



TALLINNA TEHNICAÜLIKOO
LOODUSTEADUSKOND
KEEMIA JA BIOTEHNOLOOGIA INSTITUUT

Kakaovella alkaliseerimise režiimi määramine ja selle edaspidise kasutamise tehnoloogia väljatöötamine

Magistritöö

Jelizaveta Možeiko

Toidutehnoloogia – ja arendus

Tallinn 2022

Deklareerin, et käesolev lõputöö on minu iseseisva töö tulemus ning kinnitan, et esitatud materjalide põhjal ei ole varem akadeemilist kraadi taotletud.

Kinnitan, et antud töö koostamisel olen kõikide teiste autorite seisukohtadele, probleemipüstitustele, kogutud arvametele jmt viidanud.

Jelizaveta Možeiko

(allkiri ja kuupäev)

Juhendaja: Raivo Vokk, keemia ja biotehnoloogia instituut, emeriitprofessor

Kaasjuhendaja: Katrin Laos, keemia ja biotehnoloogia instituut, dotsent

Töö vastab magistritööle esitatavatele nõuetele.

.....

(allkiri ja kuupäev)

.....

(allkiri ja kuupäev)

Kaitsmiskomisjoni esimees:

Lubatud kaitsmisele

.....

(nimi, allkiri, kuupäev)

Annotatsioon

Magistritöö teema: „Kakaovella alkaliseerimise režiimi määramine ja selle edaspidise kasutamise tehnoloogia väljatöötamine“.

Kakaovella on kakao tootmise üks kõrvalproduktidest, mille väärimine toidutööstuses on huvipakkuv uuringute valdkond. Selle põhjuseks on antud produkti kõrge toiteväärtus ning kakaopulbrile lähedased füüsikalised ja sensoorsed omadused. Samuti on kakaovella perspektiivne toiduaine ka sellepolest, et selle kasutamine toidu tootmises võib tuua ettevõtetele majanduslikku kasu ja vähendada valmisprodukti (näiteks, šokolaadi) omahinda (kui koostisse lisada kakaovellat). Vaatamata kakaovella atraktiivsetele omadustele, tuleb selle kasutamiseks toiduainetes tehnoloogiat arendada. Kakaopulbri näitel on alkaliseerimine hea viis parandada kakaovella lahustuvust, tumendada värvi ja muuta maitseprofiili. Käesoleva magistritöö eesmärk oligi kõigepealt arendada kakaovella alkaliseerimise meetod, millele järgnes sobiliku kakaovella kontsentratsiooni määramine kakaopulbris ilma toodete sensorsete omaduste halvenemiseta.

Katsetöös alkaliseeriti kakaovellat ja kakaopulbrit erinevatel režiimidel ning mõõdeti nende füüsikalisi omadusi. Katsematerjalideks kasutati ettevõttelt Panamir OÜ saadud kakaovellat ja kakaopulbrit. Töös valmistati ka alkaliseeritud kakaovellast ja kakaopulbrit kakaojoogid ja šokolaadid ning viidi läbi nende sensoorne analüüs. Tööst selgus, et õige kakaovella alkaliseerimise režiimi kasutamine ja sobivas kontsentratsioonis konkreetse toote sisse lisamine võib soodustada soovitud tehnoloogiliste eesmärkide saavutamist.

Lõputöö maht on 56 lehekülge, millel on paigutatud 5 joonist ja 16 tabelit. Lõputöö kirjutamisel kasutati 79 kirjanduse allikat.

Võtmesõnad: kakaovella, kakaopulber, alkaliseerimise režiim.

Sisukord

Sissejuhatus.....	5
1 Kirjanduse ülevaade.....	6
1.1 Kakao ajalugu.....	6
1.2 Kakaobade iseloomustus.....	6
1.3 Kakao ja kakaotoodete mõju tervisele.....	7
1.4 Kakaobade töötlemise tehnoloogia.....	11
1.4.1 Esmane töötlemine.....	11
1.4.2 Sekundaarne töötlemine.....	13
1.5 Kakaopulbri alkaliseerimise tehnoloogia.....	16
1.6 Alkaliseeritud kakaopulbri omadused ja koostis.....	18
1.7 Kakaovella: toiteomaduste ja biofunktsionaalsusega kakaopulbri tootmise kõrvalprodukt.....	23
1.7.1 Kakaovella toitumisalane ja keemiline koostis.....	23
1.7.2 Kakaovella biofunktsionaalsus ja potentsiaalne kasu tervisele.....	25
1.8 Kakaovella tänapäevased kasutusala.....	27
2 Eksperimentaalne osa.....	30
2.1 Materjalid ja meetodid.....	30
2.2 Tulemused ja arutelu.....	32
2.2.1 Erinevate alkaliseerimisrežiimide mõju kakaovella värvusele.....	32
2.2.2 Kakaovella ja kakaopulbri segu alkaliseerimine autoklaavis.....	34
2.2.3 Kakaovella ja kakaovella-kakaopulbri segude füüsikalise-keemilised omadused.....	35
2.2.4 Kakaojookide väljatootamine ja sensoorne analüüs.....	38
2.2.5 Šokolaadide valmistamine kakaopulbri ja kakaovella segust.....	42
Järeldused ja soovitused.....	45
Kokkuvõte.....	47
Abstract.....	48
Kasutatud kirjanduse loetelu.....	49

Sissejuhatus

Tänapäeval tekib praktiliselt igas toidutootmise valdkonnas mitmeid kõrvalprodukte ja jäätmeid, mis tavaliselt utiliseeritakse või visatakse ära. Ka kakaoubade töötlemise protsessis tekib mitmed erinevaid kõrvalprodukte, üheks neist kakaoubade kestad ehk kakaovella. Kakaovellal on huvitav koostis ja füüsikalised omadused, mistõttu omab kõrget potentsiaali edaspidiseks kasutamiseks toidutööstuses. See on kõrge toiteväärtusega, mistõttu sobib inimestele heaks toitaineliseks ja võimaldab hoida inimese tervist. Lisaks on kakaovella kasutamisel toidutööstuses veel üks oluline eelis: see võimaldab vähendada tootmiskulusid ja alandada lõplikku toote omahinda, mis on tõenäoliselt huvipakkuv aspekt igale toidu tootjale. Kakaovella alkaliseerimine on samasuguse tähtsusega kui kakaopulbri alkaliseerimine, kuna see aitab saavutada parima kakaovella sisalduva toote värvi, parandada lahustuvust ja tekitada uusi maitseid.

Antud töö aktuaalsus seisneb eelkõige selles, et hetkel pole Eestis ühtegi kakaovellat sisaldavat toiduainet, mistõttu on kakaovella toidus kasutamise tehnoloogia arendamine uudne ja perspektiivne suund. Samuti on inimeste seas viimastel aastatel kasvanud tendents tarbida rohkem „funktsionaalset“ toitu ja kakaovellat sisaldav toode on üks näide sellisest toidust. Käesoleva lõputöö eesmärgiks on leida optimaalsed alkaliseerimise meetodid kakaovella väärindamiseks ja kakaopulbri kvaliteedi tõstmiseks. Eesmärgist lähtuvalt oli käesoleva magistr töö ülesanneteks:

1. Uruda kakoubade ja kakaovella kohta ilmunud teaduskirjandust
2. Teostada kakaovella ja kakaopulbri alkaliseerimine erinevatel tingimustel ning määrata nende värvus, pH ja osakeste suurus
3. Välja töötada optimaalne kakaovella alkaliseerimise režiim tuginedes läbiviidud uuringutele
4. Arendada alkaliseeritud kakaovellat sisaldavate kakaojookide ja šokolaadide retseptid ning viia läbi nende sensoorne analüüs

1 Kirjanduse ülevaade

1.1 Kakao ajalugu

Kakaod on tarvitatud juba enne meie ajaarvamist ning tõendeid selle kasutamise ja kasvatamise kohta on leitud kõikjal maailmast, kus on kõrge õhuniiskus, soe kliima (25 – 27 °C) ja kõrgus üle 600 m merepinnast – alates ekvatoriaalsest Kesk- ja Lõuna-Ameerikast kuni Aafrika ja Indoneesiani (Mc Gee, 2004; Grivetti, 2011; Beckett, 2008). Tänu kakao looduslikule päritolule on šokolaadi leiutamise kohta mitmeid alternatiivseid stsenaariume (Coe, 2007; Mc Gee, 2004; Grivetti, 2011). Ühes neist leiutati šokolaad esimest korda Amazonase läänepoolsetes piirkondades umbes 3000 aastat tagasi (Henderson, 2007). Veel räägitakse, et kakaotaimi hakati esmalt kasvatama piirkondades, mis hõlmasid Lõuna-Mehhiko, Põhja-Guatemala ja Belize'i tänapäevaseid osariike. Mõlemal juhul muutus kakao väga kiiresti oluliseks kaubaks, saades kohalikule majandusele nii oluliseks, et oad jaotati kaheks: valuutana kasutati parima kvaliteediga ube, mida nimetati *quauhcacahuatl*iks, samas kui madalama kvaliteediga ube *talcacahuatl* kasutati vahutavate jookide valmistamiseks, mida mõnikord maitsestati aromaatsete lillede, vanilje, tšilli, mee ja muude komponentidega (Grivetti, 2011; Mc Gee, 2004).

Kaasaegse šokolaadi väljatöötamisel osutus vajalikuks ka van Houteni poolt leiutatud pressiga ekstraheeritud puhas kakaovõi. Hiljem lisati tavalisele jahvatatud kakaoubade pastale suhkrut (1847. aastal), saades nii rikkaliku maitsega, suussulava ja tahkelt söödava šokolaadi (McGee, 2004). Hiljem, 1876. aastal, aitasid šokolaadi atraktiivsusele kaasa kaks edasist arengut. Esiteks kasutas Šveitsi kondiiter Daniel Peter äsja väljatöötatud kuivatatud piimapulbrit esimese tahke piimašokolaadi valmistamiseks. Teiseks leiutas 1878. aastal teine Šveitsi tootja Rodolphe Lindt konšeerimismasina, mis jahvatas aeglaselt kakaoube koos piimapulbri ja suhkruga tundide, mõnikord isegi päevade jooksul. See aitas välja töötada palju peenema konsistentsi, kui oli varem võimalik ja mis meenutab tänapäeva šokolaaditahvleid (Gibson, 2018).

1.2 Kakaoubade iseloomustus

Kakao on üks levinumaid ja tuntumaid tooteid kogu maailmas. Värvus ja maitse, mida see toitule annab, koos funktsionaalsete ühendite rikkuse ja tervisele kasulike omadustega muudavad kakao tarbijate poolt hästi hinnatud toiduks, tööstuse jaoks oluliseks koostisosaks ja erakordseks uurimisallikaks teadlastele (García, 2020).

Kakaoubasid saadakse kakaopuu *Theobroma cacao* (Linnaeus) viljadest. *Theobroma cacao* L. puu on Malvaceae perekonna liik, mis on pärit Kesk- ja Lõuna-Ameerikast. Kakaopuu on varju armastav taim, mille kõrgus võib ulatuda 4 – 10 meetrini. *Theobroma cacao* L. hakkab vilju kandma enamasti kolmeaastasena ja saavutab maksimaalse saagikuse ja tootlikkuse 8 – 9 aasta pärast. Vili areneb kakaopuu tüvel ja okstel. Botaaniliselt peetakse kakaokauna marjataliseks viljaks ja selle pikkus on

15 - 25 cm ja läbimõõt 8 - 13 cm. Kaun sisaldab küpsedes 20 - 40 kakaouba, mida katab limane viljaliha. Kakaoad ja viljaliha eraldatakse kakaokaunast ja kasutatakse šokolaadi tootmise toorainena (Vásquez, 2019). Kakaopuu kasvatamiseks ja ubade tootmiseks on vaja troopilist kliimat, temperatuur peaks jääma vahemikku 18 – 32 °C, kasvamise kõrgus alla 400 m, sademete hulk aastaringelt püsiv ja õhuniiskus kõrge (70 – 90%) (Ohene, 2016).

Kakaopuu *Theobroma cacao* L. peamised sordid on (Ohene, 2016):

- *Forastero*, pärit Amazona piirkonnast;
- *Criollo*, kasvatatakse harva, kuna on vastuvõtlik haigustele;
- *Trinitario*, mis on *Forastero* ja *Criollo* hübriid;
- *Nacional*, peene maitsega, kasvatatakse Ecuadoris.

Theobroma cacao L. kakaopuult korjatud kakaokaunadest saab erinevaid looduslikke tooteid nagu kakaoatükke ehk „nibsid“, kakaoubademassi, kakaovõid ja -pulbrit. „Kakaonibsid“ on kooritud ja kääritatud kakaoatükid, mis on kakao esmase tootmisahela üheks lõpp-produktiks. Pärast „nibside“ saamist peenestatakse need ühtlaseks pastaks, mida nimetatakse kakaoubademassiks. Viimast kasutatakse šokolaadi, jäätise, pagaritoodete, jookide ja magustoitade valmistamiseks. Lisaks sellele võib kakaoubademassi pressida koogiks (tahke osa, mille jahvatamisel saadakse kakaopulber) ja kakaovõiks (õline osa). Šokolaadi tootmiseks kasutatakse kakaovõid koos kakaoubademassi ja suhkruga ning seda kasutatakse nii kondiitri-, pagari- kui ka kosmeetikatoodetes (Beg, 2017).

1.3 Kakao ja kakaotoodete mõju tervisele

Kakaoad on väga toitvad, need koosnevad peamiselt rasvast (55,4%) ja süsivesikutest (28,6%) ning valkudest (12,7%). Kakaoad sisaldavad rikkalikult teobromiini, polüfenoole, mineraalaineid (sh kaltsium, raud, kaalium, magneesium, naatrium ja fosfor) ja vitamiine A, B₁, B₂, B₃ ja B₆ (Gibson, 2018; Nutridata Toidu Koostise Andmebaas, 2021).

Kõrge polüfenoolitaseme tõttu on kakao pälvunud toitumis- ja farmakoloogilisest seisukohast suurt tähelepanu. Sel on antioksidantne, kardioprotektiivne, neuroprotektiivne ja kemopreventiivne potentsiaal (Andújar, 2012).

Antioksidantne potentsiaal

Kakao polüfenoolidel on tugevad antioksidantsed omadused. Kakaoubade antioksidantne toime portsjoni kohta on suurem kui punasel veinil või mustal või rohelisel teel (Jolic', 2011) ning polüfenoolide ja flavonoidide üldsisaldus on umbes 611 mg gallushappe ekvivalenti ja 564 mg epikatehiini ekvivalenti 100 grammi kohta (Jahurul, 2012). *In vitro* eksperimentaalsed uuringud on tõestanud, et kakao polüfenoolid püüavad kinni reaktiivseid aineid, näiteks 2,2-difenüül-1-pikrüülhüdrasüül (DPPH), 2,2'-asino-bis (3-etuülbenstiasoliin-6-sulfoonhape; ABTS), superoksiidide radikaalid, hüpoklorit ja peroksünitriti anioonid; pärsivad lipiidide peroksüdatsiooni ja kelaativad vabu prooksidantseid metallioone (Fe²⁺, Cu⁺) (Andújar, 2012).

Puhastatud kakao flavanoolid inhibeerivad ultraviolettkiirguse C-indutseeritud oksüdatiivset DNA kahjustust, olles sama tõhusad kui glutatioon, α -tokoferool ja vitamiin C. Rottidel on teatatud DNA ja glutatiooni oksüdatsiooni vähenemisest, kui toitu lisati pidevalt 2% kakaopulbrit. Inimestel suurendavad flavanoolirikkad kakaotooted kogu plasma antioksidantide võimet ja vähendavad annusest sõltuvalt plasmas tiobarbituurhappega reageerivate ainete kontsentratsiooni (Keen, 2005). Randomiseeritud risturingus näidati, et rasvunud täiskasvanutel, kellel oli risk insuliiniresistentsuse tekkeks, alandas kakaojookide tarbimine, mis sisaldas keskmise annusena 400 mg flavanoole päevas 5 päeva jooksul, 8-isopropaanide, *in vivo* lipiidide peroksüdatsiooni markerite kogutaset ja põletiku biomarkeri C-reaktiivse valgu kontsentratsiooni plasmas (Aprotosoaie, 2016). Teised autorid aga ei tuvastanud tervetel vabatahtlikel oksüdatiivse stressi biomarkerite muutusi (Arranz, 2013). Võimalik, et kakao kasulikud mõjud on enam väljendunud oksüdatiivse stressi või redoks-homöostaasi häirete tingimustes, nagu vananemine, suitsetamine, toitumisvaegus ja patoloogiline seisund. Sellega seoses oleks vaja uurida erinevaid elanikkonnarühmi, et mõista paremini kakao tarbimise mõju oksüdatiivse stressi biomarkeritele. Antioksidantide uuringute kriitiline probleem on ka asjaolu, et *in vitro* antioksidantide võime ei pruugi olla otseselt seotud *in vivo* antioksidantse toimega. On palju tegureid (kakaopolüfenoolide imendumine ja biosaadavus, teiste organismi redoksseisundit mõjutavate komponentide olemasolu ja toidumaatriks), mis aitavad kaasa üldisele tarbimisjärgsele antioksidantsele toimele (Aprotosoaie, 2016).

Mõju vererõhule

Mitmed uuringud spontaanselt hüpertensiivsete rottidega (SHR) on näidanud, et kõrge protsüanidiinide sisaldusega kakaopulbri ühekordne suukaudne manustamine vähendab vererõhku. Erinevad epidemioloogilised uuringud ja mitmed lühiajalised randomiseeritud sekkumisuuringud (sekkumise kestus varieerub 2 – 18 nädalat ja flavanoolide ööpäevane tarbimine on 30 – 1000 mg) on näidanud, et kakao/tumeda šokolaadi tarbimisel on antihüpertensiivne toime, mis vähendab süstoolset, diastoolset ja keskmist vererõhku normotensiivsetel isikutel ning ka prehüpertensiivsetel ja hüpertensiivsetel patsientidel, kellel on või puudub glükoositalumatus (Aprotosoaie, 2016; Arranz, 2013). Kõrge flavanoolisisaldusega kakaopõhiste jookide tarbimine nõrgendab vererõhu reaktsiooni treeningule. 10-nes randomiseeritud kontrollitud uuringu metaanalüüsis jõuti järeldusele, et polüfenoolirikaste šokolaadi- ja kakaotoodete lühiajaline tarbimine on seotud statistiliselt olulise süstoolse (-4,5 mm Hg) ja diastoolse (-2,5 mm Hg) vererõhu langusega (Desch, 2009). Hüpertensiivsetel patsientidel võib selliseid väärtusi pidada kliiniliselt oluliseks kontekstis, kus hinnanguliselt vähendab süstoolse vererõhu langus 5 mm Hg võrra kardiovaskulaarsete haiguste riski 5 aasta jooksul ligikaudu 20% (Aprotosoaie, 2016). Kakao mõju vererõhule võib olla tugevam noorematel isikutel, kuna nende vaskulaarne reaktiivsus füsioloogilistele stiimulitele on kõrge (Arranz, 2013).

Vaatamata sellele, et paljud teaduslikud aruanded on näidanud kakaopolüfenoolide efektiivsust vererõhu alandamisel, selgitades mõningaid selle toimega seotud mehhanisme, nende kliiniline kasutatavus antihüpertensiivsete ainetena ei ole kaugeltki selge. Olemasolevad andmed näitavad mõningaid kriitilisi punkte: katsed väikese arvu subjektidega, uuringute erinev hindamiskvaliteet, polüfenoolide ja/või šokolaadi annuste lai valik ning uuringute oluline statistiline heterogeensus (Aprotosoaie, 2016). Kakao antihüpertensiivse toime ja nende kliinilise kasutatavuse kinnitamiseks on

vaja rohkem pikaajalisi, suuri, randomiseeritud, kontrollitud, ristuvaid ja mitmeannuselisi uuringuid (Lippi, 2008; Arranz, 2013). Kakaotoodete flavanoolisisaldus ja koostis tuleb hoolikalt täpsustada, samuti ka teiste komponentide, nagu rasvad, suhkrud ja piimavalgud, kontsentratsioonid (Lippi, 2008).

Metaboolne toime

Madala tihedusega lipoproteiinide (LDL) oksüdatsiooni peetakse ateroskleroosi arengu võtmeetapiks, kuna oksüdeeritud LDL muutub vastuvõtlikumaks arterite seinas asuvate makrofaagide omastamisele. Loomkatsed näitasid, et kakaopulbrist saadud polüfenoolirikaste fraktsioonide manustamine suurendab LDL-i vastupidavust oksüdatsioonile ja pärsib aterosklerootiliste naastude teket hüperkolesteroleemilistel küülikutel. Tervete inimestega läbi viidud uuringud on samuti näidanud, et igapäevane kakaopulbri tarbimine (13 g/päevas) vähendab LDL-kolesterooli taset ja LDL-i vastuvõtlikkust oksüdatsioonile ning tõstab HDL-kolesterooli taset (Aprotosoia, 2016).

Samuti parandab kakao tarbimine hüperkolesteroleemiaga patsientide lipiidide profiili ja tumeda šokolaadi tarbimine vähendab seerumi LDL-kolesterooli taset hüpertensiivsetel patsientidel (Arranz, 2013). Vaatamata suurele rasvasisaldusele ei näi kakao endal olevat lipiidide ainevahetusele soovimatut mõju, kuid tõsiasi, et paljud šokolaaditooted sisaldavad piima või töödeldud rasvu, viitab sellele, et nendel lisanditel võib olla lipiidide profiilile ebasoodne mõju. Kakao mõju LDL-i oksüdatsioonile on omistatud vabu radikaale püüdvatele omadustele, metallioonide kelaatimise võimele või LDL-i pinna muutustele, mis soodustavad LDL-i oksüdatiivse tundlikkuse vähenemist (Aprotosoia, 2016). Kakao flavanoolide HDL-kolesterooli suurendav toime võib olla tingitud mitmete lipiidide metabolismi (steroole reguleerivaid elemente siduvad valgud), kolesterooli homöostaasi, HDL-i metabolismi (ATP-siduva kasseti transporter) reguleerimises osalevate sihtmärkide ekspressiooni suurenemisest (Sarriá, 2015).

On ka uuringuid, mis näitavad kakao tarbimise neutraalset mõju seerumi üldkolesterooli ja LDL-kolesterooli tasemele tervetel isikutel, samas kui teised on jõudnud järeldusele, et tumeda šokolaadi või kakaotoodete tarbimine 2 – 12 nädala jooksul ei avalda statistiliselt olulist mõju HDL-ile ja triglütseriididele. Erinevused uuritavate patofüsioloogilises seisundis, polüfenoolide kontsentratsioonis, uuringu kestuses ja kakaotoodete koostises võivad neid erinevusi seletada. Kakao optimaalse koguse hindamiseks lipiidide profiili parandamiseks on vaja täiendavaid pikaajalisi uuringuid (Arranz, 2013).

Põletikuvastane toime

Krooniline põletik on tugevalt seotud aterogeneesiga. *In vitro* uuringud on näidanud, et kakaopolüfenoolid võivad moduleerida tsütokiine, mis on seotud põletikulise vastusega. Mõõdukas kakaotoodete tarbimine on seotud põletikuvastase toimega: seega oli katsealustel, kes tarbisid iga 3 päeva järel 20 g tumedat šokolaadi, madalam seerumi C-reaktiivse valgu tase kui mittetarbijatel või suurtarbijatel (Aprotosoia, 2016).

Trombotsüütide vastane aktiivsus

Trombotsüütide düsfunktsioon mängib olulist rolli ateroskleroosiliste haiguste, nagu äge müokardiinfarkt, insult ja perifeersetes arterites oklusioon, tekkes. Flavanolirikaste kakaojookide tarbimine on seotud olulise trombotsüütide vastase toimega, mida on võimalik saavutada 600 ja 900 mg flavanoolide annustega. Protsüanidiinirikka šokolaadi (148 mg protsüanidiinide) suur tarbimine alandab oluliselt leukotrieenide taset ja tõstab prostatsükliini taset võrreldes madala protsüanidiinisisaldusega šokolaadi (3,3 mg) tarbimisega (Schramm, 2001). Neid mõjusid võib seletada eikosanoidi metabolismi moduleerimisega trombotsüütides ja plasma leukotrieni prostatsükliini suhte, membraani voolavuse, membraaniretseptori funktsiooni ja rakusisese signaaliülekanne muutustega (Aprotosoiaie, 2016).

Kemoprofülakтика

Kakao, kakaotoodete ja kakaopolüfenoolide kemopreventiivset potentsiaali on uuritud paljudes *in vitro* ja *in vivo* uuringutes. Rakukultuuri uuringud keskendusid kantserogeensete omaduste hindamisele ja molekulaarsete mehhanismide selgitamisele, samas kui *in vivo* vähktõve ennetavat toimet demonstreeriti erinevates kantserogeneesi loomudelites või inimeste sekkumis- või epidemioloogilistes uuringutes (Martin, 2013). Rakukultuuride uuringuid viidi läbi erinevate vähirakuliinidega, mis näitasid, et kakaoekstraktidel ja kakaopolüfenoolidel on antioksüdantne, põletikuvastane, pro-apoptootiline, antiproliferatiivne, antiangiogeneetiline ja antimetastaatiline toime (Aprotosoiaie, 2016).

Vähiennetust kakaopolüfenoolidega on uuritud erinevatel kantserogeneesi loomudelitel, sealhulgas: rinnanäärme, kõhunäärme, kopsu, kilpnäärme, eesnäärme, leukeemia, maksa ja kolorektaalvähi puhul. Loomkatsetes saadud tulemuste ekstrapoleerimine inimestele on aga äärmiselt keeruline, seetõttu kavandati palju inimestel läbiviidud sekkumis- ja epidemioloogilisi uuringuid. Üldiselt on mõned neist uuringutest leidnud pöördvõrdelise seose kakao polüfenoolide tarbimise ja teatud vähivormide vahel, samas kui teised ei ole näidanud kakaotarbimise kasuliku mõju vähi esinemisele (Aprotosoiaie, 2016).

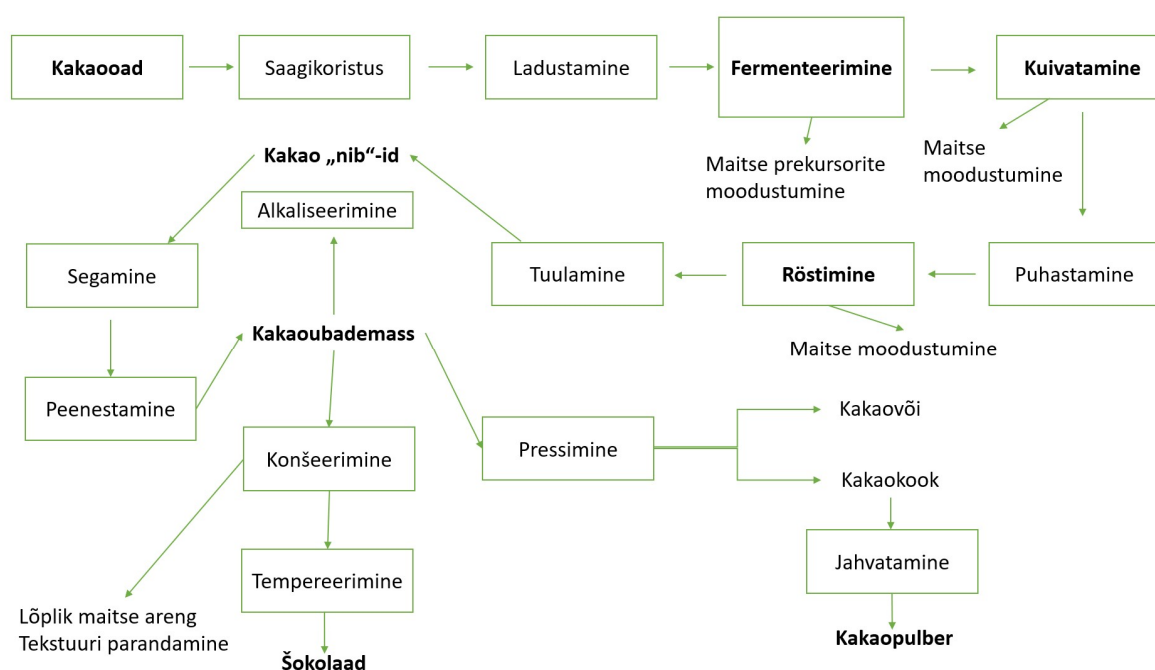
Neuroproteksioon

Ekspimentaalsed andmed viitavad sellele, et kakaopolüfenoolidel on neuroprotektiivne, neuromoduleeriv ja regenereeriv toime, mis on kasulik vananemise ja neurodegeneratiivsete haiguste vastu. Nad läbivad hematoentsefaalbarjääri, suurendavad aju verevoolu ja stimuleerivad aju perfusiooni, vähendavad ajuturset, soodustavad neuronite ellujäämist ja sünaptilist plastilisust ning parandavad neuronite funktsiooni ning erinevaid visuaalseid ja kognitiivseid ülesandeid (Mc Shea, 2008; Nehlig, 2013).

Mitmed inimuuringud on näidanud, et toiduga saadud flavanolirikka kakao tarbimine oli korrelatsioonis aju verevoolu kiiruse suurenemisega, tunnetuse, õppimise, mälu, meeleolu paranemisega ja nägemisega, vananemisest või Alzheimeri tõvest tingitud kognitiivse languse leevendamise ning insuldi esinemissageduse vähendamise (Aprotosoiaie, 2016).

1.4 Kakaoubade töötlemise tehnoloogia

Pärast koristamist läbivad kakaoad keerulise töötlemise, mis muudab nende esialgseid keemilisi ja füüsikalisi omadusi kakaole iseloomuliku maitseomaduste suurendamiseks ja šokolaadi maitse saamiseks (Mc Shea, 2008). Esmane töötlemine hõlmab fermenteerimise ja kuivatamise etappe. Sekundaarne töötlemine muudab kakaoad valmistoodeteks ja hõlmab röstimist, alkaliseerimist ja konšeerimist (Joonis 1) (Aprotosoiaie, 2016).



Joonis 1. Kakaoubade töötlemise üldine skeem (Aprotosoiaie, 2016; Caligiani A. M., 2016)

1.4.1 Esmane töötlemine

Fermenteerimine

Fermenteerimine on kakaoubade töötlemise võtmeetapp, mis määrab ubade omaduste muutumise ning soodustab viljaliha eemaldamist ja sellele järgnevat kuivatamist. Käärimise käigus käivitatakse maitse lähteainete moodustumine, kibeduse ja kootavuse vähenemine, samuti värvuse kujunemine (Afoakwa, 2008). Käärimisprotsess algab anaeroobse faasiga, mis toimub esimese 24–36 tunni jooksul pärast koristamist ja kaunade avamist. Selles faasis puutuvad oad ja viljaliha kokku paljude mikroorganismidega. Kakao kääritamise mikroobne ökoloogia hõlmab erinevaid organisme: pärmseened, bakterid (piimhappe- ja äädikhappebakterid, *Bacillus* liigid) ja niitseened. Peamised käärimise kontrolliga seotud liigid on: *Hanseniaspora guilliermondii*, *Pichia kudriavzevii*,

Kluyveromyces marxianus pärmseened, *Lactobacillus plantarum*, *L. fermentum* piimhappebakterid ning *Acetobacter pasteurianus* ja *Gluconobacter frateurii* (Ho, 2013). Happelisest viljalihast (pH alla 4) pärinevad suhkrud (sahharoos, glükoos ja fruktoos) läbivad alkoholkäärimise, mida katalüüsivad pärmid, tekitades seega etanooli. Mõned pärmseened käivitavad tselluloosirikastes rakuseintes oleva pektiini lagunemise, mis soodustab õhutamist (Aprotosoae, 2016). Mikroobne aktiivsus määrab struktuurimuutused, mis aitavad kaasa ensüümide ja substraatide sektsioonide eemaldamisele, hõlbustades raku koostisosade liikumist (Afoakwa, 2008).

48 – 96 tunni pärast pärsib pärmi aktiivsust segamisel õhu juurdepääs, alkoholi kontsentratsiooni ja pH tõus (sidrunhappe vähenemise tagajärjel, mis kuulub ära pärmi ainevahetuses), mis käivitab piimhappebakterite kasvu. Viljasuhkrute kääritamisel tekib piimhape, äädikhape, etanool ja süsihappegaas. Teise faasi lõpupoole asenduvad piimhappebakterid äädikhappebakteritega, mis vastutavad etanooli oksüdeerumise eest äädikhappeks. Kõik selles faasis toimuvad protsessid on eksotermilised ja soojendavad kakaomassi temperatuurini 45 °C kuni 52 °C, mida peetakse maitse arendamiseks hädavajalikuks. Äädikhappebakterid mängivad võtmerolli maitse lähteainete moodustumisel. Mõned mikroobide ainevahetuse lõpp-produktid (äädikhape) difundeeruvad ubade sisse ja põhjustavad idulehtede surma (Aprotosoae, 2016). Substraadi ammendumise tagajärjel äädikhappe tootmine lakkab ja äädikhappe edasine oksüdeerimine viib massi pH aeglase tõusuni kuni umbes 5-ni. Endogeense happe optimaalseks proteaaside aktiivsuseks on vajalikud pH väärtused 3,8 ja 5,8, mis osalevad oavalkude lagundamisel ja erinevate maitse-prekursorite tekkes (Afoakwa, 2008; Ho, 2013) . Kakaomassi pH väärtus, kuumus ja kakaomassi kõrge aeratsioon kääritamise hilises faasis on sageli seotud aeroobsete eoseid moodustavate bakterite arvu suurenemisega. Kui fermentatsioon kestab liiga kaua, võivad need bakterid ja soovimatute hallitusseente kasv põhjustada mõningate kõrvalmaitsete teket (Schwan, 2004).

Fermentatsiooni käigus toimuvad keerulised biokeemilised reaktsioonid, mis tekitavad selliseid kakao maitse lähteaineid nagu redutseerivad suhkrud ja lämmastikuühendid. Lõhna- ja maitseainete lähteainete kontsentratsioonid ja suhe kääritamise lõpus on ubade röstimise ajal lenduvate lõhnaainete optimaalseks arenguks üliolulised. Anaeroobses faasis hüdrolüüsitakse sahharoos osaliselt redutseerivateks suhkruteks, valgud proteolüüsitakse peptiidideks ja aminohapeteks ning polüfenoolid hüdrolüüsitakse ja oksüdeeritakse. Aeroobset faasi iseloomustavad oksüdatiivsed ja kondensatsioonireaktsioonid, nagu valgu-polüfenooli komplekside oksüdatsioon ja karbonüülaminokondensatsioon, mis vähendavad kootavust. Samuti toimuvad fermentatsiooni käigus värvimuutused ja need mõjutavad kakao lõplikku maitset (Afoakwa, 2008). Kääritamata kakaoad on tumehalli värvusega ja kootavad, kuid täielikult kääritatud oad on pruunid polüfenooloksüdaasi poolt katalüüsitud ensümaatilise pruunistumise tõttu (Caligiani, 2007; Aculey, 2010). Osaliselt kääritatud oad on lillat värvi ning nende maitseprofiil on kibe ja karm. Nende edasine töötlemine põhjustab lõpptootes maitse kadumise (Caligiani, 2007).

Kääritamist mõjutavad paljud tegurid, nagu meetod, kestus, kiirus, kaunade säilitamine ja kakaoubade genotüüp, mis põhjustavad olulisi erinevusi kakao kvaliteedis (Afoakwa, 2011; Aprotosoae, 2016). Platvormid, kuhjad, korvid, kandikud ja kastid on ühed enimkasutatavad kääritamismeetodite viisid (Guehi, 2010). Kuhjameetod pakub ühtlasema kääritamise tõttu paremat kakao kvaliteeti kui kastimeetod (Guehi, 2010). Veelgi enam, kastimeetod mõjutab oluliselt pH väärtust ning tanniinide ja suhkrute sisaldust, aga ka lillade ubade sisaldust. Platvormi meetodil on madal käärimiskiirus ja seda saab adekvaatselt rakendada *Criollo* ubadele, mis nõuavad vaid lühikest kääritamist (2 või 3 päeva).

Seepärast ei saa seda kasutada *Forastero* kultivaril, mis nõuab pikemat kääritamist (5 – 8 päeva) (Aprotosoiae, 2016). Käärimise kestus mõjutab pH-d ja temperatuuri fermentatsiooni ajal, mõjutades ensümaatilisi protsesse. Kuna aminopeptidaasid, invertaas ja polüfenooloksüdaasid on oluliselt inaktiveeritud, on karboksüpeptidaas osaliselt inaktiveeritud ning endoproteaas ja glükosüdaasid jäävad aktiivseks. Näiteks, kui pH muutub liiga vara happeliseks, inaktiveeritakse mõned neist ensüümidest ja maitse lähteainete hulk väheneb märkimisväärselt (Camu, 2008). Erinevatel kakaoubade genotüüpidel on erinev ensümaatiline aktiivsus. Oli analüüsitud 10 kakaoubade genotüüpi, näidates, et nende ensüümi aktiivsuses on olulisi erinevusi (Hansen, 2000). Kõige selgemad erinevused leiti genotüüpide PA7 (kõrge kakaomaitse) puhul, millel oli kõrgeim endoproteaasi ja aminopeptidaasi aktiivsus, ning UIT1 (madala kakao maitsega), millel oli madalaim endoproteaasi, aminopeptidaasi ja karboksüpeptidaasi aktiivsuse tase (Aprotosoiae, 2016).

Ülekääritamist iseloomustab kõrgeenenud pH väärtus ja ubade märgatav tumenemine või mustaks muutumine, 6-päevast käärimisperioodi peetakse optimaalseks maitse-eelainete tootmiseks (Aprotosoiae, 2016)

Kuivatamine

Kuivatamisetapis vähendatakse ubade niiskusesisaldust optimaalseks, umbes 7 – 7,5%-ni, et vältida ülekäärimist, hallitusega saastumist ja ubade kahjustamist ladustamise ajal. See faas mängib olulist rolli ka kibeduse, kootavuse ja happesuse vähendamisel, samuti iseloomuliku maitse ja pruuni värvuse kujunemisel (Afoakwa, 2008; Aprotosoiae, 2016). Käärimise käigus alanud oksüdatiivsed protsessid jätkuvad ka kuivatamisetapis. Endiselt aktiivsed polüfenooloksüdaasid katalüüsivad polüfenoolide muundumist kinoonideks, mis seejärel kondenseeruvad edasi vabade amino- ja sulfhüdrüülrühmadega, mille tulemuseks on pruunid polümeerid (Aprotosoiae, 2016). Kuivatusmeetoditest eelistatakse päikese käes kuivatamist, kuna see annab rohkem väljendunud šokolaadimaitse (Afoakwa, 2008). Kunstlik kuivatamine võib põhjustada kõrvalmaitseid, nagu suitsune, kummi- või bensiniinoodid (Bernaert, 2012). Kuivatatud kakaooad on parima maitseprofiiliga, vähese hapukuse, mõruduse ja kootavusega (Aprotosoiae, 2016). Hästi kuivatatud kvaliteetsed oad tunneb ära nende pruuni värvuse, vähese kootavuse ja vähese mõruduse järgi ning ka kõrvalmaitsete puudumise järgi, nagu suitsused noodid ja liigne happesus. Mittetäielik kuivatamine ja vihmast ligunemine tekitavad tugeva lõhnaga karbonüülühendite kõrge kontsentratsiooni ja lõhnavad kõrvalmaitseid (Afoakwa, 2008).

1.4.2 Sekundaarne töötlemine

Röstimine

Pärast fermenteerimist ja kuivatamist jätkub kakaoubade töötlemine puhastamise, segamise, termilise eeltötluse, tuulamise ja röstimisega. Tuulamise käigus eraldatakse purustatud ja sõelutud kakaoubadelt idulehed ehk kestad ja saadakse "kakaonibsid" (Aprotosoiae, 2016). Kakaoubade röstimine on ubade töötlemise kõige olulisem etapp. Röstimisel kujuneb välja ubade tüüpiline rösti- ja šokolaadimaitse ning spetsiifiline tekstuur, eemaldatakse soovimatud lenduvad ained (äädikhape)

ning niiskusesisaldus väheneb 1 – 2%-ni (Aprotosoae, 2016). Röstimine mõjutab polüfenoolide reaktsiooni valkudega, mis põhjustab kootavuse vähenemist (Jati, 2005; Ioannone, 2014). Maitse prekursorid (vabad aminohapped, oligopeptiidid ja redutseerivad suhkrud) osalevad Maillardi mitteensümaatilise pruunistamise reaktsioonides (Mc Shea, 2008). Aminohapete vabad aminorühmad reageerivad glükoosi ja fruktoosi reaktiivsete karbonüülrühmadega (Jumnongpon, 2012). Esimeses etapis tekivad Schiffi alused (glükosüülamiinid ja fruktosüülamiinid), mis läbivad edasise tautomerisatsiooni 1,2-enaminoolideks ja muutuvad Amadori ühenditeks 1-amino-1-desoksü-2-ketoosideks (Aprotosoae, 2016). Järgmises faasis lagunevad need aminoühendid happelistes tingimustes 3-desoksüheksuloosiks, mis seejärel kaotavad vett, tekivad hüdroksümetüülfurfuraalid ja muud furfuraali produktid. Aluselise või neutraalse pH korral saadakse 2,3-eendiool ja dehüdroreduktooni vaheühendid, mis toovad kaasa maltooli, isomaltooli ja α -dikarbonüülühendeid. α -dikarbonüülühendite edasine lagunemine (dehüdratsioon, fragmenteerimine ja transamiinimine) väiksemateks aldehüüdideks ja ketoonideks on kakao maitse väljatöötamiseks hädavajalik. Teine oluline tee on Streckeri lagunemine, mis viib kas lenduvate aldehüüdideni või lenduvate pürasiinide ja muude heterotsükliiliste ühenditeni (Aprotosoae, 2016; Afoakwa, 2008). Keerulised reaktsioonijärjestused, mis algavad 2,3-enaminoolist ja hõlmavad Streckeri lagunemisjärjestuses teist aminohapet, tekitavad pürroole ja püridiine, mis arvatavasti polümeriseerivad pruunideks melanoidiini pigmentideks (Aprotosoae, 2016).

Biogeensed amiinid on oluline röstimise käigus moodustunud ühendite klass. Need ei ole lenduvad, seega ei aita kaasa kakao ja kakaotoodete maitsele, kuid neil on pärast tarbimist oluline mõju inimorganismile. Röstitud kakaoubades on leitud mitu biogeenset amiini ning täheldati, et need ühendid andsid kõrgeima kontsentratsiooni kõrgeimal temperatuuril ja kõrgendatud õhuniiskusega röstimisel (Aprotosoae, 2016). Kõige olulisemad uuritud biogeensed amiinid olid 2-fenüületüülamiin, türamiin, trüptamiin, serotoniin ja dopamiin. Eeldatakse, et need tekivad aminohapete dekarboksüülimisel või Streckeri lagunemise käigus tekkivate ketoonide ja aldehüüdide amiinimisel ja transamiinimisel. Röstimisel kasutatakse sageli kolme meetodit: tervete ubade röstimine, oatükkide röstimine ja kakaoubademassi röstimine (Aprotosoae, 2016). Optimaalsed röstimisparameetrid sõltuvad toorainest, kakaosordist või soovitud maitsetüübist (Nazaruddin, 2006). Üldiselt arvatakse, et hea maitsekvaliteet on positiivses korrelatsioonis kõrge röstimisastmega ainult kuni üleröstimispunktini (Saltini, 2013). Röstimisaeg on 5 – 120 minutit (tavaliselt 10 – 35 minutit) ja röstimistemperatuur 110 – 160 °C (tavaliselt 120 – 140 °C). Üleröstimine (üle 160 °C) põhjustab kõrbenud maitse ja kõrvalmaitsete teket (Aprotosoae, 2016).

Kakaoubademassi tootmine

Röstitud kakaotükid jahvatatakse, et purustada rakuseinad ja eraldada kakaovõi. Saadud toode on homogeenne voolav kakaopasta, mida nimetatakse kakaoubademassiks ja mis sisaldab umbes 55% rasvu. Parema dispergeeritavusega kakaoubademassi saamiseks võib kakaotükke alkaliseerida: röstitud kakaoubade tükke töödeldakse lahjendatud leeliselahusega temperatuuril 75 – 100 °C, seejärel neutraliseeritakse ja kuivatatakse. See töötlus põhjustab tärglise paisumist ja kakaomassi poorse rakustruktuuri teket, mis takistab setete teket kakaojookides (Caligiani, 2016).

Kakaopulbri ja -või tootmine

Kakaovõi eraldamiseks kakaoubademassist kasutatakse enamasti hüdraulilist pressi. Hüdrauliline press koosneb 14 presspotist, mis on horisontaalselt paigaldatud ja igal potil on metallfilter (Beg, 2017). Kakaoubademassi pressitakse mehhaanilises või hüdraulilises pressis temperatuuril 90 – 100 °C ja rõhul 400 – 500 baari (Caligiani, 2016). Pärast kakaoubademassi töötlemist pressidel saadakse kaks toodet: kakaovõi ja -kook. Kakaovõid kasutatakse šokolaadi tootmisel, aga kook jahvatatakse pulbriks ja saadakse kakaopulber (Медведева, 2007). Saadud kookide rasvasisaldus võib olla 10 – 24%, sõltuvalt rakendatavast rõhust, pressi seadistusest ja pressimise ajast. Kakaovõid võib hoida kas paakides või tarnida šokolaaditootjatele edasiseks šokolaadiks töötlemiseks (Beg, 2017).

Šokolaadi tootmine

Šokolaadi saadakse leelistamata kakaoubademassist, mis segatakse sahharoosi, kakaovõi, emulgaatorite (letsitiinide), maitseainete (vanilliin) ja vajadusel muude koostisosadega (piimapulber, sarapuupähklid, mandlid jne). Koostisained segatakse ja peenestatakse, et saada homogeenne mass ja osakesed suurusega <30 – 40 mm. Peenestamisetapp viiakse läbi kaks- või viisvaltsidel. Täiendavad põhietapid šokolaadi tootmisel on konšeerimine ja tempereerimine. Peenestatud šokolaadimass on pulbriline ning hapu maitsega. Et saada optimaalse maitse, sileduse ja tekstuuriga šokolaadi, on vaja läbi viia konšeerimine (Caligiani, 2016).

Konšeerimise protsessis toimub šokolaadimassi hõõrumine vastu tahket pinda – see tekitab hõõrdumist ja kuumust, mille tagajärjel tõuseb segu temperatuur umbes 45 – 80 °C (piimašokolaadi puhul 43 – 57 °C). Olenevalt masinast ja tootja eelistustest võib konšeerimine kesta 8 – 36 tundi (Mc Gee, 2004). Konšeerimisel on kaks peamist eesmärki – esimene on väikeste kakaooa tükide edasine peenestamine ja katmine ühtlaselt kakaovõiga, et valmis šokolaad sulaks suus. Teiseks parandab konšeerimine oluliselt šokolaadi maitset, tagades segu maitse pehmenemise. See juhtub järgmiselt: kui segu on konšeerunud, siis see on aereeritud ja mõõdukalt kuumutatud, mis võimaldab kuni 80% ebasoovitavatest lenduvatest aromaatsetest ühenditest ja liigsest niiskusest aurustuda. Selle tulemusena väheneb paljude soovimatute lenduvate ainete hulk, sealhulgas mitmesugused happed ja aldehüüdid. Samal ajal tekivad kuumutamisel ja segamisel teatud soovitud lenduvad ühendid, millel on röstitud, karamelli- ja linnasearoomid, nt. pürasiinid, furaneool ja maltool. Konšeerimise lõpus lisatakse segule nii veidi kakaovõid kui ka emulgaatorit (letsitiini). Kakaovõi annab lisatud suhkruosakestele täiendavat määrdeainet, et muuta segu suus sulades pigem kreemjaks ja vedelaks, mitte pastaseks. Letsitiin aitab suhkruosakesi katta, vähendades omakorda täiendava kakaovõi kogust (Gibson, 2018).

Tempereerimine on üks kriitilisemaid samme, et saada toode, millel on kakaovõi stabiilne kristalne vorm, mis tagab kvaliteetse šokolaadi head sulamisomadused ja läikiva pinna. Tempereerimiseks jahutatakse ja segatakse konšeeritud kakaomassi (40–50 °C-lt 18 –28 °C-ni). Šokolaadimassi hoitakse sellel madalal temperatuuril umbes 10 minutit ja seejärel soojendatakse temperatuurini 32 °C. Sellisel viisil saadakse kakaovõi polümorfne vorm V, mille sulamistemperatuur on 34 °C, mis on lähedane inimese kehatemperatuurile (Caligiani, 2016).

Toodetakse erinevaid šokolaaditüüpe, mida klassifitseeritakse vastavalt kakaoubademassi ja kakaovõi protsendimääradele lõpptoodetes või kakaod mittesisalduvate koostisosade lisamise järgi. Tänapäeval on suur osa tarbitavast šokolaadist magusa šokolaadi kujul, millele on lisatud suhkruid (sahharoosi). Piimašokolaad on magus šokolaad, mis sisaldab lisaks piimapulbrit, aga valge šokolaad sisaldab kakaovõid, suhkrut ja piima, kuid mitte kakaoubademassi (Caligiani, 2016).

1.5 Kakaopulbri alkaliseerimise tehnoloogia

Tehnoloogilisest aspektist seisneb alkaliseerimine kakaoubade segamises leeliselahusega ning segu töötlemises rõhu ja temperatuuri kombinatsiooniga. Protsess viiakse tavaliselt läbi suletud rõhu all olevates reaktorites pideva sötkumissüsteemi abil (Patent nr EP1278428B1, 2001; Patent nr US5009917A, 1989; Patent nr US4784866A, 1988), kuigi mõned autorid on kirjeldanud seda protsessi ilma rõhuta. Leelisprotsessidega seotud patentide analüüsi tulemusena leiti, et spetsiifiliste omadustega (värvus, maitse jne) kakaotoote väljatöötamiseks on kõige olulisemateks seitse töötlemismuutujat: leelise tüüp ja kontsentratsioon, temperatuur, aeratsioon, veesisaldus, rõhk ja aeg (García, 2020).

Leelise tüüp ja kontsentratsioon

Leelistamiseks on kasutatud mitut tüüpi leeliseid – NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, KOH, K₂CO₃, KHCO₃, (NaH₄)₂CO₃, Ca(OH)₂ ja CaCO₃. Kõik need soolad sisalduvad Codex Alimentariuses lubatud happesisaldust reguleerivate lisanditena, mille maksimaalsed annused on piiratud heade tootmistavade (Alimentarius, 1981). Leeliseid võib kasutada eraldi või kombineerituna teistega, et esile kutsuda nõutud värvi teket. Kombinatsioonid ja kontsentratsioonid sõltuvad nende aluselisusest, soovitud lõplikust värvusest ja nende antavast leeliselisest kõrvalmaitsest. Kooskõlas kõige sellega oli toodud kaks näidet tumemusta kakao valmistamiseks, kasutades erinevaid leelisekombinatsioone. Ühes näites oli kasutatud 2,4% NaOH-d ja 12% (NaH₄)₂CO₃ ning teises näites asendatud pool NaOH 2% K₂CO₃-ga. See asendus ei mõjutanud lõplikku värvi, kuid vähendas oluliselt kakao leeliselist kõrvalmaitset. See näide toob välja leeliseliste ainete kombineerimise tähtsuse, et vältida negatiivset leeliselisuse tajumist ja teha soovitud värvimuutusi (Patent nr EP2241190A1, 2010). Näidati ka, et kaaliumisoolad on punaste pulbrite saamiseks väga soovitatavad, samas kui kaaliumi- ja ammoniumiühendite kombinatsioon annab kõige intensiivsema musta värvi, säilitades samal ajal suurepärase maitse. Lisaks värvile tasub mainida, et erinevad leeliseliste ainete kombinatsioonid võivad mõjutada muid omadusi (see tähendab akrüülamiidi lahustuvust ja moodustumist), millega tuleb arvestada uue leelistamisprotsessi kavandamisel (Patent nr US5009917A, 1989). Sellest tulenevalt tehti järeldus, et K₂CO₃ ja NaOH on leelistamisel kõige laialdasemalt kasutatavad leeliselised ained, kuigi teatatakse, et NaOH on parim kakao tumendamiseks (Rodríguez, 2009). Oma toime tõttu peetakse K₂CO₃ parimaks leelistavaks soolaks heledate ja punaste värvide saamiseks ilma toote maitset rikkumata, samas kui NaOH-d (või selle kombinatsiooni ammoniumisooladega) soovitatakse tumedate värvide saamiseks (García, 2020).

Kõige sagedasemad leeliste kontsentratsioonide vahemikud on 1% kuni 6%. See kontsentratsioon võib varieeruda sõltuvalt kasutatava leelise olemusest, leeliseliste ainete kombinatsioonist ja maitset tingitud defektidest (García, 2020).

Veesisaldus

Üldiselt lisatakse leelistamissegule vett vahemikus 10% kuni 50%. Selle muutuja tähtsus seisneb selle võimes transportida leeliselist ainet värvi lähteaineteni, mis leelistamise käigus oksüdeeruvad. Leelise hea jaotumise tagamiseks on lisatud vee kogus vajalik kakaomaterjali niisutamiseks, kuid tuleb meeles pidada, et kui vaja, siis vee lisamine toob kaasa pikema kuivamisaja (Patent nr US5009917A, 1989). Üldiselt on raske anda soovitusi vee protsendi kohta, mida tuleb leelistavale segule lisada, et anda kakaopulbrile spetsiifilised värviomadused. Seega on sobiva veesisalduse seadmiseks soovitatav kakao leelistamiseks kasutada sama leelist erineva kontsentratsiooniga ning analüüsides värvimuutusi ja kuivatamise vajadust (García, 2020).

Temperatuur

Temperatuur on teine oluline muutuja, mis määrab värvi ja töötamise kestuse. Üldiselt põhjustab temperatuuri tõus tumedamaid värve ja kiiremaid reaktsioone. Kõige sagedamini kasutatav temperatuurivahemik on 60 – 130 °C. Neid temperatuure tuleb oma äranägemise järgi häälestada, et saada spetsiifiliste värvidega kakaod, kuna temperatuur mängib värvi kujunemisel otsustavat rolli (García, 2020).

Punase kakao tootmiseks on tavaliselt vaja madalamaid temperatuure, tumedama kakao saamiseks aga kõrgemaid (Patent nr US4784866A, 1988; Patent nr US5009917A, 1989). Musta kakao puhul on maksimaalne soovitatav temperatuur 135 °C, sest hoolimata tõsiasjast, et kõrge temperatuur annab väga musta kakao, võib see maitset negatiivselt mõjutada (Patent nr US5009917A, 1989). On kirjeldatud kahte meetodit punase ja tumepunase kakao valmistamiseks, töödeldes proove vastavalt temperatuuril 74 – 79 °C ja 82 °C. Samuti on kirjeldatud ka pruuni ja musta kakao tootmise protsessi, mille käigus materjali töödeldi vastavalt 85 – 87 °C ja 88 °C juures (Patent nr US5114730A, 1992). Temperatuuri tõus võimaldab proovidel tumeneda, kuid liigne temperatuuri tõstmine toob kaasa punaste kromofooride kadumise ja teiste värvühendite moodustumise. Seoses sellega segitatakse, kuidas leelistamine põhjustab punaste kromofooride moodustumist, aga ka aglomeratsiooni, mis põhjustab pruunide suure molekulmassiga ühendite teket (Germann, 2019).

Rõhk

Rõhu rakendamine on veel üks parameeter, mida saab kasutada alkaliseerimise kestuse lühendamiseks. Näiteks, kui võrrelda erinevaid töid, mis kirjeldavad musta kakao tootmisprotsessi, siis traditsiooniline süsteem (rõhk vahemikus 1 kuni 12 atm) nõuab reaktsiooni aega vahemikus 30 kuni 120 minutit (García, 2020). Alkaliseerimise ajal, mis rakendab rõhku vahemikus 47 kuni 75 atm, on aga kestus alla 5 minutit. Lisaks protsessi kiirendamisele on rõhu mõju seostatud kakaopunase värvuse

intensiivsusega (Patent nr US4784866A, 1988). See mõju värvile võib olla seotud rõhu võimega vältida värviliste ühendite lagunemist või aglomeratsiooni (García, 2020).

Alkaliseerimise kestus

Soovituslikult võiks kokkupuude kesta 5 – 180 minutit ja mustade toodete jaoks vastavalt 60 –180 minutit. Seega tasub rõhutada alkaliseerimise kestuse tähtsust seoses värvide tekke ja kõrvalmaitsete ilmnemisega (Patent nr US5009917A, 1989).

Aeratsioon

Alkaliseerimine põhineb oksüdatiivsetel reaktsioonidel, mis toimuvad leeliselises keskkonnas ja aitavad kaasa värvi moodustumisele. Nende keemiliste reaktsioonide käigus on vajalik hapniku lisamine, mistõttu on õhutamine kakao värvuse muutumise jaoks ülioluline. Täpsemalt on leitud, et punase kakao tootmiseks on vaja suuremat õhutamist võrreldes musta kakaoga (García, 2020).

Üks näide õhutamise tähtsusest on see, mida kirjeldati patendis, kus oli järgitud meetodit pruuni, punase, tumepunase ja musta kakao tootmiseks, lisades alkaliseerimise ajal suruõhku. Protsessi käigus leiutaja poolt lisatud aeratsioon suurenes pruunidest pulbritest (ilma õhutamist vajamata) tumepunase kakaoni, mille järele oli kõige suurem vajadus. Pruuni, musta, punase ja tumepunase kakao tootmiseks rakendati vastavalt 0,1 kuni 3,5; 1 kuni 5 ja 3,5 kuni 5 baari/min õhku (Patent nr US5114730A, 1992). Üldiselt on eelistatud õhuvool vahemikus 0 kuni 5 baari/min, sõltuvalt soovitud toote lõplikust värvist (García, 2020).

1.6 Alkaliseeritud kakaopulbri omadused ja koostis

Naturaalse kakaopulbri alkaliseerimise käigus toimub arvukalt keerulisi keemilisi reaktsioone, mis ei põhjusta mitte ainult värvi ja maitse kujunemist, vaid ka paremat lahustuvust. Samad keemilised reaktsioonid võivad tekitada soovitavaid või soovimatuid muutusi kakao toitumis-, funktsionaalsetes ja mikrobioloogilistes omadustes (García, 2020).

Kakaopulbri omaduste muutused alkaliseerimise käigus on (García, 2020):

- Lahustuvuse paranemine
- Värvide tumendamine
- Maitseprofili muutmine

Lahustuvus

Üks peamisi probleeme kakaopulbrite lisamisel erinevatesse toiduainetesse, näiteks piimajookidesse, on selle lahustuvus. Kui see on madal, põhjustab see helveste moodustumist, kihistumist ja settimist (Holkar, 2019).

Kakao rakustruktuurid on lahustumatud ja raskesti lagundatavad. Kakao tootmisahelas, eelkõige peale röstimist, on kakaovalgud ja polüfenoolid seotud struktuuridega, mis muudab need suuremateks ja lagunemiskindlamaks. Nende ühendite vabastamine ja komplekside hävitamine on pulbri lahustuvuse suurendamisel oluline eesmärk (Holkar, 2019). Leelise tüüp, kontsentratsioon, kõrged temperatuurid, rõhk ja vee sisaldus suurendavad leelistamise ajal märgatavalt lahustuvust erinevate komplekside ja rakustruktuuride destabiliseerimise ja hävitamise kaudu (García, 2020).

Värv

Kakaovärv on kakaotoote (ubademass või pulber) üks hinnatumaid omadusi, arvestades praegust suundumust piirata kunstlike värvainete kasutamist toiduainetes. Fermenteerimise ajal muutuvad halli värvusega (fermenteerimata) kakaoad violetseks (osaliselt fermenteeritud) ja pruuniks (täielikult fermenteeritud). See värv säilib „nibside“, kakaoubademassis, koogis ja pulbris. Nii on hästi fermenteeritud kakaoubadest saadud pulbrid helepruuni värvi. Nagu varem mainitud, saab tüüpilist looduslikku kakaovärvi alkaliseerimise käigus muuta leeliseliste ainete, vee sisalduse, õhutamise, temperatuuri, aja ja rõhu koosmõjul heledast tumedaks ja punase või musta varjundiga olenevalt kasutatud režiimist (Tabel 1) (García, 2020).

Tabel 1. Soovitavad tingimused punase ja musta kakaopulbrite tootmiseks

	Punane pulber	Must pulber
Leelis (tüüp – kontsentratsioon)	K ₂ CO ₃ – 3%	NaOH + NH ₄ OH – 6%
Vesi (kg/100 kg)	10 kuni 50	10 kuni 50
Temperatuur (°C)	60 kuni 100	90 kuni 130
Rõhk (atm)	10	5
Kestus (min)	>10	>60
Aeratsioon (bar/min)	5	3

Allikas: García, 2020

Ühes uurigus vaadeldi kolme leelise (naatriumvesinikkarbonaat, naatriumkarbonaat, naatriumhüdroksiid) mõju kolmes kontsentratsioonis (1, 2, 3 g/100 g kakaoubademassi kohta) Venezuelast pärit kakaoubadest valmistatud lõppvedeliku värvusele. Leiti, et kõik soolad vähendasid kolme värvikoordinaati ja see vähenemine oli tugevam kõrgeima leeliseprotsendi (3 g/100 g) korral. Leelise tüübi osas olid NaHCO₃ ja NaOH leelised, mis vähendasid L* koordinaati (heledust) kõige enam, orienteeruvalt 40-lt (looduslik kakao) kuni 27-ni (Rodríguez, 2009).

Mis puudutab värvi kujunemise hindamist, siis uuriti kakao erinevate värvusfraktsioonide muutust sõltuvalt alkaliseerimistasemest. Kakaopulber muutus rõhu, leelise kontsentratsiooni või

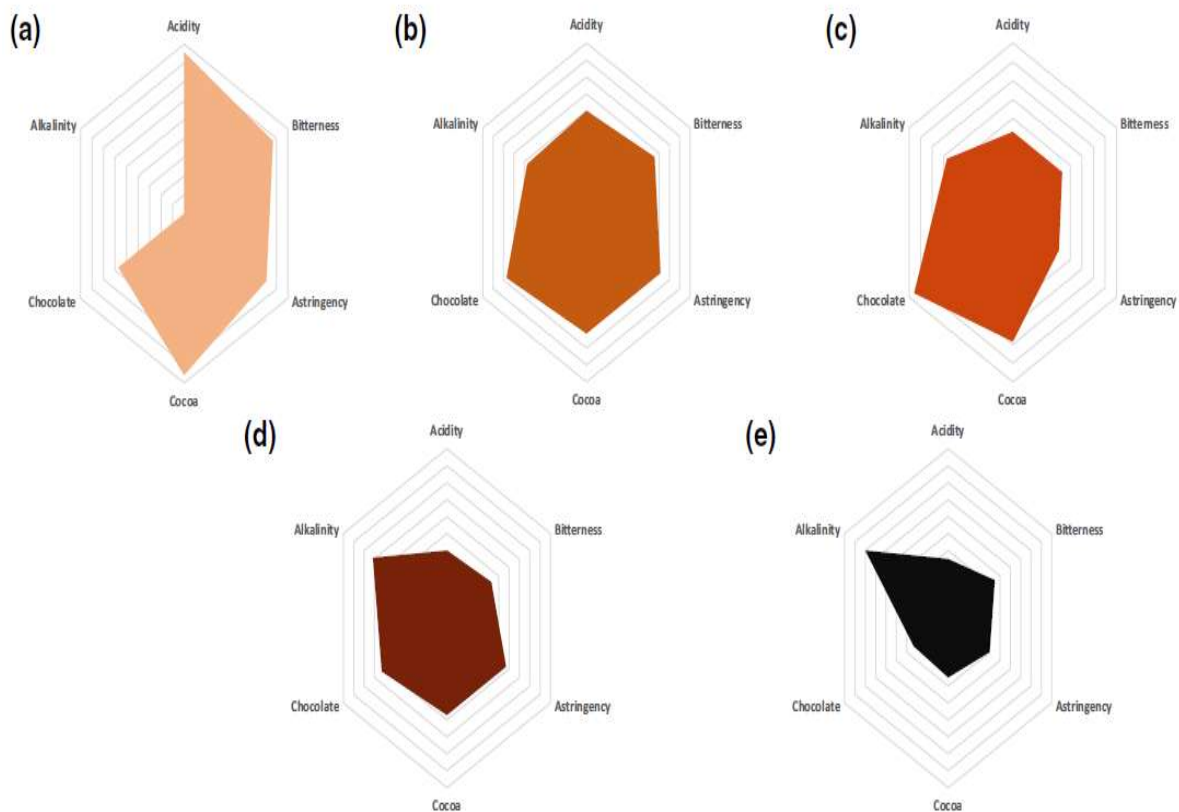
reaktsioonija suurenemisega tumedamaks. Neid värvimuutusi seostati ühelt poolt polümeeride moodustumisega suhkru lagunemise (karamelliseerumise) tulemusena ja teiselt poolt aminoühendite ja süsivesikute vaheliste reaktsioonidega (Maillardi reaktsioonid) (Li, 2014).

Alkaliseeritud kakao iseloomulikku värvust on seostatud polüfenooloksüdaasi ensümaatilise aktiivsusega (Rodríguez, 2009). See ensüüm, mille aktiivsus on optimaalne pH 8 juures, toimib kakaost pärit polüfenoolsete ühendite oksüdeerimisel melanoidiinide (pruuni värvusega pigmentide) tootmiseks, ning seega lagundab ja vähendab polüfenoolseid aineid. pH tõustes muutuvad fenoolsed ühendid punakaspruuniks kuni mustaks. Mida kõrgem on pH, seda tumedam peaks kakao olema (García, 2020).

Hiljuti uuriti kromofooride teket kakao peamistest polüfenoolidest (katehiin ja epikatehiin). Eeldati, et muutused polüfenoolidega leeliselises keskkonnas võivad põhjustada osa kakao värvusest. Avastati, et oksüdatsioon ja keemilised reaktsioonid muudavad katehiini ja epikatehiini katehiinhappeks, mille käigus moodustuvad erinevad punased ja kollased kromofoorid (Germann, 2019). Teatati ka punakaspruuni värvusega suure molekulmassiga toodete sisalduse suurenemisest, mis nende arvates olid kakao tumenemise peamised põhjustajad. Leeliseta kakaost ei ole leitud ühtegi eelnimetatud komponendi molekuli (García, 2020).

Maitse

Kakao põhilised maitsetunnused on happesus, kibedus ja kootavus. Mis puudutab maitsetundlikkust, siis on teada, et sidrun-, piim-, oksaal- ja merevaikhape on hästi fermenteeritud naturaalse kakao happesuse peamised tegurid. Kakao fermenteerimise defektid võivad aga äädikhappesisaldust märkimisväärselt suurendada, mis mõjutab tugevalt kakao tajutavat happesust (Baigrie, 1994). Alkaliseerimisel neutraliseeritakse happed täielikult või osaliselt ja seega on nii nende sisaldus kui ka happesuse tajumine proovides madalam. Oli leitud, et happed moodustasid pärast leelistamist 60% lenduvast fraktsioonist alla 30%. Joonis 2 võtab graafiliselt kokku maitsemuutused ja illustreerib peamisi maitsemuutusi naturaalse, keskmise ja tugeva leeliselise kakao puhul (García, 2020).



Joonis 2. Erinevatel režiimidel alkaliseeritud kakaopulbri sensoorne profiil. (a) Naturaalne; (b) väheselt alkaliseeritud; (c) keskmiselt alkaliseeritud punase varjundiga; (d) tugevalt alkaliseeritud; (e) must pulber (García, 2020)

Kakao kibedust seostatakse peamiselt metüülksantiinide kofeiini ja teobromiini, samuti diketopiperasiinide (moodustuvad valkude termilisel lagunemisel kakao röstimise ja leelistamise käigus) ning monomeersete ja oligomeersete flavan-3-oolidega (Baigrie, 1994; García, 2020) Katehiin ja epikatehiin ning nende epimerisatsioon, isomerisatsioon ja mitteensümaatilised glükosüülimise modifikatsioonid leelistamise ajal võivad mõjutada sensorset taju (García, 2020).

Oli leitud, et kootavuse suutunnetuse eest vastutavad peamiselt polüfenoolid, nagu fenoolhapped, flavonoolglükosiidid, antotsüaniinid, katehiinid ja protsüanidiinid (Baigrie, 1994). On teada, et polüfenoolid mõjutavad oluliselt kakao alkaliseerimist, kuna alkaliseeritud kakao kipub olema vähem kootav kui looduslik (García, 2020).

Lisaks happesusele, kibedusele ja kootavusele on kakaospetsiifiline maitse ka lenduvas või aroomifraktsioonis, mida tuvastavad peamiselt nina retseptorid, mitte suus olevad maitsepungad. Spetsiifiline kakao aroom tuleneb keerulistest biokeemilistest ja keemilistest reaktsioonidest, mis toimuvad toorete ubade koristusjärgsel töötlemisel ja mis on põhjustatud kakao genotüübist, toorete ubade keemilisest koostisest, keskkonnatingimustest, põllumajandustavade, töötlemisest ja valmistamise etappidest (röstimine ja leelistamine) (Baigrie, 1994).

Mittelenduvad (valgud, süsivesikud, alkaloidid, metüülksantiinid ja polüfenoolid) ja lenduvad (alkoholid ja fenoolid, karboksüülhapped, aldehüüdid, ketoonid, estrid, amiinid, amiidid,

laktonnitrilid, terpenoidid, furaanid, furanoonid, püraanid, püroonid, pürroolid ja pürasiinid) kakao maitset mõjutavad fraktsioonid muutuvad kakao alkaliseerimisel märkimisväärselt. Kõiki neid keemilisi muundumisi silmas pidades on arusaadav, et alkaliseerimine vähendab ülalnimetatud ühendite lagunemise ja modifitseerimise kaudu positiivselt loodusliku kakao kibedat, happelist ja kootavat maitset ning loob uusi keemilisi struktuure andes kakaopulbrile šokolaadinoote. Kuigi on tõsi, et töötlemise tulemusena võib maatriksist tekkida või vabaneda uusi või tuletatud ühendeid, millel on kibe ja kootav maitse, on üldiselt tajutav eelnimetatud maitsete vähenemine (Dyer, 2003). Tabelis 2 on toodud kuidas muutub kakaopulbri koostis ja toitumisoluline väärtus alkaliseerimise tulemusena.

Tabel 2. Alkaliseerimise käigus tuvastatud muutused kakao toite- ja funktsionaalsetes ühendites

Ühend	Tuvastatud muutused	Mehhanismid
Süsivesikud	Süsivesikute üldsisaldus ei muutu; Redutseerivate suhkrute hulk väheneb	Maillardi reaktsioonid
Valgud	Valgusisaldus väheneb	Oksüdatiivne lagundamine deamineerimise teel
Aminohapped	Aminohapete sisaldus väheneb 17 aminohappe võrra	Maillardi reaktsioonid, oksüdatiivne lagundamine deamineerimise teel, interaktsioon polüfenoolidega
Rasvad	Rasvade üldsisaldus väheneb	Triglütseriidide hüdrolüüs ja seebistamine
Tuhk	Tuha üldsisaldus suureneb	Alkaliseerimise soolade lisamisega
Mineraalained	Alkaliseerimissoolas sisalduva soola (Na^+/K_2^+) sisalduse suurenemine	
Polüfenoolid	Fenoolide üldsisaldus väheneb; Antioksidantide aktiivsus väheneb; Flavanoolide sisaldus väheneb; Katehhiini ja epikatehhiini kibeduse ja kootavuse vähenemine; Biokättesaadavus väheneb; Epikatehhiini/katehhiini suhe on pöördvõrdeline;	Polüfenoolide oksüdatsioon ja nende koostoime aminohapete, valkude, peptiidide, teiste flavonoidide ja Maillard'i toodetega; (+)- katehhiini epimeriseerimine (-)- katehhiiniks; Protsüanidiinide monomerisatsioon; (-)- epikatehhiini isomeriseerimine (-)- katehhiiniks; Flavanoolide glükosüülimine;

	Keemilised modifikatsioonid, mis moduleerivad kibedust; Punaste kromofooride moodustumine alkaliseerimisel; Alkaliseerimine suurendab antimikroobset aktiivsust gramnegatiivsete bakterite vastu	Modifikatsioonid, mis on tingitud Maillardi reaktsiooni produktidega
Metüülksantiinid	Teobromiini ja kofeiini sisaldus väheneb	Teobromiin interakteerub alustega ja moodustab soolasid

Allikas: García, 2020

1.7 Kakaovella: toiteomaduste ja biofunktsionaalsusega kakaopulbri tootmise kõrvalprodukt

Kakao tootmine tekitab märkimisväärses koguses jäätmeid. Tõepoolest, ainult 10% kakao viljade kogukaalust kasutatakse selle turustamiseks, ülejäänud 90% visatakse ära jäätmete või kõrvalsaadustena (Rojo-Poveda, 2020). Peamiseks tooraineks erinevate kakaotoodete valmistamisel on kuivatatud ja fermenteeritud kakaoad ning kakaovella on üks šokolaaditööstuses saadavatest kakaoubade kõrvalsaadustest, mis eraldatakse kakaooalt eelröstamise käigus või pärast röstimisprotsessi. Kakao töötlemisel on kolme tüüpi kaastooteid: kakaokaunakestad, kakaoubade koored (kakaovella) ja kakaolima. Neid kõrvalsaadusi peetakse tavaliselt "jäätmeks" ja jäetakse kakaoistandustesse mädanema, mis võib põhjustada keskkonnaprobleeme, nagu näiteks ebameeldiva lõhna tekitamine või haiguste levik (näiteks, kaunamädanik, kuna neid ei kompostita) (Balentic, 2018).

Vaatamata sellele, et kakaovella sisaldab inimesele kasulikke toitaineid, näiteks polüfenoole (umbes 1 – 2%), vitamiini D, mineraalaineid (kaltsium, fosfor), aminohappeid, kuid ka lahustuvaid ja lahustumatuid kiudaineid (umbes 25 – 30%), selle väärtusliku toorme edaspidine kasutamine on veel madal (Handojo, 2019).

1.7.1 Kakaovella toitumisalane ja keemiline koostis

Mitmed teadlased on uurinud kakaovella koostist, mis on kokku võetud tabelis 3. Kakaovella sisaldab sarnaselt kakaoale valke, rasvu, suhkruid, niiskust ja tuhka. Kuid kakaovella sisaldab palju vähem rasvu kui kakaouba, sisaldades seevastu enam kiudaineid. Kakaovellas on ka suurem valkude, rasvade ja süsivesikute sisaldus võrreldes teiste kakao kõrvalsaadustega, näiteks kakaokaunadega (Rojo-Poveda, 2020).

Kakaovella koostis võib aga märkimisväärselt varieeruda, kuna selle kui taimse toote koostis sõltub mitmetest muutuvatest teguritest, nagu kasvatuspiirkonna kliimatingimused, kakaosort, töötlemistingimused (fermenteerimine, kuivatamine, röstimistemperatuur) jne (Diomande, 2015).

Tabel 3. Kakakovella toiteväärtus ja keemiline koostis

Parameeter	Hulk ^a
Energiasisaldus (kcal/100g)	122
Niiskusesisaldus (%)	3,6 – 13,13
Tuhk (g/100g)	5,96 – 11,42
Valgud (g/100g)	10,3 – 27,4
Rasvad (g/100g)	1,5 – 8,49
Süsivesikud (g/100g)	7,85 – 70,25
- Tärklis (g/100g)	0 – 2,8
- Lahustuvad suhkrud (g/100g)	0,16 – 1,66
Kiudained (g/100g)	39,25 – 66,33
- Lahustuvad kiudained (g/100g)	7,03 – 16,91
- Mittelahustuvad kiudained (g/100g)	28,34 – 50,42
Pektiin (g/100g)	7,62 – 15,59
Mineraalained	
- Kaltsium (g/100g)	0,23 – 0,44
- Fosfor (g/100g)	0,58 – 1
- Magneesium (g/100g)	0,48 – 1,29
- Kaalium (g/100g)	1,25 – 1,82
- Naatrium (mg/100g)	16 – 192,2
- Raud (mg/100g)	27,6 – 80,5
- Mangaan (mg/100g)	4,53
- Vask (mg/100g)	2,35 – 6,62
- Seleenium (mg/100g)	0,21
- Koobalt (mg/100g)	0,1
- Tsink (mg/100g)	2,75 – 19

- Kroom (mg/100g)	0,67 – 4,86
Vitamiinid	
- B ₁ (µg/g)	0,7 – 3,1
- B ₂ (µg/g)	0,9 – 3,1
- B ₆ (µg/g)	jäljed
- D (µg/g)	jäljed – 0,53
- E (µg tokoferoolid kokku/g kakaovella rasvas)	1,02
Polüfenoolide sisaldus	
- Fenooli üldsisaldus ^b	3,12 – 94,95
- Flavonoidide üldsisaldus ^c	1,65 – 40,72
- Tanniinide üldsisaldus ^c	1,7 – 25,3
Flavanoolid	
- Epikatehiin (mg/100g)	0,21 – 34,97
- Katehiin (mg/100g)	0,18 – 4,5
- Protsüanidiin B ₁ (mg/100g)	0,55 – 0,83
- Protsüanidiin B ₂ (mg/100g)	0,23 – 1,38
Metüülksantiinid	
- Teobromiin (g/100g)	0,39 – 1,83
- Kofeiin (g/100g)	0,04 – 0,42
Lenduvad orgaanilised ühendid (aromaatsed; µg/g)	4,92 – 16,1

^a Andmed on viidatud kakaovella kuivkaalule, kui pole näidatud teisiti. Loodud on intervallid, mis sisaldavad kõiki viidatud kirjanduse väärtusi; ^b mg gallushappe ekvivalenti kuivatatud kakaovella grammi kohta; ^c mg katehiini ekvivalenti/g kuivatatud kakaovella kohta.

Allikas: Rojo-Poveda, 2020

1.7.2 Kakaovella biofunktsionaalsus ja potentsiaalne kasu tervisele

Viimastel aastatel on erinevates uuringutes pakutud alternatiivsed kakaovella kasutamise viise tänu selle rikkalikule keemilisele koostisele ja toiteväärtusele. Täpsemalt on teatatud antibakteriaalsetest ja viirusevastastest omadustest, kasulikkusest südame-veresoonkonna haiguste vastu, anti-

kantserogeensest toimest, diabeedivastasest toimest, neuroprotektiivsest potentsiaalset ja põletikuvastasest toimest (Rojo-Poveda, 2020).

Antibakteriaane ja antikariogene toime

Antibiootikumide laialdane kasutamine nii kariloomade kui ka inimeste jaoks on toonud kaasa probleeme, nagu bakterite resistentsus või põllumeeste majandusliku kasumi vähenemine. Nendel põhjustel on sellised tooted nagu kakaovella pälvinud tähelepanu oma antimikroobse toime tõttu ja seetõttu ka nende potentsiaali tõttu kasutada antibiootikumide asendajatena (Guil-Guerrero, 2016).

Kakaovella puhul on teatatud nõrgast antibakteriaalsest toimest *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* ja *Bacillus cereus*'e vastu atsetooni, etanooli, metanooli ja veeekstraktide kasutamisel minimaalse inhibeeriva kontsentratsiooniga, mis jäi vahemikku 0,468 – 3,750 mg kuivekstrakti/ml (Rojo-Poveda, 2020). Sellegipoolest on näidatud, et kakaovellal on tugevam antibakteriaalne toime teatud tüüpi *Streptococci* bakterite, nimelt *S. mutansi* vastu, mis on hambakaariese tekkega seotud tüvi. Leiti kakaovella etanooliekstraktide nii suukaudsete *Streptococci*, *S. mutansi* kui ka *S. sobrinuse* kasvukiiruse märkimisväärne vähenemine (Ooshima, 2000). Viimane efekt oli tingitud bakterite glükosüültransferaaside (GTF) inhibeerimisest kakaovella ekstrakti poolt ja seetõttu nende sahharoosist sõltuva rakkude kleepuvuse vähenemisest (Rojo-Poveda, 2020).

Viirusevastane toime

Kakaovellal on leitud viirusevastane toime, peamiselt HIV-i ja gripi vastu, mis on tingitud peamiselt ligniin-süsivesikute kompleksidest, mitte teistest madalama molekulmassiga polüfenoolidest, nagu tanniinid või flavonoidid (Rojo-Poveda, 2020). Tõepoolest saadi kakaovella ligniini fraktsioonide selektiivsuseindeksid HIV vastu, mis jäid vahemikku 30 kuni 10 000, mis on tanniinide omadega võrreldes üllatavalt kõrged, flavonoidid või muudest allikatest, näiteks kakaomassist saadud ligniini fraktsioonid. Need kakaovella jaoks saadud väärtused olid mõnel juhul võrreldavad pöördtranskriptaasi inhibiitorite väärtustega. Leiti, et kakaovella HIV-vastane toime oli maksimaalne kui ekstraktid lisati rakkudele samaaegselt viiruse adsorptsiooniga ja seetõttu ei ole toime otseselt seotud viiruse replikatsiooniga pärast nakatumist, vaid see oli hoopiski peamiselt viiruse imendumise pärssimise tõttu. Leiti, et samad kakaovella ligniini fraktsioonid suutsid inhibeerida gripiviiruse tekitatud tsütopaatilisi toimeid sarnaselt flavonoididele (Rojo-Poveda, 2020), millest teati juba kondenseerunud tanniinide puhul (Daglia, 2012). Nende fraktsioonide selektiivsuse indeks gripiviiruse suhtes oli 155 ja need võivad toimida sünergistlikult vitamiiniga C, suurendades selle aktiivsust (Rojo-Poveda, 2020).

Südame-veresoonekonna haiguste vastane toime

Kakao flavanoole on seostatud südame-veresoonekonna haiguste ennetamisega tänu erinevatele aspektidele, nagu nende antioksidantne toime plasmale, trombotsüütide reaktsioonivõime vähendamine või põletikuvastased omadused, mis võivad vähendada arterioskleroosi või tromboosi

riski (Martin, 2016; Rojo-Poveda, 2020). Kuid nende ühendite biosaadavus *in vivo*, kui need saadakse dieediga, on üldiselt madal ja seetõttu kakaovellal on oluline osa südame-veresoonkonna tervisesse seedesüsteemis. Samuti oli leitud kakaovella tarbimisel pärast kolesteroolirikka dieedi järgimist üld- ja madala tihedusega lipoproteiinide kolesterooli märkimisväärset vähenemist. Lisaks vähendas kakaovella kiudainete tarbimine ka lipiidide peroksüdatsiooni seerumis ja maksas, tõenäoliselt polüfenoolsete ühendite tõttu (Rojo-Poveda, 2020).

Vähivastane toime

Kakaopolüfenoolidel on teadaolevalt vähivastased omadused, peamiselt seetõttu, et nad võivad vähendada liigset oksüdatiivset stressi, mis on iseloomulik vähi arengu kõikidele etappidele ja on väga seotud DNA kahjustustega, mis põhjustavad mutatsioone (Martin, 2016). Samuti on näidatud, et kakao flavanoolid ja protsüanidiinid on seotud erinevate vähktõvega seotud signaaliülekanalade reguleerimisega muu hulgas mutageneesi, tuumorigeneesi, angiogeneesi või metastaaside osas. Seoses kakaovella vähivastase toimega on mõned uuringud näidanud fermenteeritud kakaovella metanooliekstraktide proliferatsioonivastast toimet rinna-, maksa-, käärsoole-, kopsu- ja emakakaelavähi rakuliinidele, kuigi fermenteerimata kakaovella ei ole näidanud nii edukat tulemust (Rojo-Poveda, 2020).

Avastati, et kakaovella kiudained on võimelised adsorbeerima ja detoksifitseerima sapphappeid, mis teadaolevalt põhjustavad mao limaskesta epiteelirakkude vigastusi, põhjustades DNA kahjustusi ning seetõttu võivad need toimida potentsiaalsete kantserogeenidena (Nsor-Atindana, 2012).

Diabeedivastane toime

Juba on tõestatud, et kakao flavanoolid toimivad kemopreventiivsete ainetena, aidates ära hoida või ravida II tüüpi suhkurtõbe. Nad võivad reguleerida insuliini sekretsiooni ja kaitsta pankrease β -rakke. Neil on ka insuliinisarnane toime ja seega võivad kakaopolüfenoolid suurendada insuliinitundlikkust, parandades glükoosi transporti sellistesse kudedesse nagu skeletilihas, maks või rasvkude, mille tulemuseks on veresuhkru kontroll, samuti kaitstes neid kudesid oksüdatiivse ja diabeediga seotud põletikuliste kahjustuste eest (Martin, 2016).

Samuti on leitud, et kakaovella kiudainefraktsioonid võivad inhibeerida amülaasi ja adsorbeerida glükoosi, pidurdades selle difusiooni ja dialüüsi läbi sooleseina, mis võib põhjustada diabeedivastaseid omadusi kakaovella inimese soolestiku läbimise käigus, kui seda tarbitakse koos toiduga (Rojo-Poveda, 2020; Nsor-Atindana, 2012).

1.8 Kakaovella tänapäevased kasutusala

Kakaoubade kogumassist moodustab kest peaaegu seitseteist protsenti. 2016. aastal oli maailma kakaotoodang 4,0 miljonit tonni, kasvades 2017. aastaks 4,7 miljonile tonnile. Elevantiluurannik, Ghana ja Indoneesia on kolm suurimat kakaotootjat, tootes vastavalt 42, 17 ja 7% maailma

kogutoodangust. Iga puu kohta võib toodang ulatuda 20 – 50 kakaoviljani ja saagikoristusaeg toimub aasta läbi. Arvestades maailma kakaoubade tootmist, võib kakaovella jäätmete hulk olla ligikaudu 700 000 tonnini aastas, mis on märkimisväärne kogus. Seetõttu on vaja leida jäätmeteks olnud pruunide ubade kestadele rakendusi ja anda neile lisaväärtust (Handojo, 2019).

Suhteliselt kõrge kakaovella kiudainesisaldus koos fenoolühenditega muudab selle kõrvalsaaduse toiduainetööstusele huvitavaks (kondiitritoodete ja pagaritoodete valmistamisel või madala kalorsusega dieet- ja kiudainerikaste toodete valmistamisel). Vaatamata sellele kasutatakse tänapäeval kakaovellat peamiselt siiski söödaks. Kakaovellat on võimalik kasutada jahvatatud kujul ilma igasuguste modifikatsioonideta, aga samuti võib seda alkaliseerida ja kasutada toidulisandina (Balentic, 2018).

Kakaovella kasutamine loomasöödana

Kakaovella kasutamist söödana on väljapakutud juba pikka aega, kuna see on tavaline toiduainete töötlemise kõrvalsaaduste rakendamise viis. Kakaovella sisaldab märkimisväärses koguses valke, mineraalaineid ja vitamiine, mistõttu on see huvitav ja odav materjal loomasöödaks. Kuid kakaovella sisaldab ka suures koguses tanniine ja teobromiini, mis võivad mõnedel loomadel toimida antitootainetena, blokeerides mõned olulised toitained seedimise ajal ja vähendades nende biosaadavust. Teobromiin võib mõnel loomal põhjustada ka erinevaid toksilisi toimeid, näiteks maksa- ja kilpnäärme talitlushäireid hobustel või isegi surma koertel, kui seda võetakse suurtes kogustes (Rojo-Poveda, 2020).

Vaatamata teobromiini olemasolule on uuringud näidanud positiivseid mõjusid õige koguse kakaovellaga rikastatud toidu kasutamisel kodulindudele, küülikutele, mäletsejalistele või sigadele. Maisi- ja sojajahu maksimaalne asendamise tase kakaovellaga on 10%, mis viis broilerilindude siseorganite kaalu vähenemisele, parandades samal ajal soolestiku morfoloogiat. Samu negatiivseid muutusi täheldati ka munakanadel kui kakaovella hulk oli üle 15% (Emiola, 2011). Seega leiti, et kakaovella kasutuspiir munakanade toidus võib olla 10 – 25% maisi asemel, selle ületamisel oleks munade kaal ja kvaliteet ohus. Küülikute puhul pakuti maksimaalseks asenduseks 10%, kuna üle selle väärtuse täheldati rakkude mahu vähenemist (toitumisvaegused) ja valgete vereliblede arvu suurenemist (toitumisstress), kuigi kaalukaotust täheldati ainult üle 20 % kakaovella toidukorra asendamisel. Teised uuringud soovitasid optimaalse tulu-kulu suhte väärtuseks lisada 200 g kakaovellat küüliku kehakaalu kg kohta (Rojo-Poveda, 2020).

Kakaovella kasutamine toiduainetes

Kakaovellat võib kasutada puhtal kujul toiduna ja/või toidus lisandina selle kõrge kiudaine- ja polüfenoolisisalduse tõttu. Lisaks on uuringud näidanud, et kakaovellas on 10 – 20% röstitud kakaoubades leiduvate lenduvate orgaaniliste ühendite koguhulgast, millest paljud on kakao ja šokolaadi peamised arooniühendid. See teeb kakaovella väga huvitavaks ja odavaks koostisosaks kakao asendamisel või kakao maitsestamiseks. Nendel põhjustel on kakaovellat kasutatud peamiselt kondiitri- ja pagaritoodetes, nagu küpsised ja leib, et suurendada nende kiudainesisaldust ja anda neile antioksüdantseid omadusi. Kakaovellat lisatakse tavaliselt otse jahvatatud kakaovellajahuna või pärast

ensüümiga töötlemist saadud kiudainete ekstraktidena. Kakaovellat on pakutud ka rasvaasendajana, mis asendab vastavalt kuni 50% ja 70% taimelise funktsionaalsetes kookides ja šokolaadimuffinites, mis on tarbijate poolt üldiselt kõigil juhtudel heaks kiidetud. Veel üks kakaovella laialdane kasutus toiduainete valdkonnas on olnud jookide koostisosana, nt gaseeritud karastusjookides, kodus valmistatud funktsionaalsed joogid või piimajook, mis on valmistatud kakaovellast ja kohvist valmistatud kõrvalsaadustega (Rojo-Poveda, 2020). Kakaovellat on pakutud ka lisakoostisosana ekstrudeeritud suupistete toiteväärtuse tugevdamiseks, mis alandas veidi nende füüsikaliste omaduste kvaliteeti, kuid jäi siiski tarbijate poolt aktsepteeritavasse vahemikku (Jozinovic, 2018).

Toidulisandina on mitmed autorid kasutanud ära kakaovella antioksidantseid omadusi, et vältida lipiidide oksüdatsiooni. Sellisel eesmärgil lisati veiselihale kakaovella ja roselle seemnete ekstrakte, vältides lipiidide oksüdatsiooni suuremal määral kui sünteetiliste antioksidantidega, nagu butüülitud hüdroksütolueen (BHT) ja -tokoferool (Ismail, 2006). Samuti oli tehtud ettepanek parandada soja toiduõli stabiilsust, lisades kakaovella polüfenoolekstrakti, saades pärast korduvat kasutamist madalamate vabade rasvhapete sisalduse ja peroksiididaruva õlisid (Rojo-Poveda, 2020).

Kakaovella muud rakendusala

Lisaks söödalisisandina ja toiduainetes kasutamisele on veel palju kakaovella võimalikke rakendusi. Muude kasutusviiside hulgas võib leida kakaovellat, mida kasutatakse biokütuste tootmiseks, aktiivsöe valmistamiseks, bioadsorbentide, multši ja väetiste jaoks (Rojo-Poveda, 2020).

Kakaovellat on kasutatud tööstuses biomassina kütuse tootmiseks, kuna selle kütteväärtus jääb vahemikku 7400 – 8600 BTU (Briti termaalühik), mis on veidi kõrgem kui puidul. Kakaovellast on toodetud biometaanit, saades kuni 199 ml CH₄/g lenduvaid tahkeid aineid ja suurendas seda väärtust 14% võrra, kui eeltöödeldi kakaovellat N-metüülmorfoliin-N-oksiidiga (Mancini, 2016). Samuti oli saadud biogaas lehmasõnniku ja kakaovella anaeroobse kooskäritamise teel, tootes 10 korda suuremas koguses biogaasi kui ainult lehmasõnniku anaeroobsel kääritamisel. Kakaovellat kasutati ka bioetanooli tootmiseks, kasutades happelist hüdrolüüsi ja fermentatsiooni *Saccharomyces cerevisiae*'ga (Rojo-Poveda, 2020).

Kakaovellat on laialdaselt kasutatud ka erinevates materjalide tootmisprotsessides, kasutades ära kakaovella keemilisi ja füüsikalisi omadusi. Kakaovellat on lisatud bioplastidesse, et anda neile antioksidantseid omadusi, biolagunevaid omadusi ja täiustatud füüsikalisi omadusi koos minimaalse ühendi migratsiooniga (alla 10 mg/dm², mida Euroopa Liit lubab bioplastidele) kasutamiseks toiduainete pakendites, kosmeetikas või biomeditsiiniseadmetes (Rojo-Poveda, 2020).

Tänu oma erilisele makromolekulaarsele koostisele, mis on rikas ligniini poolest, on välja pakutud ka kakaovella kasutamist aktiivsöe tootmiseks. Kakaovellast on valmistatud aktiivsöe monoliite ilma sideaineta, tänu kõrvalsaaduse koostisele, mis koosneb lignotselluloosi molekulidest, kummidest, pektiinist ja rasvadest (Plaza-Recobert, 2017).

Väga levinud on ka kakaovella kasutamine orgaanilise multšina või väetisena. Kuigi mõned autorid väidavad, et kakaovella on liiga kerge ja võib suurtes kogustes kasutamisel mõjutada mulla omadusi, leiavad teised, et selle lämmastiku-, fosfaadi- ja kaaliumisisaldus võib multši või väetisena kasutamisel mulla kvaliteeti parandada (Rojo-Poveda, 2020).

2 Eksperimentaalne osa

Eksperimentaalse osa eesmärkideks oli:

- Teostada kakaovella ja kakaopulbri alkaliseerimist erinevatel režiimidel, määrata nende tumeduse taset;
- Valmistada erinevate alkaliseeritud kakaovella kontsentratsioonidega kakaopulbri ja kakaovella segud;
- Valmistada kakaojoogid alkaliseeritud kakaovellat ja kakaopulbrit sisalduvate segudega;
- Valmistada šokolaadid alkaliseeritud kakaovellat ja kakaopulbrit sisalduvate segudega;
- Teostada kakaojookide ja šokolaadide sensoorset analüüsi;
- Määrata alkaliseeritud kakaovella füüsikalisi-keemilisi näite (pH ja osakeste läbimõõt);
- Leida optimaalne alkaliseerimise režiim tuginedes läbiviidud uuringutele.

2.1 Materjalid ja meetodid

Materjalid

Kakaovella ja kakaopulber (alkaliseerimata) saadi Panamir OÜst (Keila, Eesti). Alkaliseerimiseks kasutatud söögisooda (NaHCO_3) osteti kohalikult kaubandusest (Bashkir Soda Company AS, Leedu). Kakaojookide ja šokolaadide valmistamiseks kasutati lisaks kakaovellale ja kakaopulbrile ka kaubandusest ostetud suhkrut ja tuhksuhkrut (Montemar OÜ, Eesti), soola ja tšilli pipart (Santa Maria AS, Estonia) ning vanilliekstrakti ja piima (Tere AS, Eesti). Letsitiin ja kakaovõi saadi Orkla Eesti AS-st (Põrguvälja, Eesti).

Meetodid

Alkaliseerimine

Tuginedes peatükis 1.6 toodud uuringutele, valiti erinevaid kakaovella alkaliseerimise režiime. Alkaliseerimiseks kasutati söögisoodat (NaHCO_3) kontsentratsioonides 1, 2 ja 4%. Alkaliseerimise temperatuurivahemik oli 105 – 120 °C ja uuriti normaal- ja ülerõhu (ca 1,02 atm) mõju .

Iga režiimi katsetamiseks võeti 25 grammi kohviveskis (Philips, Jaapan) purustatud kakaovellat ja lisati 1, 2 või 4% söögisoodat. Iga proovile lisati 130 grammi kraanivett ja proovid asetati kindlaks ajaperioodiks kuivatusahju MOV-112F (Sanyo, Jaapan) või autoklaavi DX-90 (Systec, Saksamaa) kindlale temperatuurile ja rõhule.

Pärast alkaliseerimist jahutati proovid toatemperatuurini ja asetati kuivatusahju 60 °C juurde 20 tunniks kuivama.

Värvus

Alkalseeritud kakaovella ja kakaopulbri värvuse mõõtmiseks kasutati spektrofotomeetrit CM-700d (Konica Minolta, Jaapan). Mõõdeti L väärtust, mis näitab tumeduse ja heleduse taset (0 – must, 100 – valge).

pH

Alkalseeritud kakaovella pH mõõtmiseks kasutati pH-meetrit Seven Easy (Mettler Toledo). pH mõõtmiseks valmistati alkalseeritud kakaovella või kakaovella ja kakaopulbri segust 10% kontsentratsiooniga lahused destilleeritud veega. Enne mõõtmist lahused filtreeriti toatemperatuuril kasutades nutsüfiltrit.

Mikroskoopia

Alkalseeritud kakaovella ja kakaopulbri osakeste suuruste mõõtmiseks kasutati mikroskoopi Nikon Eclipse E200 (Nikon, Jaapan) suurendusega 40X. Andmed töödeldi ImageJ programmiga.

Kakaojookide valmistamine

Kakaojookide valmistamiseks kasutati patendis EP2174557A1 (2008) toodud meetodit. Kakaojookide valmistamiseks segati pulbrilised komponendid kokku, lisati keemiseni viidud piima ja filtreeriti jook läbi sõela.

Šokolaadide valmistamine

Šokolaadi valmistamiseks kasutati samuti patendis EP2174557A1 (2008) toodud meetodit. Selleks segati kõik pulbrilised komponendid kokku ning lisati juurde sulatatud kakaovõi. Segu valati konšeerimisseadmesse Ultra Perfect+ (Elgi Ultra Ltd, India). Konšeerimise aeg standard šokolaadi jaoks oli 7,5 tundi; 40% kakaovella kontsentratsiooniga šokolaadi jaoks 10 tundi. Pärast konšeerimise lõppu teostati šokolaadimassi tempereerimine tempereerimisseadmega Rev2B (ChocoVision, UK), kasutades režiimina tumeda šokolaadi režiimi. Tempereerimise lõppedes valati šokolaadimass vormidesse ning jahutati külmkapis +6 °C juures 15 minutit. Jahtunud ja tahkestunud šokolaadi löödi vormist välja ja pakendati fooliumisse.

Sensoorne analüüs

Sensoorne analüüs viidi läbi ühe kakaoubade töötlemisega tegeleva ettevõtte töötajate seas. Esimesel degustatsioonil osales neli inimest, teisel degustatsioonil üks inimene (ettevõtte tehnoloog). Hinnati üldist meeldivust skaala järgi (1 – 5) ja soovi korral lisati kommentaarid. Proovide vahepeal pakuti igale assessorile klaas vett. Sensoorse analüüsi eesmärgiks oli selgitada välja missugune kakaojook ja šokolaad on assessorite arvates kõige parem.

Statistiline analüüs

Kõik mõõtmised antud eksperimentaalses töös tehti kolme paralleeliga ning arvutati aritmeetilist keskmist ja standardhälvet kasutades Excel (Microsoft Office 2016) programmi.

2.2 Tulemused ja arutelu

2.2.1 Erinevate alkaliseerimisrežiimide mõju kakaovella värvusele

Kakaovella alkaliseerimine normaalrõhul

Kakaovella alkaliseerimine viidi läbi kaheksa prooviga normaalrõhul, temperatuuril 105 °C, varieerides söögisooda kontsentratsiooni 1 – 2 % ja aega 5 – 70 minutit (Tabel 4).

Tabel 4. Kakaovella alkaliseerimine normaalrõhul

Proovi number	Söögisooda kontsentratsioon, %	Temperatuur, °C	Rõhk, atm	Aeg, min
1	2	105	1	70
2	1	105	1	70
3	2	105	1	30
4	1	105	1	30
5	2	105	1	10
6	1	105	1	10
7	2	105	1	5
8	1	105	1	5

Mõõdeti alkaliseeritud ja kuivatatud kakaovella proovide värvus (täpsemini, tumeduse ja heleduse tase, mida näitab spektrofotomeetri L^* väärtus). Tabelist 5 on näha, et tumedaim proov on number 1 ($L^* = 39,91 \pm 0,45$), kus oli kõrgem leelise kontsentratsioon ja kõige pikem töötusaeg. Heledaim proov on nr. 8 ($L^* = 42,56 \pm 0,42$), kus kasutati madalamat leelise kontsentratsiooni ja lühimat töötusaega. Sama aja jooksul alkaliseeritud kakaovella oli tumedam kui kasutati kõrgemat, 2% söögisooda kontsentratsiooni. Põhjuseks on see, et ühelt poolt moodustuvad polümeerid suhkru lagunemise (karamelliseerumise) tulemusena ja teiselt poolt toimuvad aminoühendite ja süsivesikute vahelised reaktsioonid (Maillard'i reaktsioonid) (vt peatükk 1.6). Võrreldes 1% ja 2% söögisooda kontsentratsiooniga proove, võib näha, et protsessi aja suurendamine tõstab samuti tumeduse taset. Lisaks on näha, et alkaliseerimine muudab kakaovella märgatavalt tumedamaks võrreldes alkaliseerimata prooviga.

Tabel 5. Normaalarõhul alkaliseeritud ja kuivatatud kakaovella L* väärtused

Proovi number	NaHCO ₃ kontsentratsioon, %	Alkaliseerimise aeg, min	L*
Alkaliseerimata kakaovella	-	-	52,36 ± 0,06 ^e
1	2	70	39,91 ± 0,45 ^a
2	1	70	42,21 ± 0,76 ^{cd}
3	2	30	40,92 ± 0,08 ^b
4	1	30	41,94 ± 0,62 ^{cd}
5	2	10	41,86 ± 0,24 ^c
6	1	10	42,17 ± 1,40 ^{bcd}
7	2	5	41,54 ± 0,18 ^c
8	1	5	42,56 ± 0,42 ^d

a,b,c,d,e – proovide vaheline statistiline erinevus

Kakaovella alkaliseerimine ülerõhul

Otsustati, et parimate tulemuste saamiseks on mõistlik rakendada alkaliseerimisel lisarõhku, kuna normaalarõhul tumedate proovide saamiseks peaks suurendama alkaliseerimise kestust ja söögisooda kontsentratsiooni, mis ei ole majanduslikust poolest ratsionaalne. Seega teostati kakaovella alkaliseerimist autoklaavis. Kõigepealt alkaliseeriti proove temperatuuril 110 °C 10 minutit varieerides söögisooda kontsentratsiooni – 2% ja 1% (vastavalt proovid nr 1 ja 2). Samuti alkaliseeriti kakaovella proove autoklaavis temperatuuril 120 °C 30 minutit varieerides sooda kontsentratsiooni – 2% ja 1% (vastavalt proovid nr 3 ja 4) ning 30 minuti jooksul temperatuuril 110 °C varieerides sooda kontsentratsiooni – 2% ja 4% (vastavalt proovid nr 5 ja 6).

Tabelis 6 on toodud autoklaavis alkaliseeritud ja kuivatatud kakaovellade L* väärtused.

Tabel 6. Alkaliseerimise tingimuste mõju autoklaavis alkaliseeritud kakaovella proovide L* väärtusele

Proovi number	NaHCO ₃ kontsentratsioon, %	Alkaliseerimise aeg, min	Temperatuur, °C	L*
1	2	10	110	47,61 ± 0,14 ^a
2	1	10	110	48,51 ± 0,08 ^b

3	2	30	120	35,81 ± 1,19 ^c
4	1	30	120	35,91 ± 1,25 ^c
5	2	30	110	47,63 ± 0,15 ^a
6	4	30	110	45,68 ± 0,17 ^d

a,b,c,d – proovide vaheline statistiline erinevus

Tabelist 6 on näha, et kõige tumedam on proov nr. 3, mis on alkaliseeritud temperatuuril 120 °C 30 minuti jooksul, söögisooda kontsentratsiooniga 2% (vt Joonis 3). Analüüsid antud tabelit võib samuti märgata, et protsessi kestus ei mõjuta kakaovella tumedusele oluliselt (võrreldes omavahel proovid 1 ja 5 on näha, et aja pikendamine kolmekordselt ei muuda proovi tumedamaks). Aga kui lisaks ajale suurendada temperatuuri 10 °C võrra, siis tumedus tõuseb 32% võrra (võrreldes proovid 1 ja 3). Võrreldes omavahel proovid 1 ja 2, 3 ja 4, 5 ja 6 on selge, et söögisooda kontsentratsiooni suurendamine ei mõjuta kakaovella tumedust oluliselt.



Joonis 3. A - alkaliseerimata kakaovella, B - kõige tumedam autoklaavis alkaliseeritud kakaovella (2% NaHCO₃, 120 °C, 30 minutit, ülerõhk)

Analüüsid joonisel 3 olevaid proove A ja B on näha märkimisväärne värvide erinevus alkaliseerimata ja kõige tõhusamal režiimil alkaliseeritud kakaovella proovide vahel. Võrreldes tabelis 5 olevat alkaliseerimata kakaovella tumeduse näitajat ($L^* = 52,36$) ja tabelis 6 kolmanda proovi tumeduse näitajat ($L^* = 35,81$) võib öelda, et alkaliseerimine antud režiimil (2% NaHCO₃, 120 °C, 30 minutit, ülerõhk) suurendab kakaovella tumedust 31,6% võrra.

2.2.2 Kakaovella ja kakaopulbri segu alkaliseerimine autoklaavis

Edaspidiselt otsustati uurida, missugune on tumeduse ja heleduse tase alkaliseeritud kakaopulbri ja kakaovella segul. Põhjuseks oli see, et üks võimalik kakaovella rakendusvaldkond on selle lisamine kakaopulbrisse. Teostati kakaopulbri ja kakaovella kahe segu alkaliseerimist autoklaavis 15 minuti jooksul temperatuuril 120 °C. Aja ja temperatuuri valik on põhjendatud sellega, et sooviti katsetada kõrgemat temperatuuri ja samas lühemat aega ning selle mõju värvile. Kasutatav kakaovella kontsentratsioon määrati vastavalt patendile (Patent nr EP2174557A1, 2008) ja oli segus 6,7%. Esimene segu sisaldas 2% söögisoodat, teine segu 1% söögisoodat.

Tabelis 7 on toodud autoklaavis alkaliseeritud kakaovella ja kakaopulbri segude L* väärtused.

Tabel 7. Leelise kontsentratsiooni mõju autoklaavis alkaliseeritud kakaovella ja kakaopulbri segude L* väärtusele

Proovi number	NaHCO ₃ kontsentratsioon, %	Alkaliseerimise aeg, min	Temperatuur, °C	L* väärtus
Alkaliseerimata kakaopulber	-	-	-	57,35 ± 0,49 ^c
1	2	15	120	44,48 ± 0,15 ^a
2	1	15	120	46,44 ± 0,15 ^b

a,b,c – proovide vaheline statistiline erinevus

Analüüsid tabelit 7 leiti, et tumedama proovi annab suurem sooda kontsentratsiooniga alkaliseerimine (proov nr. 1). Kakaovella alkaliseerimine autoklaavis koos kakaopulbriga annab heledamaid proove. Põhjuseks võib olla see, et kakaooa kest (kakaovella) on õhuke materjal, mistõttu on alkaliseerimise toime kakaovellale tõhusam kui kakaopulbrile. Huvitav on veel see, et kakaovella alkaliseerimisel koos kakaopulbriga omab söögisooda kontsentratsioon suuremat mõju tumedusele. Antud nähtuse põhjuseks võib olla see, et söögisooda ei ole kõige sobilikum leelis kakaovella alkaliseerimiseks, aga kakaopulbri alkaliseerimiseks sobib see hästi. Kakaovella ja kakaopulbri segu alkaliseerimisel söögisooda kontsentratsiooni suurendamine 1%-st 2%-ni suurendab tumedust 4,4% võrra, aga kakaovella alkaliseerimisel ilma kakaopulbrita söögisooda kontsentratsiooni suurendamine 1%-st 2%-ni suurendab tumedust ainult 0,3% võrra. Üldiselt võib öelda, et kakaopulbri alkaliseerimine koos kakaovellaga annab tumedama proovi võrreldes alkaliseerimata kakaopulbri tumedusega.

2.2.3 Kakaovella ja kakaovella-kakaopulbri segude füüsikalise-keemilised omadused

Kuna optimaalse kakaovella alkaliseerimise režiimi kehtestamiseks on vajalikud ka füüsikalise-keemilised näitajad, otsustati mõõta alkaliseeritud kakaovella ning kakaovella ja kakaopulbri segude pH ja osakeste läbimõõtu. Kõrgem pH tähendab paremat alkaliseerimist, väiksem osakeste läbimõõtu on oluline kvaliteediaspekt kakaovellat sisaldavate toodete jaoks.

pH

Kakaovella pH-d mõõdeti valitud proovidel – need, mis said parimaid hinnanguid sensoorse analüüsi käigus või need, mis omavad optimaalset värvi (Tabel 8).

Tabelist on näha, et proovid on pigem happelised, aga rõhu, temperatuuri, aja ja söögisooda kontsentratsiooni suurendamisel muutuvad proovid rohkem leeliselisteks. Saadud tulemused on korrelatsioonis kakaopulbri alkaliseerimise kohta tehtud uuringutega (kui oletada, et alkaliseerimise mõju kakaovellale on sarnane mõjuga kakaopulbrile) (García, 2020).

Tabel 8. Alkaliseerimise tingimuste mõju kakaovella proovide pH-le

Proovi number	NaHCO ₃ kontsentratsioon, %	Alkaliseerimise aeg, min	Temperatuur, °C	Rõhk, atm	pH
Alkaliseerimata kakaovella	-	-	-	-	5,32 ± 0,06 ^e
1	2	10	110	1,02 (ülerõhk)	5,96 ± 0,03 ^a
2	1	30	105	1 (normaalrõhk)	5,54 ± 0,02 ^b
3	2	10	105	1 (normaalrõhk)	5,78 ± 0,03 ^c
4	1	10	105	1 (normaalrõhk)	5,43 ± 0,03 ^d
5	2	30	105	1 (normaalrõhk)	5,80 ± 0,08 ^c
6	2	30	110	1,02 (ülerõhk)	5,94 ± 0,03 ^a
7	4	30	110	1,02 (ülerõhk)	6,43 ± 0,05 ^d

a,b,c,d,e – proovide vaheline statistiline erinevus

Tabelis 8 toodud tulemuste põhjal nähtub, et kõige kõrgema pH-ga on proov nr. 7, mis on alkaliseeritud autoklaavis temperatuuril 110 °C 30 minuti jooksul kasutades 4% söögisoodat. Kõige väiksema pH-ga on proov nr. 4, mis on alkaliseeritud normaalrõhul temperatuuril 105 °C 10 minuti jooksul kasutades 1% söögisoodat. Võrreldes omavahel proove nr. 3 ja 5 on näha, et normaalrõhul alkaliseerimise aja kolmekordne suurendamine ei mõjuta oluliselt toote pH-d. Analoogselt on proovidega nr. 1 ja 6 – ka ülerõhul alkaliseerimise aja kolmekordne suurendamine ei mõjuta oluliselt toote pH-d. Võrreldes omavahel normaal- ja ülerõhul alkaliseeritud proovide pH-d on näha, et kõrgem pH on ülerõhul alkaliseeritud proovidel. Söögisooda kontsentratsiooni suurendamine kahekordselt suurendab pH-d, mida on näha võrreldes proove nr. 2 ja 5. Temperatuuri mõjust pH-le on keeruline midagi järeldada, kuna selle parameetri muutmine käis koos rõhu muutmisega. Seega võib öelda, et kõige suurem mõju pH-le on rõhu ja temperatuuri koostoimel (rõhu ja temperatuuri tõus suurendavad pH-d). Kõige väiksem mõju kakaovella pH-le on alkaliseerimise ajal. Üldiselt võib öelda, et alkaliseerimine suurendab kakaovella pH-d ehk muudab seeda rohkem leelisemaks, aga leebemate alkaliseerimise režiimide kasutamisel mitte nii märkimisväärselt.

pH väärtused mõõdeti ka alkaliseeritud kakaopulbri ja kakaovella segudel (Tabel 9). pH mõõtmiseks võeti proovid, mis alkaliseeriti autoklaavis 15 minuti jooksul temperatuuril 120 °C.

Tabel 9. Alkaliseeritud kakaopulbri ja kakaovella segude pH-d

Proovi number	NaHCO ₃ kontsentratsioon, %	pH
Alkaliseerimata kakaopulber	-	5,70 ± 0,06
8	2	7,20 ± 0,05
9	1	6,32 ± 0,08

Tabelist 9 on näha, et kõige suurema pH-ga on proov nr. 8, mis on alkaliseeritud autoklaavis temperatuuril 120 °C 15 minuti jooksul kasutades 2% söögisooda kontsentratsiooni. Seega tõstab söögisooda kontsentratsiooni suurendamine pH väärtust. Võrreldes antud tulemusi tabeli 8 näitajatega on näha, et kakaovella alkaliseerimine koos kakaopulbriga annab kõrgema pH-ga proovid, kui kakaovella alkaliseerimine ilma kakaopulbrita. Võrreldes tabelitest 8 ja 9 saadud andmeid võib näha, et alkaliseerimata kakaopulber on leeliselisem aine kui kakaovella, aga samas kasutati selle jaoks ka tõhusamaid režiime ja seega pH-d on ka kõrgemad. Samuti on näha, et alkaliseeritud kakaopulbri ja kakaovella segu on tunduvalt aluselisemad kui alkaliseerimata kakaopulber.

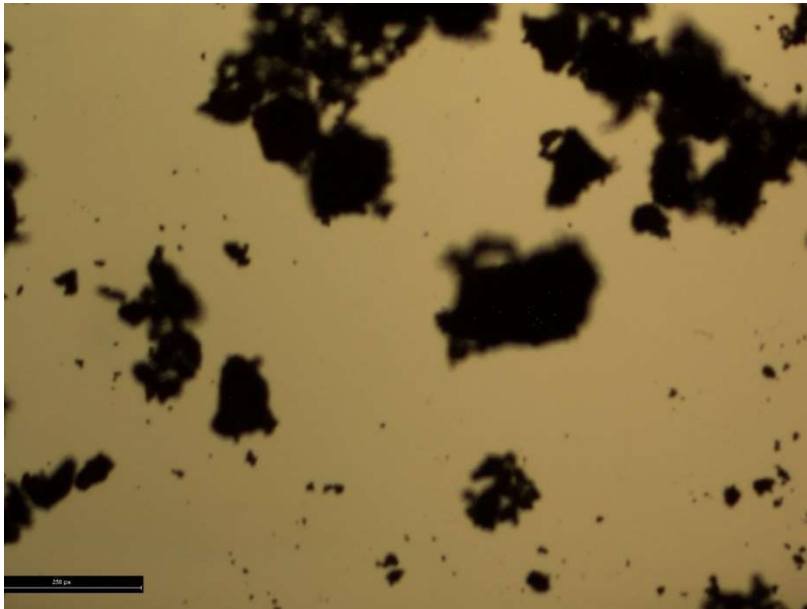
Osakeste läbimõõt

Sarnaselt pH-ga mõõdeti kakaovella ning kakaopulbri ja kakaovella segu osakeste läbimõõtu valitud proovidel, mis said parimaid hinnanguid sensoorse analüüsi käigus või mis omavad optimaalset värvi (Tabel 10).

Tabel 10. Alkaliseeritud kakaovella (1-4) ja alkaliseeritud kakaovella ja kakaopulbri segu (5-6) osakeste suurused

Proovi number	NaHCO ₃ kontsentratsioon, %	Alkaliseerimise aeg, min	Temperatuur, °C	Rõhk, atm	Keskmine osakeste suurus (läbimõõt), µm
1	1	10	105	1 (normaalrõhk)	45,39 ± 0,95 ^a
2	1	30	120	1,02 (ülerõhk)	45,95 ± 2,80 ^{ab}
3	2	30	120	1,02 (ülerõhk)	44,63 ± 2,84 ^{ab}
4	2	30	110	1,02 (ülerõhk)	41,93 ± 1,94 ^{bc}
5	2	15	120	1,02 (ülerõhk)	40,25 ± 1,51 ^{bc}
6	1	15	120	1,02 (ülerõhk)	38,85 ± 1,16 ^c

Tabelist 10 on näha, et osakeste suurused jäid vahemikku 38,85 – 45,95 μm ning väikseima osakeste läbimõõduga oli proov nr. 6 (Joonis 4), mida alkaliseeriti autoklaavis temperatuuril 120 °C 15 minuti jooksul kasutades 1% soodalahust. Joonist vaadates võib näha, et kakaopulbri ja kakaovella osakeste kujud on ebaühtlased ja osakeste servad on teravad. Saadud tulemusest järeldati, et alkaliseerimine ei mõjuta oluliselt osakeste läbimõõtu, arvatavasti on sellel teised põhjused, näiteks jõu rakendamine kakaovella kohviveskis peenestamiseks, ning aeg, mille jooksul seda tehakse.



Joonis 4. Väiksema keskmise läbimõõduga alkaliseeritud kakaovella ja kakaopulbri proov ($D = 38,85 \mu\text{m}$).

2.2.4 Kakaojookide väljatöötamine ja sensoorne analüüs

Kakaojookide väljatöötamine esimeseks degustatsiooniks

Valmistati neli erinevat alkaliseeritud kakaopulbri ja kakaovella segu. Uuriti erinevalt alkaliseeritud kakaovella sobivust ning kakaovella kontsentratsiooni mõju kakaojookide sensorsetele omadustele. Esimene proov (nr. 1) valmistati kakaovellast, mida alkaliseeriti 2% söögisoodaga autoklaavis 30 minutit temperatuuril 110 °C. Teine segu (proov nr. 2) valmistati 2% söögisoodaga autoklaavis 10 minutit ja 110 °C juures alkaliseeritud kakaovellast. Mõlemad segud sisaldasid 6% kakaovellat ehk lisati 94 grammi kakaopulbrit ja 6 grammi alkaliseeritud kakaovellat. Kolmas segu (proov nr. 3) valmistati kasutades 2% söögisoodaga autoklaavis 10 minuti ja 110 °C juures alkaliseeritud kakaovellat, mida lisati 20% kogu segu massist, ehk 80 grammi kakaopulbrit ja 20 grammi kakaovellat. Neljas segu (proov nr. 4) valmistati 1% söögisoodaga normaalarõhul temperatuuril 105 °C 10 minuti jooksul alkaliseeritud kakaovellast. Kakaovella kontsentratsioon segus oli 40%. Segude valiku põhjendus oli selline, et autor soovis kasutada kakaojookide valmistamiseks heledamaid kakaovella proove, kuna kakaojookide juures tumedus pole nii oluline kui, näiteks, šokolaadide juures. Lisaks, sooviti näha kui palju on võimalik kakaopulbrit kakaovellaga asendada, seega varieeriti kakaovella kontsentratsiooni kakaopulbris. Üldiselt kakaojookide juures oli olulisem uurida, kui palju võiks kasutada kakaovellat

nende valmistamiseks ilma maitse muutumiseta; alkaliseerimise tõhusus ei omanud siinkohal nii suurt tähtsust.

Ettevalmistatud segud kasutati edaspidiselt kakaojookide valmistamiseks üldise retsepti järgi (vt Tabel 11).

Tabel 11. Kakaojoogi esimese degusteerimise retsept

Kakaopulbri ja kakaovella segu, g	6,27%
Suhkur, g	27,08%
Tuhksuhkur, g	10,09%
Sool, g	0,13%
Tšili pipar, g	0,01%
Vanilliekstrakt, g	0,01%
Piim, g	62,68%

Tabelis 12 on toodud esimeseks degustatsiooniks väljatöötatud kakaojookide sensorsete omaduste tulemused.

Tabel 12. Esimese degustatsiooni jaoks väljatöötatud kakaojookide sensoorse analüüsi tulemused

Kakaojoogi proovi nr	Alkaliseerimise režiim; kakaovella kontsentratsioon kakaojoogi valmistamiseks kasutatud kakaovella ja kakaopulbri segus	Keskmine hinne (skaalal 1-5)	Kommentaariid
1	30 min, 110 °C, ülerõhk, 2%; 6% kakaovellat segus (alkaliseerimata kakaopulber)	4	Kakaovellalt tulenevat teralisust pole selgelt tunda; liiga magus.
2	10 min, 110 °C, ülerõhk, 2%; 6% kakaovellat segus (alkaliseerimata kakaopulber)	4	Teralisust pole tunda; esimese prooviga võrreldes suuri erinevusi ei esine.
3	10 min, 110 °C, ülerõhk, 2%; 20% kakaovellat segus (alkaliseerimata kakaopulber)	4	Vähene teralisus ja intensiivsem šokolaadi maitse.
4	10 min, 110 °C, normaalrõhk, 1%; 40% kakaovellat segus (alkaliseerimata kakaopulber)	3,3	Kõrge teralisus; murule iseloomulikku kõrvalmaitse esinemine.

Analüüsid kakaovoogi puhul saadud tulemusi, tuldi järeldusele, et kakaovella kontsentratsioon kakaopulbris peab olema väiksem kui 20%, kuna selle sisalduse juures on juba tunda teralisust, mis oli assessorite jaoks vastuvõetamatu. Võrreldes omavahel kasutatud alkaliseerimise režiime on näha, et alkaliseerimise parameetrite muutmine ei mõjuta oluliselt kakajookide sensoorseid omadusi, siiski kakaovella kontsentratsioonil on nendele rohkem mõju.

Kakajookide valmistamine teiseks degustatsiooniks

Ka teiseks degustatsiooniks valmistati neli erinevat kakajooki. Esimese degustatsiooni retsept oli muudetud, ehk suhkrut enam ei kasutanud, samuti suurendati soola, maitseainete ning piima sisaldust. Retsepti muutmise põhjuseks oli see, et eelmisel degustatsioonil oli märgatud, et kakajookis on tunda liiga palju magusust, aga teisi komponente on raske märgata (Tabel 13).

Esimene kakajook valmistati kasutades autoklaavitud kakaovellat (30 minutit, 110 °C, 2% söögisooda kontsentratsiooniga). Teine kakajook valmistati kasutades autoklaavitud kakaovellat (30 minutit, 110 °C, 4% söögisooda kontsentratsiooniga). Esimese ja teise kakajooki puhul kakaovella kontsentratsioon kakaopulbri ja kakaovella segus oli 10%, ning kasutatud kakaopulber oli alkaliseerimata. Kolmas kakajook valmistati autoklaavis alkaliseeritud kakaopulbri ja kakaovella segu (15 minutit, 120 °C, 1% söögisooda kontsentratsiooniga). Neljas kakajook valmistati autoklaavis alkaliseeritud kakaopulbri ja kakaovella segu (15 minutit, 120 °C, 2% söögisooda kontsentratsiooniga). Kolmanda ja neljanda kakajooki valmistamiseks kasutati alkaliseeritud kakaopulbri ja kakaovella segu, milles kakaovella kontsentratsioon oli 6,7%.

Tabel 13. Kakajooki teise degusteerimise retsept

Kakaopulbri ja kakaovella segu, g	7,92% (esimese ja teise kakajooki puhul: 7,13% on kakaopulbrit, 6,31% on kakaovellat)
Tuhksuhkur, g	12,74%
Sool, g	0,16%
Tšili pipar, g	0,02%
Vanilliekstrakt, g	0,02%
Piim, g	79,15%

Tabelis 14 on toodud teiseks degustatsiooniks väljatöötatud kakaojookide sensoorsete omaduste tulemused.

Tabel 14. Teiseks degustatsiooniks väljatöötatud kakaojookide sensoorse analüüsi tulemused

Kakajoogi proovi nr	Alkaliseerimise režiim; kakaovella kontsentratsioon kakajoogi valmistamiseks kasutatud kakaovella ja kakaopulbri segus	Keskmine hinne (skaalal 1-5)	Kommentaariid
1	30 min, 110 °C, ülerõhk, 2%; 10% kakaovellat segus (alkaliseerimata kakaopulber)	4	On tunda kakaovellat, maitse on nõrgem, kui proovil nr. 2
2	30 min, 110 °C, ülerõhk, 4%; 10% kakaovellat segus (alkaliseerimata kakaopulber)	5	Puuduvad
3	15 min, 120 °C, ülerõhk, 1%; 6,7% kakaovellat segus (alkaliseeritud kakaopulber)	4	Puuduvad
4	15 min, 120 °C, ülerõhk, 2%; 6,7% kakaovellat segus (alkaliseeritud kakaopulber)	3	Puuduvad

Analüüsidest tabelist 14 saadud andmeid tuldi järeldusele, et parima hinnangu sai kakaojook, mis oli valmistatud 30 minuti jooksul temperatuuril 110 °C söögisooda kontsentratsiooniga 4% autoklaavitud kakaovellat kasutades. Alkaliseeritud kakaovella kontsentratsioon kakaopulbri ja kakaovella segus oli 10%. Võrreldes omavahel proove nr. 1 ja 2 on näha, et ühe parameetri muutmine (söögisooda kontsentratsiooni suurendamine kahekordselt) tõstis kakajoogi meeldivust. Samas, võrreldes omavahel proove nr. 3 ja 4 on näha, et söögisooda kontsentratsiooni suurendamine vähendas kahekordselt kakajoogi meeldivust. Üldiselt on päris keeruline näha seaduspärasust, kuidas mõjutab alkaliseerimise režiim kakaojookide sensoorseid omadusi. Kõige madalama hinnangu sai kakaojook nr. 4, mis oli valmistatud kasutades kakaopulbri ja kakaovella segu, mis oli koos alkaliseeritud ülerõhul 15 minuti jooksul temperatuuril 120 °C söögisooda kontsentratsiooniga 2%, ning kakaovella kontsentratsioon segus oli 6,7%. Nii madala hinnangu (hinne „3“) põhjuseks võib olla see, et koos alkaliseeritud kakaopulber ja kakaovella ei ole sobilik segu kakaojookide valmistamiseks. Seda tõestab keskmine hinne kakaojookidele, mida valmistati kasutades koos alkaliseeritud kakaopulbri ja kakaovella segu ja see on „3,5“, aga kakaojookidele, mida valmistati kasutades alkaliseerimata kakaopulbri ja alkaliieritud kakaovella segust on keskmine hinne „4,5“. Samuti võivad sensoorseid omadusi mõjutada ka sellised tegurid nagu kakajoogi konsistents või kakajoogi temperatuur.

2.2.5 Šokolaadide valmistamine kakaopulbri ja kakaovella segust

Järgmisena otsustati uurida alkaliseeritud kakaovella sobivust šokolaadi valmistamiseks ning kakaovella kontsentratsiooni mõju šokolaadi sensorsetele omadustele. Valmistati nelja erineva kakaovella kontsentratsiooniga šokolaadid vastavalt patendis (Patent nr EP2174557A1, 2008) toodud retseptile (Tabel 15). Retseptis olev dekstroos asendati tuhksuhkruga. Šokolaadide valmistamiseks kasutati kakaovellat, mis oli alkaliseeritud järgmisel režiimil: aeg – 30 minutit; temperatuur – 110 °C; suurendatud rõhk (autoklaavi kasutamine); söögisooda kontsentratsioon – 1%.

Tabel 15. Erineva alkaliseeritud kakaovella sisaldusega šokolaadide retseptid

	Retsept nr 1	Retsept nr 2	Retsept nr 3	Retsept nr 4
	Standard šokolaad (ilma kakaovellata)	6,7% kakaovella kontsentratsiooniga šokolaad	20% kakaovella kontsentratsiooniga šokolaad	40% kakaovella kontsentratsiooniga šokolaad
Suhkur, %	54,72	54,72	54,72	54,72
Tuhksuhkur, %	20,37	20,37	20,37	20,37
Alkaliseerimata kakaopulber, %	12,67	11,82	10,13	7,60
Alkaliseeritud kakaovella, %	0	0,85	2,53	5,07
Sool, %	0,28	0,28	0,28	0,28
Tšili pipar, %	0,02	0,02	0,02	0,02
Vanilliekstrakt, %	0,02	0,02	0,02	0,02
Kakaovõi, %	11,30	11,30	11,30	11,30
Letsitiin, %	0,61	0,61	0,61	0,61

Joonisel 5 on toodud erineva kakaovella sisaldusega šokolaaditahvlid. Piltidelt on näha, et kakaovella kontsentratsiooni suurenemisega šokolaadis toote värv oluliselt ei muutu. Ainult 40% kakaovella kontsentratsiooniga šokolaad on nähtavalt tumedam, kui teised šokolaadid, mis viib sellele, et alkaliseeritud kakaovella kasutamine aitab saavutada tumedama toote värvi.



Joonis 5. Šokolaaditahvlid: A – 0% kakaovellat, B – 6,7% kakaovellat, C - 20% kakaovellat, D - 40% kakaovellat

Analüüsid šokolaadi puhul saadud tulemusi järeldati, et üldine hinnang autori poolt valmistatud šokolaadile on rahuldav, aga mitte hea. Lisaks tundsid assessorid kõikides šokolaadi proovides (v.a.

ilma kakaovellata proov) teralisust. Kakaovella kontsentratsiooni suurenemisega oli teralisust tunda hammaste vahel ning esines kakaovellale iseloomulik kõrvalmaitse. Parima hinnangu sai šokolaad, mis oli valmistatud teise retsepti järgi (vt Tabel 16), ehk 6,7% kakaovella sisaldusega. Halvimad hinnangud said esimese ja kolmanda retsepti järgi valmistatud šokolaadid.

Tabel 16. Šokolaadide sensoorse analüüsi tulemused

Šokolaadi proovi nr	Kakaovella kontsentratsioon šokolaadis	Keskmine hinne (skaalal 1-5)	Kommentaariid
1	Standard šokolaad (ilma kakaovellata)	3	Kõrge teralisus; krudiseb.
2	6,7% kakaovella kontsentratsiooniga šokolaad	3,7	Kõrge teralisus; krudiseb.
3	20% kakaovella kontsentratsiooniga šokolaad	3	Kakaovella on tunda hammaste vahel; kõrge teralisus
4	40% kakaovella kontsentratsiooniga šokolaad	3,3	Sarnane prooviga nr. 2; kakaovellale iseloomuliku kõrvalmaitse esinemine.

Järeldused

1. Kakaovella ja kakaopulbri töötlemise peamine eesmärk on tumeda värvusega pulbrite saamine.
 - a. Alkaliseeritud kakaovella värvuse spektrofotomeetriline mõõtmine näitas, et kõige tumedama värvusega ($L^* = 35,81$) kakaovella saamiseks optimaalne alkaliseerimise režiim on järgmine: aeg – 30 minutit; temperatuur – 120 °C; rõhk – 1,02 atm (autoklaavi kasutamine); söögisooda kontsentratsioon – 2%.
 - b. Kõige tumedama värvusega ($L^* = 44,48$) kakaovella ja kakaopulbri segu (kakaovella kontsentratsioon segus 6,7%) saamiseks optimaalne alkaliseerimise režiim on järgmine: aeg – 15 minutit; temperatuur – 120 °C; rõhk – 1,02 atm (autoklaavi kasutamine); söögisooda kontsentratsioon – 2%.
2. Üks kakaovella ja kakaopulbri alkaliseerimise eesmärkidest on vähendada nende happelisust.
 - a. Kõige sobivam režiim kõrgeima pH-ga kakaovella saamiseks on järgmine: aeg – 30 minutit; temperatuur – 110 °C; rõhk – 1,02 atm (autoklaavi kasutamine); söögisooda kontsentratsioon – 4%. Alkaliseeritud kakaovella pH antud režiimil oli 6,43.
 - b. Kõige sobivam režiim kõrgeima pH-ga kakaovella ja kakaopulbri segu saamiseks on järgmine: aeg – 15 minutit; temperatuur – 120 °C; rõhk – 1,02 atm (autoklaavi kasutamine); söögisooda kontsentratsioon – 2%. Sellisel juhul pH oli 7,2.
3. Veel üks kakaovella ja kakaopulbri alkaliseerimise oluline eesmärk on väiksema läbimõõduga osakeste saamine. Kõige väiksem osakeste läbimõõt oli fikseeritud kakaovella ja kakaopulbri segul, mida alkaliseeriti järgmisel režiimil: aeg – 15 minutit; temperatuur – 120 °C; rõhk – 1,02 atm (autoklaavi kasutamine); söögisooda kontsentratsioon – 1%. Antud juhul osakeste keskmine läbimõõt oli 38,85 µm. See tulemus näitab, et alkaliseerimise tõhusus ei ole otseselt seotud osakeste suuruse vähendamisega.
4. Töö raames valmistati kakaojookid ja šokolaadid kasutades alkaliseeritud kakaovellat ja kakaopulbrit varieerides kakaovella kontsentratsiooni tootes. Läbiviidud kakaojookide ja šokolaadide sensoorne analüüs näitas, et:
 - a. kakaojooki valmistamiseks optimaalne alkaliseeritud kakaovella kontsentratsioon kakaopulbri ja kakaovella segus on 10%;
 - b. kakaovella kontsentratsiooni suurendamisel kakaojookis on tunda teralisust ja murule iseloomulikku kõrvalmaitset;
 - c. parima hinnangu (hinne 5) saanud kakaojook oli valmistatud kasutades kakaovellat alkaliseeritud järgmisel režiimil: aeg – 30 minutit; temperatuur – 110 °C; rõhk – 1,02 atm (autoklaavi kasutamine); söögisooda kontsentratsioon – 4%;
 - d. kakaovellat sisaldavate šokolaadidele üldine hinnang on rahuldav;
 - e. šokolaadi valmistamiseks optimaalne alkaliseeritud kakaovella kontsentratsioon kakaopulbri ja kakaovella segus on 6,7% või vähemalt alla 20%, kuna suurem kontsentratsioon annab juba kakaovella kõrvalmaitset.

Magistritöö teostamisel tekkisid autoril mõtted teema edasiuurimiseks:

1. Proovida kasutada teistsugust leelist (näiteks, NaOH või CaCO_3) ja varieerida selle kontsentratsiooni tumedama ja vähem happelise kakaovella saamiseks.

2. Selleks, et vähendada teralisust kakaovellaga kakaojookides ja šokolaadis võib arendada ja täiustada kakaovella jahvatusmeetodeid.
3. Lisada alkaliseeritud kakaovellat muude kondiitri- ja šokolaaditoodete sisse (näiteks, halvaa või šokolaadikommid) ja hinnata selliste toodete sensoorseid omadusi.
4. Määrata vitamiinide, mineraalainete, polüfenoolide ja flavanoolide sisaldust alkaliseeritud kakaopulbris, mis sisaldab kindlat kogust alkaliseeritud kakaovellat, kasutades mingisugust instrumentaalset analüüsi meetodit, ning võrrelda samasuguste näitajatega alkaliseeritud kakaopulbril, mis ei sisalda alkaliseeritud kakaovellat.

Kokkuvõte

Käesoleva magistritöö eesmärgiks oli kakaoubade töötlemise kõrvalprodukti kakaovella optimaalse alkaliseerimise režiimi kehtestamine.

Kakaopulbri alkaliseerimine on oluline kakaoubade töötlemise tehnoloogiline protsess, mille peamised eesmärgid on kakaopulbri lahustuvuse paranemine, maitseprofiili muutmine ja värvi tumendamine. Soovitud toote saamiseks tuleb pöörata tähelepanu järgmistele alkaliseerimise protsessi muutujatele: leelise tüüp ja kontsentratsioon, veesisaldus, temperatuur, rõhk, alkaliseerimise kestus ja aeratsioon. Kakaovella on üks kakao tootmise kõrvalproduktidest, millel on kõrge potentsiaal alkaliseerimiseks ja edaspidiseks kasutamiseks. Selle põhjusteks on protsessi majanduslik efektiivsus ning kakaovella kõrge toitumisalane väärtus. Viimane sisaldab märkimisväärses koguses polüfenoole, vitamiini D, kaltsiumi, fosfori, kiudaineid ja aminohappeid. Tänu kakaovella rikkalikule toiteväärtusele võib selle tarbimine positiivselt mõjutada inimese tervist, näiteks toimida antibakteriaalselt, viiruse-, põletiku- ja diabeedivastasel.

Magistritöös teostati kakaovella ning kakaovella ja kakaopulbri segu alkaliseerimine erinevatel režiimidel varieerides leelise kontsentratsiooni, protsessi aega, temperatuuri ja rõhku. Määrati spektrofotomeetriliselt alkaliseeritud kakaovella, ning kakaovella ja kakaopulbri segu värvused (tumeduse tase). Kõige tumedam alkaliseeritud kakaovella proov oli järgmisel režiimil: aeg – 30 minutit; temperatuur – 120 °C; ülerõhk (autoklaavi kasutamine); söögisooda kontsentratsioon – 2%. Alkaliseeritud kakaovella lisamine alkaliseerimata kakaopulbrisse tumendab lõplikku pulbri värvust. Kakaovella alkaliseerimine koos kakaopulbriga samal režiimil, v.a. aeg oli kaks korda lühem, andis oluliselt heledamaid proove.

Töö teostamisel leiti, et kõige aluselisem, mis oli lähedane neutraalsele (pH = 6,43), oli kakaovella proov, mida alkaliseeriti temperatuuril 110 °C 30 minutit autoklaavis (ülerõhul), ning söögisooda kontsentratsiooniga 4%. Samuti uuriti osakeste läbimõõdu sõltuvust alkaliseerimise režiimist ja järeldati, et see sõltub arvatavasti pigem jahvatamise tüübist, intensiivsusest ja ajast, aga mitte alkaliseerimise parameetritest.

Alkaliseeritud kakaovellast ja kakaopulbrist valmistati kakaojoogid ja šokolaadid varieerides kakaovella kontsentratsiooni ja kasutatud alkaliseerimise režiimi. Antud kakaojooke ja šokolaade degusteerisid ühe kakao tootmisega tegeleva ettevõtte töötajad. Üldine hinnang väljatöötatud kakaojookide retseptidele oli hea, aga kakaovella kontsentratsiooni suurendamisega märgati juba ebameeldivat teralisust. Šokolaadide osas oli hinnang rahuldav, kõikide kakaovella kontsentratsioonide juures tunti teralisust ja krudisust hammaste vahel. Seega kakaovella lisamine šokolaadi nõuab veel tehnoloogia arendamist.

Üldine hinnang kakaovellale kui kõrge potentsiaaliga kõrvalproduktile, on positiivne. Tõepoolest, optimaalse kakaovella alkaliseerimise režiimi kasutamine ja sobivas kontsentratsioonis konkreetse toote sisse lisamine võib soodustada soovitud tehnoloogiliste eesmärkide saavutamist.

Abstract

Determination of the alkalization regime of cocoa shells and development of technology for its further use

The aim of this Master's thesis was to establish an optimal alkalization regimen for the cocoa shells, a by-product derived from the processing of cocoa beans.

Alkalization of cocoa powder is an important technological method during the processing of cocoa beans. Alkalization's main objectives are: to improve the solubility of the cocoa powder, to change the taste profile and to darken the color. In order to obtain the desired product, the following variables of the alkalization process must be considered: alkali type and concentration, water content, temperature, pressure, alkalization time and aeration. One of the by-products of cocoa beans processing are cocoa shells that has a high potential to be alkalized and further used. This is due to the economic efficiency of the process and the high nutritional value of cocoa shells. The shells contain significant amount of polyphenols, vitamin D, calcium, phosphorus, fiber and amino acids. Due to the rich nutritional value of cocoa shells, its consumption can have a positive effect on human health, for example, it has antibacterial, anti-viral, anti-inflammatory and anti-diabetic effects.

During the Master's research project, alkalization of cocoa shells was established: a mixture of cocoa shells and cocoa powder was set up in different modes by varying the alkali concentration, process time, temperature and pressure. The colors of alkalized cocoa shells and the mixture of cocoa powder with the alkalized cocoa shells were determined using spectrophotometer. The darkest sample of alkalized cocoa shells was noted when the following settings were applied: time = 30 minutes; temperature = 120 ° C; overpressure (use of autoclave); baking soda concentration = 2%. The addition of alkalized cocoa shells to the non-alkalized cocoa powder darkens the final color of the powder. While the same settings were applied for alkalization of cocoa shells with cocoa powder as for the cocoa powder (except the time that was twice as short), the former resulted in significantly lighter samples.

In the course of work, the most alkaline sample (which was close to neutral, pH = 6.43), was found to be cocoa shells, which was alkalized at 110°C for 30 minutes in an autoclave (overpressure) and with a baking soda, concentration of 4%. The dependence of the particle diameter on the alkalization regimen was also investigated and it was concluded that it probably depends on the type, intensity and time of milling rather than the alkalization parameters.

Cocoa beverages and chocolates were prepared from alkalized cocoa shells and cocoa powder by varying the concentration of cocoa shells and the alkalization regimen used. These cocoa drinks and chocolates were tasted by the employees of one of the cocoa production company. The overall evaluation of the developed recipes for cocoa drinks was good, but with increasing the concentration of cocoa shells, unpleasant granularity was already noticed. In case of chocolates, the evaluation was satisfactory. Thus, the addition of cocoa shells to chocolate requires further technological development.

The overall evaluation of cocoa shells as a high-potential by-product is positive. Indeed, the use of an optimal alkalization regime for cocoa shells and the incorporation of the appropriate concentration in a particular product can contribute to the desired technological goals.

Kasutatud kirjanduse loetelu

- Aculey, P. C. (2010). Ghanaian Cocoa Bean Fermentation Characterized by Spectroscopic and Chromatographic Methods and Chemometrics. *J Food Sci* 75.
- Adebowale, B. O. (2008). Growth Response of *Clarias gariepinus* juvenile to Cocoa Husk Endocarp Based Diets. *International Journal of Aquaculture*.
- Afoakwa, E. O. (2008). Flavor Formation and Character in Cocoa and Chocolate: A Critical Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
- Afoakwa, E. Q. (2011). Chemical composition and physical quality characteristics of Ghanaian cocoa beans as affected by pulp pre-conditioning and fermentation. *J Food Sci Technol*.
- Alimentarius., C. (1981). Codex standard for cocoa powders.
- Andújar, I. R.-L. (2012). Cocoa Polyphenols and Their Potential Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.
- Aprotosoai, A. L. (2016). Flavor Chemistry of Cocoa and Cocoa Products—An Overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*.
- Arranz, S. V.-M.-B.-S.-R. (2013). Cardioprotective effects of cocoa: Clinical evidence from randomized clinical intervention trials in humans. *Mol. Nutr. Food*.
- Baah, F. A. (2011). A review of Cocoa Research Institute of Ghana extension activities and the management of cocoa pests and diseases in Ghana. *AMERICAN JOURNAL OF SOCIAL AND MANAGEMENT SCIENCES*.
- Baigrie, B. D. (1994). Cocoa flavour. rmt: *Understanding Natural Flavors*. Chapman & Hall.
- Balentic, J. P. (2018). Cocoa Shell: A By-Product with Great Potential for Wide Application. *MDPI*.
- Beckett, S. (2008). *The Science of Chocolate*. Royal Society of Chemistry.
- Beg, M. S. (2017). Status, supply chain and processing of cocoa - A review. *Trends in Food Science & Technology*.
- Beg, M. S. (2017). Status, supply chain and processing of cocoa - A review. *Trends in Food Science and Technology*.
- Bernaert, H. B. (2012). Industrial Treatment of Cocoa in Chocolate Production: Health Implications. rmt: *Chocolate and Health*.

- Caligiani, A. C. (2007). GC-MS Detection of Chiral Markers in Cocoa Beans of Different Quality and Geographic Origin. *Chirality* 19.
- Caligiani, A. M. (2016). Cocoa: Production, Chemistry, and Use. rmt: *Encyclopedia of Food and Health*.
- Camu, N. D. (2008). Fermentation of cocoa beans: influence of microbial activities and polyphenol concentrations on the flavour of chocolate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Coe, S. C. (2007). *The True History of Chocolate*. Thames and Hudson London.
- Coultate, T. (2009). *Food: The Chemistry of its Components*. Royal Society of Chemistry.
- Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*.
- Desch, S. K. (2009). Effect of Cocoa Products on Blood Pressure: Systematic Review and Meta-Analysis. *American Journal of Hypertension*.
- Diomande, D. A. (2015). Multi-element, multi-compound isotope profiling as a means to distinguish the geographical and varietal origin of fermented cocoa (*Theobroma cacao* L.) beans. *Food Chemistry*.
- Dyer, B. (2003). Alkalized Cocoa Powders. *The Manufacturing Confectioner*.
- Ellis, L. D. (1992). *Patent nr US5114730A*.
- Emiola, I., Ojebiyi, O., & Akande, T. (2011). Performance and Organ Weights of Laying Hens Fed Diets Containing Graded Levels of Sun-dried Cocoa Bean Shell (CBS) . *International Journal of Poultry Science*.
- García, D. V. (2020). Changes in cocoa properties induced by the alkalization process: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*.
- García, D. V. (2020). Changes in cocoa properties induced by the alkalization process: A review. *Compr Rev Food Sci Food Saf*.
- Germann, D. S. (2019). Formation and Characterization of Polyphenol-Derived Red Chromophores. Enhancing the Color of Processed Cocoa Powders: Part 1. *J. Agric. Food Chem*.
- Gibson, M. N. (2018). Chocolate/Cacao. rmt: *Food Science and the Culinary Arts*.
- Grivetti, L. E.-Y. (2011). *Chocolate: History, Culture, and Heritage*. John Wiley & Sons.
- Guehi, S. T.-K. (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*.
- Guehi, T. S.-K. (2010). Performance of different fermentation methods and the effect of their duration on the quality of raw cocoa beans. *International Journal of Food Science and Technology*.

- Guil-Guerrero, J., Ramos, L., Moreno, C., Zúñiga-Paredes, J., Carlosama-Yopez, M., & Ruales, P. (2016). Antimicrobial activity of plant-food by-products: A review focusing on the tropics. *Livestock Science*.
- Handojo, L. T. (2019). Cocoa bean shell waste as potential raw material for dietary fiber powder. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*.
- Hansen, C. E. (2000). Comparison of enzyme activities involved in flavour precursor formation in unfermented beans of different cocoa genotypes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Henderson, J. J. (2007). Chemical and archaeological evidence for the earliest cacao beverages. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
- Ho, V. T. (2013). Yeasts are essential for cocoa bean fermentation. *International Journal of Food Microbiology*.
- Holkar, C. R. (2019). A critical review on the possible remediation of sediment in cocoa/coffee flavored milk. *Trends in Food Science & Technology*.
- Ioannone, F. D. (2014). Flavanols, proanthocyanidins and antioxidant activity changes during cocoa (*Theobroma cacao* L.) roasting as affected by temperature and time of processing. *Food Chemistry*.
- Ismail, A., & Yee, C. (2006). Antioxidative Effects of Extracts of Cocoa Shell, Roselle Seeds and a Combination of Both Extracts on the Susceptibility of Cooked Beef to Lipid Oxidation. *Journal of Food Technology*.
- Jahurul, M. H. (2012). Cocoa butter fats and possibilities of substitution in food products concerning cocoa varieties, alternative sources, extraction methods, composition, and characteristics. *Journal of Food Engineering*.
- Jati, M. J. (2005). Changes in polyphenol ability to produce astringency during roasting of cocoa liquor. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Jolic', S. M. (2011). Changes of phenolic compounds and antioxidant capacity in cocoa beans processing. *International Journal of Food Science and Technology*.
- Jozinovic, A. B. (2018). Cocoa husk application in the enrichment of extruded snack products. *Journal of Food Processing and Preservation*.
- Jumnongpon, R. C. (2012). Cocoa protein crosslinking using Maillard chemistry. *Food chemistry*.
- Keen, K. L. (2005). Cocoa antioxidants and cardiovascular health. *American Society for Clinical Nutrition*.
- Kopp, G. M. (2010). *Patent nr EP2241190A1*.
- Kothe, L. Z. (2013). Temperature influences epimerization and composition of flavanol monomers, dimers and trimers during cocoa bean roasting. *Food Chemistry*.

- Li, Y. Z. (2014). Influence of Alkalization Treatment on the Color Quality and the Total Phenolic and Anthocyanin Contents in Cocoa Powder. *Food Science and Biotechnology*.
- Lippi, G. F. (2008). Dark chocolate: Consumption for pleasure or therapy? *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*.
- Magistrelli, D., Zanchi, R., Malagutti, L., Galassi, G., Canzi, E., & Rosi, F. (2016). Effects of Cocoa Husk Feeding on the Composition of Swine Intestinal Microbiota. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Mancini, G., Papirio, S., Lens, P., & Esposito, G. (2016). Effect of N-methylmorpholine-N-oxide Pretreatment on Biogas Production from Rice Straw, Cocoa Shell, and Hazelnut Skin. *Environmental Engineering Science*.
- Martin, M. A. (2013). *Potential for preventive effects of cocoa and cocoa polyphenols in cancer*. Food Res Int.
- Martin, M. A. (2016). Antidiabetic actions of cocoa flavanols. *Mol. Nutr. Food Res*.
- Martin, M. A., & Ramos, S. (2016). Cocoa polyphenols in oxidative stress: Potential health implications. *Journal of Functional Foods*.
- Mc Gee, H. (2004). *On Food and Cooking: The Science and Lore of the Kitchen*. New York: Charles Scribner's Sons.
- Mc Shea, A. R.-P. (2008). Clinical benefit and preservation of flavonols in dark chocolate manufacturing. *Nutrition Reviews*.
- Nair Prabhakaran, K. P. (2010). *The Agronomy and Economy of Important Tree Crops of the Developing World*. Heidelberg, New York, London: Elsevier.
- Nazaruddin, R. O. (2006). Influence of roasting conditions on volatile flavor of roasted malaysian cocoa beans. *Journal of Food Processing and Preservation*.
- Nehlig, A. (2013). The neuroprotective effects of cocoa flavanol and its. *British Journal of Clinical Pharmacology*.
- Nsor-Atindana, J., Zhong, F., & Mothibe, K. (2012). In vitro hypoglycemic and cholesterol lowering effects of dietary fiber prepared from cocoa (*Theobroma cacao* L.) shells. *Food Funct*.
- Nutridata Toidu Koostise Andmebaas*. (2021). Allikas: tka.nutridata.ee.
- Ohene, E. A. (2016). *Chocolate Science and Technology*. John Wiley & Sons.
- Ooshima, T., Osaka, Y., Sasaki, H., Osawa, K., Yasuda, H., Matsumura, M., . . . Matsumoto, M. (2000). Caries inhibitory activity of cacao bean husk extract in in-vitro and animal experiments. *Archives of Oral Biology*.
- Plaza-Recobert, M. T.-C.-M. (2017). Preparation of binderless activated carbon monoliths from cocoa bean husk. *Microporous and Mesoporous Materials*.

- Rodríguez, P. P. (2009). Effect of types and concentrations of alkali on the color of cocoa liquor. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Rojo-Poveda, O. B.-P. (2020). Cocoa Bean Shell—A By-Product with Nutritional Properties and Biofunctional Potential. *MDPI*.
- Sarriá, B. M.-L.-C.-D. (2015). Effects of bioactive constituents in functional cocoa products on cardiovascular health in humans. *Food Chemistry*.
- Schramm, D. W. (2001). Chocolate procyanidins decrease the leukotriene-prostacyclin ratio in humans and human aortic endothelial cells. *Am J Clin Nutr*.
- Schwan, R. F. (2004). The Microbiology of Cocoa Fermentation and its Role in Chocolate Quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
- tka.nutridata.ee*. (kuupäev puudub). Allikas: Nutridata Toidu Koostise Andmebaas: <https://tka.nutridata.ee/et/toidud/12022>
- Trout, R. B. (2001). *Patent nr EP1278428B1*.
- Vaclavik, V. C. (2014). *Essentials of Food Science*. Springer.
- Vásquez, Z. S. (2019). Biotechnological approaches for cocoa waste management: A review. *Elsevier*.
- Wiant, M. J. (1989). *Patent nr US5009917A*.
- Wissgott, U. (1988). *Patent nr US4784866A*.
- Zuurbier, R. B. (2008). *Patent nr EP2174557A1*.
- Медведева, А. (2007). *Производство конфет и шоколада: технологии, оборудование, рецептуры*. Санкт-Петербург: Издательство ДНК.