



DOI:10.22144/ctujos.2026.045

NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA CHIẾT XUẤT GIÀU CHLOROGENIC ACID TỪ NHÂN HẠT CÀ PHÊ XANH (*Coffea canephora*)

Nguyễn Thị Thùy Dương² và Trịnh Thị Phi Ly^{1,2*}

¹Viện Nghiên cứu Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Khoa Khoa học Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): phily@hcmuaf.edu.vn

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 19/06/2025

Sửa bài (Revised): 02/09/2025

Duyệt đăng (Accepted): 26/01/2026

Title: Investigation of the biological activity of chlorogenic acid-rich extracts from green coffee bean (*Coffea canephora*)

Author(s): Nguyen Thi Thuy Duong² and Trinh Thi Phi Ly^{1,2*}

Affiliation(s): ¹Research Institute for Biotechnology and Environment, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Viet Nam; ²Faculty of Biological Sciences, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Viet Nam

TÓM TẮT

Polyphenol là nhóm hợp chất chống oxy hóa tiềm năng có mặt trong nhân hạt cà phê xanh, trong đó chlorogenic acid là polyphenol chiếm tỷ lệ cao nhất, là hoạt chất chính tạo nên giá trị sinh học đặc trưng của nhân hạt cà phê xanh. Nghiên cứu được thực hiện nhằm khảo sát các phương pháp chiết xuất polyphenol, chlorogenic acid từ nhân hạt cà phê xanh và đánh giá hoạt tính sinh học của dịch chiết giàu chlorogenic acid thu được. Hai phương pháp được sử dụng là chiết xuất có sự hỗ trợ của sóng siêu âm và hỗ trợ enzyme. Kết quả cho thấy việc chiết xuất bằng enzyme Celluclast đạt hiệu quả polyphenol cao nhất với hàm lượng 66,88 mg gallic acid tương đương/g (GAE/g). Phương pháp sử dụng ethanol 70% có sự hỗ trợ của sóng siêu âm cho hiệu quả chiết xuất polyphenol tương đương nhưng hàm lượng chlorogenic acid cao hơn 1,3 lần so với phương pháp chiết bằng enzyme. Dịch chiết ethanol 70% có khả năng bắt gốc tự do DPPH và ABTS, khả năng ức chế biến tính albumin cao hơn dịch chiết bằng enzyme. Dịch chiết giàu chlorogenic acid có tiềm năng ứng dụng trong lĩnh vực thực phẩm và dược phẩm.

Từ khóa: Chlorogenic acid, chống oxy hóa, hạt cà phê xanh, kháng viêm, polyphenol

ABSTRACT

Polyphenols are potent antioxidant compounds present in green coffee beans, in which chlorogenic acid is the most abundant polyphenol and the key bioactive compound responsible for the specific properties of green coffee beans. The study investigated extraction methods for obtaining polyphenols, especially chlorogenic acid, from green coffee beans and evaluated the bioactivity of the chlorogenic acid-rich extract. Two extraction methods were used, including ultrasound-assisted extraction and enzyme-assisted extraction. The results showed that Celluclast-assisted extraction achieved the highest polyphenol with a yield of 66.88 mg GAE/g. The ultrasound-assisted method using 70% ethanol gave comparable polyphenol extraction efficiency, but the chlorogenic acid yield was 1.3 times higher than the enzyme method. The 70% ethanol extract had higher DPPH and ABTS free radical scavenging ability and better inhibition of albumin denaturation than the extract from Celluclast-assisted extraction. Chlorogenic acid-rich extracts have potential applications in various sectors such as food and pharmaceuticals.

Keywords: Anti-inflammatory, antioxidant, chlorogenic acid, green coffee bean, polyphenol

1. GIỚI THIỆU

Cà phê là một trong những loại cây trồng quan trọng nhất trên thế giới và được giao dịch rộng rãi trên thị trường quốc tế. Việt Nam hiện là nước xuất khẩu cà phê lớn thứ hai thế giới, sau Brazil. Theo Tổ chức Cà phê Quốc tế (2023), Việt Nam chiếm khoảng 18 - 20% lượng cà phê xuất khẩu toàn cầu vào năm 2023. Trong nhân hạt cà phê, chlorogenic acid (CGA) là một nhóm polyphenol có hàm lượng cao dao động từ 70 đến 350 mg trong mỗi tách cà phê (Zuo et al., 2015). Kết quả nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng CGA mang lại nhiều lợi ích sức khỏe, bao gồm khả năng chống oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn, kháng virus, hỗ trợ giảm cân và tiềm năng chống ung thư (Obloh et al., 2013; Li et al., 2020). Ngoài ra, CGA còn được ghi nhận có tác dụng làm giảm nguy cơ mắc bệnh tiểu đường loại II và bệnh Alzheimer (Amato et al., 2019).

Tuy nhiên, CGA rất nhạy với nhiệt độ cao. Theo nghiên cứu của Valentin et al. (2013), quá trình chế biến, đặc biệt là rang cà phê, làm suy giảm đáng kể hàm lượng CGA trong nhân hạt cà phê, ảnh hưởng đến hoạt tính sinh học của sản phẩm. Do đó, việc nghiên cứu và phát triển các phương pháp chiết xuất tối ưu CGA từ nhân hạt cà phê xanh (hạt tách từ quả cà phê chín nhưng chưa trải qua quá trình xử lý) là cần thiết để thu nhận và khai thác tối đa lợi ích sinh học của hợp chất này. Kết quả nghiên cứu của Le et al. (2020) cho thấy hiệu suất chiết CGA từ nhân hạt cà phê xanh Robusta Đắk Lắk tối ưu trong ethanol 70% bằng phương pháp chiết nóng ở 70°C, trong 60 phút với tỷ lệ nguyên liệu : dung môi là 1:20. Tuy nhiên, việc sử dụng lượng dung môi lớn có thể gây khó khăn khi mở rộng quy mô sản xuất do chi phí cao và thách thức trong quá trình thu hồi, loại bỏ dung môi. Mẫn và ctv. (2022) chiết xuất CGA từ nhân hạt cà phê xanh Robusta Đắk Lắk bằng phương pháp ngâm dầm với ethanol-nước trong 24 giờ đạt hàm lượng 2,95%. Đây là phương pháp đơn giản và dễ áp dụng, tuy nhiên nhược điểm là thời gian chiết kéo dài. Lai et al. (2019) đã tối ưu điều kiện chiết xuất CGA từ nhân hạt cà phê xanh Robusta Đắk Lắk, kết quả thu được CGA tối đa là 3,54% sử dụng ethanol 40% trong điều kiện lắc ủ nhiệt 85°C trong 64 phút. Tuy nhiên, các nghiên cứu trong nước khi được thực hiện còn hạn chế về thông tin liên quan đến chiết xuất CGA bằng các phương pháp hiện đại khác như chiết xuất có hỗ trợ sóng siêu âm hoặc enzyme.

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm tập trung vào việc tìm kiếm phương pháp chiết xuất tối ưu để thu nhận hàm lượng chlorogenic acid (CGA) cao

nhất từ nhân hạt cà phê xanh. Đồng thời, các hoạt tính sinh học của dịch chiết giàu CGA được đánh giá nhằm cung cấp cơ sở khoa học cho các ứng dụng tiềm năng trong ngành thực phẩm và dược phẩm. Những kết quả từ nghiên cứu có thể góp phần nâng cao giá trị sử dụng của hạt cà phê xanh, hướng tới các sản phẩm có lợi cho sức khỏe.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Quả cà phê chín loại Robusta được thu hoạch cuối tháng 11/2024 tại thị trấn Quảng Phú, huyện Cư M'gar, tỉnh Đắk Lắk, Việt Nam. Quả cà phê chín đỏ được tách vỏ, thu nhân cà phê (thường gọi là cà phê xanh vì nhân có màu xanh), mang sấy ở 50°C trong 12 giờ (Memmert, Đức), sau đó xay (Ninja C5, Mỹ) và rây qua rây có đường kính 1 mm, bảo quản trong bình hút ẩm ở nhiệt độ phòng trước khi tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

Hóa chất được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: Ethanol (CAT#64175), Na₂CO₃ (CAT#1063920500, Merck), Citric acid (CAT#77929), Trisodium citrate dihydrate (CAT#6132043), thuốc thử Folin-Ciocalteu (CAT#1090010100, Merck), Anthrone (Cat#A0379847, Acros), H₂SO₄ (Cat#7664-93-9, Xilong), D-glucose (Cat#G8270, Sigma-Aldrich), Chlorogenic acid (Cat#C3878, Sigma-Aldrich), enzyme Viscozyme (100 FBG/g, Novozymes) và Celluclast (700 EGU/g, Novozymes).

2.2. Xác định thành phần hóa lý của hạt cà phê xanh

Các chỉ tiêu hóa lý cơ bản của hạt cà phê xanh được xác định bao gồm: (i) Độ ẩm được xác định bằng phương pháp khối lượng theo TCVN 7035:2002, (ii) Hàm lượng tro được xác định bằng phương pháp nung ở 550°C theo TCVN 8124:2009/ISO 2171:2007, (iii) Carbohydrate được xác định bằng phương pháp Anthrone kết hợp qui trình xử lý mẫu của Sluiter et al. (2008), (iv) Protein thô được xác định bằng phương pháp Kjeldahl theo TCVN 8099-1:2015 và (v) Lipid được xác định bằng phương pháp chiết với hexan theo TCVN 8948: 2011.

2.3. Chiết xuất polyphenol và chlorogenic acid

2.3.1. Phương pháp chiết xuất có sự hỗ trợ của sóng siêu âm

Polyphenol là nhóm chất phân cực nên hòa tan tốt trong các dung môi phân cực như nước, methanol và ethanol. Kết quả các nghiên cứu trước đây đã cho

thấy hỗn hợp nước và dung môi hữu cơ chiết xuất hiệu quả các hợp chất polyphenol (Meneses et al., 2013; Wang et al., 2013). Trong nghiên cứu này, các hợp chất polyphenol được chiết xuất từ nhân hạt cà phê xanh bằng phương pháp hỗ trợ siêu âm với ba loại dung môi gồm ethanol 70%, methanol 70% và nước cất. Tỷ lệ nguyên liệu : dung môi được cố định 1:10 (w/v) (Lai et al., 2019). Quá trình siêu âm được thực hiện ở tần số 20 kHz, trong khoảng thời gian từ 15 đến 60 phút (thời gian siêu âm chính là thời gian chiết xuất). Dịch chiết được lọc tách bỏ bã và định mức 50 mL bằng dung môi chiết. Hiệu suất chiết được đánh giá thông qua việc xác định hàm lượng polyphenol tổng số và hàm lượng CGA trong dịch chiết tại các thời điểm 15, 30, 45 và 60 phút.

2.3.2. Phương pháp chiết xuất hỗ trợ enzyme

Đối với phương pháp chiết xuất có hỗ trợ enzyme, 1 g bột nhân hạt cà phê xanh (mẫu khô) được trộn với 50 mL nước cất pH 7,0 và dung dịch đệm sodium citrate 0,05 M ở pH 4,8 (đây là điều kiện tối ưu cho enzyme hoạt động được nhà sản xuất khuyến cáo). Enzyme Viscozyme và Celluclast được bổ sung với tỷ lệ enzyme : khối lượng nguyên liệu là 2% (v/w). Hỗn hợp được ủ ở 50°C với tốc độ lắc 120 vòng/phút trong tối đa 2 giờ. Hiệu suất chiết được đánh giá thông qua hàm lượng polyphenol tổng số và hàm lượng CGA trong dịch chiết tại các thời điểm 15, 30, 60, 90 và 120 phút.

2.4. Định lượng polyphenol tổng số

Hàm lượng polyphenol tổng số trong dịch chiết được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu, dựa trên nguyên lý oxy hóa các nhóm hydroxyl (-OH) phenol thành quinone dưới tác dụng thuốc thử Folin-Ciocalteu (Mehari et al., 2021). Cụ thể, 0,1 mL mẫu dịch chiết được phản ứng với 0,1 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu, ủ 5 phút sau đó bổ sung 0,3 mL Na₂CO₃ 20% và 4,5 mL nước cất. Hỗn hợp được tiếp tục ủ ở nhiệt độ phòng trong 60 phút trong điều kiện tránh ánh sáng trực tiếp. Độ hấp thụ của các mẫu phản ứng được đo tại bước sóng 735 nm bằng máy quang phổ hấp thụ phân tử (UV-Vis). Dung dịch chuẩn gallic acid được chuẩn bị ở các nồng độ 100, 200, 300, 400, 500 ppm và phản ứng với thuốc thử Folin tương tự như mẫu. Đường chuẩn được thiết lập để biểu diễn mối tương quan giữa nồng độ chất chuẩn và độ hấp thụ, từ đó xác định được nồng độ polyphenol trong dịch chiết và quy về mg gallic acid tương đương/g nguyên liệu khô (mg GAE/g).

2.5. Xác định hàm lượng chlorogenic acid

Hàm lượng chlorogenic acid trong dịch chiết được phân tích bằng kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) kết hợp đầu dò PDA trên hệ thống LaChrom Elite L-2000 Series, (Hitachi-Nhật Bản) với bước sóng phát hiện 270 nm. Quá trình phân tách được thực hiện trên cột pha đảo ZORBAX Eclipse Plus-C18 (4,6 × 250 mm, kích thước hạt 5 μm) ở nhiệt độ cột 35°C. Hệ dung môi pha động bao gồm 75% A (1% acetic acid trong acetonitrile) và 25% B (1% acetic acid trong nước). Quá trình phân tách và rửa giải được tiến hành theo chế độ isocratic với tốc độ dòng là 1 mL/phút. Thể tích tiêm mẫu là 10 μL. Thời gian phân tích 15 phút. Chất chuẩn chlorogenic acid được chuẩn bị ở dãy nồng độ 5, 10, 25, 50 và 100 mg/L. Đồ thị chuẩn được xây dựng nhằm biểu diễn mối tương quan giữa nồng độ chuẩn và diện tích peak. Hàm lượng chlorogenic acid được quy về mg/g nguyên liệu khô.

2.6. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa

2.6.1. Phương pháp DPPH

Hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết được xác định bằng phương pháp DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dựa vào quy trình của Zhang et al. (2015) có hiệu chỉnh. Cụ thể, 0,5 mL mẫu được trộn với 3 mL ethanol 96%, sau đó bổ sung 1 mL dung dịch DPPH 0,5 mM (pha trong methanol). Hỗn hợp được lắc đều và ủ trong tối 30 phút trước khi đo độ hấp thụ tại bước sóng 517 nm. Mẫu đối chứng âm được thực hiện bằng cách thay dịch chiết bằng nước cất. Trolox (20 - 100 mg/L) được sử dụng làm chất chuẩn và tiến hành phản ứng tương tự như dịch chiết mẫu. Đồ thị chuẩn được thiết lập biểu diễn mối tương quan giữa nồng độ Trolox và khả năng bắt gốc tự do DPPH. Khả năng chống oxy hóa của chiết xuất nhân hạt cà phê xanh được quy về lượng Trolox tương đương trong 1 g nguyên liệu khô (mg TE/g).

2.6.2. Phương pháp ABTS

Hoạt tính chống oxy hóa của chiết xuất nhân hạt cà phê xanh cũng được xác định bằng thử nghiệm ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) theo quy trình của Re et al. (1999) và Prasedya et al. (2021) có hiệu chỉnh. Dung dịch ABTS được chuẩn bị bằng cách pha trộn ABTS 7 mM với 2,45 mM potassium persulfate theo tỷ lệ 1:1 và hỗn hợp được ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng 12 - 16 giờ trước khi sử dụng. Sau đó, dung dịch ABTS^{•+} được pha loãng đến khi độ hấp thụ tại bước sóng 734 nm đạt 0,7 ± 0,02. Việc phản ứng được tiến hành bằng cách thêm 200 μL mẫu vào 4 mL ABTS^{•+}, ủ ở nhiệt độ phòng trong 6 phút, sau đó đo

độ hấp thu ở 734 nm (Nenadis et al., 2004). Trolox (20 - 100 mg/L) được sử dụng làm chất chuẩn và tiến hành phản ứng tương tự như dịch chiết mẫu. Đồ thị chuẩn được thiết lập biểu diễn mối tương quan giữa nồng độ Trolox và khả năng bắt gốc tự do $ABTS^{•+}$. Khả năng chống oxy hóa của chiết xuất nhân hạt cà phê xanh được quy về lượng Trolox tương đương trong 1 g nguyên liệu khô (mg TE/g).

2.7. Đánh giá hoạt tính kháng viêm

Hoạt tính kháng viêm của dịch chiết từ hạt cà phê xanh được xác định thông qua khả năng ức chế biến tính albumin *in vitro* theo phương pháp của Tuấn và ctv. (2014). Diclofenac sodium (20 - 100 mg/L) được sử dụng làm chất đối chiếu. Cụ thể, 2 mL dung dịch đệm acetate 0,025 M (pH 5,5) được trộn với 1 mL albumin huyết thanh bò 0,16%, sau đó bổ sung 1 mL dịch chiết nhân hạt cà phê xanh ở các nồng độ khác nhau. Đối với dịch chiết bằng ethanol 70% thì dung môi được loại bỏ bằng hệ thống cô quay chân không ở 50°C, sau đó bổ sung nước cất đến thể tích phù hợp. Dịch chiết bằng enzyme được ủ nhiệt ở 80°C trong 1 phút để bất hoạt enzyme trước khi thực hiện phản ứng. Hỗn hợp được ủ ở 37°C trong 30 phút, sau đó tiếp tục ủ ở 67°C trong 4 phút, làm lạnh và đo độ hấp thu ở bước sóng 660 nm. Phần trăm ức chế biến tính protein được tính theo công thức:

$$I = \frac{(OD_n - OD) \times 100}{OD_n}$$

Trong đó

I: Phần trăm ức chế biến tính protein (%).

OD_n: Độ hấp thu của mẫu đối chứng âm (dung dịch đệm thay cho dịch chiết).

OD: Độ hấp thu của mẫu thí nghiệm

Giá trị IC₅₀ (nồng độ dịch chiết ức chế 50% sự biến tính protein) được xác định dựa trên phương trình hồi quy tuyến tính. IC₅₀ của đối chứng dương (diclofenac sodium) cũng được xác định tương tự.

2.8. Phương pháp xử lý số liệu

Thí nghiệm được bố trí theo thiết kế hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại ở thí nghiệm phân tích thành phần hóa học, xác định polyphenol, chlorogenic acid và đánh giá hoạt tính (chiết xuất lặp 3 lần trước khi định lượng và đánh giá). Kết quả được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn. Phân tích phương sai (ANOVA) được thực hiện bằng phần mềm MiniTab 16. Kiểm định Tukey được thực hiện để đánh giá mức độ khác biệt có ý nghĩa giữa các giá trị với mức ý nghĩa $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần hóa học của nhân hạt cà phê xanh

Kết quả phân tích các chỉ tiêu hóa học cơ bản của nhân hạt cà phê xanh Robusta được trình bày trong Bảng 1. Hạt cà phê xanh có độ ẩm 7,12% nằm trong giới hạn bảo quản an toàn theo quy định của Dược điển Việt Nam IV (độ ẩm dưới 12%). Điều này cho thấy nguyên liệu đáp ứng tiêu chuẩn bảo quản, hạn chế sự phát triển của vi sinh vật và quá trình biến đổi hóa học trong quá trình lưu trữ.

Bảng 1. Thành phần hóa học của nhân hạt cà phê xanh

Chỉ tiêu	Hàm lượng* (%)
Tro	4,29 ± 0,40
Carbohydrate	38,02 ± 0,64
Protein thô	14,96 ± 0,09
Đường tổng	6,06 ± 0,12
Lipid	9,09 ± 0,05

Ghi chú: Nhân hạt cà phê xanh được sấy ở 50°C trong 12 giờ, (*) kết quả được quy về mẫu khô kiệt.

Các thành phần chủ yếu trong nhân hạt cà phê xanh như carbohydrate (38,02%), protein (14,96%), lipid (9,09%) và tro khoáng (4,29%) được xác định. Hạt cà phê Robusta trong nghiên cứu này có hàm lượng carbohydrate thấp hơn so với giống Robusta ở Puerta với hàm lượng 60,8% (Sofia Torres-Valenzuela et al., 2020), trong khi hàm lượng protein cao hơn (9,5% trong Robusta ở Puerta), hàm lượng lipid và tro khoáng tương đương nhau. Thành phần hóa học hạt cà phê khác biệt tùy theo giống. Kết quả nghiên cứu của Nogaim et al. (2013) về thành phần hóa học của nhân hạt cà phê Yemen (*Coffea arabica* L.) trên 70 mẫu thu thập từ năm 2010 đến năm 2011 cho thấy hàm lượng các chất dao động lớn như carbohydrate 7,92 - 35,64%, protein thô 7,00 - 16,12%, lipid 2,49 - 13,13% và tro khoáng 3,40 - 6,51%. Sự khác biệt về thành phần hóa học còn phụ thuộc vào điều kiện thổ nhưỡng, khí hậu của vùng trồng, phương thức canh tác, giai đoạn và điều kiện khi thu hoạch cũng như sau thu hoạch (Martín et al., 1998).

3.2. Ảnh hưởng của điều kiện chiết đến hiệu suất trích ly polyphenol từ nhân hạt cà phê xanh

Trong nghiên cứu này, polyphenol từ nhân hạt cà phê xanh được chiết bằng hai phương pháp khác nhau, gồm phương pháp sử dụng dung môi có hỗ trợ siêu âm và phương pháp chiết sử dụng enzyme. Kết quả phân tích hàm lượng polyphenol tổng số của

dịch chiết nhân hạt cà phê xanh bằng phương pháp hỗ trợ siêu âm được trình bày trong Bảng 2. Thí

nhệm được thiết kế với hai yếu tố ảnh hưởng là dung môi và thời gian chiết.

Bảng 2. Hiệu quả chiết polyphenol từ nhân hạt cà phê xanh bằng phương pháp hỗ trợ sóng siêu âm

Thời gian (phút)	Hàm lượng polyphenol tổng số (mg GAE/g)		
	Nước	Ethanol 70%	Methanol 70%
0	41,18 ^h ± 0,72	34,83 ⁱ ± 0,41	30,79 ^j ± 1,09
15	44,29 ^{gh} ± 0,91	47,76 ^{ef} ± 1,65	49,62 ^{de} ± 0,52
30	45,83 ^{fg} ± 0,03	57,82 ^c ± 0,97	51,52 ^d ± 2,14
45	48,51 ^{def} ± 0,94	62,98 ^{ab} ± 1,18	57,88 ^c ± 0,94
60	49,41 ^{de} ± 0,68	65,76 ^a ± 0,05	61,52 ^b ± 1,61

Ghi chú: Các giá trị trung bình có kí tự theo sau khác nhau có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$).

Kết quả cho thấy hàm lượng polyphenol tổng tăng khi kéo dài thời gian chiết xuất từ 15 đến 60 phút. Methanol 70% và ethanol 70% có hiệu quả chiết polyphenol cao hơn nước, đặc biệt sau 30 phút siêu âm. Ethanol 70% là dung môi chiết xuất polyphenol hiệu quả nhất, đạt 65,76 mg GAE/g, cao gấp 1,3 lần khi chiết bằng nước và 1,1 lần so với chiết bằng methanol 70% sau 60 phút. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Christina-Anna et al. (2017), trong đó việc chiết xuất polyphenol từ nhân hạt cà phê Robusta bằng ethanol 80% ở 45°C thu được hàm lượng polyphenol cao nhất là 60,31 mg GAE/g, trong khi đó chiết xuất bằng nước kém hiệu quả hơn với 12,79 mg GAE/g. Nguyên nhân có thể là do nhân hạt cà phê luôn chứa một lượng chất béo nhất định (9,09% trong nguyên liệu khảo sát) nên cản trở quá trình hòa tan của các hợp chất khác trong nước, dẫn đến hiệu suất chiết polyphenol thấp hơn so với sử dụng hỗn hợp nước và ethanol (ethanol hòa

tan tốt chất béo). Các nghiên cứu chiết xuất polyphenol từ nhiều nguyên liệu khác nhau cũng chứng minh hỗn hợp nước và dung môi hữu cơ tối ưu hơn so với nước (Meneses et al., 2013; Wang et al., 2013). Trong nghiên cứu này, việc chiết xuất polyphenol bằng methanol 70% cũng đạt hiệu quả cao hơn nước 1,25 lần.

Các phương pháp chiết xuất bằng dung môi thường kém hiệu quả với một số hợp chất phenolic liên kết chặt chẽ với các thành phần polysaccharide của vách tế bào thực vật trong một số nguyên liệu (Trinh et al., 2018; Barros et al., 2019). Vì vậy, trong nghiên cứu này, polyphenol được chiết xuất từ nhân hạt cà phê xanh với sự hỗ trợ của enzyme. Đây được xem là một phương pháp xanh, thân thiện với môi trường, giúp phá vỡ liên kết phenolic – polysaccharide của vách tế bào và tăng cường hiệu suất chiết (Trinh et al., 2018; Barros et al., 2019).

Bảng 3. Hiệu quả chiết polyphenol từ nhân hạt cà phê xanh bằng phương pháp hỗ trợ enzyme

Thời gian (phút)	Hàm lượng polyphenol tổng số (mg GAE/g)			
	pH 4,8		pH 7,0	
	Viscozyme	Celluclast	Viscozyme	Celluclast
0	39,67 ^g ± 4,25	37,05 ^g ± 0,30	40,65 ^g ± 0,07	40,26 ^g ± 0,30
15	54,53 ^{de} ± 0,27	52,18 ^c ± 0,87	56,29 ^{cd} ± 0,14	51,76 ^c ± 0,09
30	45,80 ^f ± 0,17	46,40 ^f ± 0,14	54,91 ^{de} ± 0,29	56,39 ^{cd} ± 0,17
60	45,70 ^f ± 1,04	45,13 ^f ± 0,95	57,55 ^{bcd} ± 0,03	59,19 ^{bc} ± 1,38
90	45,33 ^f ± 0,20	45,23 ^f ± 1,01	64,93 ^a ± 0,12	66,88 ^a ± 1,54
120	45,38 ^f ± 1,61	44,73 ^f ± 0,82	60,24 ^b ± 0,70	59,44 ^{bc} ± 0,14

Ghi chú: Các giá trị trung bình có kí tự theo sau khác nhau có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$).

Trong nghiên cứu này, hai loại enzyme thương mại được sử dụng là Viscozyme và Celluclast, được sử dụng rộng rãi trong thủy phân polysaccharide của một số nguyên liệu. Kết quả phân tích hàm lượng polyphenol tổng của nhân hạt cà phê xanh bằng phương pháp hỗ trợ enzyme được trình bày trong Bảng 3. Thí nghiệm được thiết kế với ba yếu tố ảnh hưởng chính là loại enzyme (Viscozyme và

Celluclast), điều kiện pH và thời gian chiết. Enzyme thường hoạt động tối ưu trong khoảng pH thích hợp, do đó thí nghiệm được tiến hành ở pH 4,8 là điều kiện tối ưu cho Celluclast và Viscozyme hoạt động. Ở pH 4,8 hàm lượng polyphenol tổng số cao nhất đạt được sau 15 phút chiết với Viscozyme và Celluclast với các giá trị lần lượt là 54,53 và 52,18 mg GAE/g. Hiệu suất chiết polyphenol giảm sau 15

phút và sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở các mốc thời gian còn lại. Polyphenol chính trong nhân hạt cà phê xanh là chlorogenic acid, là ester của caffeic acid và quinic acid. Theo báo cáo trước đây, Viscozyme và Celluclast có khả năng phân cắt liên kết ester của chlorogenic acid (Pinelo et al., 2007; Zheng et al., 2009). Đặc biệt, Viscozyme và Celluclast hoạt động tối ưu trong điều kiện pH 4 – 5 theo khuyến cáo của nhà sản xuất (Novozymes), nên sự phân cắt chlorogenic acid mạnh mẽ ở pH 4,8 dẫn đến suy giảm hàm lượng polyphenol khi kéo dài thời gian quá 15 phút. Ngược lại, trong điều kiện pH trung tính (pH 7,0), polyphenol trong nhân hạt cà phê xanh ổn định hơn, có thể do hoạt tính enzyme bị suy giảm nên tác động đến chlorogenic acid không đáng kể. Hàm lượng polyphenol tổng số gia tăng và đạt tối đa khi kéo dài thời gian chiết đến 90 phút, đạt 64,93 và 66,88 mg GAE/g khi chiết với Viscozyme và Celluclast (pH 7,0). Kết quả này khác biệt không có ý nghĩa so với hàm lượng polyphenol thu nhận bằng phương pháp chiết siêu âm với ethanol 70% trong 60 phút (65,76 mg GAE/g). Hàm lượng polyphenol giảm khi kéo dài thời gian chiết đến 120 phút.

3.3. Ảnh hưởng của điều kiện chiết đến hiệu suất chiết chlorogenic acid từ nhân hạt cà phê xanh

Kết quả được trình bày tại Bảng 4 cho thấy hiệu quả chiết chlorogenic acid phụ thuộc vào loại dung môi và thời gian chiết. Ethanol 70% và methanol 70% có hiệu quả chiết xuất CGA cao hơn so với nước. Hàm lượng chlorogenic acid tăng theo thời gian chiết và đạt giá trị tối đa sau 60 phút. Ethanol 70% là dung môi chiết xuất CGA hiệu quả nhất, đạt 59,56 mg/g sau 60 phút, cao hơn 1,3 lần so với chiết bằng nước và gấp 1,2 lần so với chiết methanol 70%. Hiệu quả chiết CGA ở 45 phút và 60 phút khác biệt không có ý nghĩa thống kê, cho thấy 45 phút là thời gian chiết phù hợp để tối ưu hiệu quả và giảm chi phí. Kết quả của nghiên cứu cũng cho thấy hiệu quả chiết CGA cao hơn so với kết quả của các nghiên cứu trước đây trên đối tượng hạt cà phê xanh Robusta Đắk Lắk với hiệu suất 29,5 mg/g (Mẫn và ctv., 2022) và 35,4 mg/g (Lai et al., 2019). Mặc dù cùng sử dụng hệ dung môi ethanol – nước để chiết xuất CGA nhưng trong nghiên cứu này thì phương pháp chiết có hỗ trợ siêu âm đã được áp dụng trong thời gian 45 phút ngắn hơn phương pháp ngâm dầm (24 giờ) và tiến hành ở nhiệt độ phòng cho thấy tiềm năng ứng dụng ở quy mô công nghiệp.

Bảng 4. Hiệu quả chiết xuất chlorogenic acid từ nhân hạt cà phê xanh bằng phương pháp hỗ trợ siêu âm

Thời gian (phút)	Hàm lượng chlorogenic acid (mg/g)		
	Nước	Ethanol 70%	Methanol 70%
0	39,12 ^h ± 0,52	34,09 ⁱ ± 0,06	22,14 ^j ± 0,68
15	40,99 ^{fg} ± 0,56	45,93 ^e ± 1,59	40,02 ^{gh} ± 0,29
30	42,52 ^f ± 0,68	54,91 ^b ± 0,31	47,90 ^d ± 0,76
45	44,97 ^e ± 0,29	58,69 ^a ± 0,15	50,22 ^c ± 1,05
60	45,29 ^e ± 0,38	59,56 ^a ± 0,33	51,02 ^c ± 0,34

Ghi chú: Các giá trị trung bình có ký tự theo sau khác nhau có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$).

Bảng 5. Hiệu quả chiết xuất chlorogenic acid từ nhân hạt cà phê xanh bằng phương pháp enzyme

Thời gian (phút)	Hàm lượng chlorogenic acid (mg/g)			
	pH 4,8		pH 7,0	
	Viscozyme	Celluclast	Viscozyme	Celluclast
0	34,15 ^{hij} ± 0,80	34,96 ^h ± 0,347	34,64 ^{hi} ± 0,55	36,80 ^{gh} ± 0,15
15	45,19 ^{ab} ± 0,98	43,09 ^{bcd} ± 0,67	42,36 ^{cde} ± 0,39	46,40 ^a ± 1,90
30	29,83 ^{kl} ± 0,28	32,24 ^{ijk} ± 0,58	41,57 ^{def} ± 1,47	44,68 ^{abc} ± 0,89
60	31,24 ^{kl} ± 0,89	30,79 ^{kl} ± 0,93	40,27 ^{ef} ± 0,58	42,18 ^{cde} ± 1,24
90	28,80 ^l ± 0,43	31,73 ^{jk} ± 0,69	39,38 ^{fg} ± 0,69	42,65 ^{bcd} ± 0,53
120	32,04 ^{ijk} ± 1,14	31,46 ^{ikl} ± 0,84	31,42 ^{kl} ± 0,99	40,35 ^{ef} ± 0,44

Ghi chú: Các giá trị trung bình có ký tự theo sau khác nhau có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$).

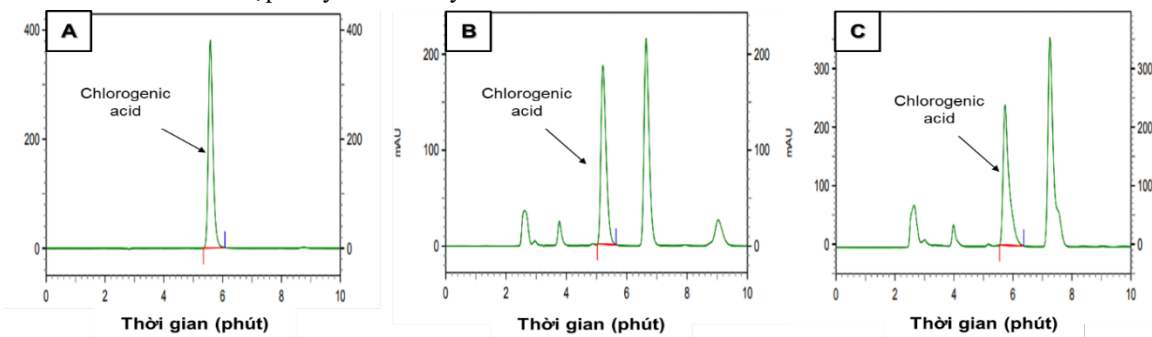
Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Oteef (2022), trong đó tác giả đã khảo sát chiết xuất

CGA bằng phương pháp siêu âm với ba loại dung môi: nước, ethanol 60% và methanol 60% thu được

hàm lượng tương ứng là 2,217; 3,632 và 3,565 g/100 g. Kết quả nghiên cứu cho thấy ethanol 60% và methanol 60% chiết xuất CGA hiệu quả hơn nước. Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu của Jeon et al. (2025) cũng cho thấy CGA hòa tan trong ethanol tốt hơn trong nước, đặc biệt khả năng hòa tan của CGA gia tăng trong hỗn hợp ethanol-nước theo tỷ lệ nhất định, cụ thể khi nồng độ ethanol trong khoảng 55 – 84% (ở 45°C) hoặc 68 – 83% (ở 35°C) thì độ hòa tan của CGA là cao nhất. Kết quả này cũng giải thích hiệu quả chiết xuất CGA bằng ethanol 70% cao hơn nước trong nghiên cứu này.

Kết quả được trình bày tại Bảng 5 cho thấy thời gian chiết ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng CGA thu được. Hàm lượng CGA đạt tối đa sau 15 phút ở tất cả các nghiệm thức, sau đó giảm dần theo thời gian. Hiệu suất chiết chlorogenic acid cao nhất thu được bằng enzyme Celluclast là 46,40 mg/g tại 15 phút ở pH 7, trong khi Viscozyme cho hiệu quả tương đương khi hoạt động ở pH 4,8 (45,19 mg/g). Pimpley and Murthy (2021) đã khảo sát ảnh hưởng của các phương pháp chiết xuất gồm phương pháp siêu âm và siêu âm kết hợp enzyme Viscozyme đến

hàm lượng CGA, kết quả thu được giá trị lần lượt là 41,26 mg/g và 53,03 mg/g. Kết quả cho thấy enzyme Viscozyme có khả năng làm gia tăng hiệu quả chiết CGA. Trong nghiên cứu này, hàm lượng CGA giảm dần khi kéo dài thời gian chiết quá 15 phút. Chlorogenic acid là một ester của caffeic acid và quinic acid, sự phân cắt liên kết ester của CGA bằng enzyme Viscozyme và Celluclast đã được báo cáo trong nhiều nghiên cứu trước đây (Pinelo et al., 2007; Zheng et al., 2009). Kết quả dẫn đến sự suy giảm hàm lượng CGA theo thời gian trong tất cả các nghiệm thức sử dụng enzyme. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy sử dụng enzyme chiết xuất CGA kém hiệu quả hơn so với phương pháp siêu âm với ethanol 70% và methanol 70%. Tuy nhiên, enzyme là phương pháp xanh, thân thiện với môi trường và thời gian chiết xuất CGA rút ngắn đáng kể (15 phút). Đặc biệt, chi phí enzyme thấp hơn nhiều lần (2 kg enzyme/100 kg nguyên liệu) so với dung môi ethanol/methanol (700 L dung môi/100 kg nguyên liệu). Đây là yếu tố quan trọng cần được cân nhắc khi xem xét khả năng ứng dụng ở quy mô công nghiệp.



Hình 1. Sắc ký đồ phân tích chlorogenic acid

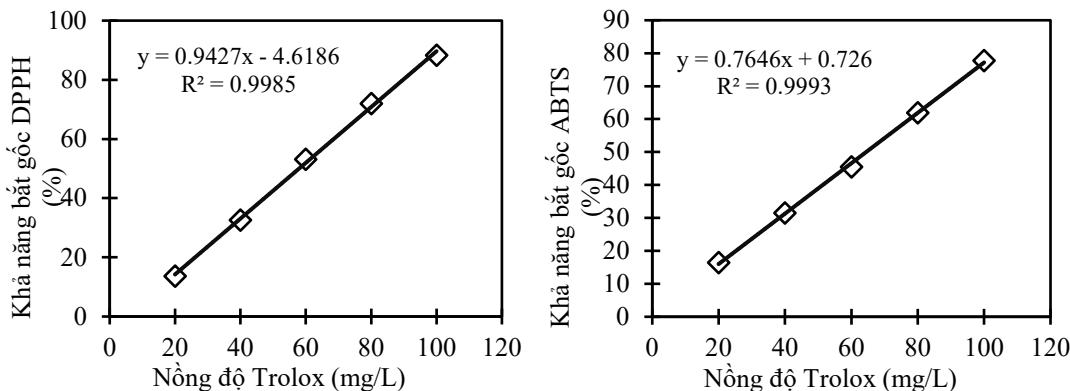
Ghi chú: A) chất chuẩn chlorogenic acid 100 ppm, B) dịch chiết ethanol 70% và C) dịch chiết bằng enzyme Celluclast.

3.4. Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết từ nhân hạt cà phê xanh

Khả năng chống oxy hóa của dịch chiết nhân hạt cà phê xanh được đánh giá bằng phương pháp DPPH và ABTS. Trong thử nghiệm này, Trolox được sử dụng làm chất chuẩn và khả năng chống oxy hóa của dịch chiết nhân cà phê xanh được quy về lượng Trolox tương đương (mg TE/g nguyên liệu khô). Hình 2 cho thấy mối tương quan chặt chẽ giữa nồng độ Trolox và khả năng bắt gốc tự do DPPH và ABTS.

Kết quả được trình bày tại Bảng 6 cho thấy dịch chiết nhân hạt cà phê xanh bằng ethanol 70% có khả năng chống oxy hóa cao hơn dịch chiết bằng enzyme Celluclast trong cả hai thử nghiệm. Nguyên nhân có

thể là do hàm lượng polyphenol tổng thu nhận từ phương pháp ethanol 70% (65,76 mg/g) cao hơn so với phương pháp chiết bằng enzyme Celluclast (51,76 mg/g). Ngoài ra, khả năng chống oxy hóa còn phụ thuộc vào hàm lượng các chất cụ thể trong dịch chiết. Chlorogenic acid là hợp chất phenolic chính trong hạt cà phê và có khả năng chống oxy hóa mạnh mẽ được báo cáo trong nhiều nghiên cứu (Rojas-González et al., 2022; Jeszka-Skowron et al., 2016). Hiệu suất chiết CGA với ethanol 70% là 59,56 mg/g cao hơn phương pháp chiết bằng enzyme là 46,4 mg/g. Đây có thể là nguyên nhân dẫn đến khả năng chống oxy hóa của dịch chiết ethanol 70% cao hơn dịch chiết bằng enzyme.



Hình 2. Khả năng bắt gốc tự do DPPH và ABTS của Trolox

Bảng 6. Khả năng chống oxy hóa của dịch chiết nhân hạt cà phê xanh đánh giá bằng thử nghiệm DPPH và ABTS

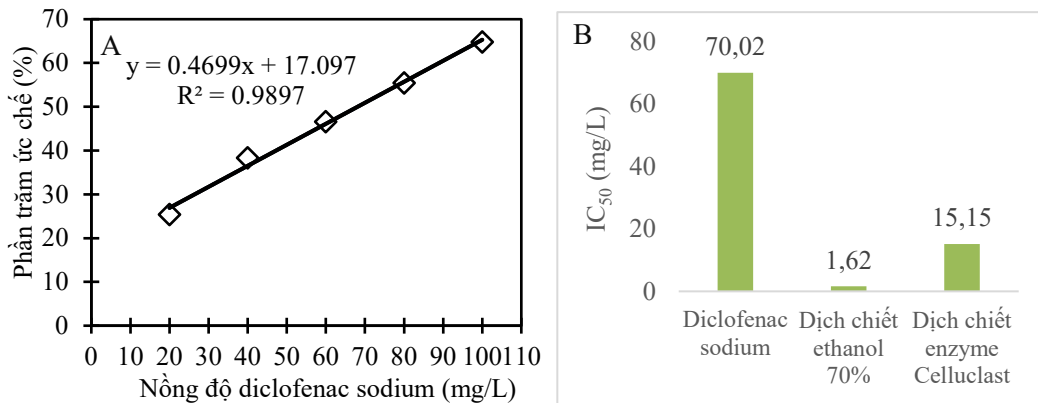
Phương pháp	DPPH (mg TE/g)	ABTS (mg TE/g)
Ethanol 70% (60 phút)	64,09 ± 0,36	154,07 ± 7,57
Celluclast (pH 7, 15 phút)	32,51 ± 3,17	132,84 ± 0,48

Ghi chú: Kết quả thể hiện dưới dạng giá trị trung bình (± SEM) của ba lần lặp lại.

3.5. Khảo sát hoạt tính kháng viêm của dịch chiết từ hạt cà phê xanh

Hoạt tính kháng viêm của dịch chiết nhân cà phê xanh được đánh giá thông qua khả năng ức chế biến tính albumin *in vitro*. Kết quả Hình 3A cho thấy mối tương quan giữa nồng độ chất đối chiếu diclofenac sodium và phần trăm ức chế biến tính albumin bằng phương trình hồi quy tuyến tính: $y = 0,4699x + 17,097$. Từ đó, giá trị IC_{50} của diclofenac sodium được xác định là 70,02 mg/L. Dịch chiết nhân hạt cà phê xanh chứa chủ yếu chlorogenic acid nên giá trị IC_{50} được quy đổi theo hàm lượng chlorogenic acid trong dịch chiết. Kết quả Hình 3B cho thấy dịch chiết ethanol nhân hạt cà phê xanh có khả năng ức chế biến tính albumin mạnh với nồng độ IC_{50} là 1,62 mg/L, cao hơn so với dịch chiết enzyme Celluclast là 15,15 mg/L. Đặc biệt so với chất kháng viêm diclofenac sodium thì dịch chiết nhân hạt cà phê xanh thể hiện khả năng ức chế biến tính albumin vượt trội. Tương tự, cao chiết nước nhân hạt cà phê thu thập ở Ấn Độ (*Coffea arabica*) thể hiện khả năng ức chế biến tính albumin với IC_{50} là 40 µg/mL (mg/L), hoạt tính cao hơn nhiều so với diclofenac sodium với IC_{50} là 625 µg/mL (Chandra et al., 2012). Chlorogenic acid là một chất chống oxy hóa

mạnh mẽ giúp trung hòa các gốc tự do - cũng là tác nhân kích hoạt phản ứng viêm. Ngoài ra, chlorogenic acid còn thể hiện khả năng chống viêm bằng cách điều hòa các quá trình tổng hợp và tiết các chất trung gian gây viêm như TNF- α , nitric oxide, COX-2 và PGE2 (Huang et al., 2023). Nghiên cứu được thực hiện trên đại thực bào RAW264.7 ở chuột cho thấy chlorogenic acid phát huy tác dụng chống viêm thông qua ức chế sản xuất prostaglandin E2 (PGE₂) (Shan et al., 2009). Kết quả một nghiên cứu khác của Affonso et al. (2016) cũng cho thấy việc sử dụng hydrogel chứa chlorogenic acid giúp giảm đáng kể kích thước vùng tổn thương trên da chuột, qua đó đẩy nhanh quá trình lành vết thương trong giai đoạn viêm. Khi so sánh khả năng ức chế biến tính albumin *in vitro* dựa trên giá trị IC_{50} , kết quả cho thấy hầu hết các cao chiết như đồng trùng hạ thảo, nấm linh chi và cây bìm bịp đều thể hiện hoạt tính kháng viêm thấp hơn so với chất đối chiếu diclofenac sodium (Bình và ctv., 2020; Khoảng và ctv., 2020; Phong và ctv., 2020; Tú và ctv., 2024). Như vậy, dịch chiết nhân hạt cà phê xanh giàu chlorogenic có tiềm năng kháng viêm nên được nghiên cứu sâu hơn để ứng dụng trong dược phẩm và mỹ phẩm.



Hình 3. Khả năng ức chế biến tính albumin A. diclofenac sodium; B. IC₅₀ của dịch chiết nhân hạt cà phê xanh và diclofenac sodium

4. KẾT LUẬN

Phương pháp chiết xuất nhân hạt cà phê xanh bằng enzyme Celluclast trong điều kiện pH 7,0 cho hàm lượng polyphenol tổng số cao nhất đạt 66,88 mg GAE/g sau 90 phút, phương pháp chiết bằng ethanol 70% có hiệu suất 65,76 mg GAE/g sau 60 phút. Phương pháp hỗ trợ siêu âm với ethanol 70% thu được hàm lượng chlorogenic acid cao nhất đạt 59,56 mg/g, cao gấp 1,3 lần so với chiết bằng enzyme Celluclast. Hoạt tính chống oxy hóa thể hiện

qua khả năng bắt gốc tự do DPPH và ABTS và hoạt tính kháng viêm thể hiện qua khả năng ức chế biến tính albumin của dịch chiết ethanol cao hơn dịch chiết enzyme. Dịch chiết giàu chlorogenic acid từ nhân hạt cà phê xanh có tiềm năng ứng dụng trong thực phẩm và dược phẩm.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin cảm ơn Công ty TNHH Khoa học và Công nghệ Lab2Life đã tài trợ cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Affonso, R. C. L., Voytena, A. P. L., Fanan, S., Pitz, H., Coelho, D. S., Horstmann, A. L., ... & Maraschin, M. (2016). Phytochemical composition, antioxidant activity, and the effect of the aqueous extract of coffee (*Coffea arabica* L.) bean residual press cake on the skin wound healing. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016(1), 1923754. <https://doi.org/10.1155/2016/1923754>
- Amato, A., Terzo, S., & Mulè, F. (2019). Natural compounds as beneficial antioxidant agents in neurodegenerative disorders: A focus on Alzheimer's disease. *Antioxidants*, 8(12), 608. <https://doi.org/10.3390/antiox8120608>
- Barros, H., Baseggio, A. M., Angolini, C. F. F., Pastore, G. M., Cazarin, C. B. B., & Marostica-Junior, M. R. (2019). Influence of different types of acids and pH in the recovery of bioactive compounds in jaboticaba peel (*Plinia cauliflora*). *Food Research International*, 124, 16-26. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.010>
- Bình, P. T. T., Nghi, L. H., Trinh, H. T. N. P., Đai, N. T. T., & Khánh, Đ. D. (2020). Nghiên cứu hoạt tính kháng viêm trên một số mô hình in vitro của dược liệu Bim bịp *Clinacanthus nutans* (Burm. f.) Lindau, Acanthaceae. *Tạp chí Y Dược học Cần Thơ*, 26, 158–164.
- Chandra, S., Chatterjee, P., Dey, P., & Bhattacharya, S. (2012). Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1), S178-S180. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60154-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60154-3)
- Christina-Anna, K., Nikolaos, G., Kyriakos, G., Alexandros, P., Theodoros, P., & Malamis Asterios, M. (2017). Effect of extraction temperatures and solvent on the antioxidant potential of green arabica and robusta coffee beans. *Annals of the University of Craiova – Biology, Horticulture, Food Products Processing Technology, Environmental Engineering*, 22(58), 371–376.
- Huang, J., Xie, M., He, L., Song, X., & Cao, T. (2023). Chlorogenic acid: a review on its mechanisms of anti-inflammation, disease treatment, and related delivery systems. *Frontiers in pharmacology*, 14, 1218015. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1218015>
- International Coffee Organization. (2023). *Coffee Market Report – December 2023*.

- Jeon, H. J., Lee, B. S., & Park, C. (2025). Extraction of Chlorogenic Acid Using Single and Mixed Solvents. *Molecules*, 30(3), 481. <https://doi.org/10.3390/molecules30030481>
- Jeszka-Skowron, M., Sentkowska, A., Pyrzyńska, K., & De Peña, M. P. (2016). Chlorogenic acids, caffeine content and antioxidant properties of green coffee extracts: influence of green coffee bean preparation. *European Food Research and Technology*, 242(8), 1403-1409. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2643-y>
- Khoàng, L. T., Duyệt, N.T. T., Nguyễn, C. L., Vĩnh H. H. A., Hiền, C. T. T., & Huyền, H. T. T. (2020). Khảo sát yếu tố ảnh hưởng chiết xuất acid chlorogenic và tác dụng giảm triglycerid máu của cao chiết từ hạt cà phê xanh. *Kỷ yếu Hội nghị Công nghệ Sinh học Toàn quốc 2020* (trang 792-798).
- Lai, T. N. H., Nguyen, V. P., Chan, T. H., Dao, T. V. H., & Hoang, H. H. (2019). Optimization of chlorogenic acid extraction from green coffee beans using response surface methodology. *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*, 2(1), 332-342. <https://doi.org/10.31817/vjas.2019.2.1.04>
- Li, L., Su, C., Chen, X., Wang, Q., Jiao, W., Luo, H., Tang, J., Wang, W., Li, S., & Guo, S. (2020). Chlorogenic acids in cardiovascular disease: A review of dietary consumption, pharmacology, and pharmacokinetics. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(24), 6464-6484. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c01554>
- Martin, M. J., Pablos, F., & González, A. G. (1998). Discrimination between Arabica and robusta green coffee varieties according to their chemical composition. *Talanta*, 46(6), 1259-1264. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(97\)00409-8](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(97)00409-8)
- Mãn, P. T. H., Cường, N. K., Phúc, Đ. N., Tâm, C. Q., Lợi, N. H., My, T. L., Thảo, Đ. T., Tâm, N. X., & Tùng, Đ. T. (2022). Nghiên cứu các hợp chất hoạt tính sinh học từ cao chiết cà phê xanh cho ứng dụng dược phẩm và mỹ phẩm, và vật liệu nano có nguồn gốc từ cà phê Robusta Đắk Lắk. *Journal of Analysis in Chemistry, Physics and Biology*, 27(3), 225-231.
- Mehari, B., Chandravanshi, B. S., Redi-Abshiro, M., Combrinck, S., McCrindle, R., & Atlabachew, M. (2021). Polyphenol contents of green coffee beans from different regions of Ethiopia. *International Journal of Food Properties*, 24(1), 17-27. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1858866>
- Meneses, N. G., Martins, S., Teixeira, J. A., & Mussatto, S. I. (2013). Influence of extraction solvents on the recovery of antioxidant phenolic compounds from brewer's spent grains. *Separation and purification technology*, 108, 152-158. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.02.015>
- Nenadis, N., Wang, L. F., Tsimidou, M., & Zhang, H. Y. (2004). Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS•+ assay. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(15), 4669-4674. <https://doi.org/10.1021/jf0400056>
- Nogaim, Q. A., Al-Duais, M., Al-Warafi, A., Al-Erianec, H., & Al-Sayadi, M. (2013). The chemical composition of Yemeni green coffee. *Journal of Food Chemistry and Nutrition*, 1(2), 42-48.
- Oboh, G., Agunloye, O. M., Akinyemi, A. J., Ademiluyi, A. O., & Adefegha, S. A. (2013). Comparative study on the inhibitory effect of caffeic and chlorogenic acids on key enzymes linked to Alzheimer's disease and some prooxidant induced oxidative stress in rats' brain-in vitro. *Neurochemical research*, 38, 413-419. <https://doi.org/10.1007/s11064-012-0935-6>
- Oteef, M. D. (2022). Comparison of different extraction techniques and conditions for optimizing an HPLC-DAD method for the routine determination of the content of chlorogenic acids in green coffee beans. *Separations*, 9(12), 396. <https://doi.org/10.3390/separations9120396>
- Phong, L. Q., Khoa, N. H. Đ., Quyên, Đ. T., Hoàng, N. T., Hiệp, Đ. M. & Sương, N. K. (2020). Đánh giá hoạt tính kháng viêm, kháng khuẩn và ức chế enzyme α -glucosidase in vitro của nấm *Ophiocordyceps sinensis* giàu selen. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 62(8), 19-24.
- Pimpley, V. A., & Murthy, P. S. (2021). Influence of green extraction techniques on green coffee: Nutraceutical compositions, antioxidant potential and in vitro bio-accessibility of phenolics. *Food Bioscience*, 43, 101284. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101284>
- Pinelo, M., Tress, A., Pedersen, M., Arnous, A., & Meyer, A. (2007). Effect of cellulases, solvent type and particle size distribution on the extraction of chlorogenic acid and other phenols from spent coffee grounds. *American Journal of Food Technology*, 7, 641-651. <https://doi.org/10.3923/ajft.2007.641.651>
- Prasedya, E. S., Frediansyah, A., Martyasari, N. W. R., Ilhami, B. K., Abidin, A. S., Padmi, H., Fahrurrozi, Juansilfero, A. B., Widyastuti, S., & Sunarwidhi, A. L. (2021). Effect of particle size on phytochemical composition and antioxidant properties of Sargassum cristaefolium ethanol extract. *Scientific reports*, 11(1), 17876. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95769-y>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant

- activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
[https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rojas-González, A., Figueroa-Hernández, C. Y., González-Rios, O., Suárez-Quiroz, M. L., González-Amaro, R. M., Hernández-Estrada, Z. J., & Rayas-Duarte, P. (2022). Coffee chlorogenic acids incorporation for bioactivity enhancement of foods: A review. *Molecules*, 27(11), 3400.
<https://doi.org/10.3390/molecules27113400>
- Shan, J., Fu, J., Zhao, Z., Kong, X., Huang, H., Luo, L., & Yin, Z. (2009). Chlorogenic acid inhibits lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 expression in RAW264. 7 cells through suppressing NF-κB and JNK/AP-1 activation. *International immunopharmacology*, 9(9), 1042-1048.
<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2009.04.011>
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., and Crocker, D. L. A. P. (2008). Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. *Laboratory analytical procedure*, 1617(1), 1 – 16. 56.
- Sofía Torres-Valenzuela, L., Andrea Serna-Jiménez, J., & Martínez, K. (2020). Coffee By-Products: Nowadays and Perspectives. In D. T. Castanheira, *Coffee—Production and Research* (pp. 1–18). IntechOpen.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.89508>
- Tú, N. T. C., Yén, H. K., Trần, Q. B., & Thảo, T. P. (2024). Đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa và kháng viêm của cao chiết nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) trồng trên cơ chất mùn cưa và bã mía. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 60(Số chuyên đề: Khoa học tự nhiên – Hóa Sinh), 216–222.
- Tuấn, T. Q., Oanh, L. T., Hiệp, Đ. M., & Nghiệp, N. Đ. (2014). Chuẩn hóa mô hình sàng lọc in vitro các hợp chất kháng viêm dựa trên khả năng ức chế biến tính albumin bò do nhiệt. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 52(5B), 532–538.
- Trinh, L. T. P., Choi, Y., & Bae, H. -J. (2018). Production of phenolic compounds and biosugars from flower resources via several extraction processes. *Industrial Crops and Products*, 125, 261-268.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.008>
- Valentin, J. L., & Watling, R. J. (2013). Provenance establishment of coffee using solution ICP-MS and ICP-AES. *Food chemistry*, 141(1), 98-104.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.101>
- Wang, J., Zhao, Y. M., Tian, Y. T., Yan, C. L., & Guo, C. Y. (2013). Ultrasound-assisted extraction of total phenolic compounds from *Inula helenium*. *The Scientific World Journal*, 2013(1), 157527.
<https://doi.org/10.1155/2013/157527>
- Zhang, Y., Shen, Y., Zhu, Y., & Xu, Z. (2015). Assessment of the correlations between reducing power, scavenging DPPH activity and anti-lipid-oxidation capability of phenolic antioxidants. *LWT-Food Science and Technology*, 63(1), 569-574.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.047>
- Zheng, H. Z., Hwang, I. W., & Chung, S. K. (2009). Enhancing polyphenol extraction from unripe apples by carbohydrate-hydrolyzing enzymes. *Journal of Zhejiang University Science B*, 10, 912-919. 63.
<https://doi.org/10.1631/jzus.B0920186>
- Zuo, J., Tang, W., & Xu, Y. (2015). Anti-hepatitis B virus activity of chlorogenic acid and its related compounds. In R. P. Victor, *Coffee in health and disease prevention* (pp. 607-613). Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00068-1>