

KHẢO SÁT HÀM LƯỢNG PHENOLIC TỔNG VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH CHỐNG OXI HÓA CỦA DỊCH CHIẾT TỪ BÃ CÀ PHÊ ĐƯỢC TRỒNG TẠI TỈNH ĐẮK LẮK

Huỳnh Văn Chung* và Đinh Thị Thanh Vy

Khoa Dược, Trường Đại học Buon Ma Thuot, Việt Nam

*Tác giả liên hệ: Huỳnh Văn Chung, Email: hvchung@bmtu.edu.vn

Lịch sử bài báo

Ngày nhận: 21/01/2021; Ngày nhận chỉnh sửa: 01/3/2021; Ngày duyệt đăng: 23/4/2021

Tóm tắt

Việc chiết xuất các hợp chất phenolic chống oxy hóa từ bã cà phê (SCG) đã qua sử dụng đã được nghiên cứu. Các thí nghiệm chiết được thực hiện theo phương pháp rắn - lỏng thông thường, sử dụng ethanol làm dung môi tại các nồng độ khác nhau (0 - 90%, v/v), tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi (1:10 - 1:40 g/ml), thời gian chiết (10 - 80 phút) và nhiệt độ (30 - 70°C), pH (2-8). Hiệu quả của quá trình chiết xuất được đánh giá thông qua việc xác định hàm lượng phenolic tổng. Hoạt tính kháng oxy hóa cũng được đánh giá thông qua khả năng ức chế H_2O_2 . Nhìn chung hiệu suất chiết tốt nhất khi sử dụng dung môi ethanol có nồng độ 50%; tỉ lệ nguyên liệu/dung môi (NL/DM) thích hợp là 1:40 (g/ml); nhiệt độ 60°C, thời gian chiết là 45 phút, pH = 5. Hàm lượng phenolic là 20,825 mg acid gallic/g nguyên liệu. Hoạt tính kháng oxy hóa tốt với IC_{50} là 313,447 μ g/ml. Những phát hiện này được quan tâm vì các hợp chất phenolic chống oxy hóa có một vai trò nổi bật trong lĩnh vực y tế và các ứng dụng rộng rãi trong thực phẩm và dược phẩm.

Từ khóa: Bã cà phê, chống oxy hóa, phenolic.

TOTAL PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY ASSESSED USING COFFEE GROUNDS AT DAKLAK

Huynh Van Chung* and Dinh Thi Thanh Vy

Faculty of Pharmacy, Buon Ma Thuot University, Vietnam

*Corresponding author: Huynh Van Chung, Email: hvchung@bmtu.edu.vn

Article history

Received: 21/01/2021; Received in revised form: 01/3/2021; Accepted: 23/4/2021

Abstract

Extraction of antioxidant phenolic compounds from used coffee grounds (SCG) has been studied. Extraction experiments were performed by conventional solid-liquid method, using ethanol as solvents at different concentrations (0 - 90%, v/v), material/solvent ratio (1:10 - 1:40 g/ml), extraction time (10-80 minutes) and temperature (30 - 70°C), pH (2 - 8). The efficiency of the extraction was assessed through the determination of the total phenolic content. The antioxidant activity was also assessed through its H_2O_2 inhibitory ability. In general, the extraction efficiency is best when using a 50% ethanol solvent; A suitable ratio of material/solvent (NL/DM) is 1:40 (g/ml); temperature 60°C, extraction time is 45 minutes, pH = 5. Phenolic content is 20,825 mg of gallic acid/g of raw material. Good antioxidant activity with IC_{50} is 313,447 μ g/ml. These findings are of interest because antioxidant phenolic compounds have a prominent role in the medical field and their wide applications in food and pharmaceuticals.

Keywords: Antioxidant, coffee grounds, phenolic.

DOI: <https://doi.org/10.52714/dthu.11.2.2022.935>

Trích dẫn: Huỳnh, V. C., & Đinh, T. T. V. (2022). Khảo sát hàm lượng phenolic tổng và đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết từ bã cà phê được trồng tại tỉnh Đắk Lắk. *Tạp chí Khoa học Đại học Đồng Tháp*, 11(2), 33-38. <https://doi.org/10.52714/dthu.11.2.2022.935>.

1. Mở đầu

Dư lượng của sản phẩm nông nghiệp thường chứa các chất có giá trị kinh tế cao. Những hợp chất có thể được chiết để phục vụ trong các ngành công nghiệp thực phẩm, hóa chất, mỹ phẩm và dược phẩm. Chẳng hạn, bã cà phê (SCG) là chất thải chính của ngành công nghiệp cà phê, thu được trong quá trình chế biến bột cà phê với nước nóng hoặc hơi nước để tạo thức uống cà phê. Trên toàn thế giới lượng bã cà phê thải ra ước tính khoảng 6.000.000 tấn/năm (Mussatto, 2015). Tại Việt Nam, mỗi năm cả nước thải ra khoảng 382.500 tấn bã cà phê từ các doanh nghiệp sản xuất cà phê sữa hòa tan. Ngoài ra số lượng cửa hàng cà phê tại Việt Nam rất nhiều, đây chính là nguồn thải ra một lượng rất lớn bã cà phê mỗi ngày. Đắk Lắk là một trong những tỉnh thành có sản lượng cà phê lớn của cả nước. Trên thế giới đã có rất nhiều nghiên cứu tìm thấy trong bã cà phê có chứa nhiều hợp chất có giá trị kinh tế cao như polysacarit, protein, hợp chất phenolic... Tuy nhiên bã cà phê lại chưa được tận dụng để làm nguyên liệu thô cho các ngành công nghiệp thực phẩm, hóa chất, mỹ phẩm, dược phẩm. Hiện nay, việc tạo ra sản phẩm có hoạt tính chống oxy hóa có nguồn gốc tự nhiên thay thế cho các chất oxy hóa tổng hợp còn nhiều hạn chế. Bã cà phê là nguồn chứa hợp chất phenolic với nhiều hoạt tính có lợi cho sức khỏe. Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng tiềm năng của phenolic có liên quan đến hoạt động chống dị ứng, kháng khuẩn chống viêm, chống oxy hóa, chống thoái hóa mãn tính các bệnh như ung thư, bệnh tim mạch, thoái hóa thần kinh, đái tháo đường (Martin & cs., 2011; Bravo & cs., 2013; Mussatto, 2015; de Melo Pereira & cs., 2020). Ngoài ra, phenolic thể được sử dụng làm nguyên liệu trong phát triển thực phẩm chức năng hoặc làm chất bảo quản tự nhiên trong thực phẩm (Rodríguez-Meizoso & cs., 2010; Ballesteros & cs., 2014). Như vậy, bã cà phê là nguồn nguyên liệu quan trọng với hàm lượng lớn các chất hữu cơ như acid béo, polyphenol. Vì vậy việc đầu tư nghiên cứu để tạo ra sản phẩm mới có hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn và kháng mốc vào các ngành thực phẩm, dược phẩm, dược liệu đang là hướng nghiên cứu mới giúp mở ra hướng đi mới cho các ngành công nghiệp này. Việc khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết phenolic trong bã cà phê là một việc vô cùng quan trọng, nó giúp giải quyết được nguồn thải bã cà phê hoang phí đồng thời cũng cung cấp cho các nhà nghiên cứu một

cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo như xác định hàm lượng phenolic cũng như xác định hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn của phenolic trong dịch chiết của bã cà phê trồng tại tỉnh Đắk Lắk để có thể tạo ra một số sản phẩm có lợi cho con người.

2. Đối tượng nghiên cứu

Tiến hành thu mua hạt cà phê vối được trồng tại một số huyện (Krông Năng, Cư M'Gar, Ea H'leo, Krông Buk, Krông Păk) có sản lượng cà phê lớn ở Đắk Lắk, chúng tôi tiến hành xay và chế biến thức uống cà phê. Bã cà phê được thu lại và sấy ở 60°C đến khi độ ẩm $\leq 10\%$.

3. Phương pháp nghiên cứu

3.1. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết

Một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết được khảo sát như nồng độ dung môi ethanol (0 - 90%); thời gian chiết (10 - 80 phút); tỉ lệ nguyên liệu/dung môi (1/10 - 1/60 g/ml); nhiệt độ (30 - 70°C); pH (2 - 8).

3.2. Xác định hàm lượng phenolic tổng

Áp dụng phương pháp xác định hàm lượng polyphenol tổng số theo TCVN 9745-1-2013 (ISO 14502-1:2005) chúng tôi hiệu chỉnh phương pháp cho phù hợp với nghiên cứu như sau. Cân 0,2 g bã cà phê được cho vào ống nghiệm ly tâm, thực hiện chiết trong dung môi ethanol với các điều kiện về nồng độ, thời gian, tỉ lệ NL/DM, nhiệt độ, pH đã được khảo sát. Lấy ống nghiệm đem đi ly tâm 10 phút để thu phần dịch trích bên trên. Hút 1,5 ml dịch trích vào bình định mức 50 ml và thêm nước lên tới vạch, lắc đều thu được dịch trích loãng. Hút 1,0 ml dịch trích pha loãng vào ống nghiệm có nắp, thêm 2,0 ml dung dịch thuốc thử Folin Ciocalteu 10% và lắc đều, tiếp tục thêm 2,0 ml dung dịch Na_2CO_3 7,5%, lắc đều và để yên 45 phút sau đó đo mật độ quang trong cuvet có chiều dài đường quang 10 mm so với nước trên máy đo quang phổ đặt ở bước sóng 765 nm. Mỗi thí nghiệm lặp lại 4 lần và lấy kết quả trung bình. Hàm lượng polyphenol tổng số được tính dựa vào đường chuẩn của gallic acid trong khoảng tuyến tính theo công thức:

$$P = \frac{C \times V \times d}{m \times 1000}$$

Trong đó:

C: nồng độ acid gallic ($\mu\text{g/ml}$).

V: thể tích dịch trích (ml).

d: hệ số pha loãng dịch trích.

m: khối lượng khô kiệt bã cà phê (g).

1000: hệ số quy đổi từ μg sang mg.

3.3. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa

Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết được thực hiện theo mô tả của Rahate & cs. (2013). Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết được thực hiện như sau: Đệm phosphate pH 7,4; cao chiết ở các nồng độ 50, 100, 150, 200 và 250 $\mu\text{g/ml}$; dung dịch H_2O_2 4 mM và dung dịch acid ascorbic nồng độ 50; 100; 150; 200 và 250 $\mu\text{g/ml}$. Lần lượt cho vào ống nghiệm 2 mL dung dịch cao chiết (nồng độ 50 - 250 $\mu\text{g/ml}$) và 1 mL dung dịch H_2O_2 4 mM. Sau 10 phút, tiến hành xác định độ hấp thụ bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 230 nm. Mẫu trắng được chuẩn bị chỉ chứa mẫu pha loãng (nồng độ 50 - 250 $\mu\text{g/ml}$) không có H_2O_2 và cũng được xác định độ hấp thụ ở bước sóng 230 nm. Thực hiện thí nghiệm tương tự đối với đối chứng acid ascorbic (nồng độ 50 - 250 $\mu\text{g/ml}$). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

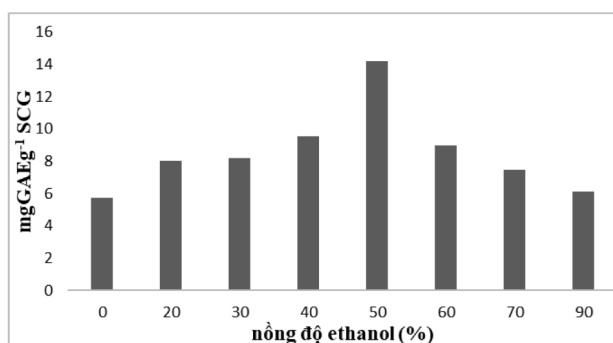
$$\text{Phần trăm ức chế } \text{H}_2\text{O}_2 (\%) = \frac{A_0 - A}{A_0} \cdot 100.$$

Trong đó: A_0 : độ hấp thụ của mẫu trắng; A: độ hấp thụ của mẫu có H_2O_2 . Xây dựng đường chuẩn với phần trăm ức chế H_2O_2 thu được ở các nồng độ khác nhau. Từ đó, tính giá trị IC_{50} (nồng độ cao chiết hay acid ascorbic mà tại đó ức chế 50% H_2O_2) dựa vào phương trình đường chuẩn ($y = ax + b$) với $y = 50\%$ để tìm x (x là IC_{50} cần tìm).

4. Kết quả và thảo luận

4.1. Một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết

4.1.1. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi



Hình 1. Biểu đồ ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến hàm lượng phenolic

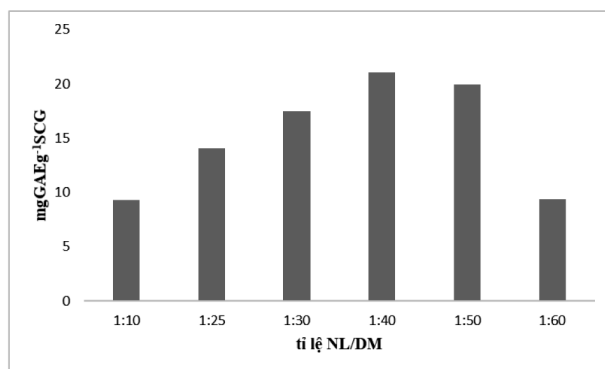
ĐKTN: tỉ lệ NL/DM là 1:25, thời gian trích ly 45 phút, nhiệt độ 60°C.

Để tiến hành khảo sát ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến quá trình chiết phenolic từ bã cà phê chúng tôi tiến hành cố định điều kiện thí nghiệm ban đầu và thay đổi nồng độ dung môi ethanol từ 0 - 90% (v/v). Kết quả được thể hiện ở Hình 1.

Từ kết quả trên ta thấy khi tăng nồng độ ethanol từ 0 đến 50% thì hàm lượng phenolic tăng từ 5,71-14,17 mg acid gallic trong 1 g bã cà phê ($\text{mgGAE} \cdot \text{g}^{-1} \text{SCG}$), tuy nhiên khi nồng độ ethanol tăng từ 60 đến 90% thì hàm lượng phenolic lại giảm từ 8,99-6,09 $\text{mgGAE} \cdot \text{g}^{-1} \text{SCG}$. Điều này có thể được giải thích như sau: Khi tăng nồng độ ethanol từ 0-50% (v/v) thì độ phân cực càng dần thích hợp với các thành phần có trong bã cà phê nên hiệu suất chiết tăng dần. Tuy nhiên khi tiếp tục tăng từ 60-90% (v/v) thì độ phân cực đã dần không còn phù hợp với các thành phần có trong cà phê nữa nên hiệu suất giảm dần. Do vậy ethanol 50% được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo.

4.1.2. Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/ dung môi (NL/DM)

Để tiến hành nghiên cứu sự ảnh hưởng của tỉ lệ NL/DM đến hiệu quả của quá trình chiết phenolic chúng tôi tiến hành khảo sát tỉ lệ NL/DM thay đổi từ 1:10 đến 1:60 (g/ml). Kết quả được thể hiện ở Hình 2.



Hình 2. Biểu đồ ảnh hưởng tỉ lệ NL/DM đến hàm lượng phenolic

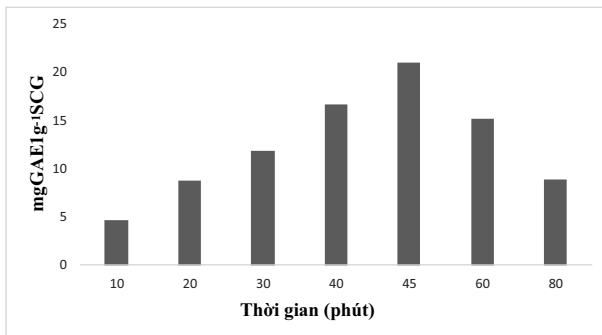
ĐKTN: nồng độ ethanol 50%, thời gian trích ly 45 phút, nhiệt độ 60°C.

Khi tăng tỉ lệ NL/DM từ 1:10-1:40 (g/ml) lượng dung môi càng nhiều thì nồng độ phenolic cần chiết trên bề mặt pha rắn càng thấp, tạo chênh lệch nồng độ giữa bên trong và bề mặt bã cà phê càng cao nên làm tăng sự khuếch tán của phenolic từ bên trong ra môi trường vì vậy hiệu suất chiết tăng. Tuy nhiên, nếu tiếp tục tăng tỉ lệ NL/DM lên 1:50 và 1:60 thì sẽ

làm loãng dịch chiết, lượng oxy hòa tan vào đó càng lớn, sự có mặt oxy không chỉ làm giảm hàm lượng mà còn làm suy yếu hoạt tính chống oxy hóa của phenolic nên hiệu suất chiết sẽ giảm (Nguyễn & cs., 2018). Do vậy tỉ lệ NL/DM là 1:40 (g/ml) được lựa chọn để thực hiện các khảo sát tiếp theo.

4.1.3. Ảnh hưởng của thời gian

Thời gian là yếu tố không những ảnh hưởng đến hiệu suất mà còn ảnh hưởng đến chi phí và đặc biệt là chất lượng của dịch chiết. Do vậy để chọn lựa được thời gian thích hợp cho quá trình chiết phenolic, thông số thời gian được tiến hành khảo sát từ 10 đến 60 phút. Kết quả thu được của quá trình khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết được trình bày ở Hình 3.



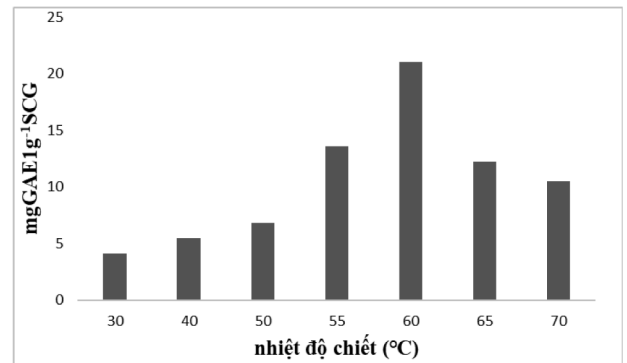
Hình 3. Biểu đồ ảnh hưởng thời gian chiết đến hàm lượng phenolic

DKTN: nồng độ ethanol 50% tỉ lệ NL/DM là 1:40, nhiệt độ 60°C.

Khi tăng thời gian từ 10 phút đến 45 phút thì hàm lượng phenolic tăng từ 4,68 mgGAE1g⁻¹SCG đến 21,03 mgGAE1g⁻¹SCG. Tuy nhiên khi kéo dài thời gian lên 60 phút và 80 phút thì hàm lượng phenolic giảm dần về 8,85 mgGAE1g⁻¹SCG. Điều này có thể được giải thích khi thời gian chiết tăng thì hàm lượng các chất trong nguyên liệu khuếch tán từ tế bào ra ngoài càng nhiều nên khi tăng thời gian từ 10-45 (phút) thì hàm lượng phenolic chiết được càng nhiều (Cracolice & Peter, 2009). Khi kéo dài thời gian chiết 60 phút và 80 phút các hợp chất phenolic bên trong và ngoài nguyên liệu gần đạt trạng thái cân bằng nên dịch chiết thu được có hàm lượng phenolic tăng chậm dần về sau. Ngoài ra, các hợp chất phenolic có thể bị oxy hóa bởi các yếu tố bất lợi từ môi trường chiết (nhiệt độ, ánh sáng, oxy) dẫn đến giảm hiệu suất chiết (Nacz & Shahidi, 2004). Như vậy thời gian 45 phút được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo.

4.1.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Nhiệt độ là một trong những thông số quan trọng ảnh hưởng đến quá trình chiết các hợp chất phenolic từ nguyên liệu thực vật. Do vậy để chọn lựa được nhiệt độ thích hợp cho quá trình chiết phenolic, nhiệt độ được tiến hành khảo sát từ 30-70°C. Kết quả thu được của quá trình khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ chiết được trình bày ở Hình 4.



Hình 4. Biểu đồ ảnh hưởng của nhiệt độ chiết đến hàm lượng phenolic

DKTN: nồng độ ethanol 50% tỉ lệ NL/DM là 1:40, thời gian trích ly 45 phút.

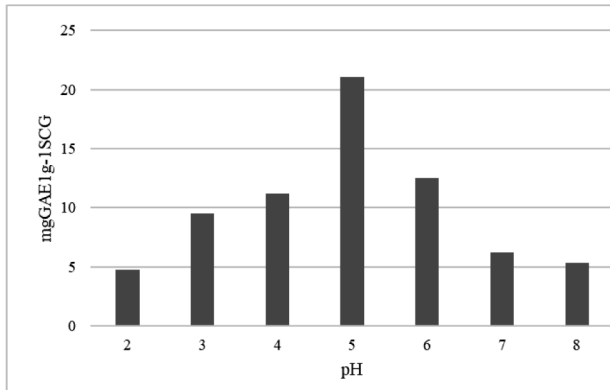
Khi nhiệt độ thấp làm quá trình chuyển khối diễn ra chậm dẫn đến hàm lượng phenolic chiết được ít. Khi tăng nhiệt độ chiết 30-60°C sẽ làm tăng khả năng hòa tan và khuếch tán của các hợp chất phenolic, làm giảm độ nhớt của dung môi, cũng như tăng quá trình chuyển khối và sự thấm ướt của nguyên liệu chiết, qua đó sẽ làm tăng hiệu quả chiết các hợp chất phenolic (Alfarsi & Lee, 2008). Tuy nhiên khi tăng nhiệt độ lên 65°C và 70°C thì lượng dung môi bị bay hơi nhiều, đồng thời có thể một phần phenolic đã bị oxy hóa và làm giảm hiệu suất chiết phenolic (Nacz & Shahidi, 2004). Như vậy chúng tôi lựa chọn nhiệt độ chiết là 60°C để thực hiện cho khảo sát tiếp theo.

4.1.5. Ảnh hưởng của pH

pH cũng là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến quá trình trích ly phenolic từ bã cà phê. Do vậy để lựa chọn pH thích hợp cho quá trình trích ly phenolic chúng tôi tiến hành khảo sát pH trích ly từ 2-8. Kết quả thu được của quá trình khảo sát ảnh hưởng của pH được trình bày ở Hình 5

Từ kết quả trên ta thấy khi tăng pH từ 2 đến 5 thì hàm lượng phenolic tăng lên từ 4,78-21,03

mgGAE1g⁻¹SCG tuy nhiên khi pH tăng từ 6 đến 8 thì hàm lượng phenolic giảm từ 12,48 - 5,32 mgGAE1g⁻¹SCG.



Hình 5. Biểu đồ ảnh hưởng của pH t đến hàm lượng phenolic

ĐKTN: nồng độ ethanol 50% tỉ lệ NL/DM là 1:40, thời gian trích ly 45 phút, nhiệt độ 60°C

Điều này được giải thích như sau: Từ kết quả ta thấy khi tăng pH từ 2-5 thì hàm lượng phenolic tăng, điều này chứng tỏ lượng lớn phenolic đã được trích ly bởi môi trường acid. pH thấp làm yếu đi cấu trúc thành tế bào từ đó phenolic dễ dàng được trích ly hơn. Khi tăng pH từ 6-8 thì môi trường trích ly chuyển sang hơi kiềm làm một lượng phenolic đã bị oxy hóa nên hàm lượng phenolic thu được thấp dần (Ruenroengklin & cs., 2008). Dựa vào kết quả ở trên pH= 5 được lựa chọn là điều kiện thích hợp để trích ly phenolic.

4.2. Hàm lượng phenolic tổng

Bảng 1. Hàm lượng phenolic tổng trong dịch chiết bã cà phê tại một số huyện của tỉnh Đắk Lắk

STT	Huyện	Hàm lượng phenolic tổng (mg acid gallic/g nguyên liệu)
1	Krông Năng	20,759 ± 0,743
2	Cư M'Gar	20,825 ± 0,987
3	Ea H'leo	20,699 ± 1,023
4	Krông Buk	20,707 ± 1,088
5	Krông Păk	21,134 ± 1,100

Để đánh giá hàm lượng phenolic tổng của bã cà phê được trồng tại tỉnh Đắk Lắk chúng tôi tiến hành lấy mẫu ở các huyện có sản lượng cà phê lớn của các

tỉnh như Krông Năng, Cư M'Gar, Ea H'leo, Krông Buk, Krông Păk. Mỗi huyện lấy 15 mẫu, tiến hành xay và chế biến thức uống cà phê, bã cà phê được thu lại và chiết với các điều kiện như nồng độ ethanol 50%, tỉ lệ nguyên liệu/ dung môi 1:40 (g/ml); thời gian chiết 45 phút, pH =5. Kết quả xác định hàm lượng phenolic tổng được trình bày ở Bảng 1

Kết quả cho thấy hàm lượng phenolic tổng trong bã cà phê được trồng tại một số huyện khác nhau của tỉnh Đắk Lắk có hàm lượng giống nhau ở mức ý nghĩa 5%. Đây chính là một trong những thuận lợi cho việc sử dụng bã cà phê làm nguyên liệu cho việc tạo ra các sản phẩm có lợi cho sức khỏe con người mà không phải sàng lọc nguồn gốc ban đầu.

4.3. Hoạt tính kháng oxy hóa

Để đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa từ dịch chiết của bã cà phê được trồng tại tỉnh Đắk Lắk chúng tôi tiến hành lấy mẫu ở các huyện có sản lượng cà phê lớn của tỉnh như Krông Năng, Cư M'Gar, Ea H'leo, Krông Buk, Krông Păk. Kết quả thu được ở Bảng 2.

Bảng 2. Hoạt tính kháng oxy hóa của dịch chiết được thể hiện qua giá trị IC₅₀

STT	Huyện	IC ₅₀ (µg/ml)
1	Krông năng	314,143 ± 7,003
2	Cư M'Gar	312,468 ± 6,324
3	Ea H'leo	313,235 ± 8,105
4	Krông Buk	314,350 ± 4,723
5	Krông Păk	313.040 ± 5,857
6	Acid ascorbic	268,353 ± 2,853

Qua bảng kết quả trên cho thấy hoạt tính kháng oxy hóa của dịch chiết bã cà phê của các huyện trên tốt và không khác nhau ở mức ý nghĩa 5%.

5. Kết luận

Kết quả trong nghiên cứu này cho thấy để chiết phenolic đạt hiệu quả cao nhất chúng ta cần dùng ethanol có nồng độ 50%, tỉ lệ nguyên liệu/dung môi (NL/DM) thích hợp là 1:40 (g/ml); nhiệt độ 60°C, thời gian chiết là 45 phút, pH = 5. Bã cà phê được thu hái tại các huyện khác nhau đều có hàm lượng phenolic cũng như hoạt tính kháng oxy hóa là như nhau. Đây chính là cơ sở dữ liệu để mở ra hướng nghiên cứu ứng dụng để đa dạng hóa sản phẩm từ bã cà phê.

Tài liệu tham khảo

- Alfarsi, M. A., & Lee, C. Y. (2008). Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chemistry*, 108(3), 977-985.
- Ballesteros, L. F., Teixeira, J. A., & Mussatto, S. I. (2014). Selection of the solvent and extraction conditions for maximum recovery of antioxidant phenolic compounds from coffee silverskin. *Food Bioprocess Technol*, 7, 1322-1332.
- Bravo, J., Monente, C., Juárez, I., De Peña, M. P., & Cid, C. (2013). Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee. *Food Research International*, 50, 610-616.
- Cracolice, M., & Peters, E. (2009). *Basics of introductory chemistry: an active learning approach*, CA: Brooks/Cole
- de Melo Pereira, G. V., de Carvalho Neto, D. P., Júnior, A. I. M., do Prado, F. G., Pagnoncelli, M. G. B., Karp, S. G., & Soccol, C. R. (2020). Chemical composition and health properties of coffee and coffee by-products. *Advances in Food and Nutrition Research*, 91, 65-96.
- Martins, S., Mussatto, S. I., Martínez-Avila, G., Montanez-Saenz, J., Aguilar, C. N., & Teixeira, J.A. (2011). *Bioactive phenolic compounds: production and extraction by solid-state fermentation*. *Biotechnol*, 29, 365-373.
- Mussatto, S. I. (2015). Generating biomedical polyphenolic compounds from spent coffee or silverskin. *Coffee in Health and Disease Prevention*, 93-106.
- Naczki, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054, 95-111.
- Nguyễn, T. T. T., Bùi, A. T., Trần, P. H., Hoàng, T. N. N. (2018). Nghiên cứu điều kiện chiết xuất phenolic từ bã cà phê. *Hội thảo Khoa học Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp thực phẩm thành phố Hồ Chí Minh*, 243-250.
- Rahate, K. P., Padma, R., Parkavi, N. G., & Renjith, V. (2013). Quantitative estimation of tannins, phenols and antioxidant activity of methanolic extract of *Imperata cylindrica*. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 4(1), pp. 73-77.
- Rodríguez-Meizoso, I., Jaime, L., Santoyo, S., Señoráns, F. J., & Cifuentes, A. (2010). Subcritical water extraction and characterization of bioactive compounds from *Haematococcus pluvialis* microalga. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 51(2), 456-463.
- Ruenroengklin, N., Zhong, J., Duan, X., Yang, B., Li, J., & Jiang, Y. (2008). Effects of various temperatures and pH values on the extraction yield of phenolics from litchi fruit pericarp tissue and the antioxidant activity of the extracted anthocyanins. *International Journal of Molecular Sciences*, 9(7), 1333-1341.
- TCVN 9745-1:2013, ISO 14502-1:2005 *Chè - Xác định các chất đặc trưng của chè xanh và chè đen - Phần 1: Hàm lượng polyphenol tổng số trong chè - Phương pháp đo màu dùng thuốc thử Folin - Ciocalteu.*