



**Luận văn**  
**Nghiên Cứu Chiết Tách Caffeine Từ**  
**Lá Trà Bằng CO<sub>2</sub> Lỏng Ở Trạng**  
**Thái Siêu Tới Hạn**

# Luận văn tốt nghiệp

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
ĐẠI HỌC QUỐC GIA TP.HCM  
Trường Đại Học Bách Khoa  
Khoa : Công nghệ hóa học  
Bộ Môn : quá trình và thiết bị

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM  
Độc lập – Tự do – Hạnh phúc  
\*\*\*\*\*

## NHIỆM VỤ LUẬN VĂN TỐT NGHIỆP

Họ và tên : NGUYỄN CAO MINH  
Ngành : MÁY VÀ THIẾT BỊ

MSSV : 60601473  
LỚP : HC06MB

1. Đầu đề luận văn :

### NGHIÊN CỨU CHIẾT TÁCH CAFFEINE TỪ LÁ TRÀ BẰNG CO<sub>2</sub> LỎNG Ở TRẠNG THÁI SIÊU TỚI HẠN

2. Nhiệm vụ (Yêu cầu về nội dung và số liệu ban đầu):

- Tổng quan về trà và các phương pháp chiết.
- Nghiên cứu chiết tách caffeine từ lá trà.
- Khảo sát các thông số ảnh hưởng.
- Tối ưu điều kiện chiết caffeine.
- Bàn luận và đánh giá.

3. Ngày giao nhiệm vụ luận văn : 15/09/2010

4. Ngày hoàn thành nhiệm vụ : 3/12/2010

5. Họ và tên người hướng dẫn:

Phản hướng dẫn:

**TS. Lê Thị Kim Phụng**

100%

Nội dung và yêu cầu LVTN đã được thông qua Bộ môn

Ngày tháng năm 2010

**CHỦ NHIỆM BỘ MÔN**

*(Ký và ghi rõ họ tên)*

**NGƯỜI HƯỚNG DẪN CHÍNH**

*(Ký và ghi rõ họ tên)*

*PHẦN DÀNH CHO KHOA, BỘ MÔN :*

Người duyệt (chấm sơ bộ) :

Đơn vị : .....

Ngày bảo vệ : .....

Điểm tổng kết : .....





## LỜI CẢM ƠN

Trong quá trình tìm hiểu học hỏi để hoàn thành luận văn được giao. Tôi cũng đã gặp rất nhiều vướng mắc trong quá trình tìm hiểu, nhưng được sự giúp đỡ tận tình của giáo viên hướng dẫn cô Lê Thị Kim Phụng, các thầy quản lý phòng thí nghiệm trọng điểm công nghệ hóa và dầu khí cùng một số anh chị cao học đã giúp tôi giải đáp những vướng mắc trong quá trình nghiên cứu để hoàn thành luận văn này.

Tôi xin chân thành cảm ơn các thầy cô và các anh chị cao học đã giúp đỡ tôi hoàn thành luận văn này.

## MỤC LỤC

LỜI MỞ ĐẦU VÀ NHIỆM VỤ CỦA ĐỀ TÀI.....	8
CHƯƠNG 1: GIỚI THIỆU CHUNG VỀ TRÀ.....	9
1.1 Giới thiệu về cây trà.....	10
1.1.1 Mô tả cây trà.....	10
1.1.2 Phân bố, sản xuất và tiêu thụ.....	11
1.2 Phân loại.....	16
1.2.1 Trà Camellia Sinesis Var Boheat.....	17
1.2.2 Trà camellia Sinesis Var Macrophulla Sieb.....	17
1.2.3 Trà camellia Sinesis Var Shan.....	18
1.2.4 Trà camellia Sinesis Var Assamica.....	18
1.3 Thành phần hóa lý tính.....	19
1.3.1 Nước.....	20
1.3.2 Hợp chất polyphenol ( tannin).....	21
1.3.3 Caffeine.....	27
1.3.4 Protein và acid amin.....	28
1.3.5 Hợp chất carbohydrates.....	29
1.3.6 Enzym.....	29
1.3.7 Các chất khác.....	29
1.4 Hoạt tính sinh học của trà.....	32
1.4.1 Dược tính trà.....	32
1.4.2 Tác dụng sinh học của catechin.....	33

# Luận văn tốt nghiệp

---

1.4.3	Tác dụng sinh học của caffeine.....	35
1.4.4	Tác dụng của các hợp chất khác.....	36
1.5	Các loại trà được chế biến.....	37
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....		39
2.1	Đối tượng nghiên cứu .....	40
2.1.1	quy trình chế biến trà dùng trong nghiên cứu .....	40
2.2	Mục tiêu nghiên cứu .....	41
2.3	Các phương pháp chiết.....	41
2.3.1	Định nghĩa.....	41
2.3.2	Các phương pháp chiết thông thường và hiện đại.....	41
2.3.3	Phương pháp trích ly bằng CO <sub>2</sub> siêu tới hạn .....	42
2.3.3	Nguyên lý hoạt động của chiết tách CO <sub>2</sub> siêu tới hạn .....	47
2.4	Tối ưu hóa các điều kiện chiết bằng quy hoạch.....	48
CHƯƠNG 3: THIẾT BỊ VÀ PHƯƠNG PHÁP THỰC NGHIỆM .....		50
3.1	Sơ đồ tiến hành thí nghiệm .....	51
3.2	Cách thực hiện .....	52
3.3	Các thiết bị chiết tách và hóa chất sử dụng.....	52
3.3.1	thiết bị chiết bằng soxhlet .....	52
3.3.2	Thiết bị chiết bằng SCO <sub>2</sub> .....	53
3.3.3	thiết bị phân tích HPLC (High Performance Liquid Chromatography) .....	55
CHƯƠNG 4: KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN .....		58
4.1	Kết quả hàm lượng tổng caffeine chiết bằng soxhlet.....	59

# Luận văn tốt nghiệp

---

4.2	Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết .....	61
4.3	Mô hình hóa thực nghiệm xác định các thông số trạng thái $\text{SCO}_2$ và nồng độ co – solvent .....	62
4.3.1	Kết quả xây dựng phương trình hồi quy .....	63
4.4	bàn luận .....	69
TÀI LIỆU THAM KHẢO .....		70
PHỤ LỤC 1 .....		73
	Công thức quy hoạch trực giao cấp 2 .....	73
PHỤ LỤC 2 .....		74
	Chương trình giải bằng mablat .....	74
PHỤ LỤC 3 .....		74
	Thời gian chiết .....	74
PHỤ LỤC 4 .....		75
	Kết quả thí nghiệm quy hoạch và kiểm tra điều kiện tối ưu .....	75



## LỜI MỞ ĐẦU VÀ NHIỆM VỤ CỦA ĐỀ TÀI

Trà vốn là loại thức uống nổi tiếng thế giới. Cây trà đã xuất hiện lâu đời trước Công Nguyên ở vùng gió mùa Đông Nam Á. Ở Việt Nam, từ xa xưa nhân dân đã có tập quán uống trà do có hương vị thơm mát và có nhiều tác dụng sinh học quý báu: chống lão hóa, giảm cholesterol, chống đột biến, ung thư....

Dược tính của trà có được chủ yếu là nhờ hợp chất catechin trong trà. Ngoài ra, trong trà lại chứa hàm lượng caffeine cũng khá nhiều chiếm khoảng 3 – 4 % hàm lượng, lượng caffeine này có thể tác động không tốt đến một số người thích dùng trà. Do đó, nhiệm vụ trong đề tài luận văn này là tách caffeine để đáp ứng nhu cầu những người dùng trà không caffeine.

Phương pháp để tách chiết caffeine trong trà là sử dụng công nghệ chiết bằng CO<sub>2</sub> siêu tới hạn (SCO<sub>2</sub>). Hiện nay, công nghệ chiết SCO<sub>2</sub> được dùng chủ yếu để sản xuất dược chất và hương liệu từ nguồn thiên nhiên như concrete từ hoa bưởi, tinh dầu quế, taxol từ cây thông đỏ.... Vì nó có nhiều ưu điểm như, tạo ra sản phẩm có độ tinh khiết cao, giảm thiểu ô nhiễm môi trường và đặc biệt không để lại dư lượng hóa chất có hại cho sức khỏe con người, đây là tiêu chí quan trọng trong sản xuất chế phẩm hóa dược, mỹ phẩm và dược phẩm. Và nhiệm vụ trong việc chiết tách là tìm ra điều kiện thích hợp để chiết tách sao cho đạt hiệu suất cao mà không loại bỏ qua nhiều chất có lợi.

## **CHƯƠNG 1: GIỚI THIỆU CHUNG VỀ TRÀ**

## 1.1 Giới thiệu về cây trà

Cây trà hay thường gọi là chè có nguồn gốc ở Đông Nam Á và có tên khoa học là *Camellia sinensis* là loài cây mà lá và chồi của chúng được sử dụng để sản xuất trà. Các danh pháp khoa học cũ còn có là *Thea bohea* và *Thea viridis*.

### 1.1.1 Mô tả cây trà

Cây trà là cây khỏe, mọc hoang, đôi khi mọc thành rừng gỗ trên núi đá cao. Khi không cắt xén có thể cao đến 17 m, nhưng khi trồng người ta cắt xén để tiện việc hái nên thường cao khoảng 0,5-2 m. cây sinh trưởng trong điều kiện tự nhiên chỉ có một thân chính đường kính thân có thể tới mức một người ôm không xuể, chia làm 3 loại: thân gỗ, thân bụi, thân nhỡ. Cành trà do mầm sinh dưỡng phát triển mà thành, trên cành chia làm nhiều đốt, chiều dài biến đổi từ 1-10cm. đốt trà càng dài càng biểu hiện giống trà có năng suất cao.

Lá trà mọc cách trên cành, mỗi đốt có một lá( mọc sole nhau), không rụng. lá trà có gân rất rõ, rìa lá có răng cưa. Búp trà là giai đoạn non của một cành trà được hình thành từ các mầm dinh dưỡng, gồm tôm( phần non của đỉnh lá chưa xòe và 2 hoặc 3 lá non). Kích thước búp trà tùy thuộc vào giống và kỹ thuật canh tác.

Cây trà sau khi sinh trưởng 2-3 tuổi bắt đầu ra hoa, hoa cây trà to, có màu biến đổi từ trắng đến hồng hoặc đỏ, mọc ở kẽ lá, mùi rất thơm. Hoa chè được hình thành từ các mầm sinh thực. Hoa chè lưỡng tính, đài hoa có 5 - 7 cánh. Trong một hoa có rất nhiều nhị đực, từ 200 - 400. Noãn sào thường có 3 - 4 ô. Hoa nở rộ vào tháng 11 - 12. Phương thức thụ phấn chủ yếu là khác hoa, tự thụ phấn chỉ 2 - 3%. Trong một ngày, hoa thường nở từ 5 - 9 giờ sáng.



Búp trà

Hoa trà

Quả là một nang thường có ba ngăn, nhưng thường chỉ có một hạt do các hạt khác bị teo đi, hạt không có phôi nhũ, lá mầm lớn có chứa dầu.



Cành cây trà

Trà là cây lâu năm, chu kỳ sống rất lâu, có thể đạt đến 60-100 năm hoặc lâu hơn nữa. Tuổi thọ kinh tế tối đa của một cây trà thương mại là khoảng 50-65 năm tùy thuộc vào điều kiện môi trường và phương pháp trồng trọt.

Trà cho năng suất cao vào mùa mưa từ tháng 5-11, sau 10-15 ngày thì thu hoạch một lần. Trà nguyên liệu sử dụng trong chế biến chủ yếu là 1 tôm và 2-3 lá.

## 1.1.2 Phân bố, sản xuất và tiêu thụ

### 1.1.2.1 Trên thế giới

Trà là cây trồng có lịch sử lâu đời (trên 4000 năm). Lúc đầu trà được dùng chủ yếu làm dược liệu, sát trùng rửa các vết thương. Ngày nay trà là thức uống phổ biến và chủ yếu với những sản phẩm chế biến đa dạng và phong phú. Ngoài việc thỏa mãn nhu cầu về giải khát, dinh dưỡng, thường thức trà ở nhiều nước đã được nâng lên tầm văn hóa với cả những nghi thức trang trọng và thanh cao của trà đạo như ở Nhật Bản.

## Luận văn tốt nghiệp

Trà là cây có nguồn gốc từ Trung Quốc. Người Trung Quốc đã biết dùng trà từ 2500 năm trước công nguyên. Từ Trung Quốc trà được truyền bá ra khắp năm Châu: đầu tiên sang Nhật Bản do các vị hòa thượng mang về, sau này phát triển thành trà đạo; sang vùng Ả Rập, Trung Đông bằng con đường tơ lụa; sang Châu Âu, Anh, Pháp, Đức do các thủy thủ, tàu buôn Bồ Đào Nha; sang Mông cổ, Nga bằng các đoàn lạc đà xuyên sa mạc Nội Mông. Cho đến nay trà đã được trồng ở 58 quốc gia, trong đó có 30 quốc gia trồng trà chủ yếu, phân bố từ 33<sup>0</sup> vĩ Bắc đến 49<sup>0</sup> vĩ Nam, trong đó vùng thích hợp nhất là 16<sup>0</sup> vĩ Nam đến 20<sup>0</sup> vĩ Bắc, ở vùng này cây trà sinh trưởng quanh năm còn trên 20<sup>0</sup> vĩ Bắc có thời gian ngủ nghỉ và tính chất mùa rõ rệt.

Trong vài thập niên gần đây, sản lượng trà ở các nước tăng cao. Sản lượng đạt trên 200 nghìn tấn gồm 4 nước: Trung Quốc, Ấn Độ, Kenya, Srilanka. Sản lượng đạt trên 100 nghìn tấn gồm 2 nước: Indonesia và Thổ Nhĩ Kỳ, trên 20 nghìn tấn có 9 nước trong đó có Việt Nam.

Sau đây là một số thống kê về sản lượng, diện tích, năng suất qua các kỳ của các nước trên thế giới:

**Bảng 1.1:** diện tích, năng suất, sản lượng trà thế giới qua các kỳ

STT	Diện tích ( 1000 ha)	Năng suất (tạ khô/ha)	Sản lượng(1000 tấn)	Diện tích ( 1000 ha)	Năng suất (tạ khô/ha)
1	83,20	8,97	74,63	83,20	8,97
2	101,60	10,00	102,64	101,60	10,00
3	189,71	7,73	146,61	189,71	7,73
4	240,32	9,13	219,41	240,32	9,13
5	243,00	10,23	248,70	243,00	10,23
6	246,10	12,99	316,96	246,10	12,99

( Nguồn: Theo số liệu của FAO, 2005 )

**Bảng 1.2:** diện tích, năng suất, sản lượng trà một số nước năm 2004

STT	Quốc gia	Diện tích (1000 ha)	Năng suất (tạ khô/ha)	Sản lượng khô (1000 tấn)
1	Thế giới	2460,982	12,990	3196,881
2	Trung Quốc	943,100	8,705	821,000
3	Ấn Độ	445,000	18,989	845,000
4	Srilanka	210,600	14,387	303,000
5	Kenia	140,000	20,714	290,000
6	Việt Nam	119,000	9,510	97,000
7	Indonesia	116,200	13,670	158,843
8	Các nước khác	487,082	-	779,083

*(Nguồn: Theo số liệu của FAO, 2005)*

#### 1.1.2.2 Đối với Việt Nam

Từ lâu chè đã trở thành thứ nước uống thân thuộc của người dân Việt Nam. Uống chè giúp cho con người ta thư thái, xóa tan đi mệt mỏi và giúp cho mọi người xích lại gần nhau hơn. Cũng như mọi nghề, chúng ta vẫn thường gặp những quán nước chè lâu đời và những người bán nước chè có nghề. Trên phố phường, trong cụm dân cư, có những quán chè trở thành hình ảnh quen thuộc mang dáng vẻ yên tĩnh, nhàn nhã vốn có của nó. Bên cạnh chức năng giải khát, chè có tác dụng sinh lý rất rõ rệt đối với sức khỏe con người. Thành phần cafein và một số alkaloit khác trong chè có tác dụng kích thích hệ thần kinh trung ương, vỏ đại não làm cho tinh thần minh mẫn, giảm mệt nhọc sau khi lao động căng thẳng. Chè còn có tác dụng phòng và trị được nhiều loại bệnh khác nhau, đặc biệt là các bệnh về tim mạch, ung thư. Mặt khác, chè là nét truyền thống của nhiều dân tộc, nó mang một giá trị vô cùng thiêng liêng, cao quý trong đời sống tinh thần của con người.

Chè truyền thống có thể chia thành ba loại chính là chè xanh, chè Ô long và chè đen. Chè xanh là loại chè không lên men. ngược lại, chè đen được lên men hoàn toàn,

enzyme được tạo điều kiện tối nhất đảm bảo quá trình lên men triệt để. Chè Ôlong là sản phẩm trung gian của hai loại chè trên, nó được tạo thành bằng cách lên men không hoàn toàn lá chè tươi. Chè có giá trị văn hóa cao, ở Việt Nam, trong gia đình nông thôn đến thành thị, chè chiếm một vị trí quan trọng trong giao tiếp, giáo dục, lễ nghi, cưới xin, ma chay, hội hè... Chè là một thứ nước uống tạo cho con người một thể giới tâm linh mênh mông, một nguồn cảm ứng trong văn thơ, hội họa, ca múa nhạc, điêu khắc...

Từ trước năm 1892 nhân dân ta chủ yếu dùng chè dưới dạng chè tươi, chè nụn... Sau khi người Pháp chiếm đóng Đông Dương cây chè bắt đầu được chú ý và khai thác.

Cây chè đang được coi là cây trồng chủ lực góp phần xoá đói giảm nghèo, thậm chí còn giúp cho người dân ở vùng sâu, vùng xa, vùng núi cao làm giàu. Không chỉ vậy, cây chè còn giúp phủ xanh đất trống, đồi trọc và bảo vệ môi trường.

Hiện Việt Nam có 6 triệu người sống trong vùng trà, có thu nhập từ trồng, chế biến và kinh doanh trà. Hiện có khoảng 650 nhà máy chế biến trà (công suất từ 2 đến 10 tấn nguyên liệu trà búp tươi/ngày) và hàng ngàn hộ dân lập xưởng để chế biến trà tại gia đình. Đội ngũ làm chè lên tới 3 triệu lao động, chiếm 50% tổng số dân sống trong vùng trà.

Theo báo cáo của Bộ Nông nghiệp & PTNT, hiện cả nước có 35 tỉnh trồng trà, với tổng diện tích hơn 131.500 ha. Bình quân năng suất đạt 6,5 tấn búp tươi/ha, cung cấp nguyên liệu cho khoảng 700 cơ sở sản xuất chè khô và được hình thành tại các vùng tập trung: vùng thượng du: Hà Tuyên, Hoàng Liên Sơn, Lai Châu...; vùng trung du: Vĩnh Phúc, Bắc Thái, Yên Bái...; vùng tây nguyên: Gia Lai, Kom Tum, Lâm Đồng...

**Bảng 1.3:** một số chỉ tiêu đạt được từ năm 2002 - 2008

Năm	Tổng diện tích (ha)	Năng suất (tạ khô/ha)	Sản lượng chè khô (nghìn tấn)	Sản lượng xuất khẩu (tấn)	KNXK (triệu USD)
2002	116.571	9,612	94.200	74.812	82,5
2003	116.094	9,545	94.500	62.000	62,0
2004	120.000	9,150	97.000	99.317	99,500
2005	122.000	12,7	111.000	87.920	96,934
2006	123.000	12,7	143.000	105.116	111,000
2007	125.000	13,00	150.060	110.000	140,000
2008	131.500	13,40	167.500	104.000	147,000

(Nguồn: theo thống kê của hiệp hội chè Việt Nam năm 2009)

Tuy nhiên, ngành trà Việt Nam vẫn tập trung vào các sản phẩm trà truyền thống như trà đen, trà Oolong, trà xanh, gần đây là các sản phẩm hòa tan...; chưa phát triển các sản phẩm trích ly từ trà, vốn có giá trị thương mại cao, nên chưa tận dụng hết ưu thế về vùng nguyên liệu và khả năng phát triển ngành.

Theo kế hoạch phát triển kinh tế của nhà nước năm 1996, thì mục tiêu phấn đấu của Ngành trà đến năm 2010 là 120.000 ha trà kinh doanh mật độ đông đặc, năng suất bình quân đạt 7-8 tấn búp/ha, tổng sản phẩm là 200 nghìn tấn chè .

Hiện nay, ngành trà đặt ra mục tiêu phát triển chung đến năm 2010- 2015 sẽ trồng mới và thay thế diện tích chè cũ đạt mức độ ổn định khoảng 150.000ha, năng suất bình quân đạt 8-9 tấn búp/ha, giá trị thu nhập bình quân đạt 35-40 triệu đồng/ha và kim ngạch xuất khẩu đạt 200 triệu USD, giải quyết việc làm cho khoảng 1,5 triệu lao động trên cả nước .

Đến năm 2020, diện tích trồng trà của Việt Nam sẽ là 140.000 ha, với năng suất bình quân đạt 9 tấn/ha. Sản lượng chè thô dự kiến đạt 1.260.000 tấn và đạt mức 300.000



tán đổi với sản lượng trà khô . Việt Nam tiếp tục củng cố giữ vững các thị trường chủ lực trong xuất

Về thị trường sẽ phần đầu xuất khẩu khoảng 70% tổng sản lượng trà, tiêu thụ nội địa 30%. Cơ cấu mặt hàng xuất khẩu gồm 50% chè đen, 20% sản phẩm trà mới có giá trị cao và 30% trà xanh chất lượng cao.

Về tình hình tiêu thụ, Việt Nam nằm trong vùng nguyên sản của cây chè thế giới, có điều kiện địa hình, đất đai, khí hậu phù hợp cho cây chè phát triển và cho chất lượng cao. Hiện sản phẩm chè của Việt Nam đã có mặt trên 110 quốc gia và vùng lãnh thổ trên thế giới, trong đó thương hiệu "CheViet" đã được đăng ký và bảo hộ tại 70 thị trường quốc gia và khu vực. Việt Nam hiện đang là quốc gia đứng thứ 5 trên thế giới về sản lượng cũng như kim ngạch xuất khẩu chè .

Nhu cầu sử dụng trà trên thế giới thể hiện quá bảng 1.3.

**Bảng 1.4:** nhu cầu sử dụng chè một số nước trên thế giới năm 2000-2005 và dự báo năm 2010.

(đơn vị 1000 tấn)

Năm	Ấn Độ	Trung Quốc	Anh	Pakistan	Hoa Kỳ	Nga	Thị trường khác	Tổng
2000	663	400	134	112	89	158	724	2.280
2005	763	425	132	128	91	182	769	2.490
2010	919	450	125	150	95	215	836	2.790

(nguồn: Tạp chí thế giới chè tháng 3/2005)

### 1.2 Phân loại

Cây trà nằm trong hệ thống phân loại thực vật như sau:

- Ngành : song tử diệp ( Angiospermae)
- Lớp: trà ( Dicotyledonae)

- Bộ : trà ( Theales)
- Họ : trà (Theaceae)
- Chi : trà (Camellia)
- Loài: Sinensis

Theo các thực vật Trung Quốc chia làm 4 loại sau:

### 1.2.1 Trà *Camellia Sinesis* Var *Boheat*

Trà vùng Dĩ An hay trà Trung Quốc lá nhỏ.

Đặc điểm:

- Bụi cây mọc thấp, phân cành rậm
- Kích thước lá: nhỏ, dày, nhiều gợn sóng, màu xanh đậm, lá dài từ 3,5 – 6,5 cm.
- Có 6 – 7 đốt gân, răng cưa nhỏ, không đều.
- Búp nhỏ, hoa nhiều, năng suất thấp, phẩm chất bình thường.
- Chịu rét ở nhiệt độ - 12<sup>0</sup> đến - 15<sup>0</sup> C.
- Phân bố ở vùng Đông và Đông Nam Trung Quốc, Nhật Bản.

### 1.2.2 Trà *Camellia Sinesis* Var *Macrophulla* Sieb

Trà Trung Quốc lá to.

Đặc điểm:

- Thân gỗ, nhỏ, cao tới 5m trong điều kiện sinh trưởng tự nhiên.
- Lá to, trung bình chiều dài từ 12 – 15cm, chiều rộng 5 – 7 cm, màu xanh nhạt, bong, răng cưa không đều, đầu lá nhọn.
- Có trung bình 8 – 9 đôi gân lá rõ.
- Năng suất cao, phẩm chất tốt.

- Phân bố rộng rãi ở tất cả các vùng trà Trung Quốc như: Hà Bắc, Hồ Nam, Giang Tây, Phúc Kiến, Chiết Giang, Tứ Xuyên, Vân Nam.

### 1.2.3 Trà *camellia Sinesis* Var *Shan*

Trà Shan.

Đặc điểm:

- Thân gỗ, cao từ 6 – 10 m.
- Lá to và dài 15 – 18 cm, màu xanh nhạt, đầu lá dài, răng cưa nhỏ và dày.
- Tâm trà có nhiều long tơ, trắng mịn trông như tuyết nên còn gọi là trà tuyết.
- Có khoảng 10 đôi gân lá.
- Có khả năng thích ứng trong điều kiện âm, ẩm, địa hình cao.
- Năng suất cao, phẩm chất tốt.
- Phân bố ở vùng phía Bắc Miền Điện, Việt Nam, Lào.

### 1.2.4 Trà *camellia Sinesis* Var *Assamica*

Mast – choisy (Atsam - Ấn Độ).

Đặc điểm:

- Cây to thân gỗ, cao tới 17 m.
- Lá to, dài tới 25 – 35 cm, mỏng, màu xanh thẫm, dáng hình bầu dục, đôi khi gợn sóng, đầu lá dài.
- Có trung bình 12 – 15 đôi gân lá.
- Ra hoa kém.
- Không chịu được rét hạn.
- Năng suất cao và phẩm chất tốt.
- Phân bố ở Miền Điện, Ấn Độ. Trung Quốc ( Vân Nam) và các vùng khác.

Cả 4 loại trà trên đều có trồng ở Việt Nam nhưng phổ biến nhất là 2 loại trà **Trà camellia Sinesis Var Macrophy** và **Trà camellia Sinesis Var Shan** đặc biệt là trà Shan được dùng để chế biến trà xanh tốt hơn trà đen.

- *Camellia sinensis* var. *macrophylla* được trồng nhiều nhất ở các tỉnh trung du với các tên gọi của địa phương (tùy theo màu sắc của lá) như: Trung du lá xanh, Trung du lá vàng, v.v... Tỷ lệ trồng các giống chè trung du ở miền bắc đạt tới 70%. Năng suất búp trong sản xuất đại trà khi chè 5 - 19 tuổi thường đạt 4 - 5 tấn/ha.

Các giống chè Trung du chịu được đất xấu, nhưng nhiều sâu hại: rầy xanh, bọ cánh tơ..., ở vùng cao thường bị bệnh phồng lá. Chè Trung du thường để chế biến trà xanh.

- *Camellia sinensis* var. *Shan* được trồng ở miền núi các tỉnh miền bắc và ở miền nam Tây Nguyên (Lâm Đồng). Ở mỗi địa phương có các giống khác nhau như: Shan Mộc Châu, Shan Tham Vè, Shan Trấn Ninh ... Năng suất búp thường đạt 6 - 7 tấn/ha. Búp chè có nhiều tuyết, dùng chế biến chè xanh, chè đen đều cho phẩm chất tốt nhưng thích hợp với chế biến chè xanh hơn.

Ngoài ra còn có một số cách phân loại theo mùa sản xuất, theo thời vụ, theo cách chế biến, theo địa cư.

### 1.3 Thành phần hóa lý tính

Thành phần hóa học của trà biến đổi rất phức tạp, nó phụ thuộc vào giống, điều kiện đất đai, địa hình, kỹ thuật canh tác... để khảo sát đặc tính lý, hóa của trà, ta sẽ tìm hiểu thành phần các chất có trong lá trà, từ đó tìm hiểu vai trò và ý nghĩa của nó.

Hiện nay thành phần lá trà được mô tả khá đầy đủ thành phần lá trà được mô tả trong bảng sau:

**Bảng 1.5:** thành phần hóa học chủ yếu lá trà tươi

Thành phần	Hàm lượng (%)
Nước	75 - 80
Flavanol:	
(-) Epigallocatechin gallate (EGCG)	8 - 12
(-) Epicatechin gallate (ECG)	3 - 6
(-) Epigallo catechin (EGC)	3 - 6
(-) Epicatechin (EC)	1 - 3
(+) Catechin (C)	1 - 2
(+) Gallocatechin (GC)	3 - 4
Caffein	3 - 4
Acid hữu cơ ( citric, malic, oxalic, ...)	0.5 - 0.6
Đường (glucose, fructose, Saccharose Raffinose, stachyose)	4 - 5
Xơ (cellulose, hemicellulose, lignin)	4 - 7
Protein và acid amin	14 - 17
Lipid	3 - 5
Khoáng	5 - 6
Chất màu (carotenoid, chlorophyl)	0.5 - 0.6
Enzyme	

### 1.3.1 Nước

Nước trong nguyên liệu chè Là môi trường hoà tan các muối vô cơ, nước tham gia trong thành phần cấu trúc của các cơ quan khác nhau trong tế bào thực vật, nó có vai trò quan trọng trong quá trình trao đổi chất. Nước tham gia trực tiếp vào nhiều phản ứng thủy phân, oxi hóa khử. Hàm lượng nước có quan hệ mật thiết đối với quá trình chế biến trà. Nếu nguyên liệu trà bị mất nước quá nhanh thì biến đổi sinh hóa diễn ra nhanh và không triệt để, đôi khi enzyme bị ức chế nếu hàm lượng nước quá thấp (<10%). Nước trong nguyên liệu chè nhiều hoặc ít đều làm cho lá chè bị nát khi vò. Trong quá trình chế biến chè cần khống chế sự bay hơi nước, đặc biệt trong sản xuất trà đen. Do đó nước ảnh hưởng đến chất lượng của trà thành phẩm.

Sự phân bố nước trong lá trà Oolong:

Các bộ phận búp trà	Hàm lượng nước (%)
<b>Tâm</b>	<b>76.60</b>
<b>Lá 1</b>	<b>75.60</b>
<b>Lá 2</b>	<b>75.60</b>
<b>Lá 3</b>	<b>74.26</b>

Búp trà khi được thu hái khỏi cây, nguồn cung cấp nước từ đất qua rễ bị cắt đứt, quá trình bay hơi nước qua bề mặt của lá vẫn được duy trì và do vậy hàm lượng nước của lá giảm dần, hiện tượng héo xảy ra dẫn đến những thay đổi sâu sắc của quá trình trao đổi chất trên búp trà. Sự tăng hoạt lực của các enzyme thủy phân do quá trình héo gây ra dẫn đến các quá trình phân huỷ do hệ enzyme này xúc tác. Vì thế mà cần phải hạn chế quá trình tồn trữ búp trà sau khi thu hái để tránh các chuyển hoá theo hướng không như ý muốn.

### 1.3.2 Hợp chất polyphenol ( tannin)

Tannin của cây trà là một phức hợp của nhiều hợp chất hữu cơ tự nhiên có bản chất phenol. Hợp chất phenol giữ vai trò chủ yếu trong quá trình tạo màu sắc, hương vị của trà đặc biệt là trà đen. Tanin có đặc tính dễ bị oxi hóa dưới tác dụng của enzym và được cung cấp oxi đầy đủ. Vì vậy, trà nguyên liệu chứa càng nhiều tanin, đặc biệt là tanin hòa tan thì sản phẩm chè đen có chất lượng càng cao. Flavanoids là thành phần quan trọng của Tanin, trong đó Catechin và Flavanoids chiếm tỷ lệ lớn.

Catechin có vị trí quan trọng trong việc tạo màu sắc, mùi, vị cho trà thành phẩm. Có 6 loại Catechin (bảng 2.1) chiếm khoảng 20 – 30 % tổng lượng chất khô trong lá trà tươi. Về mặt cấu trúc, Catechin là là hợp chất Flavanol, được đặc trưng bởi cấu trúc C6 – C3 – C6, tương ứng với sự thay thế 2- phenyl bằng benzopyran và pyron.

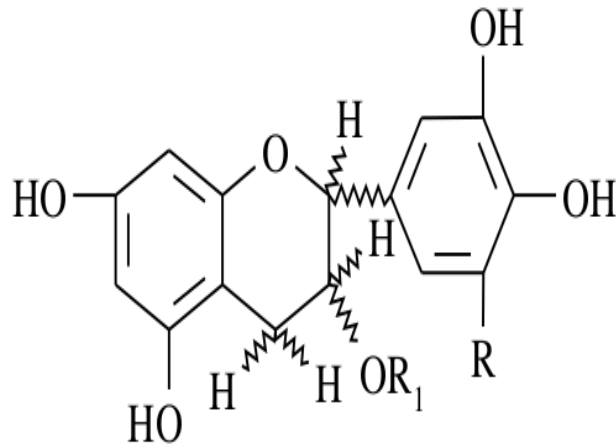
Ngoài ra trong thành phần polyphenol của trà còn có một số thành phần chứa tỷ lệ thấp như các dẫn xuất glucoside như myricetin-3-glucoside, kaempferol-3-glucoside,

quercetin-3-rhamnoglucoside..., các leucoanthocyanin, các hợp chất polyflavonoid như theaflavin, thearubigin.

### 1.3.2.1 Hợp chất catechin

Trong lá trà, các hợp chất catechin tồn tại ở trạng thái tự do và dạng ester phức tạp với acid gallic. Catechin không chỉ có trong trà mà còn được tìm thấy trong rượu vang đỏ, táo, nho, và chocolate. Nhưng trà là thức uống duy nhất có chứa GC, EGC, ECG, EGCG.

Catechin có công thức cấu tạo chung như sau:



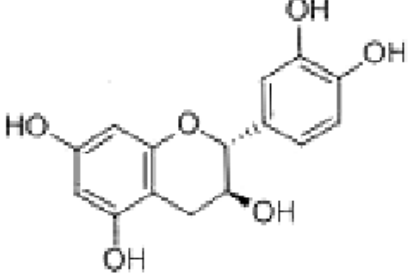
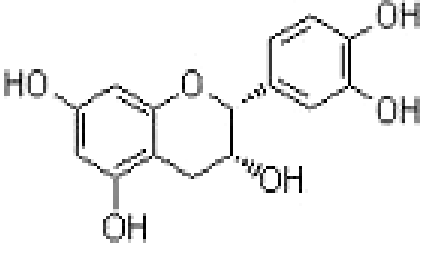
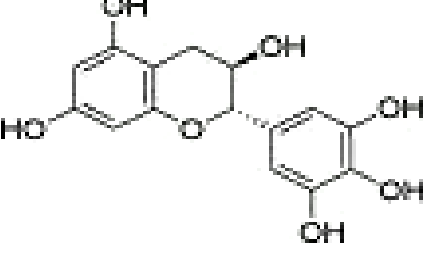
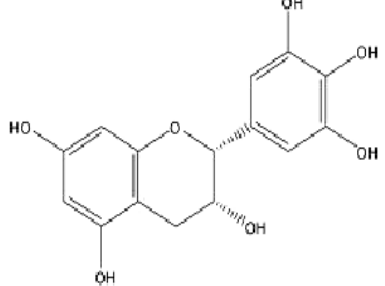
$R_1$  và R có thể là nguyên tử hydro.

$R_1$  có thể là gốc galoid.

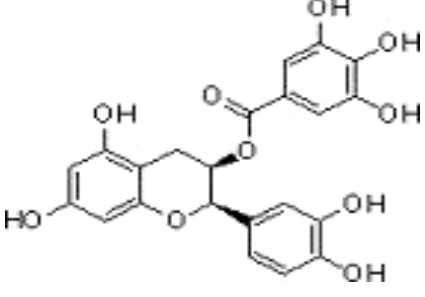
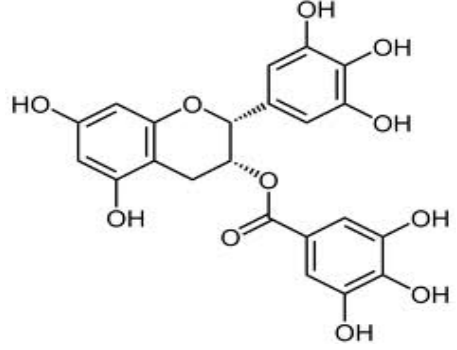
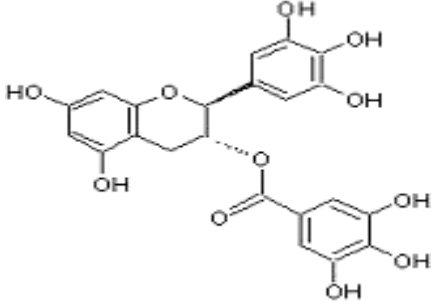
R có thể là hydroxyl.

Hàm lượng catechin trong lá trà luôn thay đổi, phụ thuộc vào giống trà, thời kì sinh trưởng, vị trí các lá trên búp và nhiều yếu tố khác.

Các catechin có mặt trong trà :

STT	Tên và công thức phân tử	Kí hiệu	Công thức cấu tạo
1	D,L – catechin $C_{15}H_{14}O_6$ $[\alpha]_D = +18^0$ $T_{nc} = 176^0 C$	C	
2	L – Epicatechin $C_{15}H_{14}O_6$ $[\alpha]_D = -69^0$ $T_{nc} = 242^0 C$	EC	
3	D,L – Gallocatechin $C_{15}H_{14}O_7$ $[\alpha]_D = +15^0$ $T_{nc} = 188^0 C$	GC	
4	L – EpiGalocatechin $C_{15}H_{14}O_7$ $[\alpha]_D = -50^0$ $T_{nc} = 276^0 C$	EGC	



STT	Tên và công thức phân tử	Kí hiệu	Công thức cấu tạo
5	L – Epicatechin Gallate $C_{22}H_{14}O_{10}$ $[\alpha]_D = -177^0$ $T_{nc} = 253^0 C$	EGG	
6	L – EpiGallocatechin Gallate $C_{22}H_{18}O_{11}$ $[\alpha]_D = -197^0$ $T_{nc} = 216^0 C$	EGCG	
7	L – Gallocatechin Gallate $C_{22}H_{18}O_{11}$	GCG	

Trong đó hàm lượng Epigallocatechin gallate, Epicatechin gallate và Epigallocatechin chiếm chủ yếu trong tổng hàm lượng catechin (trên 80% tổng catechin). trong quá trình phát triển của lá, dưới tác dụng của enzyme, các catechin chuyển dần thành các hợp chất tannin và giảm dần hàm lượng trong lá trưởng thành. Những catechin này thể hiện các đặc tính sinh học của trà.

### 1.3.2.2 Tính chất hóa lý của catechin

- lý tính:

- Các catechin trong lá trà ở dạng tinh khiết là các tinh thể không màu hình kim hoặc hình lăng trụ, có vị chát.

- Dễ tan trong nước ( trừ tannin kết hợp), dễ tan trong dung môi hữu cơ như rượu, ete ethyl, aceton, ethyl acetate. Phần lớn không tan trong benzen, ete, dầu hỏa, clorofom.

- **Hóa tính:**

- Tannin có tính khử mạnh, dễ bị oxy hóa, đặc biệt là trong môi trường kiềm.

- Tạo màu với dung dịch  $FeCl_3$ . Tùy thuộc vào số lượng nhóm OH có trong phân tử mà tạo thành chất màu xanh nhạt hay xanh thẫm.

- Khi tác dụng với dung dịch gelatin, protein, alcaloit, và một số hợp chất có tính kiềm, tannin sẽ tạo tủa tương ứng.

- Tannin bị oxy hóa mạnh khi tác dụng với  $KMnO_4$  trong môi trường acid hoặc dung dịch iod trong môi trường kiềm.

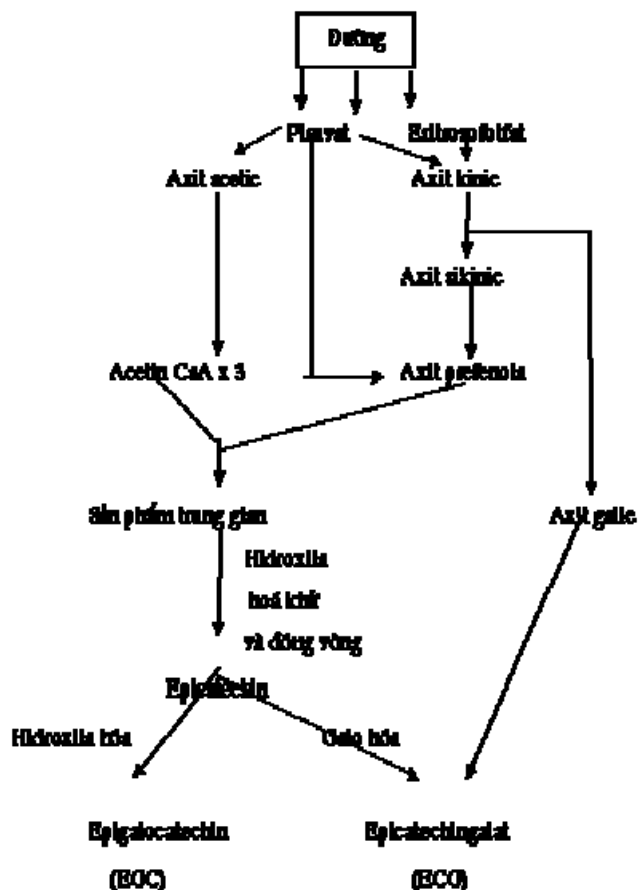
- Tannin dễ bị oxy hóa và ngưng tụ thành các hợp chất phân tử lớn.

- **Quá trình sinh tổng hợp catechin**

Thành phần hóa học của tanin trong búp chè Gruzia, theo phân tích của Cuaxanop và Djaprometop (1952) như sau:

Quá trình hình thành các hợp chất polyphenol trong cây chè là quá trình phức tạp và có nhiều giả thuyết.

Theo MM. Djapromêtop thì các đường có chứa 6 cacbon (glucô, fructô...) trong quá trình chuyển hóa thông qua dạng sản phẩm trung gian mà hình thành nên các chất polyhenol Sơ đồ quá trình đó như sau:

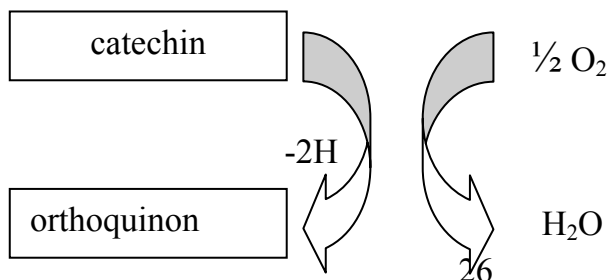


Sơ đồ sinh tổng hợp catechin

Tanin giữ vai trò quan trọng trong quá trình sinh lý của cây, nó tham gia vào quá trình oxy hóa khử trong cây:

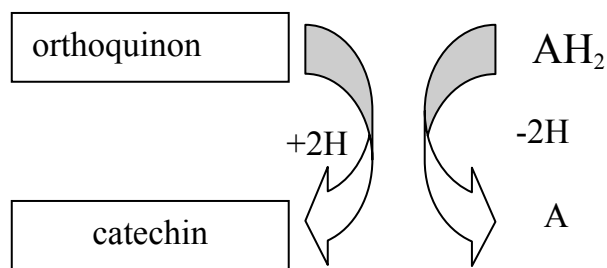
Quá trình oxy hóa:

Các catechin dễ dàng bị oxy hóa thành các orthoquinon khi có các enzyme oxy hóa như polyphenon oxides, peroxidase. Ngoài ra, catechin còn có khả năng tự oxy hóa dưới tác dụng của oxy và hơi nước trong không khí, đặc biệt là trong môi trường kiềm



Quá trình khử:

Khi có mặt của các chất khử như glucoza, vitamin C... với các orthoquinon sẽ bị khử trở lại catechin ban đầu.



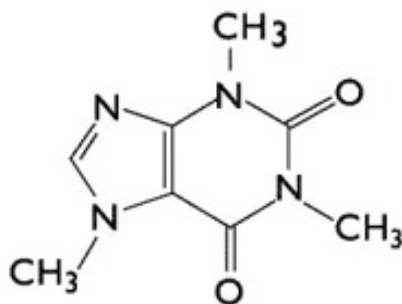
AH<sub>2</sub> là đôi chất oxy hóa

### 1.3.3 Caffeine

Nằm trong nhóm hợp chất Alkanloid ( là những hợp chất vòng có chứa nitơ trong phân tử).

Caffeine (C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) là tên phổ biến của trimetilxantin ( tên đầy đủ là 1,3,7-trimethylxanthine hoặc 3,7-dihydro-1,3,7-trimethyl-1H-purine-2,6-dione). Là dẫn xuất tạo thành từ purine, caffeine chủ yếu được tổng hợp từ lá trà, chiếm khoảng 3 – 5 % trọng lượng khô trong lá trà, và có hàm lượng ít biến đổi trong quá trình phát triển của lá trà. Điều đáng chú ý là hàm lượng caffeine trong lá trà cao hơn hàm lượng caffeine trong hạt cà phê ( chiếm khoảng 1,5 % trọng lượng khô). Ngoài caffeine, trong lá trà còn có các dẫn xuất khác của methylxanthine như theobromine, theophylline với hàm lượng thấp hơn (<0,1 %).

Công thức cấu tạo:



- **Tính chất:**

- Caffeine là chất kiềm yếu, không có tính acid. Tinh thể màu trắng, vị đắng, không mùi, có nhiệt độ nóng chảy từ  $136^{\circ}\text{C}$  đến  $225^{\circ}\text{C}$ , thăng hoa ở  $185^{\circ}\text{C}$ , kết tinh trong nước sôi, tinh thể dạng hình kim màu trắng.
- Caffeine khi kết tinh nó ngậm một phân tử nước, nhưng khi đun nóng caffeine đến  $100 - 150^{\circ}\text{C}$  thì phân tử nước sẽ mất đi.
- Caffeine rất bền ở nhiệt độ  $384^{\circ}\text{C}$  nó vẫn không bị phá hủy.
- Caffeine tan trong nước ở nhiệt độ phòng với tỷ lệ 1: 46, ở  $12^{\circ}\text{C}$  với tỷ lệ 1: 93; tan trong rượu với tỷ lệ 1: 25 (ở  $20^{\circ}\text{C}$ ); trong ete với tỷ lệ 1: 300 ( $12^{\circ}\text{C}$ ) và đặc biệt rất dễ tan trong clofom với tỷ lệ 1: 8 (ở  $25^{\circ}\text{C}$ ).
- Khi caffeine tác dụng với tannin trà sẽ tạo thành váng khi để nguội, gọi là hợp chất tanat-caffeine.

### 1.3.4 Protein và acid amin

Protein trong búp chè phân bố không đồng đều, chiếm khoảng 15% tổng lượng chất khô của lá trà tươi. Protein có thể kết hợp với trực tiếp với Tanin, polyphenol, tạo ra những hợp chất không tan làm đục nước trà đen. Nhưng trong chế biến trà xanh protein kết hợp với một phần Tanin làm cho vị đắng và chất giảm đi, vì thế ở chừng mực nào đó Protein có lợi cho phẩm chất trà xanh.

Ngày nay, người ta đã tìm thấy 17 acid amin có trong trà. Trong đó 10 acid amin cơ bản là: Theanine, phenylalanine, leucine, isoleucine, valine, Tyrosine, glutamine, serine, glutamic, aspartic. Các acid amin này có thể kết hợp với đường, tanin tạo ra các hợp chất aldehyde, alcol có mùi thơm cho trà đen, và chúng cũng góp phần điều vị cho trà xanh.

### 1.3.5 Hợp chất carbohydrates

Trong thành phần Carbohydrate của trà, đáng quan tâm nhất là là loại đường tan. Dưới tác dụng của nhiệt và các yếu tố khác, các loại đường sẽ biến đổi tạo nên hương vị đặc trưng cho thành phẩm. Ngoài ra, các loại đường còn tác dụng với Protein, acid amin tạo nên hương thơm cho trà.

Trong thực vật, hàm lượng hydratcarbon thường chiếm khoảng 85 – 90 %. Chúng là nguồn chủ yếu cung cấp năng lượng và được tạo thành do kết quả của sự trao đổi chất. Hàm lượng monoza trong lá trà chiếm 1 – 2 % và sacaroza chiếm 0,5 – 2,5 % trong khi hàm lượng các polysacarit trong lá trà lên đến 10 – 15 %.

Lá trà càng già thì lượng đường khử, sacaroza cũng như tổng lượng đường càng lớn.

### 1.3.6 Enzym

Enzym là nhân tố quan trọng trong quá trình sinh trưởng và chế biến trà, đặc biệt trong chế biến trà đen. Enzyme có vai trò quyết định chiều hướng biến đổi các phản ứng sinh hóa trong giai đoạn làm héo, vò, lên men. Trong búp chè có 2 loại enzyme chủ yếu là:

- Nhóm enzyme thủy phân, có tác dụng làm tăng hàm lượng chất hòa tan, hình thành nên các chất có hương vị và màu sắc đặc trưng cho trà: amilase, protease, glucosidase, ...

- Nhóm enzyme oxi hóa – khử, đóng vai trò quan trọng nhất và có tác dụng khác nhau trong quá trình lên men trà: peroxidase, polyphenoloxidase, ....

Các enzyme này đều hoạt động mạnh ở 45°C, đến 70°C thì hoạt động yếu hẳn đi và ở nhiệt độ cao hơn sẽ bị vô hoạt hoàn toàn. Trong chế biến trà xanh, không cần tạo nên những biến đổi sinh hóa cho tanin, nên enzyme không có ích cho quá trình chế biến. Vì vậy ngay từ giai đoạn đầu của quá trình chế biến trà xanh người ta phải dùng nhiệt độ cao để vô hoạt enzyme bằng cách chần hoặc sao.

### 1.3.7 Các chất khác

#### 1.3.7.1 Acid hữu cơ

Thành phần và hàm lượng các acid hữu cơ trong lá trà ít được nghiên cứu đến. tuy nhiên lá trà có chứa các acid sau: 0,2 % acid oxalic hòa tan; 0,82% muối oxalate không tan; 0,3 % acid malic; 0,03 % acid limonic và 0,006 % acid xiocinic.

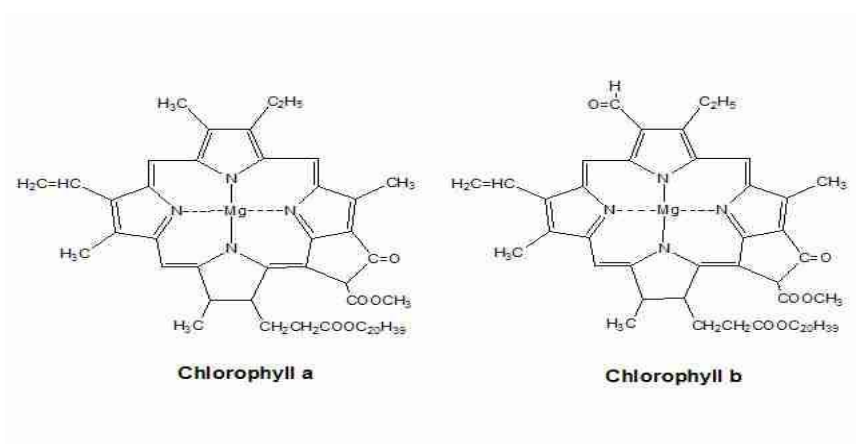
Ngoài ra trong trà còn chứa acid quinic ở dạng tự do và dạng hợp chất ester; có chứa 10 loại acid phenol cacboxylic.

### 1.3.7.2 Chất màu

Các chất màu trong lá chè gồm có: Anthocyanidin (Cyanidin, Delphenidin), Carotenoid, Chlorophyll. Các hợp chất màu có vai trò quan trọng trong tạo màu cho thành phẩm.

Đặc biệt chlorophyll làm cho lá trà có màu xanh, khó tan trong nước nóng, có thể hòa tan trong mthylic, ehtylic, aceton.

Chlorophyll là hỗn hợp của 2 chất có cấu tạo gần giống nhau:



Chlorophyll a ( màu xanh lam)

chlorophyll b ( màu xanh vàng)

Hàm lượng chlorophyll thay đổi trong khoảng 0,24 – 0,85 % so với chất khô.

Chlorophyll trong dung dịch thường hiện màu xanh, khi gặp acid thì nguyên tử Mg trong phân tử của nó bị thay thế và dung dịch có màu vàng xám.

### 1.3.7.3 Vitamin và khoáng

Trong búp trà chứa hầu hết các loại vitamin như nhóm vitamin tan trong dầu: A, D,E,F.... Và nhóm vitamin tan trong nước: B, PP,C.... Đặc biệt Vitamin C có rất nhiều trong trà, cao gấp 3- 4 lần so với cam, chanh. Trong quá trình chế biến trà đen hàm lượng vitamin C giảm nhiều, còn trong trà xanh thì giảm không đáng kể. Vì vậy hàm lượng Vitamin C trong trà xanh thường cao gấp 10 lần so với trà đen.

Trong chè thành phần khoáng chủ yếu là K, chiếm gần 50 % tổng lượng khoáng.

### **1.3.7.4 Các chất dễ bay hơi ( tinh dầu)**

Hàm lượng tinh dầu trong trà chiếm tỷ lệ rất thấp trong tổng khối lượng của lá trà (< 0,01 % ) nhưng nó lại quyết định hương thơm cho trà.

Tinh dầu là một hỗn hợp phức tạp các thành phần được nhận diện trong tinh dầu trà bao gồm linalool, delta-cardinene, geraniol, indole....

### **1.3.7.5 Các chất béo, tinh dầu và chất nhựa**

Chất béo có trong lá trà là dung môi tự nhiên hòa tan một số chất màu thực vật. những chất màu không tan trong nước như chlorophyll, carotin, xantophin.

Các chất vô cơ chiếm khoảng 5 – 6 % khối lượng khô của lá trà, chiếm nhiều nhất là :Al, Mg, Mn, Ca, Fe.... Hàm lượng chất vô cơ trong lá trà biến đổi khá nhiều tùy thuộc vào thổ nhưỡng.

Trong lá trà có chứa lượng nhựa khá lớn. Chất nhựa cùng với tinh dầu giữ vai trò quan trọng trong việc tạo hương thơm cho trà.

Thành phần chất nhựa gồm:

- Acid nhựa.
- Rượu, rezenol và phenol không có tính tannin.
- Phenol có tính tannin.
- Rezen không tan trong kiềm.
- Hàm lượng chất nhựa trong trà khoảng từ 3 – 6 % chất khô.



## 1.4 Hoạt tính sinh học của trà

### 1.4.1 Dược tính trà

Trà là loại nước uống tốt nhất trên thế giới, mọi người đều biết. trà đã được sử dụng như là một phương thuốc trong y học phương đông từ rất lâu. Căn cứ vào các sách đông y dược, ghi chép qua các thời đại và thực tiễn chứng minh chẳng những bảo vệ sức khỏe mà còn có tác dụng điều trị nhiều loại bệnh, nên người ta coi trà là loại thuốc chữa bệnh.

Tuy nhiên các hiểu biết về cơ chế tác động của lá trà mới được bắt đầu nghiên cứu mạnh mẽ trong thế kỉ 20. Trước đây tác dụng của trà được cho rằng do tác động của các thành phần caffeine và vitamin C. Bắt đầu từ khoảng thập niên 70 của thế kỉ 20, việc nghiên cứu chi tiết về trà đã chỉ ra rằng những tác dụng về mặt dược lý của trà là do sự có mặt của nhiều nhóm hợp chất như; alcaloid: caffeine, theophyllin, theobromin, purin. Các flavonoid, chất catechin, lipid, dẫn chất phenol, tinh dầu, các acid amin và nhiều sinh tố cùng các nguyên tố hàng lượng và vi lượng như P, sắt, iod, Mg, Cu...tổng cộng trên 300 loại thành phần. các thành phần này có tác dụng trọng yếu trong phòng và chữa bệnh đối với cơ thể con người.

Một số tác dụng cụ thể của trà:

- Tinh thần nâng cao, đầu óc tỉnh táo: khi đầu óc xây xẩm, tinh thần mệt mỏi, người ta uống một chén chè mới pha, sẽ cảm thấy tinh thần sáng khoái.
- Thanh lợi đầu và mắt: uống trà lâu dài có thể thanh lợi đầu và mắt, đạt tác dụng làm tinh thần sáng khoái, mắt tinh, tai sáng. Trong trà có chứa nhiều thành phần dinh dưỡng có quan hệ tới thị lực như là: tiền sinh tố A ( $\beta$  – caroten ), vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, và C, đều là những chất cần thiết duy trì thị lực.
- Tiêu thử giải khát: sau khi uống trà nóng, tinh dầu thơm trong trà và caffeine mau phát huy tác dụng, làm giãn huyết quản, mở tuyến mồ hôi, thân thể hơi toát mồ hôi, tán phát nhiệt lượng trong cơ thể, do đó đạt được mục đích tiêu thử giáng thấp thân nhiệt, sau khi uống trà nóng gia tăng được lượng nước tiểu, làm cho tiểu tiện bài tiết điều hòa, tự nhiên sẽ có bộ phận nhiệt lượng thoe đường tiểu tiện tiết ra ngoài, làm cho ra mồ hôi. Ngoài ra, làm co giãn cơ trơn dạ dày, ruột giãn giải co thắt trường vị, cho nên uống trà điều trị được thử nhiệt, sa khí, đau bụng.

- Giảm béo: trà xanh chứa nhiều thành phần như chứa chất dẫn phenol, flavonoid, quereetin cùng nhiều loại sinh tố, nhất là vitamin C với lượng lớn. dẫn chất phenol trong lá trà giúp giải chất mỡ, flavonoid, quereetin hỗ trợ việc giảm thấp cholesterol. Vitamin C hỗ trợ lợi tiểu làm cholesterol bài tiết ra ngoài nhanh chóng. Các vitamin khác cải thiện cơ năng chuyển hóa của cơ thể, hỗ trợ và để phòng mạch máu bị xơ cứng. Trong lá trà có diệp lục (chlorophyll) sau khi vào cơ thể, sẽ loại cholesterol từ thức ăn, ngăn cản tiêu hóa hấp thụ cholesterol trong cơ thể.

- Ngoài ra còn trà còn rất là nhiều công dụng khác như sử dụng trong mỹ phẩm, vì chúng có tác dụng làm ẩm da và chống nếp nhăn, có trong thuốc đánh răng có tác dụng diệt khuẩn.

### 1.4.2 Tác dụng sinh học của catechin

Tác dụng ngăn chặn và chữa trị bệnh ung thư của trà và các hợp chất catechin được nghiên cứu mạnh mẽ nhất. khi tiến hành nghiên cứu *in vivo*, nhiều công trình công bố đã cho thấy trà và các chất trích ly từ trà như EGCG, EGC, ECG... của trà có khả năng tương tác, ngăn chặn và hạn chế quá trình khởi mào, hình thành và phát triển của tế bào ung thư. Trong giai đoạn khởi mào, các hợp chất catechin trung hòa các tác nhân bị kích hoạt bởi cytochrome P450 enzyme, tác nhân này có khả năng tương tác làm thay đổi cấu trúc của AND, ngăn chặn sự tạo thành nitrosamine, một nhóm các hợp chất phát sinh từ khói thuốc lá, các amine dị vòng trong thịt, cá nấu chín, các tác nhân được cho là có thể gây ung thư. Các thử nghiệm *in vivo* cho thấy khả năng tương tác trực tiếp và tăng cường hiệu quả của EGCG, EC vào hệ thống bảo vệ bằng enzyme của tế bào, hạn chế sự hình thành của các tác nhân gây biến đổi trong tế bào.

Trong giai đoạn bắt đầu của tế bào ung thư, EGCG có khả năng ức chế AP-1, một chất dẫn truyền khởi mào cho sự phát triển của tế bào ung thư da, thể hiện khả năng ngăn chặn protein kinase. Enzyme kích hoạt tế bào trong giai đoạn phát triển của tế bào ung thư, ức chế hoạt động của telomerase, làm giảm thời gian sống của tế bào ung thư.

Trong quá trình ung thư diễn ra, EGCG có thể can thiệp, ức chế hoạt động của urokinase, enzyme đóng vai trò quan trọng trong quá trình phát triển và biến đổi của tế bào ung thư, phá hủy các dạng biến đổi đặc thù của tế bào gây ra do adevirus, hay ngăn chặn quá trình tổng hợp AND trong tế bào ung thư hepatoma, leukemia, và ung thư phổi....

Qua các thí nghiệm trên chuột của Junkun và các cộng sự ở trường Dược Ohio – nhật bản cho thấy epicatechin gallat và epigallocatechin gallat có tác dụng phòng chống bệnh ung thư tuyến tiền liệt. Hai catechin này có tác dụng ngăn ngừa phát triển khối u, và dẫn đến làm giảm khả năng di căn. Epigallocatechin gallat làm giảm kích thước của khối u và đó là nguyên nhân dẫn đến bệnh ung thư thuyên giảm. đặc biệt sự ức chế urokinase, vì urokinase bề gãy liên kết cơ bản nhân tế bào làm cho khối u phát triển nhanh và bệnh di căn.

Junkun và đồng nghiệp cũng đã làm thí nghiệm so sánh giữa catechin trong trà xanh với amilorid – một loại thuốc lợi tiểu nhẹ dùng để điều trị cao huyết áp, xung huyết tim nhẹ và có tác dụng ức chế urokinase. Kết quả cho thấy điều trị ngang nhau, người bệnh dùng amilorid với liều lượng 20mg/ngày trong khi chỉ dùng một tách trà nhỏ chứa 150mg epigallocatechin gallat và uống thêm một loại trà ưa thích 10 tách/ngày.

Ngoài ra còn có nghiên cứu của Chang C.W., Hsu F.L và Lin J.Y..., trường Dược, Đại Học quốc gia Đài Loan đã chứng tỏ rằng các catechin epigallocatechin, epicatechin gallat và epigallocatechin gallat được chiết từ trà xanh Trung Quốc còn có tác dụng ức chế, gây miễn nhiễm với HIV, IC<sub>50</sub> của epigallocatechin là 7,8; của epicatechin gallat là 0,23 và của epigallocatechin gallat là 0,63  $\mu$ mol.

Nhờ polyphenols (gọi tượng trưng là: EGCG) và flavonoids mà trà xanh được coi là một chất chống lại oxid hóa ( antioxidants) hữu hiệu nhất ( hữu hiệu gấp 100 lần vitamin C, gấp 25 lần vitamin E), cộng thêm các chất vừa kể trên, trà có chức năng ngăn chặn, ức chế sự phát triển từ lúc gọi là manh nha tới lúc phát triển cho các loại tumor ( bứou) lành hay dữ, Sau đây do các nhà khoa học khám phá và công bố các công hiệu của trà xanh như sau:

- Tính chất chống lại oxid hóa (Antioxidants)
- Ngăn ngừa các ung thư (Cancer prevention)
- Làm giảm cholesterol ( Cholesterol reduction)
- Làm giảm huyết áp (Blood pressure reduction)
- Làm giảm lượng đường trong máu cho 2 loại tiểu đường (Blood sugar reduction. Preventing two types of diabetes)

- Làm thư giãn mệt mỏi và căng thẳng (Relieve fatigue and stress)
- Giảm bớt rủi ro về đột quỵ (Reducing the risk of stroke)
- Ngăn ngừa bệnh xốp xương (Preventing osteoporosis)
- Giảm bớt DNA bị hư hại (Reducing DNA damage)
- Làm chậm lại tuổi già (Delaying the signs of aging)
- Ngăn ngừa sự hiểm nguy do máu đông cục (Preventing dangerous blood clotting).
- Ngăn ngừa sự suy thoái tim mạch (preventing cardiovascular disease)
- Ngăn ngừa hơi thở hôi (Preventing bad breath)
- Ngăn ngừa sâu răng. Vv....

### **1.4.3 Tác dụng sinh học của caffeine**

Caffeine là một hoạt chất có dược tính. Tùy thuộc vào liều lượng, nó có thể gây kích thích nhẹ đối với hệ thần kinh trung tâm. Bất kì tác động dược lý nào của caffeine đều nhất thời, thông thường tác dụng này sẽ ngưng sau vài giờ. Caffeine không tích tụ trong cơ thể theo thời gian sử dụng. Nó thường bài tiết và thải ra ngoài sau vài giờ sử dụng.

Một số người có thể bị mất ngủ do caffeine. Tuy nhiên, các kết quả nghiên cứu cho thấy rằng những người tiêu thụ caffeine có trí nhớ tăng và cải thiện khả năng tranh luận. Và những người này có thành tích cao trong khả năng vận động, cải thiện khả năng luyện tập thính giác thị giác.

Tùy theo hàm lượng hấp thu, caffeine có thể gây kích thích nhẹ. Đôi khi nó cũng dẫn đến việc gây nghiện ở một số người. triệu chứng thường thấy nhất là đau đầu, mệt mỏi hoặc trạng thái mơ màng. Sự đau đầu có thể xuất hiện sớm nhất sau khi sử dụng lượng caffeine cuối cùng khoảng 18 giờ. Các tác động này thường không kéo dài, khoảng một ngày hoặc hơn và thường tránh khỏi bằng cách giảm dần lượng caffeine tiêu thụ. Tuy nhiên vẫn chưa lý giải được tại sao caffeine gây nghiện một số người còn số khác thì không.

Ngoài ra, caffeine còn có tác dụng giảm đau đầu, giúp con người cảm thấy năng động. Kích thích hệ thần kinh trung ương, làm tinh thần minh mẫn, tăng hiệu suất làm việc.

### 1.4.4 Tác dụng của các hợp chất khác

**Chlorophyll** : chlorophyll rất hữu ích đối với con người. Nó tăng cường sự tuần hoàn máu và giúp hệ thống ruột hoạt động tốt.

Chlorophyll có khả năng trung hòa độc tố trong cơ thể. Phức chlorophyll Cu có tác dụng trung hòa các mutagen, là chất gây đột biến trong cơ thể.

**Tinh dầu trà:** kích thích hệ thần kinh, làm tinh thần minh mẫn. Nâng cao hiệu suất làm việc của các cơ năng trong cơ thể.

**Vitamin** : đây là hợp chất cần thiết và không thể thiếu trong khẩu phần ăn của người và động vật. lượng vitamin cung cấp cho cơ thể chiếm tỷ lệ thấp, nhưng nếu thiếu sẽ dẫn tới sự phá hoại trong việc trao đổi chất và sinh bệnh.

Đối với vitamin hòa tan trong chất béo:

Vitamin A ( $A_1$  và  $A_2$ ) : giúp cơ thể phát triển

Vitamin D ( $D_1$ ,  $D_2$ ,  $D_3$ ,  $D_4$ ): chống còi xương

Vitamin K ( $K_1$ ,  $K_2$ ) : giúp sự ngưng kết của máu bình thường

Vitamin E: giúp da mịn màng, tươi trẻ. Đồng thời góp phần chống oxy hóa và lão hóa

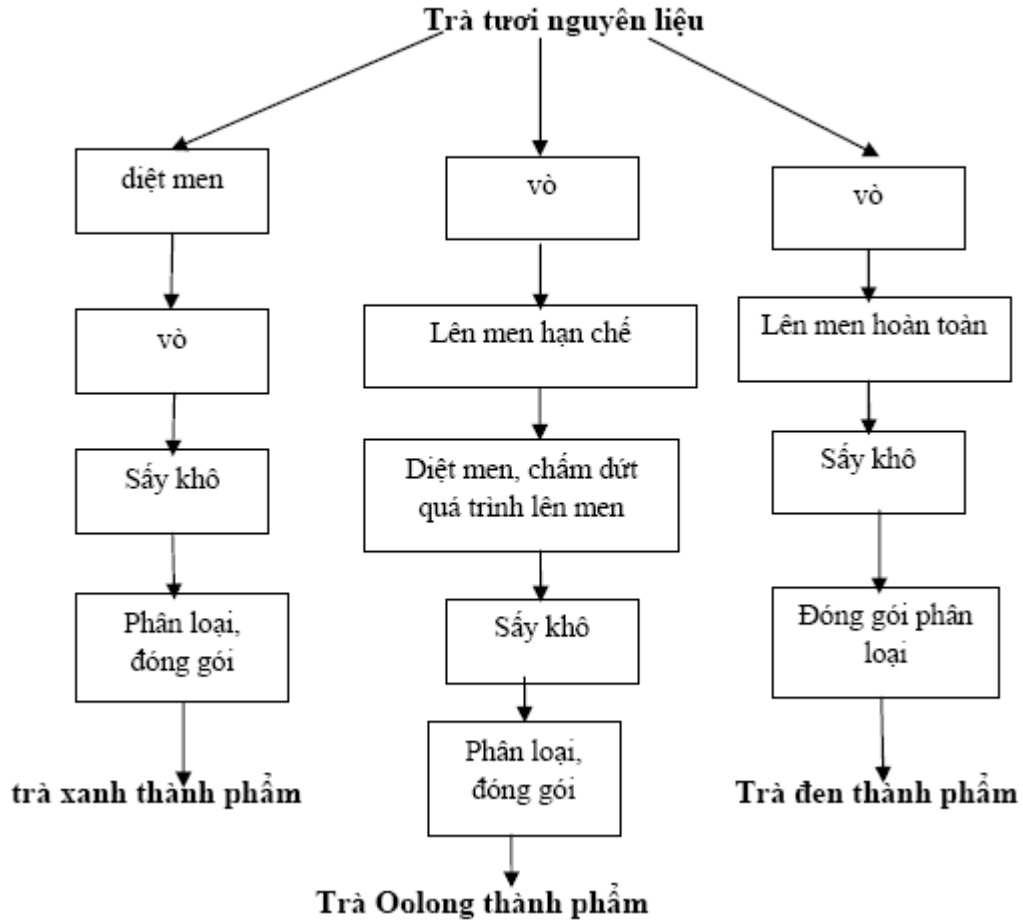
Đối với nhóm tan trong nước:

Vitamin nhóm B: giữ vai trò quan trọng trong quá trình chuyển hóa hydrocarbon. Chống bệnh phù.

Vitamin C: chống bệnh bại huyết, tham gia vào quá trình oxy hóa khử của cơ thể.

Vitamin P: tác dụng làm bền vững thành vi huyết quản.

1.5 Các loại trà được chế biến



- Quá trình chế biến trà xanh không có quá trình lên men và các enzyme bị tiêu diệt ngay từ giai đoạn đầu tiên nên hàm lượng tannin trong trà xanh biến đổi không đáng kể và không bị oxy nhiều. vì vậy thành phần cơ bản tannin trà xanh gần giống với trà tươi.

Trong quá trình chế biến trà đen phải gây tác dụng của men thease bằng cách:

Để tái cho bớt nước nhưng vẫn mềm.

vò để men thease tiếp xúc với các chất có thể lên men trong tổ chức lá.

Lên men: giai đoạn này tinh dầu xuất hiện, lượng tannin giảm xuống một nửa.

Sấy khô.

- Trong quá trình chế biến trà đen có sử dụng hoạt tính của enzyme oxy hóa để phát triển quá trình oxy hóa của các hợp chất polyphenol. Vì thế trong trà đen thành phẩm hàm lượng của hầu hết các hợp chất catechin trong trà đen rất thấp, khoảng 2 – 3 % hàm lượng khô, so với hàm lượng 20 – 30 % trong trà nguyên liệu đầu. màu đỏ đặc trưng của nước trà đen là do các sản phẩm oxy hóa như theaflavin và thearubigin gây ra.

- Trà Oolong là một sản phẩm trung gian giữa trà xanh và trà đen, trà tươi sử dụng làm trà tươi vẫn trải qua quá trình lên men, nhưng quá trình lên men này không hoàn toàn mà vẫn được kiểm soát theo mục đích tạo sản phẩm của người sản xuất. khi quá trình chuyển hóa catechin trong trà nguyên liệu đạt mức độ mong muốn, enzyme sẽ bị làm mất hoạt tính, quá trình oxy hóa dừng lại. vì vậy mà hàm lượng catechin trong trà Oolong nằm giữa trà đen và trà xanh. Thông thường hàm lượng catechin chiếm khoảng 10 – 20 % chất khô, tức khoảng 50 % so với trà nguyên liệu ban đầu.

## **CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

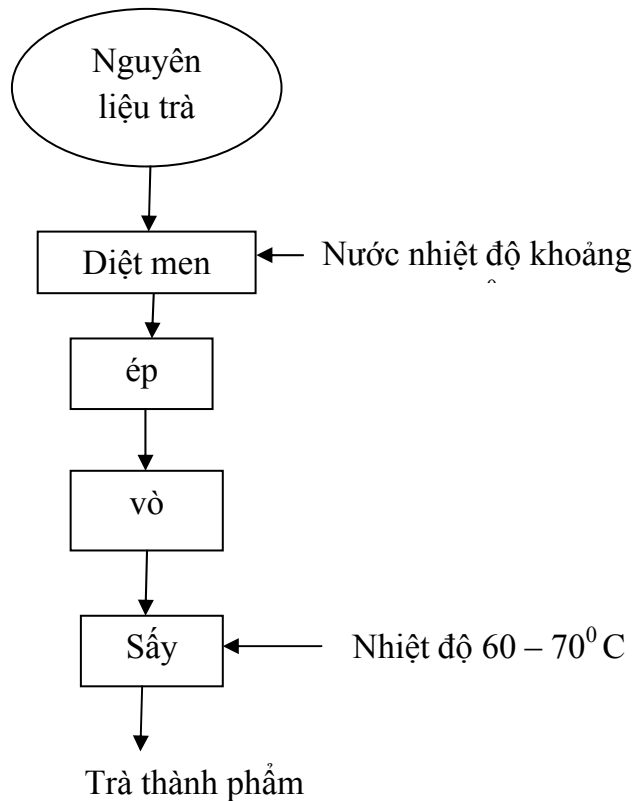


## 2.1 Đối tượng nghiên cứu

Nguyên liệu sử dụng trong nghiên cứu là trà thành phẩm được lấy ở cơ sở chế biến trà ở Bảo Lộc, Lâm Đồng.

Đặc điểm nguyên liệu: cây trà được trồng tại Bảo Lộc, mẫu nguyên liệu được lấy là loại trà xô đã được nhặt loại lá già và cọng vì hàm lượng các chất catechin và caffeine là rất thấp. Thành phần chủ yếu dùng trong chiết là búp, lá 2, 3 và 4. Kích thước trà ( $t < 0,75$  mm). Độ ẩm nhỏ hơn 5 %. Trà được bảo quản trong lọ nhựa kín để nơi khô ráo, tránh ánh sáng.

### 2.1.1 quy trình chế biến trà dùng trong nghiên cứu



Trà xanh từ nguyên liệu tươi được cho vào thùng chứa có chứa nước ở nhiệt độ khoảng  $100^{\circ}\text{C}$ , thời gian ngâm trà trong nước nóng khoảng 4 – 6 phút. Sau đó trà được lấy ra và đem đi ép để loại bỏ nước. tiếp theo ta đem đi vò rồi sau đó đem đi sấy ở nhiệt độ khoảng  $80 - 90^{\circ}\text{C}$  trong thời gian khoảng 120 – 140 phút. Trà sau khi sấy xong được loại bỏ cám, cọng và lá già.

## 2.2 Mục tiêu nghiên cứu

Caffeine chứa một lượng đáng kể trong trà, việc chiết tách nhằm đáp ứng nhu cầu uống trà không caffeine của một số người dùng trà. Vì caffeine tác dụng lên hệ thần kinh trung ương, có tác dụng khử nước. Do đó nếu trẻ em từ độ tuổi học cấp 1 tiêu thụ quá nhiều sản phẩm chứa caffeine thì quá trình phát triển cơ thể sẽ gặp nhiều nguy hại. Không chỉ riêng trẻ em, caffeine cũng gây nguy hại cho người lớn. Nếu cơ thể hấp thụ quá nhiều chất này sẽ khiến tim đập nhanh hơn, dễ dẫn đến nguy cơ lên cơn đau tim.

Ngoài ra, caffeine dùng làm dược liệu có rất nhiều công dụng. Vì vậy việc trích ly caffeine cũng được dùng trong y học.

Vì vậy, việc nghiên cứu chiết tách mang ý nghĩa thực tiễn đáng được quan tâm.

## 2.3 Các phương pháp chiết

### 2.3.1 Định nghĩa

chiết xuất là tách các chất hòa tan trong dược liệu nhưng vẫn giữ đủ thành phần và bản chất của nó.

### 2.3.2 Các phương pháp chiết thông thường và hiện đại

#### 2.3.2.1 Các phương pháp chiết thông thường

Phương pháp chiết bao gồm cả việc chọn dung môi, dụng cụ chiết và kỹ thuật chiết. một phương pháp chiết thích hợp khi biết rõ thành phần hóa học của nguyên liệu, mỗi loại hợp chất có độ hòa tan khác nhau trong từng loại dung môi. Vì vậy, không thể có một phương pháp chiết xuất chung cho tất cả các hợp chất.

Các phương pháp chiết thông thường như:

- Phương pháp ngâm kiệt.
- Phương pháp ngâm dầm.
- Phương pháp soxhlet.
- Phương pháp đun hoàn lưu.
- Phương pháp lôi cuốn hơi nước.

Ngoài ra còn có các phương pháp chiết xuất hiện đại khác để làm tăng hiệu quả của quá trình chiết xuất, các nghiên cứu đã đưa ra để cải thiện phương pháp trích ly bằng dung môi bằng cách áp dụng các biện pháp như hỗ trợ vi sóng ( sử dụng sóng siêu âm làm phá vỡ các tế bào), siêu âm, áp dụng các kỹ thuật trích ly bằng CO<sub>2</sub> siêu tới hạn, trích ly pha rắn ( SPE- solid phase extraction) hoặc kỹ thuật trích ly bằng cách nén chất lỏng.

### **2.3.2.2 Phương pháp chiết hiện đại**

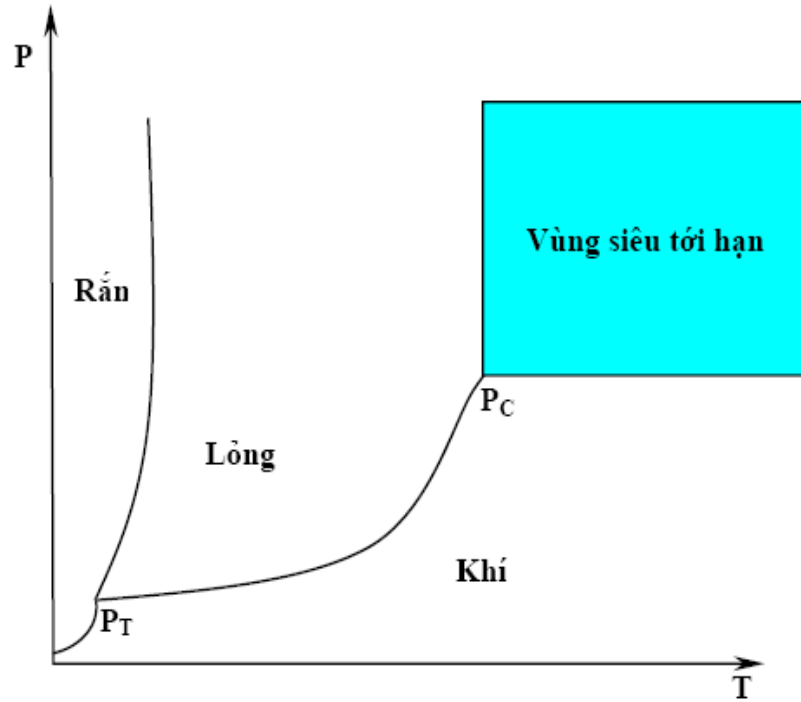
Để tăng hiệu quả của quá trình trích ly, các nghiên cứu được đưa ra để cải thiện phương pháp trích ly bằng dung môi thông thường. Các phương pháp chiết như hỗ trợ vi sóng, siêu âm, áp dụng các kỹ thuật trích ly bằng CO<sub>2</sub> siêu tới hạn, trích ly pha rắn ( SPE – solid phase extraction ) hoặc kỹ thuật trích ly bằng cách nén chất lỏng.

Trong đề tài nghiên cứu này ta sử dụng phương pháp trích ly bằng CO<sub>2</sub> lỏng ở trạng thái siêu tới hạn .

### **2.3.3 Phương pháp trích ly bằng CO<sub>2</sub> siêu tới hạn**

Đối với mỗi một chất đang ở trạng thái khí, khi bị nén đẳng nhiệt với một áp suất đủ cao, chất khí sẽ hóa lỏng và ngược lại. Tuy nhiên, có một giá trị áp suất mà tại đó, nếu tăng nhiệt độ lên thì chất lỏng cũng không hóa hơi trở lại mà trở thành một dạng đặc biệt gọi là trạng thái siêu tới hạn. Vật chất ở dạng này có tính chất trung gian, mang nhiều đặc tính của chất khí và chất lỏng.

Chất lỏng ở trạng thái siêu tới hạn có tỷ trọng tương đương như tỷ trọng của pha lỏng. nhưng sự linh động của các phân tử lại rất lớn, sức căng bề mặt nhỏ, hệ số khuếch tán cao giống như đang ở trạng thái khí. Hình 2.1 biểu thị vùng trạng thái siêu tới hạn của một chất trong biểu đồ cân bằng pha rắn, lỏng, khí của chất đó theo sự biến thiên nhiệt độ và áp suất.



1 – điểm ba ( $P_T, T_T$ )

2 – điểm tới hạn ( $P_C, T_C$ )

**Hình 2.1** : đồ thị biểu diễn trạng thái vùng siêu tới hạn của một chất

Giá trị  $P_C$  phụ thuộc nhiều vào phân tử lượng của các chất, ví dụ như chất có phân tử lượng nhỏ như các hydrocarbon có số cacbon từ 1 đến 3 thì giá trị  $P_C$  của chúng không cao, mà chỉ xấp xỉ khoảng 45 bar. Giá trị  $T_C$  chỉ tăng ít theo phân tử lượng, nhưng  $T_C$  lại phụ thuộc nhiều vào độ phân cực của một chất. độ phân cực càng lớn thì giá trị  $T_T$  càng lớn. Điều giải thích là do ở các chất phân cực, tồn tại một lực cảm ứng giữa các chất phân tử, do đó năng lượng để phá vỡ trật tự giữa các phân tử sẽ lớn hơn nhiều so với các chất không phân cực.

**Bảng 2.1:** điểm tới hạn của một số chất thông dụng

<b>Chất</b>	<b>Nhiệt độ tới hạn (°C)</b>	<b>áp suất tới hạn (bar)</b>	<b>Tỷ trọng riêng tới hạn (g/cm<sup>3</sup>)</b>
<b>Metan</b>	<b>-82,6</b>	<b>6,0</b>	<b>0,162</b>
<b>Etylen</b>	<b>9,3</b>	<b>50,3</b>	<b>0,218</b>
<b>Carbon dioxid</b>	<b>30,9</b>	<b>73,8</b>	<b>0,468</b>
<b>Etan</b>	<b>32,3</b>	<b>48,8</b>	<b>0,203</b>
<b>Protan</b>	<b>96,7</b>	<b>42,4</b>	<b>0,217</b>
<b>Aceton</b>	<b>235,0</b>	<b>47,0</b>	<b>0,278</b>
<b>Methanol</b>	<b>239,5</b>	<b>80,9</b>	<b>0,272</b>
<b>Nước</b>	<b>374,2</b>	<b>220,0</b>	<b>0,322</b>

Nói chung các dung môi siêu tới hạn có khả năng hòa tan tốt các chất ở cả 3 dạng rắn, lỏng và khí. Dung môi siêu tới hạn có sự tác động lên cả các chất dễ bay hơi và cả cấu tử không bay hơi của mẫu.

### **2.3.3.1 Kỹ thuật chiết bằng CO<sub>2</sub> siêu tới hạn**

CO<sub>2</sub> và một số dung môi khác ở trạng thái siêu tới hạn có tính chất hóa lý đặc biệt như:

Sức căng bề mặt thấp;

Độ linh động cao, độ nhớt thấp;

Tỷ trọng xấp xỉ tỷ trọng của chất lỏng;

Có thể thay đổi khả năng hòa tan của chất khác bằng cách thay đổi nhiệt độ và áp suất;

Để đáp ứng nhu cầu chiết tách các hợp chất thiên nhiên,  $\text{SCO}_2$  là dung môi được lựa chọn với những thuận lợi sau:

- $\text{CO}_2$  là chất dễ kiếm, rẻ tiền vì nó là sản phẩm phụ của nhiều ngành công nghiệp hóa chất khác;
- Là một chất trơ, ít có phản ứng kết hợp với các chất cần tách chiết. khi được đưa lên tới trạng thái tới hạn,  $\text{CO}_2$  không tự kích nổ, không bắt lửa và không duy trì sự cháy;
- $\text{CO}_2$  không độc với con người và không duy trì sự cháy;
- Điểm tới hạn của  $\text{CO}_2$  ( $P_C = 73 \text{ atm}$ ;  $T_C = 30,9^\circ \text{ C}$ ) là một điểm có giá trị nhiệt độ và áp suất không cao lắm so với các chất khác nên sẽ tốn ít năng lượng hơn để đưa  $\text{CO}_2$  tới vùng tới hạn;
- Có khả năng hòa tan các chất hữu cơ ở thể rắn cũng như thể lỏng, đồng thời cũng hòa tan được cả các chất thơm dễ bay hơi, không hòa tan các kim loại nặng và có thể điều chỉnh các thông số trạng thái như áp suất, nhiệt độ để thay đổi chọn lọc của dung môi;
- Khi sử dụng  $\text{CO}_2$  thương phẩm để chiết tách không có dư lượng chất độc hại trong chế phẩm chiết;

### 2.3.3.2 Sử dụng dung môi hỗ trợ

Dung môi hữu cơ được đưa vào  $\text{SCO}_2$  với lượng từ 1 – 5 % mol, để thay đổi tính chọn lọc của dung môi trong quá trình chiết tách, chẳng hạn như làm thay đổi tính phân cực, hay các tương tác riêng của dung môi đối với chất tan, mà không làm thay đổi đáng kể tỷ trọng và khả năng chịu nén của dung môi chính.

Khi thêm dung môi hỗ trợ ( co – solvent ) sẽ làm thay đổi các giá trị tới hạn (P, T) của dung môi chính.

Bảng tính tan của các hợp chất trọng trà:

Kí hiệu sử dụng trong bảng:

## Luận văn tốt nghiệp

---

+++ : dễ tan

++ : tan

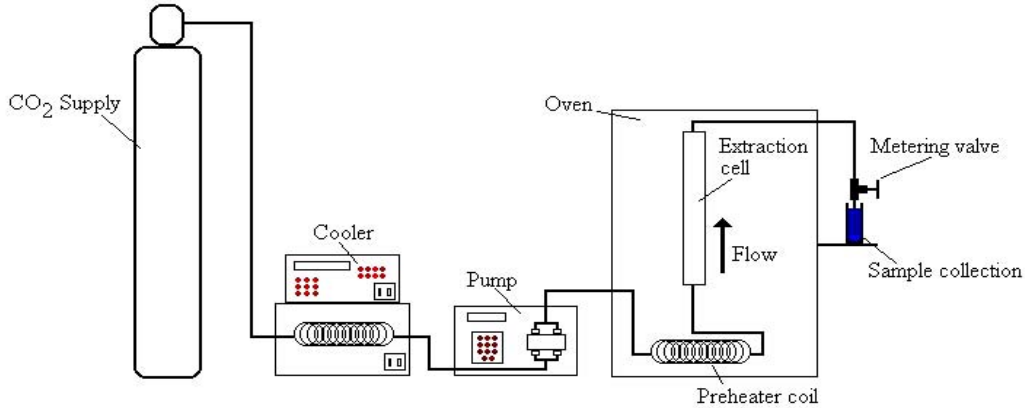
+ : ít tan

- : không tan

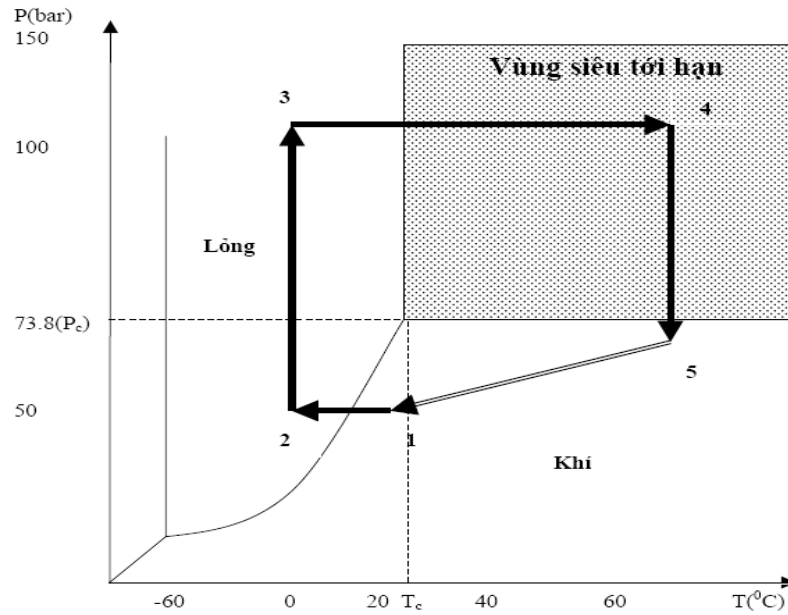
**Bảng 2.2:** bảng tính tan một số chất trong lá trà

HỢP CHẤT	DUNG MÔI							
	H <sub>2</sub> O	Alcol	Aceton	Ety acetat	Ete Etylic	CHCl <sub>3</sub>	benzen	Ete dầu hỏa
tannin	+++	+++	+++	++	++	-	-	-
Caffeine	+++	++	++	+	+	+++	+	+
Saponin		++						
Protein	++	++						
Clorophyll	-	+	+	+	+	++	++	++
Acid hữu cơ	++	++						
Chất béo	-	-			+			++
Vitamin	++							++

### 2.3.3 Nguyên lý hoạt động của chiết tách CO<sub>2</sub> siêu tới hạn



**Hình 5.2:** sơ đồ hệ thống chiết xuất bằng SCO<sub>2</sub>



**Hình 2.2:** chu trình trạng thái CO<sub>2</sub> trong quá trình chiết

Mẫu chiết được sơ chế loại bỏ lá già và cọng, sau đó nghiền với kích thước nhỏ hơn 0,75 mm rồi cho vào bình chiết thể tích 100 ml. Bình chiết được lót màng lọc ở cả phần đỉnh và phần đáy để tránh việc các hạt nhỏ có thể bị lọt vào các đường ống dẫn dung môi và đường thu sản phẩm.



Khí CO<sub>2</sub> từ bình khí nén (45 – 55 bar) được dẫn đến bộ phận làm lạnh để hóa lỏng CO<sub>2</sub>, nhiệt độ CO<sub>2</sub> sau ngưng tụ vào khoảng 0°C. Trước khi đi vào bình chứa, CO<sub>2</sub> lỏng có thể được trộn thêm các dung môi hỗ trợ (co - solvent) khác như etanol, methanol, n – hexan ... để tạo thành dung môi mới theo yêu cầu công nghệ. Trong nghiên cứu chiết cafein từ trà ta dùng dung môi hỗ trợ là etanol. Dung môi hỗ trợ được trộn vào dòng CO<sub>2</sub> lỏng bằng bơm đẩy.

Khí CO<sub>2</sub> trong bình chứa ở trạng thái áp suất thường là 45 – 50 bar, nhiệt độ khoảng 12 – 20 °C. Khi được hạ nhiệt độ ở điều kiện đẳng áp từ trạng thái 1 sang trạng thái 2 là trạng thái CO<sub>2</sub> ở dạng lỏng trong bình chứa CO<sub>2</sub> lỏng. CO<sub>2</sub> ở dạng lỏng ta có thể hòa trộn với các dung môi hỗ trợ một cách dễ dàng hơn. Quan trọng hơn, khi CO<sub>2</sub> ở dạng lỏng, có thể sử dụng bơm cao áp để nén lên áp suất cao và điều chỉnh lưu lượng vào bình chiết thuận lợi.

Từ bình chứa, CO<sub>2</sub> được bơm qua van điều chỉnh lưu lượng vào bộ phận trao đổi nhiệt để điều chỉnh tỷ trọng và độ nhớt phù hợp với yêu cầu công nghệ. dòng CO<sub>2</sub> lỏng từ trạng thái 3 được giữ ở điều kiện đẳng áp và tăng nhiệt độ dần dần để chuyển CO<sub>2</sub> lỏng sang trạng thái siêu tới hạn 4.

Trong suốt quá trình chiết, nhiệt độ và áp suất của bình chiết luôn luôn được điều chỉnh để giữ ổn định ở một giá trị định trước cho quá trình chiết bởi hệ thống điều khiển được kết nối với máy tính.

Kết thúc quá trình chiết, dịch chiết được dẫn vào bình phân tách. Tại đây quá trình tách chất tan ra khỏi dung môi thành những phân đoạn riêng được thực hiện bằng cách thay đổi các thông số áp suất và nhiệt độ. Từ trạng thái siêu tới hạn 4 sẽ được giảm áp đến trạng thái 5. CO<sub>2</sub> sẽ trở thành chất khí và tách ra khỏi dịch chiết để thoát ra ngoài, chúng ta sẽ thu được dịch chiết.

Với qui mô sản xuất nhỏ trong phòng thí nghiệm nên lưu lượng CO<sub>2</sub> sẽ không được thu hồi. Tuy nhiên, trong sản xuất công nghiệp, khí CO<sub>2</sub> tách ra sẽ được tuần hoàn trong quá trình trích ly.

### **2.4 Tối ưu hóa các điều kiện chiết bằng quy hoạch**

Để đánh giá các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất và chất lượng sản phẩm của quá trình chiết đã được nghiên cứu bao gồm:

## Luận văn tốt nghiệp

---

- Tình trạng mẫu: thời gian bảo quản mẫu, kích thước mảnh nguyên liệu của mẫu.
- Các thông số trạng thái áp suất P và nhiệt độ T.
- Hàm lượng co-solvent.
- Tỷ lệ theo khối lượng giữa dung môi  $\text{SCO}_2$  và nguyên liệu trà trích ly.
- Thời gian của quá trình tiến hành chiết.

Từ đó ta tối ưu các điều kiện công nghệ chiết bằng  $\text{SCO}_2$  theo quy hoạch thực nghiệm.

Việc đánh giá, nhận xét để lựa chọn miền khảo sát cho các yếu tố ảnh hưởng giúp ta giảm thiểu một lượng lớn số lần làm thí nghiệm để xác định miền khảo sát cho các yếu tố ảnh hưởng này.

Căn cứ vào tài liệu tham khảo các tạp chí khoa học, và các đề tài nghiên cứu. Kích thước thích hợp được lựa chọn trong chiết caffeine là  $D \leq 0,75$  mm. Để xác định thời gian chiết và tỷ lệ dung môi trên nguyên liệu thích hợp, ta tiến hành khảo sát chiết xuất các mẫu trà với thời gian 1h ; 1,5 h; 2h; 3 h. Trong phạm vi nghiên cứu này, trên thiết bị TharSFC S.N 11419, đã nghiên cứu khảo sát được thời gian chiết và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu thích hợp.

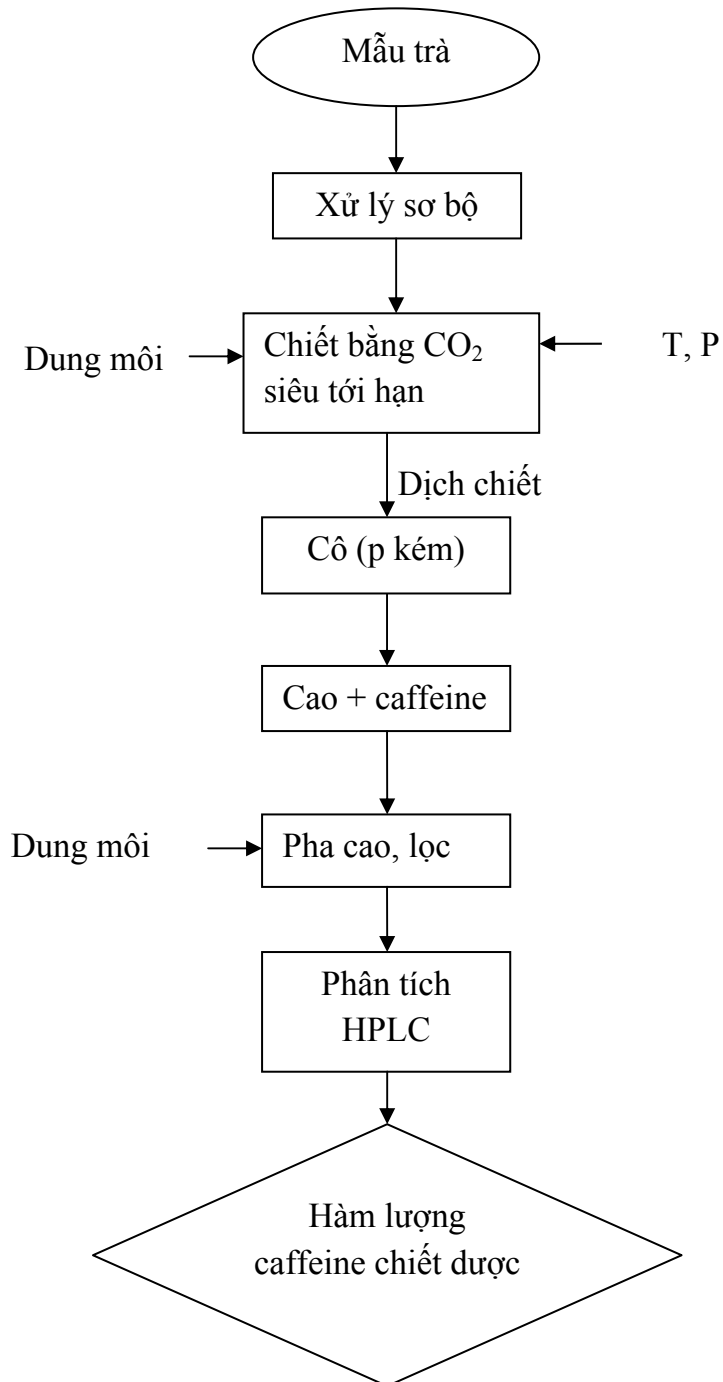
Nhằm mục đích xác định điều kiện tối ưu chiết xuất caffeine từ nguyên liệu trà xanh, nhóm đề tài đã khảo sát sự ảnh hưởng của áp suất P, nhiệt độ T và nồng độ co-solvent etanol C tới hàm lượng chế phẩm trong bầu chiết ở các thí nghiệm theo dạng phương trình hồi quy trực giao cấp 2.

Miền biến thiên cho các biến theo bảng sau:

Yếu tố khảo sát	Khoảng biến thiên
Tỷ lệ dung môi (%)	5 ÷ 10
Áp suất (bar)	220 ÷ 300
Lưu lượng $\text{SCO}_2$ (g/min)	70 ÷ 80

## **CHƯƠNG 3: THIẾT BỊ VÀ PHƯƠNG PHÁP THỰC NGHIỆM**

### 3.1 Sơ đồ tiến hành thí nghiệm



## 3.2 Cách thực hiện

Mẫu trà khi lấy từ cơ sở chế biến về, được xử lý sơ bộ loại bỏ cọng và lá già. Sau đó được đem đi nghiền với kích thước  $D \leq 0,75$  mm, độ ẩm  $< 5$  %.

Cân chính xác 10g trà đã được nghiền cho vào thiết bị chiết CO<sub>2</sub> siêu tới hạn, thể tích bình chiết 100ml. Bình chiết được lót màng lọc ở cả phần đỉnh và phần đáy để tránh việc các hạt nhỏ có thể bị lọt vào các đường ống dẫn dung môi và đường thu sản phẩm. ứng với mỗi điều kiện chiết, ta điều chỉnh dung môi chiết (etanol 99,8 %), nhiệt độ và áp suất chiết sao cho thích hợp.

Sau khi chiết trong khoảng thời gian nhất định, ta lấy dịch chiết và đem đi cô quay ở áp suất kém ở nhiệt độ khoảng 35<sup>0</sup> C. sau đó ta thu được cao trà + caffeine.

Cao trà được đem đi pha loãng bằng etanol và định mức 50 ml, tiếp đó pha loãng dung dịch thêm 10 lần.

Mẫu sau khi được pha loãng, đem đi phân tích HPLC, ta thu được hàm lượng caffeine đã chiết được.

## 3.3 Các thiết bị chiết tách và hóa chất sử dụng

### 3.3.1 thiết bị chiết bằng soxhlet



**Hình 3.1:** bộ dụng cụ chiết soxhlet

Ta sử dụng thiết bị chiết bằng soxhlet nhằm xác định hàm lượng tổng caffeine có trong mẫu trà.

### Cách thực hiện:

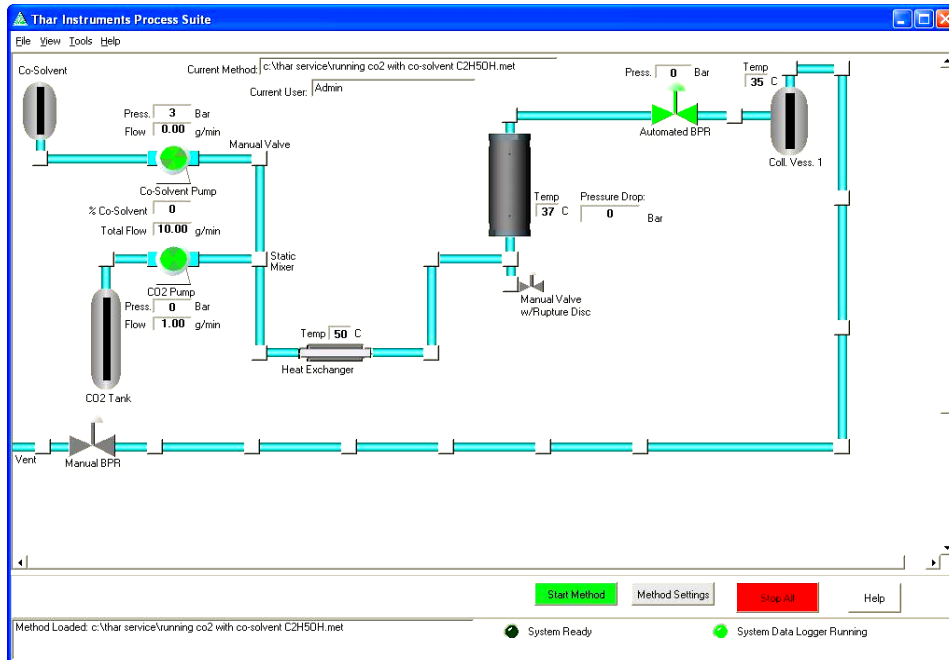
Thiết bị soxhlet gồm 4 phần ( ống sinh hàn, bầu chiết (soxhlet), bình đựng dung môi, thiết bị đun) . Hệ thống được lắp đặt như hình 3.1.

Cân 10g mẫu trà cho vào bầu chiết, phía trên và phía dưới có lót bông. Dung môi etanol 99,8% được đun sôi hồi lưu để đưa lên ngưng trên bầu chiết cho ngập hết nguyên liệu, nhiệt độ đun 70 – 80<sup>0</sup>C. Thời gian chiết ngưng khi dung môi quay vòng không còn màu nữa, và thời gian chiết được xác định khoảng 7h.

### 3.3.2 Thiết bị chiết bằng SC<sub>CO</sub><sub>2</sub>



**hình 3.2:** thiết bị chiết TharSFC S.N 11419



**Hình 3.3:** quy trình chiết hiển thị trên máy tính

### Cách thực hiện:

Cân 10g mẫu trà cho vào bình chiết thể tích 100ml, phía trên và dưới có lót bi để tránh mẫu có kích thước nhỏ lọt vào đường ống. Sau khi lắp ráp hệ thống chiết xong, ta khởi động thiết bị làm lạnh, thiết bị phân tách và máy tính, kiểm tra dung môi etanol. Ta vào phần mềm điều khiển process suite cài đặt method settings với các thông số nhiệt độ  $T$  ( $^{\circ}\text{C}$ ), áp suất  $P$  (bar), nồng độ co - solvent etanol(% tính theo khối lượng) phù hợp với thực nghiệm, tổng lưu lượng  $\text{CO}_2$  và co - solvent là 10g/min. Khi thiết bị làm lạnh đã ổn định khoảng  $5 - 10^{\circ}\text{C}$ , ta mở van  $\text{CO}_2$  và khởi động method trên bảng điều khiển process suite. Sau khoảng thời gian chiết xác định ta stop method, khóa van  $\text{CO}_2$  và giảm áp từ từ về không ( giảm khoảng 10 bar mỗi lần để tránh hư van). Sau khi ngưng hoàn toàn hệ thống ta thu được dịch chiết.

### 3.3.3 thiết bị phân tích HPLC (High Performance Liquid Chromatography)



**Hình 3.4:** thiết bị HPLC (agilent technology 1200 series)

Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) là một phương pháp chia tách trong đó pha động là chất lỏng và pha tĩnh chứa trong cột là chất rắn đã được phân chia dưới dạng tiểu phân hoặc một chất lỏng phủ lên một chất mang rắn, hay một chất mang đã được biến đổi bằng liên kết hoá học với các nhóm chức hữu cơ. Quá trình sắc ký lỏng dựa trên cơ chế hấp phụ, phân bố, trao đổi Ion hay phân loại theo kích cỡ ( Rây phân tử ).

Ta sử dụng HPLC để phân tích hàm lượng caffeine trong mẫu chiết. Trước tiên ta lập đường chuẩn caffeine.

**Cách thức lập đường chuẩn:** chuẩn caffeine, cân 75mg pha vào trong bình định mức 100 ml (C5) dung môi pha mẫu là nước và etanol( tỉ lệ 1:4), sau đó pha loãng dãy nồng độ gốc này: lấy 5 ml pha vào 100ml (C1), lấy 10ml pha trong 100ml (C2), lấy 20ml/100ml (C3), lấy 30ml/100ml (C4).

Tiêm mẫu 1,5ml của C1, C2, C3, C4, C5 vào vial đem đi phân tích và vẽ đồ thị tương ứng với diện tích.



**Phương pháp đo mẫu chuẩn caffeine:** ta chọn hóa chất sử dụng trong pha động là methanol và nước.

Methanol là loại methanol chạy HPLC của Đức, nước thì phải là nước cất 2 lần.

Điều kiện đo là:

- Trích 5  $\mu$ l dung dịch cần đo.
- Tốc độ dòng 1 ml/min.
- Nhiệt độ 40<sup>0</sup> C
- Bước sóng 272 – 360 nm.
- Nước 70%, methanol 30%.
- Thời gian đo 7 phút.

Sau khi đo ta có bảng kết quả như sau:

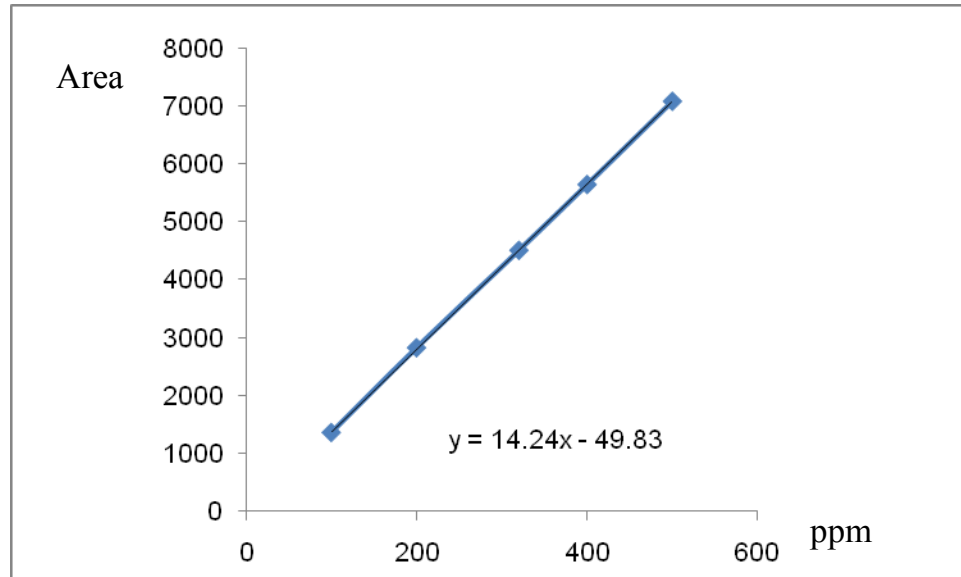
```
Signal 1: DAD1 A, Sig=272,4 Ref=360,100
```

RetTime [min]	Lvl Sig	Amount [ppm]	Area	Amt/Area	Ref Grp Name
4.179	1	100.00000	1361.03003	7.34738e-2	caffein
	2	200.00000	2823.16406	7.08425e-2	
	3	320.00000	4504.56445	7.10391e-2	
	4	400.00000	5639.92871	7.09229e-2	
	5	500.00000	7076.09912	7.06604e-2	

=====  
Peak Sum Table  
=====

**Bảng 3.1:** kết quả phân tích đường chuẩn

Ta có đồ thị đường chuẩn như sau:



**Hình 3.6:** đồ thị đường chuẩn

Từ đó ta có phương trình đường chuẩn:

$$y = 14,24x - 49,83$$

trong đó:

y: là diện tích peak;

x: là nồng độ caffeine (ppm);

## **CHƯƠNG 4: KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN**

## 4.1 Kết quả hàm lượng tổng caffeine chiết bằng soxhlet

Sau khi có được dịch chiết ta đem cô quay dịch chiết ở nhiệt độ 35<sup>0</sup> C, rồi pha với etanol định mức 100ml và pha loãng 10 lần. Sau đó đem đi phân tích HPLC.

Tổng hàm lượng thu được trong chiết bằng soxhlet là:

$$\text{Được tính bằng: } C = \rho \frac{C_m \cdot V \cdot n}{m}$$

trong đó :

C; hàm lượng caffeine trong 1g nguyên liệu khô g/g<sub>khô</sub>.

C<sub>m</sub>; hàm lượng caffeine trong mẫu đo (ppm).

V; thể tích định mức(ml). n; số lần pha loãng .

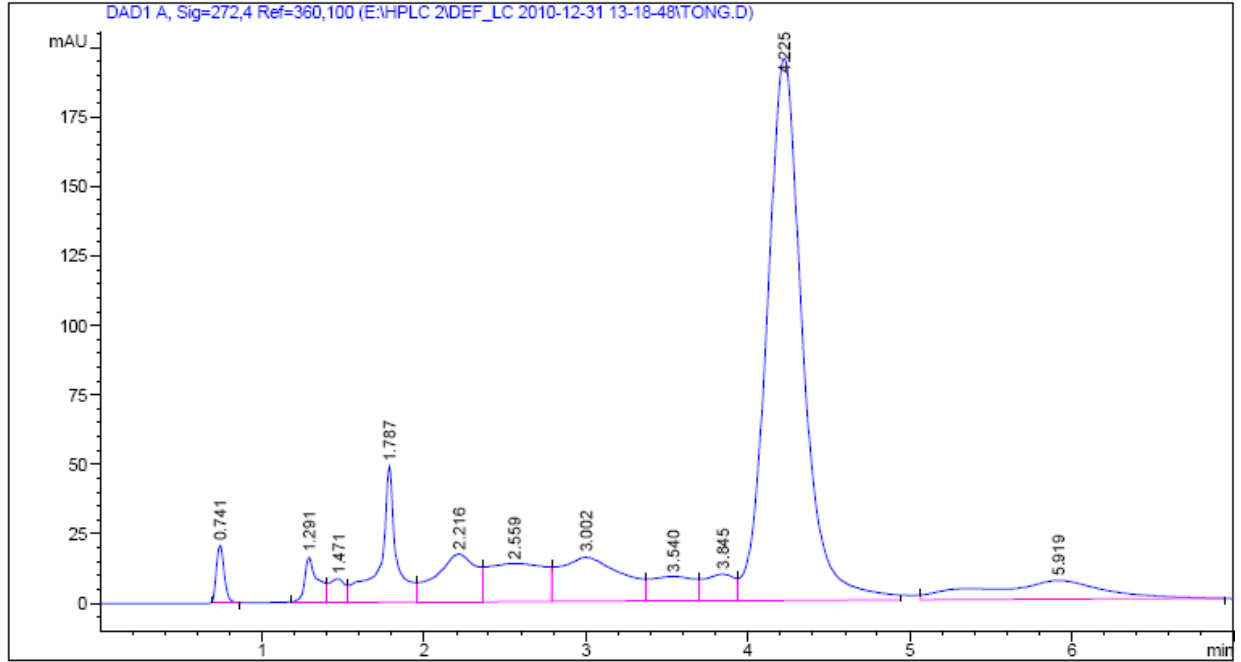
m; khối lượng đem đi chiết (g).

ρ: khối lượng riêng dung dịch g/cm<sup>3</sup>. (ρ= 1 g/cm<sup>3</sup>)

$$\rightarrow C = \frac{212,12728 \cdot 100 \cdot 10}{10} = 21212,73 \text{ mg/g khô}$$

# Luận văn tốt nghiệp

Analysis Method : E:\HPLC 2\CAFFEIN.M  
Last changed : 11/4/2010 7:30:07 PM by THANG



=====  
External Standard Report  
=====

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : 11/5/2010 9:02:34 AM  
Multiplier: : 1.0000  
Dilution: : 1.0000  
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: DAD1 A, Sig=272,4 Ref=360,100

RetTime [min]	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [ppm]	Grp	Name
4.225	VB	2983.37524	7.11031e-2	212.12728		caffein

Totals : 212.12728

=====  
**Hình4.1:** kết quả phân tích hàm lượng tổng caffeine

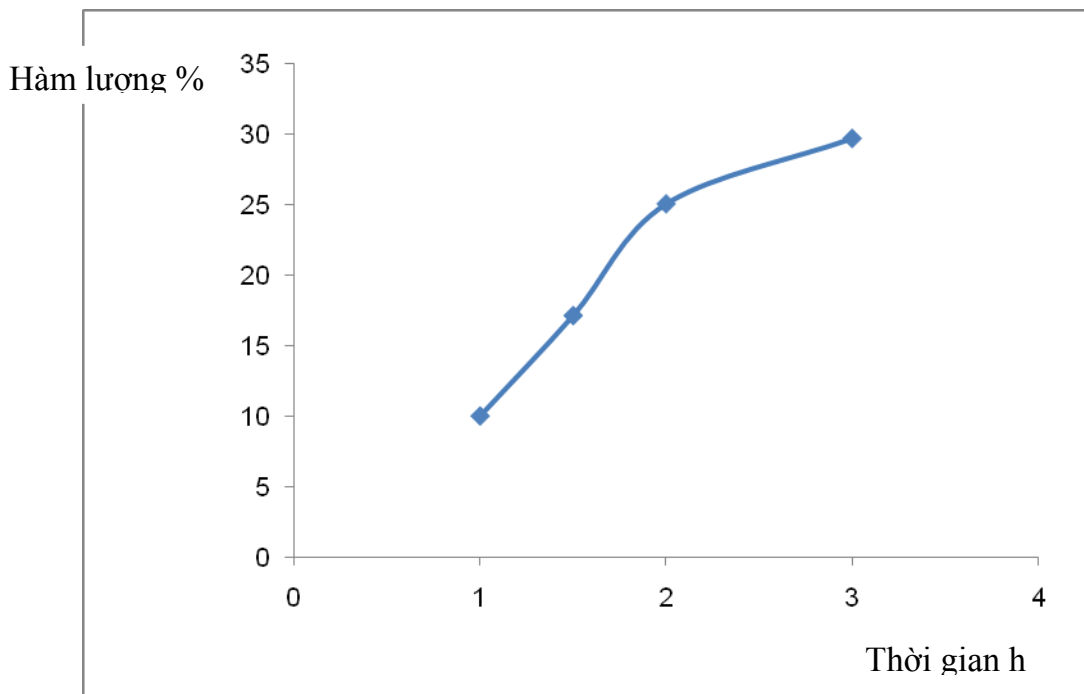
## 4.2 Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết

Các thí nghiệm chiết trà xanh bằng  $\text{SCO}_2$  được thực hiện ở nhiệt độ  $70^\circ\text{C}$ ; áp suất 220 bar; nồng độ co-solvent etanol là 5% được thực hiện theo các khoảng thời gian là 1h; 1,5; 2h và 3h. Hàm lượng phân tích được xem phụ lục 3. kết quả thực nghiệm được thể hiện trong bảng 4.1 và hình 4.2.

Bảng 4.1: kết quả thu caffeine của trà xanh theo thời gian chiết.

Thời gian (h)	1	1,5	2	3
Hàm lượng thu được sản phẩm	10,00%	17,12%	25,04%	29,68%

Kết quả khảo sát chiết xuất nguyên liệu trà xanh theo khoảng thời gian nêu trên cho thấy lượng chế phẩm tăng nhanh từ 1h đến 2h, 10,00% đến 25,04%. Vì vậy ta chọn thời gian chiết là 2h.



**Hình 4.2:** đồ thị biểu diễn ảnh hưởng thời gian chiết đến khi thu được chế phẩm.

### 4.3 Mô hình hóa thực nghiệm xác định các thông số trạng thái $\text{SCO}_2$ và nồng độ co – solvent

Nhằm mục đích xác định điều kiện tối ưu chiết xuất caffeine từ nguyên liệu trà xanh, chúng tôi đã quy hoạch các thông số trạng thái áp suất P, nhiệt độ T và nồng độ co-solvent etanol C của  $\text{SCO}_2$  trong bầu chiết ở các thí nghiệm theo dạng phương trình hồi quy trực giao cấp 2. Hàm lượng phân tích xem phụ lục 4. Kết quả thực nghiệm theo quy hoạch được trong bảng 4.2.

sSTT	T ( $^{\circ}\text{C}$ )	P(bar)	C (%)	Y (%)
1	80	220	5	0.242
2	80	220	10	0.444
3	80	300	5	0.222
4	80	300	10	0.478
5	70	220	5	0.231
6	70	220	10	0.256
7	70	220	5	0.215
8	70	300	10	0.258
9	81,1	260	7,5	0.222
10	69	260	7,5	0.266
11	75	308,6	7,5	0.251
12	75	211,4	7,5	0.24
13	75	260	11,03	0.236
14	75	260	4,96	0.139
15	75	260	7,5	0.202

## Luận văn tốt nghiệp

Trong đó:

T: nhiệt độ trong bầu chiết( $^{\circ}$  C);

P: áp suất của  $\text{SCO}_2$  trong quá trình chiết (bar);

C: nồng độ co – solvent etanol 99,8 % trong  $\text{SCO}_2$ ;

Y: hàm lượng thu được (%) của chế phẩm chiết so với nguyên liệu khô;

### 4.3.1 Kết quả xây dựng phương trình hồi quy

Việc xây dựng phương trình hồi quy công thức tham khảo trong phần phụ lục 1.

Ta có bảng mã hóa phương trình hồi quy như sau:

Nội dung phương án	Stt	$x_0$	$x_1$	$x_2$	$x_3$	$x_1 \cdot x_2$	$x_1 \cdot x_3$	$x_2 \cdot x_3$	$x_1^2 - 0,73$	$x_2^2 - 0,73$	$x_3^2 - 0,73$	Y
Nhân	1	+	+	+	+	+	+	+	+ 0,27	+ 0,27	+ 0,27	0.242
	2	+	-	+	+	-	-	+	+ 0,27	+ 0,27	+ 0,27	0.444
	3	+	+	-	+	-	+	-	+ 0,27	+ 0,27	+ 0,27	0.222
	4	+	-	-	+	+	-	-	+ 0,27	+ 0,27	+ 0,27	0.478
	5	+	+	+	-	+	-	-	+ 0,27	+ 0,27	+ 0,27	0.231
	6	+	-	+	-	-	+	-	+ 0,27	+ 0,27	+ 0,27	0.256
	7	+	+	-	-	-	-	+	+ 0,27	+ 0,27	+ 0,27	0.215
	8	+	-	-	-	+	+	+	+ 0,27	+ 0,27	+ 0,27	0.258
Các	9	+	+1,215	0	0	0	0	0	+0,746	- 0,73	- 0,73	0.222



## Luận văn tốt nghiệp

điểm sao (*)	10	+	-1,215	0	0	0	0	0	+0,746	-0,73	-0,73	0.266
	11	+	0	+1,215	0	0	0	0	-0,73	+0,746	-0,73	0.251
	12	+	0	-1,215	0	0	0	0	-0,73	+0,746	-0,73	0.24
	13	+	0	0	+1,215	0	0	0	-0,73	-0,73	+0,746	0.236
	14	+	0	0	-1,215	0	0	0	-0,73	-0,73	+0,746	0.139
Tâm	15	+	0	0	0	0	0	0	-0,73	-0,73	-0,73	0.202

**Bảng kết quả thí nghiệm ở tâm quy hoạch**

STT	Z1	Z2	Z3	Y
1	75	260	7,5	0.202
2	75	260	7,5	0.219
3	75	15260	7,5	0.232
4	75	260	7,5	0.223

**Bảng kết quả các giá trị hệ số hồi quy**

Hệ số	$b_0$	$b_1$	$b_2$	$b_3$	$b_4$	$b_5$	$b_6$	$b_7$	$b_8$	$b_9$
Giá trị	0,26	-0,053	0.001	0,050	0,09	-0,049	-0,004	0,05	0,051	0,012

**Bảng kết quả giá trị  $t_i$**

Hệ số	$t_0$	$t_1$	$t_2$	$t_3$	$t_4$	$t_5$	$t_6$	$t_7$	$t_8$	$t_9$
Giá trị	80,15	13,93	0,32	13,07	2,03	10,97	0,79	8,30	8,47	1,94

Tra bảng  $t_p(f) = t_{0,05}(3) = 3,18$ . Các giá trị  $t_2, t_4, t_6, t_9$  nhỏ hơn giá trị  $t_p(f)$  do đó các hệ số hồi quy tương bị loại khỏi PTHQ.

### Bảng kết quả giá trị độ lệch chuẩn của phân bố b

Phương sai	$S_{b0}$	$S_{b1}$	$S_{b2}$	$S_{b3}$	$S_{b4}$	$S_{b5}$	$S_{b6}$	$S_{b7}$	$S_{b8}$	$S_{b9}$
Giá trị	0,0032	0,0038	0,0038	0,0038	0,0044	0,0044	0,0044	0,0060	0,0060	0,0060

### Bảng kết quả các giá trị khác

STT	Giá trị
Phương sai tái hiện	$15,8.10^{-5}$
Phương sai dư	$86,8.10^{-5}$
F	5,49

Giá trị ở bảng của tiêu chuẩn Fisher với mức ý nghĩa  $p = 0,05$  và các bậc tự do  $f_1 = N - 1 = 15 - 6 = 9$  (số hệ số hồi quy có ý nghĩa),  $f_2 = n_0 - 1 = 4 - 3 = 1$  là  $F_{1-p}(f_1, f_2) = 8,7$

$F < F_{1-p}(f_1, f_2)$  do đó phương trình tương thích với thực nghiệm.

Phương trình hồi quy thực nghiệm xây dựng được là:

$$Y = 0,26 - 0,053.x_1 + 0,05.x_3 - 0,049.x_1.x_2 + 0,05.x_1^2 + 0,051.x_2^2$$

→ phương trình cho quá trình chiết caffeine từ trà xanh có dạng:

$$Y = 9,532 - 0,247.T + 0,02.C + 1,8.10^{-3}.P - 2,45.10^{-4}.P.T + 0,002.T^2 + 3,188.10^{-5}.P^2$$

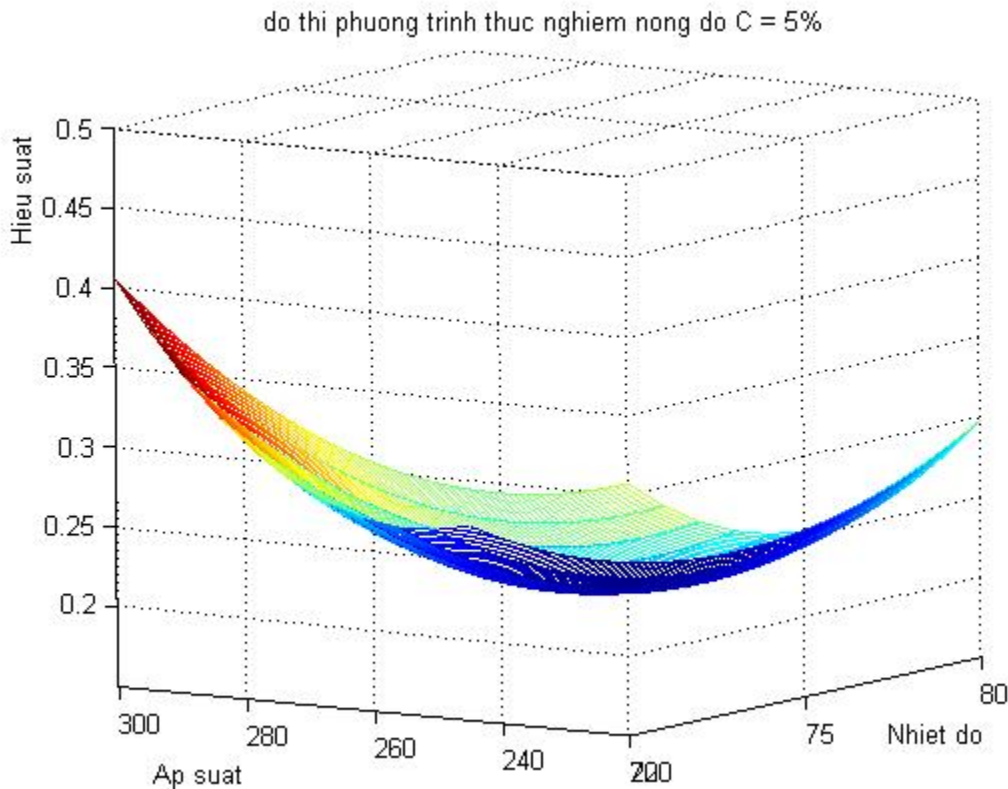
Cực trị của phương trình được lập trình để tính toán bằng chương trình matlab. Từ giá trị cực trị này, các điều kiện chiết tách hiệu quả do mẫu nghiên cứu cũng được xác lập, mức độ phù hợp của các kết quả tính toán được kiểm chứng bằng thực nghiệm.

Chương trình giải bằng matlab xem phụ lục 2.

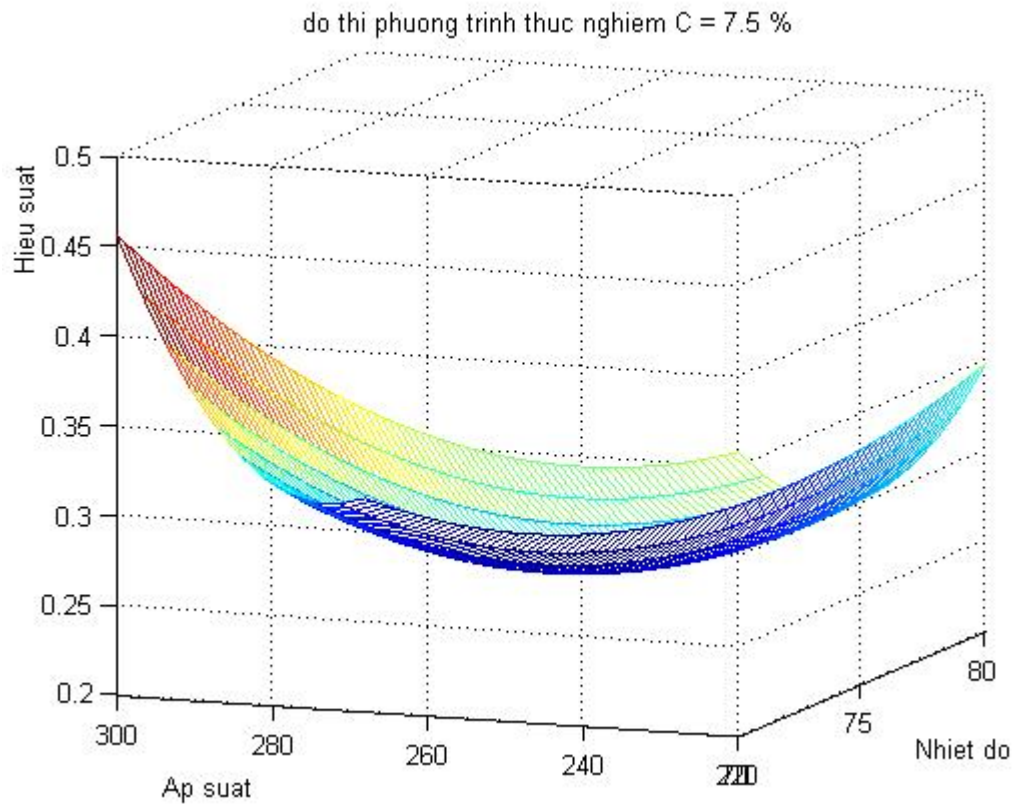
Kết quả tính toán hàm lượng thu được của caffeine cao nhất vùng quy hoạch được tính toán bằng chương trình matlab là  $Y = 50,62\%$  và tương ứng với trạng thái  $\text{SCO}_2$  trong qua trình chiết theo tính toán ở nhiệt độ  $T = 70^\circ\text{C}$  và áp suất  $P = 300\text{ bar}$ . Nồng độ etanol trong  $\text{SCO}_2$  tương ứng là  $10\%$ .

Sau khi có được điều kiện đã được mô phỏng tính toán như trên, ta tiến hành lặp lại 2 thí nghiệm với  $T = 70^\circ\text{C}$ ,  $P = 300\text{ bar}$ ,  $C = 10\%$ , thu được chế phẩm lần lượt là  $48,27\%$ ,  $47,18\%$ . Như vậy kết quả kiểm chứng phù hợp với mô hình quy hoạch trong vùng điều kiện thí nghiệm.

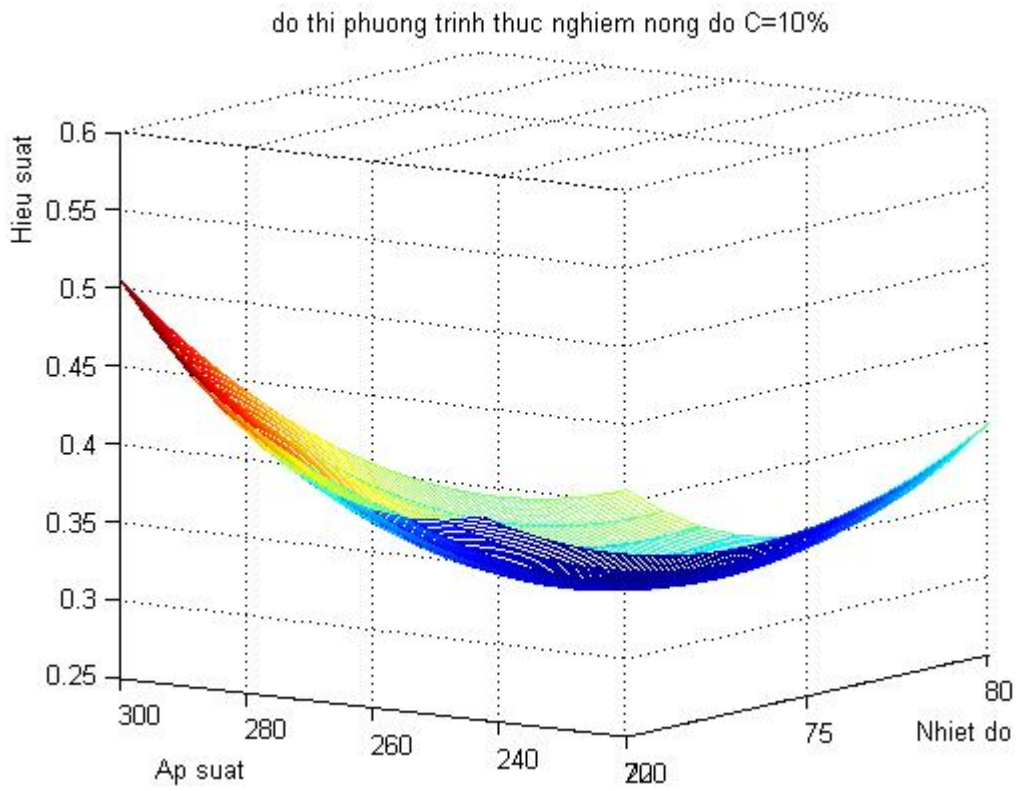
Ta có các đồ thị biểu diễn hàm lượng caffeine thu được phụ thuộc vào áp suất và nhiệt độ thông qua từng giá trị nồng độ co – solvent :



**Hình4.3:** đồ thị hiệu suất chiết ứng với  $C = 5\%$



**Hình 4.4:** đồ thị hiệu suất chiết ứng với  $C = 7,5\%$



**Hình4.5:** đồ thị hiệu suất chiết ứng với C =7,5%

### 4.4 bàn luận

Sau quá trình nghiên cứu tách chiết caffeine từ trà xanh bằng CO<sub>2</sub> lỏng siêu tới hạn, chúng tôi đã khảo sát được điều kiện tách chiết thích hợp cho quá trình chiết là T = 70<sup>0</sup> C, P = 300 bar, C = 10%, thời gian trích ly thích hợp là 2h.

Trong luận văn này ta mới chỉ xác định điểm tối ưu trong miền khảo sát, để áp dụng nó vào thực tiễn chúng ta cần phải khảo sát ảnh hưởng của từng thông số tác động đến hiệu suất chiết và chất lượng chiết. Như sau khi xác định được phương trình hồi quy, ta biểu diễn hàm lượng caffeine thu được phụ thuộc vào áp suất và nhiệt độ thông qua từng giá trị nồng độ co – solvent hình 4.3;4.4;4.5. Ta nhận thấy khi nồng độ co – solvent tăng thì hàm lượng caffeine chiết cũng tăng theo. Vì vậy chúng ta cũng cần khảo sát kĩ điểm tối ưu sao cho đạt kinh tế cao để có thể áp dụng vào thực tiễn

Sau khi mẫu chiết được đo bằng HPLC ta nhận thấy dịch chiết lẫn tạp chất không đáng kể, vì vậy chúng ta nên tách caffeine trong chế phẩm ở dạng tinh khiết để ứng dụng nó trong một số lĩnh vực nhằm đạt được giá trị cao về mặt kinh tế.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê tất khương (1999). *Giáo trình cây chè*. NXB nông nghiệp 1999.
2. Đỗ Ngọc Quỳ, Đỗ Thị Ngọc Oanh (2008). *Khoa học văn hóa trà thế giới và Việt Nam*. NXB Nông nghiệp Hà Nội 2008.
3. [www.vitas.org.vn](http://www.vitas.org.vn).
4. Đoàn Tiến Hùng, Trịnh Văn Loan (1996). *Nghiên cứu đặc tính hóa sinh và công nghệ chè của hai dòng lai tạo LDP1 và LDP2*. Tạp chí hoạt động khoa học, phụ trương số 8 năm 2006.
5. Hiệp hội chè Việt Nam. *Sản xuất và kinh doanh chè Việt Nam năm 2007 và Kế hoạch năm 2008*. Báo cáo hàng năm.
6. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (1996). *Định hướng phát triển ngành chè Việt Nam đến năm 2000-2010*.
7. [www.tapchicongsan.org.vn](http://www.tapchicongsan.org.vn)
8. Hiệp hội chè Việt Nam. Niên giám thống kê 2008
9. [www.khoahoc.net](http://www.khoahoc.net)
10. Đỗ Tất Lợi – *những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam* – NXB KHKT 1970
11. [www.winsomeindia.com/manu.html](http://www.winsomeindia.com/manu.html)
12. [http://www.twinings.com/en\\_int/tea\\_production](http://www.twinings.com/en_int/tea_production)
13. Nguyễn Văn Tạo (2002). *Sổ tay kỹ thuật chế biến chè*. Dự án phát triển chè và cây ăn quả. Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn. NXB Nông nghiệp Hà Nội.
14. Vũ Thị Thư, Đoàn Tiến Hùng, Đỗ Thị Gấm (2001). *Các hợp chất hóa học có trong chè và một số phương pháp phân tích thông dụng trong sản xuất chè ở Việt Nam*. NXB Nông nghiệp 2001.

15. Đỗ Văn Ngọc, Trịnh Văn Loan (2008). *Các biến đổi hóa sinh trong quá trình chế biến và bảo quản chè*. NXB Nông nghiệp Hà Nội 2008.
16. *Tạp chí y học cổ truyền Việt Nam* – số 310, 311, 316.
17. Đỗ Tất Lợi – *hóa sinh chè* – Đại Học Bách Khoa Hà Nội – 1984.
18. [w.w.w/chemweb.com/MEDLINE](http://w.w.w/chemweb.com/MEDLINE), Nutritional products.
19. C.W. Chang, F.L. Hsu, J.Y. Lin (1994), “Inhibitory effects of polyphenolic catechins from Chinese green tea on HIV reverse transcriptase activity”, *Journal of Biomedical Science* (Basel, Swizerland).
20. Caffeine and woman health .
21. Caffeine’s effect on studying.
22. Caffeine and the athlete.
23. [www.scribd.com/doc/21734554/TACH-CHIET](http://www.scribd.com/doc/21734554/TACH-CHIET).
24. Võ Văn Bang, Vũ Bá Minh – *quá trình và thiết bị công nghệ hóa học và thực phẩm- tập 3 – truyền khối-* NXB Đại Học quốc gia Tp.HCM.
25. S.S.H. Rizvi, Al Benado. (1986), “Supercritical fluid extraction: Fundamental principle and Modeling Methods”, *Food Technology*, 40 (6),
26. M. Mukhopadhyay (2000), “Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide”, CRC Press., India.
27. S.S.H. Rizvi (1994), “Supercritical fluid Processing of food and biomaterials”, Chapman & Hall, London, UK.
28. King and Bott (1993), “Extraction of Natural products using near critical solvents”, Chapman & Hall, London, UK.
29. G. Brunner (1994), “Gas extraction”, Springer New York, USA.
30. R. J.P. Cannel (1998), “Natural products Isolation”, Humana Press. Inc., USA.



31. S.S.H. Rizvi, Al Benado (1986), “Supercritical fluid extraction: Operating principle and food applications”, *Food Technology*, 40 (7), p. 57 - 64.
32. VietNamNet>>Kinhte 18/2/2003 (GMT+7).
33. [www/chemwed.com/MEDLINE,POLYPHENOL](http://www/chemwed.com/MEDLINE,POLYPHENOL).
34. Sastry and Mukhopadhyay (1994), “Substrate hindrance in supercritical extraction of fragrance from jasmine flowers”, ed. 3rd., France, 2. p. 341.
35. B.M. Lawrence (1995), “Isolation of aromatic materials from natural plant products, in A Manual on the Essential Oil Industry”, UNIDO, Vienna, Austria, p. 57 - 154.

## PHỤ LỤC 1

### Công thức quy hoạch trực giao cấp 2

hệ số phương trình hồi quy được xác định độc lập với nhau và tính theo công thức:

$$b_0 = \frac{\sum_{i=1}^N y_i}{N}$$

$$b_j = \frac{\sum_{i=1}^N x_{ji} y_i}{\sum_{i=1}^N x_{ji}^2}$$

Với  $j = 1: N$

Phương sai của các hệ số hồi qui được xác định theo hệ số:

$$s_{b_j}^2 = \frac{s_{\text{ch}}^2}{\sum_{i=1}^N x_{ji}^2}$$

Phương sai tái hiện được xác định theo 4 thí nghiệm bổ sung ở tâm. Công thức tính phương sai tái hiện:

$$s_{\text{ch}}^2 = \frac{\sum_{i=1}^4 (y_i^0 - y_{\text{tb}}^0)^2}{4 - 1}$$

Tính ý nghĩa của các hệ số trong phương trình hồi qui được kiểm định theo tiêu chuẩn Student:

$$t_j = \frac{|b_j|}{s_{b_j}}$$

Tra bảng  $t_p(f) = t_{0,05}(3) = 3,18$ , khi chọn  $p = 0,05$ . Hệ số  $t_j$  được xem là có ý nghĩa nếu  $t_j > t_p(f)$

Sau đó ta nhận được phương trình hồi qui.

Để kiểm định sự tương thích của phương trình hồi qui theo thực nghiệm, ta tính phương sai dư.

$$s_{\text{đr}}^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (y_i - \bar{y})^2}{N - 1}$$
$$F = \frac{s_{\text{đr}}^2}{s_{\text{đh}}^2}$$

Giá trị ở bảng của tiêu chuẩn Fisher với mức ý nghĩa  $p = 0,05$  và các bậc tự do  $f_1 = N - 1$ ,  $f_2 = n_0 - 1$  là  $F_{1-p}(f_1, f_2)$

$F < F_{1-p}(f_1, f_2)$  do đó phương trình tương thích với thực nghiệm.

## PHỤ LỤC 2

### Chương trình giải bằng matlab

```
result = 0;
Y = 0;
for C= 5:10
    for T=70:80
        for P=220:300
            Y = 9.532 - 0.247*T + 0.02*C + (1.8E-3)*P - (2.45E-4)*P*T + 0.002*T*T + (3.188E-5)*P*P;
            if Y > result
                result = Y;
                nhiet_do = T;
                nong_do = C;
                ap_suat = P;
            end
        end
    end
end
disp('===== ');
fprintf('Gia tri lon nhat la: %d \n',result);
fprintf('voi: \n');
fprintf('  nhiet do: %d \n',nhiet_do);
fprintf('  nong do: %d \n',nong_do);
fprintf('  ap suat: %d \n',ap_suat);
fprintf('===== \n');
```

## PHỤ LỤC 3

### Thời gian chiết

## **PHỤ LỤC 4**

**Kết quả thí nghiệm quy hoạch và kiểm tra điều kiện tối ưu**