

NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO CHẾ PHẨM BIOCOFFEE-1 TỪ *ASPERGILLUS NIGER* VÀ ỨNG DỤNG LÊN MEN CÁC LOẠI CÀ PHÊ

Lê Hồng Phú⁽¹⁾, Nguyễn Đức Lượng⁽²⁾, Đỗ Đại Nghĩa⁽³⁾

(1) Trường Đại học Quốc Tế, ĐHQG -HCM

(2) Trường Đại học Bách Khoa, ĐHQG -HCM

(3) Trường Đại học Nông Lâm Tp.HCM

(Bài nhận ngày 30 tháng 01 năm 2008, hoàn chỉnh sửa chữa ngày 18 tháng 08 năm 2008)

TÓM TẮT: Trong chế biến cà phê hiện nay, vấn đề tách chiết hầu hết các chất hòa tan có trong hạt cà phê được các nhà sản xuất quan tâm. Tuy nhiên, quá trình tách chiết các chất hòa tan có trong hạt cà phê gặp trở ngại do hai thành phần pectin và cellulose chiếm chủ yếu trong hạt cà phê gây ra, pectin (52,62-55,14%), cellulose (15,29-17,04%). Chúng tôi đã chế tạo thành công chế phẩm biocoffee-1 chứa hoạt tính pectinase và cellulase cao với thành phần môi trường tối ưu là 9% cà rốt, 15% vỏ trấu và những thành phần khác là 75% cám và 1% $NH_4(SO_4)_2$ và các yếu tố khác như sau: điều kiện nhiệt độ khoảng 27-30⁰C (nhiệt độ phòng), độ ẩm từ 56-64%W và thời gian từ 40-44 giờ. Quá trình lên men của chế phẩm, hai loại bột mì và bột sắn nhận thấy là tốt nhất và tỉ lệ tốt nhất là bột mì: bột sắn = 2:1, với độ ẩm 56% và thời gian 30 giờ. Ngoài ra, chúng tôi xác định các điều kiện tối ưu cho quá trình lên men cà phê là cà phê nên ngâm nước 1 giờ và để ráo, lên men 16 giờ và tỉ lệ chế phẩm: trọng lượng cà phê sử dụng là 16/1000. Chế phẩm này vừa giải quyết hiệu quả trở ngại được đề cập từ đầu đồng thời nâng cao chất lượng cà phê bằng công nghệ lên men, một hướng mới trong chế biến cà phê hiện nay.[3], [4], [5]

1. GIỚI THIỆU

Cà phê là cây công nghiệp quan trọng và có giá trị kinh tế đối với các quốc gia nhiệt đới, trong đó có Việt Nam. Hiện nay cà phê trong nước có giá trị xuất khẩu đứng hàng thứ hai chỉ sau lúa gạo. Cà phê được sử dụng rộng rãi đến mức phổ thông và không chỉ được ứng dụng trong ngành công nghiệp thức uống mà còn được ứng dụng trong các công ty bánh kẹo, thậm chí trong các công ty dược phẩm. Trong các ngành này hầu như sản phẩm chứa cà phê được sử dụng ở dạng hòa tan.[1]. Tuy nhiên, hiện nay vấn đề trích ly các chất hòa tan có trong hạt cà phê gặp trở ngại lớn nếu sử dụng phương pháp thông thường. Có nghĩa là một lượng lớn các chất hòa tan vẫn còn nằm lại trong bã sau quá trình tách chiết. Trong nhiều nghiên cứu cho thấy rằng, sự cản trở này chủ yếu do hai thành phần pectin và cellulose có trong cà phê gây nên. Hai thành phần này là hai thành phần chiếm tỷ lệ lớn và có cấu trúc sinh học khá bền vững và chúng vốn là lớp che chở tế bào và chất liên kết tế bào khi trái cà phê còn sống [5]. Nhận thấy cấu trúc này khi ở trạng thái mất nước càng trở nên bền vững, chúng chỉ có thể bị phá hủy khi dùng các tác nhân axit, bazơ mạnh mà những tác nhân này không được khuyến khích trong chế biến thực phẩm ngày nay [4], [5]. Để giải quyết vấn đề này, chúng tôi nhận thấy có thể ứng dụng các chế phẩm vi sinh vật có hoạt tính pectinase và cellulase tác động một cách đặc hiệu lên cơ chất pectin và cellulose. Ngày nay việc hướng đến sử dụng chế phẩm vi sinh vật trong chế biến là hướng đi mới, hiệu quả vì nâng cao chất lượng cà phê và đồng thời tăng khả năng trích các chất hòa tan.[1], [3], [4].

Hiện nay ở Việt Nam có 3 loại cà phê được trồng khá phổ biến là cà phê vối (*C. robusta*), chè (*C. arabica*) và mít (*C. excelsa*). Sản phẩm cà phê được bán trên thị trường hiện nay hầu hết được sử dụng phương pháp truyền thống (phương pháp khô) cho cà phê chất lượng trung bình. Trên thế giới một phương pháp mới đang được sự quan tâm của các nhà chế biến cà phê,

đó là phương pháp chế biến ướt, cho cà phê chất lượng cao [5]. Nghiên cứu này góp phần vào việc nâng cao chất lượng cà phê Việt Nam để đáp ứng nhu cầu thực tiễn xuất khẩu cà phê. Đặc biệt song song với việc nâng cao chất lượng cà phê, chúng tôi cũng đã trích ly hầu hết các chất hòa tan có trong hạt nhân cà phê. Bài báo này chúng tôi tập trung vào 4 mục tiêu lớn như sau:

1. Phân tích các thành phần có trong nhân cà phê
2. Tối ưu hóa các điều kiện sản xuất chế phẩm vi sinh vật sinh tổng hợp pectinase và cellulase
3. Khảo sát sử dụng một vài dạng tinh bột trong nhân giống chế phẩm vi sinh
4. Khảo sát tối ưu hóa điều kiện lên men

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Chủng vi sinh vật *Aspergillus niger* đã có nhiều khảo sát có khả năng sinh tổng hợp enzyme cellulase cao (trong một đề tài tiến sĩ) và có khả năng sinh tổng hợp pectinase cao (một đề tài thạc sĩ). Chủng vi sinh vật này được cung cấp từ phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học, ĐH Bách Khoa TP.HCM

Các loại cà phê bao gồm cà phê vối (*C. robusta*), chè (*C. arabica*) và mít (*C. excelsa*) được trồng ở Đắk Lắk.

2.2. Các phương pháp nghiên cứu [2]

- 1) Định lượng pectin bằng phương pháp canxi-pectat
- 2) Định lượng cellulose bằng phương pháp axit mạnh
- 3) Xác định hoạt tính pectinase bằng phương pháp so màu có sự hiện diện thuốc thử Antron
- 4) Xác định hoạt tính cellulase bằng phương pháp quang phổ kế có sự hiện diện thuốc thử DNS (3,5 dinitrosalicylic acid)
- 5) Định lượng đường tổng số bằng phương pháp so màu có sự hiện diện thuốc thử Antron
- 6) Định lượng đường khử bằng phương pháp Schaffer Hartmann
- 7) Định lượng tinh bột bằng phương pháp quang phổ kế có sự hiện diện thuốc thử DNS (3,5 dinitrosalicylic acid)
- 8) Định lượng đạm bằng phương pháp Kjeldahl

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Thành phần hóa học cơ bản trong cà phê nhân

Hạt cà phê sử dụng ở dạng khô để bảo quản có độ ẩm thấp hơn 11W%, cụ thể độ ẩm lần lượt *C. robusta*, *C. arabica* và *C. excelsa* là 7,86, 7,26 và 10,60. Sau khi phân tích thành phần hóa học trong hạt cà phê chúng tôi nhận thấy thành phần pectin và cellulose cao một cách đáng kể. Kết quả được trình bày như trong bảng 1 sau đây:

Bảng 01. Thành phần hóa học cơ bản trong cà phê nhân

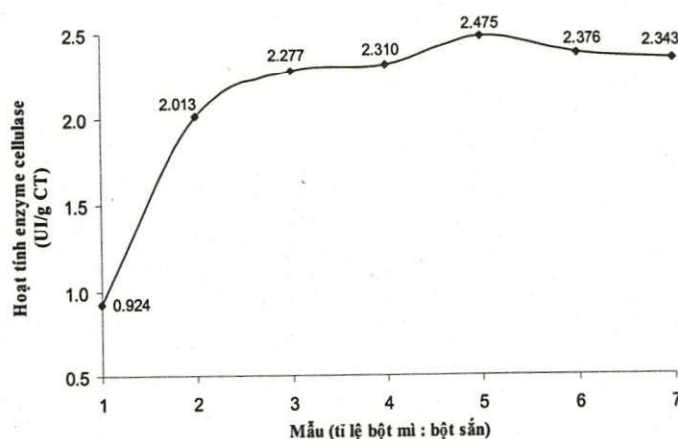
| THÀNH PHẦN | PHẦN TRĂM THEO TRỌNG LƯỢNG HẠT CÀ PHÊ KHÔ (%) | | |
|--------------------------|---|-------------------|-------------------|
| | <i>C. robusta</i> | <i>C. arabica</i> | <i>C. excelsa</i> |
| 1. Đường tổng số hòa tan | 16,03 | 17,09 | 15,05 |
| 2. Đường khử | 2,95 | 3,00 | 4,17 |
| 3. Pectin | 54,71 | 52,62 | 55,14 |
| 4. Cellulose | 15,29 | 16,80 | 17,04 |
| 5. Tinh bột | 6,46 | 6,25 | 6,04 |
| 6. Đạm | 1,82 | 1,73 | 1,96 |

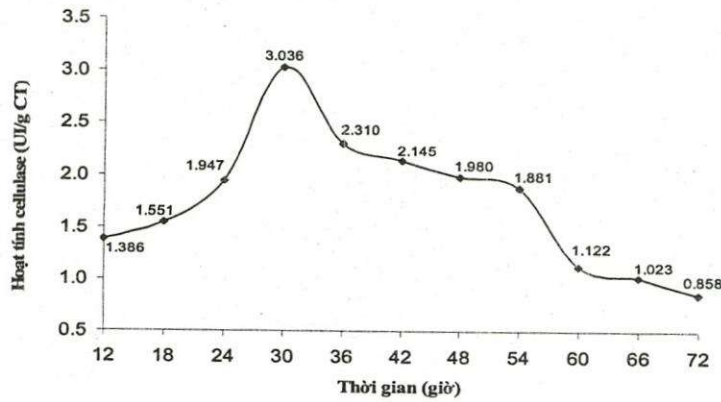
3.2. Thành phần môi trường nuôi cấy, nhiệt độ, thời gian tối thích cho sinh tổng hợp pectinase và cellulase

Chúng tôi nhận thấy rằng cà rốt có ảnh hưởng đến việc sinh tổng hợp pectin và vỏ trấu có ảnh hưởng đến sinh tổng hợp cellulase. Môi trường nuôi cấy tối ưu cho việc sinh tổng hợp pectinase và cellulase là 9% cà rốt, 15% vỏ trấu và những thành phần khác là 75% cám và 1% $\text{NH}_4(\text{SO}_4)_2$. Nhiệt độ, độ ẩm và thời gian là những yếu tố quan trọng cho việc sinh tổng hợp pectinase và cellulase. Chúng tôi đã tiến hành xác định các yếu tố này và kết luận rằng, điều kiện nhiệt độ khoảng $27\text{-}30^\circ\text{C}$ (nhiệt độ phòng), độ ẩm từ 56-64%W và thời gian từ 40-44 giờ là điều kiện tốt nhất cho việc sinh tổng hợp pectinase và cellulase.

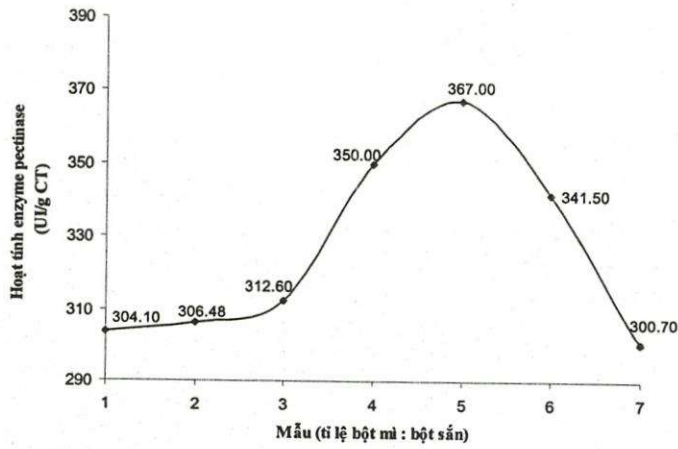
3.3. Chất mang và các điều kiện cho quá trình nhân lên của chế phẩm vi sinh

Khi lên men ở phạm vi lớn hơn, chúng tôi nhận thấy rằng chế phẩm vi sinh cần sử dụng với lượng lớn hơn rất nhiều thì mới đáp ứng cho nhu cầu sản xuất công nghiệp. Vì thế, chúng tôi nghiên cứu và đã xác định bột mì và bột sắn là hai chất phù hợp nhất cho quá trình nhân lên của chế phẩm vi sinh. Chúng tôi kết luận rằng điều kiện tốt nhất cho quá trình này là sử dụng tỉ lệ bột mì: bột sắn là 2:1, thời gian 30 giờ và độ ẩm 56%

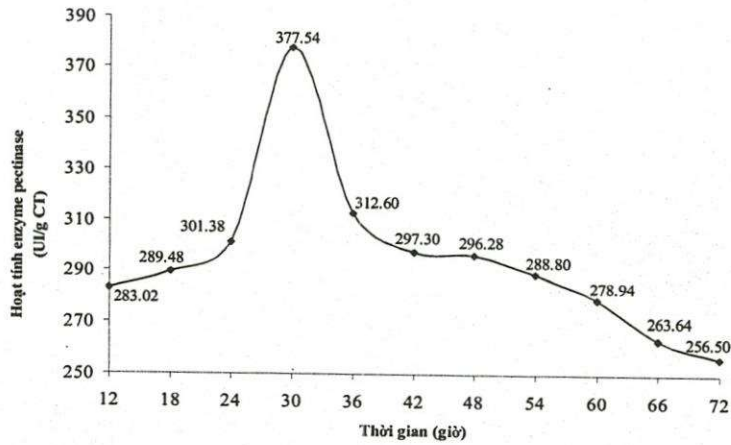
**Đồ thị 3.1:** Tỉ lệ phối trộn bột mì:bột sắn cho sinh tổng hợp enzyme cellulase



Đồ thị 3.2: Thời gian tối thích cho quá trình nhân giống cho sinh tổng hợp enzyme cellulase

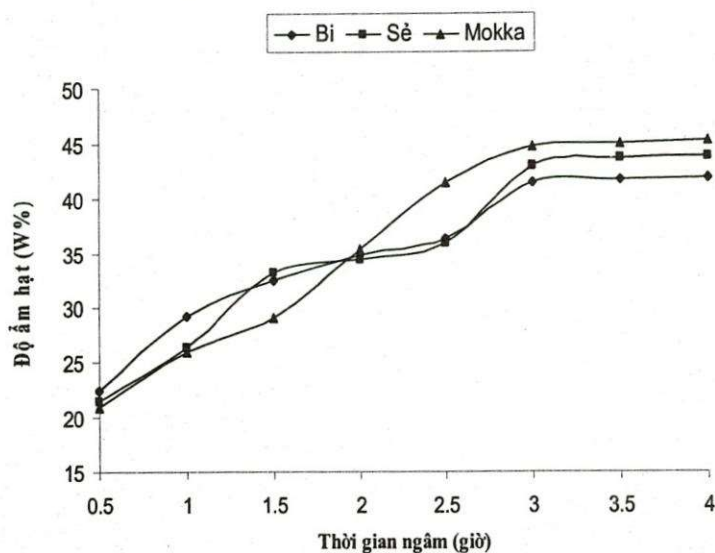


Đồ thị 3.3: Tỉ lệ phối trộn bột mì:bột sắn cho sinh tổng hợp enzyme pectinase

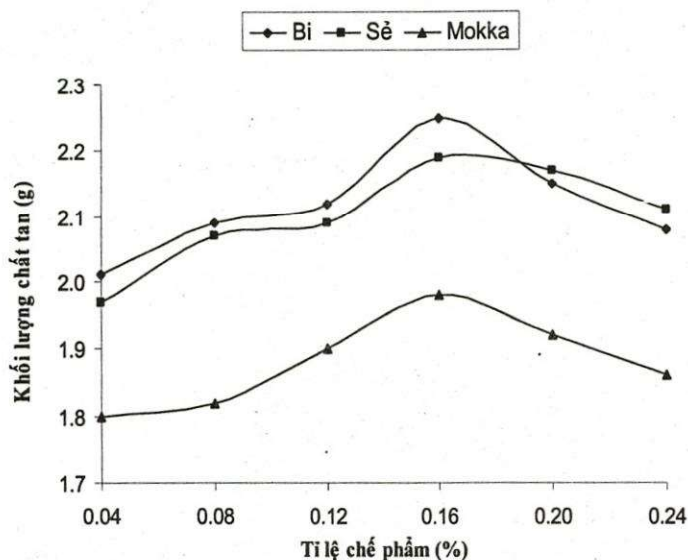


Đồ thị 3.4: Thời gian tối thích cho quá trình nhân giống cho sinh tổng hợp enzyme pectinase

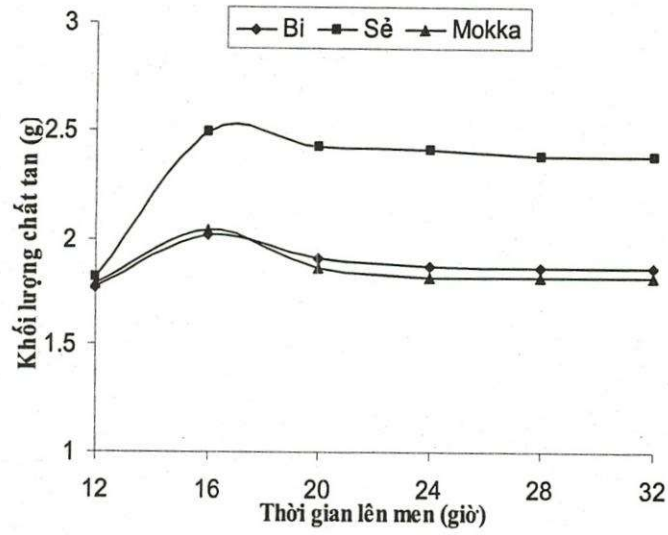
Chúng tôi khảo sát điều kiện lên men tối ưu cho việc thu nhận các chất hòa tan. Các yếu tố được quan tâm bao gồm là thời gian ngâm hạt cà phê trong nước, thời gian ngâm hạt tạo độ ẩm tối ưu, thời gian lên men và tỷ lệ chế phẩm. Trong đó, khối lượng chất hòa tan được định nghĩa là lượng chất hòa tan trích ra từ 10 g cà phê đã qua lên men và tỷ lệ nước nóng sử dụng là 50ml/10g cà phê lên men. Chúng tôi kết luận rằng độ ẩm cà phê cao nhất sau 3 giờ ngâm hạt trong nước, tuy nhiên lượng chất trích hòa tan thu được cao nhất là sau một giờ ngâm hạt và thời gian lên men tốt nhất là 16 giờ và tỷ lệ chế phẩm / trọng lượng cà phê là: 16/1000.



Đồ thị 3.5: Độ ẩm theo thời gian ngâm hạt cà phê



Đồ thị 3.6: Thời gian tối thích cho quá trình lên men hạt cà phê



Đồ thị 3.7: Tỷ lệ chế phẩm tối thích cho quá trình lên men



Hình 3.1: C. robusta



Hình 3.2: C. arabica

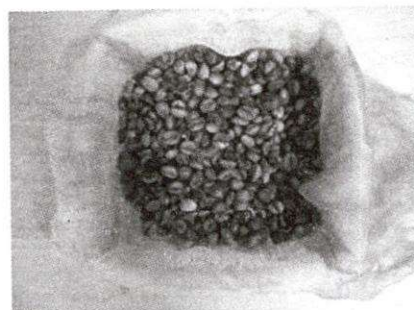


Hình 3.3: C. excelsa

(Nguồn thu nhận ba loại cà phê ở Đắk Lắk)



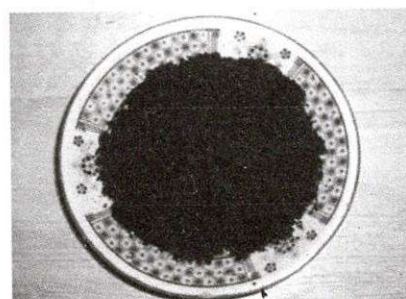
Hình 3.4 Một mẫu cà phê đang lên men



Hình 3.5 Một mẫu cà phê sau lên men



Hình 3.6 Một mẫu cà phê sau khi rang



Hình 3.7 Một mẫu cà phê sau khi xay

4.KẾT LUẬN

Tóm lại, chúng tôi kết luận rằng biocoffee-1 có thể ứng dụng một cách hiệu quả trong lên men ba loại cà phê phổ biến ở Việt Nam, đặc biệt trong việc tăng cường trích ly các chất hòa tan trong hạt cà phê. Nghiên cứu này rất hữu ích cho các công ty sản xuất và chế biến liên quan đến cà phê, đặc biệt các công ty chế biến thức uống hòa tan.

SYNTHESIZING BIOCOFFEE-1 AND APPLYING IT IN COFFEE FERMENTATION

Le Hong Phu⁽¹⁾, Nguyen Duc Luong⁽²⁾, Do Dai Nghia⁽³⁾

(1)International University, VNU-HCM

(2) University of Technology, VNU-HCM

(3) Nong lam University of HCMc

ABSTRACT: In coffee processing today, attracting all the dissolved substances from the coffee bean is a matter that so many manufacturers are interested in. However, the dissolved substrate extraction is recognized by the two major components in the coffee bean: pectine and cellulose as from this research. Pectine contains 52.62-55.14% and cellulose contains 15.29-17.04%. We have successfully created the bio-product named **Biocoffee-1**, which has high enzymatic activity of pectinase and cellulase. The optimal chemical components of

culture for this bio-product synthesis includes carrot (9 %), rice husk (15%), mash (75%), $NH_4(SO_4)_2$ (1%) and other factors such as temperature 27-30⁰C (about room temperature), humidity 56-64%W, and time 40-44 hours. On a large scale, when the bio-product is needed for industrial production, it also needs to produce a larger quantity as well. We find that the wheat powder and cassava are the most appropriate for this process. We concluded that the ratio "wheat powder: cassava powder" is 2:1, humidity 56 %W and bio-synthesis time is optimal at 30 hours. Moreover, we also investigated the optimal fermented conditions for the highest quantity of dissolved substance weight. The dissolved substance weight is defined that the dry quantity of dissolved substance extracted from 10g of fermented coffee and dissolved rate is done by putting 10g of coffee powder in 50ml of hot water. We concluded that coffee-bean humidity gets most after 3 hours in water. However; the highest quantity of dissolved substances weight was determined 1 hour after putting coffee in water, and the optimal fermented time was 16 hours and the ratio bio-product weight/ coffee weight is 16/1000. Thus, this bio-product can solve the problem as early mentioned and get the high quality of coffee with the fermented method, a new way in coffee processing today.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Nguyễn Đức Lượng và các tác giả, *Công nghệ enzyme*, NXB ĐHQG TP. HCM, (2004)
- [2]. Nguyễn Văn Mùi, *Thực hành sinh hóa*, NXB KH&KT Hà Nội, (2002)
- [3]. Gerhartz, Wolfgang, *Enzymes in Industry production and applications*, VHC publisher, New York, USA, (1990)
- [4]. Helmut Uglig, *Industrial enzymes and their applications*, John Wiley & Sons Inc., UK, (1998)
- [5]. R.J.Clarke, R. Macrae, *Coffee, Volume 1: Chemistry, Volume 2: Technology, volume 5: Related beverages, volume 6: Commercial and Technico-legal Aspects*, Elsevier applied science publishers London and New York, (1985)