

NGHIÊN CỨU HOẠT CHẤT SINH HỌC TỪ CHẤT CHIẾT CÀ PHÊ XANH CHO NGÀNH DUỘC MỸ PHẨM, VẬT LIỆU NANO TỪ CÀ PHÊ ROBUSTA ĐẮK LẮK

Đến toà soạn 01-08-2022

Phạm Thị Hồng Minh, Ngô Kim Chi, Đặng Ngọc Phượng, Chu Quang Truyền
Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Nguyễn Hoài Linh, Trần Lệ Minh, Đinh Thị Tú, Nguyễn Xuân Tùng

Đại học Bách Khoa Hà Nội

Đỗ Thuỷ Tiên*

Khoa Hóa học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2

Email: dothuytien@hpu2.edu.vn

SUMMARY

STUDY ON POTENTIAL USE OF GREEN COFFEE BEAN EXTRACT, SYNTHETIC NANO SILVER – GREEN COFFEE BEAN EXTRACT, BIOCHAR FROM DAK LAK ROBUSTA COFFEE WASTE

Vietnam is a major coffee exporter in the world with an estimated annual output of more than one million tons. From the production of green coffee, a large amount of defective green coffee beans are discarded. The collection of these defective green coffee beans for medicinal purposes has made full use of natural resources, bringing great value in both economy and environment. The study was carried out with the following methods: Recovering of green coffee extract by impregnating in ethanol; Testing for antimicrobial activity; Synthetizing nano silver - green coffee AgNPs-GCB. The results showed that the high amount of extract obtained from discarded coffee beans reached 28.5-29.1%. Green coffee extract (GCB) has chlorogenic acid (CGA) reaching 6.7%, caffeine 2.7% and could be used in pharmaceutical chemicals and cosmetics. Green coffee extract, in addition to the known traditional medicinal effects, is also a biologically active substance, reducing sugar, a stable emulsifying support system in the production of nano-biomaterials to create nano-AgNPs-GCB for creating added value from waste for coffee production.

Keywords: *Green coffee bean, coffee production waste, chlorogenic acid, caffeine, ferulic, biochar, nano silver - chlorogenic acid, AgNPs-GCB*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cà phê là đồ uống tiêu thụ nhiều và phổ biến tại Việt Nam và trên thế giới. Bất chấp sự lây lan của đại dịch COVID-19 và hạn chế di chuyển nhưng mức tiêu thụ cà phê khá ổn định và sẽ phục hồi nhanh sau đại dịch. Tại Việt Nam, Đắk Lắk là trung tâm sản xuất cà phê lớn nhất cả nước với 204.808 ha diện tích đất canh tác, sản lượng đạt trung bình 2,54 tấn/ha [1].

Sản xuất cà phê bao gồm các công đoạn chuẩn bị giống, làm đất, trồng và chăm sóc cây, thu hoạch, chế biến (khô, ướt, nửa khô, chế biến cà phê hoà tan) và đóng bao thành phẩm. Quá trình sản xuất cà phê tạo ra lượng phế thải lớn (vỏ, hạt cà phê lỗi, vỏ lụa, bã cà phê) [2,3], riêng hạt cà phê lỗi có thể chiếm tới 50% tổng lượng cà phê được tiêu thụ [4], gây ra một số vấn đề về việc xử lý thích hợp. Tái chế phế thải

cà phê sẵn có và giá thành rẻ từ sản xuất và kỹ thuật tái chế đã được nghiên cứu [5-8], tạo cơ sở cho định giá phụ phẩm, phát triển các sản phẩm mới có giá trị gia tăng mùa vụ, chuyển đổi mô hình tuyến tính sang mô hình kinh tế tuần hoàn. Filho và cộng sự (2000) đã đánh giá hiệu quả của việc bổ sung vỏ cà phê vào thức ăn chăn nuôi như một chất thay thế cho hỗn hợp hạt ngô, vỏ trấu và lõi ngô [9]. Nghiên cứu của Fan và cộng sự (2006) đã đánh giá ảnh hưởng của caffeine và tannin đối với nấm *Pleurotus*, để xác định tính khả thi của việc sử dụng vỏ cà phê làm chất nền cho sự phát triển của nấm [10]. Oliveira và cộng sự (2008a), đã đánh giá tính khả thi của việc sản xuất dầu diesel sinh học bằng cách sử dụng dầu chiết xuất từ hạt cà phê bị lỗi [4]. Tuy nhiên, không có nhiều nghiên cứu sử dụng phụ phẩm cà phê ứng dụng cho ngành dược phẩm.

Hàm lượng tổng polyphenol, axit chlorogenic (CGA), caffeine, lignin chiếm lượng lớn trong chất chiết từ hạt cà phê xanh và phế thải [2,3]. Do vậy, nghiên cứu hoạt tính sinh học chất chiết cà phê xanh từ hạt cà phê và phế thải làm nguyên liệu cho dược phẩm và vật liệu nano sinh học như nano AgNP-GCB khi sử dụng chất chiết cà phê được tiến hành.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu: Hạt cà phê bóc thu vỏ hạt, loại các hạt thái, vỏ lụa, bã. Mẫu cân, sấy ở 45°C đến khối lượng không đổi, xác định hàm ẩm. Nghiên cứu nhỏ kích thước < 2 mm làm nguyên liệu phân tích.

Phương pháp thu cao chiết cà phê xanh: Ngâm 100 gam bột nguyên liệu trong cồn ethanol và nước cồn isopropanol các tỷ lệ cồn khác nhau, tỷ lệ lỏng/rắn = 4, thời gian ngâm 1 ngày. Lọc, thu dịch chiết cà phê đưa vào bình cô chân không loại dung môi ở bể ổn nhiệt ở 55°C, để lạnh 4°C, cất loại dung môi, cân bình cô quay trước và sau cô cất để xác định lượng chất chiết cà phê xanh.

Tổng hợp AgNO₃ và nano bạc – cà phê xanh AgNPs-GCB [7,8]: Cân cốc 100 ml, cân bạc phản ứng, đặt cốc phản ứng lên bếp, cho dư HNO₃ 68% phản ứng hoàn toàn trong tủ hút,

thu kết tủa AgNO₃. Pha dung dịch A: cân 1,0022 gam chất chiết CPX hoà vào 50 ml nước cất thu dịch chiết A. Pha dung dịch B: pha lần lượt các dung dịch có nồng độ AgNO₃ là 200,400,800 và 1200 mg/L, tương ứng các mẫu B1, B2, B3 và B4, làm nóng dung dịch đến 55°C thu dung dịch B. Nhỏ giọt từ từ 1 ml dung dịch A vào dung dịch B. Tiến hành khảo sát theo thời gian, khối lượng AgNO₃, cố định tốc độ khuấy 300 rpm, nhiệt độ 55°C. Sau phản ứng rửa và ly tâm thu hạt AgNPs-CPX theo thời gian phản ứng, thu hạt nano bạc được rửa với nước 4 lần và ly tâm tốc độ 5000 vòng/phút trong 15 phút/lần. So sánh với tổng hợp nano bạc với polysaccharide pullulan (1-5%).

Phương pháp thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định: đánh giá hoạt tính kháng sinh của các mẫu được thực hiện trên phiên vi lượng 96 giếng (96-well microtiter plate) theo phương pháp hiện đại của Vander Bergher và Vlietlinck và McKane & Kandel [8,9] với các vi sinh vật kiểm định.

Thiết bị: Quang phổ hấp thụ UV vis Shimadzu1800, D8-Advance 5005, S-4800 FESEM-Hitachi. Phổ hồng ngoại IR Nicolet iS10 FTIR Spectrometer (Thermo Fisher Scientific USA, HPLC- Agilent 1260, Elemental analyzer model Flash EA 1112 CHNS-O/MAS200. Máy Micromeritics TriStar II 3020 version 3.02. Các phương pháp hoá học phân tích theo TCVN:9294:2012, TCVN:8557:2010, TCVN:8559:2010, TCVN:8560:2010 và các tiêu chuẩn cơ sở.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần hoá học của phụ phẩm sản xuất cà phê

Phân tích nguyên tố chính của vỏ cà phê đưa ra ở Bảng 1 với tỷ lệ C chiếm 44,52%, H chiếm 6,03%, O chiếm 48,38%, N là 0,78%, P là 0,09%, S là 0,29%, chất hữu cơ và lignin chiếm tỉ lệ cao 29,6%, độ tro và thành phần phospho P thấp.

So với các kết quả công bố về thành phần vỏ cà phê (% chất khô) với lượng protein đạt 8-11%, lipid 0,5-3%, khoáng 3-7%, tổng carbohydrate 58-85%, cellulose: 43%,

hemicellulose: 7%, lignin 9%, caffein 1%, tanin 5% (tổng đường khử 14%, C: 40%, H 6%, O : 50%, Tro 1,5%) [5] thì kết quả nghiên cứu của chúng tôi về thành phần nguyên tố vỏ hạt cà phê Robusta Đắk Lắk không chênh lệch nhiều. Tuy vậy, lượng chất có hoạt tính như caffein và chlorogenic axit, polyphenol, lignin trong vỏ/hạt cà phê Robusta Đắk Lắk cao hơn (Bảng 1, Bảng 2). Thành phần carbon hydrat thấp hơn, thành phần lipit thấp, thành phần lignin cao hơn so với công bố của Lenka Blinova, 2017 [6], trong đó các chất có hoạt tính sinh học có tỷ lệ khác nhau trong phế thải cà phê (Bảng 2).

Bảng 1. Thành phần chính và thành phần các nguyên tố của vỏ cà phê khô

Thành phần	% chất khô	Thành phần	% chất khô	Thành phần	% chất khô
Chất chiết	47,35	Độ ẩm	10,20	Chất hữu cơ	44,6
Lignin	29,55	Chất bay hơi	79,86	N	1,12
Hemixelulo	15,32	Sắt Fe	2,26	P	0,09
Tro	7,78	Tro	7,78	K	1,96
Tổng	100	Tổng	100	Chất khác	52,32

Bảng 2. Thành phần hóa học của phụ phẩm cà phê Robusta

Chỉ tiêu (% chất khô)	GCB	Hạt thải	Vỏ	Vỏ lụa	Bã cà phê
Cellulose		63	43	17,8	8,6
Protein		11,5	8	18,6	13,6
Lipit		2	0,5	2,2	0
Polyphenols	1,92	1,45	1,21	1	1,11
Tổng đường khử		14,4	58	6,65	8,5
Lignin		17,5	9	1	0,08
Chlorogenic acid	2,95	2,61	2,57	2,38	2,27
Caffeine	1,74	1,58	1,2	0,04	0,04

3.2. Nghiên cứu sử dụng dung môi cồn thu chất chiết và phế xanh và xác định chất có hoạt tính sinh học

Chất chiết cà phê xanh GCB thu nhận được cao hơn trong hạt thải, vỏ hạt, vỏ lụa và bã cà phê qua chế biến (Bảng 2). Nồng độ cồn chiết, nhiệt độ ảnh hưởng đến hiệu suất chiết và thành phần các chất. Cồn ethanol 5% ở nhiệt độ 55⁰C cho hiệu quả kinh tế thu cao chiết (28,5%), gần bằng chiết GCB sử dụng dùng cồn isopropanol 60⁰ (đạt 29,1%) và cồn ethanol 70⁰ (28,9%) (Bảng 3).

Bảng 3. Hàm lượng CGA và tổng polyphenol sử dụng cồn chiết khác nhau

	Tỉ lệ %	CGA, % chất khô
isopropanol:nước	80:20	20,89
	70:30	24,16
	60:40	29,1
Cồn ethanol: nước	5:95 (nhiệt độ 55 ⁰ C)	28,5
	70:30	28,9
	90:10	27,1

Bảng 4 cho thấy kết quả phân tích thành phần các chất có hoạt tính chính của chiết GCB cho thấy cà phê Robusta Đắk Lắk, thành phần chất chính cao nhất là chlorogenic axit đạt 6,7%, caffein đạt 2,7%, caffeic axit 0,06%, Ferulic 0,03%. Qua đó thấy ứng dụng cao chiết cà phê xanh hay hoạt chất sinh học chính của GCB là axit chlorogenic axit. Chlorogenic axit là chất chống oxy hoá, kháng khuẩn tốt [3, 5], chất hỗ trợ chuyển hoá các chất trong tiêu hoá, hạn chế sinh mỡ và hình thành đường huyết sử dụng dụng truyền thống trong dược phẩm. Bên cạnh đó caffein cũng là chất chống OXH. Caffein ứng dụng làm chất xua đuổi côn trùng sâu hại với dịch phun chỉ chứa 1-2% caffein [12]. Phát sinh chất thải từ các công đoạn chế biến cà phê cho thấy có 66% khối lượng vỏ hạt tươi do 3,2-4,25kg hạt cà phê thu hoạch /1-1,4kg hạt cà phê xanh là cà phê nhân chưa rang xay. Có 1-2% hạt cà phê thải loại không đưa vào rang xay [1,13], vỏ lụa, chất thải rang xay khác.

Feasibility of ethanol production from coffee husks

B. M. Gouvea ÆC. Torres ÆA. S. Franca Æ

L. S. Oliveira Æ E. S. Oliveir

Feasibility of ethanol production from coffee husks

B. M. Gouvea ÆC. Torres ÆA. S. Franca Æ
L. S. Oliveira Æ E. S. Oliveira

*Bảng 4. Thành phần cao chiết hạt cà phê xanh
thải loại*

	Thông số	Giá trị, % tỉ lệ mẫu
1	Chlorogenic axit	6,7
2	Caffein	2,7
3	Caferic axit	0,06
4	Ferulic axit	0,03
5	Coumaric axit	0
6	Chất khác	90,51

*Nguồn: Kết quả của đề tài mã số
NCVCC07/22-23*

Phần lớn lượng chlorogenic axit (CGA) mất đi khi rang cà phê (trên 50%), Chlorogenic axit trong cao chiết Robusta Đắk Lắk chiếm 6,7% là nguồn chất chống oxy hóa có chủ đích. Hấp thụ CGA trong dạ dày, chuyển thành axit caffeic, axit quinic, chuyển hoá thành glucuronide, sulphate làm giảm bệnh liên quan đến glucose trong máu. CGA giúp chuyển hoá đường cho bệnh nhân tiểu đường, mỡ máu cao. Cao chiết cà phê xanh được sử dụng cho bệnh tiểu đường typ 2 béo phì, bệnh Alzheimer, đột quỵ và chức năng nội mô/ tăng huyết áp, không tác dụng xấu, tác dụng phụ của axit chlorogenic [2,3]

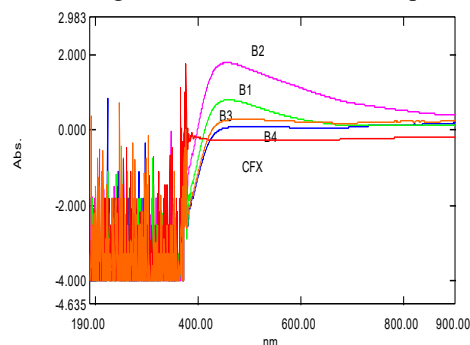
Đặc biệt, có nghiên cứu thăm dò sản phẩm chất kháng khuẩn, diệt vi rút nano với GCB dùng đường khử cao của CGA trong cà phê xanh tạo nano bạc có tính kháng khuẩn, kháng virus an toàn, hiệu quả cao và được nghiên cứu của chúng tôi khẳng định [14].

3.3. Kết quả tổng hợp nano bạc – chất chiết cà phê xanh AgNPs-GCB

3.3.1. Đặc tính cấu trúc của AgNPs-GCB

Hạt nano AgNPs-GCB thu nhận từ tổng hợp nano bạc -chất chiết cà phê xanh GCB với đặc trưng quang phổ hấp thụ UV-vis với nồng độ AgNO₃ từ 200, 400, 800, 1200 mg/l (mẫu B1-B4) đưa ở Hình 1. Kết quả trên Hình 1 cho thấy dung dịch nano bạc có màu vàng nâu do phân tử bạc có mặt trong dung dịch. Màu tăng lên do cộng hưởng plasmon bề mặt bao gồm các dao động tập trung của các điện tử dẫn điện gây ra bởi các tương tác của chúng với các

trường điện và từ tính tạo ra sự hấp phụ của ánh sáng ở bước sóng thích hợp là 427 nm và màu vàng nâu của dung dịch chiết cà phê-AgNO₃ là chỉ dẫn cho thấy sự tạo thành các phân tử nano. Độ hấp thụ quang (Abs) khác nhau khi nồng độ bạc nitorat bị khử tăng thành các hạt nano do có chất khử chính là axit chlorogenic của cà phê xanh (GCB) có tác dụng khử Ag⁺ về Ag⁰ theo Mengmeng Wang và cs 2017 [7]. Dung dịch 400 mg/l AgNO₃ có Abs cao nhất. Hạt nano bạc AgNP-GCB có tác dụng khử tốt, kinh tế, thân thiện môi trường hơn là tổng hợp hạt nano bạc từ chlorogenic acid tinh chất [8,15]. Mẫu B2 với nồng độ 400mg/l AgNO₃ là mẫu có sự tham gia khử của các chất khử là axit chlorogenic (khử Ag⁺ - Ag⁰ cao nhất). Mẫu B2 chọn để đo kích thước hạt và thử nghiệm hoạt tính sinh học tiếp theo.



*Hình 1. Phổ UV-vis nano AgNP-GCB cà phê
xanh (mẫu B1, B2, B3, B4 với 200, 400, 600,
1200 mg/l AgNO₃)*

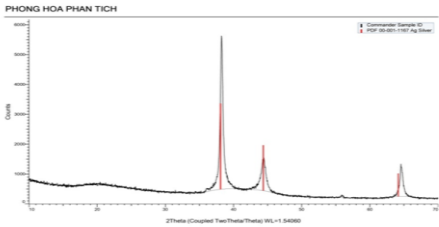
3.3.2. Đặc trưng kích thước hạt nano AgNPs-GCB trên công cụ XRD và SEM

Kết quả trên Hình 2 cho thấy cấu trúc tinh thể của nano AgNPs-GCB chất chiết cà phê xanh tổng hợp được khẳng định trên kết quả nhiễu xạ tia X. Bản chất tinh thể nano AgNPs-GCB từ tinh thể bạc trên phân tích nhiễu xạ tia X có với góc 2-theta từ 10 đến 70⁰ của AgNPs 38.17⁰, 44.33⁰ và 64.49⁰ đặc trưng cho tinh thể Ag. Thu nhận AgNO₃ từ bạc tinh khiết và HNO₃ và tổng hợp nano AgNPs-GCB quan sát trên phổ XRD tương đồng với các vạch chuẩn JCPDS card number 87-0718; 04-0783 [14,15]. Từ kết quả XRD, ước tính kích thước tinh thể trung bình của các hạt nano AgNPs-GCB sử dụng công thức Debye-Scherrer's $n = K\lambda/\beta\cos$

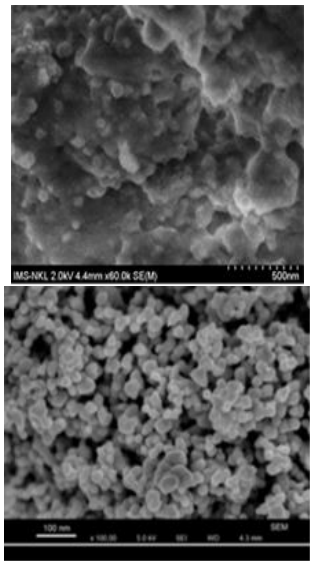
θ với n là kích thước tinh thể. K là hệ số Sherrers (hệ số hình dạng 0,94) đối với các tinh thể hình cầu có đối xứng hình khối, λ là bước sóng nhiễu xạ tia X (1.54 Å đối với các mẫu bột), θ là góc Bragg ($2\theta = 38.17^\circ$) và β là độ rộng bán phổ của nhiễu xạ tia X là 1.70° . Kích thước hạt nano AgNPs theo Debye-Scherrer's là 51,9 nm.

$$t = \frac{k \cdot \lambda}{\beta \cos \theta} = \frac{0.94 \cdot 1.54056}{0.029655555 \cdot \cos 0.332927222} = 51,9 \text{ nm}$$

Các kết quả nghiên cứu này tương tự phổ XRD của AgNPs của Coseri và cộng sự 2015 [16]. Tín hiệu ở 2-theta do các tinh thể bạc bị khử do hợp chất khử hữu cơ có mặt trong chất chiết cà phê xanh (GCB) tham gia tổng hợp nano AgNPs-GCB. Khẳng định kích thước nano AgNPs-GCB bằng kính hiển vi điện tử quét SEM đưa ở Hình 3. Các hạt nano AgNPs-GCB là các hạt cầu tròn cỡ 50 nm so sánh với hạt nano AgNPs và polysaccharide pullulan như chất nhũ hoá, chất mang [15].



Hình 2. Hình ảnh XRD của nano AgNPs-GCB



Hình 3. Ảnh SEM của hạt nano AgNPs-GCB (a) và ảnh SEM của mẫu AgNPs-Pu (b) [13]

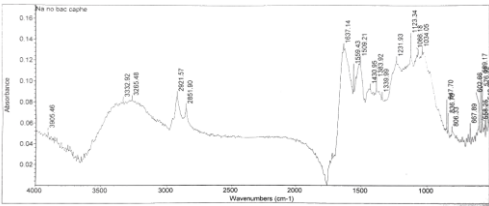
3.3.3. Đặc trưng phổ FTIR của nano AgNPs-GCB

Phổ FTIR của nano AgNPs-GCB (Hình 4,5) cho thấy các nhóm chức chất chiết GCB khi so sánh với phổ chuẩn tương đồng về định tính. Vùng tín hiệu mạnh từ 2800 đến 3500 cm^{-1} và 2924-2922 cm^{-1} và 2852 cm^{-1} giống tín hiệu thu được trên mẫu cà phê rang Arabica và Robusta theo các nghiên cứu đã công bố [17-19], đặc biệt có sự trùng khớp các tín hiệu của nhóm axit chlorogenic, caffein, nhóm este, carbonyl C-O của triglyceride, axit quinic và axit ferulic. Nano AgNO_3 -GCB có tính chất kháng khuẩn của nano bạc [14-16, 20] và có tác dụng hoạt tính sinh học từ các chất chiết cà phê xanh [2,3] sử dụng trong nhiều lĩnh vực khác, và đặc biệt để khử khuẩn, xua đuổi diệt sâu bệnh an toàn. Thử nghiệm hoạt tính sinh học và kháng khuẩn của cao chiết cà phê xanh và nano AgNP -GCB đưa ra ở Bảng 5.

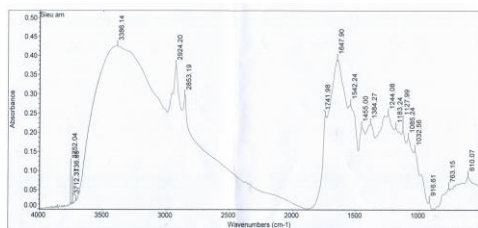
Bảng 5. Kết quả thử hoạt tính sinh học của nanoAgNP-GCB.

Nồng độ đầu của mẫu (µg/mL)	Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC, µg/mL)							
	Vi khuẩn Gr(-)			Vi khuẩn Gr(+)		Nấm sợi		Nấm men
	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>S.aureus</i>	<i>A.niger</i>	<i>F.oxysporum</i>	<i>S.cerevisiae</i>	<i>C.albicans</i>
400	(-)	100	100	100	50	(-)	400	(-)

Nguồn: Kết quả của đề tài mã số NCVCC07/22-23
 Kết quả trong Bảng 5 cho thấy Nano AgNP-GCB có hoạt tính kháng 5 vi sinh vật kiểm định *P.Aeruginosa*, *B.subtilis*, *S. Aureus*, *A. niger*, *S.cerevisiae*.



Hình 4. Phổ hồng ngoại FTIR của chất chiết cà phê xanh GCB



Hình 5. Phổ hồng ngoại nano AgNP- GCB điều kiện siêu âm

4. KẾT LUẬN

Chất có hoạt tính sinh học từ cao chiết cà phê đạt 28 % chứa các chất có hoạt tính sinh học quý là axit chlorogenic đạt 6,7%, caffein (2,75%), axit ferulic, axit quinic, axit caffeic (0,03-0,06%), lignin (19%) để ứng dụng trong các ngành dược mỹ phẩm và sản phẩm bảo vệ sức khoẻ bên cạnh giá trị truyền thống về đồ uống của cà phê Đắk Lắk. Hơn nữa, đây cũng là nguồn liệu để phát triển chất kháng khuẩn hiệu quả, thân thiện môi trường ở dạng nano như nano bạc - chất chiết cà phê AgNO₃-GCB có hoạt tính kháng khuẩn, nấm phát triển các sản phẩm bảo vệ sức khoẻ và hoá nông dược, kháng 5 vi sinh vật kiểm định *P.Aeruginosa*, *B.subtillis*, *S. Aureus*, *A. niger*, *S.cerevisiae*. Tiếp cận kinh tế tuần hoàn trên cơ sở sử dụng giá trị gia tăng của phụ phẩm trong sản xuất cà phê sẽ tăng cường các biện pháp hoá học xanh sử dụng vật liệu thân môi trường trong công nông nghiệp trong bối cảnh cách mạng 4.0 về thông tin, chia sẻ dữ liệu và nhân rộng.

Lời cảm ơn: Bài báo được hình thành trên cơ sở kết quả của đề tài NCVCC07/22-23 của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam và đề tài KHCN “Nghiên cứu mức độ phát thải và các biện pháp

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ngô Kim Chi, Đặng Ngọc Phượng, Nguyễn Thị Hằng, Chu Quang Truyền, Ngô Trọng Cương, Phí Hoàng Thuý Quỳnh. *Phát thải khí nhà kính trong sản xuất cà phê Đắk Lắk*. Tạp chí Môi trường. Chuyên đề II, 8/2019. Tr 65-73.
2. M.Madhava Naidu G. Sulochanamma S.R. Sampathu P.Srinivas, *Studies of extraction and antioxidant potential of green coffee*, Food Chemistry, 2008, Volume 107, Issue 1, Pages 377-384.

3. Atsushi Suzuki, Daiji Kagawwa, Ryuji Ochiai, Ichiro Tokimitsu, and Ikuo Saito, *Green coffee bean extract and its metabolites have a hypotensive effect spontaneously hypertensive rats*, Hypertens Res, 2002, Vol. 25, No. 1.
4. Oliveira, L.S., Franca, A.S., Camargos, R.R.S. and Ferraz, *Coffee oil as a potential feedstock for biodiesel production*, Bioresource Technology, 2008a, Volume 99, Pages 3244-3250.
5. Maráisa Gonçalves, Mário C. Guerreiro, Luiz C. A. Oliveira, Cecília Solar, Marcelo Nazarro, Karim Sapag, *Micro Mesoporous Activated Carbon from Coffee Husk as Biomass Waste for Environmental Applications*, Waste and Biomass Valorization, 2013, Volume 4, Pages 395–400.
6. Lenka Blinova, Maroš Siritiák, Alica Bartosova, Maroš Soldan, *Review: Utilisation of waste from coffee production*, 10.1515/rput-2017-0011 2017, Volume 25, Number 40.
7. Mengmeng Wang, Wenjing Zhang, Xúeong Zheng and Peizhi Zhu. *Antibacterial and catalytic activities of biosynthesized silver nanoparticles prepared by using an aqueous extract of green coffee bean as a reducing agent*, RSC Adv., 2017, 7, 12144–12149.
8. G. Navarra, M. Moschetti, V. Guarrasi, M. R. Mangione, V. Militello, and M. Leone Simultaneous, *Determination of caffeine and chlorogenic acid in green coffee by UV/Vis spectrophotometry*, Journal of Chemistry Volume 2017, <https://doi.org/10.1155/2017/6435086>.
9. Filho, E.R., Paiva, P.C.A., Barcelos, A.F., Rezende, C.A.P., Cardoso, R.M. and Banys, V.L., *The effect of coffee hulls on the performance of holstein- zebu steers during growing period*, Ciência e Agrotecnologia, 2000, Volume 24, Pages 225-232.
10. Fan, L., Soccol, A.T., Pandey, A., Vandenberghe, L.P.S., Soccol, C.R., *Effect of caffeine and tannins on cultivation and fructification of Pleurotus on coffee husks*, Brazilian Journal of Microbiology, 2006, Volume 37, Pages 420-424.

11. Vanden Bergher, D.A., and Vlietinck, *Screening methods for Antibacterial and Ativiral Agent from Higher Plants*, Methods in Plant biochemistry. Academic Press., USA, V. 6, 1991.
12. Mckane, L. & Kandel J., Microbiology, McGraw-Hill, INC., 1996.
13. Robert G. Hollingsworth. Pest Control: *Caffeine as a repellent for slugs and snails*. Nature · June 2002 DOI: 10.1038/417915a.
14. Ngô Kim Chi, *Nghiên cứu mức độ phát thải và các biện pháp hạn chế phát thải khí nhà kính trong sản xuất cà phê tại tỉnh Đắk Lắk*, Báo cáo tổng kết đề tài khoa học công nghệ cấp Tỉnh, 2021.
14. Vivek Dhand, L.Soumya, S.Bharadwaj, Shilpa Chakra, Depika Bhatt, B.Sreedhar, *Green Synthesis of Silver nanoparticles using Coffea Arabica seed extract and antibacterial activity*, Materials Science &Engineering C (2015), doi: 10.1016/j.msec.2015.08.018.
15. Muhammad Jamshed Khan, Suriya Kumari, Kamyar Shameli, Jinap Selamat 1 and Awis Qurni Sazili, *Green Synthesis and Characterization of Pullulan Mediated Silver Nanoparticles through Ultraviolet Irradiation*, Materials (Basel). 2019 Jul 26;12(15). doi: 10.3390/ma12152382.
16. Coseri, S.; Spatareanu, A.; Sacarescu, L.; Rimbuc, C.; Suteu, D.; Spirk, S.; Harabagiu, V. *Green synthesis of the silver nanoparticles mediated by pullulan and 6-carboxypullulan*. Carbohydr. Polym. **2015**, 116, 9–17.
17. Ana Paula Craig, Adriana S. Franca, Leandro S. Oliveir, *Evaluation of the potential of FTIR and chemometrics for separation between defective and non-defective coffees*, Food Chemistry 132 (2012) 1368-1374.
18. Wang, J., Jun, S., Bittenbender, H. C., Gautz, L., & Li, Q. X., *Fourier transform infrared spectroscopy for Kona coffee authentication*. Journal of Food Science, 2009, 74, C385–C391.
19. Ribeiro, J. S., Salva, T. J., & Ferreira, M. M., *Chemometric studies for quality control of processed Brazilian coffees using DRIFTS*. Journal of Food Quality, 2010, 33, 212–227.
20. Kanmani, P.; Lim, S.T. *Synthesis and characterization of pullulan-mediated silver nanoparticles and its antimicrobial activities*. Carbohydr. Polym. **2013**, 97, 421–428.

Liên hệ: Đỗ Thủy Tiên

Khoa Hóa học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2

Số 32 Nguyễn Văn Linh, Xuân Hòa, Phúc Yên, Vĩnh Phúc

Email: dothuytien@hpu2.edu.vn

Điện thoại: 0966 568 995