

# NÂNG CAO HIỆU SUẤT THU HỒI CAFFEINE TỪ BỘT CÀ PHÊ RANG XAY BẰNG TIỀN XỬ LÝ VỚI ENZYME CELLULASE, TRÍCH LI BẰNG DUNG MÔI NƯỚC NÓNG CÓ ÁP SUẤT CAO VÀ KHÍ CO<sub>2</sub>

Giang Kiến Quốc<sup>1</sup>, Lâm Mộng Thúy<sup>2</sup>, Phan Thế Duy<sup>3</sup>

## ENHANCEMENT OF CAFFEINE RECOVERY FROM ROASTED COFFEE POWDER BY ENZYME CELLULASE PRETREATMENT, HOT-WATER EXTRACTION AND CO<sub>2</sub>-ADDING

Giang Kien Quoc<sup>1</sup>, Lam Mong Thuy<sup>2</sup>, Phan The Duy<sup>3</sup>

**Tóm tắt** – Hiệu suất thu hồi caffeine trong quá trình trích li bằng dung môi nước nóng có áp suất cao đã được khảo sát nhằm tìm điều kiện thu hồi được lượng caffeine tối đa trong bột cà phê rang xay. Bên cạnh đó, để hỗ trợ cho quá trình trích li bằng dung môi nước nóng có áp suất cao, quá trình tiền xử lý bột cà phê rang xay bằng enzyme cellulase cũng được áp dụng và đã chứng minh được vai trò hỗ trợ của enzyme trong việc nâng cao hiệu quả trích li caffeine. Khí CO<sub>2</sub> có thể tham gia vào quá trình trích li với vai trò thay đổi được độ pH của dung môi nước ở nhiệt độ cũng được áp dụng và thu được những kết quả tích cực. Với sự có mặt của enzyme cellulase ở giá trị 8 UI/g, thời gian tiền xử lý là 90 phút; với quá trình trích li ở nhiệt

độ 110°C và thời gian trích li là 10 phút, hiệu suất thu hồi caffeine có thể đạt đến  $96,36 \pm 2,56\%$ .

**Từ khóa:** caffeine, CO<sub>2</sub>, dung môi nước nóng, enzyme cellulase, tiền xử lý.

**Abstract** – The efficiency of caffeine recovery during extraction with high-pressure hot-water solvent was investigated to find out the conditions for maximum caffeine recovery in roasted coffee powder. In addition, to support the extraction process with high-pressure hot-water solvent, cellulase enzyme pretreatment of roasted coffee powder is also applied and has demonstrated the supporting role of the enzyme in improving caffeine extraction efficiency. CO<sub>2</sub> can participate in the extraction process with the role of changing the pH of the solvent at the high temperature and obtained positive results. In the presence of the enzyme cellulase at a value of 8 UI/g, the pretreatment time was 90 minutes; the extraction process performed at 110°C for temperature and 10 min for the extraction time, the efficiency

<sup>1,2</sup>Trường Đại học Trà Vinh

<sup>3</sup>Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP. Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài: 15/9/2020; Ngày nhận kết quả bình duyệt: 30/11/2020; Ngày chấp nhận đăng: 25/12/2020

Email: gkquoc@tvu.edu.vn

<sup>1,2</sup>Tra Vinh University

<sup>3</sup>Ho Chi Minh City University of Food Industry

Received date: 15<sup>th</sup> September 2020; Revised date: 30<sup>th</sup> November 2020; Accepted date: 25<sup>th</sup> December 2020

of caffeine recovery can reach  $96,36 \pm 2,56\%$ .

**Keywords:** *caffeine, CO<sub>2</sub>-adding, cellulase enzyme, hot-water extraction pre-treatment.*

## I. GIỚI THIỆU

Cà phê là cây công nghiệp quan trọng và có giá trị kinh tế đối với các quốc gia nhiệt đới, trong đó có Việt Nam. Hiện nay, cà phê trong nước có giá trị xuất khẩu đứng hàng thứ hai trên thế giới [1]. Cà phê không chỉ được sử dụng rộng rãi trong ngành công nghiệp thức uống mà nó còn được ứng dụng trong các ngành công nghệ bánh kẹo và hầu như các sản phẩm chứa cà phê đều được sử dụng ở dạng hòa tan. Tuy nhiên, vấn đề trích li các chất hòa tan (caffeine) có trong hạt cà phê gặp trở ngại lớn nếu sử dụng phương pháp trích li thông thường. Có nghĩa là một lượng lớn các chất hòa tan có giá trị vẫn còn nằm lại trong bã sau quá trình tách chiết. Nguyên nhân làm hạn chế trích li cà phê hòa tan là sự cản trở chủ yếu do hai thành phần pectin và cellulose có trong cà phê gây nên [2], [3]. Hai thành phần này chiếm tỉ lệ lớn và có cấu trúc sinh học khá bền vững. Cấu trúc này bền vững hơn khi ở trạng thái mất nước, chúng chỉ có thể bị phá hủy khi dùng các tác nhân axit, bazơ mạnh hay sử dụng chế phẩm vi sinh vật để phá hủy thành phần pectin và cellulose trong hạt cà phê chưa rang.

Do đó, vấn đề thu hồi triệt để các hợp chất hòa tan trong hạt (bột) cà phê đã được đặt ra với một tầm quan trọng lớn, có sức ảnh hưởng đến yếu tố kinh tế của các ngành sản xuất thực phẩm có liên quan.

## II. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

Việt Nam đã có nhiều nhóm nghiên cứu của các trường đại học lớn đã tiến hành nghiên cứu ứng dụng nhiều phương pháp trích li khác nhau với nhiều loại dung môi khác nhau nhằm đạt được mục tiêu như đề ra, có thể kể đến là ứng dụng vi sóng trong quá trình trích li caffeine với dung môi là nước [2], [3]. Bên cạnh đó, phương pháp trích li với CO<sub>2</sub> siêu tới hạn cũng đã được áp dụng nhằm tách caffeine cho quá trình đánh giá chất lượng của các loại cà phê hiện nay trên thị trường Việt Nam [4]. Kết quả thu được cho thấy, màng tế bào cellulose là một cản trở lớn cần phải khắc phục nếu muốn thu nhận được triệt để lượng caffeine có trong hạt (bột) cà phê. Điều này có thể giải quyết được với các loại enzyme. Và do điều kiện hoạt động của nó cũng rất phù hợp với những điều kiện trích li caffeine nên nó có thể trở thành một yếu tố tham gia vào quá trình thu hồi caffeine trong bột cà phê. Nhằm tăng hiệu suất thu hồi hoạt chất trong quá trình trích li, các nhóm nghiên cứu cũng đã sử dụng enzyme cho quá trình tiền xử lí [5].

Trích li với sự hỗ trợ enzyme có thể khắc phục được những hạn chế của các phương pháp thông thường. Đây là một cách tiếp cận xanh và giúp giảm các vấn đề liên quan đến môi trường trong vấn đề trích li. Các enzyme được sử dụng phổ biến nhất để trích li các hợp chất có hoạt tính sinh học là cellulase, hemicellulase và pectinase. Enzyme cellulase được áp dụng khá rộng rãi với nhiều đối tượng khác nhau như xử lí nguyên liệu trà trong công nghiệp sản xuất trà đóng chai uống liền [6], [7]. Trích li được sự hỗ trợ enzyme chủ yếu phụ thuộc vào khả năng của các enzyme

để thủy phân các thành phần vách tế bào và phá vỡ sự phức tạp về cấu trúc của vách tế bào. Các quá trình này cho phép giải phóng dễ dàng một lượng lớn các hợp chất quan tâm [8]. Cơ chế mà enzyme thủy phân vách tế bào bằng cách hình thành phức hợp liên kết cơ chất enzyme. Enzyme liên kết cơ chất với sự thay đổi về hình dạng của enzyme cho phép tương tác tốt hơn với cơ chất. Những thay đổi này gây ra các lực nén và kéo đối với các cơ chất, từ đó, nó thúc đẩy các phản ứng thủy phân [9]. Trong quá trình trích li với hỗ trợ của enzyme, các điều kiện hoạt động như nhiệt độ của phản ứng, pH của môi trường, nồng độ enzyme, kích thước hạt của nguyên liệu và thời gian chiết là rất quan trọng. Việc sử dụng phức hợp enzyme thích hợp phá vỡ liên kết của vật liệu không mong muốn và giải phóng hợp chất quan tâm trong môi trường nước. Từ đó, nó nâng cao hiệu suất thu hồi hoạt chất quan tâm.

Hiện nay, quá trình trích li có sự hỗ trợ của quá trình tiền xử lý enzyme đang được sử dụng rất nhiều trong các lĩnh vực khác nhau có liên quan. Tuy nhiên, để đạt được hiệu quả cao, chúng ta cần phải xem xét thêm các quá trình theo sau đó như quá trình khử các chất hòa tan vào môi trường nước, tái sử dụng enzyme. Quá trình trích li caffeine (hay giai đoạn hai trong quá trình chế biến cà phê hòa tan – khử các chất hòa tan trong cà phê), dung môi nước ở điều kiện cận tới hạn (có nhiệt độ từ  $130^{\circ}\text{C}$  đến  $170^{\circ}\text{C}$ , áp suất trong khoảng 10 MPa) được sử dụng. Quá trình này nhằm phân riêng và thu hồi các hợp chất có hoạt tính sinh học trong các loại thực vật nói chung, hay caffeine từ cà phê rang xay, nó có ảnh hưởng đến đối tượng được quan tâm cũng như các chất nền đang có mặt. Với dung môi là nước, khi ở nhiệt độ trên

điểm sôi ( $100^{\circ}\text{C}$ ) nhưng áp suất được điều chỉnh để giữ nước ở thể lỏng, các đặc tính hóa lý của nước sẽ thay đổi một cách rõ rệt. Khi đó, dung môi nước có khả năng hoạt động giống như một dung môi hữu cơ, nó có thể hòa tan được hầu hết các chất hóa học có độ phân cực từ trung bình đến thấp [10]. Ở những điều kiện như thế, quá trình trích li được xem như một quá trình sản xuất xanh hơn, hiện tại đang nhận được rất nhiều sự quan tâm nhằm thay thế các quá trình trích li cổ điển khác. Khi ứng dụng, việc bổ sung hay thu hồi các hợp chất đang quan tâm cũng không cần thiết nữa; đồng thời, nó có tiện lợi đối với các đối tượng đang có độ ẩm cao [11] như sản phẩm cà phê rang xay sau quá trình tiền xử lý với phức chất enzyme. Để tăng hiệu quả quá trình trích li, chúng ta có thể sử dụng dung môi nước nóng như trên với giới hạn về nhiệt độ và áp suất thấp nhằm đảm bảo tính an toàn và đáp ứng được những điều kiện về cơ sở vật chất hiện có, nhưng tính chất hóa lý của dung môi nước nóng sẽ được gia tăng bằng cách bổ sung thêm  $\text{CO}_2$ . Sự hiện diện của  $\text{CO}_2$  có thể hình thành nên acid carbonic mang tính xúc tác cho các phản ứng tự thủy phân [11] - [14]. Hunter and Savage [12] đã sử dụng được hỗn hợp nước và  $\text{CO}_2$  ở nhiệt độ  $300^{\circ}\text{C}$  như một loại xúc tác axit cho phản ứng loại nước nhằm tạo ra cyclohexene từ cyclohexanol. Thêm vào đó,  $\text{CO}_2$  có thể dễ dàng tách ra khỏi sản phẩm thu nhận được nhờ sự giảm áp suất đến điều kiện bình thường, do đó không có vấn đề đối với sự nhiễm bẩn hay ô nhiễm dung môi hữu cơ.

Việc sử dụng hỗ trợ của enzyme trong quá trình xử lý nhân cà phê trong quá trình rang xay đã được nghiên cứu và ứng dụng nhằm nâng cao hiệu quả xử lý cho giai đoạn đầu của quá trình chế biến. Tuy

nhiên, việc đánh giá sự hỗ trợ này có ảnh hưởng đến giai đoạn trích li caffeine (giai đoạn hai trong quy trình chế biến) thì chưa được đặt ra; điều này có ý nghĩa rất lớn khi xem xét trong quy trình sản xuất cà phê hòa tan. Do đó, chúng ta cần phải đánh giá khả năng hỗ trợ của enzyme trong vấn đề này; bên cạnh đó, quá trình trích li với dung môi nước nóng (hot-water extraction) được nghiên cứu ứng dụng nhằm nâng cao hiệu quả cho quá trình trích li cũng như nâng cao hiệu suất cho toàn bộ quy trình sản xuất cà phê hòa tan.

### III. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### A. Vật liệu

Hạt cà phê được chọn là loại Rubusta. Hạt được thu mua tại thành phố Bảo Lộc (tỉnh Lâm Đồng), sau khi lựa chọn hạt tốt nhất, quá trình rang và xay được thực hiện mà không bổ sung bất kỳ một loại phụ gia nào (bơ, màu). Khối lượng nguyên liệu được dự kiến vừa đủ cho toàn bộ các thí nghiệm dự kiến, sau khi rang xay, bột cà phê nguyên liệu được bảo quản trong túi zip ở nhiệt độ mát trong phòng. Enzyme cellulase được cung cấp bởi Hãng Santa Cruz (Mỹ), loại enzyme này có nguồn gốc từ nấm *Aspergillus niger*.

#### B. Phương pháp tiền xử lí với enzyme

Cân 10 g bột cà phê rang xay, chuyển vào bình tam giác 250 ml; tỉ lệ cà phê và nước sử dụng là 1 : 4. Hỗn hợp trên được bổ sung enzyme cellulase ở các giá trị 0, 8, 12, 16, 20 UI/g và thời gian ủ là 30, 60, 90, 120 phút; hỗn hợp được giữ ổn định 45°C. Sau thời gian ủ, toàn bộ hỗn hợp sẽ được chuyển sang giai đoạn trích li caffeine ở

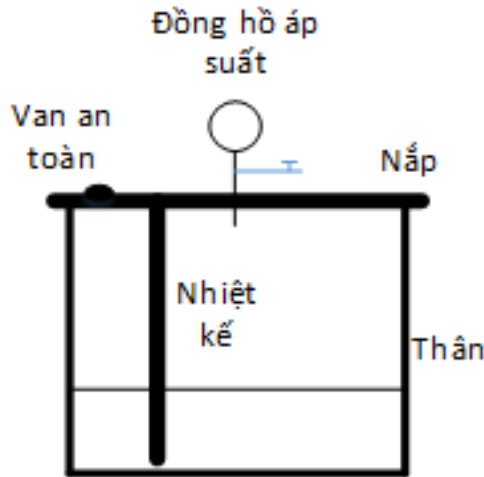
90°C trong 30 phút. Sau đó, mẫu được để nguội, li tâm ở tốc độ 4000 rpm, thời gian 10 phút. Chúng tôi tiến hành phân tích nồng độ caffeine trong dịch thu được sau li tâm. Mẫu đối chứng được tiến hành theo các bước trên nhưng không bổ sung enzyme cellulase, sau đó xác định hàm lượng caffeine của dịch sau khi li tâm.

#### C. Phương pháp trích li bằng nước nóng áp suất cao và nước nóng áp suất cao kết hợp CO<sub>2</sub>

Các thí nghiệm này được tiến hành trên thiết bị được thiết kế và chế tạo bởi phòng thí nghiệm (Hình 1). Thiết bị có thể tích 5 lít, được gắn các thiết bị như đồng hồ đo áp suất, nhiệt kế điện tử, van an toàn. Khả năng làm việc của thiết bị này được thiết kế làm việc tại mức 5 kg/cm<sup>2</sup> và nhiệt độ tối đa 125°C. Hỗn hợp bột cà phê rang xay sau khi được tiền xử lí với enzyme, được bổ sung thêm H<sub>2</sub>O nhằm đạt được tỉ lệ rắn/lỏng theo như thiết kế thí nghiệm để tiến hành quá trình trích li caffeine. Quá trình trích li caffeine này được thực hiện theo mẻ và theo ba hướng thực nghiệm như sau: (1) trích li bằng dung môi nước nóng áp suất cao với bột cà phê không có tiền xử lí enzyme; (2) trích li bằng dung môi nước nóng áp suất cao với bột cà phê đã được tiền xử lí enzyme; (3) trích li bằng dung môi nước nóng có sự bổ sung CO<sub>2</sub> với bột cà phê không có hoặc đã có tiền xử lí với enzyme.

Các yếu tố ảnh hưởng trong phương pháp bao gồm: đặc tính của nguồn nguyên liệu (bột cà phê rang xay không có hoặc có tiền xử lí với enzyme cellulase; nhiệt độ nước nóng, thời gian, áp suất hệ thống trích li). Các yếu tố này sẽ được lần lượt

khảo sát nhằm xác định các điều kiện tối ưu cho quá trình trên trích li đang khảo sát. Dịch thu được sau quá trình trích li được đưa đi xác định hàm lượng caffeine.



Hình 1: Cấu tạo thiết bị trích li nước nóng, áp suất cao

#### D. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Kết quả thực nghiệm được nhập liệu bằng Microsoft Excel và phân tích bằng phần mềm Minitab 16. Mỗi thí nghiệm được thực hiện với ba lần lặp lại. Sau đó, chúng tôi sử dụng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA), hệ số biến động (CV) và so sánh trung bình sự khác biệt kiểm định Tukey.

## IV. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### A. Vai trò của enzyme cellulase trong quá trình tiền xử lý

Bảng 1 cho thấy mối quan hệ giữa thời gian ủ và nồng độ enzyme đến hiệu quả

của quá trình trích li caffeine. Bên cạnh đó, kết quả phân tích phương sai hai yếu tố (ANOVA) cho thấy yếu tố thời gian ủ, nồng độ enzyme ảnh hưởng có ý nghĩa đến hiệu suất thu hồi caffeine của mẫu cà phê rang xay ( $p < 0,05$ ). Đồng thời, mỗi tương tác thời gian ủ \* nồng độ enzyme cũng ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm lượng caffeine thu hồi được. Từ kết quả phân tích trên,

Bảng 1: Hiệu suất thu hồi caffeine sau quá trình tiền xử lý với enzyme

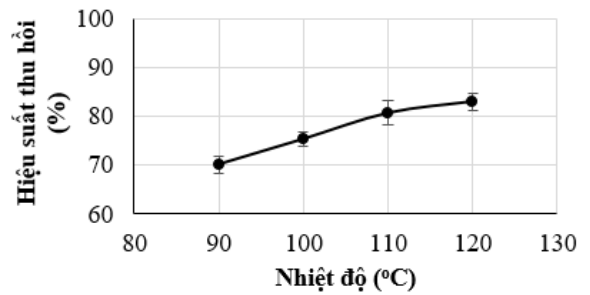
Thời gian (phút)	Nồng độ Enzyme (UI/g)	Hiệu suất thu hồi (%)
30	8	75,04±0,29
	12	76,05±0,58
	16	77,39±0,87
	20	78,06±0,29
60	8	78,22±0,58
	12	81,57±0,77
	16	85,76±0,58
	20	84,76±0,58
90	8	85,76±0,58
	12	88,27±0,29
	16	91,10±0,32
	20	91,12±0,48
120	8	86,26±0,29
	12	89,44±0,87
	16	90,29±0,28
	20	91,29±0,29

ta thấy, thời gian ủ enzyme và nồng độ enzyme có ảnh hưởng đến hiệu suất trích li caffeine. Hiệu suất đạt giá trị cao nhất ở nồng độ 20 UI/g, thời gian 120 phút là  $91,29 \pm 0,29\%$ . Điều này có thể giải thích, caffeine là hợp chất dễ tan trong

nước, trong điều kiện nước nóng, sự tan có thể tăng lên hàng chục lần. Do thành phần cấu trúc của hạt cà phê nghiền chủ yếu là cellulose và hemicellulose, sau khi rang xay, hạt bột cà phê có cấu trúc cứng, giòn. Vì vậy, để đạt được hiệu suất trích li tối ưu, sự hỗ trợ các yếu tố tác động lên cấu trúc của hạt cà phê nghiền là cần thiết. Kết quả nghiên cứu cho thấy, việc bổ sung enzyme, thời gian ủ ở nhiệt độ thích hợp  $45^{\circ}\text{C}$  có tác động tích cực lên mạch polysaccharide, giúp cho hiệu suất trích li caffeine tăng lên. Tuy nhiên, hiệu suất chỉ đạt ở mức  $91,10 \pm 0,32\%$ , ở nồng độ enzyme 16 UI/g và 90 phút ủ. Khi nồng độ enzyme tăng lên 20 UI/g thì hiệu suất là  $91,12 \pm 0,48\%$ , khác biệt không ý nghĩa so với 16 UI/g. Dịch cà phê trích li nhằm sản xuất cà phê hòa tan, nên cần chú ý đến điều kiện chất lượng, chọn thời gian ủ 60 – 90 phút là tốt nhất, vì nếu thời gian kéo dài sẽ ảnh hưởng đến các cấu tử hương có trong cà phê [15]. Vì vậy, thời gian ủ là 90 phút và nồng độ enzyme 16 UI/g là điều kiện thích hợp cho giai đoạn tiền xử lí trong các thí nghiệm sau.

### B. Vai trò của dung môi nước nóng với áp suất cao trong quá trình trích li

Khi sử dụng nước nóng với áp suất cao làm dung môi thu hồi caffeine, yếu tố nhiệt độ trích li ảnh hưởng rất lớn đến hiệu suất thu hồi. Yếu tố này được khảo sát với những điều kiện cố định như sau: tỉ lệ bột cà phê với dung môi là 1 : 4; áp suất trích li (áp suất dư) được duy trì trong thiết bị là  $0,5 \text{ kg/cm}^2$ ; thời gian lưu được giữ cố định là 10 phút khi khảo sát ảnh hưởng của yếu tố nhiệt độ (nhiệt độ được thay đổi ở bốn giá trị: 90, 100, 110 và  $120^{\circ}\text{C}$ ).



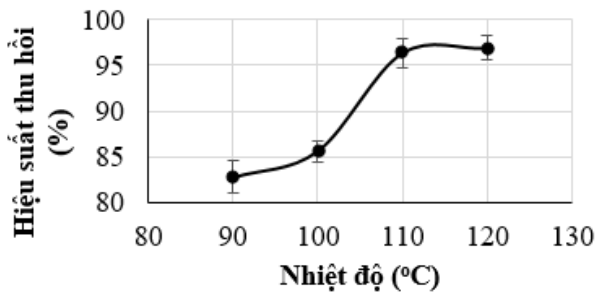
Hình 2: Ảnh hưởng của nhiệt độ dung môi nước nóng đến hiệu suất thu hồi caffeine

Kết quả từ Hình 2 cho thấy, khi tăng nhiệt độ từ  $90 - 110^{\circ}\text{C}$  thì hiệu suất tăng từ  $70,10 \pm 1,81$  đến  $80,67 \pm 1,85\%$ , có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Điều này cho thấy, vai trò của nước nóng ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi rất lớn. Nhưng khi nhiệt độ nước tăng đến  $120^{\circ}\text{C}$ , hiệu suất thu hồi có tăng nhưng khác biệt không ý nghĩa so với các điều kiện nhỏ hơn. Điều này có thể giải thích được thời gian lưu (10 phút) chưa đạt được đến mức có thể thay đổi hiệu suất trích li hoặc hàm lượng caffeine thu hồi trong dung dịch đã được đến mức cân bằng.

### C. Ảnh hưởng của quá trình tiền xử lí bằng enzyme đến hiệu quả trích li caffeine bằng dung môi nước nóng với áp suất cao

Với mục tiêu là nâng cao hiệu suất thu hồi caffeine từ bột cà phê rang xay trong quá trình trích li với nước nóng có áp suất cao, quá trình tiền xử lí cà phê bột với enzyme cellulase đã được áp dụng. Điều kiện sử dụng enzyme được sử dụng giống như ở trên nhưng để chứng minh rõ hiệu quả sử dụng, lượng enzyme được sử dụng chỉ có 8 UI/g trong điều kiện là 30 phút.

Quá trình trích li tiếp theo cũng được khảo sát giống như khảo sát ở trên.

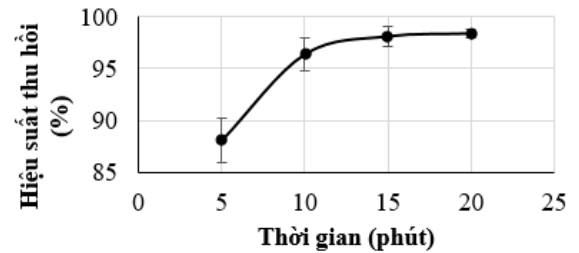


Hình 3: Ảnh hưởng của nhiệt độ dung môi nước nóng đến hiệu suất thu hồi caffeine với bột cà phê đã được tiền xử lí

Dựa vào kết quả thu được ở Hình 3, khi nhiệt độ từ 90°C đến 110°C, hiệu suất thu hồi tăng từ  $82,76 \pm 3,51$  đến  $96,36 \pm 2,56\%$ , có sự khác biệt nhiều về mặt thống kê ( $p < 0,05$ ). Điều này cho thấy, vai trò của quá trình tiền xử lí enzyme cellulase ảnh hưởng lớn đến hiệu suất thu hồi caffeine của quá trình trích li bằng dung môi nước nóng có áp suất cao tiếp theo. Cũng như kết quả thu được ở trên, khi nhiệt độ dung môi nước nóng tăng đến 120°C, sự thay đổi hiệu suất có tăng nhưng khác biệt không ý nghĩa ( $p > 0,05$ ). Điều này có thể giải thích được thời gian lưu (10 phút) chưa đạt được đến mức có thể thay đổi hiệu suất trích li.

Do đó, yếu tố thời gian trích li cũng được khảo sát để đánh giá sự ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi caffeine. Điều kiện khảo sát cũng được sử dụng giống như trên, nhưng nhiệt độ trích li được cố định ở 110°C, trong khi đó, thời gian sẽ được thay đổi ở bốn giá trị khác nhau như sau: 5, 10, 15 và 20 phút.

Dựa vào kết quả thu được ở Hình 4, ta



Hình 4: Ảnh hưởng của thời gian trích li đến hiệu suất thu hồi caffeine từ bột cà phê đã được tiền xử lí

thấy hiệu suất thu hồi caffeine giữa các nghiệm thức ở áp suất 0,5 kg/cm<sup>2</sup>, nhiệt độ trích li cố định ở 110°C và thời gian lưu thay đổi 5 – 10 phút thì hiệu suất tăng thu hồi đạt từ  $88,13 \pm 2,12\%$  đến  $96,36 \pm 0,23\%$ , có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Điều này cho thấy vai trò của nước nóng có áp suất cao và thời gian lưu ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi rất lớn. Nhưng khi tăng thời gian lưu lên 10 – 15 phút, sự thay đổi hiệu suất có tăng nhưng khác biệt không ý nghĩa ( $p > 0,05$ ). Điều này có thể giải thích được thời gian lưu tăng và nhiệt độ tăng làm tăng hiệu suất thu hồi caffeine và có thể đã đạt được trạng thái nồng độ caffeine cân bằng trong hệ.

*D. Vai trò của CO<sub>2</sub> tham gia vào quá trình trích li với dung môi nước nóng với áp suất cao*

Khí CO<sub>2</sub> được sử dụng để thay thế không khí trong thiết bị trích li, như đã phân tích ở trên, sự có mặt của CO<sub>2</sub> có thể giúp điều chỉnh được pH của môi trường dung môi nước nóng. Từ đó, nó thúc đẩy các phản ứng thủy phân các mạch cellulose và thúc đẩy sự trích li caffeine. Hiệu

quả sử dụng  $CO_2$  được đánh giá thông qua sự khác biệt về hiệu suất thu hồi caffeine trong dịch chiết từ những điều kiện thí nghiệm khác nhau. Khí  $CO_2$  được bổ sung vào hệ thống trích li với dung môi nước nóng có áp suất cao với bột cà phê không có tiền xử lí với enzyme và đã được tiền xử lí với enzyme. Những điều kiện về quá trình tiền xử lí với enzyme và quá trình trích li với dung môi nước nóng có áp suất cao đều được sử dụng giống như những khảo sát riêng lẻ ở phía trên.

Bảng 2: Ảnh hưởng của sự có mặt  $CO_2$  đến hiệu suất thu hồi

Hiệu suất thu hồi (%)	Không có tiền xử lí		Có tiền xử lí	
	Không sử dụng $CO_2$	Có $CO_2$	Không sử dụng $CO_2$	Có $CO_2$
Lần 1	77,81	80,46	94,16	97,85
Lần 2	80,19	82,15	96,91	95,37
Lần 3	84,02	84,97	98,02	99,73
Trung bình	80,67± 2,56	82,53± 2,27	96,36± 1,62	97,65± 1,79

Hiệu suất thu hồi caffeine giữa các thí nghiệm này khác biệt không ý nghĩa nhiều về mặt thống kê ( $p > 0,05$ ). Điều này cho thấy tuy vai trò của  $CO_2$  trong điều kiện khảo sát này chưa đến mức ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi như mong đợi nhưng nó có vai trò tích cực khi tham gia vào quá trình trích li với những dạng nguyên liệu khác nhau. Điều này có thể giải thích được có thể lượng  $CO_2$  chưa đạt được đến mức có thể thay đổi giá trị pH của môi trường trích li. Do đó, vai trò xúc tác của  $CO_2$  bị hạn chế.

## V. KẾT LUẬN

Sự có mặt của enzyme cellulase, tác nhân tiền xử lí cho việc thu hồi caffeine trong quá trình trích li bằng dung môi nước nóng có áp suất cao, đã chứng minh

được hiệu quả cao. Nếu điều kiện thực hiện quá trình tiền xử lí được xác định là tỉ lệ bột cà phê với nước là 1 : 4, lượng enzyme tham gia là 8 UI/g, thời gian ủ là 90 phút thì hiệu suất caffeine có thể đạt được  $96,36 \pm 2,56\%$  ở quá trình trích li bằng dung môi nước nóng ở nhiệt độ  $110^\circ C$ , áp suất hệ thống trích li  $0,5 \text{ kg/cm}^2$ , thời gian lưu trong hệ thống trích li là 10 phút. Sự có mặt của  $CO_2$  trong hệ thống trích li cũng làm gia tăng hiệu suất thu hồi caffeine ở cả hai trường hợp bột cà phê chưa có hoặc đã có tiền xử lí với enzyme cellulase, nhưng giá trị thu hồi chưa có sự khác biệt có ý nghĩa, điều này có thể được giải thích do lượng  $CO_2$  tham gia vào chưa đủ để có được sự tác động thay đổi có ý nghĩa của hiệu suất thu hồi caffeine.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này do Trường Đại học Trà Vinh bảo trợ và cấp kinh phí theo Hợp đồng số: 302/HĐ.HĐKH-ĐHTV ngày 03/12/2019 của Ban Giám hiệu Trường Đại học Trà Vinh.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Bộ Nông nghiệp Mỹ (USDA). *Coffee*. World Markets and Trade; 2020.
- [2] Trần Quang Ngọc. *Nghiên cứu tách caffeine từ hạt cà phê bằng phương pháp trích li dung môi có hỗ trợ vi sóng* [Đồ án tốt nghiệp]. Trường Đại học Nha Trang. 2018.
- [3] Nguyễn Tiến Lực. *Nghiên cứu trích li hoạt chất caffeine từ cà phê bằng phương pháp vi sóng* [Đồ án tốt nghiệp]. Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Thành phố Hồ Chí Minh. 2016.



- [4] Nguyễn Phương Quyên, Nguyễn Thị Ngọc Tuyết, Lê Thị Kim Phụng, Phạm Thành Quân. Xác định hàm lượng caffeine và thành phần hương cà phê từ một số sản phẩm cà phê rang xay và hòa tan trên thị trường Việt Nam. *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ*. 2015; 18(K3):85–93.
- [5] Nguyễn Đức Lượng. *Công nghệ Enzyme*. TP. Hồ Chí Minh : Nhà Xuất bản Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh; 2012.
- [6] Chee-hway Tsai. *Enzymeatic treatment of black tea-leaf*. US4639375A; 1983.
- [7] Petersen B.R. *Enzymeatic method for production of instant tea*. US4483876A; 1984.
- [8] Lucia Gardossi, Poul B.Poulsen, Antonio Ballesteros, Karl Hult, Vytas K.Švedas, Đurđa Vasić-Rački, et al. Guidelines for reporting of biocatalytic reactions. *Trends Biotechnology*. 2010; 28:171–180.
- [9] Sowbhagya H.B, Chitra V.N. Enzyme-assisted extraction of flavorings and colorants from plant materials. *Critical Review Food Science and Nutrition*. 2010; 50:146–161.
- [10] Wahyudiono W, Machmudah S, Goto M. Utilization of sub and supercritical water reactions in resource recovery of biomass wastes. *Engineering Journal*. 2013; 17(1):1–12.
- [11] Héctor A.Ruiz, Rosa M.Rodríguez-Jasso, Bruno D.Fernandes, António A.Vicente, José A.Teixeira. Hydrothermal processing, as an alternative for upgrading agriculture residues and marine biomass according to the biorefinery concept: a review. *Renewable Sustainable Energy Reviews*. 2013; 21:35–51.
- [12] Hunter S.E, Savage P.E. Acid-catalyzed reactions in carbon dioxide-enriched high-temperature liquid water. *Industrial Engineering Chemistry Research*. 2003; 42:290–294.
- [13] Moreschi S.R.M, Petenate A.J, Meireles M.A. Hydrolysis of ginger bagasse starch in subcritical water and carbon dioxide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004; 52:1753–1758.
- [14] Van Walsum G.P, Shi H., Carbonic acid enhancement of hydrolysis in aqueous pretreatment of corn stover. *Bioresource Technology*. 2004; 93:217–226.
- [15] Giovanni C, Manuela C, Gianni S, Sauro V. The influence of different types of preparation (espresso and brew) on coffee aroma and main bioactive constituents. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2015; 505–513.