

NGHIÊN CỨU CHIẾT XUẤT VÀ PHÂN TÍCH CAO GIÀU ACID CHLOROGENIC TỪ HẠT CÀ PHÊ XANH VÀ PHỤ PHẨM CÀ PHÊ

Đến tòa soạn 28-01-2024

Lê Ngọc Hùng^{1,2}, Đỗ Ngọc Thúy², Nguyễn Đức Anh^{2,*}

1. Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCN Việt Nam

2. Trung tâm Nghiên cứu và Chuyển giao Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCN Việt Nam

* Email: ngoc10hung@yahoo.com

SUMMARY

STUDYING THE PRODUCTION AND ANALYSIS OF CHLOROGENIC ACIDS-RICH EXTRACTS FROM GREEN COFFEE BEANS AND COFFEE BY-PRODUCTS

Extraction and purification of 10kg/lot scaled-processes to manufacture the chlorogenic acids-rich extracts (CGAE) higher than 50% from green coffee beans, coffee leaves and husks were built for herbal material use. For the materials and CGAE products, the HPLC-DAD technique was used to quantify the total chlorogenic acids (CGAs). Quantitative analysis showed that the CGAs content of the green coffee beans, coffee leaves, coffee husk were correspondingly in the range of 7.03 - 11.21%, 0.54 - 0.82%, 1.53 - 1.85% and that of all the CGAEs higher than 50%.

Keywords: Green coffee bean, coffee by-products, extraction and purification of 10kg/lot scaled-processes, chlorogenic acids, quantitative.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trên thế giới, cà phê là đồ uống thông dụng nhưng nhiều thực phẩm bảo vệ sức khỏe đã được nghiên cứu phát triển từ các chất có hoạt tính sinh học được chiết từ nó. Một nhóm hoạt chất điển hình được chiết từ hạt cà phê xanh (CFX) cũng như phụ phẩm trong trồng và chế biến (lá, vỏ thịt quả, vỏ trấu, vỏ lụa, hoa, bã pha cà phê) là CGAs gồm các đồng phân mono-CGA (3-/4-/5-CQA); mono-feruloylquinic acid (3-/4-/5-FQA); di-caffeoylquinic acid (3,4-/3,5-/4,5-diCQA) với hoạt tính kháng oxy hóa, kháng viêm, kháng ung thư, hạ huyết áp, giảm cân [1-2]. Trên thế giới, công nghệ chiết và làm giàu CGAs với hàm lượng 40-50% từ CFX đã được ứng dụng do cao có hoạt tính tốt và giá thành phù hợp; phổ biến nhất là dùng các dung môi hexane, methanol để chiết sau đó dùng chloroform, ethyl acetate, dichloromethane,... để làm giàu CGAs nhưng yêu cầu thiết bị đắt tiền, dễ cháy nổ và gây ô nhiễm [3]. Một sáng chế tại Trung Quốc sử dụng ethanol 50-80% để chiết sau đó tinh chế CGAs bằng ly tâm đĩa và sắc ký cột với chi phí

thấp [4]. Các công nghệ mới giảm ô nhiễm sử dụng vi sóng chiết CGAs đã đưa ra điều kiện nhiệt độ và thời gian chiết tối ưu và hiệu suất không cao [5], chiết CO₂ có hiệu suất chiết CGAs không cao và thiết bị đắt [6], chiết siêu âm quy mô nhỏ bằng nước và methanol/ nước 40% cho điều kiện chiết tối ưu ở tỉ lệ rắn: dung môi 1:160 tại 50°C, 1 giờ và [7]. Khi sử dụng enzyme hỗ trợ phá vỡ thành tế bào thực vật để chiết CGAs từ lá cà phê nhưng khó kiểm soát quá trình công nghệ [8]. Dù đã có nhiều nghiên cứu công nghệ mới nhưng sản xuất CGAs từ CFX qui mô công nghiệp đều dùng dung môi nước hoặc cồn/ nước như trong quy trình CBP 31 (Process Code - CBP 31) [9]. Tại Việt Nam đã có một số nghiên cứu tách chiết bằng dung môi nước quy mô nhỏ hoặc sử dụng vi sinh vật hỗ trợ quá trình chiết tách CGAs và phân tích CGAs [10-11]. Qua tra cứu tài liệu, chúng tôi chưa thấy nghiên cứu công nghệ sản xuất CGAs quy mô lớn sử dụng hạt cà phê xanh hữu cơ và các phụ phẩm làm nguyên liệu ở trong nước. Phân tích định lượng CGAs từ nguyên liệu cà phê sử dụng các kỹ thuật phân tích khác nhau trong đó có HPLC-DAD đã

được công bố nhiều [7,11- 12]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi xây dựng quy trình chiết CGAs từ hạt cà phê xanh (CFX), lá cà phê (LCF), vỏ thịt quả cà phê (Husk) và định lượng CGAs bằng kỹ thuật HPLC-DAD.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Nguyên liệu

Mẫu CFX và LCF loài *Robusta* thu từ Hợp tác xã (HTX) Công Bằng Thuận An, Đắk Nông vào tháng 12 năm 2022. Mẫu Husk là sản phẩm phụ trong quá trình chế biến cà phê loài *Robusta* bằng công nghệ khô của HTX Tin True, Đắk Nông. Chất chuẩn 3-CQA độ tinh khiết 97,6% được chiết và tinh chế từ hạt cà phê xanh để sử dụng phân tích định lượng [10].

2.2. Điều chế cao chiết cà phê xanh từ hạt cà phê xanh và phụ phẩm quy mô pilot

Quy trình chiết và làm giàu CGAs quy mô phòng thí nghiệm: nguyên liệu cà phê được nghiền thành bột mịn; chiết ethanol 50% hoặc nước với tỷ lệ dung môi/nguyên liệu, nhiệt độ và thời gian xác định; tinh chế bằng chiết pha lỏng với CH_2Cl_2 và n-hexane được áp dụng để nghiên cứu ở quy mô 10kg/mẻ [7,9,11].

2.3. Nghiên cứu định lượng CGAs

Định lượng CGAs được tiến hành trên hệ HPLC Ultimate 3000 RSLC, Thermo Scientific với DAD bước sóng 254 nm, cột Hypersil GOLD C18: 150 mm x 2,1 mm x 3 μm ; hệ dung môi ACN: H_2O (bổ sung 0,1% acid formic). Chất chuẩn 3-CQA được cân chính xác khoảng 2,0 mg; pha: 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm và 300 ppm; để xây dựng đường chuẩn. Pha mẫu phân tích bằng cách cân 50 mg mỗi mẫu (nằm trong khoảng tuyến tính) vào bình định mức 50 mL, thêm MeOH tới định mức bình, siêu âm trong vòng 5 phút. Tiêm dung dịch mẫu vào hệ thống sắc ký, xác định các hoạt chất theo thời gian lưu đã định danh bằng HPLC-QTOF [11]. Hàm lượng CGAs được xác định bằng cách tính tổng diện tích các đỉnh của các CGAs được định danh rồi qui đổi tương đương theo diện tích của đỉnh 3-CQA. Tổng diện tích qui đổi được sử dụng để tính hàm lượng CGAs theo đường chuẩn được xây dựng. Các thực nghiệm được tiến hành 3 lần.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xây dựng công nghệ sản xuất bột chiết CGAs 50% quy mô 10kg/mẻ

Tối ưu quy trình chiết CGAs quy mô 10kg /mẻ sử dụng CFX: Sau khi nghiền tới kích cỡ hạt 0,1 - 0,2 mm, 10 kg bột CFX được chiết với cồn 50% tỉ lệ rắn: cồn là 1:3.

- Nghiên cứu lựa chọn nhiệt độ chiết ở nhiệt độ phòng, 40°C và 50°C bằng nước, chiết 1 lần, 3 giờ, cô đặc và cân khối lượng cao để so sánh cho thấy khối lượng cao chiết thu được tương ứng là 38,45%, 48,41%, 49,98% cho nhiệt độ chiết tối ưu là 40°C.

- Khi tối ưu thời gian chiết trong 1 giờ, 3 giờ và 9 giờ bằng cồn, chiết 1 lần ở 40°C cho hiệu suất cao CGAs thô tương ứng lần lượt là 45,55%, 48,56% và 49,97% với hàm lượng CGAs trong cao thay đổi không nhiều nên thời gian chiết tối ưu là 3 giờ.

- Khi tối ưu số lần chiết 1 lần, 2 lần và 3 lần bằng cồn, 3 giờ ở 40°C cho hiệu suất cao CGAs thô là 46,17%, 48,72% và 48,95% nhưng hàm lượng CGA trong mẫu tương ứng lần lượt là 6,93%, 7,41% và 7,43% nên số lần chiết tối ưu là 2 lần.

Như vậy, điều kiện tối ưu chiết cà phê xanh thu cao CGAs thô là tỉ lệ nguyên liệu: cồn 1:3, 3 giờ, 40°C, chiết 2 lần trong thiết bị chiết siêu âm.

Tối ưu quy trình tinh chế CGAs từ cao CGAs thô chiết quy mô 10kg /mẻ sử dụng CFX: Chúng tôi lựa chọn phương pháp làm giàu CGAs bằng dung môi hữu cơ được sử dụng trong sản xuất bột CGAs [9] với thiết bị phân ly lỏng - lỏng có chi phí thấp, chế tạo trong nước. Chiết 10 kg CFX trong điều kiện tối ưu như ở trên thu được 4.895g cao CGAs thô. Hòa tan hoàn toàn cao thô trong nước cất nóng ở 60°C, tỷ lệ 1:4 (thể tích sau khi hòa tan bằng khoảng ¼ thể tích dịch chiết CGAs nên thay thế bước hòa tan bằng cô đặc đến ¼ thể tích dịch chiết CGAs).

- Tinh chế cao CGAs thô bằng dung môi dichlormethane loại caffein: Đầu tiên tinh chế 2 lần với tỷ lệ dung môi: cao là 1:2, khuấy 30 phút, 150 vòng/ phút, phân lớp sau 3-4 giờ cho hàm lượng CGAs trong cao chiết CGAs loại caffein lần 2 là 20,56%. Tinh chế tương tự lần 3 cho thấy hàm lượng CGAs là 20,61% nên số lần tinh chế bằng dichlormethane tối ưu là 2 lần.

- Tinh chế cao CGAs thô bằng n-hexane loại protein, chất béo: Dịch cao CGAs thô được cô đặc đến ¼ thể tích. Tỷ lệ dung môi: cao là 1:1, khuấy 30 phút, 150 vòng/ phút, phân lớp sau 3-4 giờ cho hàm lượng CGAs loại protein lần 1, lần 2 và lần 3 tương ứng là 20,86%, 35,36% và 35,41%. Do hàm lượng CGAs ở lần 2 và 3 gần nhau nên số lần tinh chế bằng n-hexane tối ưu là 2.

Tối ưu toàn bộ quy trình chiết CFX và tinh chế quy mô 10kg /mẻ sử dụng cồn 50%:

Bước 1: Chiết hạt cà phê xanh

10 kg hạt cà phê xanh được nghiền thành bột mịn, kích cỡ hạt 0,1 - 0,2 mm. Độ ẩm nguyên liệu 9,72%. Chiết ở bình 100 lít/mẻ đã có 30 lít cồn 50% ở 400°C, 3 giờ, 2 lần. Gộp dịch chiết thu được 90,69 lít. Cô đặc chân không đến khoảng 1/4 thể tích thu được 22,67 lít dung dịch đặc cao CGAs thô.

Phân tích chất lượng cao chiết CGAs thô: Cô đặc chân không đến kiệt nước 1,00 lít dung dịch cao chiết. Độ ẩm của cao CGAs thô theo tiêu chuẩn ĐDVN V, PL 280 là 9,12%. Hàm lượng CGAs là 15,11%. Quy về cùng độ ẩm của nguyên liệu ban đầu là 9,72% thì hiệu suất chiết là 48,91%.

Bước 2: Tinh chế dung dịch đặc cao CGAs thô bằng dichlormethane loại caffein

Lấy 22,67 lít dung dịch đặc cao CGAs thô vào thiết bị tinh chế phân ly lỏng - lỏng, bổ sung 11,00 lít dichlormethane. Khuấy 30 phút, 150 vòng/ phút. Để yên phân lớp sau 3-4 giờ. Tháo dịch nước cao chiết CGAs loại caffein ở trên và chiết phân bố lần 2 (tỷ lệ thể tích dichlormethane : dịch nước cao CGAs loại caffein lần 1 = 1:3). Thu dịch nước cao chiết CGAs loại caffein lần 2 ở trên, cô đặc chân không đến kiệt thu được 5.418g cao. Khối lượng cao chiết thu được tương đương 25% khối lượng cao trong dịch nước cao chiết CGAs loại caffein lần 2 (độ ẩm 75%) phù hợp để tinh chế bằng chiết lỏng - lỏng nên sử dụng để tinh chế bằng hexane.

Phân tích chất lượng cao chiết CGAs loại caffein lần 2: Độ ẩm của cao chiết CGAs loại caffein lần 2 sau cô kiệt theo tiêu chuẩn ĐDVN V, PL 280 là 9,72%. Phân tích định lượng hàm lượng tổng CGAs trong cao chiết CGAs loại caffein lần 2 là 20,78%.

Bước 3: Tinh chế bằng n-hexane loại protein, trong cao chiết CGAs đã loại caffein lần 2

Tiến hành chiết 10kg CFX và tinh chế bằng dichlormethane 2 lần thu được 21,64 lít cao chiết CGAs đã loại caffein lần 2. Tinh chế với 22,00 lít n-hexan (tỷ lệ 1:1), khuấy 30 phút, 150 vòng/ phút. Để yên phân lớp sau 3-4 giờ. Tinh chế lần 2 với 22,00 lít n-hexan (tỷ lệ 1:1). Thu dịch nước cao chiết CGAs loại cả caffein và protein lần 2 ở dưới. Tiến hành cô đặc chân không thu được 1.808g cao chiết CGAs loại cả caffein và protein.

Phân tích chất lượng cao chiết CGAs loại caffein và protein, chất béo: Độ ẩm cao chiết CGAs loại caffein và protein, chất béo theo tiêu chuẩn ĐDVN V, PL 280 là 9,48%. Phân tích định lượng hàm lượng tổng CGAs trong cao trên là 51,14%. Chế phẩm được ký hiệu là CGAE-CFX-C-50.

Quy trình chiết CFX và tinh chế quy mô 10kg /mẻ sử dụng nước:

Áp dụng quy trình chế tạo cao chiết CGAs bằng dung môi nước với tỉ lệ bột hạt cà phê xanh/ nước là 1/6 với cùng điều kiện chiết và tinh chế thì thu được cao chiết CGAs có độ ẩm theo tiêu chuẩn ĐDVN V, PL 280 là 9,48% và hàm lượng CGAs theo 3-CQ là 51,21%. Chế phẩm được ký hiệu CGAE- FX-N-50.

Kết quả nghiên cứu quy trình chiết cà phê xanh bằng dung môi cồn 50% hoặc nước quy mô 10kg nguyên liệu bột hạt/mẻ cho hiệu quả sản xuất cao chiết tương đương nhau. Điều này phù hợp với bản chất các acid chlorogenic trong hạt cà phê xanh đều dễ bị cả cồn 50% hoặc nước kéo ra như nhau.

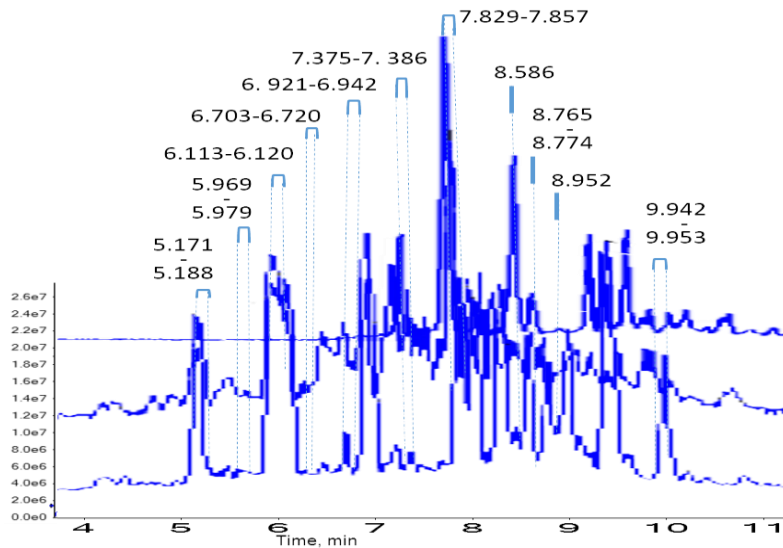
Nguyên liệu phụ phẩm cà phê: Chúng tôi áp dụng quy trình chế tạo cao chiết CGAs bằng dung môi nước với tỉ lệ bột lá cà phê xanh/ nước; bột vỏ thối quả cà phê xanh/ nước đều là 1/6 và cùng điều kiện chiết thì thu được hai loại cao chiết CGAs có độ ẩm theo tiêu chuẩn ĐDVN V, PL 280 tương ứng là 9,65%, 9,17% và hàm lượng CGAs theo 3-CQA tương ứng là 50,54%, 50,12%. Hai chế phẩm cao chiết được ký hiệu CGAE-LCF-N-50 và CGAE-Husk-N-50.

Bốn quy trình trên được thực hiện 3 mẻ cho thấy kết quả ổn định và lặp lại.

3.2. Phân tích định lượng CGAs trong nguyên liệu và cao chiết cả phê xanh sản xuất theo quy trình công nghệ 10kg/mẻ

Các kết quả phân tích thời gian lưu của đỉnh hợp chất có trong các mẫu CFX, LCF, Husk trong hình 1 đều cho thấy ba sắc ký đồ đều có các đỉnh trong khoảng các thời gian lưu và định danh theo khối phổ MS, MSⁿ tương ứng 5,171-5,188 phút (định danh là 3-CQA), 5,969-5,979 phút (5-CQA), 6,113-

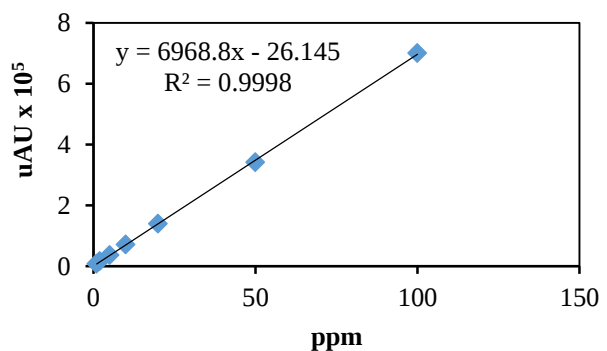
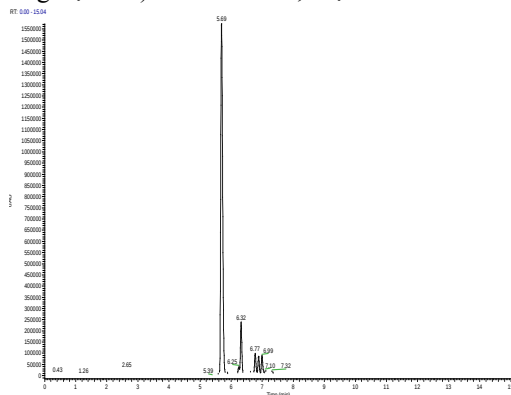
6,120 phút (4-CQA), 6,703-6,720 phút (*p*-coumaroylquinic acid), 6,921-6,942 phút (5-CFA), 7,375-7,386 phút (3,5-diC-4-FA), 7,829-7,857 phút (3,4-diCQA), 7,990-8,021 phút (3,5-diCQA), 8,252-8,283 phút (4,5-diCQA), 8,426-8,437 phút (3-C-4-FQA), 8,558-8,570 phút (3-F-5-CQA), 8,765-8,774 phút (3-C-4-FQA), 8,952-8,963 phút (4-F-5-CQA), 9,942-9,953 phút (*p*-coumaroyl-N-tryptophan) ở cùng điều kiện phân tích [13].



Hình 1. Sắc ký đồ các hợp chất hóa học trong đó có các CQAs chiết từ CFX (dưới), LCF (giữa) và Husk (trên) khi phân tích bằng HPLC-QTOF

Đường chuẩn 3-CQA được xây dựng với các nồng độ chất chuẩn 3-CQA lần lượt là: 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm và 300 ppm. Sắc ký đồ cho 3-CQA có đỉnh ở thời gian lưu 5,183 phút. Từ kết quả hình 2 rút ra phương trình đường chuẩn tính hàm lượng tổng CQAs theo 3-CQA là $y = 6968.8x - 26.145$; trong đó y: diện tích pic, x: nồng độ mẫu. Theo hình 1, diện tích các đỉnh của

các CGAs đã định danh được tính tổng và quy đổi theo diện tích đỉnh 3-CQA ở 5,171-5,188 phút để định lượng CGAs. Bảng 1 thể hiện kết quả định lượng các hoạt chất trong các nguyên liệu CFX, LCF, Husk và sản phẩm chế tạo cao CGAs 50% từ ba nguyên liệu trên bằng cồn 50% và nước quy mô 10kg/mẻ theo quy trình thực hiện ở trên.



Hình 2. Sắc ký đồ 3-CQA (trái) với thời gian lưu 5,183 phút xây dựng đường chuẩn (phải) định lượng 3-CQA

Bảng 1. Định lượng CGAs trong các nguyên liệu và sản phẩm cao giàu CGAs tương ứng

Mẫu	CFX	LCF	Husk	CGAE- CFX-C-50	CGAE- CFX-N-50	CGAE- LCF-N-50	CGAE- Husk-N-50
Hàm lượng CGAs (%)	7,03 - 11,21	0,54 - 0,82	1,53 - 1,85	51,14	51,21	50,54	50,12

Kết quả trong bảng 1 cho thấy hàm lượng CGAs theo 3-CQA trong nguyên liệu CFX là cao nhất 7,03 – 11,21%, LCF là thấp nhất 0,54 – 0,82% và Husk 1,53 – 1,85%. Khi sử dụng các nguyên liệu trên với quy trình chiết, tinh chế được xây dựng để sản xuất các sản phẩm cao giàu CGAs tương ứng; các cao chiết cả phê xanh giàu CGAs chế tạo được đều có hàm lượng trên 50% tương ứng là 51,14%, 51,21%, 50,54% và 50,12%.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng được các quy trình công nghệ chiết và tinh chế quy mô 10kg/ mẻ từ nguyên liệu hạt cà phê xanh hữu cơ bằng dung môi cồn 50% và nước với hiệu quả tương đương; từ nguyên liệu phụ phẩm lá cà phê, vỏ thịt quả cà phê bằng nước sản xuất các cao chiết cả phê xanh tổng hàm lượng các acid chlorogenic đạt trên 50% làm nguyên liệu hóa được. Các quy trình ổn định và có độ lặp lại. Từ đường chuẩn 3-CQA, hàm lượng CGAs theo 3-CQA trong hạt cà phê xanh là cao nhất trong khoảng 7,03 – 11,21%; lá cà phê là 0,54 – 0,82% và vỏ thịt quả cà phê là 1,53 – 1,85%. Đây là lần đầu tiên phương pháp HPLC-DAD được sử dụng để định lượng tổng CGAs trong vỏ thịt quả cà phê. Như vậy, các phụ phẩm lá cà phê và vỏ thịt quả cà phê có thể được sử dụng làm nguyên liệu chiết cao CGAs. Hàm lượng tổng các CGAs theo 3-CQA trong các cao chiết cả phê xanh sản xuất từ ba nguyên liệu trên theo các quy trình công nghệ chiết được sử dụng đều đạt trên 50% có thể được sử dụng làm nguyên liệu hóa được.

Lời cảm ơn: Các tác giả cảm ơn đề tài KHCN mã số 14/HĐ-SKHCN của UBND tỉnh Đắk Nông cung cấp kinh phí để thực hiện nghiên cứu này.

Cam kết: Tôi xin cam đoan đây là công trình của Lê Ngọc Hùng, Đỗ Ngọc Thúy và Nguyễn Đức Anh chưa gửi đăng nội dung này ở bất kỳ tạp chí nào.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Naveed M, Hejazi V, Abbas M, Kamboh AA, Khan GJ, Shumzaid M, Ahmad F, Babazadeh D, Fang X, Modarresi-Ghazani F, WenHua L,

XiaoHui Z, (2018). Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomed Pharmacother.*, **97**, 67-74.

[2] Machado, M.; Espírito Santo, L.; Machado, S.; Lobo, J.C.; Costa, A.S.G.; Oliveira, M.B.P.P.; Ferreira, H.; Alves, R.C, (2023). Bioactive Potential and Chemical Composition of Coffee By-Products: From Pulp to Silverskin. *Foods*, **12**, 2354.

[3] Dibert, K.L., Cros, E., & Andrieu, J., (1989). Solvent extraction of oil and chlorogenic acid from green coffee. Part II. Kinetic data. *Journal of Food Engineering*, **10**, 199-214.

[4] Luo Mingfeng, (2014). Method for extracting chlorogenic acid from green coffee beans. *WO2015032212A1*.

[5] Upadhyay, R.; Ramalakshmi, K.; Rao, L.J.M, (2012). Microwave-assisted extraction of chlorogenic acids from green coffee beans. *Food Chem.*, **130**, 184-188.

[6] Azevedo, Á. B. A. d., Mazzafera, P., Mohamed, R. S., Melo, S. V. d., & Kieckbusch, T. G., (2008). Extraction of caffeine, chlorogenic acids and lipids from green coffee beans using supercritical carbon dioxide and co-solvents. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, **25(3)**, 543-552.

[7] Oteef, M.D.Y, (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**, 396.

[8] Torres-Mancera MT, Baqueiro-Peña I, Figueroa-Montero A, Rodríguez-Serrano G, González-Zamora E, Favela-Torres E, Saucedo-Castañeda G, (2013). Biotransformation and improved enzymatic extraction of chlorogenic acid from coffee pulp by filamentous fungi. *Biotechnol Prog.*, **29(2)**, 337-45.

[9] Central Food Technological Research Institute (2020). Production of green coffee extract. **Process code CBP 310**

[10] Lê Minh Hà, Đỗ Thị Thanh Huyền, Ngô Thị Phương, (2020). Quy trình chiết xuất và tinh chế axit chlorogenic từ hạt cà phê xanh. Chấp nhận đơn theo Quyết định số 12337w/QĐ-SHTT ngày 24/8/2020.

[11] Do Thị Thanh Huyền, Ngô Thị Phương, Cao Sơn Tung, Lê Ngọc Hưng, Phương Anh Tuan, Nguyễn Tuan Anh, Lê Minh Hà, (2020). Chlorogenic acids from green coffee beans collected in Tay Nguyen provinces of Vietnam, *Vietnam Journal of Science and Technology*, **58(6A)**, 10.

[12] Cangeloni, L.; Bonechi, C.; Leone, G.; Consumi, M.; Andreassi, M.; Magnani, A.; Rossi, C.; Tamasi, G, (2022). Characterization of Extracts of Coffee Leaves (*Coffea arabica* L.) by Spectroscopic and Chromatographic/ Spectrometric Techniques. *Foods*, **11**, 2495.

[13] Lê Ngọc Hùng, (2021-2023). BCTK đề tài “Nghiên cứu tạo sản phẩm hỗ trợ giảm cân từ hạt cà phê xanh và phụ phẩm của quá trình chế biến cà phê trong sản xuất cà phê ở tỉnh Đắk Nông”. *Đề tài KHCN tỉnh Đắk Nông*, mã số 40/QĐ-SKHCN.