99^{d} $_{A}$	4,46^{c} $_{A}$	5,41^{a} $_{A}$	5,02^{b} $_{A}$	0,84	**	0,09
CV (%)		1,29	0,91	0,79	0,88	0,78			
F		*	**	**	**	**			
LSD		0,10	0,09	0,08	0,11	0,09			

(E_0: đối chứng, hạt không ép, E_1: ép lấy 4 kg dịch cơm nhầy, E_2: ép lấy 7 kg dịch cơm nhầy, E_3: ép lấy 10 kg dịch cơm nhầy, E_4: ép lấy 13 kg dịch cơm nhầy, E_5: ép lấy 16 kg dịch cơm nhầy).

Phân tích số liệu: $^{a,b,....f}$ là phân hạng theo hàng ngang (so sánh pH cơm nhầy trong cùng công thức theo thời gian lên men) $_{A,B,...F}$ là phân hạng theo cột dọc (so sánh pH cơm nhầy 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 thống kê (p < 0,01); F*: giá trị F khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05); F^{ns}: các giá trị F khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p >0,05). LSD: khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa.*

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 16 kg dịch cơm nhầy có giá trị pH cơm nhầy cao nhất (5,41). Các công thức ép 0 – 7 kg dịch cơm nhầy thì pH cơm nhầy có giá trị thấp nhất (5,0 - 5,17).

Những thay đổi giá trị pH trong quá trình lên men hạt ca 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). Cuối quá trình lên men pH giảm là do acid trong nhân hạt thấm ngược trở lại lớp cơm nhầy đã gần hết sinh khối.

3.5.3. Biến đổi pH nhân hạt ca cao trong quá trình lên men

Bảng 3.35. Biến đổi giá trị pH nhân hạt trong quá trình lên men

Công thức	Thời gian lên men (h)						CV (%)	F	LSD
	0	24	48	72	96	120			
E_0	$6,60^{a}$	$5,47^{b}{}_{E}$	$4,46^{d}{}_{D}$	$4,00^{f}{}_{C}$	$4,32^{e}{}_{D}$	$4,65^{c}{}_{C}$	0,67	**	0,08
E_1	$6,60^{a}$	$5,61^{b}{}_{D}$	$4,63^{c}{}_{CD}$	$4,13^{e}{}_{BC}$	$4,38^{d}{}_{CD}$	$4,69^{c}{}_{C}$	1,83	**	0,23
E_2	$6,60^{a}$	$5,69^{b}{}_{CD}$	$4,69^{c}{}_{C}$	$4,19^{e}{}_{ABC}$	$4,43^{d}{}_{C}$	$4,73^{c}{}_{C}$	0,77	**	0,10
E_3	$6,60^{a}$	$5,76^{b}{}_{BC}$	$4,76^{d}{}_{BC}$	$4,26^{f}{}_{AB}$	$4,56^{e}{}_{D}$	$4,87^{c}{}_{B}$	0,51	**	0,07
E_4	$6,60^{a}$	$5,92^{b}{}_{A}$	$5,10^{c}{}_{A}$	$4,40^{e}{}_{A}$	$4,76^{d}{}_{A}$	$5,07^{c}{}_{A}$	1,57	**	0,21
E_5	$6,60^{a}$	$5,82^{b}{}_{AB}$	$4,93^{c}{}_{AB}$	$4,28^{e}{}_{AB}$	$4,62^{d}{}_{B}$	$4,92^{c}{}_{B}$	0,59	**	0,08
CV %		0,82	1,58	2,13	0,86	0,97			
F		**	**	**	**	**			
LSD		0,12	0,19	0,22	0,10	0,12			

(E_0: đối chứng, hạt không ép, E_1: ép lấy 4 kg dịch cơm nhầy, E_2: ép lấy 7 kg dịch cơm nhầy, E_3:

ép lấy 10 kg dịch cơm nhầy, E_4: ép lấy 13 kg dịch cơm nhầy, E_5: ép lấy 16 kg dịch cơm nhầy).

*Phân tích số liệu: $^{a,b,....,f}$ là phân hạng theo hàng ngang (so sánh pH nhân hạt trong cùng công thức theo thời gian lên men) $_{A,B,...F}$ là phân hạng theo cột dọc (so sánh pH nhân hạt 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 thống kê (p < 0,01); F*: giá trị F khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05); F^{ns}: các giá trị F khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p >0,05). LSD: khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa.*

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 (6,6) sau đó giảm dần và tăng nhẹ vào cuối quá trình lên men. Ethanol và acid acetic hình thành trong lớp cơm nhầy thấm 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 kg dịch cơm nhầy có giá trị pH nhân hạt cao nhất (5,07). Các công thức ép 0 - 7 kg dịch cơm nhầy thì pH nhân hạt có giá trị thấp nhất (4,65 - 4,73).

3.5.4. Biến đổi độ Brix lớp cơm nhầy hạt ca cao trong quá trình lên men

Bảng 3.36. Biến đổi độ Brix lớp cơm nhầy hạt ca cao trong quá trình lên men (%)

Công thức	Thời gian lên men (h)						CV (%)	F	LSD
	0	24	48	72	96	120			
E_0	$16,00^{a}$	$13,70^{b}{}_{A}$	$11,30^{c}{}_{A}$	$9,70^{d}{}_{A}$	$7,27^{e}{}_{A}$	$5,05^{f}{}_{A}$	3,42	**	0,90
E_1	$15,02^{a}$	$13,05^{b}{}_{AB}$	$10,47^{c}{}_{B}$	$8,36^{d}{}_{B}$	$6,40^{e}{}_{B}$	$4,83^{f}{}_{A}$	1,11	**	0,27
E_2	$14,88^{a}$	$12,90^{b}{}_{AB}$	$10,32^{c}{}_{B}$	$8,32^{d}{}_{B}$	$6,09^{e}{}_{BC}$	$4,74^{f}{}_{A}$	0,99	**	0,24
E_3	$14,44^{a}$	$12,06^{b}{}_{B}$	$9,90^{c}{}_{B}$	$7,90^{d}{}_{B}$	$5,71^{e}{}_{C}$	$4,21^{f}{}_{B}$	3,07	**	0,70
E_4	$13,92^{a}$	$11,21^{b}{}_{C}$	$8,50^{c}{}_{C}$	$6,57^{d}{}_{C}$	$4,59^{e}{}_{D}$	$4,09^{e}{}_{B}$	3,46	**	0,70
E_5	$13,44^{f}$	$10,80^{b}{}_{C}$	$8,19^{c}{}_{C}$	$6,16^{d}{}_{C}$	$4,53^{e}{}_{D}$	$3,98^{e}{}_{B}$	3,14	**	0,61
CV (%)		3,19	2,68	3,72	3,61	2,74			
F		**	**	**	**	**			
LSD		0,98	0,65	0,73	0,52	0,31			

(E_0: đối chứng, hạt không ép, E_1: ép lấy 4 kg dịch cơm nhầy, E_2: ép lấy 7 kg dịch cơm nhầy, E_3:

ép lấy 10 kg dịch cơm nhầy, E_4: ép lấy 13 kg dịch cơm nhầy, E_5: ép lấy 16 kg dịch cơm nhầy).

*Phân tích số liệu: $^{a,b,....,f}$ là phân hạng theo hàng ngang (so sánh độ Brix trong cùng công thức theo thời gian lên men) $_{A,B,...F}$ là phân hạng theo cột dọc (so sánh độ Brix 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 thống kê (p < 0,01); F*: giá trị F khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05); F^{ns}: các giá trị F khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p >0,05). LSD: khác biệt nhỏ nhất có ý nghĩa.*

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. Kết quả của nghiên cứu tương đồng với báo cáo của Dircks, 2009: trong cơm nhầy hạt ca cao trước lên men có 5,3 % fructose và 4,8 % glucose là các loại đường chủ yếu, nồng độ glucose và fructose giảm dần trong quá trình lên men và đến cuối quá trình lên men thì không còn tồn tại nữa.

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

Hạt sau khi lên men được làm khô bằng cách phơi trên giàn phơi có mái che bằng lưới có độ che phủ 50%. Kết quả thu được như sau:

Bảng 3.37. Một số chỉ tiêu chất lượng hạt ca 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_0	5,04 c	23,33 c	12,06 a	35,39 a
E_1	5,19 c	24,04 c	7,15 b	31,19 b
E_2	5,16 c	25,04 b	5,14 c	30,18 b
E_3	5,38 b	27,53 a	3,23 d	30,76 b
E_4	5,56 a	20,39 d	4,76 c	25,15 c
E_5	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_0: đối chứng, hạt không ép, E_1: ép lấy 4 kg dịch cơm nhầy, E_2: ép lấy 7 kg dịch cơm nhầy, E_3: ép lấy 10 kg dịch cơm nhầy, E_4: ép lấy 13 kg dịch cơm nhầy, E_5: ép lấy 16 kg dịch cơm nhầy).

*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 ép 13 kg dịch cơm nhầy (pH = 5,56), tiếp đến là công thức ép 16 kg dịch cơm nhầy (pH = 5,45); giá trị pH của công thức ép 13 kg và 16 kg dịch cơm nhầy khác biệt có ý nghĩa so với giá trị pH của các công thức còn lại. Các công thức ép dịch cơm nhầy 0 - 7 kg 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 ép 10 kg dịch cơm nhầy (27,53 mg/g), thấp nhất là nhóm các công thức có tỉ lệ ép 13 kg và 16 kg (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 ép khối hạt lấy bớt dịch cơm nhầy khác nhau, cao nhất ở công thức đối chứng (12,06 mg/g) và thấp nhất ở công thức ép khối hạt lấy bớt 7 kg dịch cơm nhầy (5,14 mg/g), 13 kg dịch cơm nhầy (4,76 mg/g) và 16 kg dịch cơm nhầy (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 ép hạt trước khi lên men 4 - 10 kg . Nhóm có tổng hai loại acid thấp nhất là công thức ép khối hạt lấy bớt dịch cơm nhầy trước khi lên men 13 kg và 16 kg.

Như vậy, khi ép loại bớt dịch cơm nhầy 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 cơm nhầy hạt ca 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 ca 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 ca cao đã lên men theo hướng giảm lượng acid tồn dư cho hạt thành phẩm

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

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

Bảng 3.38.Giá trị pH của hạt ca cao thành phẩm

Nhiệt độ sấy (^oC)	Khối lượng dịch cơm nhầy ép loại ra khỏi 100 kg hạt ca 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%.

Kết quả Bảng 3.41 cho thấy nhiệt độ sấy ảnh hưởng 7,0 - 7,5% có giá trị pH từ 4,70 - 5,56. Trong đó hạt sấy ở 50^{o}C có pH cao hơn so với hạt sấy ở 60^{o}C và 70^{o}C ở tất cả các công thức, khi nhiệt độ sấy càng tăng thì pH hạt khô càng giảm. Sấy hạt ca cao ở nhiệt độ thấp hơn cho hạt khô ít tính acid hơn và bột ca cao thành phẩm chất lượng tốt hơn (Ajala và Ojewande, 2014).

Công thức ép 13 kg và 16 kg dịch cơm nhầy, sấy ở 50^{o}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. Tùy thuộc vào điều kiện thời tiết, tại thời điểm thu hoạch, mùa mưa, lượng dịch cơm nhầy nhiều có thể ép 13 - 16 kg, 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 kg thì hạt vẫn lên men bình thường và pH hạt khô có thể đạt từ 5,10 - 5,26.

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Tagro và ctv, 2010 khi sấy hạt bằng lò sấy pH hạt ca cao có giá trị nằm trong khoảng 4,5 - 5,5. pH hạt thành phẩm giảm khi nhiệt độ sấy tăng lên là bởi vì sấy ở nhiệt độ cao, hạt giảm độ ẩm nhanh chóng dẫn đến acid acetic trong hạt 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 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).

3.6.1.2. Hàm lượng acid lactic trong hạt ca cao khô thành phẩm

Bảng 3.39. Hàm lượng acid lactic có trong hạt ca cao khô (mg/g)

Nhiệt độ sấy (^{0}C)	Khối lượng dịch cơm nhầy ép loại ra khỏi 100 kg hạt ca cao tươi (kg)					
	0	4	7	10	13	16
50	23,77 cb	23,21 bcd	22,80 cde	22,00 e	20,90 f	20,73 f
60	22,63 cde	22,83 cd	22,40 de	23,10 cde	23,4 bcd	22,54 de
70	24,33 b	22,63 cde	25,83 a	20,04 f	18,53 g	20,00 f
CV (%) = 2,12		F(A)^{ns}	F(B)**	F(AB) **		

Các trung bình cùng ký tự không khác biệt có nghĩa thống kê ở mức xác suất p < 0,01; CV = 2,12%.

Kết quả Bảng 3.42 cho thấy hàm lượng acid lactic trong hạt ca cao khô của các công thức giao động từ 20,0 - 25,83 mg/g, trong đó công thức ép 13 kg, 16 kg dịch cơm nhầy, sấy ở nhiệt độ 50^{o}C và công thức ép 10 kg, ép 16 kg, sấy ở nhiệt độ 70^{o}C có hàm lượng acid lactic thấp hơn các công thức còn lại. Sự khác biệt giữa hai nhóm này ở mức rất có ý nghĩa với p < 0,01.

3.6.1.3. Hàm lượng acid acetic trong hạt ca cao khô thành phẩm

Bảng 3.40. Hàm lượng acid acetic có trong hạt ca cao khô (mg/g)

Nhiệt độ sấy (^{o}C)	Khối lượng dịch cơm nhầy ép loại ra khỏi 100 kg hạt ca cao tươi (kg)					
	0	4	7	10	13	16
50	15,17 c	5,53 i	5,60 i	6,80 h	4,57 j	5,30 ij
60	17,73 a	9,68 g	6,00 i	5,67 i	5,33 ij	5,47 i
70	16,67 b	13,90 d	10,43 g	13,13 de	11,93 f	13,03 e

Các trung bình cùng ký tự không khác biệt có nghĩa thống kê ở mức xác suất p < 0,01; CV = 3,65%.

Hàm lượng acid acetic ở công thức đối chứng cao nhất khi sấy ở các nhiệt độ sấy khác nhau (15,17 - 17,73 mg/g), khi nhiệt độ sấy càng cao, hàm lượng acid acetic tích trữ trong hạt khô càng lớn. Có mối liên hệ ngược giữa hàm lượng acid acetic trong hạt với tỷ lệ ép hạt. Tỷ lệ ép hạt càng tăng thì hàm lượng acid acetic càng giảm.

Khảo sát hàm lượng acid acetic, qua số liệu Bảng 3.43 cho thấy có sự khác biệt ở mức rất có ý nghĩa giữa ba mức nhiệt độ sấy, năm mức tỷ lệ ép và công thức đối chứng. Hàm lượng acid acetic cao nhất ở công thức đối chứng, sấy 60^{o}C (17,73 mg/g). Biến thiên của hàm lượng acid acetic ở các tỷ lệ ép khác nhau đều cho kết quả khác nhau. Khi quan sát hàm lượng acid acetic dưới sự tác động giữa yếu tố nhiệt độ và tỷ lệ ép khác nhau cho thấy có mối tác động qua lại có ý nghĩa.

Kết quả nghiên cứu tương tự với báo cáo của Ajala và ctv (2013), một trong những yếu tố quan trọng có ảnh hưởng đến tốc độ sấy làm khô hạt là nhiệt độ. Việc chênh lệch nhiệt độ giữa không khí khô và hạt tươi càng lớn, càng truyền nhiều nhiệt cho hạt. Nhiệt độ cao khi làm khô hạt sẽ tạo ra một động lực cao hơn để loại bỏ độ ẩm và rút ngắn thời gian sấy tổng thể (Ajala và ctv, 2012 và Hii và ctv, 2009). Việc sấy hạt lên men ở mức nhiệt độ cao kết quả là ca cao có chất lượng thấp hơn với tính acid cao hơn. Hạt ca cao chua luôn gắn liền với quá trình sấy khô hạt ca cao bằng lò sấy. Quá trình sấy hạt sẽ khô nhanh hơn và ngăn cản đường dẫn khuyếch tán của acid acetic (Barel, 1987; Jinap và ctv, 1994). Do đó, phương pháp sấy nhân tạo duy trì các acid tồn dư và hầu hết các acid vẫn còn bên trong hạt ca cao và gây ra tình trạng chua quá mức. Vì lý do này, Jinap và ctv (1994) có khuyến cáo nên làm khô ca cao ở nhiệt độ không quá 60^{o}C.

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

Bảng 3.41. Hàm lượng acid lactic và acid acetic có trong hạt ca cao khô

Nhiệt độ sấy (^{o}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^{o}C. Tiếp theo là nhóm có tổng hai loại acid thấp hơn gồm các công thức được làm khô bằng sấy hạt ở 60^{o}C. Nhóm có tổng hai loại acid thấp nhất là các công thức được làm khô bằng sấy hạt ở 50^{o}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 kg, 16 kg và sấy ở 50^{o}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

Phơi nắng cho ca cao có chất lượng tốt do độ chua sản phẩm giảm đáng kể vì acid acetic bốc hơi, tốc độ hạt khô chậm, tạo điều kiện cho acid lactic thoát ra khỏi hạt cùng với nước, quá trình oxi hóa mạnh - phản ứng nâu hóa các polyphenols giảm vị chát và đắng, các phản ứng tạo mùi còn tiếp diễn (Lambert, 2010).

3.6.2.1. pH hạt ca cao khô

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 10 kg/m^2; 20 kg/m^2; 30 kg/m^2, kết quả thu được như sau:

Bảng 3.42. pH hạt ca cao khô thành phẩm

Phương pháp phơi hạt (A)	Khối lượng hạt phơi/m^2 (B)		
	(10 kg)	(20 kg)	(30 kg)
L_o (che phủ 0% - đc)	4,76 h	4,98 g	5,19 e
L_1 (độ che phủ 50%)	5,12 f	5,26 d	5,36 bc
L_2 (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%.

+ Kết quả xếp nhóm tương tác các nghiệm thức của yếu tố nhiệt độ sấy và tỉ lệ ép hạt có thể chia thành 8 nhóm a, b, c ..., h, trong đó pH hạt khô cao nhất ở công thức phơi 30 kg hạt/m^2 trên giàn có mái che độ cản sáng 60%, thấp nhất ở công thức phơi 10 kg hạt/m^2 hạt trên giàn không có mái che.

+ Sự tương tác giữa độ cản sáng của mái che và khối lượng hạt đem phơi rất có ý nghĩa ($F = 19,04$; $p < 0,01$)

+ Căn cứ vào bảng so sánh xác suất p các trung bình tương tác Dunnet, sự tương tác giữa độ cản sáng của mái che với khối lượng hạt phơi ảnh hưởng độc lập vì có $p < 0,01$; trong đó cao nhất ở công thức phơi 30 kg hạt/m^2 trên giàn có lưới che nắng có độ cản sáng 60% (pH = 5,51).

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

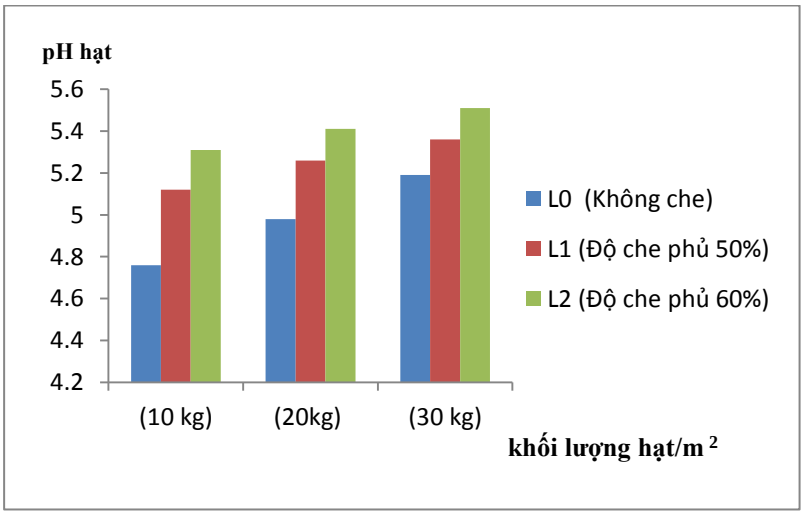
Các công thức phơi hạt ca cao sau lên men trên giàn phơi có lưới che với độ che phủ 60 % có pH từ 5,31 - 5,51.

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 phơi 30 kg/m^2, 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 phơi 30 kg/m2 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).



Hình 3.47. Ảnh hưởng của phương pháp phơi hạt lên pH hạt ca cao khô.

Hình 3.47 cho thấy khi phơi 30 kg hạt/m^2 trên giàn phơi, được che bằng lưới độ che phủ 60%, pH hạt khô đạt giá trị cao hơn so với che lưới độ che phủ 50% hoặc phơi trực tiếp dưới ánh sáng mặt trời. Khi giá trị pH hạt khô cao cũng có nghĩa là hạt ca cao sẽ giảm độ chua khi được sử dụng làm nguyên liệu sản xuất chocolate.

3.6.2.2. Hàm lượng acid lactic hạt ca cao khô thành phẩm

Bảng 3.43. Hàm lượng acid lactic hạt ca cao khô (mg/g)

Phương pháp phơi hạt (A)	Khối lượng hạt (B)		
	(10 kg/m^2)	(20 kg/m^2)	(30 kg/m^2)
L0 (độ cản sáng 0%- đc)	22,43 a	20,41 b	20,03 b
L1 (độ cản sáng 50%)	20,35 b	20,34 b	19,21 c
L2 (độ cản sáng 60%)	17,50 d	17,67 d	16,77 e

Các trung bình cùng ký tự không khác biệt có nghĩa thống kê ở mức xác suất p < 0,01; CV = 1,30%.

+ Kết quả xếp nhóm tương tác các nghiệm thức của yếu tố nhiệt độ sấy và tỉ lệ ép hạt có thể chia thành 5 nhóm a, b, c, d,e, trong đó acid lactic cao nhất ở công thức phơi 10 kg hạt/m2 trên giàn không có mái che, thấp nhất ở công thức phơi 30 kg hạt/m2 hạt trên giàn có mái che độ cản sáng 60%.

+ Sự tương tác giữa độ cản sáng của mái che và khối lượng hạt đem phơi rất có ý nghĩa (F = 18,75; p < 0,0001)

+ Căn cứ vào bảng so sánh xác suất p các trung bình tương tác Dunnet, sự tương tác giữa độ cản sáng của mái che và khối lượng hạt ảnh hưởng độc lập vì có p < 0,01; trong đó cao nhất ở công thức phơi 10 kg hạt/m2 trên giàn không có mái che (22,43).

Các công thức phơi hạt ca cao khối lượng hạt phơi 10kg; 20kg và 30kg/m2 sau lên men trực tiếp dưới ánh nắng mặt trời, đến khi ẩm độ xuống còn 7,0 – 7,5 % thì hàm lượng acid lactic hạt ca cao khô trung bình là 20,96 mg/g. Phơi trên giàn có lưới che độ che phủ 50 %, hàm lượng acid lactic hạt khô trung bình là 19,97 mg/g; phơi trên giàn phơi có lưới che ộ che phủ 60 %, hàm lượng acid lactic hạt khô trung bình là 17,31 mg/g. Sự khác biệt hàm lượng acid lactic giữa các nhóm công thức có ý nghĩa về mặt thống kê.

Điều này có thể lý giải khi độ che phủ của lưới khác nhau sẽ có sự khác biệt giữa các công thức về cường độ chiếu sáng xuống giàn phơi. Khối lượng hạt phơi càng nhiều thời gian phơi càng dài, tốc độ giảm độ ẩm hạt sẽ khác nhau có ý nghĩa giữa các công thức. Ở công thức phơi 30kg/m2 hạt sẽ khô chậm nhất, bề mặt hạt se chậm nên acid lactic theo nước ra ngoài vỏ hạt cao hơn so với các công thức khác. Vì vậy giá trị trung bình acid lactic của các công thức phơi trên giàn phơi có độ che phủ 60 % có hàm lượng acid lactic thấp nhất.

3.6.2.3. Hàm lượng acid acetic hạt ca cao khô

Bảng 3.44. Hàm lượng acid acetic hạt ca cao khô

Phương pháp phơi hạt (A)	Khối lượng hạt/m^2 (B)		
	(10 kg)	(20 kg)	(30 kg)
L0 (đối chứng)	15,49 a	13,61 abc	12,83 bcd
L1 (độ che phủ 50%)	14,64 ab	11,52 cd	11,42 d
L2 (độ che phủ 60%)	11,78 cd	12,70 bcd	9,09 e

Các trung bình cùng ký tự không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất p < 0,01; CV = 6,47%.

+ Kết quả xếp nhóm tương tác các nghiệm thức của yếu tố nhiệt độ sấy và tỉ lệ ép hạt có thể chia thành 5 nhóm a, b, c, d,e, trong đó acid acetic cao nhất ở công thức phơi 10 kg hạt/m2 trên giàn không có mái che, tiếp đến là ở công thức phơi 10 kg hạt/m2 trên giàn có mái che có độ cản sáng 50%, thấp nhất ở công thức phơi 30 kg

hạt/m2 hạt trên giàn có mái che độ cản sáng 60%.

+ Sự tương tác giữa độ cản sáng của mái che có độ cản sáng và khối lượng hạt đem phơi rất có ý nghĩa (F = 5,96; p = 0,0039)

+ Căn cứ vào bảng so sánh xác suất p các trung bình tương tác Dunnet, sự tương tác giữa độ cản sáng 0% với khối lượng hạt (10 kg hạt/m^2 và 20 kg hạt/m^2) có ảnh hưởng nhau như, cũng như sự tương tác giữa độ cản sáng 50% với khối lượng hạt 10 kg hạt/m^2 vì p > 0,05. Sự tương tác giữa độ cản sáng 0% với khối lượng hạt 30 kg hạt/m^2, sự tương tác giữa độ cản sáng 50% với khối lượng hạt (20 kg hạt/m^2 và 30 kg hạt/m^2) ảnh hưởng độc lập, cũng như sự tương tác độ cản sáng 60% với ba khối lượng hạt vì có p < 0,01; trong đó cao nhất ở công thức phơi 10 kg hạt/m^2 trên giàn không có mái che (15,49).

Hạt được phơi trực tiếp dưới ánh nắng mặt trời có cường độ chiếu sáng mạnh, khối lượng hạt/m^2 mỏng, độ ẩm giảm nhanh vì vậy lượng acid acetic bay hơi thoát ra khỏi hạt ít hơn do đó pH hạt của các công thức này thấp hơn các công thức phơi khác.

Công thức phơi hạt có khối lượng 10 kg/m^2, 20 kg/m^2, 30 kg/m^2 trên giàn phơi, được che bằng lưới có độ che phủ 60%, lượng acid acetic trong hạt khô cao hơn so với che lưới độ che phủ 50% hoặc phơi trực tiếp dưới ánh sáng mặt trời. Các công thức có hàm lượng acid acetic trong hạt khô khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê. Trong đó công thức phơi 30 kg/m^2 trên giàn phơi có lưới che với độ che phủ 60 % có hàm lượng acid acetic thấp nhất (9,09 mg/g).

3.6.2.4. Tổng hàm lượng acid lactic và acid acetic có trong hạt ca cao khô

Bảng 3.45. Hàm lượng acid lactic và acid acetic tồn dư trong hạt ca cao khô

Phương pháp phơi hạt (A)	Khối lượng hạt/m^2 (B)		
	(10 kg)	(20 kg)	(30 kg)
L_o (đối chứng)	37,92 a	34,02 bc	32,86 cd
L_1 (độ che phủ 50%)	34,99 b	31,86 de	30,63 ef
L_2 (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%.

+ Kết quả xếp nhóm tương tác các nghiệm thức của yếu tố nhiệt độ sấy và tỉ lệ ép hạt có thể chia thành 7 nhóm a, b, …, g; trong đó tổng acid acetic và acid lactic tồn

dư trong hạt ca cao khô cao nhất ở công thức phơi 10 kg hạt/m^2 trên giàn không có mái che, thấp nhất ở công thức phơi 30 kg hạt/m^2 hạt trên giàn có mái che độ cản sáng 60%.

+ Sự tương tác giữa độ cản sáng của mái che có độ cản sáng và khối lượng hạt đem phơi rất có ý nghĩa ($F = 9,92$; $p < 0,01$)

+ Căn cứ vào bảng so sánh xác suất p các trung bình tương tác Dunnet, sự tương tác giữa độ cản sáng và khối lượng hạt phơi có ảnh hưởng độc lập vì có $p < 0,01$; trong đó cao nhất ở công thức phơi 10 kg hạt/m^2 trên giàn không có lưới che (37,92).

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 phơi 30kg/m^2, 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 axit bên trong hạt (lượng axit 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

3.7.1. Hiệu quả về mặt kinh tế

Để cây ca cao cho hiệu quả kinh tế cao, thu nhập ổn định Ngoài việc bón phân để đạt năng suất ca cao thì việc áp dụng kỹ thuật sơ chế sẽ nâng cao chất lượng hạt thành phẩm.

Kết quả nghiên cứu bón phân K_2SO_4 trong năm 2012, 2013 đều có hiệu quả kinh tế hơn là sử dụng phân KNO_3 và KCl ở các mức bón.

Trong thí nghiệm bón phân kali loại K_2SO_4 ở công thức CT4 (460 kg K_2O/ha/năm). Vườn cây Trảng Bom, Đồng Nai, lợi nhuận năm 2012 tăng thêm là 29.545 ngàn đồng/tấn, tỷ suất lợi nhuận là 1,76. Lợi nhuận năm 2013 tăng thêm là 29.100 ngàn đồng/tấn, tỷ suất lợi nhuận là 1,30. Lượng đường trong lớp cơm nhầy giảm so với đối chứng.

Trong thí nghiệm bón phân kali loại K_2SO_4 ở công thức CT3 (360 kg K_2O/ha/năm). Vườn cây Di Linh lợi nhuận năm 2012 tăng thêm là 18.550 ngàn đồng/tấn, tỷ suất lợi nhuận là 1,29. Lợi nhuận năm 2013 tăng thêm là 47.370 ngàn đồng/tấn, tỷ suất lợi nhuận là 3,30. Lượng đường trong lớp cơm nhầy giảm so với đối chứng.

Ngoài thí nghiệm bón phân, kết quả nghiên cứu áp dụng các kỹ thuật sơ chế bổ sung nấm men, ép, sấy, phơi sẽ làm cho hạt ca cao giảm chua, dẫn đến nâng cao chất lượng hạt ca cao. Các kỹ thuật sơ chế này so với kỹ thuật truyền thống sẽ không làm tăng chi phí. Nhưng với tác dụng giảm chua, chất lượng ca cao được cải thiện. Theo khảo sát thì các công ty thu mua hạt ca cao sẽ cộng thêm cho người bán ít nhất là 200USD/tấn (4.600 ngàn đồng/tấn).

Như vậy: Về hiệu quả kinh tế qua thí nghiệm bón phân kali và kỹ thuật sơ chế hạt ca cao thì:

+ Lợi nhuận thấp nhất là 33.700 ngàn đồng = (29.100 ngàn đồng + 4.600 ngàn đồng). Tỷ suất lợi nhuận là 2,00 = (33.700/16.820)

+ Lợi nhuận cao nhất là 51.970 ngàn đồng = (47.370 ngàn đồng + 4.600 ngàn

đồng). Tỷ suất lợi nhuận là 3,62 = (51.970/14.340). Chỉ tiêu này cho thấy cứ bỏ thêm 1 đồng chi phí bón phân kali loại K_2SO_4 ở mức bón 360 kg K_2O/h/năm với các chi phí gồm: Khấu hao vườn cây, chi phí làm cỏ, chi phí tỉa chồi, chi phí tưới nước, chi phí thuốc sâu, chi phí bón phân ure và lân, chi phí thu hoạch, chi phí phơi khô, ủ, lên men, sấy không thay đổi sẽ cho lợi nhuận là 3,62 đồng, đây là mức hiệu quả cao nhất.

3.7.2. Hiệu quả về mặt xã hội

- Tạo uy tín thương hiệu ca cao Việt Nam trên thị trường Thế giới

- Phế liệu ca cao tạo thức ăn cho gia súc, sản xuất được các sản phẩm phụ như rượu ca cao, nước giải khác.

- Mở rộng sản phẩm cạnh tranh, tạo lợi thế sánh với các cây tiêu, điều cà phê... làm cho ngành ca cao phát triển diện tích, khai thác nhiều sản phẩm. Tạo thêm công ăn việc làm, sử dụng nhiều lao động, góp phần xóa đói giảm nghèo, nâng cao thu nhập cho người dân.

3.7.3. Hiệu quả về mặt môi trường, sinh thái

- Diện tích ca cao phát triển, cây ca cao có tán lá xum xuê giúp nước mưa không làm xói mòn đất đai, mặt đất canh tác. che chắn bề mặt của đất không bị ánh sáng trực tiếp hủy diệt các vi sinh vật của đất.

- Cây ca cao có tính chịu khô hạn, khi có hiệu quả kinh tế là lợi thế để thay thế các loại cây trồng khác.

- Các cơ sở sản xuất cacao đều thải ra lượng chất hữu cơ trong quá trình sản xuất (tinh bột, protein, xenlulose là nguyên nhân gây ô nhiễm môi trường, nước thải mang tính axit cao gây ô nhiễm đất. Vì vậy thông qua kỹ thuật sơ chế vừa tận dụng phụ phẩm vừa hạn chế lượng dịch ép ra ngoài chứa acid gây ô nhiễm môi trường.

3.8. Cải tiến quy trình canh tác và quy trình công nghệ sau thu hoạch hạt ca cao

Từ kết quả của các thí nghiệm, hiệu quả kinh tế của các công thức bón loại, liều lượng phân kali trên nền phân bón đạm và lân và sơ chế hạt ca cao, chọn các công thức cho kết quả tốt nhất theo mục tiêu đề ra, từ đó đề xuất cải tiến quy trình canh tác và quy trình công nghệ sau thu hoạch để thu hạt ca cao nguyên liệu có chất lượng tốt hơn nhằm nâng giá trị thương mại cho hạt ca cao Việt Nam.

3.8.1. Cải tiến quy trình canh tác cây ca cao

3.8.1.1. Bón phân cho cây ca cao ở giai đoạn kinh doanh trồng trên đất FRr

- Sử dụng phân đơn NPK. Đối với loại phân kali sử dụng K_2SO_4, lượng phân bón 360 kg K_2O/ha/năm (1100 cây/ha).

- Lượng phân được bón thành 3 đợt trên năm vào các thời điểm.

+ Đợt 1: đầu mùa mưa, kết thúc đợt thu quả cuối cùng của vụ thu hoạch năm trước.

+ Đợt 2: giữa mùa mưa, cây đang ra hoa tập trung.

+ Đợt 3: giai đoạn cây đang nuôi quả non.

- Phân đạm: bón 297 kg N_2/ha/năm

- Phân lân: bón 209 kg P_2O_5/ha/năm

- Cách bón:

+ Cách gốc từ 20-30 cm đào rãnh nhỏ, rãi đều phân bón và lấp đất lại hoặc bón phân bằng hệ thống tưới nhỏ giọt sẽ tăng hiệu quả sử dụng phân bón và tiết kiệm chi phí nhân công

+ Phân lân được bón trước phân đạm và kali một tuần. Phân kali và urê được trộn chung trước khi bón.

3.8.1.2. Bón phân cho cây ca cao ở giai đoạn kinh doanh trồng trên đất Ach.

Biện pháp bón phân cho cây ca cao trồng trên đất Ach tương tự như bón phân cho cây ca cao trồng trên đất FRr. Đất Ach nghèo dinh dưỡng, hàm lượng kali thấp do đó bón phân K_2SO_4 với lượng phân bón 460 kg K_2O/ha/năm (1100 cây/ha).

3.8.2. Cải tiến quy trình công nghệ sau thu hoạch đối với hạt ca cao

3.8.2.1. Lên men hạt: phương pháp lên men trong thùng gỗ.

- Biện pháp 1: Bổ sung nấm men *Saccharomyces cerevisiae* mật độ 1,5 x 10^{10} CFU/g vào khối ủ 35 kg hạt ca cao tươi ngay thời điểm bắt đầu tiến hành lên men hạt.

+ Thời gian lên men hạt 120 h, đảo trộn một lần ở thời điểm 48 h tính từ lúc quá trình lên men.

+ Bề mặt thùng ủ được tủ bằng lá chuối và bao gai.

- Biện pháp 2: Ép 13% - 16% tổng trọng lượng khối hạt (khối ủ 100 kg hạt tươi thì ép loại 13 - 16 kg dịch cơm nhầy) nhằm mục đích giảm hàm lượng đường tham gia vào quá trình lên men hạt.

+ Thời gian lên men hạt 120 h, đảo trộn một lần ở thời điểm 48 h tính từ lúc quá trình lên men.

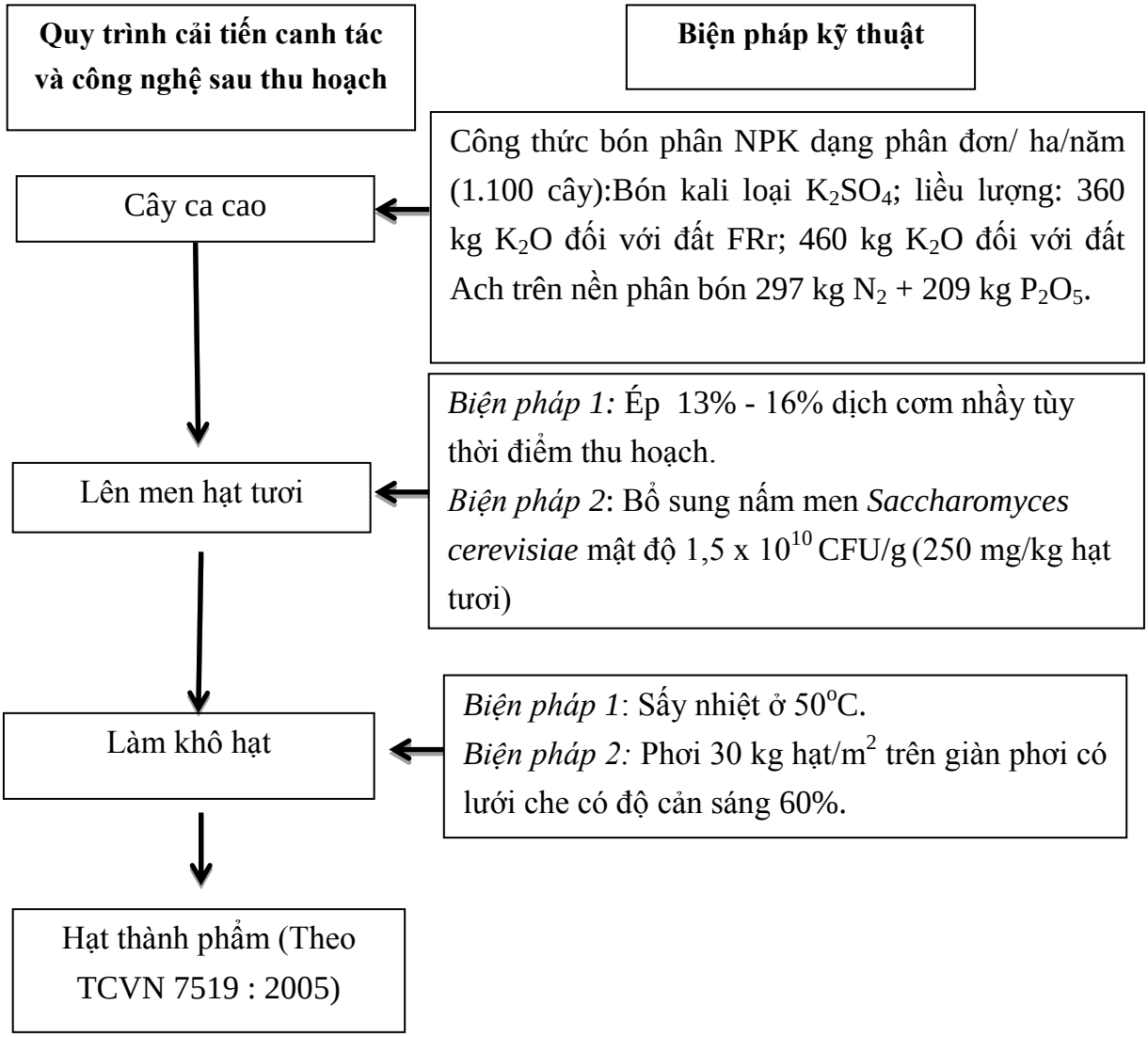
+ Bề mặt thùng ủ được tủ bằng lá chuối và bao gai.

3.8.2.2. Làm khô hạt

- Sấy hạt: Làm khô hạt bằng biện pháp sấy ở nhiệt độ 50^{o}C cho đến khi ẩm độ của hạt giảm xuống còn 7 - 7,5 %.

- Phơi hạt: phơi 30 kg hạt/m^2 trên giàn phơi có lưới che có độ cản sáng 60% cho đến khi ẩm độ của hạt giảm xuống còn 7 - 7,5 %.

Mục tiêu của quá trình làm khô hạt khi sấy ở nhiệt độ thấp và phơi hạt trong điều kiện giảm cường độ chiếu sáng là để hạt khô chậm cùng với quá trình đảo hạt trong khi phơi sẽ tăng lượng acid acetic bay hơi và acid lactic thấm ngược ra ngoài vỏ hạt ca cao, giảm lượng acid tồn dư trong hạt ca cao thành phẩm.



Hình 3.48. Sơ đồ tóm tắt quy trình cải tiến canh tác và quy trình cải tiến công nghệ sau thu hoạch hạt ca cao

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 chuân 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 x 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 bớt 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 hạy 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^2 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^oC 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.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU ĐÃ CÔNG BỐ

1. Phạm Thị Hồng Hải. 2017. Ảnh hưởng của loại và lượng phân bón kali đến năng suất hạt và hàm lượng đường trong lớp cơm nhầy hạt tươi của cây ca cao (*Theobroma cacao* L.). *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT (ISSN 1859-4581*). Số 20, kỳ 2 tháng 10 năm 2017. Trang 67-73.

2. Phạm Thị Hồng Hải, Phạm Hồng Đức Phước, Võ Thái Dân.2018. Xác định loài nấm men thích hợp nhằm từng bước kiểm soát quá trình lên men hạt ca cao chất lượng. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh (ISSN 1859-1523)*. Số 1/2018.

DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ajala, A.S. and Ojewande, K.O. 2014. Study on drying of fermentated cocoa beans (*Theobroma ca cao*). *International Journal of Innovation and Applied Studies* ISSN 2028-9324. Vol. 9, No. 2, pp. 931-936.

2. Ajala, A. S., Aboiye, A. O., Popoola, J. O. and Adeyanju, J. A. 2012. Drying characteristics and mathematical modelling of cassava chips. *Chemical and Process Engineering Research*, Vol 4, pp 2-3.

3. Ajala, A. S., Ngoddy, P. O. and Olajide, J. O. 2013. Study of Drying Parameters in Tunnel Drying, *International Journal of Advanced Scientific and Technical Research*, Issue 3 volume 2, pp 265-266.

4. Archer, J. 1985. *Crop nutrition and fertilizer use*. Farming Press Ltd.258 pp.

5. Ardhana, M.M. and Fleet, G.H. 2003. The microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia. *International Journal of Food Microbiology*. 86, 87-99.

6. Baker, D.M., Tomlins, K.I. and Gay, C. 1994. Survey of Ghanaian cocoa farmer fermentation practices and their influence on cocoa flavour. *Food Chem.* 51, 425-431.

7. Ban điều phối ca cao Việt Nam. 2015. Hội nghị Tổng kết năm 2015 và phương hướng năm 2016 của Ban Điều phối phát triển ca cao Việt Nam, http://ctynguyenthanhhai.com/view-120560/hoi-nghi-tong-ket-nam-2015-va-phuong-huong-nam-2016-cua-ban-dieu-phoi-phat-trien-ca-cao-viet-nam-./

8. Barel, M. 1987. Pod breaking delay. Influence on the yields and the quality of raw and roasted cocoa. *Café Cacao Thé*, 31: 141-150.

9. Beckett, S. T. 1994. *Industrial Chocolate Manufacture and Use, 2th*. Blackie Academic & Professional, Glasgow,UK.

10. Biehl, B. 1984. *Cocoa fermentation and the problem of acidity, overfermentation and low cocoa flavour*. International Conference on Cocoa and Coconuts, Kuala Lumpur, Malaysia. Pp. 1-8.

11. Biehl, B. and Voigt, J. 1996. *Biochemistry of chocolate flavour precursors*. In: International Cocoa Conference, Salvador, Bahia.

12. Biehl, B., Brunner, E., Passern, D., Quesnelh, V.C. and Adomako, D. 1985. *Acidification, Proteolysis and Flavour Potential in Fermenting Cocoa Beans*, 583-598.

13. Anthony Bonaparte, Zaman Alikhani, Chandra A Madramootoo and Vijaya Raghavan. 1998. Some quality characteristics of solar-dried cocoa beans in St Lucia. *J. Sci. Food Agric*. 76: 553-558.

14. Braudeau, J. 1984. *Cây ca cao* (Đoàn Bá Phương dịch). Nhà xuất bản Nông Nghiệp.

15. Bộ Khoa học công nghệ. 2005. *Các tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN) về hạt ca cao*.

16. Bùi Minh Trí. 2008. *Bài giảng sinh lý thực vật.* Trường Đại học Nông Lâm, Thành phố Hồ Chí Minh.

17. Cadbury-Schweppes. 2006. Company Overview [online]. [Accessed 5 September 2006]. Available from the World Wide Web:

18. < http://www.cadburyschweppes.com/EN/AboutUs/CompanyOverview/>.

19. Camu, N., De Winter, Addo. S. K, Takrama, J.S.Bernaert H and De Vuyst, L. 2008a. Fermentation of cocoa beans: influence of microbial activities and polyphenol concentrations on the flavour of chocolate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 88:2288-2297.

20. Camu, N., De Winter, T., Verbrugghe, K., Cleenwerck, I., Vandamme, P., Takrama, J.S., Vancanneyt, M. and De Vuyst, L. 2007. Dynamics and biodiversity of populations of lactic acid bacteria and acetic acid bacteria involved in spontaneous heap fermentation of cocoa beans in Ghana. *Appl. Env.Microbiol*.73: 1809-1824.

21. CARD cocoa project. 2009. *Laboratory analysis manual. Ausaid*.

22. Carr, J.C., Davies, A.P. and Dougan, J. 1979. Cocoa fermentation in Ghana and Malaysia. 7th International Cocoa Research Conference, Douala, Cameroon, vol. 4, pp. 573-576.

23. Crespo. 1985. Measuring Meat Homogenate Consistency with the GOSUC Consistometer, *Food science.*

24. Cục Trồng trọt. 2010. *Báo cáo tình hình sản xuất ca cao 5 năm (2005 - 2010).* Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.

25. Cục Trồng trọt. 2015. *10 năm phát triển ca cao ở Việt Nam, đánh giá và giải pháp phát triển.* Tài liệu hội thảo 10 năm sản xuất ca cao (2005 - 2015) tại Tp HCM.

26. Chen, Y. and Avaid, T. 1990. Effect of humic substances on plant growth. Pp. 161-186. In: *American Society of Agronomy and Soil Science Society of America* (eds).

27. Daniel, H.M., Vrancken, G., Takrama, J.F., Camu, N., De Vos, P. and De Vuyst LYeast diversity of Ghanaian cocoa bean heap fermentations. *FEMS Yeast Res* 9(5):774-83.

28. Daryl D. B. and Brown J. R. 1993. Potassium in Missouri soils. *Agricultural publication GO9 185*. Department of agronomy, University of Missouri-Columbia.

29. De Vuyst, L. Lefeber, T. Papalexandratou Z and Camu, N. 2010. The functional role of lactic acid bacteria in cocoa bean fermentation. *Mozzi F, Raya RR, Vignolo GM (eds) Biotechnology of lactic acid bacteria*: novel applications. Wiley-Blackwell, Ames, 301-325.

30. De Vuyst, L.; Weckx, S. 2016. The cocoa bean fermentation process: from ecosystem analysis to starter culture development. J Appl Microbiol. 121(1):5-17.

31. Dircks Douglas Hugh. 2009. *Investigation into the fermentation of Australian cocoa beans and its effect on microbiology, chemistry and flavor* - University of New South WalesSchool of Chemical Sciences and Engineering Sydney, Australia.

32. Dougan, J., Duncan, R.J.E., Jardine, N.J. and Sammons, P.M. 1981. *Fermentation Trials in Malaysia 1981*. London UK: Cocoa, Chocolate and Confectionary Alliance.

33. Dougan, J., Duncan, R.J.E., Jardine, N.J., Robinson, J.M., Sammons, P.M. and Woodage, C. 1981. *The relationship between oxygen, temperature, acetic and lactic* 365 *acid during cocoa fermentation – A record of fermentation trials performed at CRIG, Tafo, Ghana 1980*. London UK: Cocoa, Chocolate and Confectionary Alliance.

34. Trương Hồng, Đào Thị Lam Hương, Đào thị Lan Hoa, Phan Việt Hà. 2015. *Thực trạng sản xuất ca cao tại Việt Nam.* Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên.

35. Evans, H.J. and Sorger, G.J. 1966. Role of mineral-elements with emphasis on the univalent cat ions. *Ann. Rev., Plant Physio*. 17: 47-76.

36. Fowler, M.S, Leheup, P. and Cordier, J.L. 1998. Cocoa, coffee and tea. *Microbiology of Fermented Foods*, Vol. 1, (WoodBJB, ed), pp.128-147. Blackie Academic and Professional, London, UK.

37. Franke, L.B., Torres, M.A.P. and Lopes, R.R. 2008. Performance of different drying methods and their effects on the hysiological quality of grain sorghum seeds S. bicolor (L.) Moench. *Revista Brasileira de Sementes*, 30, 177-184.

38. Guilloteau, M., Laloi, M., Michaux, S., Bucheli, P., and Mc Carthy, J. 2005. Identification and characterization of the major aspartic proteinase activity in Theobroma cacao seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 85, 549-562.

39. Hansen, C.E., Olmo, M. del and Burri, C. 1998. Enzyme activities in cocoa beans during fermentations. *J. Sci. Food Agric.* 77, 273-281.

40. Hardy, F and Rodrigues, G. 1952. *Quantitative variations in nitrogenous components of the cocoa bean: effect of genetic type and soil type. A report* on Cocoa Research 1945-1951. pp. 89-91. Trinidad: The Imperial College of Tropical Agriculture.

41. Hashim, P., Selamat, J., Muhammad, S., Kharidah, S. and Ali, A. 1998a. Changes in free amino acid, peptide-N, sugar and pyrazine concentration during cocoa fermentation. *J. Sci. Food Agric.* 78, 535-542.

42. Hashim, P., Selamat, J., Muhammad, S., Kharidah, S. and Ali, A.1998b. Effect of mass and turning time on free amino acid, peptide-N, sugar and pyrazine concentration during cocoa fermentation. *J. Sci. Food Agric*. 78, 543-550.

43. Hii, C. L., Law, C. L. and Cloke, M. 2009. Modeling using a new thin layer drying model and product quality of cocoa. *Journal of Food Engineering* 90: 191-198

44. Hii, C.L., Law, C.L., Cloke, M. and Suzannah, S. 2009. Thin layer drying kinetics of cocoa and dried product quality. *Biosystems Engineering*, 102, 153-161.

45. Hoàng Minh Tấn, Vũ Quang Sáng, Nguyễn Kim Thanh. 2004. *Giáo trình sinh lý thực vật*. NXB Đại học Sư phạm.

46. Hoskin, J.C. 1994. Sensory properties of chocolate and their development. *Am. J. Clin. Nutr.* 60, 1068S-1070S. 371

47. Javaria, S., Khan, M.Q. and Bakhsh, I. 2009. Effect of potassium on chemical and sensory attributes of tomato fruit. *The Journal of Animal & Plant Sciences*. 1081-1085.

48. Jeremy O'Brien, 2008. *Potassium in Crop Nutrition*. Metalosate News 9 (8).

49. Jespersen L, Nielsen DS, Hønholt S and Jakobsen M. 2005. Occurrence and diversity of yeasts involved in fermentation of West African cocoa beans. *FEMS Yeast Res* 5*:* 441-453.

50. Jinap, S., Thien, J. and Yap, T.N. 1994. Effect of drying onacidity and volatilefatty acids content of cocoa beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 65, 67-

75.

51. John. L, J and Gene E. Lester. 2007. *Effects of Foliar Potassium Fertilization on Muskmelon Fruit Quality and Yield*. Texas A & M University, Taxas Agricultural Expt Station. Quality and YieldTexas A&M University, Texas Agricultural Expt Station.

52. Jones and Jones. 1984. Fermentations involved in the production of cocoa, coffee and tea. *Progress in Industrial Microbiology.* 19, 411-433.

53. Karam, F., Y. Rouphael, R. Lahoud, J. Breidi and G. Colla. 2009. Influence of genotypes and potassium application rates on yield and potassium use efficiency of potato. J. *Agron*. 8 (1): 27-32.

54. Kumar et al. 2005. Analysis of Multicomponent Seismic Data From the hydrate Ridge, Offshore Oregon.

55. Lagunes-Gálvez S, Loiseau G, Paredes JL, Barel M and Guiraud JP. 2007. Study on the microflora and biochemistry of cocoa fermentation in the Dominican

56. Republic. *Int J Food Microbiol* 114*:* 124–130.

57. Leal, G.A., Jr.; Gomes, L.H.; Efraim, P.; De Almeida Tavares, F. C. and Figueira, A. 2008. Fermentation of cacao (*Theobroma cacao* L.) seeds with a hybrid *Kluyveromyces marxianus* strain improved product quality attributes. *FEMS Yeast Research*, vol. 8 p. 788-798, 2008.

58. Lehrian and Patterson. 1983. Cocoa fermentation, *In G. Reed (ed.), Biotechnology, a comprehensive treatise, Vol. 5.* Pp. 529-575. Basel, Switzerland: Verlag Chemie.

59. Lambert, S. 2010. *Công nghệ sau thu hoạch và Quản lý chất lượng hạt ca cao*. Tài liệu Hội thảo. Cục Trồng trọt, Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn tổ chức tại Thành phố Hồ Chí Minh.

60. Lambert Smilja. 2012. Lịch sử về ca cao và chocolate. Lê Hồng Quang dịch. Trường Đại học Nông Lâm Tp Hồ Chí Minh. (http://www2.hcmuaf.edu.vn/data/lhquang/file/TCC-AP/Cocoa%20lecture.pdf).

61. Lester. G. E. 2005. Whole plant applied potassium: Effect on cantaloupe fruit sugar content and related human wellness compounds. *Acta Horticulturae*. 682: 487-492.

62. Lê Quang Hưng. 2012. *Ảnh hưởng của độ chín của quả và chế độ nhiệt đến sự nảy mầm hạt ca cao (Theobroma cacao)*. Hội nghị Khoa học Đại học Nông Lâm TP HCM lần 8, 146-149.

63. Lê Quang Hưng. 2012. *Khảo sát sinh trưởng, năng suất và chất lượng bốn dòng ca cao TD3, TD5, TD6, TD7 tại xã Đông Xuân, huyện Chợ Gạo, tỉnh Tiền Giang*. Hội nghị Khoa học Khoa Nông học. Đại học Nông Lâm TP HCM.

64. Lê Văn Dũ. 2003. *Độ phì nhiêu của đất và sử dụng phân bón*. Giáo trình nông hóa thổ nhưỡng, Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh.

65. Lê Duy Mì. 1979. Kết quả nghiên cứu chuyên đề chính về thổ nhưỡng nông hoá giai đoạn 1969 - 1979. Nhà xuất bản Nông Nghiệp.

66. Lifang, H., Fan, S., Libo, F., and Zongsheng Z. 2001. Effects of Phosphorus, Potassium, Sulfur and Magnesium on Sugar Cane Yield and Quality in Yunnan. Better Crops International 15(1).

67. Li, Y., Elson, M., Zhang,D., Sicher, R., Liang .H.,Meinhardt, L. and Baligar .V. 2013. "Physiological Traits and Metabolites of Cacao Seedlings Influenced by Potassium in Growth Medium," *American Journal of Plant Sciences*, Vol. 4 No. 5.

68. Marschner, H. 1986. Mineral nutrition in higher plants. *New York: Academic Press.*

69. Mars Inc. 2007. Tài liệu lưu hành nội bộ.

70. McDonald, C. R., Lass, R. A. and Lopez, A. S. F. 1981. Cocoa drying- Cocoa drying- A reveiew. *Cocoa grower bulletin*, 31: 5- 41

71. Minifie, W. 1980. *Chocolate, Cocoa and Confectionary: Science and Technology.*, 2nd ed'n. Connecticut USA: AVI Publishing Co. Inc.

72. Nazaruddin, R., Seng, L.K., Hassan, O. and Said, M. 2006. Effect of pulp preconditioning on the content of polyphenols in cocoa beans (*Theobroma cacao* L) during fermentation. *Industrial Crops and Products*, 24, 87-94.

73. Nielsen, D.S., Hønholt, S., Tano-Debrah, K. and Jespersen, L. 2005. Yeast populations associated with Ghanaian cocoa fermentations analysed using denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). *Yeast* 22, 271-284.

74. Nielsen, D.S., Schillinger, U., Franz, C.M.A-P., Bresciani, J., Amoa-Awua, W., Holzapfel, WH. and Jakobsen, M. 2007a. Lactobacillus ghanesis sp. nov., a motile lactic acid bacterium isolated from Ghanaian cocoa ermentations. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*57: 1468-1472.

75. Nielsen, D.S., Teniola, O.D., Ban-Koffi, L. Owusu, M., Andersson, T.S. and

Holzapfel, W.H. 2007b. The microbiology of Ghanaian cocoa fermentations analysed by using culture-dependent and culture independent methods. *Int.J. Food Microbiol*. 114, 168-186.

76. Ngit-Minh Hong. 2002. *Development History of Zero - shade Cocoa and Its Theories: Let There Be Light*. 2nd Edition.

77. Nguyễn Đức Hiền. 2001. *Khảo sát thành phần bệnh hại trên cây ca cao , bước đầu thử nghiệm phòng trừ bệnh thán thư và bệnh chết cây con ca cao tại trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh*.

78. Nguyễn Văn Uyển, 2008. *Nghề trồng cây ca cao.* Nhà xuất bản Nông Nghiệp.

79. Nguyễn Thị Phượng, Nguyễn Huy Mạnh, Trần Đình Phả, Nguyễn Thị Hằng Nga, Trần Thị Hường, Lục Thị Thanh Thêm. 2011. Đánh giá tác hại của sâu, bệnh trên một số giống cao lương ngọt tại xã Bảo Sơn, huyện Lục Nam, tỉnh Bắc Giang. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam. Số 3(24).

80. Fageria, N. K., Baligar, V. C. and Clark, R. B. 1942. *Physiology of crop production*. New York : Food Products Press, c2006.

81. *Kỹ thuật trồng ca cao ở Việt Nam*. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

82. *Báo cáo kết quả đề tài khảo nghiệm một số dòng ca cao (Theobroma ca cao* L.*) có triển vọng tại tỉnh Lâm Đồng*. Sở Khoa học Công nghệ Lâm Đồng.

83. Phạm Hồng Đức Phước, *Kỹ thuật trồng ca cao ở Việt Nam*. Giáo trình bài giảng.

84. Phạm Hồng Đức Phước, Phdphuoc.com > tài liệu kỹ thuật.

85. Phạm Hồng Đức Phước, *Kỹ thuật trồng ca cao ở Việt Nam*. Giáo trình bài giảng.

86. Phạm Thế Trịnh, 2012. Nghiên cứu đặc điểm sử dụng đất FRr (Ferralsols) tỉnh Đăk Lăk. *Tạp chí Khoa học và Phát triển.* Số 7:1024-1031.

87. Pharmaceutical Society of Japan, Tokyo, Health Pharmaceutical Committee. 2002. Fungal identification methods based on DNA sequence. In: *Material of Public Health Council (Kousu-Eisei-kyogikai-shiryo in Japanese*). pp 5-6.

88. Rohan, T.A. 1958. Observations on the fermentation of West African. Amelonado Cocoa. *Report of the Cocoa Conference, The cocoa, Chocolate and Confectionary Alliance,* London UK. Pp.203-211.

89. Schwan, R.F. Rose, A.H and Board, R.G. 1995. Microbial fermentation of cocoa beans, with emphasis on enzymatic degradation of the pulp. *J. Appl. Bacteriol*. Symp.

Suppl. 79: 96S-107S.

90. Schwan, R.F.1998. Cocoa fermentations conducted with a defined microbial cocktail inoculum. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, p.1477-1483.

91. Schwan, R.F. and Wheals, A.E. 2004. The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44, 205-211.

92. Sladky, Z. 1959. *The effect of extracted humus substances on growth of tomato plants*. Biol. Plant.

93. Suelter C. H. 1970. Enzyme activated by monovalent cation. *Science* 168: 798- 795.

94. Tagro Simplice Guehi, Irie´BiZahouli, Louis Banamaterial Koffi, Monke´ Adrien Fae and Jean Gnopo Nemlin Taubert. 2007. Performance of different drying methods and their effect on chemical attributes of raw cocoa material. *International Journal of Food Science and Technology 2010*, 45, 1564-1571.

95. Tagro Simplice Guehi, Dabonne S, L. Ban-Koffi, D. Kra Kedjebo and G. Irie B. Zahouli, 2010. Effect of Turning Beans and Fermentation Method on the Acidity and Physical Quality of Raw Cocoa Beans. *Advance Journal of Food Science and Technology 2(3)*: 163-171, 2010.

96. Thompson, S.S., Miller, K.B. and Lopez, A.S., 2007. Cocoa and coffee. In: *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers.* 3rd Ed'n. Doyle, M.P. and Beuchat, L.R. Pp. 837-850. Washington, DC: ASM Press.

97. Trung tâm Khuyến nông Quốc gia. 2010. *Báo cáo tại Hội thảo về tình hình sản xuất ca cao 5 năm (2005 - 2010).* Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.

98. Wood, G. A. R. and Lass, R. A. 1985. *Cocoa*, 4th edn. Long manInc., NewYork

99. Wood, G.A.R. and Lass, R. A. 2001. *Cocoa*. Fourth edition. MPG Books Ltd. Bodmin, Cornwall.

100. Wood, G.A.R. and Lass. R.A. 1985. *Cocoa. 4th ed*. London UK: Blackwell Science.

101. Wuzhong, N. 2002. Yield and Quality of Fruits of Solanaceous Crops as Affected by Potassium Fertilization. *Better Crops International*. 16(1): 6-8.

102. Wyrley. E - Birch. 1973. *Cocoa Planting Manuan.* Jabatan Pertanian. Sabah, Malaysia.

PHỤ LỤC 1. MẪU CÂU HỎI PHỎNG VẤN NÔNG HỘ

Họ và tên nông hộ: …… Ngày phỏng vấn:..……...
Huyện:…….....Tỉnh:……
Thông tin về hiện trạng canh tác ca cao của các nông hộ
1. Giống cây ca cao gia đình đang trồng:
- Cây giống thực sinh từ hạt lai F1 □ - Cây giống thực sinh tự gieo ươm □
- Cây giống ghép □
2. Diện tích trồng cây ca cao của nông hộ:
- < 3000 m2 □ - 3000 - < 5000 m2 □
- 5000 - < 10.000 m2 □ - ≥ 10000 m2 □
3. Mô hình canh tác cây ca cao:
- Trồng thuần cây ca cao □ - Trồng xen với cây dừa □
- Trồng xen với cây điều □ - Trồng xen với cây khác □
4. Năng suất thu bình quân hàng năm:
- < 0,5 kg hạt khô/cây □ - 0,5 - 1,0 kg hạt khô/cây □
- 1,1 - 1,5 kg hạt khô/cây □ - 1,6 - 2,0 kg hạt khô/cây □
5. Phương thức thu hoạch:
- Hái đồng loạt □ - Hái lựa trái chín □
6. Thời gian lưu trữ trái:
- Trữ trái có mục đích □ - Trữ trái không mục đích □
7. Xử lý hạt ướt:
- Ủ hạt lên men theo truyền thống □ - Ép hạt lấy dịch trước khi ủ lên men □
8. Thời gian ủ lên men hạt:
- < 4,5 ngày □ - > 4,5 ngày □
9. Biện pháp lên men hạt:
- Lên men thúng □ - Lên men đống □
- Lên men thùng □
10. Số lần đảo trộn khối ủ
- Đảo trộn 1 lần □ - Đảo trộn 2 lần □
- Đảo trộn 3 lần □ - Đảo trộn hàng ngày □
11. Biện pháp làm khô hạt:
- Phơi trực tiếp trên nền xi măng □ - Phơi trên bạt nhựa □
- Phơi trên giàn có mái che □ - Dùng lò sấy □
12. Các loại phân bón thường dùng:
N-P-K 20 - 20 - 15/16 - 16 - 8 □
N-P-K 13 - 11 - 21/12 - 12 - 17 □
Phân đơn (urê + lân + kali) □
13. Hình thức bón phân:
- Bón rải trên mặt đất □

- Bón lấp phân □
- Bón qua hệ thống tưới nhỏ giọt □

14. Mức độ xuất hiện các loại sâu hại cây ca cao:

- Rệp sáp: Ít phổ biến □; Phổ biến □; Rất phổ biến □.
- Bệnh VSĐ: Ít phổ biến □; Phổ biến □; Rất phổ biến □.
- Bọ xít muỗi: Ít phổ biến □; Phổ biến □; Rất phổ biến □.
- Sâu hại cây khác: ……

Ít phổ biến □; Phổ biến □; Rất phổ biến □.

15. Mức độ xuất hiện các loại bệnh hại cây ca cao:

- Thối trái: Ít phổ biến □; Phổ biến □; Rất phổ biến □.
- Nấm hồng: Ít phổ biến □; Phổ biến □; Rất phổ biến □.
- Khô thân: Ít phổ biến □; Phổ biến □; Rất phổ biến □.
- Bệnh VSĐ: Ít phổ biến □; Phổ biến □; Rất phổ biến □.
- Bệnh hại cây khác: …….

Ít phổ biến □; Phổ biến □; Rất phổ biến □.

Ghi chú: Đánh gía mức độ phổ biến của sâu, bệnh theo thang phân cấp sau:

Ít phổ biến: tần suất bắt gặp từ 0 - 25% cây bị nhiễm sâu, bệnh (+)

Phổ biến: tần suất bắt gặp từ 25 - 50% cây bị nhiễm sâu, bệnh (++)

Rất phổ biến: tần suất bắt gặp > 50% cây bị nhiễm sâu, bệnh (+++)

16. Sử dụng thuốc bảo vệ thực vật:

- Khi xuất hiện cây bị nhiễm sâu, bệnh □
- Phun định kỳ phòng sâu, bệnh □
- Không sử dụng. Chỉ áp dụng biện pháp phòng ngừa sâu bệnh khác (thiên địch, biện pháp dân gian như hun khói đuổi bọ xit muỗi) □

PHỤ LỤC 2. THỐNG KÊ KẾT QUẢ KHẢO SÁT CÁC NÔNG HỘ

TT	Địa điểm	Đồng Nai	Đăk Lăk	Bến Tre	Tổng	
	Số hộ điều tra	50	50	50	Số lượng	Tỷ lệ (%)
1	Cơ cấu giống ca cao đã trồng của các nông hộ					
a	Giống ghép	50	47	48	145	96,67
b	Giống thực sinh từ cây lai F1	0	3	2	5	3,33
c	Giống thực sinh người tự gieo ươm	0	0	0	0	0
2	Diện tích trồng ca cao của các nông hộ					
a	< 3.000 m2	3	0	41	44	29,33
b	3.000 - ≤ 5.000 m2	8	6	7	21	14,00
c	5.000 - <10.000 m2	37	43	2	82	54,67
d	≥ 10.000 m2	1	1		2	1,33
3	Mô hình canh tác ca cao của các nông hộ					
a	Trồng thuần	37	48	0	85	56,67
b	Trồng xen dừa	0	0	41	41	27,33
c	Trồng xen điều	12	0	0	12	8,00
d	Trồng xen cây khác	1	2	4	7	4,67
4	Năng suất hạt ca cao của các nông hộ					
a	< 0,5 kg hạt khô/cây	6	3	3	12	8,00
b	0,5 - < 1,0 kg hạt khô/cây	4	7	3	14	9,33
c	1,0 - < 1,5 kg hạt khô/cây	33	8	10	51	34,00
d	> 1,5 kg hạt khô/cây	7	32	34	73	48,67
5	Thu hoạch và trữ trái tươi của các nông hộ					
a	Lựa trái chín	41	5	50	96	64,00
b	Hái đồng loạt	9	45	0	54	36,00
6	Trữ trái tươi của các nông hộ					
a	Trữ trái có mục đích (5 - 7 ngày)	23	0	35	58	38,67
b	Trữ trái không mục đích	27	50	15	92	61,33
7	Biện pháp xử lý hạt ướt của các nông hộ					
a	Ủ hạt lên men theo truyền thống	44	50	50	144	96,00
b	Ép hạt lấy dịch trước khi ủ lên men	6	0	0	6	4,00
8	Thời gian ủ hạt lên men					

a	> 4,5 ngày	41	5	50	96	64,00
b	< 4,5 ngày	9	45	0	54	36,00
9	Phương pháp lên men					
a	Lên men thúng	0	0	0	0	0
b	Lên men đống	0	0	0	0	0
c	Lên men thùng	50	50	50	150	100,00
10	Số lần đảo trộn khối ủ					
a	1 lần	3	5	5	13	8,67
b	2 lần	47	45	45	137	91,33
c	3 lần	0	0	0	0	0
11	Biện pháp làm khô hạt của các nông hộ					
a	Phơi hạt trên nền xi măng	6	41	0	47	31,33
b	Phơi hạt trên bạt nhựa	8	7	0	15	10,00
c	Phơi hạt trên giàn có mái che	36	2	50	88	58,67
d	Sấy	0	0	0	0	0
12	Loại phân bón thường dùng					
a	NPK 20-20-15 /16-16-8	6	41	0	47	31,33
b	N-P-K 13-11-21 /12-12-17	8	7	0	15	10,00
c	Phân đơn (urê+lân+kali)	36	2	50	88	58,67
13	Hình thức bón					
a	Bón rải trên mặt đất	6	41	0	47	31,33
b	Bón lấp phân	8	7	0	15	10,00
c	Bón qua hệ thống tưới nhỏ giọt	36	2	50	88	58,67
14	Tình hình xuất hiện các sâu bệnh hại ở các vườn ca cao của nông hộ					
a	Thối trái do Phytophthora					
	Xuất hiện	50	50	50	150	100,00
	Không xuất hiện	0	0	0	0	0
b	Nấm hồng Cortcium salmoncolor					
	Xuất hiện	7	6	3	16	10,67
	Không xuất hiện	43	44	47	134	89,33
c	Khô thân Collectotrichum ,Fusarium					
	Xuất hiện	42	45	8	95	63,33
	Không xuất hiện	8	5	42	55	36,67
d	Rệp sáp Planococcus citri					
	Xuất hiện	50	50	50	150	100,00
	Không xuất hiện	0	0	0	0	0
đ	Bệnh VSĐ Oncobasidium theobromae					
	Xuất hiện	13	0	6	19	12,67
	Không xuất hiện	37	50	44	131	87,33
e	Bọ xít muỗi Helopeltis					
	Xuất hiện	50	50	50	150	100,00

	Không xuất hiện	0	0	0	0	0
15	Tình hình sử dụng thuốc bảo vệ thực vật của các nông hộ					
a	Sử dụng thuốc BVTV khi xuất hiện cây bị sâu bệnh hại	44	80	100	224	149,33
b	Phun định kỳ	6	20	0	26	17,33
c	Sử dụng biện pháp khác phòng sâu bệnh hại	0	0	0	0	0

PHỤ LỤC 3. MẪU CÂU HỎI PHỎNG VẤN NÔNG HỘ

I/ Tên chủ hộ: Trại Phong, huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng
Ngày tháng phỏng vấn: 30/12/2011

Nội dung hỏi	Trả lời của người dân
Địa hình đất trồng cây ca cao?	Tương đối bằng phẳng, độ dốc không đáng kể dưới 8o
Loại đất	Đất đỏ bazan
Gia đình trồng giống gì?	Hỗn hợp các dòng Trinitario, loại cây ghép có nguồn gốc từ trường đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh.
Diện tích trồng?	10.000 m2
Trồng bằng hạt, cành, cây con?	Cây con
Trồng khi nào?	2006
Gia đình làm đất trồng chùm ngây như thế nào?	Đào hố trồng cây
Mật độ trồng như thế nào?	cây x cây = 3 x 3 m
Có trồng xen không?	Không, chỉ trồng cây che bóng rải đều khắp vườn cây, mật độ che phủ 30%
Có tỉa cành tạo tán không?	Có, 1 lần/năm
Có làm cỏ không?	Có, 2 lần làm cỏ bồn/năm, thỉnh thoảng có xịt thuốc cỏ khi thiếu công lao động
Có tưới nước không?	Có, dùng hệ thống tưới nhỏ giọt. Năm 2011 hệ thống tưới nhỏ giọt bị hỏng nên sử dụng vòi tưới lấy nước từ giếng và chỉ tưới khi cây ra hoa hoặc lúc bón phân mà trời không mưa.
Có bón phân cho cây ca cao không?	Có
- Phân chuồng (kg/1000 m2)	Không
- Lân (kg/1000 m2)	Không
- Kali (kg/1000 m2)	Không
- Vôi (kg/1000 m2)	Không
- NPK tổng hợp	Có, bón 660 kg/ha
- Bón như thế nào?	Bón rải trên mặt đất
Sâu hại chính là sâu gì?	Bọ xít muỗi, rệp sáp
Bệnh hại chính là bệnh gì?	Bệnh thối trái do Phytophthora
Số lần phun thuốc/năm?	Chỉ phun khi sâu bệnh xuất hiện phổ biến, không phun định kỳ để phòng ngừa sâu bệnh, loại thuốc mua tại điểm bán thuốc bảo vệ thực vật không nhớ tên thuốc.
Thời gian thu hoạch	Trái chín chính vụ: tháng 11, 12 và tháng 3, 4 hàng năm. Ngoài ra trái chín rải rác quanh năm
Sơ chế sau thu hoạch như thế nào?	Trữ trái 3 - 5 ngày, lên men 6 ngày trong thùng nhựa, phơi trên bạt nhựa, trực tiếp dưới ánh nắng mặt trời.
Năng suất hạt khô/ha năm 2011	880 kg/ha
Bán ở đâu?	Đại lý thu mua

II/ Tên chủ hộ: Vườn ca cao, huyện Trảng Bom, tỉnh Đồng Nai
Ngày tháng phỏng vấn: 20/12/2011

Nội dung hỏi	Trả lời của người dân

Địa hình đất trồng cây ca cao?	Tương đối bằng phẳng, độ dốc không đáng kể dưới 5o
Loại đất	Đất xám phù sa cổ bạc màu
Gia đình trồng giống gì?	Hỗn hợp các dòng Trinitario, loại cây ghép có nguồn gốc từ trường đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh.
Diện tích trồng?	80.000 m2
Trồng bằng hạt, cành, cây con?	Cây con
Trồng khi nào?	2006
Gia đình làm đất trồng chùm ngây như thế nào?	Đào hố trồng cây
Mật độ trồng như thế nào?	cây x cây = 3 x 3 m
Có trồng xen không?	Không, chỉ trồng cây che bóng rải đều khắp vườn cây, mật độ che phủ 30%
Có tỉa cành tạo tán không?	Có, 1 lần/năm
Có làm cỏ không?	Có, 2 lần làm cỏ bồn/năm, thỉnh thoảng có xịt thuốc cỏ khi thiếu công lao động
Có tưới nước không?	Có, dùng hệ thống tưới nhỏ giọt
Có bón phân cho cây ca cao không?	Có
- Phân chuồng (kg/1000 m2)	Không
- Lân (kg/1000 m2)	Không
- Kali (kg/1000 m2)	Không
- Vôi (kg/1000 m2)	Không
- NPK tổng hợp	Có, bón 660 kg/ha
- Bón như thế nào?	Bón rải trên mặt đất
Sâu hại chính là sâu gì?	Bọ xít muỗi, rệp sáp
Bệnh hại chính là bệnh gì?	Bệnh thối trái do Phytophthora
Số lần phun thuốc/năm?	Chỉ phun khi sâu bệnh xuất hiện phổ biến, không phun định kỳ để phòng ngừa sâu bệnh, loại thuốc mua tại điểm bán thuốc bảo vệ thực vật không nhớ tên thuốc.
Thời gian thu hoạch	Trái chín chính vụ: tháng 11, 12 và tháng 3, 4 hàng năm. Ngoài ra trái chín rải rác quanh năm
Sơ chế sau thu hoạch như thế nào?	Trữ trái 7 ngày, lên men 6 ngày trong thùng nhựa, phơi trên bạc trực tiếp dưới ánh nắng mặt trời.
Năng suất hạt khô/ha năm 2011	770 kg/ha
Bán ở đâu?	Đại lý thu mua

PHỤ LỤC 4. PHIẾU KHẢO SÁT CƠ SỞ THU MUA VÀ SƠ CHẾ HẠT CA CAO

I. Thông tin tổng quát.
1. Tên Doanh nghiệp:
2. Địa chỉ:
Điện thoại:
Email:
Website:
3. Loại hình doanh nghiệp:
☐ Nhà nước ☐ Tư nhân
☐ Có vốn đầu tư nước ngoài ☐ Loại khác:……..
4. Lĩnh vực hoạt động:
……
……
5. Người trả lời phỏng vấn: -
Chức vụ:
II. Thông tin về hoạt động
1. Nguồn nguyên liệu đầu vào của doanh nghiệp để sản xuất sản phẩm?
☐ Tự sản xuất ☐ Mua gom từ các nguồn nguyên liệu
☐ Mua từ doanh nghiệp nội địa ☐ Khác (nêu rõ): ……
2. Doanh nghiệp đã và đang bán ca cao tại các thị trường nào dưới đây?
☐ Trong nước
☐ Hoa Kỳ ☐ Trung Quốc ☐ Nhật Bản
☐ châu Phi ☐ ASEAN ☐ châu Úc
☐ Thị trường khác (nêu rõ): ……
3. Chất lượng hạt ca cao có quyết định đến giá bán?
☐ Có
☐ Không
4. Độ chua có ảnh hưởng đến chất lượng hạt hay không?
☐ Có
☐ Không
5. Nếu các thông số kỹ thuật khác đều tốt (tỉ lệ lên men cao, không có hạt chai xám, hạt mốc, hạt bị sâu …) và thêm hạt không hoặc ít chua thì giá bán trên thị trường được cộng thêm bao nhiêu USD/tấn?
☐ Không được cộng thêm. ☐ 50 - 190 USD/tấn.
☐ 200 – 290 USD/tấn. ☐ 300 - 390 USD/tấn.
Khác ……
Xin trân trọng cảm ơn Quý đơn vị đã dành thời gian trả lời các câu hỏi trong phiếu điều tra. Những thông tin của Quý đơn vị cung cấp có ý nghĩa quan trọng, giúp cho nghiên cứu sinh hoàn thành tốt luận án.

PHỤ LỤC 5. MẪU CÂU HỎI PHỎNG VẤN CƠ SỞ THU MUA VÀ SƠ CHẾ HẠT CA CAO

1/ Phỏng vấn Doanh nghiệp:
Tên Doanh nghiệp: Công ty TNHH TM- DV-SX ca cao Thành Đạt, huyện Châu Đức, Thành phố Bà Rịa - Vũng Tàu.
Người được phỏng vấn: Ông: Trịnh Văn Thành - Giám Đốc công ty.
Ngày tháng phỏng vấn: 12 / 5 / 2017.

Nội dung hỏi	Trả lời của chủ Doanh nghiệp
Xin ông cho biết công ty có phân biệt loại hạt ca cao bằng giá cả thu mua hay không? Nếu có thì căn cứ trên những tiêu chuẩn nào?	Giá ca cao theo thị trường Luân Đôn hiện nay tính theo tiền Việt Nam từ 52.000 - 53.000 đồng/kg hạt khô. Nếu các nông hộ kiểm soát được nguồn giống, kiểm sóat được quá trình lên men và làm khô hạt thì công ty sẽ thu mua với giá 86.000 - 89.000 đồng/kg hạt khô.

2/ Phỏng vấn Chuyên gia:
Người được phỏng vấn: TS Phạm Hồng Đức Phước, Trường Đại học nông Lâm TP HCM, chuyên gia đầu ngành trong lĩnh vực ca cao tại Việt Nam.
Hiện đang làm cố vấn cho công ty TNHH Ca Cao Nông Lâm. Số 202 Vạn Kiếp, Phường 3, Quận Bình Thạnh, TP Hồ Chí Minh.
Ngày tháng phỏng vấn: 12 / 5 / 2017.

Nội dung hỏi	Trả lời của chuyên gia
Xin Thầy cho biết việc nâng cao chất lượng hạt ca cao Việt Nam sẽ mang lại lợi ích như thế nào cho người sản xuất?	Hạt ca cao thành phẩm nếu đạt tiêu chuẩn của các công ty thu mua lớn về giá trị pH, độ ẩm, số hạt/100g, tỉ lệ rác thải thấp, hạt đồng đều… giá thu mua có thể tăng gấp đôi giá thị trường tại cùng một thời điểm

3/ Phỏng vấn chủ điểm thu mua:
1. Người được phỏng vấn: Bà Ka Hiên (chủ điểm thu mua), Thôn Phước Dũng, xã Phước Lộc, huyện Đạ huoai, tỉnh Lâm Đồng.
Hiện là chủ điểm thu mua ca cao PHI NÔM tại xã Phước lộc, Đạ Huoai, tỉnh Lâm Đồng.
Ngày tháng phỏng vấn: 12 / 5 / 2017.

Nội dung hỏi	Trả lời của chủ điểm thu mua
Xin Bà cho biết việc tuân thủ quy trình canh tác, kỹ thuật lên men sơ chế hạt của các hộ trồng ca cao trong vùng theo khuyến cáo của Trung tâm Khuyến nông của tỉnh Lâm Đồng hay không?. Có cơ chế cộng thưởng vào giá bán ca cao khô để khuyến khích nông hộ tập trung sản xuất hạt ca cao chất lượng không?	Lượng ca cao thu mua chủ yếu là trong xã Phước Lộc nên không nhiều, vì là vùng tập trung đồng bào dân tộc thiểu số nên diện tích trồng của từng hộ nhỏ (< 0,3 ha), quy trình kỹ thuật không chăm sóc đúng như khuyến cáo, đa số hộ không bón phân hoặc bón rất ít không đủ cho nhu cầu của cây vì vậy năng suất khá thấp, không kiểm sóat được quy trình lên men tại các hộ nên không kiểm soát được vấn đề chất lượng do đó điểm thu mua này chỉ thu gom ca cao trong vùng, bán lại cho các đại lý thu mua lớn hơn theo giá thị trường mà không được cộng thêm giá thưởng.

2. Người được phỏng vấn: ông Trần Hồng Sơn. Đại lý thu mua ca cao, xã Phú Đức, huyện Châu Thành, tỉnh Bến Tre.
Ngày tháng phỏng vấn: 12 / 5 / 2017.

Nội dung hỏi	Trả lời của chủ đại lý
Xin Ông cho biết đại lý thu mua loại sản phẩm nào từ cây ca cao? Giá mua có phân biệt cấp hạt không? Đại lý sẽ bán lại cho đơn vị nào? Giá thưởng của bên mua cho đại lý như thế nào?	Đại lý tổ chức thu mua (1) trái tươi sau đó sẽ đập trái và lên men tại cơ sở; (2) thu mua hạt tươi để giảm khối lượng sản phẩm vận chuyển, sau đó đại lý tiến hành việc lên men hạt; (3) hạt khô do người dân tự lên men, phơi khô mang đến. Tiêu chuẩn phân loại hạt thu mua cũng phải theo tiêu chí đưa ra của công ty thu mua cho đại lý. Nếu hạt ca cao được kiểm soát quá trình lên men hạt sạch và đáp ứng tiêu chuẩn của công ty về chất lượng(qua bộ phận thẩm định) thì giá được trả sẽ cao hơn giá hiện tại trên thị trường.

PHỤ LỤC 6. CÁC LOẠI THUỐC BẢO VỆ THỰC VẬT NÔNG HỘ THƯỜNG SỬ DỤNG

Số liệu thu thập được qua phỏng vấn các nông hộ và bao bì các loại thuốc bảo vệ thực vật còn lưu lại tại vườn ca cao.

Thuốc BVTV trừ bọ xít muỗi (Tên thương mại)	Số hộ sử dụng (%)	Thuốc trị bệnh thối trái (Tên thương mại)	Số hộ sử dụng (%)
Motox 5 EC	26	Cos 85	35
Alika 274ZC	5	Carbenzim	13
Karate	9	Norshield 86.2WG	16
Proclaim 1.9 EC	14	Agri-fos 400	8
Actara 25WG	2	Antracol	7
Bassa 50EC	5	Aliette	11
FM-Tox 50EC	11	Ridomil gold	10
Mospilan 3EC	6		
Vibasa 50ND	3		
Cymerin 10EC	3		
Fertox 5EC	7		
Confidor 100SL	1		
Bi 58	8		
Lorsban, Pyrinex	7		

PHỤ LỤC 7. BỘ TIÊU CHUẨN VIỆT NAM ĐỐI VỚI CA CAO

Một số thuật ngữ trong TCVN 7518 : 2005

Thuật ngữ	Giải thích thuật ngữ
Hạt của cây ca cao	Hạt cây ca cao (Theobromaca cao Linnaeus), còn nguyên vẹn, đã được lên men và làm khô.
Hạt ca cao khô	Hạt ca cao đã được làm khô đến độ ẩm quy định (không vượt quá 7,5%).
Hạt khuyết tật	Hạt ca cao bị mốc bên trong, bị xám màu, bị hư hại do côn trùng, bị nhiễm côn trùng hoặc bị nảy mầm.
Hạt mốc	Hạt ca cao bên trong bị mốc và có thể nhìn bằng mắt thường.
Hạt xám màu	Hạt ca cao bị xám màu trên một nửa bề mặt hoặc lớn hơn khi kiểm tra cắt hạt.
Hạt bị hư hại do côn trùng/nhiễm côn trùng	Hạt ca cao có các phần bên trong chứa côn trùng ở bất kỳ giai đoạn phát triển nào hoặc đã bị côn trùng làm hư hỏng mà có thể nhìn thấy rõ bằng mắt thường.
Hạt nảy mầm	Hạt ca cao có vỏ bị đâm thủng, nứt hoặc vỡ do mầm hạt phát triển.
Hạt lép	Hạt ca cao có hai lá mầm quá mỏng để có thể cắt được nguyên chiều dài lá mầm.
Hạt ám khói	Hạt ca cao có mùi hoặc vị hoặc có biểu hiện bên ngoài bị ám khói.
Hạt ca cao đã lên men	Hạt ca cao có màu sắc của lá mầm được chuyển từ màu đỏ tía và màu nâu từng phần sang màu nâu hoàn toàn.
Hạt vỡ	Hạt ca cao bị mất một mảnh nhỏ hơn hoặc bằng một nửa hạt.
Số hạt trong 100g	Tổng số hạt ca cao đếm được (không kể hạt lép và hạt vỡ) có trong 100 g.
Tạp chất lạ	Bất kỳ chất nào không có nguồn gốc từ ca cao.
Rác thải	Hạt lép, mảnh vỡ, mảnh vỏ và mảnh hạt, bụi, màng quả khô, thịt quả khô và cuống chùm.

Tiêu chuẩn Việt Nam về "Hạt ca cao - Yêu cầu kỹ thuật" (TCVN 7519 : 2005) xác định các yêu cầu đối với hạt ca cao như sau:

- Không được có tạp chất lạ.
- Không được có mùi khói.
- Không có mùi hoặc vị lạ.
- Không được chứa côn trùng sống.
- Đồng đều về kích cỡ hạt.
- Không có hạt dính đôi, dính ba.
- Khô đều.
- Được lên men hoàn toàn.

Theo đó, khi một hạt có một vài khuyết tật, thì chỉ được phân loại theo một hạng, nghĩa là theo khuyết tật nặng nhất. Theo thứ tự giảm dần như sau:

- Hạt mốc.
- Hạt xám màu.
- Hạt bị hư hại/bị nhiễm côn trùng và hạt nảy mầm.

PHỤ LỤC 8. TÌNH HÌNH THỜI TIẾT KHÍ HẬU TỈNH ĐỒNG NAI NĂM 2012, 2013

Thời gian (tháng)	2012				2013			
	Độ ẩm (%)	Lượng mưa (mm)	Số giờ nắng (giờ)	Nhiệt độ (oC)	Độ ẩm (%)	Lượng mưa (mm)	Số giờ nắng (giờ)	Nhiệt độ (oC)
1	76	8,7	190,3	25,5	76	19,0	207,3	24,9
2	74	37,7	226,1	26,3	68	0,1	228,3	26,9
3	72	68,4	240,9	27,6	74	24,7	258,7	27,6
4	81	312,1	242,3	27,3	77	84,8	191,8	28,6
5	86	263,1	255,8	27,0	84	103,9	204,7	27,9
6	87	273,7	178,2	26,5	89	315,3	147,1	26,5
7	87	494,0	192,7	25,9	88	179,3	148,8	26,2
8	87	202,5	217,7	26,6	87	234,4	172,0	26,1
9	91	598,9	121,7	25,4	88	394,1	113,9	25,6
10	85	128,6	191,7	26,2	87	161,6	170,4	25,9
11	81	34,3	218,0	26,7	84	87,3	180,7	25,8
12	77	7,6	229,0	26,2	82	3,7	149,4	24,5
TB	82	2.429,6	2.504,4	26,4	82	1.608,2	2.173,1	26,4

(Nguồn: Niên giám thống kê Đồng Nai, năm 2015)

PHỤ LỤC 9. TÌNH HÌNH THỜI TIẾT KHÍ HẬU TỈNH LÂM ĐỒNG NĂM 2012, 2013

Thời gian (tháng)	2012				2013			
	Độ ẩm (%)	Lượng mưa (mm)	Số giờ nắng (giờ)	Nhiệt độ (oC)	Độ ẩm (%)	Lượng mưa (mm)	Số giờ nắng (giờ)	Nhiệt độ (oC)
1	81	126	180	21.0	77	15	206	21.0
2	80	89	204	22.0	72	35	233	22.6
3	79	196	207	22.7	78	248	227	23.1
4	82	264	217	23.1	81	161	194	24.1
5	89	207	208	23.3	84	253	199	24.2
6	91	444	139	22.4	88	441	137	23.3
7	90	351	163	22.2	88	447	133	22.6
8	89	279	158	22.7	90	190	33	22.3
9	91	525	97	22.0	92	464	81	21.7
10	85	159	191	22.4	89	498	162	21.9
11	85	249	195	22.5	85	137	158	21.8
12	78	11	225	22.0	83	38	182	20.1
TB	85	2.900	2.184	22,4	84	2.927	1.945	22.4

(Nguồn: Niên giám thống kê Lâm Đồng, năm 2015)

PHỤ LỤC 10. KẾT QUẢ T-TEST VỀ CÁC CHỈ TIÊU CHẤT LƯỢNG HẠT CA CAO MỘT SỐ VÙNG Ở VIỆT NAM

1. Kết quả t- test điều tra số hạt/100 gram

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	1.40575556	0.70287778	42.77	0.0003
Error	6	0.09860000	0.01643333		
Corrected Total	8	1.50435556			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.934457	0.130016	0.128193	98.59778

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	6
Error Mean Square	0.016433
Critical Value of t	3.70743
Least Significant Difference	0.3881

t Grouping	Mean	N	K
A	99.0067	3	1
A	98.7233	3	2
B	98.0633	3	3

2. Kết quả t- test điều tra tỉ lệ hạt lên men

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	180.1128222	90.056411	360.07	<.0001
Error	6	1.5006667	0.2501111		
Corrected Total	8	181.6134889			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.991737	0.629951	0.500111	79.38889

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	6
Error Mean Square	0.250111
Critical Value of t	3.70743
Least Significant Difference	1.5139

t Grouping	Mean	N	K
A	83.0500	3	3
A	82.0267	3	1
B	73.0900	3	2

3. Kết quả t- test điều tra tỉ lệ hạt tím

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	29.42606667	14.71303333	107.98	<.0001
Error	6	0.81753333	0.13625556		
Corrected Total	8	30.24360000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.972968	10.11310	0.369128	3.650000

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	6
Error Mean Square	0.136256
Critical Value of t	3.70743
Least Significant Difference	1.1174

t Grouping	Mean	N	K
A	5.6667	3	2
B	4.0033	3	3
C	1.2800	3	1

4. Kết qủa t- test điều tra tỉ lệ một phần tím, một phần nâu

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	69.90526667	34.95263333	113.02	<.0001
Error	6	1.85553333	0.30925556		
Corrected Total	8	71.76080000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.974143	3.894310	0.556108	14.28000

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	6
Error Mean Square	0.309256
Critical Value of t	3.70743
Least Significant Difference	1.6834

t Grouping	Mean	N	K
A	17.6900	3	2
B	14.2867	3	1
C	10.8633	3	3

5. Kết qủa t- test điều tra tỉ lệ hạt bị côn trùng phá hại

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	0.15475556	0.07737778	204.82	<.0001
Error	6	0.00226667	0.00037778		
Corrected Total	8	0.15702222			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.985565	15.48040	0.019437	0.125556

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	6
Error Mean Square	0.000378
Critical Value of t	3.70743
Least Significant Difference	0.0588

t Grouping	Mean	N	K
A	0.31000	3	1
B	0.05000	3	2
B	0.01667	3	3

6. Kết qủa t- test điều tra tỉ lệ hạt mốc

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	0.45606667	0.22803333	82.75	<.0001
Error	6	0.01653333	0.00275556		
Corrected Total	8	0.47260000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.965016	6.375715	0.052493	0.823333

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	6
Error Mean Square	0.002756
Critical Value of t	3.70743
Least Significant Difference	0.1589

t Grouping	Mean	N	K
A	1.01000	3	1
A	0.95333	3	2
B	0.50667	3	3

7. Kết qủa t- test điều tra tỉ lệ hạt chai xám

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	1.87908889	0.93954444	805.32	<.0001
Error	6	0.00700000	0.00116667		
Corrected Total	8	1.88608889			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.996289	9.203848	0.034157	0.371111

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	6
Error Mean Square	0.001167
Critical Value of t	3.70743
Least Significant Difference	0.1034

t Grouping	Mean	N	K
A	1.01667	3	2
B	0.07333	3	3
B	0.02333	3	1

8. Kết qủa t- test điều tra tỉ lệ hạt lép

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	0.42180000	0.21090000	143.80	<.0001
Error	6	0.00880000	0.00146667		
Corrected Total	8	0.43060000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.979563	6.382847	0.038297	0.600000

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	6

Error Mean Square	0.001467
Critical Value of t	3.70743
Least Significant Difference	0.1159

t Grouping	Mean	N	K
A	0.86000	3	3
B	0.61000	3	2
C	0.33000	3	1

9. Kết qủa t- test điều tra tỉ lệ hạt dính cục

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	0.00762222	0.00381111	13.19	0.0064
Error	6	0.00173333	0.00028889		
Corrected Total	8	0.00935556			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.814727	11.95083	0.016997	0.142222

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	6
Error Mean Square	0.000289
Critical Value of t	3.70743
Least Significant Difference	0.0515

t Grouping	Mean	N	K
A	0.17333	3	2
B A	0.15000	3	3
B	0.10333	3	1

10. Kết qủa t- test điều tra tỉ lệ hạt vở

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	0.10666667	0.05333333	73.85	<.0001
Error	6	0.00433333	0.00072222		
Corrected Total	8	0.11100000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.960961	4.357977	0.026874	0.616667

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	6
Error Mean Square	0.000722
Critical Value of t	3.70743
Least Significant Difference	0.0814

t Grouping	Mean	N	K
A	0.75000	3	2
B	0.61667	3	1
C	0.48333	3	3

11. Kết qủa t- test điều tra tỉ lệ vỏ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	7.43475556	3.71737778	137.40	<.0001

Error	6	0.16233333	0.02705556		
Corrected Total	8	7.59708889			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.978632	1.109807	0.164486	14.82111

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	6
Error Mean Square	0.027056
Critical Value of t	3.70743
Least Significant Difference	0.4979

t Grouping	Mean	N	K
A	15.7567	3	3
B	15.1167	3	1
C	13.5900	3	2

12. Kết qủa t- test điều tra tỉ lệ rác thải vật lạ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	3.23442222	1.61721111	66.43	<.0001
Error	6	0.14606667	0.02434444		
Corrected Total	8	3.38048889			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.956791	9.868191	0.156027	1.581111

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	6
Error Mean Square	0.024344
Critical Value of t	3.70743
Least Significant Difference	0.4723

t Grouping	Mean	N	K
A	2.0100	3	3
A	2.0000	3	2
B	0.7333	3	1

PHỤ LỤC 11. SƠ ĐỒ BỐ TRÍ CÁC THÍ NGHIỆM CỦA NGHIÊN CỨU

Thí nghiệm 1, 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của loại và 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.

	A3	A2	A1
B3	A3B3	A2B3	A1B3
B6	A3B6	A2B6	A1B6
B2	ÁB2	A2B2	A1B2
B5	A3B5	A2B5	A1B5
B1	A3B1	A2B1	A1B1
B4	A3B4	A2B4	A1B4

Lần nhắc 1

A2	A1	A3
A2B3	A1B3	A3B3
A2B6	A1B6	A3B6
A2B2	A1B2	A3B2
A2B5	A1B5	A3B5
A2B1	A1B1	A3B1
A2B4	A1B4	A3B4

Lần nhắc 2

A1	A3	A2
A1B3	A3B3	A2B3
A1B6	A3B6	A2B6
A1B2	A3B2	A2B2
A1B5	A3B5	A2B5
A1B1	A3B1	A2B1
A1B4	A3B4	A2B4

Lần nhắc 3

Hình 1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm đồng ruộng

Thí nghiệm 3: Xác định loài nấm men thích hợp nhăm từng bước kiểm soát quá trình lên men hạt ca cao chất lượng.

CT2	CT1	CT4
CT1	CT2	CT6
CT3	CT4	CT1
CT6	CT5	CT3
CT5	CT3	CT5
CT4	CT6	CT2

Hình 2. Sơ đồ vị trí các thùng ủ lên men hạt có bổ sung nấm men

Thí nghiệm 4: Ảnh hưởng của mức độ ép loại dịch cơm nhầy trước khi ủ đến chất lượng hạt ca cao thành phẩm.

Eo	E1	E2	E3	E4	E5
Eo	E1	E2	E3	E4	E5
Eo	E1	E2	E3	E4	E5

Hình 3.Sơ đồ vị trí các thùng ủ của thí nghiệm lên men có ép hạt.

Thí nghiệm 5: Làm khô hạt bằng phương pháp sấy

T1E1	T1E3	T1E0	T1E3	T1E3	T1E2
T2E0	T2E5	T2E1	T2E3	T2E4	T2E2
T3E0	T3E3	T3E2	T3E5	T3E4	T3E1

Hình 4. Sơ đồ vị trí các thùng ủ trong thí nghiệm làm khô hạt bằng phương pháp sấy

Thí nghiệm 6: Làm khô hạt bằng phương pháp phơi

K3L2	K3L1	K2L2	K1L1	K1L1	K1L2	K1L3	K2L2	K3L2
K1L0	K2L2	K3L0	K3L3	K3L3	K3L3	K1L3	K3L2	K3L1
K2L1	K1L2	K2L0	K3L2	K1L1	K2L3	K3L1	K2L1	K1L2

Hình 5. Sơ đồ vị trí các thùng ủ lên men hạt trong thí nghiệm
làm khô hạt bằng phương pháp phơi

PHỤ LỤC 12. KẾT QUẢ XỬ LÝ SỐ LIỆU CÁC THÍ NGHIỆM ĐỒNG RUỘNG

1. Ảnh hưởng của loại, lượng phân kali đến năng suất hạt của cây ca cao
a) Ở vườn ca cao Di Linh, Lâm Đồng
* Năm 2012
- Phân tích ANOVA năng suất Di Linh năm 2012

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	13462.370	6731.185	4.48	0.0198
D	2	224123.370	112061.685	74.60	<.0001
K*D	4	10683.852	2670.963	1.78	0.1593
V	5	1023052.759	204610.552	136.21	<.0001
D*V	10	25539.963	2553.996	1.70	0.1268

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.958456	3.494191	40.49315	1158.870

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	13462.370	6731.185	4.11	0.0253
DV	17	1272716.093	74865.653	45.66	<.0001

Duncan Grouping	Mean	N	DV
A	1477.67	3	D3V3
B	1371.33	3	D3V4
C B	1320.00	3	D2V3
C B	1287.00	3	D1V3
C D	1261.33	3	D2V4
C D	1261.33	3	D3V5
C D E	1235.67	3	D1V4
F D E	1169.67	3	D1V5
F G E	1158.67	3	D3V6
F G E	1155.00	3	D3V2
F G H	1133.00	3	D2V5
F I G H	1078.00	3	D2V2
I G H	1063.33	3	D3V1
I J H	1041.33	3	D2V6

Duncan Grouping	Mean	N	DV
I J	1034.00	3	D1V2
I J	1015.67	3	D1V6
J	953.33	3	D2V1
K	843.33	3	D1V1

- Phân tích hồi quy năng suất Di Linh năm 2012
+ Phân KCl

Regression	DF	Type I Sum of Squares	R-Square	F Value	Pr > F
Linear	1	63510	0.1449	17.78	0.0007
Quadratic	1	321286	0.7329	89.95	<.0001
Crossproduct	0	0	0.0000		
Total Model	2	384796	0.8778	53.87	<.0001

Parameter	DF	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > |t|	Parameter Estimate from Coded Data
Intercept	1	210.833333	86.588290	2.43	0.0279	1253.770833
LP	1	4.739690	0.470350	10.08	<.0001	86.952381
LP*LP	1	-0.005356	0.000565	-9.48	<.0001	-334.747024

+ Phân KNO3

Regression	DF	Type I Sum of Squares	R-Square	F Value	Pr > F
Linear	1	12792	0.044	4.46	0.052
Quadratic	1	234606	0.8077	81.72	<.0001
Crossproduct	0	0	0.0000		
Total Model	2	247398	0.8517	43.09	<.0001

Parameter	DF	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > |t|	Parameter Estimate from Coded Data
Intercept	1	431.299524	77.629846	5.56	<.0001	1264.65625
LP	1	3.909060	0.421688	9.27	<.0001	39.02381
LP*LP	1	-0.004577	0.000506	-9.04	<.0001	-286.04911

+ Phân K2SO4

Regression	DF	Type I Sum of Squares	R-Square	F Value	Pr > F
Linear	1	20365	0.0550	3.44	0.0835
Quadratic	1	260807	0.7049	44.03	<.0001
Crossproduct	0	0	0.0000		
Total Model	2	281172	0.7599	23.74	<.0001

Parameter	DF	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > |t|	Parameter Estimate from Coded Data
Intercept	1	496.702381	111.503220	4.45	0.0005	1388.635417
LP	1	4.153940	0.605689	6.86	<.0001	49.238095
LP*LP	1	-0.004826	0.000727	-6.64	<.0001	-301.599702

* Năm 2013

- Phân tích ANOVA năng suất Di Linh năm 2013

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	149668.037	74834.019	4.08	0.0271
D	2	2618417.593	1309208.796	71.39	<.0001
K*D	4	195101.296	48775.324	2.66	0.0519
V	5	3404231.926	680846.385	37.13	<.0001
D*V	10	399161.074	39916.107	2.18	0.0488

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.898145	10.92925	148.0509	1354.630

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	149668.037	74834.019	3.41	0.0445
DV	17	6421810.593	377753.564	17.23	<.0001

.

Duncan Grouping	Mean	N	DV
A	2002.0	3	D3V3
A	1906.7	3	D2V3
B A	1870.0	3	D3V4
B A C	1690.3	3	D2V4
B D C	1536.3	3	D2V5
E D C	1463.0	3	D3V5
E F D C	1400.7	3	D3V6
E F D C	1397.0	3	D2V6
E F D C	1364.0	3	D3V2
E F D	1312.7	3	D1V3
E F D	1250.3	3	D1V5
E F D	1232	3	D3V1
E F D	1202.7	3	D2V2
E F G	1100.0	3	D1V6

Duncan Grouping	Mean	N	DV
E F G	1100.0	3	D1V4
H F G	1030.3	3	D2V1
H G	803.0	3	D1V2
H	722.3	3	D1V1

- Phân tích hồi quy năng suất Di Linh năm 2013

+ Phân KCl

Regression	DF	Type I Sum of Squares	R-Square	F Value	Pr > F
Linear	1	390271	0.3322	10.75	0.0051
Quadratic	1	240007	0.2043	6.61	0.0213
Crossproduct	0	0	0.0000		
Total Model	2	630277	0.5365	8.68	0.0031

Parameter	DF	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > |t|	Parameter Estimate from Coded Data
Intercept	1	51.411905	276.065650	0.19	0.8548	1183.072917
LP	1	4.658107	1.499597	3.11	0.0072	215.547619
LP*LP	1	-0.004629	0.001800	-2.57	0.0213	-289.322917

+ Phân K NO3

Regression	DF	Type I Sum of Squares	R-Square	F Value	Pr > F
Linear	1	293740	0.1749	8.88	0.0093
Quadratic	1	889408	0.5297	26.90	0.0001
Crossproduct	0	0	0.0000		
Total Model	2	1183148	0.7046	17.89	0.0001

Parameter	DF	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > |t|	Parameter Estimate from Coded Data
Intercept	1	-84.202381	263.458729	-0.32	0.7537	1720.468750
LP	1	8.055274	1.431116	5.63	<.0001	187.000000
LP*LP	1	-0.008911	0.001718	-5.19	0.0001	-556.956845

+ Phân K2SO4

Regression	DF	Type I Sum of Squares	R-Square	F Value	Pr > F
Linear	1	43574	0.0236	0.77	0.3952
Quadratic	1	947845	0.5139	16.67	0.0010
Crossproduct	0	0	0.0000		
Total Model	2	991420	0.5376	8.72	0.0031

Parameter	DF	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > |t|	Parameter Estimate from Coded Data
Intercept	1	159.054762	345.483503	0.46	0.6518	1823.593750
LP	1	7.831607	1.876677	4.17	0.0008	72.023810
LP*LP	1	-0.009199	0.002253	-4.08	0.0010	-574.962798

b) Ở vườn ca cao Trảng Bom, Đồng Nai

* Năm 2012

- Phân tích anova năng suất năm 2012

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	6538.481	3269.241	0.30	0.7411
D	2	210490.704	105245.352	9.74	0.0005
K*D	4	96284.630	24071.157	2.23	0.0897
V	5	3218859.926	643771.985	59.58	<.0001
D*V	10	162135.519	16213.552	1.50	0.1877

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.895375	10.08301	111.2007	1102.852

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	6538.481	3269.241	0.26	0.7692
DV	17	3591486.148	211263.891	17.08	<.0001

Duncan Grouping	Mean	N	DV
A	1613.33	3	D3V4
B A	1386.00	3	D2V4
B	1309.00	3	D3V5
B	1257.67	3	D3V3
B C	1246.67	3	D1V4
B C	1235.67	3	D2V3
B C	1232.00	3	D1V3
B C	1232.00	3	D2V5
B C	1221.00	3	D1V5
B C	1158.67	3	D1V6
B C	1158.67	3	D3V6
B C D	1107.33	3	D2V6
E C D	964.33	3	D3V2
E F D	854.33	3	D2V2
E F	836.00	3	D3V1

Duncan Grouping	Mean	N	DV
E F	748.00	3	D1V2
F	671.00	3	D1V1
F	619.67	3	D2V1

- Phân tích Hồi quy năng suất Trảng Bom năm 2012

+Phân KCl

Regression	DF	Type I Sum of Squares	R-Square	F Value	Pr > F
Linear	1	642531	0.5272	31.20	<.0001
Quadratic	1	267216	0.2193	12.97	0.0026
Crossproduct	0	0	0	.	.
Total Model	2	909747	0.7465	22.09	<.0001

Parameter	DF	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > |t|	Parameter Estimate from Coded Data
Intercept	1	-85.9781	207.9291	-0.41	0.6851	1188.687500
LP	1	5.111595	1.129477	4.53	0.0004	276.571429
LP*LP	1	-0.00489	0.001356	-3.6	0.0026	-305.282738

+ Phân KNO3

Regression	DF	Type I Sum of Squares	R-Square	F Value	Pr > F
Linear	1	593606	0.4537	55.35	<.0001
Quadratic	1	553852	0.4233	51.65	<.0001
Crossproduct	0	0	0.0000	.	.
Total Model	2	1147457	0.8771	53.50	<.0001

Parameter	DF	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > |t|	Parameter Estimate from Coded Data
Intercept	1	-340.465714	150.036429	-2.27	0.0384	1277.604167
LP	1	6.829690	0.815003	8.38	<.0001	265.833333
LP*LP	1	-0.007032	0.000979	-7.19	<.0001	-439.508929

+ Phân K2SO4

Regression	DF	Type I Sum of Squares	R-Square	F Value	Pr > F
Linear	1	386486	0.3017	15.13	0.0015
Quadratic	1	511381	0.3992	20.02	0.0004
Crossproduct	0	0	0.0000		
Total Model	2	897867	0.7009	17.58	0.0001

Parameter	DF	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > |t|	Parameter Estimate from Coded Data
Intercept	1	-100.739048	231.544936	-0.44	0.6697	1386.917
LP	1	6.398857	1.25776	5.09	0.0001	214.5
LP*LP	1	-0.006757	0.00151	-4.47	0.0004	-422.321

* Năm 2013

- Phân tích ANOVA

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	10544.926	5272.463	5.37	0.0102
D	2	356887.259	178443.63	181.65	<.0001
K*D	4	31536.185	7884.046	8.03	0.0002
V	5	3247220.981	649444.196	661.12	<.0001
D*V	10	82369.63	8236.963	8.39	<.0001

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.983766	4.646825	42.35925	911.5741

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	10544.926	5272.463	2.94	0.0665
DV	17	3686477.870	216851.639	120.86	<.0001

Duncan Grouping	Mean	N	DV
A	1474.00	3	D3V4
B	1342.00	3	D3V5
C B	1283.33	3	D2V4
C	1210.00	3	D1V4
D	1041.33	3	D2V5
D	1034.00	3	D1V5
E	935.00	3	D3V6
E	891.00	3	D2V6
E	883.67	3	D3V3
F E	858.00	3	D1V6
F G	770.00	3	D3V2
G	759.00	3	D2V3
H G	744.33	3	D3V1
H G I	718.67	3	D1V3
H J I	652.67	3	D1V2

Duncan Grouping	Mean	N	DV
J I	630.67	3	D2V2
J I	627.00	3	D2V1
J	553.67	3	D1V1

- Phân tích hồi quy năng suất Trảng Bom năm 2013

+ Phân KCl

Regression	DF	Type I Sum of Squares	R-Square	F Value	Pr > F
Linear	1	427142	0.4570	20.57	0.0004
Quadratic	1	196059	0.2098	9.44	0.0077
Crossproduct	0	0	0.000	,	,
Total Model	2	623201	0.6668	15.01	0.0003

Residual	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F

Lack of Fit	3	296702	98901	80.40	<.0001
Pure Error	12	14762	1230.166667		
Total Error	15	311464	20764		

Parameter	DF	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > |t|	Parameter Estimate from Coded Data
Intercept	1	-113.27381	208.777116	-0.54	0.595400	959.864583
LP	1	4.332821	1.13408	3.82	0.0017	225.5
LP*LP	1	-0.004184	0.00136	-3.07	0.0077	-261.495536

+ Phân KNO3

Regression	DF	Type I Sum of Squares	R-Square	F Value	Pr > F
Linear	1	405593	0.392	13.58	0.0022
Quadratic	1	181018	0.1749	6.06	0.0264
Crossproduct	0	0	0,000	,	,
Total Model	2	586610	0.5669	9.82	0.0019

Parameter	DF	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > |t|	Parameter Estimate from Coded Data
Intercept	1	-46.860000	250.428339	-0.19	0.8541	989.312500
LP	1	4.175548	1.360335	3.07	0.0078	219.738095
LP*LP	1	-0.004020	0.001633	-2.46	0.0264	-251.264881

+ Phân K2SO4

Regression	DF	Type I Sum of Squares	R-Square	F Value	Pr > F
Linear	1	455375	0.3181	10.97	0.0047
Quadratic	1	353476	0.2469	8.51	0.0106
Crossproduct	0	0	0.0000		
Total Model	2	808851	0.5649	9.74	0.0019

Parameter	DF	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > |t|	Parameter Estimate from Coded Data
Intercept	1	-137.520952	295.244641	-0.47	0.6481	1188.687500
LP	1	5.537976	1.603778	3.45	0.0035	232.833333
LP*LP	1	-0.005618	0.001926	-2.92	0.0106	-351.116071

2. Ảnh hưởng của loại, lượng phân kali đến hàm lượng đường cơm nhầy hạt tươi

a) Ở vườn ca cao Di Linh, Lâm Đồng

- Phân tích ANOVA

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	0.15815	0.07907	1.90	0.1672
D	2	36.07259	18.03630	433.26	<.0001
K*D	4	0.17963	0.04491	1.08	0.3845
V	5	94.40315	18.88063	453.54	<.0001
D*V	10	2.33630	0.23363	5.61	0.0001

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.989371	2.296891	0.204976	8.924074

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	0.1581481	0.0790741	1.88	0.1678
DV	17	132.8120370	7.8124728	185.94	<.0001

Duncan Grouping	Mean	N	DV
A	12.1667	3	D1V5
B	11.0333	3	D1V6
C	10.5000	3	D1V4
C	10.4000	3	D2V5
C	10.1333	3	D3V5
C	10.1000	3	D2V6
D	9.3000	3	D2V4
D	9.2333	3	D3V6
D	9.0667	3	D1V3
D	8.8667	3	D1V2
E	8.2667	3	D3V4
E	8.2000	3	D2V3
F E	8.0667	3	D1V1
F E	7.9000	3	D2V2

Duncan Grouping	Mean	N	DV
F G	7.6000	3	D3V3
G	7.3333	3	D2V1
H	6.3667	3	D3V2
H	6.1000	3	D3V1

- Phân tích hồi quy đường Di Linh

+ Phân KCl

Root MSE	0.64619
Dependent Mean	9.95000
Coeff Var	6.49436
R-Square	0.8145
Adj R-Sq	0.8030

Parameter Estimates

Parameter	DF	Parameter Estimate	Standard Error	t Value	Pr > |t|
Intercept	1	6.88476	0.39610	17.38	<.0001
LP	1	0.00748	0.00089182	8.38	<.0001

+ Phân KNO3

Root MSE	0.40219
Dependent Mean	8.87222
Coeff Var	4.53310
R-Square	0.8929
Adj R-Sq	0.8862

Parameter Estimates

Parameter	DF	Parameter Estimate	Standard Error	t Value	Pr > |t|
Intercept	1	6.24432	0.24653	25.33	<.0001
LP	1	0.00641	0.00055507	11.55	<.0001

+ Phân K2SO4

Root MSE	0.58198
Dependent Mean	7.95000

Coeff Var	7.32052
R-Square	0.8579
Adj R-Sq	0.8491

Parameter Estimates

Parameter	DF	Parameter Estimate	Standard Error	t Value	Pr > |t|
Intercept	1	4.71295	0.35674	13.21	<.0001
LP	1	0.00790	0.00080321	9.83	<.0001

b) Ở vườn ca cao Trảng Bom, Đồng Nai

- Phân tích ANOVA

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	0.24481481	0.12240741	0.33	0.7235
D	2	3.33814815	1.66907407	4.46	0.0201
K*D	4	0.65740741	0.16435185	0.44	0.7792
V	5	65.38814815	13.07762963	34.95	<.0001
D*V	10	9.39740741	0.93974074	2.51	0.025

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.868346	5.070277	0.591157	11.65926

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	0.24481481	0.12240741	0.35	0.707
DV	17	78.12370370	4.59551198	13.15	<.0001

Duncan Grouping	Mean	N	DV
A	14.5333	3	D1V5
B A	13.4000	3	D1V6
B C	12.8000	3	D3V6
B C D	12.6333	3	D2V6
B C D	12.4667	3	D3V5
B E C D	12.1000	3	D2V5
E C D	11.9000	3	D1V4
E C D	11.8667	3	D3V4
F E C D	11.6667	3	D2V4
G F E C D	11.5333	3	D2V3
G F E C D	11.4333	3	D1V3
G F E H D	11.2667	3	D3V3
G F E H D	11.1667	3	D2V2
G F E H	10.9000	3	D1V2

Duncan Grouping	Mean	N	DV
G F H	10.3333	3	D3V2
G H	10.1333	3	D2V1
H	9.8667	3	D1V1
H	9.8667	3	D3V1

- Phân tích hồi quy đường Trảng Bom

+ Phân KCl

Root MSE	0.88047
Dependent Mean	12.00556
Coeff Var	7.33387
R-Square	0.7444
Adj R-Sq	0.7284

Parameter Estimates

Parameter	DF	Parameter Estimate	Standard Error	t Value	Pr > |t|
Intercept	1	8.60451	0.53971	15.94	<.0001
LP	1	0.00830	0.00122	6.83	<.0001

+ Phân KNO3

Root MSE	0.43263
Dependent Mean	11.53889
Coeff Var	3.74934
R-Square	0.7732
Adj R-Sq	0.7590

Parameter Estimates

Parameter	DF	Parameter Estimate	Standard Error	t Value	Pr > |t|
Intercept	1	9.73098	0.2652	36.69	<.0001
LP	1	0.00441	0.00059709	7.39	<.0001

+ Phân K2SO4

Root MSE	0.56241
Dependent Mean	11.43333
Coeff Var	4.91907
R-Square	0.7990
Adj R-Sq	0.7864

Parameter Estimates

Parameter	DF	Parameter Estimate	Standard Error	t Value	Pr > |t|
Intercept	1	8.89524	0.34475	25.80	<.0001
LP	1	0.00619	0.00078	7.98	<.0001

PHỤ LỤC 13: THÀNH PHẦN VÀ CÁCH PHA MÔI TRƯỜNG SABOURAUD

Môi trường Sabouraud Dextrose Agar (SDA) dùng để phân lập và nuôi cấy nấm men

Thành phần môi trường (g/L)

Pancreatic digest of casein	5
Peptic digest of meat	5
Glucose	40
Agar	15

Cách pha môi trường

Hòa tan hoàn toàn 65 g Môi trường Sabouraud dextrose agar trong 1000mL nước cất vô trùng. Đun sôi và khuấy đều. Hấp khử trùng ở 121°C trong 15 phút.

Chuẩn pH cuối cùng: 5.6 ± 0.2

PHỤ LỤC 14. KẾT QUẢ XỬ LÝ SỐ LIỆU CÁC THÍ NGHIỆM LÊN MEN CÓ BỔ SUNG NẤM MEN

1. Nhiệt độ khối ủ

* Phân hạng theo hàng ngang (so sánh nhiệt độ khối ủ của cùng một công thức theo thời gian)

a) CT1 (M0)

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1133.351111	226.670222	10461.7	<.0001
Error	12	0.260000	0.021667		
Corrected Total	17	1133.611111			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.999771	0.376247	0.147196	39.12222

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.021667
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.3671

t Grouping	Mean	N	NT
A	48.4667	3	4
B	46.0333	3	5
C	44.1000	3	6
D	37.6000	3	3
E	32.5333	3	2
F	26.0000	3	1

b) CT 2:

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1192.969444	238.593889	3702.32	<.0001
Error	12	0.773333	0.064444		
Corrected Total	17	1193.742778			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.999352	0.635619	0.253859	39.93889

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.064444
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.6331

t Grouping	Mean	N	NT
A	50.1667	3	4
B	46.1000	3	5
C	44.4000	3	6
D	39.4000	3	3
E	33.5667	3	2
F	26.0000	3	1

c) CT 3

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1080.071667	216.014333	6271.38	<.0001
Error	12	0.413333	0.034444		
Corrected Total	17	1080.485000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.999617	0.465338	0.185592	39.88333

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.034444
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.4629

t Grouping	Mean	N	NT
A	49.8667	3	4
B	45.2333	3	5
C	44.1667	3	6
D	38.4667	3	3
E	35.5667	3	2
F	26.0000	3	1

d) CT 4

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1227.733333	245.546667	15785.1	<.0001
Error	12	0.186667	0.015556		
Corrected Total	17	1227.920000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.999848	0.312325	0.124722	39.93333

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.015556
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.3111

t Grouping	Mean	N	NT
A	50.6667	3	4
B	45.7333	3	5
C	44.4000	3	6
D	39.6667	3	3
E	33.1333	3	2
F	26.0000	3	1

e) CT 5

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1105.404444	221.080889	11369.9	<.0001

Error	12	0.233333	0.019444		
Corrected Total	17	1105.637778			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.999789	0.345918	0.139443	40.31111

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.019444
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.3478

t Grouping	Mean	N	NT
A	50.5667	3	4
B	45.2667	3	5
C	44.0333	3	6
D	40.1667	3	3
E	35.8333	3	2
F	26.0000	3	1

e) CT 6

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	924.0333333	184.8066667	17508.0	<.0001
Error	12	0.1266667	0.0105556		
Corrected Total	17	924.1600000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.999863	0.256423	0.102740	40.06667

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.010556
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.2562

t Grouping	Mean	N	NT
A	47.53333	3	4
B	45.16667	3	5
C	44.26667	3	6
D	40.60000	3	3
E	36.83333	3	2
F	26.00000	3	1

* Phân hạng theo hàng dọc (so sánh nhiệt độ khối ủ giữa các công thức tại cùng một thời điểm)

a) Sau 24 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	44.79111111	8.95822222	1343.73	<.0001
Error	12	0.08000000	0.00666667		
Corrected Total	17	44.87111111			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.998217	0.236133	0.081650	34.57778

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.006667
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.2036

t Grouping	Mean	N	NT
A	36.83333	3	6
B	35.83333	3	5
C	35.56667	3	3
D	33.56667	3	2
E	33.13333	3	4
F	32.53333	3	1

b) Sau 48 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	18.50500000	3.70100000	41.9	<.0001
Error	12	1.06000000	0.08833333		
Corrected Total	17	19.56500000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.945822	0.755937	0.297209	39.31667

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.088333
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.7412

t Grouping	Mean	N	NT
A	40.6000	3	6
B A	40.1667	3	5
B C	39.6667	3	4
C	39.4000	3	2
D	38.4667	3	3
E	37.6000	3	1

c) Sau 72 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	24.00444444	4.80088889	240.04	<.0001
Error	12	0.24000000	0.02000000		
Corrected Total	17	24.24444444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.990101	0.285443	0.141421	49.54444

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.02
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.3527

t Grouping	Mean	N	NT
A	50.6667	3	4
A	50.5667	3	5
B	50.1667	3	2
B	49.8667	3	3
C	48.4667	3	1
D	47.5333	3	6

d) Sau 96 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	2.66444444	0.53288889	119.90	<.0001
Error	12	0.05333333	0.00444444		
Corrected Total	17	2.71777778			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.980376	0.146234	0.066667	45.58889

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.004444
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.1663

t Grouping	Mean	N	NT
A	46.10000	3	2
A	46.03333	3	1
B	45.73333	3	4
C	45.26667	3	5
C	45.23333	3	3
C	45.16667	3	6

e) Sau 120 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.35611111	0.07122222	1.53	0.2536
Error	12	0.560000	0.04666667		
Corrected Total	17	0.91611111			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.38872	0.488437	0.216025	44.22778

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.046667
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.5388

t Grouping	Mean	N	NT
A	44.4000	3	2
A	44.4000	3	4
A	44.2667	3	6
A	44.1667	3	3
A	44.1000	3	1
A	44.0333	3	5

2. pH cơm nhầy

* Phân hạng theo hàng ngang (so sánh pH cơm nhầy của cùng một công thức theo thời gian)

a) CT 1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	2.11616111	0.42323222	137.26	<.0001
Error	12	0.03700000	0.00308333		
Corrected Total	17	2.15316111			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.982816	1.532740	0.055528	3.622778

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.003083
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.1385

t Grouping	Mean	N	NT
A	4.12000	3	5
B	3.95333	3	6
C	3.70000	3	1
D	3.45000	3	2
D	3.40667	3	4
E	3.10667	3	3

b) CT 2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1.29137778	0.25827556	35.93	<.0001
Error	12	0.08626667	0.00718889		
Corrected Total	17	1.37764444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.937381	2.216340	0.084787	3.825556

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.007189
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.2115

t Grouping	Mean	N	NT
A	4.32333	3	5
B	4.03333	3	6
C	3.72000	3	4
C	3.70000	3	1
C	3.59333	3	3
C	3.58333	3	2

c) CT 3

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	2.40391111	0.48078222	655.61	<.0001
Error	12	0.00880000	0.00073333		
Corrected Total	17	2.41271111			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.996353	0.753854	0.027080	3.592222

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.000733
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0675

t Grouping	Mean	N	NT
A	4.16000	3	5
B	3.92000	3	6
C	3.70000	3	1
D	3.38333	3	4
E	3.21333	3	3
E	3.17667	3	2

d) CT 4

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	3.22842778	0.64568556	1320.72	<.0001
Error	12	0.00586667	0.00048889		
Corrected Total	17	3.23429444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.998186	0.578733	0.022111	3.820556

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.000489
Critical Value of t	3.05454

Least Significant Difference	0.0551

t Grouping	Mean	N	NT
A	4.52667	3	5
B	4.18667	3	6
C	3.70000	3	1
D C	3.67000	3	4
D	3.62667	3	3
E	3.21333	3	2

e) CT 5

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1.52971111	0.30594222	40.55	<.0001
Error	12	0.09053333	0.00754444		
Corrected Total	17	1.62024444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.944124	2.264568	0.086859	3.835556

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.007544
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.2166

t Grouping	Mean	N	NT
A	4.33000	3	5
B	4.10000	3	6
C	3.72667	3	4
C	3.70667	3	3
C	3.70000	3	1
D	3.45000	3	2

g) CT 6

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	2.15225000	0.43045000	956.56	<.0001
Error	12	0.00540000	0.00045000		
Corrected Total	17	2.15765000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.997497	0.547438	0.021213	3.875000

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.00045
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0529

t Grouping	Mean	N	NT
A	4.43333	3	5
B	4.19000	3	6
C	3.89333	3	4
D	3.70000	3	1
E	3.61333	3	3
F	3.42000	3	2

* Phân hạng theo hàng dọc (so sánh pH cơm nhầy giữa các công thức tại cùng một thời điểm)

a) Sau 24 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.36551111	0.07310222	99.68	<.0001
Error	12	0.00880000	0.00073333		
Corrected Total	17	0.37431111			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.97649	0.800661	0.02708	3.382222

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.000733
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0675

t Grouping	Mean	N	NT
A	3.58333	3	2
B	3.45000	3	1
B	3.45000	3	5
B	3.42000	3	6
C	3.21333	3	4
C	3.17667	3	3

b) Sau 48 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.94180000	0.18836000	538.17	<.0001
Error	12	0.00420000	0.00035000		
Corrected Total	17	0.94600000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.995560	0.538110	0.018708	3.476667

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.00035
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0467

t Grouping	Mean	N	NT
A	3.70667	3	5
B	3.62667	3	4
B	3.61333	3	6
B	3.59333	3	2
C	3.21333	3	3
D	3.10667	3	1

c) Sau 72 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.59713333	0.11942667	202.80	<.0001
Error	12	0.00706667	0.00058889		
Corrected Total	17	0.60420000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.988304	0.667900	0.024267	3.633333

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.000589
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0605

t Grouping	Mean	N	NT
A	3.89333	3	6
B	3.72667	3	5
B	3.72000	3	2
B	3.67000	3	4
C	3.40667	3	1
C	3.38333	3	3

d) Sau 96 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.36344444	0.07268889	4.74	0.0128
Error	12	0.18420000	0.01535000		
Corrected Total	17	0.54764444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.663650	2.870896	0.123895	4.315556

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.01535
Critical Value of t	2.17881
Least Significant Difference	0.2204

t Grouping	Mean	N	NT
A	4.5267	3	4
A	4.4333	3	6
A B	4.3300	3	5
A B	4.3233	3	2
B	4.1600	3	3
B	4.1200	3	1

e) Sau 120 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.19842778	0.03968556	16.09	<.0001
Error	12	0.02960000	0.00246667		
Corrected Total	17	0.22802778			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.870191	1.222119	0.049666	4.063889

.

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.002467
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.1239

Duncan Grouping	Mean	N	NT
A	4.19000	3	6
A	4.18667	3	4
A B	4.10000	3	5
B C	4.03333	3	2
C	3.95333	3	1
C	3.92000	3	3

3. pH nhân hạt

* Phân hạng theo hàng ngang (so sánh pH nhân hạt của cùng một công thức theo thời gian)

a) CT1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	16.45849444	3.29169889	4058.26	<.0001
Error	12	0.00973333	0.00081111		
Corrected Total	17	16.46822778			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.999409	0.569158	0.028480	5.003889

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.000811
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.071

t Grouping	Mean	N	NT
A	6.60000	3	1
B	5.87333	3	2
C	4.81667	3	3
D	4.65667	3	6
E	4.32333	3	5
F	3.75333	3	4

b) CT2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	13.91702778	2.78340556	2830.58	<.0001
Error	12	0.01180000	0.00098333		
Corrected Total	17	13.92882778			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.999153	0.621706	0.031358	5.043889

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.000983
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0782

Means with the same letter are not significantly different.

t Grouping	Mean	N	NT
A	6.60000	3	1
B	5.64667	3	2
C	4.85333	3	6
C	4.79000	3	3
D	4.56333	3	5
E	3.81000	3	4

c) CT3

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	14.23784444	2.84756889	2228.53	<.0001
Error	12	0.01533333	0.00127778		
Corrected Total	17	14.25317778			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.998924	0.705204	0.035746	5.068889

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.001278
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0892

t Grouping	Mean	N	NT
A	6.60000	3	1
B	5.77333	3	2

C	4.85333	3	3
C	4.83667	3	6
D	4.49667	3	5
E	3.85333	3	4

d) CT4

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	10.55464444	2.11092889	2900.51	<.0001
Error	12	0.00873333	0.00072778		
Corrected Total	17	10.56337778			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.999173	0.517689	0.026977	5.211111

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.000728
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0673

t Grouping	Mean	N	NT
A	6.60000	3	1
B	5.67000	3	2
C	5.17000	3	6
D	4.99333	3	3
E	4.60000	3	5
F	4.23333	3	4

e) CT5

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	12.29284444	2.45856889	3378.19	<.0001
Error	12	0.00873333	0.00072778		
Corrected Total	17	12.30157778			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.999290	0.527818	0.026977	5.111111

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.000728
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0673

t Grouping	Mean	N	NT
A	6.60000	3	1
B	5.73667	3	2
C	4.95667	3	6
D	4.73667	3	3
E	4.50333	3	5
F	4.13333	3	4

g) CT6

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	11.69711111	2.33942222	2084.63	<.0001
Error	12	0.01346667	0.00112222		
Corrected Total	17	11.71057778			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.998850	0.664528	0.033500	5.041111

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.001122
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0835

t Grouping	Mean	N	NT
A	6.60000	3	1
B	5.38000	3	2
C	4.87000	3	6
C	4.83000	3	3
D	4.54000	3	5
E	4.02667	3	4

* Phân hạng theo hàng dọc (so sánh pH nhân hạt giữa các công thức tại cùng một thời điểm)

a) Sau 24 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.42153333	0.08430667	83.84	<.0001
Error	12	0.01206667	0.00100556		
Corrected Total	17	0.43360000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.972171	0.558283	0.031710	5.68

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.001006
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0791

t Grouping	Mean	N	NT
A	5.87333	3	1
B	5.77333	3	3
C B	5.73667	3	5
C D	5.67000	3	4
D	5.64667	3	2
E	5.38000	3	6

b) Sau 48 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.11233333	0.02246667	18.64	<.0001
Error	12	0.01446667	0.00120556		
Corrected Total	17	0.12680000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.885910	0.717873	0.034721	4.836667

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.001206
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0866

t Grouping	Mean	N	NT
A	4.99333	3	4
B	4.85333	3	3
B	4.83000	3	6
C B	4.81667	3	1
C B	4.79000	3	2
C	4.73667	3	5

c) Sau 72 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.55611667	0.11122333	129.16	<.0001
Error	12	0.01033333	0.00086111		
Corrected Total	17	0.56645000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.981758	0.739472	0.029345	3.968333

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.000861
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0732

t Grouping	Mean	N	NT
A	4.23333	3	4
B	4.13333	3	5
C	4.02667	3	6
D	3.85333	3	3
E D	3.81000	3	2
E	3.75333	3	1

d) Sau 96 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.14017778	0.02803556	28.84	<.0001
Error	12	0.01166667	0.00097222		
Corrected Total	17	0.15184444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.923167	0.692216	0.031180	4.504444

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.000972
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0778

t Grouping	Mean	N	NT
A	4.60000	3	4
B A	4.56333	3	2
B A	4.54000	3	6
B	4.50333	3	5
B	4.49667	3	3
C	4.32333	3	1

e) Sau 120 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.42562778	0.08512556	53.02	<.0001
Error	12	0.01926667	0.00160556		
Corrected Total	17	0.44489444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.956694	0.819322	0.040069	4.890556

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.001606
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0999

t Grouping	Mean	N	NT
A	5.17000	3	4
B	4.95667	3	5
C B	4.87000	3	6
C	4.85333	3	2
C	4.83667	3	3
D	4.65667	3	1

4. Độ Brix

* Phân hạng theo hàng ngang (so sánh độ Brix của cùng một công thức theo thời gian)

a) CT 1

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	144.4244500	28.8848900	6743.55	<.0001
Error	12	0.0514000	0.0042833		
Corrected Total	17	144.4758500			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.999644	0.614431	0.065447	10.65167

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.004283
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.1632

t Grouping	Mean	N	NT
A	16.00000	3	1
B	11.56000	3	2
C	10.93000	3	3
D	9.83000	3	4
E	8.70000	3	5
F	6.89000	3	6

b) CT 2

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	147.7684500	29.5536900	15832.3	<.0001
Error	12	0.0224000	0.0018667		
Corrected Total	17	147.7908500			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.999848	0.419669	0.043205	10.29500

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.001867
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.1078

t Grouping	Mean	N	NT
A	16.00000	3	1
B	10.81000	3	2
C	10.25000	3	3
D	9.37000	3	4
E	8.62000	3	5
F	6.72000	3	6

c) CT 3

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	153.1816000	30.6363200	4811.99	<.0001
Error	12	0.0764000	0.0063667		
Corrected Total	17	153.2580000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.999501	0.762581	0.079791	10.46333

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.006367
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.199

t Grouping	Mean	N	NT
A	16.00000	3	1
B	11.06000	3	2
B	10.87000	3	3
C	9.72000	3	4
D	8.69000	3	5
E	6.44000	3	6

d) CT 4

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	215.0564500	43.0112900	23675.9	<.0001
Error	12	0.0218000	0.0018167		
Corrected Total	17	215.0782500			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.999899	0.472969	0.042622	9.011667

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.001817
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.1063

t Grouping	Mean	N	NT
A	16.00000	3	1
B	10.05000	3	2
C	8.64000	3	3
D	7.35000	3	4
E	6.69000	3	5
F	5.34000	3	6

e) CT 5

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	174.2695611	34.8539122	7851.95	<.0001
Error	12	0.0532667	0.0044389		
Corrected Total	17	174.3228278			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.999694	0.687131	0.066625	9.696111

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.004439
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.1662

t Grouping	Mean	N	NT
A	16.00000	3	1
B	10.59000	3	2
C	9.40000	3	3
D	8.35000	3	4
E	7.25000	3	5
F	6.58667	3	6

g) CT 6

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	172.5916000	34.5183200	31863.1	<.0001
Error	12	0.0130000	0.0010833		
Corrected Total	17	172.6046000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.999925	0.336774	0.032914	9.773333

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.001083
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0821

t Grouping	Mean	N	NT
A	16.00000	3	1
B	10.57000	3	2
C	9.71000	3	3
D	8.49000	3	4
E	7.36000	3	5
F	6.51000	3	6

* Phân hạng theo hàng ngang (so sánh độ Brix của các công thức tại cùng một thời điểm)

a) Sau 24 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	3.90160000	0.78032000	187.28	<.0001
Error	12	0.05000000	0.00416667		
Corrected Total	17	3.95160000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	BD Mean
0.987347	0.599162	0.064550	10.77333

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.004167
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.161

t Grouping	Mean	N	NT
A	11.56000	3	1
B	11.06000	3	3
C	10.81000	3	2
D	10.59000	3	5
D	10.57000	3	6
E	10.05000	3	4

b) Sau 48 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	11.91400000	2.38280000	1401.65	<.0001
Error	12	0.02040000	0.00170000		
Corrected Total	17	11.93440000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.998291	0.413690	0.041231	9.966667

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.0017
Critical Value of t	3.05454

t Grouping	Mean	N	NT
A	10.93000	3	1
A	10.87000	3	3
B	10.25000	3	2
C	9.71000	3	6
D	9.40000	3	5
E	8.64000	3	4

c) Sau 72 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	13.85185000	2.77037000	995.34	<.0001

Error	12	0.03340000	0.00278333		
Corrected Total	17	13.88525000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.997595	0.596016	0.052757	8.851667

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.002783
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.1316

t Grouping	Mean	N	NT
A	9.83000	3	1
A	9.72000	3	3
B	9.37000	3	2
C	8.49000	3	6
D	8.35000	3	5
E	7.35000	3	4

d) Sau 96 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	11.87805000	2.37561000	636.32	<.0001
Error	12	0.04480000	0.00373333		
Corrected Total	17	11.92285000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.996243	0.774902	0.061101	7.885000

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.003733
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.1524

t Grouping	Mean	N	NT
A	8.70000	3	1
A	8.69000	3	3
A	8.62000	3	2
B	7.36000	3	6
B	7.25000	3	5
C	6.69000	3	4

e) Sau 120 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	4.54017778	0.90803556	121.52	<.0001
Error	12	0.08966667	0.00747222		
Corrected Total	17	4.62984444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.980633	1.347615	0.086442	6.414444

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NT	5	4.54017778	0.90803556	121.52	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
NT	5	4.54017778	0.90803556	121.52	<.0001

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.007472
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.2156

t Grouping	Mean	N	NT
A	6.89000	3	1
A B	6.72000	3	2
C B	6.58667	3	5
C B	6.51000	3	6
C	6.44000	3	3
D	5.34000	3	4

5. pH hạt khô

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.20602778	0.04120556	370.85	<.0001
Error	12	0.00133773	0.00011111		
Corrected Total	17	0.20736111			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.993570	0.204789	0.010541	5.147222

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.000111
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0263

t Grouping	Mean	N	NT
A	5.340000	3	4
B	5.180000	3	5
B	5.156667	3	6
C	5.120000	3	2
C	5.106667	3	3
D	4.980000	3	1

6. Acid lactic

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	56.37717778	11.27543556	60.83	<.0001

Error	12	2.22433333	0.18536111		
Corrected Total	17	58.60151111			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	AL Mean
0.962043	1.511300	0.430536	28.48778

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.185361
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	1.0738

t Grouping	Mean	N	NT
A	30.2467	3	1
A	30.1000	3	3
A	30.0333	3	5
B	27.6333	3	2
B	27.3867	3	6
C	25.5267	3	4

7. Acid acetic

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	2.96253333	0.59250667	0.47	0.7937
Error	12	15.22486667	1.26873889		
Corrected Total	17	18.18740000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	AC Mean
0.162889	7.492571	1.126383	15.03333

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	1.268739
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	2.8092

t Grouping	Mean	N	NT
A	15.5833	3	1
A	15.3767	3	2
A	15.3233	3	3
A	14.7167	3	5
A	14.6600	3	4
A	14.5400	3	6

8. Tổng acid a cetic và acid lactic

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	73.14477778	14.62895556	9.33	0.0008
Error	12	18.81880000	1.56823333		
Corrected Total	17	91.96357778			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	A Mean

0.795367	2.877434	1.252291	43.52111

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	1.568233
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	3.1232

t Grouping	Mean	N	NT
A	45.830	3	1
A	45.423	3	3
B A	44.750	3	5
B A C	43.010	3	2
B C	41.927	3	6
C	40.187	3	4

Lưu ý:

Công thức	Chủng nấm men	Tên nấm men
CT1	M0	Không bổ sung nấm men (đối chứng)
CT2	M1	Saccharomycodes ludwigii
CT3	M2	Schizosaccharomyces pombe
CT4	M3	Saccharomyces cerevisiae
CT5	M4	Pichia kudriavzevii
CT6	M5	Candida tropicalis

PHỤ LỤC 15. KẾT QUẢ XỬ LÝ SỐ LIỆU CÁC THÍ NGHIỆM LÊN MEN ÉP HẠT

1. Nhiệt độ khối ủ đo lúc 8 giờ mỗi ngày.

* Phân hạng theo hàng ngang (so sánh nhiệt độ khối ủ lúc 8 giờ mỗi ngày của cùng một công thức theo thời gian)

a) Ở tỉ lệ ép 0%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1357.836111	271.567222	6187.61	<.0001
Error	12	0.526667	0.043889		
Corrected Total	17	1358.362778			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.999612	0.550422	0.209497	38.06111

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.043889
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.5225

t Grouping	Mean	N	NT
A	50.1333	3	4
B	44.2000	3	6
B	43.7667	3	5
C	35.5333	3	3
D	28.2333	3	2
E	26.5000	3	1

b) Ở tỉ lệ ép 4%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1261.417778	252.283556	32436.5	<.0001
Error	12	0.093333	0.007778		
Corrected Total	17	1261.511111			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.999926	0.228608	0.088192	38.57778

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.007778
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.22

t Grouping	Mean	N	NT
A	50.20000	3	4
B	44.30000	3	5
C	43.80000	3	6
D	36.83333	3	3
E	29.83333	3	2
F	26.50000	3	1

c) Ở tỉ lệ ép 7%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1213.396111	242.679222	2348.51	<.0001
Error	12	1.240000	0.103333		
Corrected Total	17	1214.636111			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.998979	0.830037	0.321455	38.72778

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.103333
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.8017

t Grouping	Mean	N	NT
A	49.6333	3	4
B	44.4000	3	6
B	44.2667	3	5
C	37.2667	3	3
D	30.3000	3	2
E	26.5000	3	1

d) Ở tỉ lệ ép10%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1202.664444	240.532889	4286.72	<.0001
Error	12	0.673333	0.056111		
Corrected Total	17	1203.337778			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.999440	0.615445	0.236878	38.48889

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.056111
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.5908

t Grouping	Mean	N	NT
A	49.4000	3	4
B	44.0000	3	6
B	43.8667	3	5
C	37.5000	3	3
D	29.6667	3	2
E	26.5000	3	1

e) Ở tỉ lệ ép 13%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F

Model	5	1311.982778	262.396556	9082.96	<.0001
Error	12	0.346667	0.028889		
Corrected Total	17	1312.329444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.999736	0.431328	0.169967	39.40556

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.028889
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.4239

t Grouping	Mean	N	NT
A	51.5333	3	4
B	43.9333	3	5
B	43.9000	3	6
C	40.2333	3	3
D	30.3333	3	2
E	26.5000	3	1

g) Ở tỉ lệ ép 16%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1331.693333	266.338667	17121.8	<.0001
Error	12	0.186667	0.015556		
Corrected Total	17	1331.880000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.999860	0.316018	0.124722	39.46667

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.015556
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.3111

t Grouping	Mean	N	NT
A	50.3333	3	4
B	46.9000	3	6
C	44.4667	3	5
D	37.7667	3	3
E	30.8333	3	2
F	26.5000	3	1

* Phân hạng theo hàng dọc (so sánh nhiệt độ khối ủ lúc 8 giờ mỗi ngày giữa các công thức tại cùng một thời điểm)

a) Sau 24 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	12.14666667	2.42933333	50.85	<.0001
Error	12	0.57333333	0.04777778		
Corrected Total	17	12.72000000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.954927	0.731857	0.218581	29.86667

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.047778
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.5451

t Grouping	Mean	N	NT
A	30.8333	3	6
B A	30.3333	3	5
B A	30.3000	3	3
B C	29.8333	3	2
C	29.6667	3	4
D	28.2333	3	1

b) Sau 48 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	35.71777778	7.14355556	217.94	<.0001
Error	12	0.39333333	0.03277778		
Corrected Total	17	36.11111111			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.989108	0.482504	0.181046	37.52222

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.032778
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.4515

Duncan Grouping	Mean	N	NT
A	40.2333	3	5
B	37.7667	3	6
C B	37.5000	3	4
C D	37.2667	3	3
D	36.8333	3	2
E	35.5333	3	1

c) Sau 72 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	8.28277778	1.65655556	17.96	<.0001
Error	12	1.10666667	0.09222222		
Corrected Total	17	9.38944444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.882137	0.604876	0.303681	50.20556

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.092222
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.7574

t Grouping	Mean	N	NT
A	51.5333	3	5
B	50.3333	3	6
B	50.2000	3	2
C B	50.1333	3	1
C B	49.6333	3	3
C	49.4000	3	4

d) Sau 96 giờ

Source	DF	Sum of quares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1.18666667	0.23733333	2.87	0.0626
Error	12	0.99333333	0.08277778		
Corrected Total	17	2.18000000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
0.544343	0.652407	0.287711	44.10000

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.082778
Critical Value of	2.17881
Least Significant Difference	0.5118

Duncan Grouping	Mean	N	NT
A	44.4667	3	6
B A	44.3000	3	2
B A C	44.2667	3	3
B C	43.9333	3	5
B C	43.8667	3	4
C	43.7667	3	1

e) Sau 120 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	20.86000000	4.17200000	Infty	<.0001
Error	12	0.00000000	0.00000000		
Corrected Total	17	20.86000000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	T8 Mean
1.000000	0	0	44.53333

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0

t Grouping	Mean	N	NT
A	46.90	3	6
B	44.40	3	3
C	44.20	3	1
D	44.00	3	4
E	43.90	3	5
F	43.80	3	2

2. pH cơm nhầy

* Phân hạng theo hàng ngang (so sánh pH cơm nhầy trong cùng một công thức theo thời gian)

a) Tỉ lệ ép 0%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	6.83149444	1.36629889	1007.93	<.0001
Error	12	0.01626667	0.001350556		
Corrected Total	17	6.84776111			

R-Square	Coeff Var	Root SE	pH Mean
0.997625	0.924427	0.0436818	3.982778

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.001356
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0918

Means with the same letter are not significantly different.

t Grouping	Mean	N	NT
A	5.00333	3	5
B	4.38000	3	6
C	4.17333	3	4
D	3.76667	3	3
E	3.40000	3	1
F	3.17333	3	2

b) Tỉ lệ ép 4%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	7.38971111	1.47794222	41913.88	<.0001
Error	12	0.00926667	0.00077222		
Corrected Total	17	7.39897778			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.998748	0.691075	0.027789	4.021111

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.000772
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0693

t Grouping	Mean	N	NT
A	5.06333	3	5
B	4.43667	3	6
C	4.25000	3	4
D	3.80333	3	3
E	3.40000	3	1
F	3.17333	3	2

c) Tỉ lệ ép 7%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	7.88877778	1.57775556	969.27	<.0001
Error	12	0.01953333	0.00162778		
Corrected Total	17	7.90831111			

R -Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.997530	0.993194	0.040346	4.062222

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.001628
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.1006

t Grouping	Mean	N	NT
A	5.17000	3	5
B	4.47000	3	6
C	4.26667	3	4
D	3.84667	3	3
E	3.40000	3	1
F	3.22000	3	2

d)Tỉ lệ ép 10%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	8.89411667	1.77882333	1275.65	<.0001
Error	12	0.01673333	0.00139444		
Corrected Total	17	8.91085000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.998122	0.903078	0.037342	4.135000

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.001394

Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0931

Means with the same letter are not significantly different.

t Grouping	Mean	N	NT
A	5.28000	3	6
B	4.64000	3	5
C	4.31333	3	4
D	3.92667	3	3
E	3.40000	3	1
F	3.25000	3	2

e) Tỉ lệ ép 13%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	10.54391667	2.10878333	1926.81	<.0001
Error	12	0.01313333	0.00109444		
Corrected Total	17	10.55705000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.998756	0.793660	0.033082	4.168333

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.001094
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0825

t Grouping	Mean	N	NT
A	5.32333	3	6
B	4.82667	3	5
C	4.37667	3	4
D	3.94667	3	3
E	3.40000	3	1
F	3.13667	3	2

g)Tỉ lệ ép 16%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	12.16577778	2.43315556	1937.91	<.0001
Error	12	0.01506667	0.00125556		
Corrected Total	17	12.18084444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.998763	0.836800	0.035434	4.234444

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.001256
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0884

t Grouping	Mean	N	NT
A	5.41333	3	5
B	5.02333	3	6
C	4.46000	3	4
D	3.98667	3	3
E	3.40000	3	1
F	3.12333	3	2

* Phân hạng theo hàng dọc (so sánh pH cơm nhầy giữa các công thức tại một thời điểm)

a) Sau 24 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.3502778	0.00700556	4.15	0.0202
Error	12	0.02026667	0.00168889		
Corrected Total	17	0.05529444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.927719	1.916489	0.064075	3.343333

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.001689
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.1025

Duncan Grouping	Mean	N	NT
A	3.25000	3	4
B A	3.22000	3	3
B A	3.17333	3	1
B A	3.17333	3	2
B	3.13667	3	5
B	3.12333	3	6

b) Sau 48 giờ

Source	DF	Sum of quares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.11349444	0.02269889	18.16	<.0001
Error	12	0.01500000	0.00125000		
Corrected Total	17	0.12849444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.883263	0.911351	0.035355	3.879444

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.00125
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0882

t Grouping	Mean	N	NT
A	3.98667	3	6
A	3.94667	3	5

B A	3.92667	3	4
B C	3.84667	3	3
C	3.80333	3	2
C	3.76667	3	1

c) Sau 72 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.15313333	0.03062667	26.50	<.0001
Error	12	0.01386667	0.00115556		
Corrected Total	17	0.16700000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.916966	0.789322	0.033993	4.306667

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.001156
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0848

t Grouping	Mean	N	NT
A	4.46000	3	6
B A	4.37667	3	5
B C	4.31333	3	4
C	4.26667	3	3
D C	4.25000	3	2
D	4.17333	3	1

d) Sau 96 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.37471111	0.07494222	35.88	<.0001
Error	12	0.02506667	0.00208889		
Corrected Total	17	0.39977778			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.937298	0.877430	0.045704	5.208889

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.002089
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.114

Duncan Grouping	Mean	N	NT
A	5.41333	3	6
B A	5.32333	3	5
B C	5.28000	3	4
D C	5.17000	3	3
D E	5.06333	3	2

E	5.00333	3	1

e) Sau 120 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.95689444	0.19137889	145.35	<.0001
Error	12	0.01580000	0.00131667		
Corrected Total	17	0.97269444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.983756	0.783807	0.036286	4.629444

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.001317
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0905

Duncan Grouping	Mean	N	NT
A	5.02333	3	6
B	4.82667	3	5
C	4.64000	3	4
D	4.47000	3	3
D	4.43667	3	2
D	4.38000	3	1

3. pH nhân hạt

* Phân hạng theo hàng ngang (so sánh pH nhân hạt trong cùng một công thức theo thời gian)

a) Tỉ lệ ép 0%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	13.81133333	2.76226667	2576.21	<.0001
Error	12	0.01286667	0.00107222		
Corrected Total	17	13.82420000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.999069	0.665996	0.032745	4.916667

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.001072
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0817

t Grouping	Mean	N	NT
A	6.60000	3	1
B	5.46667	3	2
C	4.64667	3	6
D	4.46000	3	3
E	4.32333	3	5
F	4.00333	3	4

b) Tỉ lệ ép 4%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	12.90457778	2.58091556	307.46	<.0001
Error	12	0.10073333	0.00839444		
Corrected Total	17	13.00531111			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.992254	1.829578	0.091621	5.007778

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.008394
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.2285

t Grouping	Mean	N	NT
A	6.60000	3	1
B	5.61000	3	2
C	4.69333	3	6
C	4.63333	3	3
D	4.38000	3	5
E	4.13000	3	4

c) Tỉ lệ ép 7%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	12.52117778	2.50423556	1663.33	<.0001
Error	12	0.01806667	0.00150556		
Corrected Total	17	12.53924444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.998559	0.767671	0.038801	5.054444

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.001506
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0968

t Grouping	Mean	N	NT
A	6.60000	3	1
B	5.69000	3	2
C	4.73000	3	6
C	4.69000	3	3
D	4.43000	3	5
E	4.18667	3	4

d)Tỉ lệ ép 10%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	11.49444444	2.29888889	3364.23	<.0001
Error	12	0.00820000	0.00068333		

Corrected Total	17	11.50264444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.999287	0.509013	0.026141	5.135556

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.000683
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0652

t Grouping	Mean	N	NT
A	6.60000	3	1
B	5.75667	3	2
C	4.87000	3	6
D	4.76333	3	3
E	4.56000	3	5
F	4.26333	3	4

e) Tỉ lệ ép 13%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	9.81356111	1.96271222	281.28	<.0001
Error	12	0.08373333	0.00697778		
Corrected Total	17	9.89729444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.991540	1.573293	0.083533	5.309444

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.006978
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.2083

t Grouping	Mean	N	NT
A	6.60000	3	1
B	5.92333	3	2
C	5.10333	3	3
C	5.07000	3	6
D	4.76000	3	5
E	4.40000	3	4

g)Tỉ lệ ép 16%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	11.02977778	2.20595556	2308.56	<.0001
Error	12	0.01146667	0.00095556		
Corrected Total	17	11.04124444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean

0.998961	0.594971	0.030912	5.195556

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.000956
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.0771

t Grouping	Mean	N	NT
A	6.60000	3	1
B	5.82000	3	2
C	4.93333	3	3
C	4.92000	3	6
D	4.62000	3	5
E	4.28000	3	4

* Phân hạng theo hàng dọc (so sánh pH nhân hạt giữa các công thức tại một thời điểm)

a) Sau 24 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.38817778	0.07763556	35.83	<.0001
Error	12	0.02600000	0.00216667		
Corrected Total	17	0.41417778			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.937225	0.815033	0.046547	5.711111

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.002167
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.1161

Means with the same letter are not significantly different.

t Grouping	Mean	N	NT
A	5.92333	3	5
B A	5.82000	3	6
B C	5.75667	3	4
D C	5.69000	3	3
D	5.61000	3	2
E	5.46667	3	1

b) Sau 48 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.77636111	0.15527222	27.37	<.0001
Error	12	0.06806667	0.00567222		
Corrected Total	17	0.84442778			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.919393	1.580939	0.075314	4.763889

Alpha	0.01

Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.005672
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.1878

t Grouping	Mean	N	NT
A	5.10333	3	5
B A	4.93333	3	6
B C	4.76333	3	4
C	4.69000	3	3
D C	4.63333	3	2
D	4.46000	3	1

c) Sau 72 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.28049444	0.05609889	6.97	0.0029
Error	12	0.09660000	0.00805000		
Corrected Total	17	0.37709444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.743831	2.130878	0.089722	4.210556

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.00805
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.2238

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	NT
A	4.40000	3	5
B A	4.28000	3	6
B A	4.26333	3	4
B A C	4.18667	3	3
B C	4.13000	3	2
C	4.00333	3	1

d) Sau 96 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.40564444	0.08112889	53.89	<.0001
Error	12	0.01806667	0.00150556		
Corrected Total	17	0.42371111			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.957361	0.859920	0.038801	4.512222

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.00150
Critical Value of t	3.05454

Least Significant Difference	0.0968

t Grouping	Mean	N	NT
A	4.76000	3	5
B	4.62000	3	6
B	4.56000	3	4
C	4.43000	3	3
D C	4.38000	3	2
D	4.32333	3	1

e) Sau 120 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.38751667	0.07750333	35.32	<.0001
Error	12	0.02633333	0.00219444		
Corrected Total	17	0.41385000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.936370	0.971550	0.046845	4.821667

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.002194
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.1168

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	NT
A	5.07000	3	5
B	4.92000	3	6
B	4.87000	3	4
C	4.73000	3	3
C	4.69333	3	2
C	4.64667	3	1

4. Độ Brix

* Phân hạng theo hàng ngang (so sánh độ brix của cùng một công thức theo thời gian)

a) Tỉ lệ ép 0 %

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	245.8897778	49.1779556	381.68	<.0001
Error	12	1.5461333	0.1288444		
Corrected Total	17	247.4359111			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.993751	3.417839	0.358949	10.50222

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.128844
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.8952

t Grouping	Mean	N	NT

A	16.0000	3	1
B	13.7000	3	2
C	11.3000	3	3
D	9.7000	3	4
E	7.2667	3	5
F	5.0467	3	6

b) Tỉ lệ ép 4 %

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	229.4756278	45.8951256	3987.03	<.0001
Error	12	0.1381333	0.0115111		
Corrected Total	17	229.6137611			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.999398	1.107540	0.107290	9.687222

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.011511
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.2676

t Grouping	Mean	N	NT
A	15.02000	3	1
B	13.04667	3	2
C	10.46667	3	3
D	8.36000	3	4
E	6.40000	3	5
F	4.83000	3	6

c) Tỉ lệ ép 7 %

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	230.5781167	46.1156233	5146.19	<.0001
Error	12	0.1075333	0.0089611		
Corrected Total	17	230.6856500			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.999534	0.992103	0.094663	9.541667

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.008961
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.2361

t Grouping	Mean	N	NT
A	14.88000	3	1
B	12.90000	3	2
C	10.32000	3	3

D	8.32333	3	4
E	6.08667	3	5
F	4.74000	3	6

d) Tỉ lệ ép 10 %

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	234.6682944	46.9336589	596.83	<.0001
Error	12	0.9436667	0.0786389		
Corrected Total	17	235.6119611			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.995995	3.072416	0.280426	9.127222

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.078639
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.6994

t Grouping	Mean	N	NT
A	14.4400	3	1
B	12.6000	3	2
C	9.9000	3	3
D	7.9000	3	4
E	5.7133	3	5
F	4.2100	3	6

e) Tỉ lệ ép 13 %

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	223.3571778	44.6714356	561.39	<.0001
Error	12	0.9548667	0.0795722		
Corrected Total	17	224.3120444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.995743	3.463060	0.282085	8.145556

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.079572
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.7035

t Grouping	Mean	N	NT
A	13.9200	3	1
B	11.2067	3	2
C	8.5000	3	3
D	6.5733	3	4
E	4.5867	3	5

E	4.0867	3	6

g) Tỉ lệ ép 16 %

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	206.6984278	41.3396856	680.61	<.0001
Error	12	0.7288667	0.0607389		
Corrected Total	17	207.4272944			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.996486	3.139302	0.246453	7.850556

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.060739
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.6147

t Grouping	Mean	N	NT
A	13.4400	3	1
B	10.8000	3	2
C	8.1900	3	3
D	6.1600	3	4
E	4.5333	3	5
E	3.9800	3	6

* Phân hạng theo hàng dọc (so sánh độ brix giữa các công thức tại một thời điểm)

a) Lúc 0 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	12.14020000	2.42804000	Infty	<.0001
Error	12	0.00000000	0.00000000		
Corrected Total	17	12.14020000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
1.000000	0	0	14.61667

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0

t Grouping	Mean	N	NT
A	16.00	3	1
B	15.02	3	2
C	14.88	3	3
D	14.44	3	4
E	13.92	3	5
F	13.44	3	6

a) Sau 24 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F

Model	5	19.13591111	3.82718222	24.56	<.0001
Error	12	1.87033333	0.15586111		
Corrected Total	17	21.00624444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.910963	3.190099	0.394792	12.37556

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.155861
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.9846

t Grouping	Mean	N	NT
A	13.7000	3	1
B A	13.0467	3	2
B A	12.9000	3	3
B	12.6000	3	4
C	11.2067	3	5
C	10.8000	3	6

b) Sau 48 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	21.76322778	4.35264556	63.17	<.0001
Error	12	0.82686667	0.06890556		
Corrected Total	17	22.59009444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.963397	2.684188	0.262499	9.779444

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.068906
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.6547

tGrouping	Mean	N	NT
A	11.3000	3	1
B	10.4667	3	2
B	10.3200	3	3
B	9.9000	3	4
C	8.5000	3	5
C	8.1900	3	6

c) Sau 72 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	25.18189444	5.03637889	59.16	<.0001
Error	12	1.02153333	0.08512778		

Corrected Total	17	26.20342778			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.961015	3.723360	0.291767	7.836111

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.085128
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.7277

t Grouping	Mean	N	NT
A	9.7000	3	1
B	8.3600	3	2
B	8.3233	3	3
B	7.9000	3	4
C	6.5733	3	5
C	6.1600	3	6

d) Sau 96 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	17.00951111	3.40190222	78.67	<.0001
Error	12	0.51893333	0.04324444		
Corrected Total	17	17.52844444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.970395	3.607511	0.207953	5.764444

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.043244
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.5186

t Grouping	Mean	N	NT
A	7.2667	3	1
B	6.4000	3	2
C B	6.0867	3	3
C	5.7133	3	4
D	4.5867	3	5
D	4.5333	3	6

e) Sau 120 giờ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	2.96637778	0.59327556	39.22	<.0001
Error	12	0.18153333	0.01512778		
Corrected Total	17	3.14791111			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	DB Mean
0.942332	2.744064	0.122995	4.482222

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.015128
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.3068

t Grouping	Mean	N	NT
A	5.0467	3	1
A	4.8300	3	2
A	4.7400	3	3
B	4.2100	3	4
B	4.0867	3	5
B	3.9800	3	6

5. pH hạt khô

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	0.58146667	0.11629333	26.17	<.0001
Error	12	0.05333333	0.00444444		
Corrected Total	17	0.63480000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pH Mean
0.915984	1.258653	0.066667	5.296667

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.004444
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.1663

Duncan Grouping	Mean	N	NT
A	5.56000	3	5
B A	5.44667	3	6
B	5.38000	3	4
C	5.19000	3	2
C	5.16333	3	3
C	5.04000	3	1

6. Acid lactic

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	121.8066000	24.3613200	194.35	<.0001
Error	12	1.5042000	0.1253500		
Corrected Total	17	123.3108000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	acidlatic Mean
0.987802	1.513457	0.354048	23.39333

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.12535

Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.883

Means with the same letter are not significantly different.

t Grouping	Mean	N	NT
A	27.5300	3	4
B	25.0400	3	3
C	24.0400	3	2
C	23.3333	3	1
D	20.3933	3	5
D	20.0233	3	6

7. Acid acetic

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	145.2009778	29.0401956	772.57	<.0001
Error	12	0.4510667	0.0375889		
Corrected Total	17	145.6520444			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	acidacetic Mean
0.996903	3.104817	0.193879	6.244444

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.037589
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	0.4835

t Grouping	Mean	N	NT
A	12.0600	3	1
B	7.1500	3	2
C	5.1367	3	3
C	5.1300	3	6
C	4.7600	3	5
D	3.2300	3	4

7. Tổng acid lactic và acid axetic

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	231.9182444	46.3836489	207.90	<.0001
Error	12	2.6772667	0.2231056		
Corrected Total	17	234.5955111			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	acid Mean
0.988588	1.593711	0.472341	29.63778

Alpha	0.01
Error Degrees of Freedom	12
Error Mean Square	0.223106
Critical Value of t	3.05454
Least Significant Difference	1.178

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	NT
A	35.3933	3	1
B	31.1900	3	2
B	30.7600	3	4
B	30.1767	3	3
C	25.1533	3	6
C	25.1533	3	5

PHỤ LỤC 16.KẾT QUẢ XỬ LÝ SỐ LIỆU CÁC THÍ NGHIỆM SẤY HẠT

pH hạt khô

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	0.00204815	0.00102407	0.09	0.9142
S	2	1.08795926	0.54397963	47.78	<.0001
D	5	1.46748148	0.29349630	25.78	<.0001
S*D	10	0.04772963	0.00477296	0.42	0.9274

Duncan Grouping	Mean	N	S
A	5.22944	18	1
B	5.08500	18	2
C	4.88333	18	3

Duncan Grouping	Mean	N	D
A	5.33444	9	5
B	5.18778	9	6
C B	5.10111	9	4
C D	5.00222	9	3
E D	4.93667	9	2
E	4.83333	9	1

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.870640	2.106226	0.106700	5.065926

Duncan Grouping	Mean	N	SD
A	5.56333	3	15
B A	5.35000	3	16
B C	5.30000	3	25
B C D	5.26333	3	14
B E C D	5.18667	3	26
F B E C D	5.14667	3	13
F B E C D	5.14000	3	35
F B E C D	5.13333	3	24
F B E C D G	5.09667	3	12
F H E C D G	5.06333	3	23
F H E D G	5.02667	3	36
F H I E G	4.98000	3	22
F H I E J G	4.95667	3	11
F I H J G	4.90667	3	34
I H J G	4.84667	3	21

Duncan Grouping	Mean	N	SD
H I J	4.79667	3	33
I J	4.73333	3	32
J	4.69667	3	31

Acid lactic

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	1.13578148	0.56789074	2.53	0.0949
S	2	7.82884815	3.91442407	17.41	<.0001
D	5	67.74827593	13.54965519	60.25	<.0001
S*D	10	78.52304074	7.85230407	34.92	<.0001

Duncan Grouping	Mean	N	S
A	22.8178	18	2
B	22.2361	18	1
B	21.8956	18	3

Duncan Grouping	Mean	N	D
A	23.6789	9	3
A	23.5778	9	1
B	22.8933	9	2
C	21.7133	9	4
D	21.0911	9	6
D	20.9444	9	5

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.953060	2.124922	0.474208	22.31648

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	1.1357815	0.5678907	2.53	0.0949
SD	17	154.1001648	9.0647156	40.31	<.0001

Duncan Grouping	Mean	N	SD
A	25.8333	3	3 3
B	24.3333	3	3 1
C B	23.7667	3	1 1
C B D	23.4000	3	2 5
C B D	23.2133	3	1 2
C E D	23.1000	3	2 4
C E D	22.8333	3	2 2
C E D	22.8033	3	1 3
C E D	22.6333	3	3 2
C E D	22.6333	3	2 1
E D	22.5400	3	2 6
E D	22.4000	3	2 3
E	22.0000	3	1 4
F	20.9000	3	1 5
F	20.7333	3	1 6

Duncan Grouping	Mean	N	SD
F	20.0400	3	3 4
F	20.0000	3	3 6
G	18.5333	3	3 5

3. Acid axetic

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	0.0213926	0.0106963	0.09	0.9161
S	2	367.8700593	183.9350296	1511.67	<.0001
D	5	560.7934815	112.1586963	921.78	<.0001
S*D	10	102.9342963	10.2934296	84.60	<.0001

Duncan Grouping	Mean	N	S
A	13.1833	18	3
B	8.3133	18	2
C	7.1611	18	1

Duncan Grouping	Mean	N	D
A	16.5222	9	1
B	9.7044	9	2
C	8.5333	9	4
D	7.9333	9	6
E	7.3444	9	3
E	7.2778	9	5

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.996006	3.651594	0.348822	9.552593

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	0.021393	0.010696	0.09	0.9161
SD	17	1031.597837	60.682226	498.72	<.0001

Duncan Grouping	Mean	N	SD
A	17.7333	3	2 1
B	16.6667	3	3 1
C	15.1667	3	1 1
D	13.9000	3	3 2
E D	13.1333	3	3 4
E	13.0333	3	3 6
F	11.9333	3	3 5
G	10.4333	3	3 3
G	9.6800	3	2 2
H	6.8000	3	1 4
I	6.0000	3	2 3
I	5.6667	3	2 4
I	5.6000	3	1 3
I	5.5333	3	1 2
I	5.4667	3	2 6

Duncan Grouping	Mean	N	SD
J I	5.3333	3	2 5
J I	5.3000	3	1 6
J	4.5667	3	1 5

4. Tổng aicd latic và acid axetic

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	1.4212037	0.7106019	1.98	0.1536
S	2	305.2359370	152.6179685	425.40	<.0001
D	5	837.1627204	167.4325441	466.69	<.0001
S*D	10	71.5703963	7.1570396	19.95	<.0001

Duncan Grouping	Mean	N	S
A	35.0789	18	3
B	31.1311	18	2
C	29.3972	18	1

Duncan Grouping	Mean	N	D
A	40.1000	9	1
B	32.5978	9	2
C	31.0233	9	3
D	30.2467	9	4
E	29.0244	9	6
F	28.2222	9	5

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.990063	1.879470	0.598970	31.86907

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	1.421204	0.710602	1.98	0.1536
SD	17	1213.969054	71.409944	199.04	<.0001

Duncan Grouping	Mean	N	SD
A	41.0000	3	3 1
A	40.3667	3	2 1
B	38.9333	3	1 1
C	36.5333	3	3 2
C	36.2667	3	3 3
D	33.1733	3	3 4
D	33.0333	3	3 6
D	32.5133	3	2 2
E	30.4667	3	3 5
F	28.8000	3	1 4
F	28.7667	3	2 4
F	28.7467	3	1 2
F	28.7333	3	2 5
F	28.4033	3	1 3
F	28.4000	3	2 3
Duncan Grouping	Mean	N	SD
F	28.0067	3	2 6
G	26.0333	3	1 6
G	25.4667	3	1 5

PHỤ LỤC 17. KẾT QUẢ XỬ LÝ SỐ LIỆU CÁC THÍ NGHIỆM PHƠI HẠT

pH hạt khô

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	0.00222222	0.00111111	1.97	0.1725
S	2	0.85342222	0.42671111	754.87	<.0001
D	2	0.37006667	0.18503333	327.33	<.0001
S*D	4	0.04304444	0.01076111	19.04	<.0001

Duncan Grouping	Mean	N	S
A	5.40778	9	3
B	5.24556	9	2
C	4.97667	9	1

Duncan Grouping	Mean	N	D
A	5.35111	9	3
B	5.21444	9	2
C	5.06444	9	1

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.992922	0.456345	0.023776	5.210000

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	0.00222222	0.00111111	1.97	0.1725
SD	8	1.26653333	0.15831667	280.07	<.0001

Duncan Grouping	Mean	N	SD
A	5.51000	3	3
B	5.40667	3	2
C B	5.35667	3	3
C D	5.30667	3	1
D	5.25667	3	2
E	5.18667	3	3
F	5.12333	3	1
G	4.98000	3	2
H	4.76333	3	1

2. Acid lactic

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	0.01511852	0.00755926	0.12	0.8888
S	2	63.92445185	31.96222593	502.28	<.0001
D	2	9.15325185	4.57662593	71.92	<.0001
S*D	4	4.77259259	1.19314815	18.75	<.0001

Duncan Grouping	Mean	N	S
A	20.9578	9	1
B	19.9678	9	2
C	17.3133	9	3

Duncan Grouping	Mean	N	D
A	20.0933	9	1
B	19.4744	9	2
C	18.6711	9	3

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.987093	1.299432	0.252258	19.41296

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
K	2	0.01511852	0.00755926		0.12	0.8888
SD	8	77.85029630	9.73128704		152.93	<.0001

Duncan Grouping	Mean	N	SD	
A	22.4300	3	1	1
B	20.4100	3	1	2
B	20.3533	3	2	1
B	20.3400	3	2	2
B	20.0333	3	1	3
C	19.2100	3	2	3
D	17.6733	3	3	2
D	17.4967	3	3	1
E	16.7700	3	3	

3. Acid acetic

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	1.41135556	0.70567778	1.07	0.3669
S	2	35.02215556	17.51107778	26.51	<.0001
D	2	36.78042222	18.39021111	27.84	<.0001
S*D	4	15.73848889	3.93462222	5.96	0.0039

Duncan Grouping	Mean	N	S
A	13.9789	9	1
B	12.5244	9	2
C	11.1900	9	3

Duncan Grouping	Mean	N	D
A	13.9700	9	1
B	12.6111	9	2
C	11.1122	9	3

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.893801	6.468664	0.812752	12.56444

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F

K	2	1.41135556	0.70567778	1.07	0.3669
SD	8	87.54106667	10.94263333	16.57	<.0001

Duncan Grouping	Mean	N	SD
A	15.4933	3	1 1
B A	14.6367	3	2 1
B A C	13.6133	3	1 2
B D C	12.8300	3	1 3
B D C	12.7033	3	3 2
D C	11.7800	3	3 1
D C	11.5167	3	2 2
D	11.4200	3	2 3
E	9.0867	3	3 3

4. Tổng aicd latic và acid axetic

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	1.5600296	0.7800148	1.33	0.2917
S	2	189.8229630	94.9114815	162.09	<.0001
D	2	82.5906963	41.2953481	70.52	<.0001
S*D	4	23.2373926	5.8093481	9.92	0.0003

Duncan Grouping	Mean	N	S
A	34.9367	9	1
B	32.4922	9	2
C	28.5033	9	3

Duncan Grouping	Mean	N	D
A	34.0633	9	1
B	32.0856	9	2
C	29.7833	9	3

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Y Mean
0.969440	2.393008	0.765222	31.97741

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
K	2	1.5600296	0.7800148	1.33	0.2917
SD	8	295.6510519	36.9563815	63.11	<.0001

Duncan Grouping	Mean	N	SD
A	37.9233	3	1 1
B	34.9900	3	2 1
C B	34.0233	3	1 2
C D	32.8633	3	1 3
E D	31.8567	3	2 2
E F	30.6300	3	2 3
E F	30.3767	3	3 2
F	29.2767	3	3 1
G	25.8567	3	3 3

PHỤ LỤC 18. KẾT QUẢ PHÂN TÍCH ĐẤT

Stt	Chỉ tiêu phân tích/ kí hiệu mẫu	Đơn vị	Mẫu -1	Mẫu -2	Phương pháp thử
1	$N_{tổng}$	%	0,17	0,12	TCVN 6645-2000
2	$P_{tổng}$	%	0,60	0,05	AOAC 990.08 -2000
3	$N_{tổng}$	%	0,04	0,02	TCVN 8562:2010
4	Cacbon hữu cơ	%	2,81	1,94	TCVN 6642-2000
5	N_{dt}	mg/100g	7,2	3,1	TCN – STPT 1999
6	P_{dt}	mg/100g	34,0	1,4	TCN – STPT 1999
7	K^+	mEq/100g	1,18	0,10	TCN – STPT 1999
8	Ca^{2+}	mEq/100g	2,15	0,73	TCN – STPT 1999
9	Mg^{2+}	mEq/100g	0,67	0,48	TCN – STPT 1999

Stt	Chỉ tiêu phân tích/ kí hiệu mẫu		Đường kính/ Đơn vị	Mẫu -1	Mẫu -2	Phương pháp thử
1	Hạt sạn sỏi (%)	/	>10 mm	0	0	TCVN 4198:1995
			10-5mm	0	0	TCVN 4198:1995
			5-2mm	0	2,00	TCVN 4198:1995
2	Hạt cát (%)	Cát thô	2-1mm	8,10	8,20	TCVN 4198:1995
		Cát thô	1-0,5mm	12,4	14,30	TCVN 4198:1995
		Cát trung	0,5-0,25mm	6,47	15,95	TCVN 4198:1995
		Cát nhỏ	0,25-0,10mm	9,12	10,77	TCVN 4198:1995
		Cát bụi	0,10-0,05mm	9,50	14,50	TCVN 4198:1995
3	Hạt bụi (%)	Bụi to	0,05-0,01mm	14,1	6,44	TCVN 4198:1995
		Bụi nhỏ	0,01-0,005mm	17,82	6,67	TCVN 4198:1995
4	Hạt sét (%)	/	<0,005mm	22,49	21,17	TCVN 4198:1995

Stt	Chỉ tiêu phân tích/ kí hiệu mẫu		Đường kính/ Đơn vị	Mẫu -1	Mẫu -2	Phương pháp thử
1	Hạt sạn sỏi (%)	/	>10 mm	0	0	TCVN 4198:1995
			10-5mm	0	0	TCVN 4198:1995
			5-2mm	0	2,00	TCVN 4198:1995
2	Hạt cát (%)	Cát thô	2-1mm	8,10	8,20	TCVN 4198:1995
		Cát thô	1-0,5mm	12,4	14,30	TCVN 4198:1995
		Cát trung	0,5-0,25mm	6,47	15,95	TCVN 4198:1995
		Cát nhỏ	0,25-0,10mm	9,12	10,77	TCVN 4198:1995
		Cát bụi	0,10-0,05mm	9,50	14,50	TCVN 4198:1995
3	Hạt bụi (%)	Bụi to	0,05-0,01mm	14,1	6,44	TCVN 4198:1995
		Bụi nhỏ	0,01-0,005mm	17,82	6,67	TCVN 4198:1995
4	Hạt sét (%)	/	<0,005mm	22,49	21,17	TCVN 4198:1995

PHỤ LỤC 19. KẾT QUẢ PHÂN TÍCH HÀM LƯỢNG ĐƯỜNG

VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN
VIỆN NGHIÊN CỨU
KHOA HỌC TÂY NGUYÊN

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Đà Lạt, ngày 10 tháng 01 năm 2014

KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

1	Đơn vị (người) gửi mẫu	: Phạm Thị Hồng Hải		
2	Địa chỉ	: Di Linh, Lâm Đồng,		
3	Tên mẫu	**: Quả Ca cao**		
4	Khối lượng mẫu	: 0,5 kg hạt tươi/mẫu		
5	Mô tả mẫu	:	Số lượng mẫu	: 54
6	Ngày nhận mẫu	: 11/12//2013	Ngày trả kết quả	:10/01/2014
7	Thời gian phân tích	: 10/01/2014	Đến	:10/01/2014
8	Lưu mẫu	: ☐ Có	☑ Không	
9	Kết quả thử nghiệm	:		

Stt	Kí hiệu mẫu	Đơn vị	Hàm lượng đường tổng	Stt	Kí hiệu mẫu	Đơn vị	Hàm lượng đường tổng
1	D1	%	7,9	19	T1	%	9,7
2	D2	%	8,2	20	T2	%	9,8
3	D3	%	8,1	21	T3	%	10,1
4	D4	%	8,9	22	T4	%	10,2
5	D5	%	8,8	23	T5	%	11,5
6	D6	%	8,9	24	T6	%	11,0
7	D7	%	8,8	25	T7	%	12,1
8	D8	%	9,0	26	T8	%	10,9
9	D9	%	9,4	27	T9	%	11,3
10	D10	%	10,5	28	T10	%	11,8
11	D11	%	10,6	29	T11	%	12,1
12	D12	%	10,4	30	T12	%	11,8
13	D13	%	12,0	31	T13	%	14,4
14	D14	%	12,3	32	T14	%	14,2
15	D15	%	12,2	33	T15	%	15,0
16	D16	%	11,2	34	T16	%	14,8
17	D17	%	11,0	35	T17	%	12,9
18	D18	%	10,9	36	T18	%	12,5
19	D19	%	7,5	19	T19	%	10,1
20	D20	%	7,3	20	T20	%	10,2
21	D21	%	7,2	21	T21	%	10,1
22	D22	%	7,8	22	T22	%	11,1
23	D23	%	8,2	23	T23	%	11,0
24	D24	%	7,7	24	T24	%	11,4
25	D25	%	7,9	25	T25	%	11,5
26	D26	%	8,4	26	T26	%	11,2
27	D27	%	8,3	27	T27	%	11,9
28	D28	%	8,9	28	T28	%	11,8

29	D29	%	9,6	29	T29	%	12,1
30	D30	%	9,4	30	T30	%	11,1
31	D31	%	10,5	31	T31	%	11,7
32	D32	%	10,3	32	T32	%	12,5
33	D33	%	10,4	33	T33	%	12,1
34	D34	%	9,8	34	T34	%	12,9
35	D35	%	10,4	35	T35	%	11,8
36	D36	%	10,1	36	T36	%	13,2
37	D37	%	6,4	37	T37	%	9,5
38	D38	%	5,8	38	T38	%	10,4
39	D39	%	6,1	39	T39	%	9,7
40	D40	%	6,2	40	T40	%	10,1
41	D41	%	6,6	41	T41	%	9,7
42	D42	%	6,3	42	T42	%	11,2
43	D43	%	7,5	43	T43	%	11,0
44	D44	%	7,6	44	T44	%	11,5
45	D45	%	7,7	45	T45	%	11,3
46	D46	%	8,2	46	T46	%	11,7
47	D47	%	8,2	47	T47	%	12,4
48	D48	%	8,4	48	T48	%	11,5
49	D49	%	9,9	49	T49	%	11,8
50	D50	%	10,2	50	T50	%	12,7
51	D51	%	10,3	51	T51	%	12,9
52	D52	%	9,4	52	T52	%	13,3
53	D53	%	9,1	53	T53	%	11,7
54	D54	%	9,2	54	T54	%	13,4

KT. VIỆN TRƯỞNG
PHÓ VIỆN TRƯỞNG

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN NGHIÊN CỨU KHOA HỌC TÂY NGUYÊN

Nguyễn Hữu Toàn Phan

PHỤ LỤC 20. KẾT QUẢ PHÂN LẬP VÀ ĐỊNH DANH NẤM MEN

CÔNG TY TNHH DỊCH VỤ VÀ THƯƠNG MẠI NAM KHOA
793/58 Trần Xuân Soạn, P. Tân Hưng, Q.7, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam
Phone: (08)37715818; (08)37752252 Fax: (08)37750583; (08)37752250
Email: phhvan.nkbiotek@gmail.com Email: namkhoa.biotek@gmail.com
ISO 9001:2008 WHO GMP/GLP ISO 13485

Số: 374/2014/DVVS

KẾT QUẢ THÍ NGHIỆM

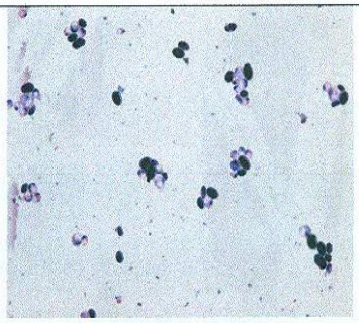
THÔNG TIN VỀ MẪU THỬ	
Nơi gởi mẫu:	**PHẠM THỊ HỒNG HẢI**
Mẫu thử:	**Mẫu 3.1**
Yêu cầu:	Định danh bằng phương pháp giải trình tự gen 28S

PHƯƠNG PHÁP THỰC HIỆN

☒ Giải trình tự gen 28S rRNA và tra cứu trên BLAST SEARCH

Kết quả

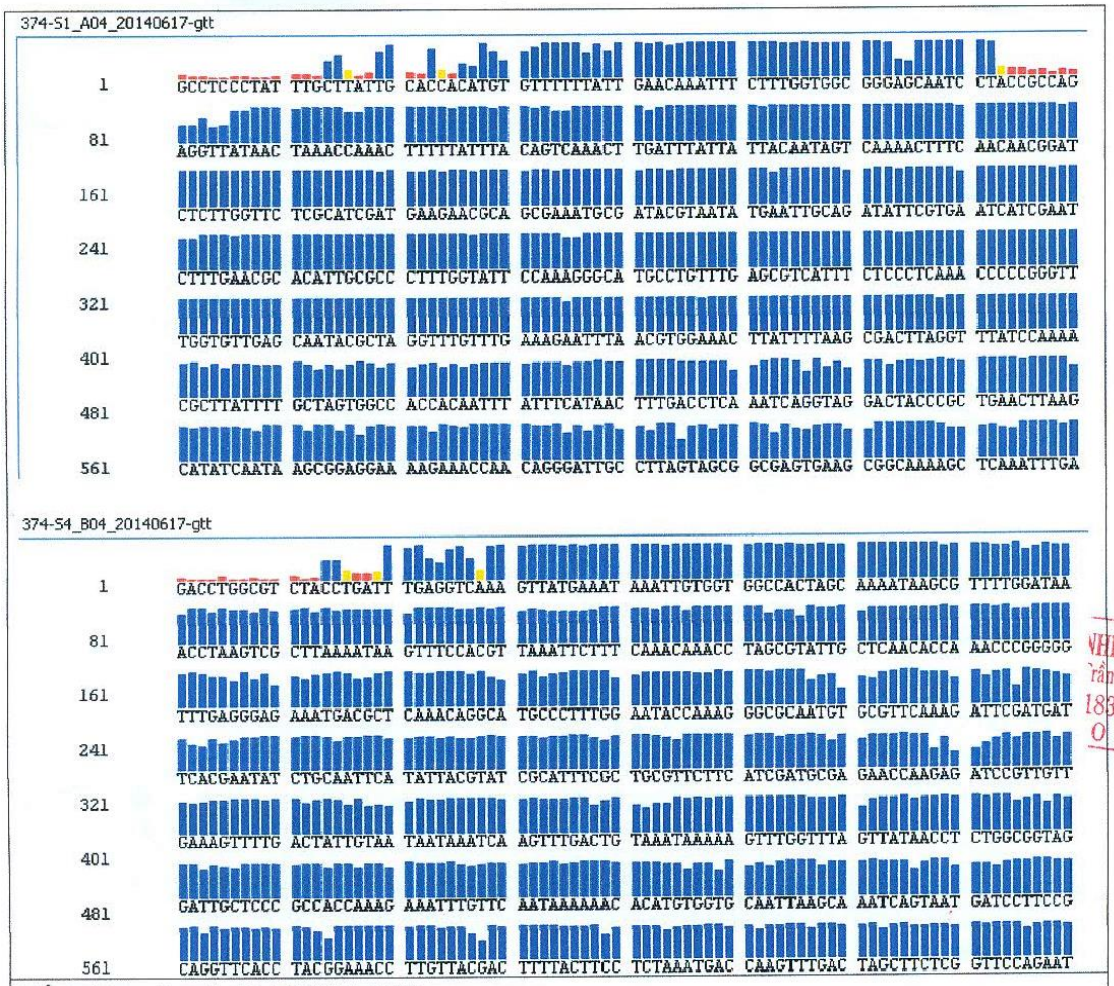
SAB



Gram

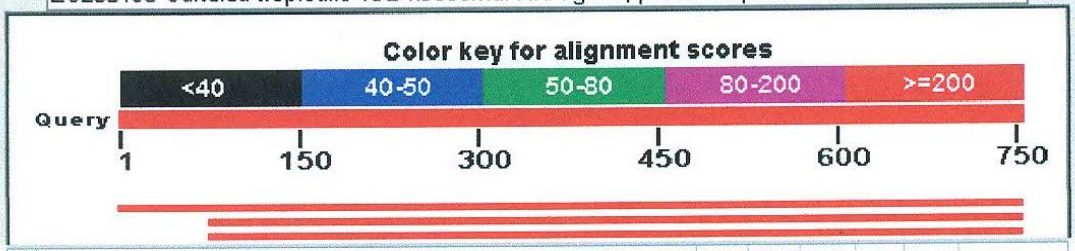
Kết quả giải trình tự gen 28S

GGGGGCAACTCCATTCTGGAACCGAGAAGCTAGTCAAACTTGGTCATTTAGAGGAAGTA
AAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTGATTTGCTTAA
TTGCACCACATGTGTTTTTTATTGAACAAATTTCTTTGGTGGCGGGAGCAATCCTACCGCC
AGAGGTTATAACTAAACCAAACTTTTTATTTACAGTCAAACTTGATTTATTATTACAATAG
TCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGC
GATACGTAATATGAATTGCAGATATTCGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGC
CCTTTGGTATTCCAAAGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTCCCTCAAACCCCCGGGTT
TGGTGTTGAGCAATACGCTAGGTTTGTTTGAAAGAATTTAACGTGGAAACTTATTTTAAG
CGACTTAGGTTTATCCAAAACGCTTATTTTGCTAGTGGCCACCACAATTTATTTCATAACT
TTGACCTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA
AAGAAACCAACAGGGATTGCCTTAGTAGCGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTG
AAATCTGGCTCTTTCAGAGTCCGAGTTGTAATTTGAAGAAGGTATCTTTGGGTCTGGCTCT
TGTCTATGTTTCTTGGAACAGAACGTCACA



Kết quả tra cứu trên BLAST SEARCH

EU288196 Candida tropicalis 18S ribosomal RNA gene, partial sequ.. S=1389 E=0



Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Candida tropicalis 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5	1389	1389	100%	0.0	100%	EU288196.1
Candida tropicalis strain OMY internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal R	1236	1236	90%	0.0	99%	GU911469.1

Candida tropicalis 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: gb|EU288196.1|Length: 752Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 1 to 752GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match

Alignment statistics for match #1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1389 bits(752)	0.0	752/752(100%)	0/752(0%)	Plus/Plus

```
Query  1    GGGGGCAACTCCATTCTGGAACCGAGAAGCTAGTCAAACTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA  60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  1    GGGGGCAACTCCATTCTGGAACCGAGAAGCTAGTCAAACTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA  60

Query  61   AAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTGATTTGCTTAAT  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  61   AAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTGATTTGCTTAAT  120

Query  121  TGCACCACATGTGTTTTTTATTGAACAAATTTCTTTGGTGGCGGGAGCAATCCTACCGCC  180
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  121  TGCACCACATGTGTTTTTTATTGAACAAATTTCTTTGGTGGCGGGAGCAATCCTACCGCC  180

Query  181  AGAGGTTATAACTAAACCAAACTTTTTATTTACAGTCAAACTTGATTTATTATTACAATA  240
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  181  AGAGGTTATAACTAAACCAAACTTTTTATTTACAGTCAAACTTGATTTATTATTACAATA  240

Query  241  GTCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG  300
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  241  GTCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG  300

Query  301  CGATACGTAATATGAATTGCAGATATTCGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG  360
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  301  CGATACGTAATATGAATTGCAGATATTCGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG  360

Query  361  CCCTTTGGTATTCCAAAGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTCCCTCAAACCCCCGGG  420
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  361  CCCTTTGGTATTCCAAAGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTCCCTCAAACCCCCGGG  420

Query  421  TTTGGTGTTGAGCAATACGCTAGGTTTGTTTGAAAGAATTTAACGTGGAAACTTATTTTA  480
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  421  TTTGGTGTTGAGCAATACGCTAGGTTTGTTTGAAAGAATTTAACGTGGAAACTTATTTTA  480

Query  481  AGCGACTTAGGTTTATCCAAAACGCTTATTTTGCTAGTGGCCACCACAATTTATTTCATA  540
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  481  AGCGACTTAGGTTTATCCAAAACGCTTATTTTGCTAGTGGCCACCACAATTTATTTCATA  540

Query  541  ACTTTGACCTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGG  600
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  541  ACTTTGACCTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGG  600
```

THƯ VIỆN
Tân - F. Tân Hưng
18329 - 77
8 8 8 9

```
Query  601  AAAAGAAACCAACAGGGATTGCCTTAGTAGCGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTT  660
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  601  AAAAGAAACCAACAGGGATTGCCTTAGTAGCGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTT  660

Query  661  GAAATCTGGCTCTTTCAGAGTCCGAGTTGTAATTTGAAGAAGGTATCTTTGGGTCTGGCT  720
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  661  GAAATCTGGCTCTTTCAGAGTCCGAGTTGTAATTTGAAGAAGGTATCTTTGGGTCTGGCT  720

Query  721  CTTGTCTATGTTTCTTGGAACAGAACGTCACA  752
            ||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  721  CTTGTCTATGTTTCTTGGAACAGAACGTCACA  752
```

KẾT LUẬN ***Candida tropicalis***

TP. Hồ Chí Minh, ngày 18 tháng 06 năm 2014

TRƯỞNG PHÒNG

CTY TNHH DV & TM NAM KHOA
793/58 Trần Xuân Soạn - P. Tân Hưng - Q.7
ĐT: 7718328 - 7718329 - 7750583
MST: 0 3 0 1 8 8 8 9 1 0

TS.BS.Phạm Hùng Vân

CÔNG TY TNHH DỊCH VỤ VÀ THƯƠNG MẠI NAM KHOA
793/58 Trần Xuân Soạn, P. Tân Hưng, Q.7, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam
Phone: (08)37715818; (08)37752252 Fax: (08)37750583; (08)37752250
Email: phhvan.nkbiotek@gmail.com Email: namkhoa.biotek@gmail.com

ISO 9001:2008 WHO GMP/GLP ISO 13485

Số: 626/2014/DVVS

KẾT QUẢ THÍ NGHIỆM

THÔNG TIN VỀ MẪU THỬ	
Nơi gởi mẫu:	**PHẠM THỊ HỒNG HẢI**
Tên mẫu:	**1.2.1**
Yêu cầu:	Định danh bằng phương pháp giải trình tự gen 28S

PHƯƠNG PHÁP THỰC HIỆN

☒ Giải trình tự gen 28S rRNA và tra cứu trên BLAST SEARCH

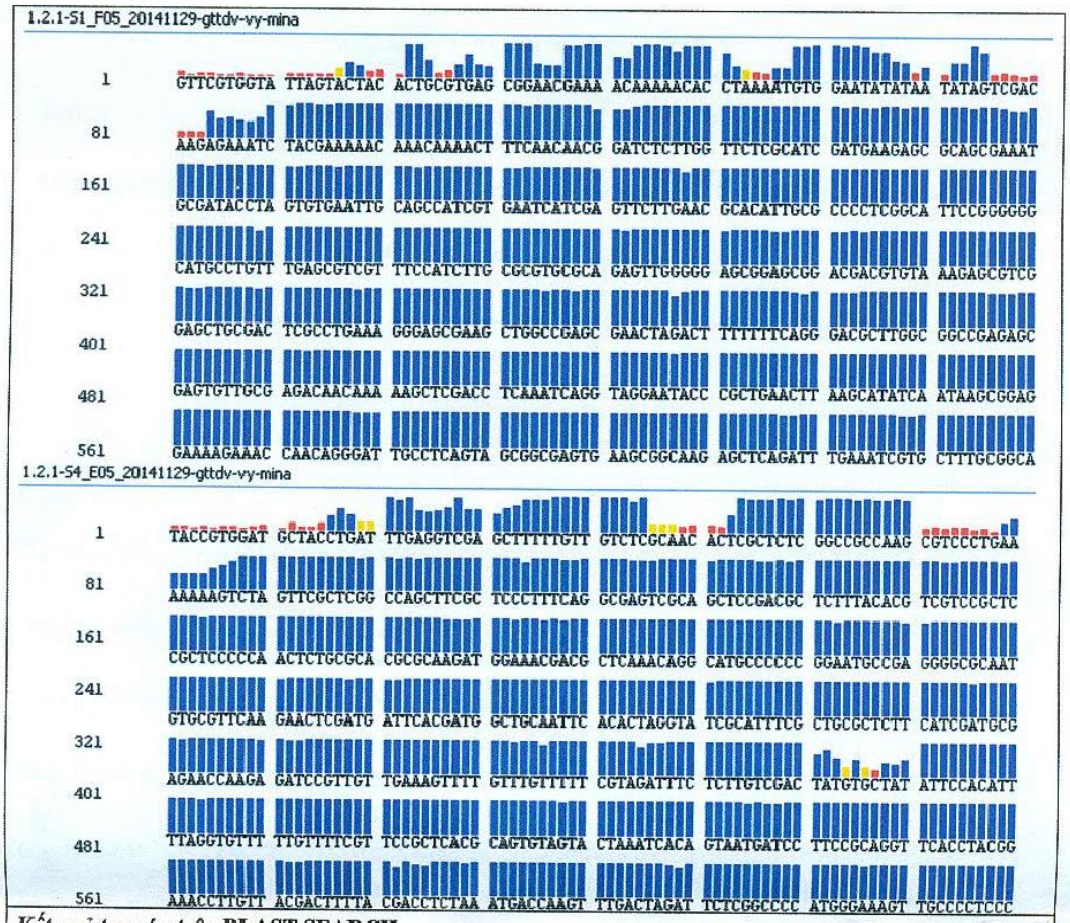
Kết quả

SAB

Gram

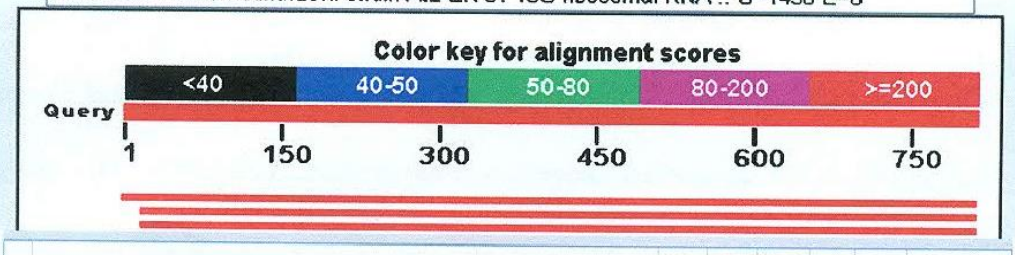
Kết quả giải trình tự gen 28S

TGGCGCCGCGGGAGGGGCAACTTTCCCATGGGGCCGAGAATCTAGTCAAACTTGGTCATT
TAGAGGTCGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACT
GTGATTTAGTACTACACTGCGTGAGCGGAACGAAAACAAAAACACCTAAAATGTGGAAT
ATAGCACATAGTCGACAAGAGAAATCTACGAAAAACAAACAAAACTTTCAACAACGGAT
CTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAGCGCAGCGAAATGCGATACCTAGTGTGAATTGCAG
CCATCGTGAATCATCGAGTTCTTGAACGCACATTGCGCCCCTCGGCATTCCGGGGGGCAT
GCCTGTTTGAGCGTCGTTTCCATCTTGCGCGTGCGCAGAGTTGGGGGAGCGGAGCGGACG
ACGTGTAAAGAGCGTCGGAGCTGCGACTCGCCTGAAAGGGAGCGAAGCTGGCCGAGCGA
ACTAGACTTTTTTTCAGGGACGCTTGGCGGCCGAGAGCGAGTGTTGCGAGACAACAAAA
AGCTCGACCTCAAATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAG
GAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCTCAGTAGCGGCGAGTGAAGCGGCAAGAGCTCAGAT
TTGAAATCGTGCTTTGCGGCACGAGTTGTAGATTGCAGGTTGGAGTCTGTGTGGAAGGCG
GTGTCCAAGTCCCTTGGAACAGGGCGCCCAGGAGGGTGAGAGCCCCGTGGGATGCCGGC
GGAAGCAGTGAGGCCCTTCTGACGAGTCGAGTTGT



Kết quả tra cứu trên BLAST SEARCH

KC886644 Pichia kudriavzevii strain Atz-EN-01 18S ribosomal RNA .. S=1458 E=0



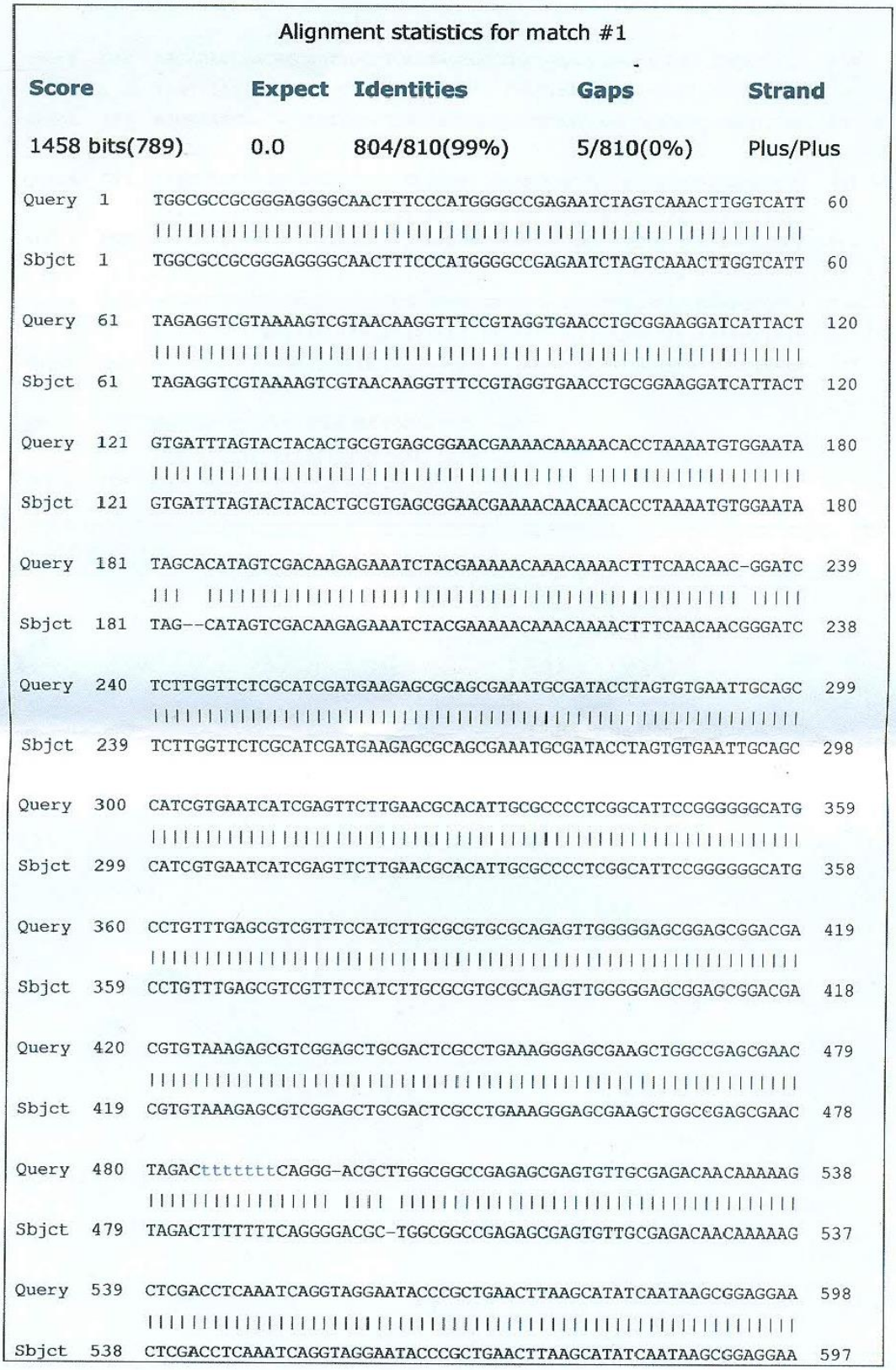
Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Pichia kudriavzevii strain Atz-EN-01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcr	1458	1458	100%	0.0	99%	KC886644.1

Pichia kudriavzevii strain Atz-EN-01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: gb|KC886644.1|Length: 1631Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 1 to 807GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match



Alignment statistics for match #1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1458 bits(789)	0.0	804/810(99%)	5/810(0%)	Plus/Plus

```
Query  1    TGGCGCCGCGGGAGGGGCAACTTTCCCATGGGGCCGAGAATCTAGTCAAACTTGGTCATT  60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  1    TGGCGCCGCGGGAGGGGCAACTTTCCCATGGGGCCGAGAATCTAGTCAAACTTGGTCATT  60

Query  61   TAGAGGTCGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACT  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  61   TAGAGGTCGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACT  120

Query  121  GTGATTTAGTACTACACTGCGTGAGCGGAACGAAAACAAAAACACCTAAAATGTGGAATA  180
            |||||||||||||||||||||||||||||||||| ||||||||||||||||||||||||
Sbjct  121  GTGATTTAGTACTACACTGCGTGAGCGGAACGAAAACAACAACACCTAAAATGTGGAATA  180

Query  181  TAGCACATAGTCGACAAGAGAAATCTACGAAAAACAAACAAAACTTTCAACAAC-GGATC  239
            |||  ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||| |||||
Sbjct  181  TAG--CATAGTCGACAAGAGAAATCTACGAAAAACAAACAAAACTTTCAACAACGGGATC  238

Query  240  TCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAGCGCAGCGAAATGCGATACCTAGTGTGAATTGCAGC  299
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  239  TCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAGCGCAGCGAAATGCGATACCTAGTGTGAATTGCAGC  298

Query  300  CATCGTGAATCATCGAGTTCTTGAACGCACATTGCGCCCCTCGGCATTCCGGGGGGCATG  359
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  299  CATCGTGAATCATCGAGTTCTTGAACGCACATTGCGCCCCTCGGCATTCCGGGGGGCATG  358

Query  360  CCTGTTTGAGCGTCGTTTCCATCTTGCGCGTGCGCAGAGTTGGGGGAGCGGAGCGGACGA  419
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  359  CCTGTTTGAGCGTCGTTTCCATCTTGCGCGTGCGCAGAGTTGGGGGAGCGGAGCGGACGA  418

Query  420  CGTGTAAAGAGCGTCGGAGCTGCGACTCGCCTGAAAGGGAGCGAAGCTGGCCGAGCGAAC  479
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  419  CGTGTAAAGAGCGTCGGAGCTGCGACTCGCCTGAAAGGGAGCGAAGCTGGCCGAGCGAAC  478

Query  480  TAGACttttttCAGGG-ACGCTTGGCGGCCGAGAGCGAGTGTTGCGAGACAACAAAAAG  538
            |||||||||||||||| |||| ||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  479  TAGACTTTTTTCAGGGGACGC-TGGCGGCCGAGAGCGAGTGTTGCGAGACAACAAAAAG  537

Query  539  CTCGACCTCAAATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA  598
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  538  CTCGACCTCAAATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA  597
```

```
Query  599  AAGAAACCAACAGGGATTGCCTCAGTAGCGGCGAGTGAAGCGGCAAGAGCTCAGATTTGA  658
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  598  AAGAAACCAACAGGGATTGCCTCAGTAGCGGCGAGTGAAGCGGCAAGAGCTCAGATTTGA  657

Query  659  AATCGTGCTTTGCGGCACGAGTTGTAGATTGCAGGTTGGAGTCTGTGTGGAAGGCGGTGT  718
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  658  AATCGTGCTTTGCGGCACGAGTTGTAGATTGCAGGTTGGAGTCTGTGTGGAAGGCGGTGT  717

Query  719  CCAAGTCCCTTGGAACAGGGCGCCCAGGAGGGTGAGAGCCCCGTGGGATGCCGGCGGAAG  778
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  718  CCAAGTCCCTTGGAACAGGGCGCCCAGGAGGGTGAGAGCCCCGTGGGATGCCGGCGGAAG  777

Query  779  CAGTGAGGCCCTTCTGACGAGTCGAGTTGT  808
            |||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  778  CAGTGAGGCCCTTCTGACGAGTCGAGTTGT  807
```

KẾT LUẬN ***Pichia kudriavzevii***

TP. Hồ Chí Minh, ngày 01 tháng 12 năm 2014

TRƯỞNG PHÒNG

CTY TNHH DV & TM Á MỸ KHÁNH
793/58 Trần Xuân Soạn - F. Tân Hưng - Q.7
ĐT: 7718328 - 7718329 - 7750583
MST : 0 3 0 1 8 8 8 9 1 0

TS.BS.Phạm Hùng Vân

CÔNG TY TNHH DỊCH VỤ VÀ THƯƠNG MẠI NAM KHOA
793/58 Trần Xuân Soạn, P. Tân Hưng, Q.7, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam
Phone: (08)37715818; (08)37752252 Fax: (08)37750583; (08)37752250
Email: phhvan.nkbiotek@gmail.com Email: namkhoa.biotek@gmail.com
ISO 9001:2008 WHO GMP/GLP ISO 13485

Số: 101/2014/DVVS

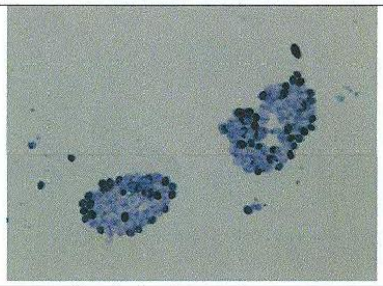
KẾT QUẢ THÍ NGHIỆM

THÔNG TIN VỀ MẪU THỬ	
Nơi gởi mẫu:	**Phạm Thị Hồng Hải**
Mẫu thử:	**Mẫu nấm PGA1**
Yêu cầu:	Định danh bằng phương pháp giải trình tự gen 28S

PHƯƠNG PHÁP THỰC HIỆN

☒ Giải trình tự gen 28S rRNA và tra cứu trên BLAST SEARCH

Kết quả



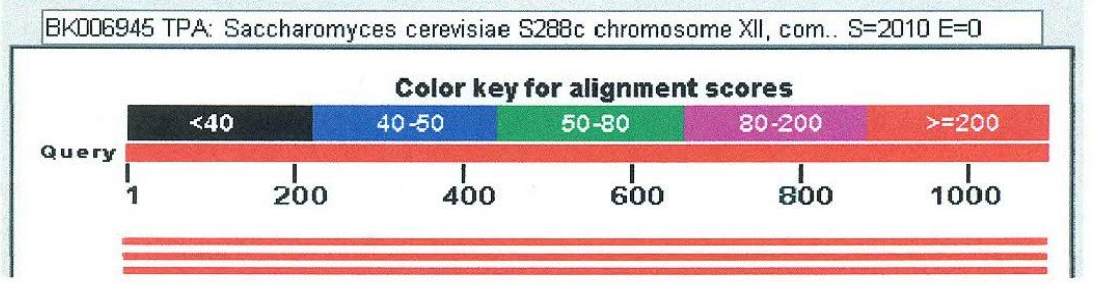
GRAM

SAB

Kết quả giải trình tự gen 16S

GAATGGCTTAGTGAGGCCTCAGGATCTGCTTAGAGAAGGGGGCAACTCCATCTCAGAGC
GGAGAATTTGGACAAACTTGGTCATTTAGAGGAACTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTA
GGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAAGAAATTTAATAATTTTGAAAATGGATTTTTTTGT
TTTGGCAAGAGCATGAGAGCTTTTACTGGGCAAGAAGACAAGAGATGGAGAGTCCAGCC
GGGCCTGCGCTTAAGTGCGCGGTCTTGCTAGGCTTGTAAGTTTCTTTCTTGCTATTCCAAA
CGGTGAGAGATTTCTGTGCTTTTGTTATAGGACAATTAAAACCGTTTCAATACAACACAC
TGTGGAGTTTTCATATCTTTGCAACTTTTTCTTTGGGCATTCGAGCAATCGGGGCCCAGAG
GTAACAAACACAAACAATTTTATTTATTCATTAAATTTTTGTCAAAAACAAGAATTTTCGT
AACTGGAAATTTTAAAATATTAAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGA
TGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCCGTGAATCATCGA
ATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCAGGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATT
TCCTTCTCAAACATTCTGTTTGGTAGTGAGTGATACTCTTTGGAGTTAACTTGAAATTGCT
GGCCTTTTCATTGGATGTTTTTTTTCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTATAAT
GCAAGTACGGTCGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGGCTAATCTTTTTTATACTGAGCGTATT
GGAACGTTATCGATAAGAAGAGAGCGTCTAGGCGAACAATGTTCTTAAAGTTTGACCTCA
AATCAGGTAGGAGTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCA
ACCGGGATTGCCTTAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGT
ACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCTTGTCTATG
TTCCTTGGAACA

Kết quả tra cứu trên BLAST SEARCH



Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
TPA: Saccharomyces cerevisiae S288c chromosome XII, complete sequence	2010	4020	100%	0.0	99%	BK006945.2
S.cerevisiae chromosome XII reading frame ORF YLR154c	2010	2010	100%	0.0	99%	Z73326.1
Saccharomyces cerevisiae chromosome XII cosmid 9634	2010	4020	100%	0.0	99%	U53879.1

TPA_inf: Saccharomyces cerevisiae S288c chromosome XII, complete sequence
Sequence ID: tpg|BK006945.2|Length: 1078177Number of Matches: 2
Related Information
Range 1: 454981 to 456075GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match

Alignment statistics for match #1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
2010 bits(1088)	0.0	1093/1095(99%)	1/1095(0%)	Plus/Minus

```
Query  1       GAATGGCTTAGTGAGGCCTCAGGATCTGCTTAGAGAAGGGGGCAACTCCATCTCAGAGCG  60
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  456075  GAATGGCTTAGTGAGGCCTCAGGATCTGCTTAGAGAAGGGGGCAACTCCATCTCAGAGCG  456016

Query  61      GAGAATTTGGACAAACTTGGTCATTTAGAGGAACTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAG  120
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  456015  GAGAATTTGGACAAACTTGGTCATTTAGAGGAACTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAG  455956

Query  121     GTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAAGAAATTTAATAATTTTGAAAATGGAttttttttGTT  180
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  455955  GTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAAGAAATTTAATAATTTTGAAAATGGATTTTTTTGTT  455896

Query  181     TTGGCAAGAGCATGAGAGCTTTTACTGGGCAAGAAGACAAGAGATGGAGAGTCCAGCCGG  240
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  455895  TTGGCAAGAGCATGAGAGCTTTTACTGGGCAAGAAGACAAGAGATGGAGAGTCCAGCCGG  455836

Query  241     GCCTGCGCTTAAGTGCGCGGTCTTGCTAGGCTTGTAAGTTTCTTTCTTGCTATTCCAAAC  300
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  455835  GCCTGCGCTTAAGTGCGCGGTCTTGCTAGGCTTGTAAGTTTCTTTCTTGCTATTCCAAAC  455776

Query  301     GGTGAGAGATTTCTGTGCTTTTGTTATAGGACAATTAAAACCGTTTCAATACAACACACT  360
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  455775  GGTGAGAGATTTCTGTGCTTTTGTTATAGGACAATTAAAACCGTTTCAATACAACACACT  455716

Query  361     GTGGAGTTTTCATATCTTTGCAACTTTTTCTTTGGGCATTCGAGCAATCGGGGCCCAGAG  420
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  455715  GTGGAGTTTTCATATCTTTGCAACTTTTTCTTTGGGCATTCGAGCAATCGGGGCCCAGAG  455656

Query  421     GTAACAAACACAAACAATTTTATTTATTCATTAAATTTTTGTCAAAAACAAGAATTTTCG  480
               |||||||||||||||||||| ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  455655  GTAACAAACACAAACAATTTTATCTATTCATTAAATTTTTGTCAAAAACAAGAATTTTCG  455596

Query  481     TAACTGGAAATTTTAAAATATTAAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCG  540
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  455595  TAACTGGAAATTTTAAAATATTAAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCG  455536
```

```
Query  541     ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCCGTGAATCATCGA  600
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  455535  ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCCGTGAATCATCGA  455476

Query  601     ATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCAGGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCAT  660
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  455475  ATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCAGGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCAT  455416

Query  661     TTCCTTCTCAAACATTCTGTTTGGTAGTGAGTGATACTCTTTGGAGTTAACTTGAAATTG  720
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  455415  TTCCTTCTCAAACATTCTGTTTGGTAGTGAGTGATACTCTTTGGAGTTAACTTGAAATTG  455356

Query  721     CTGGCCTTTTCATTGGATGttttttttCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTAT  780
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  455355  CTGGCCTTTTCATTGGATGTTTTTTTTTCCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTAT  455296

Query  781     AATGCAAGTACGGTCGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGGCTAATCTTTTTT-ATACTGAGC  839
               |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||| |||||||||
Sbjct  455295  AATGCAAGTACGGTCGTTTTAGGTTTTACCAACTGCGGCTAATCTTTTTTTATACTGAGC  455236

Query  840     GTATTGGAACGTTATCGATAAGAAGAGAGCGTCTAGGCGAACAATGTTCTTAAAGTTTGA  899
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  455235  GTATTGGAACGTTATCGATAAGAAGAGAGCGTCTAGGCGAACAATGTTCTTAAAGTTTGA  455176

Query  900     CCTCAAATCAGGTAGGAGTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAA  959
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  455175  CCTCAAATCAGGTAGGAGTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAA  455116

Query  960     ACCAACCGGGATTGCCTTAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCT  1019
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  455115  ACCAACCGGGATTGCCTTAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCT  455056

Query  1020    GGTACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCTTGTCT  1079
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  455055  GGTACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCTTGTCT  454996

Query  1080    ATGTTCCTTGGAACA  1094
               ||||||||||||||
Sbjct  454995  ATGTTCCTTGGAACA  454981
```

KẾT LUẬN ***Saccharomyces cerevisiae***

TP. Hồ Chí Minh, ngày 05 tháng 03 năm 2014

TRƯỞNG PHÒNG

TS.BS.Phạm Hùng Vân

CÔNG TY TNHH DỊCH VỤ VÀ THƯƠNG MẠI NAM KHOA
793/58 Trần Xuân Soạn, P. Tân Hưng, Q.7, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam
Phone: (08)37715818; (08)37752252 Fax: (08)37750583; (08)37752250
Email: phhvan.nkbiotek@gmail.com Email: namkhoa.biotek@gmail.com
ISO 9001:2008 WHO GMP/GLP ISO 13485

Số: 103/2014/DVVS

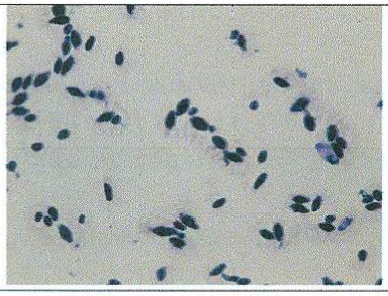
KẾT QUẢ THÍ NGHIỆM

THÔNG TIN VỀ MẪU THỬ	
Nơi gởi mẫu:	**Phạm Thị Hồng Hải**
Mẫu thử:	**Mẫu nấm PGA3**
Yêu cầu:	Định danh bằng phương pháp giải trình tự gen 28S

PHƯƠNG PHÁP THỰC HIỆN

☒ Giải trình tự gen 28S rRNA và tra cứu trên BLAST SEARCH

Kết quả

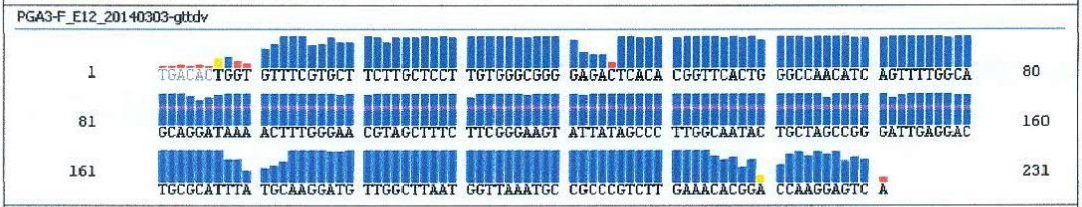


GRAM

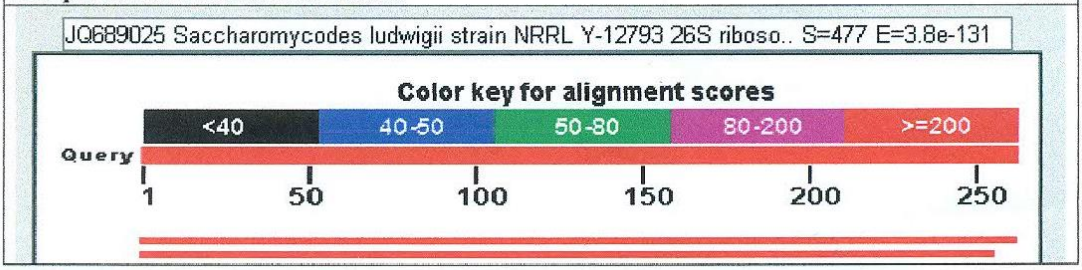
SAB

Kết quả giải trình tự gen 16S

GTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTTGATCAGACATGGTGTTTCGTGCTTCTTGCTCC
TTGTGGGCGGGGAGACTCACACGGTTCACTGGGCCAACATCAGTTTTGGCAGCAGGATAA
AACTTTGGGAACGTAGCTTTCTTCGGGAAGTATTATAGCCCTTGGCAATACTGCTAGCCG
GGATTGAGGACTGCGCATTTATGCAAGGATGTTGGCTTAATGGTTAAATGCCGCCCGTCT
TGAAACACGGACCAAGGAGTC



Kết quả tra cứu trên BLAST SEARCH



Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Saccharomycodes ludwigii strain NRRL Y-12793 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	477	477	100%	4e-131	99%	JQ689025.1
Saccharomycodes ludwigii isolate 72 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	460	460	97%	4e-126	99%	JX880401.1

Saccharomycodes ludwigii strain NRRL Y-12793 26S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: gb|JQ689025.1|Length: 3279Number of Matches: 1
Related Information
Range 1: 342 to 602GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match

Alignment statistics for match #1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
477 bits(258)	4e-131	260/261(99%)	0/261(0%)	Plus/Plus

```
Query  1    GTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTTGATCAGACATGGTGTTTCGTGCTTCTTGCTCC  60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  342  GTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTTGATCAGACATGGTGTTTCGTGCTTCTTGCTCC  401

Query  61   TTGTGGGCGGGGAGACTCACACGGTTCACTGGGCCAACATCAGTTTTGGCAGCAGGATAA  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  402  TTGTGGGCGGGGAGACTCACACGGTTCACTGGGCCAACATCAGTTTTGGCAGCAGGATAA  461

Query  121  AACTTTGGGAACGTAGCTTTCTTCGGGAAGTATTATAGCCCTTGGCAATACTGCTAGCCG  180
            |||||||||||||||||||||||||||| ||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  462  AACTTTGGGAACGTAGCTTTCTTCGGGAAGTGTTATAGCCCTTGGCAATACTGCTAGCCG  521

Query  181  GGATTGAGGACTGCGCATTTATGCAAGGATGTTGGCTTAATGGTTAAATGCCGCCCGTCT  240
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  522  GGATTGAGGACTGCGCATTTATGCAAGGATGTTGGCTTAATGGTTAAATGCCGCCCGTCT  581

Query  241  TGAAACACGGACCAAGGAGTC  261
            ||||||||||||||||||||
Sbjct  582  TGAAACACGGACCAAGGAGTC  602
```

& TM NAM KHOA
Soạn - F. Tân Hưng - Q.7
7718329 - 7750583
0 1 8 8 8 9 1 0

KẾT LUẬN ***Saccharomycodes ludwigii***

TP. Hồ Chí Minh, ngày 05 tháng 03 năm 2014

TRƯỞNG PHÒNG

...NHH DV & TM NAM KHOA
...Soạn - F. Tân Hưng - Q.7
...7718328 - 7718329 - 7750583
MST:0 3 0 1 8 8 8 9 1 0

TS.BS.Phạm Hùng Vân

CÔNG TY TNHH DỊCH VỤ VÀ THƯƠNG MẠI NAM KHOA
793/58 Trần Xuân Soạn, P. Tân Hưng, Q.7, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam
Phone: (08)37715818; (08)37752252 Fax: (08)37750583; (08)37752250
Email: phhvan.nkbiotek@gmail.com Email: namkhoa.biotek@gmail.com
ISO 9001:2008 WHO GMP/GLP ISO 13485

Số: 370/2014/DVVS

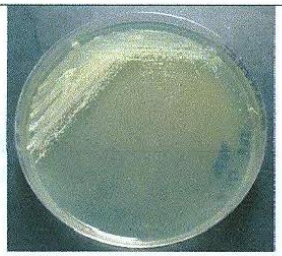
KẾT QUẢ THÍ NGHIỆM

THÔNG TIN VỀ MẪU THỬ	
Nơi gởi mẫu:	**PHẠM THỊ HỒNG HẢI**
Mẫu thử:	**Mẫu 2.10**
Yêu cầu:	Định danh bằng phương pháp giải trình tự gen 28S

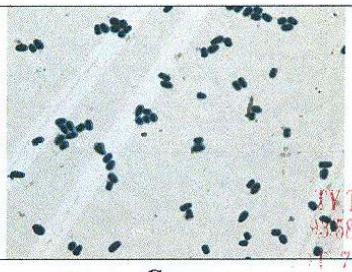
PHƯƠNG PHÁP THỰC HIỆN

☒ Giải trình tự gen 28S rRNA và tra cứu trên BLAST SEARCH

Kết quả



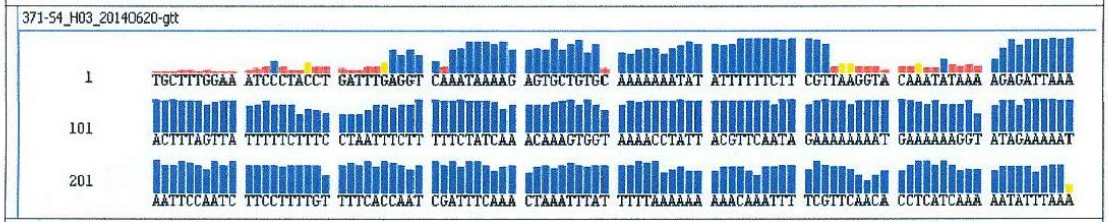
SAB



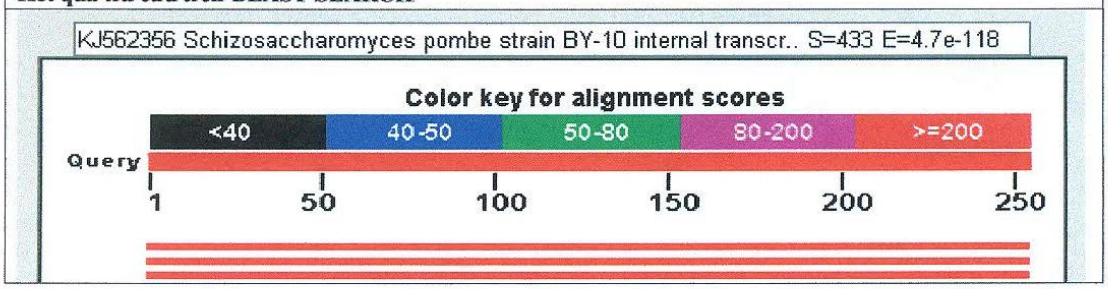
Gram

Kết quả giải trình tự gen 28S

AAAAAAATATATTTTTTCTTCGTTAAGGTACAAATATAAAAGAGATTAAAACTTTAGTTA
TTTTTCTTTCCTAATTTCTTTTTCTATCAAACAAAGTGGTAAAACCTATTACGTTCAATAG
AAAAAAAATGAAAAAAAGGTATAGAAAAATAATTCCAATCTTCCTTTTGTTTTCACCAAT
CGATTTCAAACTAAATTTATTTTTAAAAAAAAACAAATTTTCGTTCAACACCTCATCAAAA
ATATTTAAAAA



Kết quả tra cứu trên BLAST SEARCH



Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Schizosaccharomyces pombe strain BY-10 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8	433	433	100%	5e-118	98%	KJ562356.1

Schizosaccharomyces pombe strain BY-10 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

Sequence ID: gb|KJ562356.1|Length: 844Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 574 to 825GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match

Alignment statistics for match #1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
433 bits(234)	5e-118	248/254(98%)	3/254(1%)	Plus/Minus

```
Query  1    aaaaaaaTATATTTTTTCTTCGTTAAGGTACAAATATAAAAGAGATTAAAACTTTAGTTA  60
            ||||||||||||||||| |||||||||| ||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  825  AAAAAAATATATTTTTTTTTCGTTAAGGTTCAAATATAAAAGAGATTAAAACTTTAGTTA  766

Query  61   TTTTTCTTTCCTAATTTCTTTTTCTATCAAACAAAGTGGTAAAACCTATTACGTTCAATA  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  765  TTTTTCTTTCCTAATTTCTTTTTCTATCAAACAAAGTGGTAAAACCTATTACGTTCAATA  706

Query  121  GaaaaaaaatgaaaaaaaGGTATAGAAAAATAATTCCAATCTTCCTTTTGTTTTCACCAA  180
            ||||||||||||||||| |||||| ||||||||||||||| ||||||||||||||||||
Sbjct  705  GAAAAAAAATGAAAAAA-GGTATAAAAAAATAATTCCAATCT-CCTTTTGTTTTCACCAA  648

Query  181  TCGATTTCAAACTAAATTTATTTTTaaaaaaaaa-CAAATTTTCGTTCAACACCTCATCA  239
            ||||||||||||||||||||||||||||||||| ||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  647  TCGATTTCAAACTAAATTTATTTTTAAAAAAAAAACAAATTTTCGTTCAACACCTCATCA  588

Query  240  AAAATATTTAAAAA  253
            ||||||||||||||
Sbjct  587  AAAATATTTAAAAA  574
```

KẾT LUẬN ***Schizosaccharomyces pombe***

TP. Hồ Chí Minh, ngày 18 tháng 06 năm 2014

TRƯỞNG PHÒNG

TNHH DV & TM NAM KHOA
03/58 Trần Xuân Soạn - P. Tân Hưng - Q.7
ĐT: 7718328 - 7718329 - 7750583
MST: 0 3 0 1 8 8 8 9 1 0

TS.BS.Phạm Hùng Vân

PHỤ LỤC 21. PHÂN TÍCH ACID ACETIC VÀ ACID LACTIC TRONG THÍ NGHIỆM LÊN MEN CÓ BỔ SUNG NẤM MEN

VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN
VIỆN NGHIÊN CỨU
KHOA HỌC TÂY NGUYÊN

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Đà Lạt, ngày 31 tháng 12 năm 2014

KẾT QUẢ PHÂNTÍCH

Số lượng mẫu: 18 mẫu.

Chỉ tiêu phân tích: Định lượng acid lactic và acid axetic (mg/g).

Phương pháp: HPLC.

Ngày trả kết quả: 31/12/2014

Kết quả phân tích:

STT	Mẫu	Acid lactic (mg/g)	Acid axetic (mg/g)
1	NM1	30,46	16,80
2	NM2	27,70	16,50
3	NM3	30,20	16,30
4	NM4	25,59	15,63
5	NM5	30,50	15,86
6	NM6	27,48	16,12
7	NM7	29,88	15,45
8	NM8	27,71	15,30
9	NM9	29,90	15,39
10	NM10	25,54	14,00
11	NM11	30,65	13,90
12	NM12	27,60	13,10
13	NM13	30,40	14,50
14	NM14	24,49	14,33
15	NM15	30,20	14,28
16	NM16	25,45	14,35

17	NM17	28,95	14,39
18	NM18	27,08	14,40

Thời hạn lưu mẫu: 15 ngày.

KT. VIỆN TRƯỞNG
PHÓ VIỆN TRƯỞNG

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN NGHIÊN CỨU KHOA HỌC TÂY NGUYÊN

Nguyễn Hữu Toàn Phan

PHỤ LỤC 22. PHÂN TÍCH ACID ACETIC VÀ ACID LACTIC TRONG THÍ NGHIỆM LÊN MEN CÓ ÉP HẠT

VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN
VIỆN NGHIÊN CỨU
KHOA HỌC TÂY NGUYÊN

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Đà Lạt, ngày 31 tháng 12 năm 2014

KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

Số lượng mẫu: 18 mẫu.

Chỉ tiêu phân tích: Định lượng acid lactic và acid axetic (mg/g).

Phương pháp: HPLC.

Ngày trả kết quả: 31/12/2014

Kết quả phân tích:

STT	Mẫu	Acid lactic (mg/g)	Acid axetic (mg/g)
1	E1	23,30	12,00
2	E2	24,03	7,10
3	E3	25,03	5,10
4	E4	27,80	3,22
5	E5	20,30	4,80
6	E6	20,09	5,10
7	E7	23,00	11,98
8	E8	24,00	6,89
9	E9	25,30	5,16
10	E10	26,99	3,19
11	E11	19,87	4,50
12	E12	19,90	5,40
13	E13	23,70	12,20
14	E14	24,09	7,46
15	E15	24,79	5,15
16	E16	27,80	3,28

17	E17	21,01	4,98
18	E18	20,08	4,89

Thời hạn lưu mẫu: 15 ngày.

KT. VIỆN TRƯỞNG
PHÓ VIỆN TRƯỞNG

VIỆN NGHIÊN CỨU KHOA HỌC TÂY NGUYÊN

Nguyễn Hữu Toàn Phan

PHỤ LỤC 23. PHÂN TÍCH ACID ACETIC VÀ ACID LACTIC TRONG THÍ NGHIỆM SẤY

VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN
VIỆN NGHIÊN CỨU
KHOA HỌC TÂY NGUYÊN

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Đà Lạt, ngày 31 tháng 12 năm 2014

KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

Số lượng mẫu: 54 mẫu,
Chỉ tiêu phân tích: Định lượng acid lactic và acid axetic (mg/g),
Phương pháp: HPLC,
Ngày trả kết quả: 31/12/2014
Kết quả phân tích:

STT	Mẫu	Acid lactic (mg/g)	Acid axetic (mg/g)
1	S1	24.70	15.60
2	S2	23.40	14.50
3	S3	23.20	15.40
4	S4	24.84	5.50
5	S5	22.60	5.80
6	S6	22.20	5.30
7	S7	22.87	5.00
8	S8	23.46	6.00
9	S9	22.08	5.80
10	S10	22.20	6.70
11	S11	22.10	6.60
12	S12	21.70	7.10
13	S13	20.80	4.80
14	S14	20.90	4.70
15	S15	21.00	4.20
16	S16	20.60	5.30

17	S17	20.60	5.40
18	S18	21.00	5.20
19	S19	23.10	18.00
20	S20	22.30	17.50
21	S21	22.50	17.70
22	S22	23.10	9.70
23	S23	22.80	10.00
24	S24	22.60	9.34
25	S25	22.30	6.60
26	S26	22.50	6.00
27	S27	22.40	5.40
28	S28	23.00	5.40
29	S29	23.10	5.90
30	S30	23.20	5.70
31	S31	23.70	5.10
32	S32	23.30	5.60
33	S33	23.20	5.30
34	S34	22.80	5.30
35	S35	22.50	5.60
36	S36	22.32	5.50
37	S37	24.20	16.90
38	S38	24.70	16.60
39	S39	24.10	16.50
40	S40	23.00	13.60
41	S41	22.20	13.90
42	S42	22.70	14.20

43	S43	25.90	10.60
44	S44	25.60	10.00
45	S45	26.00	10.70
46	S46	20.05	13.10
47	S47	20.00	13.50
48	S48	20.07	12.80
49	S49	18.10	11.80
50	S50	19.00	11.70
51	S51	18.50	12.30
52	S52	19.70	13.20
53	S53	20.50	12.90
54	S54	19.80	13.00

Thời hạn lưu mẫu: 15 ngày,

KT. VIỆN TRƯỞNG
PHÓ VIỆN TRƯỞNG

Nguyễn Hữu Toàn Phan

PHỤ LỤC 24. PHÂN TÍCH ACID ACETIC VÀ ACID LACTIC TRONG THÍ NGHIỆM PHƠI

VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN
VIỆN NGHIÊN CỨU
KHOA HỌC TÂY NGUYÊN

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Đà Lạt, ngày 31 tháng 12 năm 2014

KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

Số lượng mẫu: 27 mẫu,

Chỉ tiêu phân tích: Định lượng acid lactic và acid axetic (mg/g),

Phương pháp: HPLC,

Ngày trả kết quả: 31/12/2014

Kết quả phân tích:

STT	Mẫu	Acid lactic (mg/g)	Acid axetic (mg/g)
1	P1	22.43	16.20
2	P2	22.78	14.28
3	P3	22.08	16.00
4	P4	20.40	14.28
5	P5	20.50	12.56
6	P6	20.33	14.00
7	P7	20.00	12.70
8	P8	20.10	13.12
9	P9	20.00	12.67
10	P10	20.43	15.18
11	P11	20.14	13.51
12	P12	20.49	15.22
13	P13	20.40	11.05
14	P14	20.06	12.32
15	P15	20.56	11.18
16	P16	19.03	11.43

17	P17	19.04	11.23
18	P18	19.56	11.60
19	P19	17.77	10.15
20	P20	17.07	12.12
21	P21	17.65	13.07
22	P22	17.70	12.15
23	P23	17.84	12.81
24	P24	17.48	13.15
25	P25	16.78	9.19
26	P26	16.90	9.07
27	P27	16.63	9.00

Thời hạn lưu mẫu: 15 ngày,

KT. VIỆN TRƯỞNG
PHÓ VIỆN TRƯỞNG

VIỆN NGHIÊN CỨU KHOA HỌC TÂY NGUYÊN

Nguyễn Hữu Toàn Phan

PHỤ LỤC 25. CÁC CHỈ TIÊU VỀ NĂNG SUẤT THU HOẠCH QUẢ CỦA VƯỜN CA CAO

Bảng 1. Các chỉ tiêu về năng suất thu hoạch quả của vườn ca cao trồng trên đất FRr ở Di Linh, Lâm Đồng, năm 2012

Loại phân kali	**Lượng phân kali (kg/ha)**	**Số trái/ha**	**Tổng trọng lượng trái tươi *(kg/ha)***	**Tổng trọng lượng hạt ướt *(kg/ha)***	**Tổng kg hạt khô *(kg/ha)***	**Tỷ lệ hạt khô/ hạt tươi (%)**	**Hệ số thu hồi hạt ca cao khô**
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)=(6)/(5)	(8)=(6)/(4)
KCl	160	38.514	9.979	2.116	880	41,81	8,82
	160	34.010	9.125	1.934	803	41,81	8,80
	160	33.004	9.613	2.038	847	41,81	8,81
	260	29.386	11.522	2.443	1.019	41,81	8,84
	260	33.102	11.688	2.478	1.034	41,81	8,85
	260	30.286	11.855	2.513	1.049	41,81	8,85
	360	39.651	13.006	2.887	1.208	41,81	9,29
	360	36.115	14.193	3.151	1.320	41,81	9,30
	360	42.627	14.331	3.181	1.333	41,81	9,30
	460	34.094	12.615	2.763	1.155	41,81	9,16
	460	44.428	13.560	2.970	1.243	41,81	9,17
	460	37.697	14.269	3.125	1.309	41,81	9,17
	560	40.289	12.557	2.763	1.155	41,81	9,20
	560	25.751	12.205	2.685	1.122	41,81	9,19
	560	85.106	13.381	2.944	1.232	41,81	9,21
	660	24.649	11.216	2.400	1.001	41,81	8,92
	660	24.780	11.337	2.426	1.012	41,81	8,93
	660	29.871	11.579	2.478	1.034	41,81	8,93
KNO_3	160	25.938	10.491	2.245	935	41,81	8,91
	160	31.885	10.733	2.297	957	41,81	8,92
	160	28.705	10.853	2.323	968	41,81	8,92
	260	31.587	11.616	2.556	1.067	41,81	9,19
	260	25.173	11.852	2.607	1.089	41,81	9,19
	260	30.508	11.734	2.581	1.078	41,81	9,19
	360	27.330	14.535	3.125	1.309	41,81	9,01
	360	52.940	14.655	3.151	1.320	41,81	9,01
	360	39.725	14.776	3.177	1.331	41,81	9,01
	460	22.902	14.361	3.073	1.287	41,81	8,96
	460	54.007	14.119	3.021	1.265	41,81	8,96
	460	48.825	13.756	2.944	1.232	41,81	8,96
	560	25.671	12.032	2.659	1.111	41,81	9,23
	560	44.580	12.266	2.711	1.133	41,81	9,24
	560	32.181	12.501	2.763	1.155	41,81	9,24
	660	29.444	11.390	2.426	1.012	41,81	8,88
	660	31.850	11.755	2.504	1.045	41,81	8,89
	660	35.825	11.998	2.556	1.067	41,81	8,89
K_2SO_4	160	45.422	11.903	2.654	1.109	41,81	9,32
	160	28.915	11.133	2.483	1.036	41,81	9,31
	160	35.138	11.228	2.504	1.045	41,81	9,31
	260	32.158	12.149	2.685	1.122	41,81	9,24
	260	35.006	12.501	2.763	1.155	41,81	9,24
	260	44.478	12.852	2.840	1.188	41,81	9,24
	360	37.887	16.341	3.513	1.474	41,81	9,02
	360	41.818	16.461	3.539	1.485	41,81	9,02
	360	37.188	16.341	3.513	1.474	41,81	9,02
	460	33.274	14.896	3.203	1.342	41,81	9,01
	460	42.263	15.257	3.280	1.375	41,81	9,01
	460	33.228	15.498	3.332	1.397	41,81	9,01
	560	41.267	13.451	2.892	1.210	41,81	9,00
	560	37.075	14.053	3.021	1.265	41,81	9,00
	560	39.862	14.535	3.125	1.309	41,81	9,01
	660	29.575	12.910	2.840	1.188	41,81	9,20
	660	36.238	12.557	2.763	1.155	41,81	9,20
	660	28.818	12.322	2.711	1.133	41,81	9,19
Tổng cộng		**1.942.046**	**689.845**	**149.675**	**62.579**	**41,81**	**9,07**

Bảng 2. Các chỉ tiêu về năng suất thu hoạch quả của vườn ca cao trồng trên đất FRr ở Di Linh, Lâm Đồng, năm 2013

Loại phân kali	**Lượng phân kali (kg/ha)**	**Số trái/ha**	**Tổng trọng lượng trái tươi *(kg/ha)***	**Tổng trọng lượng hạt ướt *(kg/ha)***	**Tổng kg hạt khô *(kg/ha)***	**Tỷ lệ hạt khô/ hạt tươi %**	**Hệ số thu hồi hạt ca cao khô**
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)=(6)/(5)	(8)=(6)/(4))
KCl	160	24.782	8.052	1.715	748	43,11	9,29
	160	24.109	7.323	1.560	682	43,11	9,31
	160	26.997	7.930	1.689	737	43,11	9,29
	260	24.556	8.501	1.870	814	43,11	9,57
	260	26.837	8.501	1.870	814	43,11	9,57
	260	26.124	8.148	1.793	781	43,11	9,58
	360	35.126	15.079	3.242	1.397	43,11	9,26
	360	34.512	13.514	2.906	1.254	43,11	9,28
	360	37.911	13.876	2.983	1.287	43,11	9,28
	460	35.516	13.394	2.880	1.243	43,11	9,28
	460	32.006	13.394	2.880	1.243	43,11	9,28
	460	26.828	8.699	1.870	814	43,11	9,36
	560	28.962	11.258	2.466	1.067	43,11	9,48
	560	42.531	14.331	3.139	1.353	43,11	9,44
	560	47.490	14.095	3.087	1.331	43,11	9,44
	660	27.728	10.619	2.336	1.012	43,11	9,53
	660	21.736	9.325	2.051	891	43,11	9,56
	660	36.263	14.737	3.242	1.397	43,11	9,48
KNO_3	160	24.308	10.407	2.310	1.001	43,11	9,62
	160	48.582	10.640	2.362	1.023	43,11	9,61
	160	31.347	11.106	2.466	1.067	43,11	9,61
	260	42.606	12.795	2.802	1.210	43,11	9,46
	260	30.242	11.377	2.491	1.078	43,11	9,48
	260	35.052	13.977	3.061	1.320	43,11	9,44
	360	47.996	18.704	4.096	1.760	43,11	9,41
	360	53.382	19.531	4.277	1.837	43,11	9,41
	360	76.818	22.604	4.950	2.123	43,11	9,39
	460	63.850	18.450	3.967	1.705	43,11	9,24
	460	58.287	19.052	4.096	1.760	43,11	9,24
	460	50.719	17.367	3.734	1.606	43,11	9,25
	560	45.194	16.644	3.579	1.540	43,11	9,25
	560	51.395	17.607	3.786	1.628	43,11	9,25
	560	49.277	15.561	3.346	1.441	43,11	9,26
	660	32.736	15.561	3.346	1.441	43,11	9,26
	660	45.478	15.200	3.268	1.408	43,11	9,26
	660	37.499	14.477	3.113	1.342	43,11	9,27
K_2SO_4	160	30.068	12.005	2.569	1.111	43,11	9,25
	160	39.545	13.215	2.828	1.221	43,11	9,24
	160	57.065	14.787	3.164	1.364	43,11	9,22
	260	31.016	13.033	2.802	1.210	43,11	9,28
	260	30.680	13.514	2.906	1.254	43,11	9,28
	260	44.517	17.607	3.786	1.628	43,11	9,25
	360	46.925	20.042	4.329	1.859	43,11	9,28
	360	58.682	22.439	4.847	2.079	43,11	9,27
	360	57.104	22.319	4.821	2.068	43,11	9,27
	460	53.908	18.196	3.967	1.705	43,11	9,37
	460	62.434	21.164	4.614	1.980	43,11	9,36
	460	57.701	20.571	4.484	1.925	43,11	9,36
	560	43.756	12.558	2.750	1.188	43,11	9,46
	560	43.130	15.986	3.501	1.507	43,11	9,43
	560	46.407	17.995	3.941	1.694	43,11	9,41
	660	32.405	12.913	2.828	1.221	43,11	9,46
	660	45.990	14.331	3.139	1.353	43,11	9,44
	660	49.498	17.286	3.786	1.628	43,11	9,42
Tổng cộng		**2.215.611**	**781.798**	**169.688**	**73.150**	**43,11**	**9,36**

Bảng 3. Các chỉ tiêu về năng suất thu hoạch quả của vườn ca cao trồng trên đất Ach ở Trảng Bom, Đồng Nai năm 2012

Loại phân kali	**Lượng phân kali (kg/ha)**	**Số trái/ha**	**Tổng trọng lượng trái tươi *(kg/ha)***	**Tổng trọng lượng hạt ướt *(kg/ha)***	**Tổng trọng lượng hạt khô *(kg/ha)***	**Tỷ lệ hạt khô/hạt tươi (%)**	**Hệ số thu hồi hạt ca cao khô**
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)=(6)/(5))	(8)=(6)/(4))
KCl	160	25.391	7.028	1.680	704	41,92	10,02
	160	27.475	8.345	1.995	836	41,92	10,02
	160	18.145	4.722	1.128	473	41,92	10,02
	260	24.664	9.669	2.204	924	41,92	9,56
	260	22.147	6.216	1.417	594	41,92	9,56
	260	25.607	7.597	1.732	726	41,92	9,56
	360	43.545	13.620	3.228	1353	41,92	9,93
	360	38.113	12.291	2.913	1221	41,92	9,93
	360	36.388	11.295	2.677	1122	41,92	9,93
	460	40.568	13.435	3.097	1298	41,92	9,66
	460	32.040	11.613	2.677	1122	41,92	9,66
	460	41.528	13.663	3.149	1320	41,92	9,66
	560	44.131	12.950	2.966	1243	41,92	9,60
	560	35.476	12.606	2.887	1210	41,92	9,60
	560	36.226	12.606	2.887	1210	41,92	9,60
	660	35.342	11.899	2.808	1177	41,92	9,89
	660	35.604	11.343	2.677	1122	41,92	9,89
	660	44.308	11.899	2.808	1177	41,92	9,89
KNO_3	160	16.859	6.227	1.470	616	41,92	9,89
	160	16.134	6.783	1.601	671	41,92	9,89
	160	14.861	5.782	1.365	572	41,92	9,89
	260	23.882	8.022	1.837	770	41,92	9,60
	260	36.386	9.512	2.178	913	41,92	9,60
	260	22.278	9.168	2.099	880	41,92	9,60
	360	32.241	11.981	2.756	1155	41,92	9,64
	360	44.361	13.692	3.149	1320	41,92	9,64
	360	31.465	12.779	2.939	1232	41,92	9,64
	460	29.762	13.010	3.044	1276	41,92	9,81
	460	34.666	14.243	3.333	1397	41,92	9,81
	460	39.905	15.141	3.543	1485	41,92	9,81
	560	56.899	12.619	2.966	1243	41,92	9,85
	560	38.710	12.731	2.992	1254	41,92	9,85
	560	43.395	12.173	2.861	1199	41,92	9,85
	660	28.326	10.244	2.336	979	41,92	9,56
	660	64.886	11.280	2.572	1078	41,92	9,56
	660	30.553	13.237	3.018	1265	41,92	9,56
K_2SO_4	160	20.607	8.896	2.099	880	41,92	9,89
	160	21.501	7.895	1.863	781	41,92	9,89
	160	25.551	8.563	2.021	847	41,92	9,89
	260	30.474	9.675	2.283	957	41,92	9,89
	260	41.353	9.786	2.309	968	41,92	9,89
	260	27.877	9.786	2.309	968	41,92	9,89
	360	46.661	12.262	2.808	1177	41,92	9,60
	360	45.200	13.867	3.175	1331	41,92	9,60
	360	38.004	13.179	3.018	1265	41,92	9,60
	460	49.290	15.974	3.674	1540	41,92	9,64
	460	56.143	16.317	3.753	1573	41,92	9,64
	460	49.343	17.914	4.120	1727	41,92	9,64
	560	38.461	13.179	3.018	1265	41,92	9,60
	560	38.877	16.273	3.727	1562	41,92	9,60
	560	82.264	11.460	2.624	1100	41,92	9,60
	660	28.971	11.009	2.598	1089	41,92	9,89
	660	50.981	11.787	2.782	1166	41,92	9,89
	660	37.177	12.343	2.913	1221	41,92	9,89
Tổng cộng		**1.941.002**	**611.586**	**142.083**	**59.554**	**41.92**	**9.74**

Bảng 4. Các chỉ tiêu về năng suất thu hoạch quả của vườn ca cao trồng trên đất Ach ở Trảng Bom, Đồng Nai năm 2013

Loại phân kali	**Lượng phân kali (kg/ha)**	**Số trái/ha**	**Tổng trọng lượng trái tươi *(kg/ha)***	**Tổng trọng lượng hạt ướt *(kg/ha)***	**Tổng kg hạt khô *(kg/ha)***	**Tỷ lệ hạt khô/ hạt tươi %**	**Hệ số thu hồi hạt ca cao khô**
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)=(6)/(5))	(8)=(6)/(4))
KCl	160	11.461	6.015	1.359	583	42,89	9,69
	160	19.754	5.674	1.282	550	42,89	9,69
	160	27.114	5.447	1.231	528	42,89	9,69
	260	22.183	6.862	1.565	671	42,89	9,78
	260	28.574	6.637	1.513	649	42,89	9,78
	260	21.480	6.525	1.488	638	42,89	9,78
	360	19.426	7.570	1.718	737	42,89	9,74
	360	27.073	7.457	1.693	726	42,89	9,74
	360	16.033	7.118	1.616	693	42,89	9,74
	460	29.607	12.769	3.001	1287	42,89	10,08
	460	29.668	11.678	2.744	1177	42,89	10,08
	460	25.743	11.569	2.719	1166	42,89	10,08
	560	23.207	10.389	2.462	1056	42,89	10,16
	560	28.179	10.173	2.411	1034	42,89	10,16
	560	21.346	9.956	2.360	1012	42,89	10,16
	660	27.006	8.803	2.077	891	42,89	10,12
	660	22.077	8.368	1.975	847	42,89	10,12
	660	22.652	8.260	1.949	836	42,89	10,12
KNO_3	160	17.523	7.649	1.744	748	42,89	9,78
	160	24.184	5.962	1.359	583	42,89	9,78
	160	10.661	5.625	1.282	550	42,89	9,78
	260	13.261	6.666	1.513	649	42,89	9,74
	260	16.595	6.553	1.488	638	42,89	9,74
	260	15.392	6.214	1.411	605	42,89	9,74
	360	21.325	7.544	1.795	770	42,89	10,21
	360	27.631	7.436	1.770	759	42,89	10,21
	360	17.519	7.328	1.744	748	42,89	10,21
	460	39.744	12.769	2.950	1265	42,89	9,91
	460	26.399	12.991	3.001	1287	42,89	9,91
	460	37.104	13.102	3.026	1298	42,89	9,91
	560	28.042	10.977	2.590	1111	42,89	10,12
	560	23.106	9.890	2.334	1001	42,89	10,12
	560	25.442	9.998	2.360	1012	42,89	10,12
	660	30.381	10.214	2.308	990	42,89	9,69
	660	23.924	8.852	2.001	858	42,89	9,69
	660	27.886	8.512	1.924	825	42,89	9,69
K_2SO_4	160	18.221	6.897	1.641	704	42,89	10,21
	160	23.165	7.220	1.718	737	42,89	10,21
	160	16.372	7.759	1.847	792	42,89	10,21
	260	46.804	7.359	1.744	748	42,89	10,16
	260	16.648	7.575	1.795	770	42,89	10,16
	260	17.030	7.792	1.847	792	42,89	10,16
	360	22.537	8.736	2.001	858	42,89	9,82
	360	22.154	8.960	2.052	880	42,89	9,82
	360	27.617	9.296	2.129	913	42,89	9,82
	460	46.613	14.625	3.437	1474	42,89	10,08
	460	37.250	14.516	3.411	1463	42,89	10,08
	460	53.491	14.734	3.462	1485	42,89	10,08
	560	29.254	12.988	3.052	1309	42,89	10,08
	560	30.872	13.315	3.129	1342	42,89	10,08
	560	34.658	13.643	3.206	1375	42,89	10,08
	660	20.243	9.097	2.129	913	42,89	10,04
	660	20.811	9.317	2.180	935	42,89	10,04
	660	26.415	9.536	2.231	957	42,89	10,04
Tổng cộng		**1.358.857**	**492.917**	**114.775**	**49.225**	**42.89**	**9.90**