

# NGHIÊN CỨU TỐI ƯU HÓA CÁC ĐIỀU KIỆN THU NHẬN CHLOROGENIC ACID TỪ QUẢ CÀ PHÊ XANH BẰNG ENZYME PECTINASE

Trịnh Trúc Giang<sup>1</sup>, Hoàng Mạnh Đạt<sup>1</sup>, Vũ Kim Dung<sup>1</sup>, Nguyễn Việt Phương<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Lâm nghiệp

<sup>2</sup>Trường Cao đẳng Công nghiệp Thực phẩm

## TÓM TẮT

Chlorogenic acid (CGA) là hợp chất chống oxy hóa tự nhiên, được tìm thấy có nhiều trong cà phê xanh. CGA có các tính chất sinh học quý bao gồm: kháng viêm, kháng ung thư, chống béo phì và chống co giật. Trong công nghiệp thực phẩm, CGA có thể được sử dụng để thay thế chất bảo quản hóa học do có khả năng kháng vi sinh vật. Đối với ngành công nghiệp cà phê, cà phê xanh dường như không có giá trị vì chúng bị loại bỏ đi sau quá trình thu hái và chế biến. Điều này gây ra sự lãng phí nguyên liệu rất lớn. Do đó việc tận dụng nguồn phế liệu này là rất cần thiết, góp phần tăng giá trị kinh tế cho cây cà phê và tận dụng triệt để sản phẩm mà nó mang lại. Bài báo khảo sát quá trình chiết xuất CGA từ cà phê xanh với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:10 - 1:80 (g/ml), pectinase 10 - 60 U/g, khoảng pH 5,0 - 7,5, nhiệt độ 20 - 60°C, tốc độ lắc 0 - 160 vòng/phút, thời gian 10 - 120 phút và đã tìm được phương án phù hợp cho hàm lượng CGA 58,18 mg/g. Tối ưu điều kiện chiết xuất theo quy hoạch thực nghiệm bậc 2 Box-Benken đã nâng cao được nồng độ CGA đạt 62,31 mg/g (tỷ lệ 1:60 g/ml; 55 U/g; pH 5,5; 50°C, 80 vòng/phút, 55 phút).

**Từ khóa:** Cà phê xanh, chlorogenic acid, pectinase, phân hủy pectin, tối ưu hóa.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chlorogenic acid (CGA) là một nhóm hợp chất polyphenol hình thành thông qua liên kết este giữa quinic acid với các trans-cinnamic acid. CGA đã được nghiên cứu và chứng minh có nhiều tác dụng, đặc biệt trong hỗ trợ điều trị bệnh béo phì, tiểu đường và cao huyết áp (Adriana và cộng sự, 2005; Iwai và cộng sự, 2012; Jesús và cộng sự, 2017). Một thử nghiệm của Thom (2007) về tác dụng giảm cân của CGA đã đem lại kết quả khả quan: Những người mắc béo phì có chỉ số BMI ở mức 27,5 - 32 sau 12 tuần sử dụng CGA đã giảm được 5,4 kg. Cũng trong nghiên cứu này, khi cho nhóm tình nguyện viên uống nước chứa 25 g đường sucrose và chế phẩm Coffee Slender từ cà phê xanh, hàm lượng glucose trong máu của họ giảm 6,9% so với nhóm đối chứng. Ở một nghiên cứu khác về tác động của CGA với bệnh cao huyết áp, nhận thấy có sự giảm huyết áp ở mức độ trung bình từ 6,9 - 7,7% khi cho nhóm người mắc bệnh sử dụng nước rau quả có bổ sung bột chiết cà phê xanh trong 12 tuần (Takuya và cộng sự, 2006).

CGA được tìm thấy trong nhiều loại thực vật như: táo (Mohamed và cộng sự, 2005), khoai tây (Lan và Mendel, 1992; Raja và cộng sự, 2014), thuốc lá (Mouming và cộng sự, 2010), cà

phê (Adriana và cộng sự, 2005)... nhưng cà phê xanh cho hàm lượng CGA cao hơn và thay đổi theo giống cà phê (từ 4,1 - 63,0 mg/g) (Adriana và cộng sự, 2005; Perrone và cộng sự, 2008; Skowron và cộng sự, 2016).

Hiện nay CGA được chiết xuất từ thực vật chủ yếu bằng phương pháp trích ly với dung môi hữu cơ (Lai và cộng sự, 2019), trích ly bằng vi sóng (Rohit và cộng sự, 2012), CO<sub>2</sub> siêu tới hạn (Santana và cộng sự, 2006) bằng phương pháp nghiên cứu từng yếu tố tại một thời điểm (Chirinos và cộng sự, 2007; Kossah và cộng sự, 2010) hoặc bề mặt đáp ứng (RSM) (Silva và cộng sự, 2007; Kiassos và cộng sự, 2009; Pompeu và cộng sự, 2009). Cách tiếp cận từng thông số, còn được gọi là thí nghiệm đơn nhân tố, là một phương pháp cổ điển trong đó chỉ có một yếu tố biến đổi cùng một lúc trong khi tất cả những yếu tố khác được giữ không đổi. Cách tiếp cận này có một số nhược điểm, chẳng hạn như đó là tính thời gian, không có khả năng xác định tương tác giữa các biến, tốn kém và kém hiệu quả hơn các phương pháp khác (Silva và cộng sự, 2007; Lai và cộng sự, 2019). Tối ưu hóa bằng bề mặt đáp ứng (quy hoạch Box-Benken) là một phương pháp thống kê sử dụng dữ liệu từ thử nghiệm tìm khoảng thích hợp của các yếu tố sau đó phân mềm sẽ thiết kế các thí

nghiệm để xác định và giải quyết phương trình đa biến nhằm tìm ra các điều kiện tối ưu cho từng yếu tố thử nghiệm. Cách tiếp cận này có thể khắc phục nhược điểm của phương pháp một yếu tố tại một thời điểm thường hay được sử dụng trong khai thác các hợp chất phenolic từ nguồn thực vật (Silva và cộng sự, 2007; Pompeu và cộng sự, 2009; Radojkovic và cộng sự, 2012).

Việc thu nhận CGA từ hạt cà phê xanh làm nguyên liệu sản xuất thực phẩm chức năng phòng và hỗ trợ điều trị các bệnh mãn tính giúp đa dạng hóa các sản phẩm và tăng giá trị kinh tế của cây cà phê. Tuy nhiên, trong chế biến, quá trình tách chiết các chất hòa tan có trong cà phê gặp trở ngại do thành phần pectin trong hạt cà phê gây ra. Cấu trúc sinh học của pectin khá bền và khi ở trạng thái mất nước càng trở nên vững chắc, do vậy sử dụng pectinase để phá hủy pectin nhằm giải phóng CGA trong quả cà phê là đường hướng nghiên cứu mới và sử dụng các điều kiện thủy phân ôn hòa, thân thiện với môi trường.

Do vậy, mục đích của bài nghiên cứu là nhằm tối ưu các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả tách chiết CGA từ quả cà phê xanh bằng pectinase.

## **2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. Vật liệu**

Cà phê xanh Arabica (*Coffea arabica*) thu nhận vào tháng 10/2019 tại Bảo Lộc, Lâm Đồng.

Enzym pectinase từ *Aspergillus niger* CF5 được cung cấp từ phòng thí nghiệm Công nghệ Vi sinh – Hóa sinh, Viện công nghệ sinh học Lâm nghiệp.

### **2.2. Phương pháp nghiên cứu**

#### **2.2.1. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến thu nhận CGA từ cà phê xanh bằng pectinase**

CGA được tách chiết từ hạt cà phê xanh theo phương pháp của Belay và cộng sự (2009). Theo đó thí nghiệm được thực hiện với 1 g bột cà phê xanh (độ ẩm 5%, kích thước 1 - 2 mm) hòa trong dung dịch đệm photphat với độ pH 5 - 7,5; tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:10 - 1:80 (g/ml), nồng độ pectinase 10 - 60 U/g. Hỗn hợp

được ủ 10 - 120 phút ở nhiệt độ 20 - 60°C và tốc độ lắc 0 - 160 vòng/phút. Gia nhiệt hỗn hợp lên 100°C trong 10 phút để vô hoạt enzym, lọc dung dịch bằng giấy lọc Whatman No.1 và xác định hàm lượng CGA trong dịch lọc.

#### **2.2.2. Tối ưu hóa các điều kiện tách chiết CGA**

Tối ưu hóa điều kiện tách chiết CGA theo phương pháp bề mặt đáp ứng và quy hoạch Box-Benken, sử dụng phần mềm Design-Expert. Ma trận thực nghiệm bao gồm 17 thí nghiệm với khoảng chạy của 3 yếu tố khảo sát là: tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (1:40 - 1:60 g/ml), nồng độ enzym (30 - 50 U/g), thời gian thủy phân (30 - 90 phút).

#### **2.2.3. Định lượng CGA bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC**

Phương pháp HPLC được thực hiện trong thiết bị HPLC Agilent 1260 duy trì ở nhiệt độ 20°C và detector UV-VIS theo phương pháp của Lai và cộng sự (2019). Pha động là hỗn hợp: pha A (focmic acid 0,1% trong nước siêu lọc), pha B (acetonitrile 100%). Tốc độ dòng 1 mL/phút và thể tích tiêm 10 µL. Thời gian phân tích 29 phút với gradient: 0 phút, 0% B; 2 phút, 0% B; 5 phút, 15% B; 12 phút, 15% B; 22 phút, 50% B; 25 phút, 100% B; 30 phút, 0% B; 35 phút, 0% B. Bước sóng phát hiện ở 325 nm. Sự hiện diện và hàm lượng CGA được xác định bởi sự so sánh peak và diện tích peak với CGA chuẩn ( $y = 46287x + 13074$ ;  $R^2 = 0,9938$ ).

#### **2.2.4. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu**

Thí nghiệm được bố trí với 3 lần lặp, số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm Excel và Design-Expert version 11 (State-Ease, Inc., Minneapolis, Mỹ).

## **3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

### **3.1. Kết quả khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến thu nhận CGA từ cà phê xanh bằng pectinase**

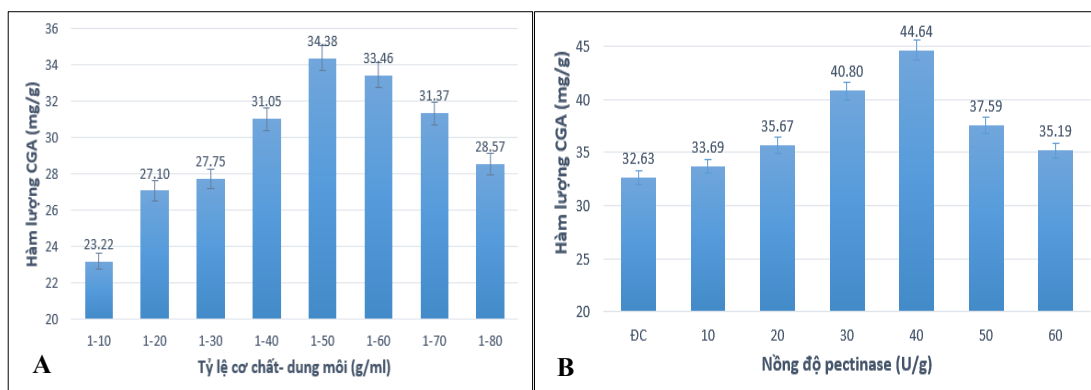
#### **3.1.1. Kết quả ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi và nồng độ pectinase**

Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi ảnh hưởng mạnh đến hiệu quả tách chiết CGA (hình 1A), hàm lượng CGA cao nhất (đạt 34,38 mg/g) khi chiết xuất với tỉ lệ 1: 50 và hàm lượng này giảm dần khi tăng tỉ lệ dung môi (28,57 mg/g tại tỷ lệ

nguyên liệu/dung môi 1: 80).

Kết quả thu được thể hiện ở hình 1B cho thấy hàm lượng CGA tăng lên đáng kể khi enzyme được bổ sung vào hỗn hợp so với đối chứng

(không dùng pectinase). Khi tăng nồng độ pectinase từ 20 - 40 U/g, hàm lượng CGA ngày càng tăng lên, đạt cực đại (44,64 mg/g) với nồng độ pectinase 40 U/g.



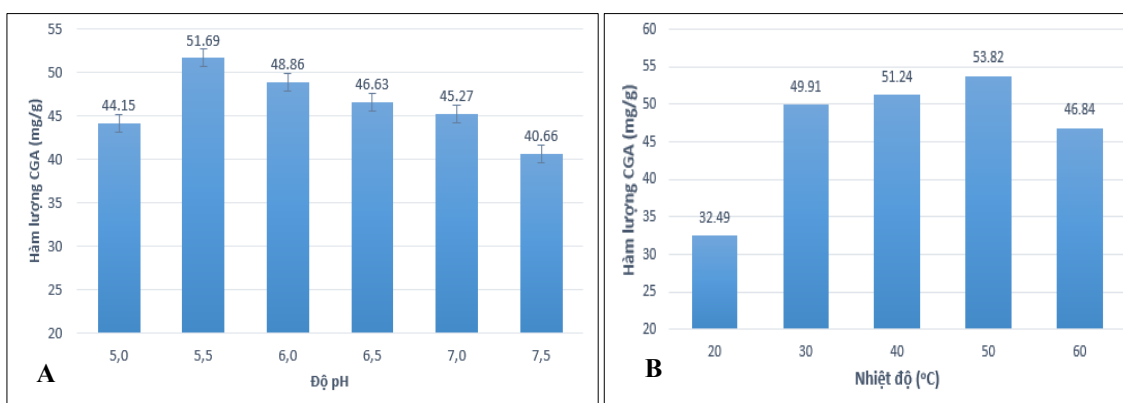
**Hình 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (A) và nồng độ pectinase (B) đến hàm lượng CGA chiết xuất từ cà phê xanh bằng pectinase**

3.1.2. Kết quả ảnh hưởng của độ pH và nhiệt độ

Mỗi enzyme đều có khoảng pH tối ưu khác nhau mà tại đó hoạt tính enzyme đạt cao nhất. Trong quá trình thủy phân pectin, enzyme chịu tác động của nhiệt độ, thời gian, pH dịch thủy phân thay đổi (do sản phẩm tạo thành có tính acid) và khuấy trộn cơ học... Với pH 5,0 - 7,5 kết quả thể hiện ở hình 2A cho thấy hàm lượng CGA thu được từ quả cà phê xanh cao nhất tại pH 5,5 (51,69 mg/g) sau đó giảm dần và thấp nhất tại pH 7,5 (40,66 mg/g). Trong khoảng giá trị pH nghiên cứu, hàm lượng CGA thay đổi không nhiều có thể do khoảng hoạt động của pectinase từ *A. niger* từ pH 4,5 - 6,0 (Kashyap và cộng sự, 2001; Nguyễn và cộng sự, 2019) nên quá trình chiết xuất CGA từ quả cà phê xanh

bằng pectinase với pH 5,5 được thực hiện cho các nghiên cứu tiếp sau.

Nhiệt độ là yếu tố ảnh hưởng mạnh tới hiệu suất quá trình chiết xuất CGA bằng pectinase (hình 2B). Với nhiệt độ 20°C, hàm lượng CGA thấp nhất (32,49 mg/g) nhưng khi tăng lên 30°C hàm lượng CGA tăng gần 2 lần (49,91 mg/g) và đạt cao nhất tại nhiệt độ 50°C (53,82 mg/g). Tuy nhiên, khi tăng nhiệt độ tới 60°C, hàm lượng CGA thấp nhất (46,84 mg/g). Kết quả này có thể do nhiệt độ cao làm biến tính enzyme nên hiệu suất quá trình thủy phân giảm và hàm lượng CGA cao nhất ở 50°C do pectinase từ *A. niger* có phổ hoạt động tối ưu trong khoảng 40 - 50°C (Combo và cộng sự, 2012).



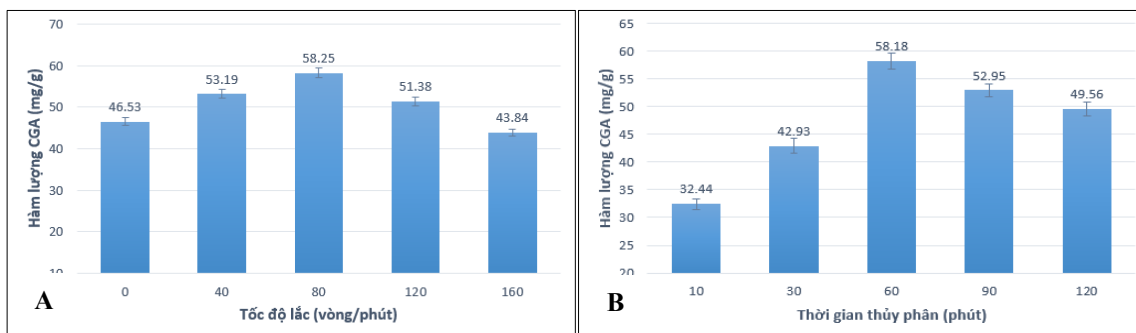
**Hình 2. Ảnh hưởng của độ pH (A) và nhiệt độ (B) đến hàm lượng CGA chiết từ cà phê xanh bằng pectinase**

**3.1.3. Kết quả ảnh hưởng của tốc độ lắc và thời gian**

Việc đảo trộn hỗn hợp sẽ giúp cho dung môi và enzyme khuếch tán đều vào cơ chất, đồng thời tăng khả năng tiếp xúc giữa cơ chất với dung môi, làm tăng hiệu quả hoạt động của các yếu tố, từ đó tăng hiệu suất chiết xuất chung. Thí nghiệm xác định tốc độ lắc thực hiện với các tốc độ 0, 40, 80, 120, 160 vòng/phút, kết quả được biểu diễn ở hình 3A cho thấy tại tốc độ lắc 80

vòng/phút hàm lượng CGA cực đại (58,25 mg/g) sau đó giảm dần khi tăng tốc độ lắc 120 và 160 vòng/phút (hàm lượng CGA lần lượt là 53,19 mg/g và 43,84 mg/g).

Thời gian kéo dài từ 10 – 60 phút sẽ làm hiệu suất chiết xuất CGA tăng (hình 3B), hàm lượng CGA tương ứng là 32,44 mg/g và 58,18 mg/g nhưng khi tiếp tục tăng thời gian đến 90 - 120 phút, hàm lượng CGA có xu hướng giảm dần (52,95 mg/g và 49,56 mg/g).



**Hình 3. Ảnh hưởng của tốc độ lắc (A) và thời gian (B) đến hàm lượng CGA chiết từ cà phê xanh bằng pectinase**

Hiệu quả chiết xuất các chất có hoạt tính sinh học từ thực vật thường tăng theo thời gian. Với thời gian ngắn thì hàm lượng polyphenol thu được thấp, nhưng thời gian dài quá dễ gây oxy hóa polyphenol tạo ra sản phẩm không mong muốn, làm giảm hàm lượng các hợp chất polyphenol thu được, tốn năng lượng và làm giảm hiệu suất sử dụng của thiết bị. Do vậy, thời gian thích hợp cho phản ứng chiết xuất CGA từ quả cà phê xanh bằng pectinase là 60 phút.

Như vậy, sau khi chiết xuất CGA với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:50 (g/ml) bởi lượng pectinase 40 U/g ở pH 5,5; nhiệt độ 50°C, tốc độ lắc 80 vòng/phút và thời gian 60 phút hàm lượng CGA thu được 58,18 mg/g.

**3.2. Tối ưu hóa các điều kiện tách chiết**

Từ kết quả khảo sát 6 yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất chiết CGA, nhận thấy tỷ lệ chất rắn/dung môi; nồng độ enzyme và thời gian có ảnh hưởng lớn nhất đến hiệu suất tách chiết CGA. Với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:40 - 1:60; nồng độ enzyme 30-50 U/g; thời gian thủy phân 30 - 90 phút; độ pH 5,5; nhiệt độ 50°C; tốc độ lắc 80 vòng/phút lượng CGA thu được cao nhất. Các khoảng giá trị khác cho lượng CGA

thấp hơn. Như vậy, khoảng hoạt động tương ứng của các thông số khảo sát để tối ưu hóa hàm lượng CGA bao gồm: tỷ lệ chất rắn/dung môi 1:40 - 1:60; nồng độ enzyme 30 - 50 U/g và thời gian từ 30-90 phút.

Ảnh hưởng đồng thời của 3 yếu tố tỷ lệ nguyên liệu/dung môi ( $X_1$ ), nồng độ enzyme ( $X_2$ ), thời gian thủy phân ( $X_3$ ) được xác định theo phương pháp quy hoạch thực nghiệm bậc hai để tối ưu điều kiện tách chiết CGA. Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở bảng 1.

Kết quả phân tích phương sai của mô hình tối ưu bằng phần mềm DX11 trình bày trong bảng 2 cho thấy cả 3 yếu tố tỷ lệ chất rắn/dung môi, nồng độ enzyme và thời gian đều có ảnh hưởng lớn đến quá trình thu nhận CGA từ cà phê xanh. Giá trị F của mô hình là 18,31 với  $p = 0,0005$  ( $p < 0,05$ ) cho thấy dạng mô hình đã được lựa chọn đúng. Giá trị p của “Không tương thích” là 0,8879 ( $p > 0,05$ ) cho thấy mô hình này tương hợp với thực nghiệm. Giá trị p của  $X_1X_2$ ,  $X_1X_3 < 0,05$ , chỉ có  $X_2X_3 > 0,05$  nên sự đồng tác động của yếu tố tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi với nồng độ enzyme và thời gian ảnh hưởng mạnh tới quá trình thu nhận CGA.

**Bảng 1. Ma trận thực nghiệm quá trình thu nhận CGA**

TN	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (g/ml)	Nồng độ pectinase (U/g)	Thời gian (phút)	Hàm lượng CGA (mg/g)
1	-1	-1	0	1:40	30	60	55,70
2	+1	-1	0	1:60	30	60	49,94
3	-1	+1	0	1:40	50	60	37,44
4	+1	+1	0	1:60	50	60	54,79
5	-1	0	-1	1:40	40	30	39,16
6	+1	0	-1	1:60	40	30	53,02
7	-1	0	+1	1:40	40	90	52,34
8	+1	0	+1	1:60	40	90	47,76
9	0	-1	-1	1:50	30	30	51,23
10	0	+1	-1	1:50	50	30	44,26
11	0	-1	+1	1:50	30	90	52,81
12	0	+1	+1	1:50	50	90	51,61
13	0	0	0	1:50	40	60	63,81
14	0	0	0	1:50	40	60	59,20
15	0	0	0	1:50	40	60	58,20
16	0	0	0	1:50	40	60	57,67
17	0	0	0	1:50	40	60	57,52

**Bảng 2. Kết quả phân tích phương sai ANOVA của mô hình**

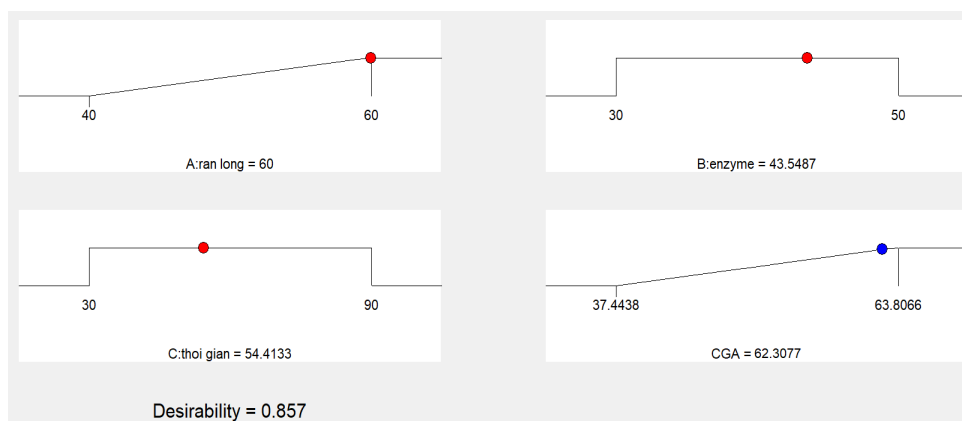
Thông số	Phương sai	Chuẩn F	Mức có nghĩa p
Mô hình	743,26	18,31	0,0005
Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (X <sub>1</sub> )	54,39	12,06	0,0104
Nồng độ enzyme (X <sub>2</sub> )	58,30	12,92	0,0088
Thời gian (X <sub>3</sub> )	35,53	7,88	0,0263
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	133,40	32,03	0,0010
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	85,00	14,59	0,0034
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	8,33	26,72	0,2164
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	144,46	29,57	0,0008
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	65,80	18,85	0,0065
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	120,52	1,85	0,0013
Không tương thích	4,21	0,21	0,8879

Phương trình hồi quy biểu hiện hàm lượng CGA mô tả ảnh hưởng của các yếu tố độc lập và các mối tương tác giữa chúng được biểu diễn như sau:

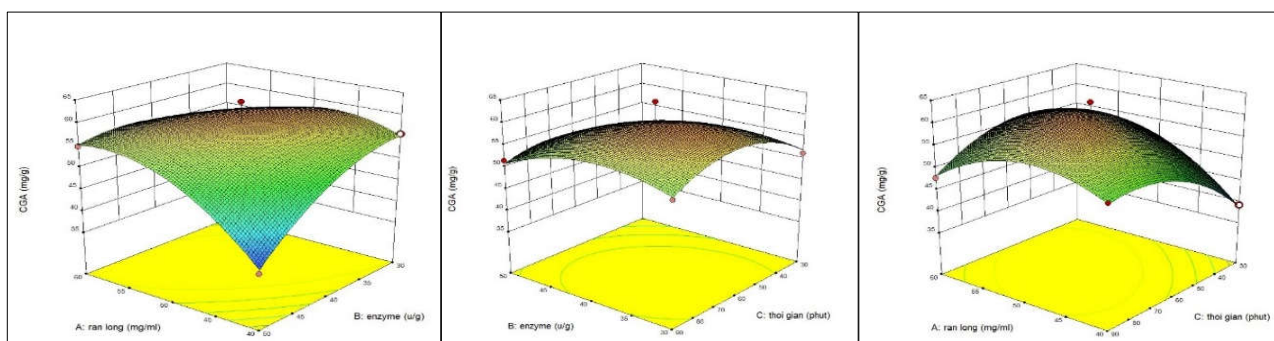
$$Y = +59,28 + 2,61X_1 - 2,7X_2 + 2,11X_3 + 5,77X_1X_2 - 4,61X_1X_3 + 1,44X_2X_3 - 5,86X_1^2 - 3,95X_2^2 - 5,35X_3^2.$$

Phương trình hồi quy cho thấy trong các hệ số b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>, b<sub>3</sub> (thể hiện tác động độc lập của từng yếu tố X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub>) giá trị tuyệt đối của b<sub>2</sub> (2,7) là lớn nhất. Điều này chứng tỏ nồng độ enzyme

ảnh hưởng lớn nhất đến quá trình chiết xuất để thu nhận CGA. Ngược lại, giá trị tuyệt đối của b<sub>3</sub> (2,11) là nhỏ nhất, cho thấy sự ảnh hưởng của thời gian thủy phân tác động ít hơn các yếu tố còn lại tới hàm mục tiêu. Khi đánh giá sự tác động đồng thời giữa các yếu tố, giá trị tuyệt đối của b<sub>12</sub> (5,77) là lớn nhất, chứng tỏ sự tương tác giữa tỷ lệ nguyên liệu và nồng độ enzyme có ảnh hưởng mạnh tới quá trình thủy phân thu nhận CGA.



Hình 4. Hàm kỳ vọng và điều kiện tối ưu thủy phân cà phê xanh để thu nhận CGA



Hình 5. Bề mặt đáp ứng của hàm lượng CGA theo tỷ lệ nguyên liệu/dung môi, nồng độ enzyme và thời gian

Sử dụng phương pháp hàm kỳ vọng để tối ưu hóa hàm lượng CGA thu được sau quá trình thủy phân bằng phần mềm Design Expert. Kết quả đã tìm được phương án thí nghiệm để cực đại hàm mục tiêu dự đoán là: tỷ lệ nguyên liệu – dung môi 1:60, nồng độ enzyme 43,55 U/g, thời gian thủy phân 54,4 phút (hình 4). Khi xem xét ảnh hưởng của từng yếu tố (khi các yếu tố khác được giữ ở mức trung bình) đến hàm lượng CGA (hình 5) cho thấy hàm lượng CGA đạt giá trị cực đại trong các điều kiện trên theo tính toán là 62,3077 mg/g.

Thực nghiệm tại điều kiện dung môi pH 5,5; tỉ lệ nguyên liệu/dung môi 1:60 g/ml; nồng độ enzyme 44 U/g; nhiệt độ 50°C với tốc độ lắc 80 vòng/phút trong thời gian 55 phút, thí nghiệm thực hiện 3 lần. Hàm lượng CGA thu được nằm trong khoảng 61,37 - 62,61 mg/g, nằm trong khoảng dự đoán của phương pháp quy hoạch bậc hai Box – Behnken nên mô hình có độ tương thích cao với thực tế. Do vậy, có thể sử dụng các

điều kiện tối ưu từ mô hình để nghiên cứu chiết xuất CGA trên quy mô lớn hơn nhằm ứng dụng CGA trong thực tiễn.

#### 4. KẾT LUẬN

Từ kết quả thí nghiệm, nghiên cứu đã xác định được các thông số tối ưu cho quá trình tách chiết CGA từ cà phê xanh bằng pectinase. Theo đó, hiệu suất thu nhận CGA cao nhất (62,31 mg/g) khi tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1:60, nồng độ enzyme 44 U/g trong thời gian 55 phút. Kết quả thu được là cơ sở để xây dựng quy trình tách chiết CGA từ cà phê xanh ở quy mô công nghiệp, nhằm cung cấp nguồn nguyên liệu phục vụ cho sản xuất thực phẩm chức năng.

#### Lời cảm ơn

Công trình được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của Đề tài 08.18/CNSHCB “Nghiên cứu tách chiết và thu nhận axit Chlorogenic từ hạt cà phê xanh ứng dụng làm thực phẩm chức năng” từ Bộ Công thương.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Nguyễn Việt Phương, Trịnh Thị Thùy Linh, Hoàng Mạnh Đạt, Vũ Kim Dung (2019). Tuyến chọn *Aspergillus niger* sinh tổng hợp pectinase cao để tách chiết axit chlorogenic từ hạt cà phê xanh. *Vietnam Biological Industries*, 37: 46 - 49.
2. Adriana F., Tomas P., Luiz C.T, Peter R.M (2005). Effect of roasting on the formation of chlorogenic acid lactones in coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5):1505-13. DOI: 10.1021/jf048701t.
3. Chirinos R., Rogez H., Campos D., Pedreschi R, Larondelle Y. (2007). Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) tubers. *Separation and Purification Technology*, 55(2): 217-225.
4. Combo A.M.M, Mario A., Dorothée G., Bernard W., Michel P. (2012). Enzymatic production of pectic oligosaccharides from polygalacturonic acid with commercial pectinase preparations. *Food and Bioproducts Processing* 90 (2012) 588-596.
5. Iwai K., Narita Y., Fukunaga T., Nakagiri O., Kamiya T., Ikeguchi M. & Kikuchi Y. (2012). Study on the postprandial glucose responses to a chlorogenic acidrich extract of decaffeinated green coffee beans in rats and healthy human subjects. *Food Science and Technology Research*, 18: 849-860.
6. Jesús S.G , Luis C.Z, Daniel A.J.V (2017). Chlorogenic Acid: Recent Advances on Its Dual Role as a Food Additive and a Nutraceutical against Metabolic Syndrome. *Molecules*, 22(3):358. DOI: 10.3390/molecules22030358.
7. Kashyap D.R., Vohra P.K., Chopra S., Tewari R. (2001). Applications of pectinases in the commercial sector: a review. *Bioresource Technology* 77: 215-227.
8. Kiassos E., Mylonaki S., Makris D. P. & Kefalas P. (2009). Implementation of response surface methodology to optimise extraction of onion (*Allium cepa*) solid waste phenolics. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10: 246-252.
9. Kossah R., Nsabimana C., Zhang H, Chen W. (2010). Optimization of extraction of polyphenols from Syrian sumac (*Rhus coriaria* L.) and Chinese sumac (*Rhus typhina* L.) fruits. *Research Journal of Phytochemistry*, 4(3): 146-153.
10. Lai T. N. H., Nguyen V.P., Tran T.H, Dao T.V.H, Hoang H.H (2019). Optimization of Chlorogenic Acid Extraction from Green Coffee Beans Using Response Surface Methodology. *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*, 2(1): 332-342.
11. Lan D., Mendel F. (1992). Chlorogenic acid content of fresh and processed potatoes determined by ultraviolet spectrophotometry. *Journal and Agricultural and Food Chemistry*, 40: 2152-2156.
12. Mohamed A.A., Anton J. (2000). Flavonoid and chlorogenic acid concentrations in skin of ‘Jonagold’ and ‘Elstar’ apples during and after regular and ultra low oxygen storage. *Postharvest Biology and Technology*, 20:15-24.
13. Mouming Z., Haiyan W., Bao Y., Hong T. (2010). Identification of cyclodextrin inclusion complex of chlorogenic acid and its antimicrobial activity. *Food Chemistry*, 120(4):1138 - 1142.
14. Pompeu D. R., Silva E. M. & Rogez H. (2009). Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of Euterpe oleracea using Response Surface Methodology. *Bioresource Technology*, 100: 6076-6082.
15. Radojkovic M., Zekovic Z., Jokic S. & Vidonic S. (2012). Determination of optimal extraction parameters of mulberry leaves using Response Surface Methodology (RSM). *Romanian Biotechnology Letters*, 17(3): 7295-7308.
16. Raja S.P., Roshani S., Venkatesan G.S., Joseph E.M., Swashy P. (2014). Synthesis and regulation of Chlorogenic acid in potato: Rerouting phenylpropanoid flux in HQT - silenced lines. *Plant Biotechnology Journal*, 13(4): 551 - 564.
17. Rohit U.K., Ramalakshmi L.J., Mohan R. (2012). Microwave-assisted extraction of Chlorogenic Acids from green coffee beans. *Food Chemistry*, 130(1): 184–188.
18. Santana L.L.B., Cardoso L.A., Druzian J.I., Souza V.F., Costa T.A.C., Nobrega D.A., Hohlemwenger S.V.A., Velozo E.S. (2006). Selectivity in the extraction of 2-quinolone alkaloids with supercritical CO<sub>2</sub>. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 23(4): 525 - 531.
19. Silva E. M., Rogez H. & Larondelle Y. (2007). Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 55: 381-387.
20. Takuya W., Yoichi A., Yuki M. (2006). The Blood Pressure-Lowering Effect and Safety of Chlorogenic Acid from Green Coffee Bean Extract in Essential Hypertension. *Clinical and Experimental Hypertension*, 28(5):439-49. DOI: 10.1080/10641960600798655
21. Thom E. (2007). The effect of chlorogenic acid enriched coffee on glucose absorption in healthy volunteers and its effect on body mass when used long-term in overweight and obese people. *Journal of International Medical Research*, 35: 900-908.

## **OPTIMIZATION OF CHLOROGENIC ACID EXTRACTION FROM GREEN COFFEE BEANS BY PECTINASE**

**Trinh Truc Giang<sup>1</sup>, Hoang Manh Dat<sup>1</sup>, Vu Kim Dung<sup>1</sup>, Nguyen Viet Phuong<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Vietnam National University of Forestry*

*<sup>2</sup>College of Food Industry*

### **SUMMARY**

Chlorogenic acid (CGA) is a natural antioxidant that is found in green coffee beans. CGA has biological properties including antioxidant, anti-inflammatory, anti-cancer, anti-obesity, and anti-convulsive. In the food industry, CGA can be used to replace chemical preservatives due to their resistance to microorganisms. For the coffee industry, green coffee beans don't seem to have value because it is discarded after collection and processing. This causes a huge waste of material, therefore, taking advantage of this scrap is very necessary, contributing to increasing the economic value of coffee trees and production full use of the products that it brings. The paper investigates the process of extracting CGA from green coffee beans with liquid-to-solid ratio (1:10 - 1:80 g/ml), pectinase (10 - 60 U/g), pH (5.0 - 7.5), temperature (20 - 60°C), shaking speed (0 - 160 rpm), extraction time (10 - 120 minutes). Operational conditions leading to a maximum CGA production were calculated from models being 1:60 g/ml; 55 U/g; pH 5.5; 50°C, 80 rpm, 55 minutes. Under the conditions, the model predicted that 62.31 mg/g of CGA can be obtained from green coffee beans.

**Keywords:** Chlorogenic acid, green coffee beans, optimization, pectin hydrolysis, pectinase.

**Ngày nhận bài** : 18/6/2020

**Ngày phản biện** : 01/8/2020

**Ngày quyết định đăng** : 07/8/2020