



ỨNG DỤNG PECTINASE TRONG SẢN XUẤT TIÊU SỢ TỪ TIÊU ĐEN

Nguyễn Đức Chung, Lê Thị Quỳnh Hương, Nguyễn Văn Huế *

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 102 Phùng Hưng, Huế, Việt Nam

* Tác giả liên hệ: Nguyễn Văn Huế <nguyenvanhue@hueuni.edu.vn>

(Ngày nhận bài: 29-5-2023; Ngày chấp nhận đăng: 26-7-2023)

Tóm tắt. Pectinase là nhóm enzyme có khả năng phân giải pectin nhằm mục đích làm trong dịch quả hoặc sử dụng trong hỗ trợ bóc vỏ hạt trong các quá trình chế biến. Nghiên cứu này sử dụng pectinase thương mại để bóc vỏ tiêu trong sản xuất tiêu sọ từ tiêu đen nhờ khả năng phân cắt pectin trong vỏ tiêu. Điều kiện thích hợp để bóc vỏ tiêu là: nồng độ enzyme 1000 ppm, pH 4 ở 45°C trong 108 giờ. Điều kiện tẩy trắng thích hợp là nồng độ pectinase 300 ppm, pH 4 ở 45°C trong 20 giờ. Tiêu sọ thành phẩm được sấy ở 55°C đến khi hạt đạt độ ẩm an toàn (dưới 13%) và các chỉ tiêu chất lượng đã đáp ứng yêu cầu theo TCVN7037:2002 với độ ẩm 12,52%, hàm lượng piperin 6,8%, dầu bay hơi 2,15%, tỷ lệ hạt đen 0,24% và không có sự có mặt của *Coliform*, *E. coli* hay *Salmonella*.

Từ khoá: chế biến tiêu sọ, pectinase, tiêu đen, nồng độ enzyme

Application of pectinase in white pepper production from black pepper berries

Nguyễn Duc Chung, Le Thi Quynh Huong, Nguyen Van Hue*

University of Agriculture and Forestry, Hue University, 102 Phung Hung St., Hue, Vietnam

* Correspondence to Nguyen Van Hue <nguyenvanhue@hueuni.edu.vn>

(Submitted: May 29, 2023; Accepted: July 26, 2023)

Abstract. Pectinase is an enzyme group that catalyzes the pectin degradation reaction to clarify fruit juice or to unpeel fruit's mesocarp during processing. This study aims to produce white pepper from dried black pepper berries with commercial pectinase. The suitable technical conditions for skin removing conditions include the pectinase concentration of 1000 ppm, pH 4, 45°C, and 108 hours. The bleaching optimal conditions are as follows: pectinase concentration of 300 ppm and 20 hours. The bleached pepper was dried at 55°C to meet the quality required by TCVN 7037:2002, as follows: moisture content 12.52%, piperine content 6.8%, volatile oil content 2.15%, and black seed ratio 0.24%, with the absence of *Coliform*, *E. coli*, or *Salmonella*.

Keywords: pectinase, black pepper, white pepper production, pectinase concentration

1 Đặt vấn đề

Hồ tiêu (*Piper nigrum*) là loại cây leo phân bố ở vùng nhiệt đới, chủ yếu là ở các nước Đông Nam Á và Châu Mỹ. Việt Nam hiện trồng phổ biến 4 chi với 50 loài và dưới loài ở các tỉnh Tây Nguyên, Bà Rịa-Vũng Tàu, Đồng Nai. Hồ tiêu Vĩnh Linh (Quảng Trị) là một trong các giống (tiêu Phú Quốc, tiêu Vĩnh Linh, tiêu trâu Tây Nguyên, tiêu Srilanka) được trồng phổ biến ở nước ta do khả năng thích nghi tốt với điều kiện khí hậu trong nước và năng suất đạt được khá cao [1].

Các sản phẩm hồ tiêu đang được tiêu thụ trên thị trường hiện nay có thể kể đến là tiêu đen, tiêu sọ, tiêu bột, dầu hồ tiêu, v.v. Tuy nhiên, sản phẩm tiêu đen được sử dụng phổ biến hơn cả do quy trình chế biến đơn giản, tổn thất hồ tiêu trong quá trình thu hoạch, chế biến thấp và dễ bảo quản hơn các loại sản phẩm hồ tiêu khác. Sản phẩm tiêu đen thường được làm khô từ hồ tiêu đạt độ chín ở mức 70–90%. Ở độ chín này, việc thu hoạch tiêu được dễ dàng và quá trình thu hoạch, vận chuyển tiêu về nơi chế biến ít bị tổn thất. Tuy nhiên, chất lượng của tiêu (nhất là hàm lượng piperin) thường thấp hơn so với tiêu đã chín.

Tiêu sọ có giá trị kinh tế cao hơn tiêu đen và đặc biệt phù hợp cho việc dùng làm gia vị cho những người mới ăn, nhất là người dân ở các nước Châu Âu, Mỹ do vị không quá nồng. Tuy nhiên, việc sản xuất tiêu sọ đòi hỏi phải thực hiện nhiều công đoạn chế biến và yêu cầu kỹ thuật cao hơn so với chế biến các sản phẩm tiêu đen. Sản phẩm tiêu sọ hiện nay vẫn được sản xuất theo hai phương pháp là phương pháp truyền thống (chỉ ngâm nước) và phương pháp cải tiến (có sử dụng enzyme hoặc vi sinh vật). Việc sản xuất tiêu sọ theo phương pháp cải tiến có một số

ưu điểm vượt trội so với phương pháp truyền thống như chất lượng tiêu sọ thành phẩm cao hơn, thời gian chế biến ngắn và ít gây ô nhiễm môi trường do nước thải sạch hơn.

Trong công nghệ chế biến các sản phẩm hồ tiêu, cà phê có giá trị cao hiện nay, các enzyme được sử dụng nhiều hơn nhờ vào khả năng hỗ trợ bóc vỏ tốt hơn, giúp quá trình chế biến diễn ra nhanh chóng và ít ảnh hưởng đến môi trường hơn. Các enzyme thường được sử dụng là enzyme thuộc nhóm cellulase, hemicellulase, pectinase, arabinase, β -glucanase, xylanase, v.v. do cơ chất chính trong lớp vỏ ngoài của hồ tiêu, cà phê là cellulose, hemicellulose, pectin và những thành phần không phải carbohydrate (lignin) [2]. Các công bố của một số tác giả như Ashari và cs., Aziz và cs., Phạm Văn Thao và cs. đều nhận định việc sử dụng enzyme trong chế biến tiêu sọ từ tiêu đen hay từ tiêu tươi đều giúp rút ngắn thời gian chế biến, tỷ lệ hạt tiêu trắng cao, tổng số vi sinh vật lẫn nhiễm và tinh dầu hay hơi cao hơn so với mẫu đối chứng không được xử lý enzyme [3–5].

Pectinase là một nhóm enzyme thủy phân liên kết ester hoặc glicoside trong mạch polymer của pectin, sản phẩm của quá trình này là acid galacturonic, galactose, methanol, v.v. [6]. Đây là enzyme phổ biến nhất được ứng dụng trong chế biến sản phẩm thực phẩm, nhất là làm trong nước uống được chế biến từ các loại rau, củ, quả. Mặc dù pectinase có thể được thu nhận từ nguồn thực vật hoặc vi sinh vật, nhưng nguồn pectinase vi sinh vật vẫn được ưu tiên sử dụng do khả năng sản xuất dễ dàng và hoạt lực của enzyme cao hơn so với pectinase nguồn thực vật [7]. Nghiên cứu này sử dụng pectinase thương mại được sản xuất từ nấm mốc *Aspergillus* để thúc đẩy quá trình bóc vỏ hạt tiêu đen khô nhằm chế biến được tiêu sọ thành phẩm có tỷ lệ hạt trắng cao, đạt yêu cầu chất lượng cơ bản theo TCVN7037:2002 về tiêu trắng.

2 Vật liệu và phương pháp

2.1 Vật liệu

Đối tượng nghiên cứu là tiêu tươi được thu hái vào tháng 5/2022 khi đạt độ chín hơn 90% tại vườn của các hộ gia đình ở huyện Vĩnh Linh, tỉnh Quảng Trị. Hồ tiêu nguyên liệu được đóng bao, vận chuyển về phòng thí nghiệm và sơ chế ngay trong ngày. Hồ tiêu được sấy bằng thiết bị sấy bơm nhiệt ở 50°C đến khi đạt độ ẩm $13 \pm 1\%$ và được sử dụng ngay cho các thí nghiệm bóc vỏ tiêu hoặc bao gói chân không và lưu giữ trong điều kiện phòng, tránh ánh sáng trực tiếp đến khi sử dụng. Mục đích của việc chuẩn bị hồ tiêu khô này là để đảm bảo sự ổn định của nguyên liệu cho các công thức thí nghiệm và hạn chế tối đa sai số có thể xảy ra do sự khác biệt về đặc tính của nguyên liệu ở các thời điểm thu hoạch khác nhau.

Enzyme được sử dụng trong nghiên cứu này là pectolytic enzyme (pectinase) có tên thương mại là LEAFPECT (Batch No.:LC2005030, Ấn Độ). Đây là loại enzyme được sản xuất từ chủng *Aspergillus* sp. và được khuyến cáo sử dụng trong chế biến để giảm độ nhớt của dịch và

puree rau quả. Loại enzyme này có pH và nhiệt độ tối ưu trong các khoảng tương ứng là 3–4 và 45 °C.

2.2 Phương pháp

Bố trí thí nghiệm: Để thực hiện nghiên cứu, quá trình chế biến tiêu sọ từ tiêu đen được thực hiện theo mô tả trong công bố của Phạm Văn Thao và cs. với các công đoạn chính như sau [5]:

Hồ tiêu khô → Thanh trùng (80°C, 15 phút) → Ngâm ủ 1 → Ngâm ủ 2 → Xát vỏ lụa → Sấy khô (50°C, hàm ẩm dưới 13%) → Tiêu sọ thành phẩm

Nghiên cứu này chú trọng khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng chế biến tiêu sọ ở công đoạn “Ngâm ủ 1” và “Ngâm ủ 2” dưới sự tác động của pectinase.

Khảo sát lượng nước sử dụng: Để xác định được lượng nước phù hợp cho các nghiên cứu bóc vỏ tiêu, vừa đảm bảo mực nước không thấp hơn thể tích khối hạt tiêu trong thời gian ủ bóc vỏ nhưng cũng không quá cao để có thể tiết kiệm được lượng nước và enzyme sử dụng trong các công thức xử lý tiêu bằng enzyme. Dựa trên công bố của Trần Ngọc Hùng và cs., các tỷ lệ tiêu: nước được khảo sát là 1:1, 1:2, và 1:3 (g/mL) để chế biến tiêu sọ từ tiêu đen theo phương pháp truyền thống (không xử lý enzyme) ở công đoạn Ngâm ủ 1. Tỷ lệ tiêu:nước thể hiện hiệu suất bóc vỏ tiêu cao và tiêu hoàn toàn ngập trong nước trong suốt thời gian xử lý sẽ được chọn cho nghiên cứu tiếp theo ở các công thức chế biến có bổ sung enzyme. Hỗn hợp được ủ ở nhiệt độ phòng (26–28°C) trong 36 giờ sau đó xác định tỷ lệ bóc vỏ bằng cách sát vỏ và phân loại thủ công.

Khảo sát tỷ lệ enzyme thích hợp: Trên cơ sở tham khảo công bố của Phạm Văn Thao và cs. khi sử dụng Rohapect trong chế biến tiêu sọ [5]. Các tỷ lệ enzyme được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng ở công đoạn “Ngâm ủ 1” là 500, 750, 1000, 1250 và 1500 ppm cùng với mẫu đối chứng không chứa enzyme, giai đoạn “Ngâm ủ 2” bổ sung ở các nồng độ 0, 100, 200, 300, 400 và 500 ppm tính theo tổng thể tích hỗn hợp phản ứng.

Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng bóc vỏ tiêu của pectinase: Các yếu tố lần lượt được khảo sát là pH 3, 3,5, 4, 4,5, nhiệt độ 40, 45 và 50 °C. pH được điều chỉnh bằng HCl 10% và NaOH 0,1M, nhiệt độ hỗn hợp phản ứng được duy trì bằng bể ổn nhiệt Memmert WNB45 (Đức). Trong thời gian ủ, mẫu phân tích được lấy trong khoảng từ 48–120 giờ ủ với khoảng lấy mẫu sau mỗi 12 giờ. Các chỉ tiêu theo dõi là độ trương nở của hạt, tỷ lệ sát vỏ và hàm lượng piperin. Trong các nghiên cứu khảo sát trên, các chỉ tiêu độ trương nở của hạt, tỷ lệ bóc vỏ và hàm lượng piperin được khảo sát để chỉ lựa chọn các thông số phù hợp. Trong đó, tỷ lệ bóc vỏ là chỉ tiêu quan trọng nhất.

Các chỉ tiêu và phương pháp phân tích

Hàm ẩm trong sản phẩm: được xác định bằng cách sấy mẫu hồ tiêu đến khối lượng không đổi. Theo đó, 20 g mẫu được sấy ở 105°C trong một giờ rồi để nguội trong bình hút ẩm và cân, lặp lại quy trình đến khi khối lượng cân ba lần liên tiếp không có sai khác thì ngừng quá trình sấy.

Màu sắc hạt (%): được đánh giá bằng phương pháp cảm quan mô tả màu sắc của hạt tiêu bằng mắt thường, cân 100 g hạt và quan sát màu sắc phân loại để tính tỷ lệ % hạt theo màu sắc, các tiêu chuẩn vi sinh vật được phân tích theo yêu cầu được mô tả trong TCVN 7037:2002. Hàm lượng piperin được xác định theo TCVN 9683:2013 [8]; Hàm lượng tinh dầu bay hơi được xác định theo TCVN 7039:2013 [9].

Độ trương nở: được xác định theo mô tả trong Dược điển Việt Nam (tập 2, phụ lục 12.19) [10] với một số thay đổi cho phù hợp với hạt hồ tiêu. Cụ thể, bốn mẫu hạt tiêu (50 g) được ngâm ngập trong nước, được vớt ra ở các khoảng thời gian ngâm 1,5 giờ, 3,0 giờ, 4,5 giờ, 6 giờ và được làm khô trên giấy thấm, sau đó cân khối lượng. Nếu khối lượng của hai lần cân liên tiếp có sự sai khác (lần cân sau có khối lượng lớn hơn lần cân trước đó) thì mẫu trước đó được nhận định là chưa trương nở hoàn toàn. Nếu khối lượng giữa hai lần cân liên tiếp không có sự sai khác thì mẫu được nhận định đã trương nở hoàn toàn. Khối lượng này được sử dụng làm tham chiếu để đo mức độ trương nở của hạt tiêu trong dung dịch phản ứng. Theo đó, 50 g tiêu trong các hỗn hợp phản ứng được đổ ra và làm khô trên giấy rồi cân khối lượng trước khi thực hiện công đoạn sát vỏ. So sánh khối lượng này với khối lượng trong công thức tham chiếu để ghi nhận mẫu tiêu ở trạng thái ít trương nở, trương nở chưa hoàn toàn hay đã trương nở hoàn toàn.

Hiệu suất bóc vỏ: việc bóc vỏ được thực hiện thủ công và hiệu suất bóc vỏ (H) được tính theo công thức:

$$H (\%) = \frac{\Sigma \text{Số hạt} - \Sigma \text{số hạt còn dính vỏ ngoài}}{\Sigma \text{Số hạt có trong mẫu}} \times 100\% \quad (1)$$

Xử lý số liệu

Số liệu được quản lý và xử lý bằng Microsoft Excel, kiểm định sự khác biệt của các trung bình bằng hàm Duncan's trên phần mềm SPSS16 phiên bản chạy trên môi trường Windows.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Ảnh hưởng của tỷ lệ tiêu:nước đến khả năng bóc vỏ hạt tiêu đen

Lượng nước sử dụng có ảnh hưởng nhất định đến khả năng trương nở của hạt hồ tiêu. Trong quá trình ngâm, hạt hồ tiêu khô hút nước để trương nở do cấu tạo của lớp vỏ hạt là những thành phần có khả năng hút ẩm cao (cellulose, hemicellulose, lignin).

Lượng nước sử dụng cũng sẽ ảnh hưởng nhất định đến lượng enzyme sử dụng, nếu lượng nước nhiều thì lượng enzyme cũng tăng lên do nồng độ enzyme trong hỗn hợp phản ứng là không đổi. Nghiên cứu này khảo sát tỷ lệ tiêu:nước là 1:1, 1:2, và 1:3 (w/v) nhưng không bổ sung enzyme mà chỉ ngâm ủ ở nhiệt độ phòng (26–28) trong thời gian 36 giờ, kết quả khảo sát tỷ lệ bóc vỏ được thể hiện trong Bảng 1.

Kết quả khảo sát tỷ lệ tiêu:nước trong Bảng 1 cho thấy, ở các tỷ lệ được khảo sát trong nghiên cứu đều giúp hiệu suất bóc vỏ tiêu đạt trên 63% và tăng dần theo lượng nước sử dụng. Hiệu suất bóc vỏ của tỷ lệ tiêu:nước 1:1 (CT1), 1:2 (CT2) và 1:3 (CT3) đạt tương ứng 63,36%, 63,91% và 64,04%. Tỷ lệ bóc vỏ ở CT1 thấp hơn các công thức còn lại, CT2 và CT3 không có sự sai khác ở mức ý nghĩa 0,05 nhưng do lượng nước sử dụng ở CT3 nhiều sẽ tiêu hao enzyme lớn và lượng nước thải ra nhiều hơn khi thực hiện bóc vỏ tiêu bằng enzyme nên tỷ lệ tiêu:nước ở CT2 là thích hợp để lựa chọn cho nghiên cứu tiếp theo. Kết quả này cũng tương tự như công bố của Trần Ngọc Hùng và cs. khi nghiên cứu bóc vỏ tiêu ở các tỷ lệ tiêu:nước 1:1, 1:2; 1:3 đã khẳng định lượng nước sử dụng không ảnh hưởng nhiều đến quá trình bóc vỏ của tiêu đen. Tuy nhiên, hiệu suất bóc vỏ trong nghiên cứu này lại thấp hơn (chỉ 64,04%) so với nghiên cứu của Trần Ngọc Hùng và cs. (95,20–97,33%) [11]. Sự khác biệt về tỷ lệ bóc vỏ trong thí nghiệm này có thể là do thời gian ngâm ủ tiêu ngắn hơn (36 giờ so với 96 giờ).

3.2 Ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến hiệu suất bóc vỏ hạt tiêu

Nồng độ enzyme có ảnh hưởng nhất định đến khả năng bóc vỏ tiêu đen. Nồng độ enzyme càng tăng thì tỷ lệ bóc vỏ cao [5] do lượng enzyme nhiều sẽ phân hủy cơ chất (trong vỏ tiêu) triệt để hơn. Trong nghiên cứu này, các nồng độ pectinase được khảo sát là 500 ppm, 750 ppm, 1000 ppm, 1250 ppm và 1500 ppm. Tiêu được xử lý enzyme trong 96 giờ, ở nhiệt độ phòng (26–28°C) và theo dõi các chỉ tiêu gồm độ trương nở của hạt, hiệu suất bóc vỏ và hàm lượng piperin (Bảng 2) để lựa chọn nồng độ enzyme thích hợp.

Kết quả trong Bảng 2 cho thấy, tiêu đã trương nở hoàn toàn sau thời gian ngâm 96 giờ và nồng độ enzyme khác nhau không ảnh hưởng đến độ trương nở của hạt. Trong khi đó, hiệu suất bóc vỏ hạt của các công thức sử dụng enzyme thể hiện khả năng bóc vỏ tốt hơn so với mẫu đối chứng không bổ sung enzyme. Hiệu suất bóc vỏ tiêu tăng từ 75,07% lên 94,20% khi nồng độ enzyme bổ sung tăng từ 500 ppm lên 1000 ppm nhưng hiệu suất bóc vỏ tăng không đáng kể khi tiếp tục tăng nồng độ enzyme lên 1250 ppm và 1500 ppm (tương ứng 94,34% và 94,48%). Đối với

Bảng 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ tiêu:nước đến hiệu suất bóc vỏ

Nghiem thức	Tỷ lệ tiêu:nước	Hiệu suất bóc vỏ (%)
CT1	1:1	63,36 ^b ± 0,07
CT2	1:2	63,91 ^a ± 0,40
CT3	1:3	64,04 ^a ± 0,06

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng cột thể hiện sự sai khác ở mức ý nghĩa 0,05.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến độ trương nở, hiệu suất bóc vỏ và hàm lượng piperin

Chi tiêu đánh giá	Nồng độ enzyme (ppm)					Đối chứng
	500	750	1000	1250	1500	
Độ trương nở của hạt	+++	+++	+++	+++	+++	+++
H (%)	75,07 ^c ± 0,32	83,39 ^b ± 0,20	94,20 ^a ± 0,47	94,34 ^a ± 0,57	94,48 ^a ± 0,46	63,91 ^d ± 0,40
Piperin (%)	6,93 ^a ± 0,31	6,95 ^a ± 0,25	6,89 ^{ab} ± 0,26	6,82 ^{bc} ± 0,65	6,90 ^{ab} ± 0,57	6,80 ^c ± 0,12

Ghi chú: ++: trương nở chưa hoàn toàn, +++: trương nở hoàn toàn. H(%): tỷ lệ hạt được bóc vỏ. Các chữ cái khác nhau đi theo sau giá trị hàng ngang chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 0,05.

hàm lượng piperin, sự khác biệt là không lớn giữa các mẫu thí nghiệm và mẫu đối chứng và nằm trong khoảng 6,80–6,95%. Như vậy, sử dụng pectinase với nồng độ 1000 ppm (0,1%) là phù hợp cho chế biến tiêu sọ từ tiêu đen. Kết quả này tương tự với công bố của Phạm Văn Thao và cs. khi chế biến tiêu trắng từ tiêu đen bằng cách xử lý tiêu bằng enzyme Rohapect (pectinase) ở nồng độ 1000 ppm, đạt được tỷ lệ bóc vỏ cao nhất là 95,3% [5].

3.3 Ảnh hưởng của pH đến hiệu suất bóc vỏ tiêu đen

Độ pH có ảnh hưởng đến khả năng bóc vỏ tiêu thông qua khả năng hoạt động của pectinase. Theo thông tin từ nhà cung cấp thì độ pH thích hợp cho pectinase hoạt động trong khoảng 2,5–5; pH tối ưu từ 3–4. Trong nghiên cứu này, các mức pH được khảo sát là 3,0; 3,5; 4,0; 4,5 và được xử lý trong 96 giờ. Kết quả phân tích các chỉ tiêu độ trương nở, hiệu suất bóc vỏ (H%) và hàm lượng piperin được trình bày ở Bảng 3.

Kết quả Bảng 3 cho thấy, pH có ảnh hưởng đến khả năng bóc vỏ của sản phẩm nhưng không ảnh hưởng tới khả năng trương nở và hàm lượng piperin của hạt tiêu. Hiệu suất bóc vỏ thấp khi pH thấp và tăng dần theo chiều tăng của pH. Mẫu được xử lý pectinase ở pH 3 đạt hiệu suất bóc 85,22%, chỉ số này tăng lên 88,45% ở mẫu xử lý pH 3,5 và đạt giá trị cao ở mức 94,39% và 94,70% ở các pH tương ứng 4,0 và 4,5. Với kết quả này, pH 4,0 được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo. Kết quả khảo sát chỉ số pH thích hợp cho pectinase LEAFPECT hoạt động tương

Bảng 3. Ảnh hưởng của pH đến độ trương nở, hiệu suất bóc vỏ và hàm lượng piperin

Chỉ tiêu đánh giá	pH			
	3	3,5	4	4,5
Độ trương nở của hạt	+++	+++	+++	+++
H (%)	85,22 ^c ± 0,65	88,45 ^b ± 1,00	94,39 ^a ± 0,86	94,70 ^a ± 0,89
Piperin (%)	6,84 ^a ± 0,30	6,88 ^a ± 0,46	6,87 ^a ± 0,06	6,89 ^a ± 0,60

Ghi chú: ++: trương nở chưa hoàn toàn, +++: trương nở hoàn toàn. H(%): tỷ lệ hạt được bóc vỏ. Các chữ cái khác nhau đi theo sau giá trị hàng ngang chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 0,05.

đương với pH của Viscozyme L (Sigma) nhưng khác với pH hoạt động tối thích của PeelZyme (pH 5) [3]. Sự khác biệt về pH hoạt động này được cho là do nguồn enzyme và do loại enzyme PeelZyme là hỗn hợp của các enzyme pectinase từ *Aspergillus niger* và *Trichoderma reesei* cùng các enzyme hemicellulase, cellulase và arabinose.

3.4 Ảnh hưởng của thời gian ngâm ủ đến hiệu suất bóc vỏ của tiêu

Thời gian ngâm có ảnh hưởng nhất định đến khả năng bóc vỏ tiêu đen. Thời gian ngâm càng dài thì khả năng bóc vỏ càng cao. Thời gian ngâm ủ tiêu với pectinase 1000 ppm, pH 4, ở nhiệt độ phòng (26–28°C) được khảo sát ở 48 giờ, 60 giờ, 72 giờ, 84 giờ, 96 giờ, 108 giờ và 120 giờ. Độ trương nở của hạt, hiệu suất bóc vỏ, hàm lượng piperin được phân tích và kết quả được trình bày trong Bảng 4.

Kết quả Bảng 4 cho thấy, hiệu suất bóc vỏ tiêu bằng pectinase có sự thay đổi theo thời gian ngâm ủ, thời gian ngâm ủ càng dài thì hiệu suất bóc vỏ càng cao. Cụ thể, hiệu suất bóc vỏ khi ngâm ủ tiêu với enzyme ở 48 giờ là 69,80% tăng dần theo thời gian và đạt 99,73% ở 108 giờ ngâm ủ, giá trị này tăng lên 100% khi ngâm ủ ở 120 giờ nhưng sự khác biệt này không sai khác so với mẫu ngâm ủ ở 108 giờ ở mức ý nghĩa 0,05. Các kết quả này cũng thể hiện rằng hạt tiêu đã trương nở hoàn toàn ở 48 giờ. Hàm lượng piperin có sự thay đổi nhất định nhưng mức dao động không quá lớn và nằm trong khoảng 6,93–6,95%. Do đó, thời gian ngâm ủ với pectinase phù hợp cho chế biến tiêu sọ từ tiêu đen là 108 giờ được chọn cho các nghiên cứu tiếp theo. Kết quả đạt được trong nghiên cứu này có sự khác biệt so với công bố của Phạm Văn Thao và cs. [2] khi nghiên cứu khả năng bóc vỏ tiêu theo thời gian ngâm ủ với enzyme. Cả hai kết quả đều cho thấy xử lý pectinase 1000 ppm có hiệu suất bóc vỏ tiêu cao nhưng thời gian bóc vỏ tiêu của nghiên cứu này đạt được giá trị cao ở 84 giờ ngâm ủ (97,04%) trong khi công bố của Phạm Văn Thao và cs. cho hiệu suất bóc vỏ đạt 96,80% ở 96 giờ ngâm ủ. Sự khác biệt này có thể là do nguồn pectinase khác nhau hoặc do nguyên liệu tiêu sử dụng cho các nghiên cứu là khác nhau. Kết quả này có sự khác biệt rất lớn so với công bố của Le Hong Phu và cs. khi nghiên cứu bóc vỏ tiêu bằng enzyme Viscozyme và PectinexUltra với thời gian xử lý chỉ lần lượt là 8,5 và 9,0 giờ nhưng hiệu suất bóc vỏ thấp hơn với kết quả tương ứng là 95,6% và 91,3% [12].

Bảng 4. Thay đổi của hiệu suất bóc vỏ, độ trương nở và hàm lượng piperin theo thời gian ngâm ủ

Chỉ tiêu đánh giá	Thời gian ngâm (giờ)						
	48	60	72	84	96	108	120
Độ trương nở của hạt	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
H (%)	69,80 ^f ± 0,25	82,35 ^e ± 0,79	94,16 ^d ± 0,66	97,04 ^c ± 0,36	98,36 ^b ± 1,63	99,73 ^a ± 0,65	100 ^a ± 0,06
Piperin (%)	6,83 ^b ± 0,436	6,82 ^b ± 0,32	6,87 ^{ab} ± 0,40	6,95 ^a ± 0,40	6,84 ^b ± 0,59	6,87 ^{ab} ± 0,56	6,91 ^{ab} ± 0,64

Ghi chú: ++: trương nở chưa hoàn toàn, +++: trương nở hoàn toàn. H(%): tỷ lệ hạt được bóc vỏ. Các chữ cái khác nhau đi theo sau giá trị hàng ngang chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 0,05.

3.5 Ảnh hưởng của nhiệt độ ngâm đến hiệu suất bóc vỏ của tiêu đen

Nhiệt độ ngâm có ảnh hưởng nhất định đến hiệu suất bóc vỏ tiêu đen. Nhiệt độ càng cao thì tỷ lệ bóc vỏ càng lớn. Theo nguồn thông tin từ nhà cung cấp pectinase thì nhiệt độ hiệu quả từ 15–50°C; nhiệt độ tối ưu là 45°C. Trong nghiên cứu này, nhiệt độ được khảo sát là nhiệt độ phòng, 40°C, 45°C, 50°C và được xử lý trong 108 giờ (Bảng 5).

Nhiệt độ ngâm ủ hạt tiêu ảnh hưởng đến khả năng bóc vỏ tiêu do nhiệt làm tăng sự xâm nhập của nước cùng với enzyme vào các lớp trong của vỏ hạt tiêu. Bên cạnh đó, nhiệt độ ở mức phù hợp với hoạt động của enzyme sẽ tăng độ hoạt động của pectinase thúc đẩy sự phân giải cơ chất trên vỏ hạt và tăng hiệu suất bóc vỏ. Kết quả trong nghiên cứu này chỉ ra nhiệt độ khối ủ ở 45°C cho hiệu suất bóc vỏ đạt trên 99,77%, cao hơn so với mẫu đối chứng ngâm ủ ở nhiệt độ phòng (83,41%) và cả mẫu được xử lý ở 40°C (92,27%), hiệu suất bóc vỏ ở 45°C không thể hiện sự sai khác ở mức ý nghĩa thống kê 0,05 so với mẫu ngâm ủ ở 50°C (99,73%). Độ trương nở không có sự thay đổi ở các nghiệm thức và hàm lượng piperin dao động trong khoảng 6,89–6,91%. Do đó, nhiệt độ 45°C là hợp lý cho công đoạn ngâm ủ tiêu với pectinase trong quá trình chế biến tiêu sọ từ tiêu đen. Kết quả của nghiên cứu này cũng tương đồng với công bố của Aziz và cs. khi xác

Bảng 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ ngâm ủ đến độ trương nở, hiệu suất bóc vỏ và hàm lượng piperin

Chỉ tiêu đánh giá	Nhiệt độ ngâm (°C)			
	Nhiệt độ phòng	40	45	50
Độ trương nở của hạt	+++	+++	+++	+++
Hiệu suất bóc vỏ (%)	83,41 ^c ± 0,67	92,27 ^b ± 0,96	99,77 ^a ± 0,87	99,73 ^a ± 0,66
Piperin (%)	6,89 ^a ± 0,36	6,94 ^a ± 0,30	6,91 ^a ± 0,45	6,93 ^a ± 0,20

Ghi chú: ++: trương nở chưa hoàn toàn, +++: trương nở hoàn toàn. H(%): tỷ lệ hạt được bóc vỏ. Các chữ cái khác nhau đi theo sau giá trị hàng ngang chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 0,05.

định được nhiệt độ thích hợp cho enzyme bóc vỏ tiêu Peelzyme IV là 45°C, Viscozyme và Celluclast là 42°C [4].

3.6 Ảnh hưởng của nồng độ enzyme và thời gian ngâm ủ làm trắng đến chất lượng tiêu sọ

Để tiêu sọ đạt chất lượng tốt sau chế biến, việc xử lý lần hai đối với bán thành phẩm tiêu sọ là cần thiết để giúp sản phẩm đạt độ trắng sáng theo tiêu chuẩn. Nghiên cứu này thực hiện quá trình làm trắng tiêu sọ thông qua khảo sát nồng độ pectinase từ 100–500 ppm trong thời gian 12 giờ và thời gian ngâm ủ từ 4–24 giờ với nồng độ enzyme đã chọn từ thí nghiệm trước đó. Các tiêu chí được lựa chọn dựa trên đánh giá chất lượng tiêu sọ thành phẩm theo TCVN 7037:2002 [13] với kết quả được thể hiện trong Bảng 6 và Bảng 7.

Kết quả đánh giá cho thấy, khi hạt tiêu được xử lý bằng enzyme thì sản phẩm chủ yếu có màu trắng và trắng vàng, khác biệt so với mẫu đối chứng không sử dụng enzyme thì tiêu có màu trắng đục. Liều lượng enzyme càng cao thì tỷ lệ hạt tiêu có màu trắng và trắng vàng càng cao trong khi đó hạt tiêu có màu đen nhạt và đen giảm rõ rệt. Với nồng độ sử dụng 100 ppm, 200 ppm thì tỷ lệ hạt đen nhạt và đen còn khá nhiều, nồng độ enzyme tăng lên 300–500 ppm trở lên thì tỷ lệ tiêu sọ màu đen nhạt (dưới 0,8%) và đen (dưới 0,5%) còn lại rất ít trong khi đó hạt có màu trắng và trắng vàng rất cao (hơn 90% cho cả hai loại). Lượng pectinase 300 ppm được dùng cho xử lý làm trắng tiêu sọ đạt được tỷ lệ hạt màu trắng cao nhất ở 81,2% nên được lựa chọn cho công đoạn xử lý này. Kết quả trong nghiên cứu này tương đồng với những kết quả được công bố bởi Phạm Văn Thao và cs. và Le Hong Phu và cs. khi nghiên cứu sản xuất tiêu sọ từ tiêu đen sử dụng enzyme Rohapect, Viscozyme_L hay Pectinex Ultra SPL [5, 12]. Công bố của Zhang và cs. thực hiện tối ưu hóa các điều kiện để bóc vỏ tiêu bằng phương pháp enzyme cũng cho thấy, lượng enzyme sử dụng càng tăng thì hiệu quả bóc vỏ tiêu càng tốt [14].

Ở nồng độ pectinase 300 ppm, thời gian ngâm ủ khác nhau thể hiện khả năng làm trắng khác nhau. Kết quả khảo sát thời gian xử lý từ 4–24 giờ được trình bày tại Bảng 7. Kết quả cho

Bảng 6. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme ở công đoạn xử lý làm trắng chất lượng tiêu sọ

Chỉ tiêu đánh giá	Nồng độ enzyme (ppm)					Đối chứng
	100	200	300	400	500	
Màu trắng (%)	57,3	68,3	81,2	76,7	71,6	36,8
Màu trắng vàng (%)	18,7	23,4	17,6	22,1	27,9	17,4
Màu đen nhạt (%)	19,5	7,7	0,8	0,7	0,3	37,1
Màu đen (%)	4,5	0,6	0,4	0,5	0,2	8,7
Piperin (%)	6,79 ^b ± 0,04	6,84 ^{ab} ± 0,08	6,95 ^a ± 0,07	6,91 ^{ab} ± 0,07	6,84 ^{ab} ± 0,09	6,81 ^b ± 0,04
Dầu bay hơi (mL/100 g)	2,17 ^a ± 0,75	2,24 ^a ± 0,27	2,25 ^a ± 0,35	2,18 ^a ± 0,56	2,16 ^a ± 0,82	2,17 ^a ± 0,40

Ghi chú: ++: tương nờ chưa hoàn toàn, +++: tương nờ hoàn toàn. H(%): tỷ lệ hạt được bóc vỏ. Các chữ cái khác nhau đi theo sau giá trị hàng ngang chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 0,05.

thấy thời gian xử lý enzyme càng dài thì tỷ lệ hạt màu trắng và màu trắng vàng càng tăng, trong khi đó tỷ lệ hạt màu đen và đen nhạt càng giảm. Theo đó, thời gian xử lý enzyme lần hai cho kết quả tốt nhất ở 20 giờ với tỷ lệ hạt trắng và trắng vàng tương ứng là 68,5% và 30,2%, tỷ lệ hạt đen nhạt và đen thấp (chỉ 1,1% và 0,2%). Kết quả trong Bảng 7 cũng cho thấy hàm lượng piperin và dầu bay hơi ở trong các mẫu thí nghiệm khá ổn định và nằm trong khoảng tương ứng là 6,82–6,93% và 2,12–2,21 mL/100g.

Kết quả xử lý làm trắng tiêu sọ bằng pectinase trong nghiên cứu này cho thấy nồng độ enzyme sử dụng tương đương với nồng độ enzyme mà Phạm Văn Thao và cs. [5] đã công bố (300 ppm) khi sử dụng Rohapect để làm trắng tiêu. Tuy nhiên, thời gian làm trắng trong nghiên cứu này dài hơn (20 giờ) so với thời gian mà Phạm Văn Thao và cs. đã công bố (8 giờ).

Từ các kết quả nghiên cứu trên, tiêu sọ được chế biến từ tiêu đen có sử dụng pectinase với các thông số kỹ thuật quan trọng gồm: nồng độ enzyme 1000 ppm, ngâm ủ hỗn hợp phản ứng ở pH 4, nhiệt độ 45°C trong thời gian 108 giờ sau đó xát vỏ và ngâm ủ làm trắng với pectinase nồng độ 300 ppm trong 20 giờ. Tiêu sọ được sấy ở 55°C đến khi đạt độ ẩm an toàn 12–13%. Tiêu thành phẩm được đóng gói (Hình 1) và kết quả phân tích một số chỉ tiêu chất lượng được trình bày tại Bảng 8.

Bảng 7. Ảnh hưởng của thời gian xử lý enzyme đến màu sắc và chất lượng tiêu sọ

Chỉ tiêu đánh giá	Thời gian xử lý (giờ)					
	4	8	12	16	20	24
Màu trắng (%)	54,6	58,8	62,1	65,4	68,5	67,3
Màu trắng vàng (%)	25,4	29,1	30,7	31,4	30,2	30,9
Màu đen nhạt (%)	14,7	10,7	6,1	2,4	1,1	1,5
Màu đen (%)	5,3	1,4	1,1	0,8	0,2	0,3
Piperin (%)	6,82 ^b ± 0,53	6,88 ^{ab} ± 0,06	6,93 ^a ± 0,44	6,84 ^{ab} ± 0,46	6,87 ^{ab} ± 0,53	6,92 ^{ab} ± 0,87
Dầu bay hơi (mL/100g)	2,13 ^a ± 0,20	2,21 ^a ± 0,46	2,16 ^a ± 0,36	2,19 ^a ± 0,53	2,17 ^a ± 0,60	2,12 ^a ± 0,36



Hình 1. Tiêu sọ thành phẩm

Bảng 8. Một số chỉ tiêu chất lượng của tiêu sọ thành phẩm

TT	Tên chỉ tiêu	Kết quả phân tích	Theo TCVN [13]
1	Độ ẩm	11,52 ± 1,02	Không lớn hơn 12,5
2	Piperin (% khối lượng chất khô)	6,81 ± 0,73	Không lớn hơn 10
3	Hạt đen (% khối lượng chất khô)	0,24	Không lớn hơn 10
4	Dầu bay hơi (% (mL/100g) chất khô)	2,15 ± 0,46	Không nhỏ hơn 0,7
5	<i>Coliform</i> (số vi khuẩn trong 1 g sản phẩm)	KPH	10 ²
6	<i>E. coli</i> (số vi khuẩn trong 1 g sản phẩm)	KPH	0
7	<i>Salmonella</i> (số vi khuẩn trong 25 g sản phẩm)	KPH	10 ²

Ghi chú: KPH là số vi khuẩn không được phát hiện với phép thử được sử dụng

Kết quả phân tích một số chỉ tiêu trong tiêu sọ thành phẩm cho thấy sản phẩm chế biến theo phương pháp đã thể hiện trong nghiên cứu này đạt yêu cầu về chất lượng theo TCVN7037:2002 cả về các chỉ tiêu hóa học và chỉ tiêu vi sinh vật.

4 Kết luận

Nghiên cứu chế biến tiêu sọ từ tiêu đen đã thành công với sự tác động của pectinase Leaflet ở công đoạn bóc vỏ hạt tiêu và làm trắng với các thông số cụ thể ở nồng độ 1000 ppm, ở pH 4, nhiệt độ 45°C trong 108 giờ thì đạt tỷ lệ bóc vỏ khoảng 99,77%. Công đoạn làm trắng được thực hiện ở chế độ tương tự về nhiệt độ và pH của hỗn hợp phản ứng với một số thay đổi gồm nồng độ enzyme 300 ppm và thời gian ngâm ủ 20 giờ để tiêu sọ đạt độ trắng, các chỉ tiêu vi sinh vật theo TCVN7037:2002.

Tài liệu tham khảo

1. Đặng Bá Đản, Bùi Xuân Phong, Lưu Thị Hồng Hạnh, Nguyễn Quang Ngọc, Nguyễn Viết Khoa và Nguyễn Mai Oanh (2018), *Tài liệu tập huấn TOT về kỹ thuật sản xuất hồ tiêu bền vững*, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.
2. Sazzad Hossen Toushik, Kyung-Tai Lee, Jin-Sung Lee và Keun-Sung Kim (2017), Functional Applications of Lignocellulolytic Enzymes in the Fruit and Vegetable Processing Industries, *Journal of Food Science*, 82(3), 585–593.
3. Muhamad Fadzli Ashari, Mohd Danial Ibrahim, Awang Husaini và Azham Zulkharnain (2014), Accelerated Production of White Pepper Using Integrated Mechanical and Enzymatic Solutions in an Automated Machine, *Key Engineering Materials*, 572, 304–307.

4. Nurul S Aziz, Noor-Soffalina Sofian-Seng, Noorul S Mohd Razali, Seng Joe Lim và Wan Aw Mustapha (2019), A review on conventional and biotechnological approaches in white pepper production, *Journal of Science of Food and Agriculture*, 99(6), 2665–2676.
5. Phạm Văn Thao, Phan Thanh Bình, Võ Thị Thùy Dung, Trường Minh Hằng, Trần Thị Thắm Hà và Nguyễn Thị Kim Oanh (2019), Nghiên cứu ứng dụng enzyme Rohapect trong quá trình sản xuất tiêu trắng từ tiêu đen, *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 1(98).
6. Danielle Biscaro Pedrolli, Alexandre Costa Monteiro, Eleni Gomes và Eleonora Cano Carmona (2009), Pectin and Pectinases: Production, Characterization and Industrial Application of Microbial Pectinolytic Enzymes, *The Open Biotechnology*, 2, 9–18.
7. Michael O. Okpara (2022), Microbial Enzymes and Their Applications in Food Industry: A Mini-Review, *Advances in Enzyme Research*, 10(1), 23–47.
8. Tiêu chuẩn Quốc gia (2013), TCVN 9683:2013 về hạt tiêu đen và hạt tiêu trắng nguyên hạt hoặc dạng bột - Xác định hàm lượng peperin-Phương pháp đo quang phổ.
9. Tiêu chuẩn Quốc gia (2013), TCVN 7039:2013, Gia vị và thảo mộc - Xác định hàm lượng dầu dễ bay hơi (Phương pháp chưng cất bằng hơi nước).
10. Bộ Y tế (2017), Phụ lục 12.19 Xác định chỉ số trương nở, in *Dược điển Việt Nam*, Nxb. Y học: Hà Nội.
11. Trần Ngọc Hùng, Trần Thị Ngọc Như và Trương Ngọc Loan (2015), Khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng bóc vỏ của tiêu đen (*Piper nigrum L.*), *Trường Đại học Thủ Dầu Một*, 6(25), 30–34.
12. Le Hong Phu, Le Thi Hong Tuyet, Le Nguyen Quynh Tram và Ngo Huynh The Hai (2013), Study on white peppercorn production by Viscozyme_L and Pectinex Ultra SP-L, *Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc 2013*, 417–420.
13. Tiêu chuẩn Quốc gia (2002), TCVN7037:2002-Hạt tiêu trắng (*Piper nigrum L.*) – Quy định kỹ thuật.
14. Ronghu Zhang, Jiancheng Feng, Zhihao Dou, Hui Xie và Ai He (2015), Optimization of the conditions for pepper soaking peeling by enzymatic method, *Biochemistry: An India Journal*, 9(6), 244–251.