



PHƯƠNG PHÁP TRÍCH LY CÀ PHÊ XANH NGUYÊN HẠT ROBUSTA VỚI DUNG MÔI NADES TỔNG HỢP BẰNG ĐƯỜNG XYLITOL VÀ ACID LACTIC

TÔ NGUYỄN HOÀNG PHÚC¹, LÊ HOÀNG BẢO THIÊN^{1*}, NGUYỄN PHẠM QUANG PHÚ¹,
LƯƠNG NGUYỄN BẢO NGỌC¹, NGUYỄN THỊ HẠNH QUYÊN¹, NGUYỄN ĐÌNH QUÂN²

¹ Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

² Khoa Kỹ thuật hóa học, Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

Tóm tắt:

NADES (Natural deep eutectic solvent) là dung môi được tạo nên từ các hợp chất tự nhiên có nguồn gốc sinh học, thân thiện với môi trường và có tiềm năng thay thế các dung môi hữu cơ khác trong các lĩnh vực chiết xuất, tách, khoa học y sinh. Nghiên cứu khảo sát hiệu quả trích ly cà phê xanh nguyên hạt Robusta bằng dung môi NADES để giảm hàm lượng caffeine và chlorogenic acid có trong hạt cà phê. Kết quả cho thấy, phương pháp trích ly đã làm giảm 18.09% caffeine và 9.06% acid chlorogenic có trong hạt cà phê Robusta so với ban đầu. Từ đó, hạt cà phê thu được có tiềm năng để phát triển trở thành các dòng cà phê có hàm lượng caffeine thấp hơn, phù hợp với nhu cầu người tiêu dùng.

Từ khóa: Caffeine, chlorogenic acid, hạt cà phê xanh, NADES.

Ngày nhận bài: 21/2/2025; Ngày sửa chữa: 12/3/2025; Ngày duyệt đăng: 25/3/2025.

The extraction method of green Robusta coffee beans using NADES solvent synthesized from xylitol and lactic acid

Abstract:

NADES (Natural deep eutectic solvent) is a solvent made from naturally derived, bio-based compounds that are environmentally friendly and have the potential to replace other organic solvents in fields such as extraction, separation, and biomedical sciences. The study investigates the efficiency of green Robusta coffee bean extraction using NADES solvent to reduce the caffeine and chlorogenic acid content in the coffee beans. The results show that the extraction method reduced the caffeine content by 18.09% and the chlorogenic acid content by 9.06% in Robusta coffee beans compared to the initial levels. As a result, the extracted coffee beans have the potential to be developed into low-caffeine coffee products, catering to consumer demand.

Keywords: Caffeine, chlorogenic acid, green coffee beans, NADES.

JEL Classifications: K32, N54, 013.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

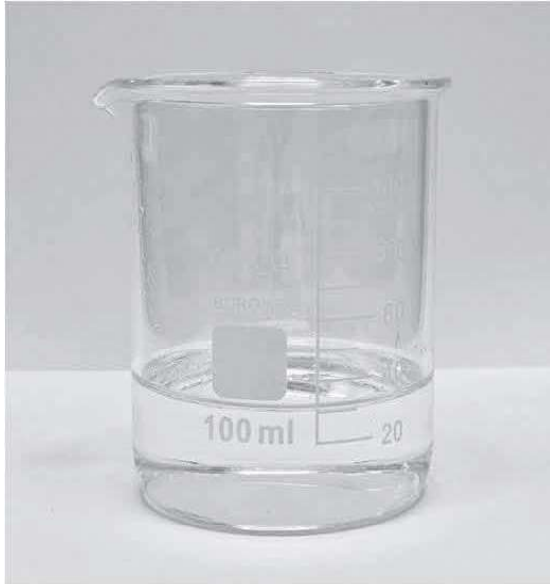
Cà phê Robusta là một trong những mặt hàng nông sản chủ lực của Việt Nam, đóng góp quan trọng vào nền kinh tế quốc gia và có vị thế đáng kể trên thị trường quốc tế. Giá trị thương mại của cà phê không chỉ được xác định bởi sản lượng và chất lượng hương vị, mà còn bởi sự hiện diện của các hợp chất có lợi cho sức khỏe, điển hình là caffeine và acid chlorogenic (CGA).

Caffeine (1,3,7-trimethylxanthine), một dẫn xuất của purine, là thành phần chính trong hạt cà phê Robusta, có tác dụng kích thích hệ thần kinh Trung ương. Tuy nhiên, hàm lượng caffeine cao trong cà phê Robusta có thể gây ra các tác dụng không mong muốn như mất ngủ, lo lắng và kích thích quá mức đối với một số người tiêu dùng (O. Alimyar et al., 2024).

Bên cạnh đó, CGA là một axit phenolic quan trọng với nhiều đặc tính sinh học như chống oxy hóa, chống viêm, bảo vệ thần kinh, hạ lipid máu và điều hòa đường huyết. Theo nghiên cứu của Sunyoon Jung (S.

Jung et al., 2021), quá trình rang hạt cà phê làm giảm hàm lượng CGA khi mức độ rang tăng lên. Sự suy giảm này chủ yếu do quá trình phân hủy CGA thành acid caffeic và acid quinic, ảnh hưởng trực tiếp đến hoạt tính sinh học cũng như chất lượng hương vị của cà phê. Do đó, việc nghiên cứu các phương pháp giảm hàm lượng caffeine, đồng thời bảo toàn CGA trong hạt cà phê Robusta đang trở thành một chủ đề được quan tâm và có ý nghĩa thực tiễn cao.

Đối với việc tách chiết caffeine, Alexandre Vandepoosele cùng cộng sự (Vandepoosele et al., 2022) áp dụng CO₂ siêu tới hạn thay thế dung môi hữu cơ, trong đó dung môi nước đóng vai trò quan trọng trong việc tối ưu hóa hiệu suất thu hồi caffeine. Còn về việc chiết xuất CGA, một nghiên cứu thực hiện việc so sánh hiệu suất giữa methanol và nước, nhận thấy methanol chiết xuất CGA tốt hơn, nhưng nước bảo toàn các hợp chất polyphenol hiệu quả hơn (U. Złotek et al., 2016). Nhằm nâng cao hơn nữa hiệu suất trích



Dung dịch NADES



Dịch chiết từ nguyên hạt cà phê Robusta

ly CGA, Borja cùng cộng sự ứng dụng công nghệ chiết xuất có hỗ trợ vi sóng (MAE) với ethanol, giúp thu hồi CGA nhanh hơn và hiệu quả hơn so với phương pháp trích ly Soxhlet truyền thống (J. Q. Borja et al., 2014). Những phương pháp được đề cập đã cho thấy sự hiệu quả và tối ưu hiệu suất trong việc trích ly nhưng đều tồn tại hạn chế. Việc sử dụng methanol và ethanol làm dung môi trích ly tuy có hiệu suất chiết xuất cao nhưng lại tiềm ẩn nguy cơ độc hại và yêu cầu quy trình xử lý nghiêm ngặt để tạo ra thành phẩm. Mặt khác, phương pháp CO₂ siêu tới hạn thân thiện với môi trường nhưng đòi hỏi thiết bị áp suất cao và chi phí vận hành lớn.

Natural deep eutectic solvents (NADES) được biết đến là một loại dung môi xanh mới, được giới thiệu lần đầu vào năm 2011 bởi Dai và các cộng sự (Dai et al., 2013), như một sự thay thế cho các dung môi Deep eutectic solvents (DES) cũ được hình thành từ các hóa chất công nghiệp. NADES được tạo thành từ sự kết hợp của hai hay nhiều hợp chất tự nhiên như axit hữu cơ, đường, amino acid hoặc polyol... với tỷ lệ thích hợp, từ đó, tạo ra một hệ dung môi có nhiệt độ nóng chảy thấp hơn so với các thành phần riêng lẻ. Ngoài ra, nhờ vào khả năng tạo liên kết hydro giữa các cấu tử, NADES dễ dàng hòa tan nhiều loại hợp chất thiên nhiên có hoạt tính sinh học cao, bao gồm cả phân cực và không phân cực. Sự kết hợp này tạo ra các dung môi thân thiện với môi trường, đồng thời đảm bảo an toàn cho ứng dụng trong lĩnh vực thực phẩm và dược phẩm (Liu et al., 2018).

Nghiên cứu của Syakfanaya và cộng sự (A. M. Syakfanaya et al., 2019) về việc chiết xuất caffeine và acid chlorogenic từ cà phê Robusta sử dụng phương pháp chiết xuất hỗ trợ sóng siêu âm (NADES-UAE) cho thấy, NADES có hiệu quả vượt trội so với methanol. Tỷ lệ betaine: sorbitol (1:1.2) và bổ sung nước 1:2 trong 30 phút mang lại hiệu suất cao nhất. Mặc dù hiệu quả cao, việc bổ sung quá nhiều nước có thể ảnh hưởng đến kết quả chiết xuất. Nghiên cứu của Vo và cộng sự (P. Vo et al., 2024) chứng minh NADES có khả năng chiết xuất phenolic và terpenoid từ thực vật hiệu quả hơn các dung môi truyền thống như ethanol. Sự kết hợp giữa NADES với phương pháp chiết xuất hỗ trợ sóng siêu âm và vi sóng (UAE và MAE) không chỉ tăng hiệu suất mà còn giảm việc sử dụng dung môi, tiêu thụ năng lượng và thời gian chiết xuất, tạo ra một phương pháp bền vững và thân thiện với môi trường cho ngành thực phẩm và dược phẩm.

Trong nghiên cứu này, NADES được sử dụng để khảo sát quá trình trích ly từ hạt cà phê xanh, nhằm thu được sản phẩm cà phê nguyên hạt có hàm lượng caffeine và CGA thấp hơn, từ đó mở ra hướng ứng dụng mới trong sản xuất cà phê ít caffeine nhưng vẫn giữ được hương vị đặc trưng. Một điểm đặc biệt trong nghiên cứu là nhóm nghiên cứu sử dụng dung môi NADES được tổng hợp từ đường xylitol và acid lactic, tạo nên hệ dung môi có vị chua ngọt tự nhiên. Với tính chất này, NADES hứa hẹn nâng cao hiệu suất chiết xuất, đồng thời giúp tạo ra dòng sản phẩm hạt cà phê



Bảng 1. Bảng số liệu thống kê định lượng từng chất để pha dung môi NADES khi thay đổi nồng độ nước tương ứng 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% theo khối lượng với tỷ lệ mol acid lactic:xylitol cố định là 3:1

Tỷ lệ mol acid lactic:xylitol	3	3	3	3	3	3
Khối lượng xylitol (C ₆ H ₁₂ O ₅) (gam)	8.25	8.25	8.25	8.25	8.25	8.25
Khối lượng acid lactic (C ₃ H ₆ O ₃) (gam)	16.5	16.5	16.5	16.5	16.5	16.5
Khối lượng nước (H ₂ O) (gam)	1.24	2.75	4.37	6.19	8.25	10.61

Bảng 2. Bảng thống kê định lượng từng chất để pha dung môi NADES với nồng độ nước tinh khiết sử dụng là 20% theo khối lượng, thay đổi tỷ lệ mol acid lactic và xylitol lần lượt là 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1

Tỷ lệ mol acid lactic:xylitol	1	2	3	4	5
Khối lượng xylitol (C ₆ H ₁₂ O ₅) (gam)	20.55	11.78	8.25	6.38	5.18
Khối lượng acid lactic (C ₃ H ₆ O ₃) (gam)	13.7	15.7	16.5	17	17.25
Khối lượng nước (H ₂ O) (gam)	8.56	6.89	6.19	5.84	5.61

có hàm lượng caffeine thấp hơn phù hợp với nhu cầu người tiêu dùng.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu và hóa chất

Nguyên vật liệu

Mẫu hạt cà phê Robusta được thu hái ở Đắk Hà - Kon Tum vào tháng 10/2024. Sau khi thu hoạch, hạt cà phê tươi được phơi nắng trong khoảng 7 - 14 ngày, sau đó được xử lý bằng máy xát để loại bỏ vỏ ngoài. Nhân hạt thành phẩm được bảo quản ở nhiệt độ phòng tại môi trường thoáng mát nhằm duy trì chất lượng.

Hóa chất, dụng cụ và thiết bị

Quá trình nghiên cứu sử dụng các hóa chất và dung môi với độ tinh khiết cao, bao gồm: ethanol (Chemsol, 99.5%), hydrochloric acid (China, 36.5%), đường xylitol (NTFood, 99.5%), acid lactic (China, 90%), chất chuẩn caffeine anhydrous (HiMedia, 99%), chất chuẩn chlorogenic acid (Natpro, 99%) và nước cất 2 lần.

Các thiết bị chính được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: Máy quang phổ tử ngoại - khả kiến (UV-Vis) Agilent Cary, bếp điện kèm máy khuấy từ C-MAG HS 7 Digital, cân phân tích, cùng một số thiết bị và dụng cụ hỗ trợ khác.

2.2. Phương pháp thực nghiệm

Quy trình pha dung môi NADES

Nguyên liệu chính được sử dụng để điều chế dung môi NADES trong thí nghiệm bao gồm: đường xylitol (99%), acid lactic, nước cất (tinh khiết). Cách pha được thực hiện như sau: Cân khối lượng acid lactic (C₃H₆O₃)

và xylitol (C₆H₁₂O₅) theo tỷ lệ số mol (1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1), sau đó cho thêm nước theo tỷ lệ khối lượng (5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%), dung môi NADES được khảo sát với nhiều tỷ lệ khác nhau (Bảng 1).

Tỷ lệ hóa chất sử dụng để điều chỉnh lượng thể tích dung môi phù hợp dùng cho những thí nghiệm sau nhưng vẫn đảm bảo định lượng thành phần từng chất trong dung môi vẫn đúng theo tỷ lệ đã cho (Bảng 2).

Sau khi định lượng đầy đủ các chất vào trong becher, hỗn hợp hóa chất được đem đun cách thủy trên bếp điện có sử dụng khuấy từ (C-MAG HS 7 Digital, Germany) để tiến hành thí nghiệm. Bếp điện được gia nhiệt từ từ, duy trì nhiệt độ phản ứng ổn định ở 55°C (± 2°C) và khuấy từ 400 rpm, thực hiện phản ứng trong vòng 30 phút.

Quy trình trích ly cà phê với dung môi NADES

Hạt cà phê Robusta (Đắk Lắk) được tuyển chọn kỹ càng, còn mới, không bị sâu, mốc và được đem đi cân để thực hiện quá trình trích ly.

Hạt cà phê xanh được cân và đem trích ly theo tỷ lệ hạt cà phê xanh:dung môi NADES (g/ml) là 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7 với những dung môi NADES đã pha được ở trên. Hỗn hợp trích ly được đậy kín bằng giấy bạc và gia nhiệt trên bếp điện có khuấy từ (C-MAG HS 7 Digital, Germany), thực hiện đun cách thủy dung dịch trích ly ở 60°C và khuấy từ 500 rpm. Dung dịch thu được sau khi trích ly được lọc qua giấy lọc nhằm loại bỏ hạt và cặn vỏ cà phê ra khỏi dung dịch để thu dịch chiết cà phê xanh.

Quy trình đo caffeine và CGA

Lấy 1 mL dịch ngâm cà phê đã được lọc, trộn với 1 mL dung dịch HCl 0.01 M, sau đó pha loãng đến thể tích cuối cùng 25 mL bằng nước cất. Một mẫu đối chứng (mẫu zero) được chuẩn bị theo quy trình tương tự, thay thế dịch cà phê bằng nước cất. Các dung dịch mẫu sau khi chuẩn bị được đưa vào máy đo UV-VIS và đo lần lượt tại 2 bước sóng 275 nm và 325 nm để xác định hàm lượng caffeine và acid chlorogenic.

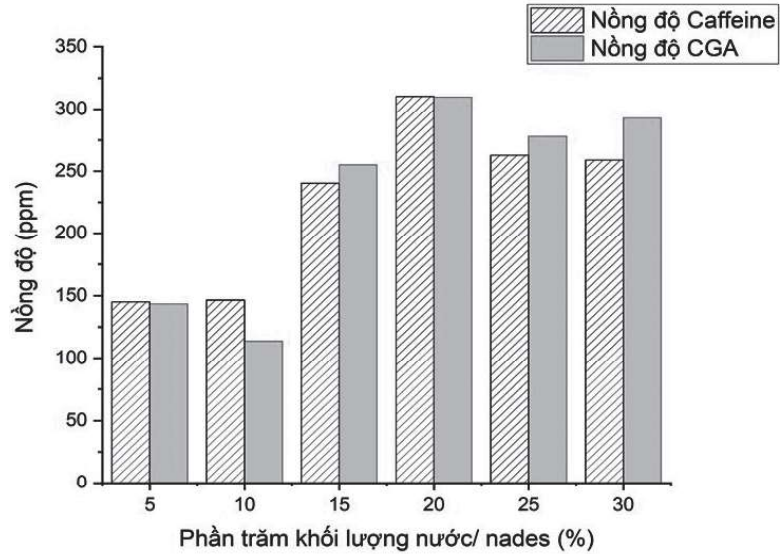
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát tỷ lệ nước

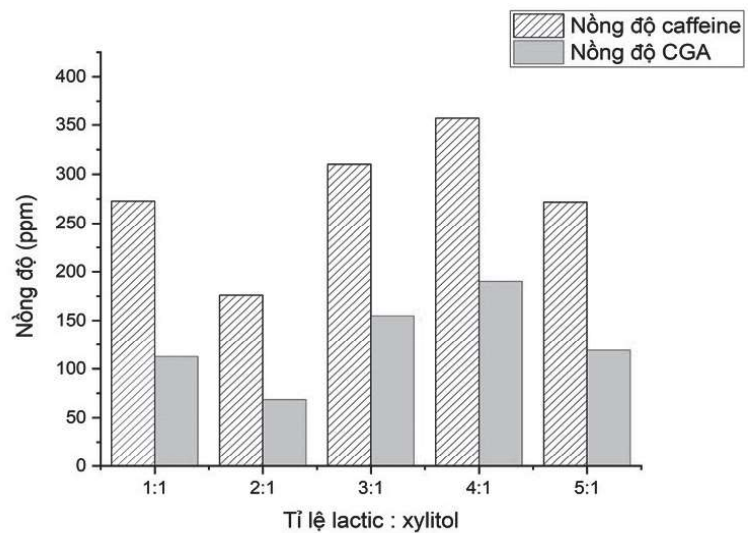
Để tối ưu hóa hiệu suất trích ly caffeine và acid chlorogenic (CGA) từ hạt cà phê, nghiên cứu đã khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ nước trong dung môi NADES ở các mức 5%, 10%, 15%, 20%, 25% và 30%. Kết quả phân tích cho thấy, ở tỷ lệ nước 5 - 10%, hàm lượng caffeine và CGA thu được tương đối thấp. Khi tỷ lệ nước tăng lên 15 - 20%, nồng độ hai hợp chất này tăng đáng kể, đặc biệt đạt cực đại ở mức 20% nước với caffeine ~310 ppm và CGA ~150 ppm. Khi tỷ lệ nước vượt quá 25%, hàm lượng CGA vẫn đạt giá trị cao, trong khi caffeine có dấu hiệu bão hòa. Như vậy, hệ dung môi NADES với 20% nước được xác định là điều kiện tốt nhất trong trường hợp này để thu hồi caffeine và CGA hiệu quả từ hạt cà phê (Hình 1).

3.2. Khảo sát tỷ lệ NADES

Kết quả phân tích khi khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ mol của acid lactic:xylitol trong hệ dung môi NADES ở các mức 1:1, 2:1, 3:1, 4:1 và 5:1, với tỷ lệ nước 20% cho thấy, khi tỷ lệ tăng từ 1:1 đến 4:1, nồng độ cả hai hợp chất đều tăng dần, đặc biệt tỷ lệ 4:1 cho hiệu suất trích ly cao nhất với hàm lượng caffeine khoảng 360 ppm và CGA khoảng 190 ppm. Tuy nhiên, khi tăng tỷ lệ lên 5:1, hàm lượng các hợp chất giảm đáng kể, cho thấy hiệu suất trích ly không còn tối ưu. Do đó, tỷ lệ mol acid lactic:xylitol là 4:1 được xác định là điều kiện phù hợp nhất để



Hình 1. Biểu đồ so sánh hàm lượng caffeine và CGA trích ly trong dung môi NADES khi khảo sát tỷ lệ nước

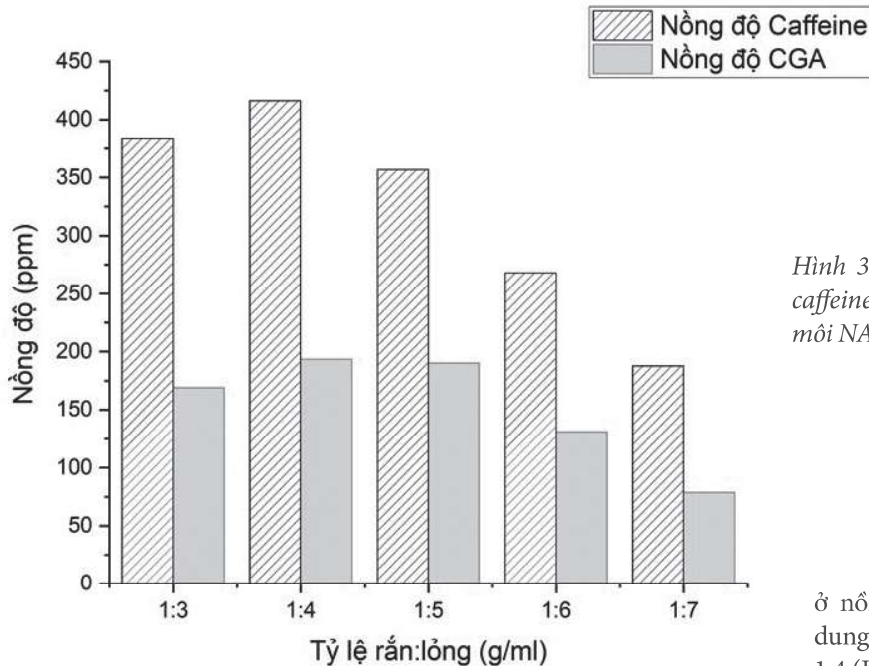


Hình 2. Biểu đồ so sánh hàm lượng caffeine và CGA trích ly trong dung môi NADES khi khảo sát tỷ lệ thành phần NADES

nâng cao hiệu quả thu hồi caffeine và CGA trong quá trình trích ly sử dụng dung môi NADES (Hình 2).

3.3. Khảo sát tỷ lệ rắn lỏng

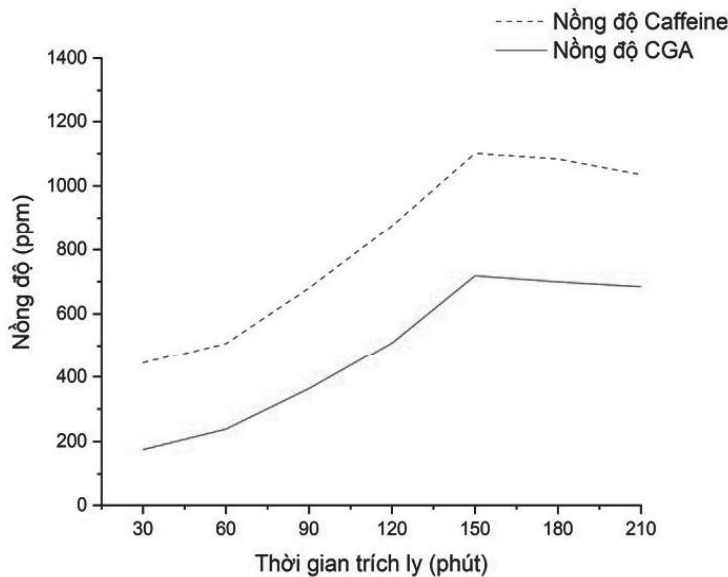
Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ rắn:lỏng (g/ml) đến hiệu suất trích ly caffeine và acid chlorogenic (CGA) từ hạt cà phê bằng dung môi NADES, với tỷ lệ thành phần tốt nhất đã được khảo sát ở trên, tại các mức 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 và 1:7. Kết quả cho thấy, tỷ lệ 1:4 cho hiệu suất trích ly cao nhất, với hàm lượng caffeine là 416.36 ppm và CGA là 193.59 ppm. Khi tiếp tục tăng tỷ lệ dung môi (giảm lượng chất rắn) từ 1:5 đến 1:7, hiệu suất thu hồi hai hợp chất giảm dần. Do đó, tỷ lệ rắn:lỏng 1:4 được xác định là điều kiện tối ưu trong quá trình trích ly bằng dung môi NADES (Hình 3).



Hình 3. Biểu đồ so sánh hàm lượng caffeine và CGA trích ly trong dung môi NADES khi khảo sát tỷ lệ rắn:lỏng

3.4. Khảo sát thời gian

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian trích ly đến hàm lượng caffeine và acid chlorogenic (CGA) sử dụng dung môi NADES, có tỷ lệ thành phần tốt nhất được khảo sát trên, với tỷ lệ rắn:lỏng 1:4 trong các khoảng thời gian 30, 60, 90, 120, 150, 180 và 210 phút được thể hiện trong Hình 4. Trong khoảng thời gian từ 30 đến 150 phút, hàm lượng caffeine tăng nhanh và nhiều từ 416.36 ppm đến 1101.59 ppm, trong khi CGA cũng tăng từ 193.59 ppm đến 718.22 ppm. Tuy nhiên, ở giai đoạn sau đó, nồng độ cả hai chất đều có xu hướng giảm nhẹ. Như vậy, thời gian trích ly 150 phút được xác định là tối ưu, giúp thu hồi đồng thời caffeine và CGA



Hình 4. Biểu đồ so sánh hàm lượng caffeine và CGA trích ly trong dung môi NADES khi khảo sát thời gian trích ly

ở nồng độ cao nhất khi sử dụng dung môi NADES ở tỷ lệ rắn:lỏng 1:4 (Hình 4).

3.5. Hiệu quả trích ly

Kết quả hiệu quả trích ly của phương pháp sẽ dựa trên việc so sánh khả năng trích ly giữa mẫu cà phê nguyên hạt với mẫu cà phê đã xay nhuyễn ở cùng điều kiện tối ưu từ việc khảo sát (Bảng 3).

Kết quả cho thấy, mặc dù hàm lượng các hợp chất trích ly từ mẫu nguyên hạt thấp hơn đáng kể so với mẫu xay (1101.6 ppm so với 6089.9 ppm đối với caffeine và 718.2 ppm so với 7925.8 ppm đối với CGA) nhưng hiệu quả trích ly so với mẫu xay vẫn đạt 18.09% đối với caffeine và 9.06% đối với CGA.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã tiến hành tối ưu hóa quy trình trích ly hạt cà phê xanh Robusta bằng dung môi NADES được tạo thành từ acid lactic và xylitol. Kết quả phân tích cho thấy, dịch chiết thu được từ mẫu tối ưu chứa 1101.6 ppm caffeine và 718.2 ppm chlorogenic acid (CGA).

Các yếu tố như tỷ lệ rắn:lỏng, tỷ lệ nước, tỷ lệ mol thành phần NADES và thời gian trích ly được xác định là có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi caffeine và

Bảng 3. Bảng so sánh hiệu quả trích ly hạt cà phê bằng dung môi NADES

	Mẫu cà phê nguyên hạt	Mẫu cà phê xay	Hiệu quả trích ly (%)
Nồng độ caffeine (ppm)	1101.6	6089.9	18.09
Nồng độ CGA (ppm)	718.2	7925.8	9.06

CGA. Dung môi NADES giữa xylitol và acid lactic thể hiện tiềm năng rõ rệt trong việc thay thế dung môi hữu cơ truyền thống để trích ly các hợp chất sinh học từ hạt cà phê, đặc biệt là chlorogenic acid và caffeine. Dịch chiết thu được từ quy trình này có khả năng ứng dụng trong các sản phẩm hỗ trợ sức khỏe. Ngoài ra, so với mẫu cà phê xay, lượng caffeine trong mẫu cà phê nguyên hạt sau trích ly đã giảm khoảng 18.09%, cho thấy khả năng điều chỉnh hàm lượng caffeine thông qua quy trình chiết xuất. Điều này mở ra hướng phát triển các dòng sản phẩm cà phê Robusta có hàm lượng caffeine phù hợp với từng nhóm đối tượng tiêu dùng, góp phần nâng cao giá trị sử dụng và tiềm năng thương mại của loại cà phê này. Hơn nữa, kết quả thu được từ việc đánh giá hoạt tính sinh học của dịch chiết hạt cà phê cũng đã cho thấy được tiềm năng của việc ứng dụng dịch chiết hạt cà phê từ dung môi NADES trong thực phẩm, dược phẩm. Khi đó, việc trích ly hướng đến sử dụng dịch chiết hạt cà phê sẽ cần các thiết bị hỗ trợ trích ly như các phương pháp khác nhằm tối ưu hiệu quả trích ly theo mục đích của bài báo. Để nâng cao hiệu quả trích ly, phương pháp trích ly bằng dung môi NADES có hỗ trợ sóng siêu âm cũng như phát triển sản phẩm từ hạt cà phê sau trích ly sẽ là cơ sở cho định hướng nghiên cứu trong tương lai.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh theo hợp đồng số 89/HĐ-ĐHBK-KHCN&DA, ngày 27/11/2024 với mã số đề tài: SVKSTN-2024-KTHH-69. Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh đã hỗ trợ cho nghiên cứu này■

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. O. Alimyar et al., “Coffea plant (Caffeine): Examining its Impact on Physical and Mental Health”, *Eur. J. Med. Heal. Res.*, vol. 2, no. 2, pp. 143-154, 2024, doi: 10.59324/ejmhr.2024.2(2).16.
2. S. Jung, S. Gu, S. H. Lee, and Y. Jeong, “Effect of roasting degree on the antioxidant properties of espresso and drip coffee extracted from coffea arabica cv. Java”, *Appl. Sci.*, vol. 11, no. 15, 2021, doi: 10.3390/app11157025.
3. A. Vandepoosele, M. Draye, C. Piot, D. Bernard, P. Fanget, and G. Chatel, “Supercritical Carbon Dioxide in Presence of Water for the Valorization of Spent Coffee Grounds: Optimization by Response Surface Methodology and Investigation of Caffeine Extraction Mechanism”, *Foods*, vol. 11, no. 24, 2022, doi: 10.3390/foods11244089.
4. U. Złotek, M. Karaś, U. Gawlik-Dziki, U. Szymanowska, B. Baraniak, and A. Jakubczyk, “Antioxidant activity of the aqueous and methanolic extracts of coffee beans (*Coffea arabica* L.)”, *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, vol. 15, no. 3, pp. 281-288, 2016, doi: 10.17306/J.AFS.2016.3.27.

5. J. Q. Borja, M. M. Uy, J. S. Lim, M. E. Ong, and A. M. Ros, “Microwave - Assisted extraction of chlorogenic acid from *Coffea liberica* L”, *ASEAN J. Chem. Eng.*, vol. 14, no. 2, pp. 58-66, 2014, doi: 10.22146/ajche.49709.
6. Dai, Y., van Spronsen, J., Witkamp, G.-J., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2013). Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta*, 766, 61-68.
7. Liu, Y., Friesen, J. B., McAlpine, J. B., Lankin, D. C., Chen, S.-N., & Pauli, G. F. (2018). Natural deep eutectic solvents: Properties, applications, and perspectives. *Journal of Natural Products*, 81(3), 679-690. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b00945>.
8. A. M. Syakfanaya, F. C. Saputri, and A. Mun'im, “Simultaneously extraction of caffeine and chlorogenic acid from *Coffea canephora* bean using natural deep eutectic solvent-based ultrasonic assisted extraction”, *Pharmacogn. J.*, vol. 11, no. 2, pp. 267-271, 2019, doi: 10.5530/pj.2019.11.41.
9. P. Vo et al., “Extracting phenolics, flavonoids, and terpenoids from *Codonopsis pilosula* using green solvents”, *Sustain. Chem. Pharm.*, vol. 37, p. 101395, Feb. 2024, doi: 10.1016/j.scp.2023.101395.
10. M. Ivanović, M. Islamčević Razboršek, and M. Kolar, “Innovative Extraction Techniques Using Deep Eutectic Solvents and Analytical Methods for the Isolation and Characterization of Natural Bioactive Compounds from Plant Material”, *Plants*, vol. 9, no. 11, p. 1428, Oct. 2020. <https://doi.org/10.3390/plants9111428>.
11. D. Habtamu and A. Belay, “First order derivative spectra to determine caffeine and chlorogenic acids in defective and nondefective coffee beans”, *Food Sci. Nutr.*, vol. 8, no. 9, pp. 4757-4762, 2020, doi: 10.1002/fsn3.1723.