Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ – Kĩ thuật và Công nghệ, 4(2):968-976

Open Access Full Text Article

Bài nghiên cứu

Kết hợp enzyme cellulase và pectinase để tăng khả năng trích ly các hợp chất polyphenol từ vỏ và thịt quả cà phê

Trần Thị Thu Trà[1,2,*], Trần Minh Khánh[3], Tôn Nữ Minh Nguyệt[1,2], Lê Văn Việt Mẫn[1,2]

Use your smartphone to scan this QR code and download this article

TÓM TẮT

Vỏ và thịt quả cà phê là một phụ phẩm có hoạt tính sinh học cao của ngành sản xuất cà phê nhân nhưng hiện nay vẫn chưa được sử dụng hợp lý trong công nghiệp thực phẩm. Trong nghiên cứu này, hai chế phẩm enzyme pectinase và cellulase được sử dụng đồng thời nhằm tăng hiệu suất trích ly các hợp chất polyphenol từ phụ phẩm vỏ và thịt quả cà phê. Vỏ và thịt quả cà phê robusta chín đỏ của ĐăkLăk, Việt Nam được trích ly bằng dung môi nước có sự hỗ trợ của hỗn hợp 2 chế phẩm pectinase và cellulase. Các thông số của quá trình trích ly được lần lượt thay đổi bao gồm: hàm lượng chế phẩm enzyme pectinase (từ 0 đến 800U/g nguyên liệu), hàm lượng chế phẩm enzyme cellulase (từ 0 đến 800U/g nguyên liệu), pH dịch trích (từ 3.0 đến 5.0), nhiệt độ quá trình (từ 40^{o}C đến 60^{o}C), tỉ lệ nguyên liệu vỏ và thịt quả cà phê:dung môi (từ 1:6 đến 1:12) và tổng thời gian trích ly (từ 60 phút đến 120 phút). Kết quả nghiên cứu cho thấy điều kiện trích ly tốt nhất khi hàm lượng pectinase và cellulase lần lượt là 600 U/g và 400 U/g nguyên liệu, pH dịch trích 4.0, nhiệt độ ủ 50^{o}C, tỉ lệ nguyên liệu:dung môi = 1:10 trong thời gian 60 đến 75 phút. Khi đó hàm lượng chất khô hòa tan trích ly ra đạt 60.6±0.4 g/100g chất khô nguyên liệu, hàm lượng polyphenol trích ly ra đạt 20±0.5 gGAE/100g chất khô nguyên liệu, khả năng kháng oxy hóa theo DPPH đạt 1.5±0.1 mM TE/g chất khô dịch trích và theo FRAP đạt 1.4±0.1 mM TE/ g chất khô dịch trích. Từ dịch trích từ vỏ và thịt quả cà phê này có thể sản xuất các sản phẩm nước giải khát có hoạt tính kháng oxy hóa cao.

Từ khoá: Vỏ và thịt quả cà phê, cellulase, pectinase, polyphenol tổng, khả năng kháng oxy hóa

[1]*Bộ môn Công nghệ Thực Phẩm, trường Đại học Bách khoa TP.HCM, Việt Nam*

[2]*Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam*

[3]*Khoa Công nghệ Thực Phẩm, trường Đại học Công nghệ Sài Gòn, Việt Nam*

Liên hệ

Trần Thị Thu Trà, Bộ môn Công nghệ Thực Phẩm, trường Đại học Bách khoa TP.HCM, Việt Nam

Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Email: ttttra@hcmut.edu.vn

Lịch sử

- Ngày nhận: 25-4-2021
- Ngày chấp nhận: 18-5-2021
- Ngày đăng: 25-5-2021

DOI : 10.32508/stdjet.v4i2.832

Check for updates

Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.

VNU-HCM Press

MỞ ĐẦU

Theo thống kê của tổ chức lương thực và nông nghiệp liên hiệp quốc (FAO) trong khoảng thời gian từ 2017 đến 2020, Việt Nam có trên 600 nghìn hecta trồng cà phê với sản lượng từ 1.5 đến gần 1.7 triệu tấn/năm[1]. Cà phê chủ yếu được buôn bán dưới dạng hạt khô đã tách bỏ lớp vỏ và thịt quả (coffee husks) và lớp vỏ trấu (coffee silverskin). Trong đó vỏ và thịt quả chiếm khoảng 45% khối lượng của quả cà phê[2], do đó Việt Nam mỗi năm có khoảng 0.77 triệu tấn phụ phẩm này. Vỏ và thịt quả cà phê giàu protein (7.5–15.0%), chất béo (2.0–7.0%), carbohydrate (21–32%), khoáng chất (10,7%) và là nguồn cung cấp các chất phytochemical (axit chlorogenic, caffeine, epicatechin, catechin, rutin, axit protocatechuic, axit 3,4-dicaffeoylquinic, axit 3,5-dicaffeoylquinic, axit 4,5-dicaffeoylquinic, axit ferulic, flavan-3-ols, axit hydroxycinnamic, các flavonol, các anthocyanidin như anthocyanin cyanidin-3-rutinoside, cyanidin-3-glucoside…) cho ngành công nghiệp thực phẩm và dược phẩm[2]. Trên thế giới, "coffee husks" được sử dụng làm nguồn cơ chất trong lên men sản xuất ethanol, gibberellic acid[2], nhiều loại enzyme (amylase, pectinase, cellulase, xylanase…)[3], trích ly caffeine và polyphenol[4], "cascara tea" và chiết xuất các hợp chất có hoạt tính sinh học để sản xuất nước uống như "Antioxidant water" hay "Hawaiian Coffeeberry juice"[5,6]. Sản phẩm trà từ vỏ cà phê "cascara tea" cũng bắt đầu xuất hiện trên thị trường Việt Nam. Nhằm mục đích nâng cao hơn nữa giá trị sử dụng của cây cà phê, trích ly các hợp chất polyphenol từ vỏ và thịt quả cà phê để sản xuất các sản phẩm thực phẩm có lợi cho sức khỏe là một hướng nghiên cứu khả thi. Điều kiện công nghệ của trích ly các hợp chất polyphenol tổng từ vỏ và thịt quả cà phê robusta đã được nghiên cứu khảo sát. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi sử dụng dung dịch trích là nước, điều kiện thích hợp để trích ly polyphenol từ vỏ và thịt quả cà phê là pH 4.0, nhiệt độ 50^{o}C, tỉ lệ nguyên liệu:dung môi=1:7, thời gian trích ly 60 phút. Khi đó lượng chất khô hòa tan (solid soluble content – SSC) trích ly ra được là 7.9±0.4 g/100g nguyên liệu, và hàm lượng các hợp chất polyphenol tổng (total polyphenol content – TPC) trích ly ra được là 4.7±0.1 gGAE/100g nguyên liệu, khả năng kháng oxy hóa trích ly đạt 15.6±2 mM TE/100g nguyên liệu (theo DPPH) và 15.7±1.6 mM TE/100g nguyên liệu (theo FRAP)[7]. Trong nghiên cứu này, hai chế phẩm

Trích dẫn bài báo này: Trà T T T, Khánh T M, Nguyệt T N M, Mẫn L V V. **Kết hợp enzyme cellulase và pectinase để tăng khả năng trích ly các hợp chất polyphenol từ vỏ và thịt quả cà phê**. *Sci. Tech. Dev. J. - Eng. Tech.;* 4(2):968-976

enzyme pectinase và cellulase được sử dụng kết hợp với mục đích tăng hiệu suất trích ly chất khô hòa tan và polyphenol tổng từ vỏ và thịt quả cà phê.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nguyên liệu

Quả cà phê robusta (*coffea robusta - cà phê vối*) chín đỏ hoàn toàn được thu nhận tại cùng một nhà vườn ở thôn Phước Quý, xã Vụ Bổn, huyện Krong Pắc tỉnh Đăk Lăk, Việt Nam. Quả cà phê tươi được chần 5 phút trong nước ở 85°C để diệt enzyme, làm lạnh nhanh và bảo quản lạnh đông để đảm bảo sự đồng nhất về nguyên liệu. Trước mỗi nghiên cứu, từng gói 500g quả cà phê sẽ được rã đông bằng nước rồi tách hạt khỏi thịt và vỏ quả. Nguyên liệu vỏ và thịt quả cà phê sau rã đông (viết tắt là NL) có độ ẩm là 70.7±0.2%. Khi trích ly bằng dung môi methanol 80% thì hàm lượng TPC là 5.0 ±0.3 gGAE/100gCKNL. Hoạt tính kháng oxy hóa xác định theo phương pháp DPPH đạt 17.1±3.6 mMTE /100gCKNL và theo phương pháp FRAP đạt 11.0±0.7 mMTE/100 gNL[7].

Hai chế phẩm enzyme cellulase và pectinase là sản phẩm thương mại ở dạng bột mịn được cung cấp bởi công ty Angel Yeast Co., Ltd. Cả hai chế phẩm đều có nguồn gốc từ các loài *Aspergillus niger*. Chế phẩm pectinase có hoạt tính 60.000U/g, phạm vi pH và nhiệt độ hoạt động là từ pH 3.0 đến 5.0 và từ 25°C đến 65°C. Chế phẩm cellulase có hoạt tính 10.000U/g, phạm vi pH và nhiệt độ hoạt động là từ pH 3.5 đến 5.5 và từ 40°C đến 60°C[8].

Các hóa chất sử dụng để tạo dung dịch đệm và trong phân tích bao gồm acid citric, Natri citrate, HCl, Folin-Ciocalteu (Merck), gallic acid, DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), Trolox và TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine) (Sigma-Aldrich) có độ tinh sạch ≥ 98%, đạt chuẩn phân tích.

Bố trí thí nghiệm

Vỏ và thịt quả cà phê được nghiền nhỏ trong dung dịch đệm citric – natri citrate, chỉnh pH bằng dung dịch HCl 1M, bổ sung thêm chế phẩm enzyme và ủ trong bể điều nhiệt. Từ các thí nghiệm sử dụng riêng từng chế phẩm enzyme để hỗ trợ quá trình trích ly, các thông số thí nghiệm được thay đổi lần lượt theo thứ tự trình bày trong Bảng 1. Sau quá trình trích ly, hỗn hợp được lọc sơ bộ bằng vải lọc để loại bã thô rồi ly tâm ở tốc độ 4000 vòng/phút trong 15 phút để tách loại bã mịn. Dịch trích sau ly tâm được tiến hành xác định nồng độ chất khô hòa tan, hàm lượng polyphenol tổng. Đồng thời nhằm xác định chính xác hơn về quy luật ảnh hưởng của các điều kiện trích ly đến khả năng kháng oxy hóa của dịch trích, hoạt tính kháng oxy hóa được xác định bằng hai phương pháp: phương pháp DPPH dựa trên phản ứng của các chất chống oxy hóa có trong mẫu thử với gốc DPPH$^{\bullet}$ (hay còn gọi là sự dập tắt các gốc DPPH$^{\bullet}$) và phương pháp xác định khả năng khử ion sắt (phương pháp FRAP).

Phương pháp phân tích

Độ ẩm của nguyên liệu và dịch trích được xác định bằng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi[9]. Giá trị TPC trong mẫu dịch trích được xác định theo phương pháp quang phổ so màu với thuốc thử Folin – Ciocalteau[10]. Hoạt tính kháng oxy hóa được xác định theo 2 phương pháp: phương pháp FRAP (ferric reducing antioxidant power) quy trình tham khảo theo Benzie và Strain (1999)[11] và phương pháp DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) quy trình tham khảo theo Brand-Williams và cộng sự (1995)[12]. Hàm lượng pectin được xác định bằng phương pháp canxi pectate dựa trên cơ sở thu nhận muối canxi pectate ở dạng kết tủa[13]. Hàm lượng xơ được xác định theo phương pháp của AOAC 985.29, 1985, 991.42, 993.19[14].

Phương pháp xử lý số liệu

Do khả năng trích ly chất khô hòa tan và hợp chất phenolic thay đổi theo phương pháp hỗ trợ quá trình trích ly nên khả năng trích ly chất khô hòa tan và hợp chất polyphenol tổng được xác định bằng khối lượng (g) chất khô hòa tan và polyphenol tổng (g GAE) đã trích ly ra được từ 100g nguyên liệu đầu vào của quá trình trích ly. Khả năng kháng oxy hóa được xác định bằng lượng chất kháng oxy hóa tương đương với trolox (mMTE) của dịch trích từ 100g nguyên liệu trích ly. Tất cả các thí nghiệm đều được lặp lại 3 lần. Kết quả trong bài báo là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Các số liệu được xem là khác nhau có nghĩa khi $p < 0,05$. Phương pháp phân tích phương sai một yếu tố được thực hiện trên phần mềm StatGraphics 18.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ảnh hưởng của hàm lượng enzyme pectinase và cellulase đến khả năng trích ly các hợp chất kháng oxy hóa

Khi tăng hàm lượng pectinase từ 0 – 600 U/gNL, lượng chất khô hòa tan trích ly ra được từ 100g chất khô nguyên liệu tăng 18.2%, từ 45.2±0.6g lên 53.4±0.8g; giá trị TPC tăng 21.5%, từ 19.5±0.3gGAE/100gCKNL lên 23.6±0.3 gGAE/100gCKNL. Tuy nhiên nếu tiếp tục tăng hàm lượng pectinase lên thành 800 U/gNL thì nồng độ chất khô hòa tan đạt 53.8±1 g/100gCKNL và giá trị

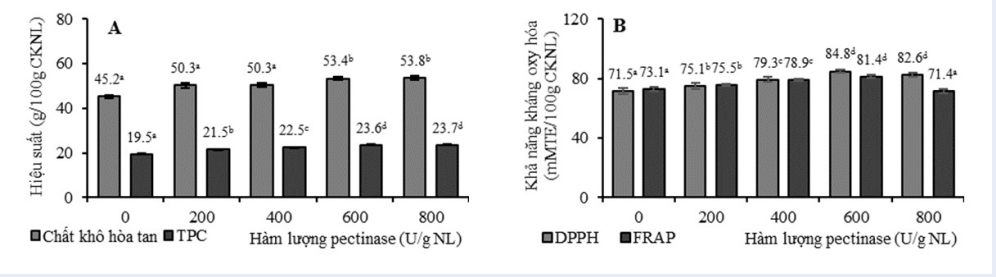
Bảng 1: Bố trí thí nghiệm khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng trích ly các hợp chất có khả năng kháng oxy hóa từ vỏ và thịt quả cà phê trong điều kiện có sự hỗ trợ của cellulase và pectinase

Thí nghiệm (TN)	Yếu tố thay đổi	Yếu tố cố định
TN1: Ảnh hưởng của hàm lượng chế phẩm enzyme pectinase	Hàm lượng pectinase (U/gNL): 0, 200, 400, 600, 800	Hàm lượng cellulase: 400 U/gNL pH 5.0 Nhiệt độ 55^oC Tỉ lệ NL:DM = 1:8 Thời gian 60 phút
TN2: Ảnh hưởng của hàm lượng chế phẩm enzyme cellulase	Hàm lượng Cellulase (U/gNL): 0, 200, 400, 600, 800	Hàm lượng pectinase: Kết quả của TN1 pH 5.0 Nhiệt độ 55^oC Tỉ lệ NL:DM = 1:8 Thời gian 60 phút
TN3: Ảnh hưởng của pH	pH: 3.0, 3.5, 4.0, 4.5,5.0	Hàm lượng pectinase: Kết quả của TN1 Hàm lượng cellulase: Kết quả của TN2 Nhiệt độ 55^oC Tỉ lệ NL:DM = 1:8 Thời gian 60 phút
TN4: Ảnh hưởng của nhiệt độ	Nhiệt độ (^oC): 40; 45; 50; 55; 60	Hàm lượng pectinase: Kết quả của TN1 Hàm lượng cellulase: Kết quả của TN2 pH: Kết quả của TN 3 Tỉ lệ NL:DM = 1:8 Thời gian 60 phút
TN5: Ảnh hưởng của tỉ lệ DM:NL	Tỉ lệ DM:NL: 1:6, 1:8, 1:10, 1:12, 1:14	Hàm lượng pectinase: Kết quả của TN1 Hàm lượng cellulase: Kết quả của TN2 pH: Kết quả của TN3 Nhiệt độ: Kết quả của TN4 Thời gian 60 phút
TN6: Ảnh hưởng của thời gian	Thời gian (phút): 60, 75, 90, 105, 120	Hàm lượng pectinase: Kết quả của TN1 Hàm lượng cellulase: Kết quả của TN2 pH: Kết quả của TN3 Nhiệt độ: Kết quả của TN4 Tỉ lệ NL:DM: Kết quả của TN5

TPC đạt 23.7±0.2 gGAE/100gCKNL, không có sự khác biệt với mẫu có hàm lượng pectinase 600 U/gNL (Hình 1A). Khả năng kháng oxy hóa của dịch trích biến đổi tương đồng với quy luật biến đổi của TPC. Theo phương pháp DPPH, khi bổ sung thêm 600 U/gNL pectinase, khả năng kháng oxy hóa của 100 mL dịch trích tăng 18.6% so với khi không bổ sung pectinase, đạt 3.1±0.1 mM TE/100mL (84.8±1.2 mMTE/100gCKNL). Số liệu này đối với phương pháp đo FRAP là 11.3%, đạt 3.0±0.1 mM TE/100mL (81.4±1.2 mMTE/100gCKNL) (Hình 1B). Do hàm lượng chất khô hòa tan, TPC và khả năng kháng oxy hóa đạt giá trị cao nhất khi hàm lượng pectinase là 600 U/g NL nên hàm lượng này sẽ được áp dụng cho các thí nghiệm tiếp sau.

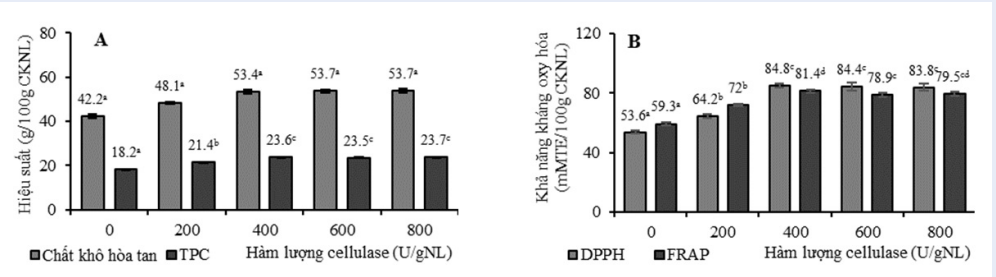
Khi hàm lượng cellulase tăng từ 0 – 400 U/gNL nồng độ chất khô hòa tan trích ly ra được tăng thêm 27.2% từ 42.2±1.1g/100gCKNL lên 53.4±0.8g/100gCKNL và giá trị TPC tăng thêm 29.9% từ 18.2±0.2g GAE/100gCKNL lên 23.6±0.3g GAE/100gCKNL (Hình 2A); hoạt tính kháng oxy hóa của 100 mL dịch trích theo phương pháp DPPH tăng 58.2%, đạt 3.1±0.04^c mM TE/100mL (84.8±1.2^c mM/g CKNL) và theo phương pháp FRAP tăng 37.3%, đạt 2.98±0.05 mM TE/100mL (81.4±1.2 mM/g CKNL) (Hình 2B). Khi tăng hàm lượng cellulase lên 600 và 800 U/g hiệu suất trích ly chất khô hòa tan, TPC và hoạt tính chống oxy hóa đều không thay đổi, do đó, hàm lượng cellulase 400 U/g NL sẽ được áp dụng cho các thí nghiệm tiếp sau.

Hàm lượng chất khô hòa tan và TPC phụ thuộc vào tốc độ khuếch tán của các chất tan qua thành tế bào để vào dung môi trích và độ bền của các chất khi đã được trích ly ra. Thành tế bào của vỏ và thịt quả cà phê có khoảng 36% – 44% cellulose, 21 – 25.5% pectin [15,16], vì vậy, dưới tác động của cellulase và pectinase sẽ cel-



Hình 1: Ảnh hưởng của hàm lượng enzyme pectinase đến hiệu suất trích ly chất khô, polyphenol tổng (A) và khả năng kháng oxy hóa (B)[a]

[a] *Các giá trị được ký hiệu với những chữ cái khác nhau trên các cột cùng màu thì khác nhau có ý nghĩa thống kê (P<0,05).*



Hình 2: Ảnh hưởng của hàm lượng enzyme cellulase đến hiệu suất trích ly chất khô, polyphenol tổng (A) và khả năng kháng oxy hóa (B)[a]

[a] *Các giá trị được ký hiệu với những chữ cái khác nhau trên các cột cùng màu thì khác nhau có ý nghĩa thống kê (P<0,05).*

lulose và pectin sẽ bị thủy phân thành các cellulose mạch ngắn, pectin hòa tan và các loại đường đơn giản, do đó thúc đẩy quá trình giải phóng các phân tử sinh học nội bào và làm tăng lượng chất khô hòa tan cũng như hàm lượng polyphenol vào dịch trích[17]. Nói chung, hàm lượng enzyme tăng sẽ làm tăng tốc độ và hiệu suất của quá trình trích ly chất khô hòa tan và hợp chất phenolic. Tuy nhiên, khi lượng enzyme bão hòa thì hiệu suất sẽ không tăng thêm[18]. Nghiên cứu của Verma (2014) khi trích ly polyphenols từ lá của cây dạ hoa (*Nyctanthes arbortristis*) cũng cho kết quả tương tự, hàm lượng các hợp chất phenolic tăng khi hàm lượng cellulase tăng từ 121 U/g lên 421 U/g nhưng sẽ giảm khi cellulase tăng lên 526U/g[19]. Kết quả sử dụng cellulase (Celluclast® 1.5L) để trích ly pectin từ artichoke (*Cynara scolymus L.*) cho thấy hàm lượng pectin trích ly được cũng biến đổi theo quy luật tăng đạt cực đại rồi giảm khi hàm lượng cellulase tăng[20]. Hiện tượng khi tăng nồng độ cellulase hàm lượng polyphenols tổng và khả năng bắt gốc tự do có xu hướng giảm được Hong và cộng sự giải thích là do sự ức chế ngược lại quá trình thủy phân do nồng độ enzyme cao đến mức bão hòa so với lượng cơ chất[21]. Trong điều kiện pH dịch trích 5.0, nhiệt độ ủ 55°C và tỉ lệ NL:DM = 1:8, khi so sánh giữa chỉ xử lý bằng 400 U/gNL cellulase (mẫu 0 U/gNL pectinase - Hình 1) và chỉ xử lý bằng 600 U pectinase /gNL (mẫu 0 U/gNL cellulase - Hình 2) cho thấy chế phẩm cellulase giúp trích ly được chất khô hòa tan và hợp chất phenolic tổng nhiều hơn so với pectinase là 7.2% và 6.9%; hoạt tính kháng oxy hóa của dịch trích tăng 33.4% theo DPPH và 23.3% theo FRAP. Ảnh hưởng của enzyme đến hiệu quả trích ly các hợp chất phenolic phụ thuộc vào thành phần và cấu trúc của thành tế bào thực vật. Nguyên liệu vỏ và thịt quả cà phê có hàm lượng pectin là 7.1±0.5g/100g CKNL và hàm lượng xơ không tan lnhiều gấp 5 lần đạt 35.7±0.4g/100g CKNL. Do đó, cellulase sẽ có hiệu quả tốt hơn trong thủy phân làm tăng hàm lượng chất khô và hợp chất phenolic vào dung dịch. Kết quả này tương đồng với kết quả của Meini và cộng sự (2019) hoặc của Drevelegka và Goula (2020) khi nghiên cứu quá trình trích ly polyphenol từ bã ép nho đã nhận thấy cellulase đã làm tăng hàm lượng phenol từ bã nho so với pectinase[18,22]. Cũng trong điều kiện này khi so sánh hiệu quả trích ly khi xử lý kết hợp 400 U/gNL cellulase

và 600 U/gNL pectinase (mẫu 400 U/gNL cellulase - Hình 2) với chỉ xử lý 600 U pectinase /gNL (mẫu 0 U/gNL cellulase - Hình 2) và chỉ xử lý 400 U cellulase/gNL, nồng độ chất khô hòa tan tăng 26.4% và 17.9%, giá trị TPC tăng 29.9% và 21.5%, hoạt tính kháng oxy hóa theo DPPH tăng 58.2% và 18.6%, theo FRAP tăng 37.3% và 11.3%.

Kết quả cho thấy sử dụng kết hợp pectinase và cellulase có hiệu quả tốt trong hỗ trợ quá trình trích ly chất khô hòa tan cũng như polyphenol tổng từ vỏ và thịt quả cà phê so với trường hợp chỉ sử dụng một loại enzyme pectinase hoặc cellulase. Việc sử dụng kết hợp các chế phẩm enzyme sẽ làm tăng hiệu suất trích ly phù hợp với kết quả của Yazdi và cộng sự (2019) khi sử dụng kết hợp chế phẩm cellulase và pectinase để trích ly polyphenol tổng từ vỏ quả pistachio xanh hiệu suất trích ly polyphenol tổng tăng 2.4 lần so với chỉ sử dụng pectinase và gấp 4.3 lần khi chỉ sử dụng enzyme cellulase[23]. Shen và công sự (2021) khi nghiên cứu sử dụng enzyme để trích ly polyphenol từ quả táo ta cũng nhận thấy giá trị TPC khi sử dụng hỗn hợp 3 enzyme cellulase, pectinase và protease cao hơn khoảng 10% so với sử dụng từng enzyme riêng biệt[24]. Tuy nhiên, một số nghiên cứu khác lại cho thấy không có sự khác biệt đáng kể về hiệu suất trích ly polyphenol khi sử dụng hỗn hợp enzyme so với việc bổ sung pectinase và cellulase riêng lẻ như nghiên cứu của Drevelegka và Goula (2020)[18] hay của Fernández và cộng sự (2015)[25], khi trích ly hợp chất phenolic từ vỏ và hạt nho.

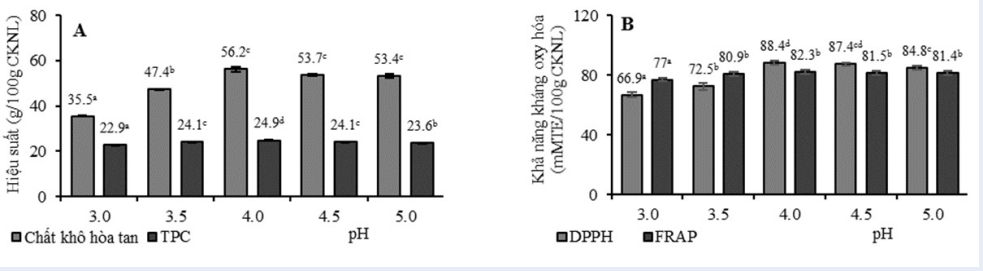
Ảnh hưởng của pH đến khả năng trích ly các hợp chất kháng oxy hóa

Khi thay đổi pH trong khoảng 3.0 – 4.0, lượng chất khô hòa tan vào dịch trích tăng 58.2% từ 35.5±0.3 g/100gCKNL đến 56.2±1.2 g/100gCKNL, TPC tăng 8.4% từ 22.9±0.1 đến 24.9±0.2 g GAE/100gCKNL (Hình 3A), khả năng kháng oxy hóa theo DPPH và theo FRAP lần lượt tăng 32.2% từ 66.9±1.9 đến 88.4±1.5 mM TE/100gCKNL và tăng 6.9% từ 77±1.2 đến 82.3±1.2 mM TE/100gCKNL (Hình 3B). Nếu tiếp tục tăng pH lên 5.0, nồng độ chất khô hòa tan không thay đổi, giá trị TPC giảm. Dựa vào giá trị lớn nhất của hiệu suất trích ly chất khô hòa tan, TPC và khả năng kháng oxy hóa đều đạt được tại pH 4.0, nên giá trị pH 4.0 sẽ được áp dụng cho các thí nghiệm sau. Nồng độ $[H^+]$ môi trường ảnh hưởng rõ rệt đến phản ứng enzyme vì nó ảnh hưởng đến mức độ ion hóa cơ chất và độ bền protein enzyme. Hiệu suất thủy phân sẽ đạt cao nhất tại pH tối ưu của enzyme thủy phân được sử dụng. Theo khuyến cáo của nhà sản xuất thì khoảng pH hoạt động của chế phẩm enzyme pectinase trong khoảng 3.0 – 5.0 và chế phẩm enzyme cellulase trong khoảng pH 3.5 – 5.5. Kết quả thu được cho thấy trong khoảng pH khuyến cáo của nhà sản xuất, giá trị pH = 4.0 là pH thích hợp cho cả hai enzyme cùng hoạt động thủy phân nên hàm lượng chất khô hòa tan, hàm lượng polyphenols cũng như khả năng chống oxy hóa ở DPPH và FRAP của dịch trích đạt giá trị cao hơn[8].

Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng trích ly các hợp chất kháng oxy hóa

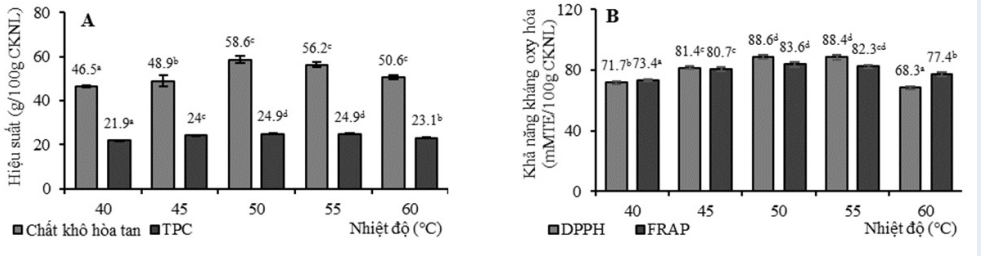
Khi thay đổi nhiệt độ trong khoảng 40°C – 50°C, nồng độ chất khô hòa tan vào dịch trích tăng 26.2% từ 46.5±0.4g/100gCKNL lên 58.6±1.5g/100gCKNL, khi nhiệt độ tăng đến 60°C nồng độ chất khô hòa tan giảm 15.8% còn 50.6±1 g/100gCKNL. Giá trị TPC tăng 13.9% từ 21.9±0.1 gGAE/100gCKNL lên 24.9±0.1g GAE/100gCKNL khi nhiệt độ tăng từ 40°C – 50°C, không đổi trong khoảng từ 50°C – 55°C và giảm 8.3% khi nhiệt độ ủ tăng lên 60°C (Hình 4A). Tại 50°C khả năng kháng oxy hóa theo phương pháp DPPH của dịch trích đạt cao nhất là 88.6±1.5mM TE/100gCKNL (1.5±0 mM/ gCK dịch trích), cao hơn 23.5% so với dung dịch trích ở 40°C và 29.6% so với 60°C; khả năng kháng oxy hóa theo phương pháp FRAP là 83.6±1.6 mM TE/100gCKNL (1.4±0.1 mM/gCK dịch trích), cao hơn 13.9% so với dung dịch trích ở 40°C và 8.1% so với 60°C (Hình 4B).

Mỗi enzyme sẽ hoạt động tốt nhất ở vùng nhiệt độ tối ưu. Theo nhà sản xuất, khoảng nhiệt độ tối ưu của cellulase là 40 – 60°C và của pectinase là 40 – 55°C[8]. Nhiệt độ tối ưu trong nghiên cứu này là 50°C nằm trong khoảng tối ưu của hai enzyme nên cả hai enzyme này sẽ hoạt động tốt, do đó hàm lượng chất khô hòa tan và hợp chất phenolic tổng trích ly ra được là cao nhất. Ngoài ra, tốc độ khuếch tán của dung môi vào trong tế bào, của các chất nội bào ra ngoài dung môi và nồng độ cân bằng của quá trình trích ly cũng chịu ảnh hưởng của nhiệt độ. Theo lý thuyết, khi nhiệt độ tăng, độ nhớt giảm làm cho enzyme và dung môi dễ dàng tiếp xúc với các hoạt chất, làm tăng khả năng thủy phân. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nhiệt độ cao gây biến tính enzyme và phá hủy các hợp chất phenolic thì nồng độ chất khô hòa tan và giá trị TPC của dịch trích giảm[26]. Khi nghiên cứu trích ly polyphenol từ bã nho bằng hỗn hợp enzyme pectinase và cellulase Drevelegka và Goula (2020) đã chỉ ra rằng nhiệt độ tối ưu cho quá trình này là 56°C[18]. Dựa vào hiệu suất trích ly polyphenol và khả năng kháng oxy hóa của dịch trích thì nhiệt độ 50°C sẽ được sử dụng cho nghiên cứu tiếp theo.



Hình 3: Ảnh hưởng của pH dịch trích đến hiệu suất trích ly chất khô, polyphenol tổng (A) và khả năng kháng oxy hóa (B)[a]

[a] *Các giá trị được ký hiệu với những chữ cái khác nhau trên các cột cùng màu thì khác nhau có ý nghĩa thống kê (P<0,05).*



Hình 4: Ảnh hưởng của nhiệt độ ủ đến hiệu suất trích ly chất khô, polyphenol tổng (A) và khả năng kháng oxy hóa (B)[a]

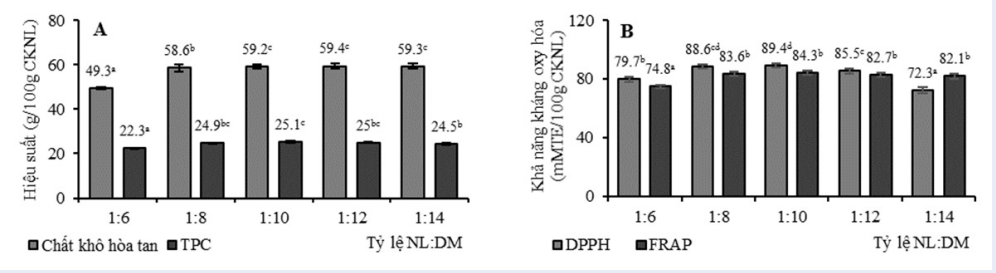
[a] *Các giá trị được ký hiệu với những chữ cái khác nhau trên các cột cùng màu thì khác nhau có ý nghĩa thống kê (P<0,05).*

Ảnh hưởng của tỉ lệ NL:DM đến khả năng trích ly các hợp chất kháng oxy hóa

Trong khoảng tỉ lệ NL:DM từ 1:6 đến 1:10, lượng chất khô hòa tan và polyphenol tổng trích ly ra được từ nguyên liệu tăng lần lượt 19.9% từ 49.3±0.4 lên 59.2±1.0g/100gCKNL và tăng 12.7% từ 22.3±0.2 lên 25.1±0.4gGAE/100gCKNL (Hình 5A). Khả năng kháng oxy hóa cũng tăng 12.1%, đạt 89.4±1.6 mM TE/100gCKNL theo DPPH và tăng 12.7% đạt 84.3±1.5mM TE/100gCKNL theo FRAP (Hình 5B). Khi tiếp tục tăng tỉ lệ NL:DM lên tỉ lệ 1:12 và 1:14 thì hiệu suất trích ly chất khô tăng không đáng kể trong khi TPC và khả năng kháng oxy hóa giảm. Dựa vào hiệu suất trích ly chất khô hòa tan, polyphenol tổng và khả năng kháng oxy hóa của dịch trích thì tỉ lệ NL:DM = 1:10 sẽ được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo. Trong quá trình trích ly, nước không chỉ đóng vai trò là dung môi trích, thẩm thấu vào trong tế bào giúp hòa tan các chất nội bào, mà còn làm tăng tính linh động của các enzyme, hỗ trợ phản ứng thủy phân, tăng sự khuếch tán của chất khô hòa tan và phenolic vào dịch trích. Tuy nhiên khi tỷ lệ dung môi: nguyên liệu cao, nồng độ enzyme giảm, khả năng tiếp xúc giữa enzyme và cơ chất giảm; mặt khác hàm lượng nước cao làm khả năng bị thủy phân và oxy hóa của polyphenol tăng, dẫn đến giá trị TPC và khả năng kháng oxy hóa giảm nhẹ. Khi nghiên cứu về quá trình trích ly polyphenol từ bã nho, Drevelegka và Goula (2020) cũng có kết quả tương tự, ở tỉ lệ hỗn hợp cellulase:pectinase = 1:4, lượng phenolic trích ra cao nhất ở tỷ lệ 3mL dung môi/g bã nho. Nếu tăng tỷ lệ dung môi lên 4 mL/g giá trị TPC giảm [18].

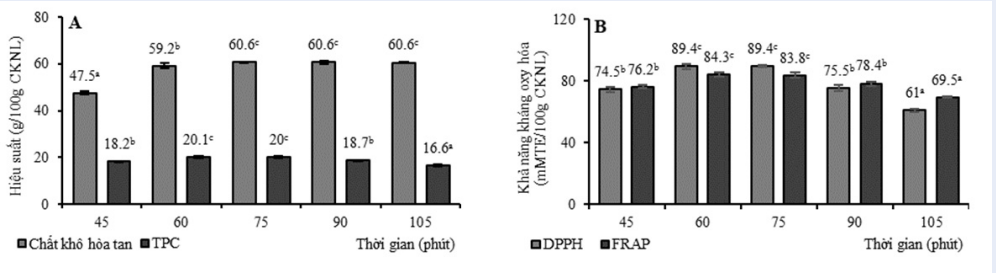
Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến khả năng kháng oxy hóa

Khi tăng thời gian ủ từ 45 phút lên 75 phút, lượng chất khô hòa tan trích ly ra được từ nguyên liệu tăng 27.6% từ 47.5±0.7 lên 60.6±0.4 g/100 gCKNL. Tuy nhiên, polyphenol tổng chỉ tăng trong 60 phút đầu tiên, đạt 20.1±0.3 g/100g CKNL, kéo dài thời gian ủ, lượng polyphenol tổng trong dung dịch giảm. Sau 105 phút ủ, giá trị TPC giảm 20.5% còn 17±0.1gGAE/100gCKNL (Hình 6A). Khả năng kháng oxy hóa của dịch trích theo DPPH cũng đạt cực đại 89.4±1.6 mM TE/100gCKNL khi thời gian ủ là 60



Hình 5: Ảnh hưởng của tỉ lệ NL:DM đến hiệu suất trích ly chất khô, polyphenol tổng (A) và khả năng kháng oxy hóa (B)[a]

[a] *Các giá trị được ký hiệu với những chữ cái khác nhau trên các cột cùng màu thì khác nhau có ý nghĩa thống kê (P<0,05).*



Hình 6: Ảnh hưởng của thời gian ủ đến hiệu suất trích ly chất khô, polyphenol tổng (A) và khả năng kháng oxy hóa (B)[a]

[a] *Các giá trị được ký hiệu với những chữ cái khác nhau trên các cột cùng màu thì khác nhau có ý nghĩa thống kê (P<0,05).*

phút, cao hơn so với thời điểm 45 phút và 105 phút lần lượt là 20.1% và 46.6%. Khả năng kháng oxy hóa của dịch trích theo FRAP không đổi trong khoảng thời gian ủ 60 – 75 phút đạt 84.3±1.5 mMTE/100gCKNL, cao hơn 10.0% so với thời điểm 45 phút và 20.5% so với thời gian trích ly 105 phút (Hình 6B).

Thời gian tiếp xúc giữa enzym và cơ chất ảnh hưởng đến mức độ của phản ứng thủy phân trong điều kiện enzym vẫn còn hoạt động. Sự phân hủy của các thành phần thành tế bào có thể được tăng cường bằng cách kéo dài thời gian ủ nên hàm lượng chất khô hòa tan sẽ tăng. Tuy nhiên, sự thủy phân và thoái hóa các hợp chất phenolic ở nhiệt độ cao trong thời gian dài sẽ làm giảm giá trị TPC và khả năng kháng oxy hóa. Khi tối ưu hóa quá trình trích ly polyphenol từ bã nho, Drevelegka và Goula nhận thấy thời gian trích ly polyphenol bằng enzyme pectinase và cellulase sẽ đạt tối ưu trong khoảng 150 phút[18], nếu kéo dài hơn TPC sẽ giảm.

KẾT LUẬN

Vỏ và thịt quả cà phê robusta chín đỏ từ tỉnh ĐăkLăk, Việt Nam có hàm lượng các hợp chất phenolic tổng và khả năng kháng oxy hóa cao, cần có giải pháp phù hợp để trích ly thu hồi các hợp chất này. Khi được hỗ trợ bởi hai chế phẩm enzyme pectinase và cellulase, điều kiện để trích ly được nhiều nhất chất khô hòa tan và hợp chất phenolic từ vỏ và thịt quả cà phê là: hàm lượng pectinase 600 U/g nguyên liệu tươi, hàm lượng cellulase 400 U/g nguyên liệu tươi, pH dịch trích 4.0, nhiệt độ ủ - trích ly là 50^{o}C, tỉ lệ nguyên liệu:dung môi = 1:10, thời gian trích ly 60 phút. Trong điều kiện đó, lượng polyphenol tổng trích ly ra được đạt 20.1±0.3 gGAE/100g CKNL, khả năng kháng oxy hóa đạt 1.5±0.1 mM TE/g chất khô dịch trích (theo DPPH) và 1.4±0.1 mM TE/ g chất khô dịch trích (theo FRAP). Từ dịch trích này có thể tiếp tục xử lý để sản xuất nước giải khát, sirup cô đặc hoạt tính sinh học từ vỏ và thịt quả cà phê.

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

CKNL: chất khô có trong nguyên liệu vỏ và thịt quả cà phê đã qua quá trình chần, đông lạnh, rã đông.

DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations

FRAP: Ferric reducing antioxidant power
GAE: gallic acid equivalents
TE: Trolox equivalents
Tỉ lệ NL:DM:Tỉ lệ nguyên liệu:dung môi
TPC: Total polyphenol content – Hàm lượng polyphenol tổng

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh (ĐHQG-HCM) trong khuôn khổ đề tài mã số C2019-20-20/ĐHQG".
Chúng tôi xin cảm ơn Trường Đại học Bách Khoa, ĐHQG-HCM đã hỗ trợ thời gian, phương tiện và cơ sở vật chất cho nghiên cứu này.

XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Nhóm tác giả xin cam đoan không có bất kỳ xung đột lợi ích nào trong công bố bài báo.

ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ

Tác giả Trần Minh Khánh: thu thập số liệu, viết phần giới thiệu, nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu
Tác giả Tôn Nữ Minh Nguyệt: phân tích và kiểm chứng số liệu
Tác giả Trần Thị Thu Trà: kiểm chứng số liệu và viết phần kết quả và bàn luận
Tác giả Lê Văn Việt Mẫn: viết phần bàn luận và kết luận
Tác giả chính: Trần Thị Thu Trà
Tác giả liên hệ: Trần Thị Thu Trà

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. FAOSTAT. Crops. 2020;Available from: http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC.
2. Esquivel P, Jiménez VM. Functional properties of coffee and coffee by-products. Food Research International. 2012;46(2):488-95;Available from: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.028.
3. Corrêa CLO, Penha EM, Freitas-Silva O, Luna AS, Gottschalk LMF. Enzymatic Technology Application on Coffee Co-products: A Review. Waste and Biomass Valorization. 2020;Available from: https://doi.org/10.1007/s12649-020-01208-w.
4. Murthy PS, Naidu MM. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition-A review. Resources, Conservation and recycling. 2012;66:45-58;Available from: https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2012.06.005.
5. Galanakis CM. Handbook of Coffee Processing By-Products: Sustainable Applications: Elsevier Science. 2017;.
6. KonaRed. Hawaiian Coffee Fruit (Cascara) Juice;Available from: https://www.konared.com/products/konared-coffeeberry-juice.
7. Phạm THT, Trần TTT. Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng trích ly các hợp chất có khả năng kháng oxy hóa từ vỏ và thịt quả cà phê. Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ - Kĩ thuật và Công nghệ. 2020;3(1):375-82;.
8. AngelYeast Co. L. Enzymes: AngelYeast Co., Ltd. All rights reserved. 2020;Available from: https://en.angelyeast.com/products/enzymes.html.
9. Bradley RL. Moisture and total solids analysis. Food analysis: Springer. 2010;p. 85–104. Available from: https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1478-1_6.
10. Agbor GA, Vinson JA, Donnelly PE. Folin-ciocalteau reagent for polyphenolic assay. International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics (IJFS). 2014;3(8):147-56;Available from: https://doi.org/10.19070/2326-3350-1400028.
11. Benzie IF, Strain J. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods Enzymol. 299: Elsevier. 1999;p. 15–27. Available from: https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99005-5.
12. Brand-Williams W, Cuvelier M-E, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food science and Technology. 1995;28(1):25-30;Available from: https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
13. Mùi NV. Thực hành Hóa Sinh học: NXB Đại học Quốc gia Hà Nội; 2007;.
14. Lee SC, Prosky L. Dietary fiber analysis. Cereal Foods World1992. p. 765;.
15. Oliveira G, Passos CP, Ferreira P, Coimbra MA, Gonçalves I. Coffee By-Products and Their Suitability for Developing Active Food Packaging Materials. 2021;10(3):683;PMID: 33806924. Available from: https://doi.org/10.3390/foods10030683.
16. Frómeta RAR, Sánchez JL, García JMR. Evaluation of coffee pulp as substrate for polygalacturonase production in solid state fermentation. Emirates Journal of Food Agriculture. 2020:117-24;Available from: https://doi.org/10.9755/ejfa.2020.v32.i2.2068.
17. Nadar SS, Rao P, Rathod VK. Enzyme assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review. Food Research International. 2018;108:309-30;PMID: 29735063. Available from: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.006.
18. Drevelegka I, Goula AM. Recovery of grape pomace phenolic compounds through optimized extraction and adsorption processes. Chemical Engineering and Processing - Process Intensification. 2020;149:107845;Available from: https://doi.org/10.1016/j.cep.2020.107845.
19. Verma M, Das S, Dutta D, Chaudhuri S. Kinetic Modeling of Cellulase Enzyme Assisted Extraction of Polyphenols from Nyctanthes arbortristis Leaves. Advances in Biotechnology Patenting. 2014:219;.
20. Sabater C, Corzo N, Olano A, Montilla A. Enzymatic extraction of pectin from artichoke (Cynara scolymus L.) by-products using Celluclast®1.5L. Carbohydr Polym. 2018;190:43-9;PMID: 29628258. Available from: https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.02.055.
21. H YH. Enzymatic improvement in the polyphenol extraxtability and antioxidant activity of green tea extracts. Biosci Biotechnol Biochem. 2013;77:9–22. PMID: 23291774. Available from: https://doi.org/10.1271/bbb.120373.
22. Meini M-R, Cabezudo I, Boschetti CE, Romanini D. Recovery of phenolic antioxidants from Syrah grape pomace through the optimization of an enzymatic extraction process. Food Chem. 2019;283:257-64;PMID: 30722869. Available from: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.037.
23. Ghandahari Yazdi AP, Barzegar M, Sahari MA, Ahmadi Gavlighi H. Optimization of the enzyme-assisted aqueous extraction of phenolic compounds from pistachio green hull. Food science & nutrition 2019;7(1):356-66;.
24. Shen D, Kou X, Wu C, Fan G, Li T, Dou J, et al. Cocktail enzyme-assisted alkaline extraction and identification of jujube peel pigments. Food Chem. 2021:129747;PMID: 33892359. Available from: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129747.
25. Fernández K, Vega M, Aspé E. An enzymatic extraction of proanthocyanidins from País grape seeds and skins. Food Chem. 2015;168:7-13;PMID: 25172676. Available from: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.021.
26. Dai J, Mumper RJ. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties Molecules. 2010:7313-52;PMID: 20966876. Available from: https://doi.org/10.3390/molecules15107313.

Science & Technology Development Journal – Engineering and Technology, 4(2):968-976

Open Access Full Text Article

Research article

Combined cellulolytic and pectinolytic enzymes to increase the polyphenol extractability of coffee husks

Tran Thi Thu Tra[1,2,*], Tran Minh Khanh[3], Ton Nu Minh Nguyet[1,2], Le Van Viet Man[1,2]

Use your smartphone to scan this QR code and download this article

ABSTRACT

Coffee husks (CHs) is a high biological activity by-product of the coffee bean industry, but currently, in Vietnam, it has not been used properly in the food industry. This study was conducted to investigate the combined cellulolytic and pectinolytic enzymes to increase the polyphenol extractability of coffee husks. The red ripe Robusta coffee cherries from Dăklak province, Vietnam were blanched, peeled and the coffee husks was then extracted. The effects of pectinase content (from 0 to 800 U/gCHs), cellulase content (from 0 to 800 U/gCHs), pH (from 3.0 to 5.0), temperature (from 40°C to 60°C), CHs: solvent ratio (from 1: 6 to 1:12) and extracted time (from 60 minutes to 120 minutes) on soluble solid content (SSC), total polyphenol content (TPC) and antioxidant activity were investigated. The appropriate conditions for the treatment were pectinase dosage of 600 U/gCHs, cellulase dosage of 400 U/gCHs, pH 4.0, temperature 50°C, CHs:soluble ratio = 1:10 and incubation time of 60 min under which the SSC, TPC and antioxidant activity of extract were highest by 60.6±0.4 g/100g dry weight of CHs, 20±0.5 gGAE /100g dry weight of CHs, 1.4 ± 0.1 mMTE/g dry weight of extract (according to FRAP assay) and 1.5 ± 0.1 mMTE/g dry weight of extract (according to DPPH assay). From this result, it can be seen that the extracted solution from coffee husk is a potential source for the production of soft drinks with high antioxidant activity.

Key words: coffee husks, cellulase, pectinase, total polyphenol, antioxidant activity

[1]*Department of Food Technology, Ho Chi Minh City University of Technology, Vietnam*

[2]*Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam*

[3]*Faculty of Food Technology, Saigon Technology University, Vietnam*

Correspondence

Tran Thi Thu Tra, Department of Food Technology, Ho Chi Minh City University of Technology, Vietnam

Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: ttttra@hcmut.edu.vn

History

- Received: 25-4-2021
- Accepted: 18-5-2021
- Published: 25-5-2021

DOI : 10.32508/stdjet.v4i2.832

Check for updates

Copyright

© VNU-HCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.

VNU-HCM Press

Cite this article : Tra T T T, Khanh T M, Nguyet T N M, Man L V V. **Combined cellulolytic and pectinolytic enzymes to increase the polyphenol extractability of coffee husks**. *Sci. Tech. Dev. J. – Engineering and Technology;* 4(2):968-976.