

ẢNH HƯỞNG CỦA THỜI GIAN NẤY MẦM ĐẾN SỰ THAY ĐỔI CÁC HOẠT CHẤT VÀ HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA CỦA HẠT CÀ PHÊ ROBUSTA (*Coffea canephora*)

Nguyễn Thị Thanh Tịnh*, Phạm Thị Bích Hòa, Võ Huỳnh Thanh Tuyền,
Ka Dum, Nguyễn Vũ Kiều Trinh, Dương Văn Khôi, Nguyễn Tiến An

Khoa Nông Lâm, Trường Đại học Đà Lạt

*Email: tinhntt@dlu.edu.vn

Ngày nhận bài: 26/7/2023; Ngày chấp nhận đăng: 11/12/2023

TÓM TẮT

Hạt cà phê tươi được biết đến giàu hoạt chất sinh học, tuy nhiên các hoạt chất này có xu hướng giảm sau khi rang. Nhiều nghiên cứu cho thấy quá trình nảy mầm một số loại hạt gia tăng thành phần các hoạt chất có lợi cho sức khỏe. Trong nghiên cứu này hạt cà phê robusta được sử dụng để khảo sát sự thay đổi hoạt chất sinh học polyphenol, flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa của chúng trong quá trình nảy mầm. Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra sự thay đổi của hai thành phần này ở những mức thời gian nảy mầm nhất định đạt giá trị cao nhất có ý nghĩa thống kê lần lượt là $40 \pm 1,19$ mg GAE/g và $19,38 \pm 0,16$ mgCE/g sau 11 ngày nảy mầm sau đó giảm dần ($p < 0,05$). Đánh giá hoạt lực chống oxy hóa của dịch chiết cà phê nảy mầm bằng hai khảo nghiệm khả năng chống oxy hóa ABTS và năng lực khử sắt FRAP. Hai chỉ tiêu này có xu hướng biến thiên theo chiều hướng thay đổi của hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng. Khả năng chống oxy hóa ABTS tăng 1,22 lần đạt $29,13 \pm 0,26$ mgVCE/g và năng lực khử sắt tăng 2,22 lần đạt $18,03 \pm 0,44$ mgVCE/g so với đối chứng. Các kết quả nghiên cứu này cho thấy rằng hạt cà phê robusta nảy mầm đã thay đổi thành phần hoạt chất sinh học theo chiều hướng tích cực với điều kiện nảy mầm thích hợp. Đây cũng là bước đầu cung cấp cơ sở khoa học để có những nghiên cứu tiếp theo cũng như ứng dụng sản xuất thực phẩm chức năng từ hạt cà phê robusta nảy mầm có lợi cho sức khỏe.

Từ khóa: Hạt cà phê robusta nảy mầm, polyphenol, flavonoid, hoạt tính chống oxy hóa.

1. MỞ ĐẦU

Cây cà phê là một trong những cây trồng quan trọng nhất trên thế giới và là mặt hàng trao đổi lớn thứ hai trên thị trường thương mại quốc tế. Với hàng trăm loài cà phê trong đó hai loài có giá trị kinh tế và ảnh hưởng công nghiệp đồ uống cà phê là *Coffea arabica* và *Coffea canephora* (robusta) [1]. Cà phê robusta (cà phê vối) là giống được trồng phổ biến ở Việt Nam chiếm hơn 90% sản lượng cà phê hàng năm. Do đặc tính thích nghi tốt với khí hậu và thổ nhưỡng trên vùng đất đỏ bazan nên Tây Nguyên là vùng có diện tích trồng cà phê vối lớn nhất cả nước. Cà phê là loại thức uống được sử dụng rộng rãi trên thế giới, vì vậy cây trồng này đã được quan tâm nghiên cứu từ lâu [2]. Thành phần hóa học của hạt cà phê cũng được nghiên cứu chuyên sâu và đặc biệt thu hút nhiều nhà khoa học khám phá giá trị y học có lợi cho sức khỏe của loại quả này. Nhiều kết quả đã chỉ ra rằng hạt cà phê là nguồn quan trọng các hợp chất có hoạt tính sinh học đặc biệt là chlorogenic acid (CGA), γ -aminobutyric acid, caffeic acid, phenols, hợp chất chống oxy hóa và khoáng chất v.v.[3].

Bên cạnh sự phổ biến của cà phê rang thì những năm gần đây xu hướng sử dụng hạt cà phê tươi được chú ý vì tiềm năng dinh dưỡng và hàm lượng các hoạt chất có lợi cho sức khỏe được giữ lại cao hơn cà phê rang. Mẫu dịch chiết cà phê tươi robusta (Việt Nam) cho thấy hoạt tính chống oxy hóa cao nhất so với cà phê robusta từ các quốc gia khác như Lào, Ấn Độ, Indonesia và Uganda [4]. Cà phê tươi giàu CGA với hàm lượng 5-12 g/100 g chất khô [5] trong khi cà phê chế biến, quá trình rang ở nhiệt độ cao đã làm giảm các hợp chất chống oxy hóa... Chlorogenic acid là hợp chất phenolic thu được từ quá trình este hóa acid cinnamic, chẳng hạn như acid caffeic, ferulic và p-coumaric với (-)-quinic acid. CGA chủ yếu gồm 3 dạng caffeoylquinic (CQA), diCQA và feruloylquinic acid. Nhiều minh chứng đã chỉ ra

hàng loạt lợi ích cho sức khỏe liên quan đến việc tiêu thụ CGA hay sản phẩm chế biến từ bột cà phê tươi như giảm nguy cơ mắc bệnh tim mạch, tiểu đường type 2, béo phì, mỡ nội tạng, bệnh Alzheimer, tác dụng kháng khuẩn và chống viêm v.v.[6]

Nảy mầm được cho là phương pháp đơn giản và hiệu quả để cải thiện chất lượng hạt. Trong quá trình nảy mầm một số hợp chất chức năng có thể trở nên phong phú hơn và ngược lại một số hợp chất bất lợi có thể bị phân hủy. Những nghiên cứu gần đây cho thấy ở giai đoạn nhất định hạt cà phê nảy mầm tăng hàm lượng CGA, γ -aminobutyric acid và giảm hàm lượng caffein [7-8]. Nghiên cứu này nhằm khảo sát sự thay đổi của nhóm chất chống oxy hóa polyphenol, flavonoid có lợi cho sức khỏe trong quá trình nảy mầm của hạt cà phê robusta ở Đam Rông (Lâm Đồng) cũng như hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết cà phê nảy mầm. Hướng nghiên cứu sẽ là cơ sở và tiềm năng ứng dụng bột hạt cà phê nảy mầm làm thực phẩm chức năng, đồ uống có lợi cho sức khỏe.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Cà phê robusta (*Coffea canephora*) chín được thu hái tại vườn sản xuất từ trên 3 năm tuổi tại Đam Rông – Lâm Đồng. Lựa chọn quả chín đỏ mọng hoàn toàn, không bị sâu, không hư hỏng. Thời gian thu hoạch vào tháng 11 đến đầu tháng 12.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm khảo sát thời gian nảy mầm hạt cà phê robusta được bố trí với 8 nghiệm thức. Nghiệm thức 1 đối chứng cà phê robusta nguyên liệu ban đầu không xử lý nảy mầm. Các nghiệm thức còn lại từ 2 đến 8 tương ứng với thời gian nảy mầm được khảo sát lần lượt là 3; 5; 7; 9; 11; 13 và 15 ngày. Khối lượng mẫu mỗi nghiệm thức gồm 300 hạt cà phê robusta. Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần.

2.2.2. Phương pháp nảy mầm cà phê xanh

Cà phê robusta thu hái đạt độ chín sinh lý, được bảo quản ở điều kiện phòng để chuẩn bị cho quá trình nảy mầm. Hạt cà phê được cẩn thận bóc lớp vỏ thật bên ngoài và hạn chế gây tổn thương nhân hạt. Nhằm mục đích làm sạch hạt và hạn chế quá trình hư hỏng, tạp nhiễm vi sinh vật trong quá trình nảy mầm, hạt cà phê được xử lý NaClO 1% trong 2 phút. Sau đó hạt được rửa bằng nước cất 3 lần. Trước khi ủ hạt trong khoảng thời gian khảo sát thí nghiệm, hạt được ngâm nước cất giúp hạt ngậm đủ lượng nước cần thiết cho giai đoạn nảy mầm với nước cất tỷ lệ 1:1 theo khối lượng trong vòng 14 giờ. Quá trình ủ mầm kết hợp với vải gạc giữ nước và đặt hạt lên trên nhằm duy trì độ ẩm phân bố đều [9]. Định kì phun nước hàng ngày nhằm đảm bảo độ ẩm nảy mầm thích hợp. Tiến hành ủ ở nhiệt độ phòng với độ ẩm tương đối $RH\% = 80 \pm 3\%$.

Hạt cà phê nảy mầm được xác định khi có dấu hiệu mầm trắng nhô lên khỏi bề mặt hạt. Tiến hành đo và xác định kích thước mầm (đơn vị mm). Tỷ lệ hạt cà phê nảy mầm được xác định bằng tỷ lệ % hạt nảy mầm/tổng số hạt.

2.2.3. Tách chiết thành phần phenolic của hạt cà phê nảy mầm

Hạt cà phê nảy mầm sau khi sấy 60 °C trong 8 giờ được tách chiết hợp chất phenolic. Đầu tiên, nghiền hạt cà phê nảy mầm thành bột bằng máy nghiền mẫu Wonder Blender WB-1 (Nhật Bản) và 0,5 g bột được tách chiết với 10 mL hỗn hợp dung môi aceton 80%. Quá trình tách chiết trong bóng tối và điều kiện lạnh trong vòng 2 giờ. Kết thúc quá trình dịch mẫu được ly tâm 10 phút, 5000 rpm và thu dịch lọc để phục vụ các phân tích tiếp theo [10].

2.2.4. Phương pháp phân tích

Phương pháp xác định polyphenol tổng số: Hàm lượng polyphenol tổng số của dịch chiết hạt cà phê nảy mầm được xác định bằng phương pháp so màu với đường chuẩn Gallic acid và thuốc thử Folin-Ciocalteu. Lấy 100 μ L dung dịch mẫu cho vào 4,5 mL nước cất, 100 μ L thuốc thử Folin-Ciocalteu và

300 μL dung dịch Na_2CO_3 20% để phản ứng xảy ra trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng trước khi tiến hành đo quang phổ bằng máy UV-Vis ở bước sóng 760 nm. Hàm lượng polyphenol tổng số được biểu diễn dưới dạng tương đương Gallic acid (mg GAE/g chất khô) (GAE-gallic acid equivalent) [11].

Phương pháp xác định flavonoid: Hàm lượng flavonoid được xác định bằng phương pháp so màu AlCl_3 . Catechin được dùng làm chất chuẩn. Lấy 125 μL dung dịch mẫu thêm 1,025 μL nước cất, thêm 37 μL dung dịch NaNO_2 và ủ trong 4 - 6 phút ở nhiệt độ phòng. Tiếp tục cho thêm 75 μL dung dịch AlCl_3 10%, ủ trong 5-7 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó thêm 0,25 mL dung dịch 4N NaOH và đo độ hấp thụ ở bước sóng 510 nm. Kết quả biểu diễn dưới dạng tương đương catechin (mg CE/g chất khô) (CE-catechin equivalent) [12-13].

Xác định hoạt tính chống oxy hóa ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid): Phương pháp xác định hoạt tính chống oxy hóa ABTS là phương pháp dựa trên khả năng làm giảm độ hấp thụ của gốc tự do cation ABTS bởi các hoạt chất có hoạt tính chống oxy hóa ở bước sóng 734 nm, cường độ màu của ABTS tỉ lệ nghịch với nồng độ các chất chống oxy hóa và thời gian phản ứng [14]. Ascorbic acid được sử dụng làm chất chuẩn. Lấy 40 μL dung dịch mẫu trộn đều với 40 μL ABTS. Tiến hành đo độ hấp thụ ở bước sóng 734 nm sau khi để các ống nghiệm ở nhiệt độ phòng, bóng tối trong 6 phút. Tiến hành tương tự đối với mẫu nghiên cứu. Kết quả được biểu diễn dưới dạng tương đương vitamin C (mg VCE/g chất khô) (VCE-Vitamin C equivalent).

Xác định hoạt tính chống oxy hóa bằng phương pháp FRAP (Ferric reducing antioxidant power): Hoạt tính chống oxy hóa của hợp chất phenolics được xác định bằng phương pháp FRAP thông qua khả năng khử phức 2,4,6-tripyridyl-s-triazine $[\text{Fe}^{3+}-(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ thành phức chất màu có màu xanh đậm $[\text{Fe}^{2+}-(\text{TPTZ})_2]^{2+}$ trong môi trường acid theo Iris & Strain, 1996 có sửa đổi. Ascorbic acid được sử dụng làm chất chuẩn. Bổ sung 0,5 mL dung dịch chuẩn ở mỗi nồng độ vào các ống nghiệm tương ứng. Thêm 2,5 mL phosphate buffer (0,2 M ; pH 6,6) và 2,5 mL potassium ferricyanide 1% vào mỗi ống và lắc nhẹ. Các ống nghiệm được ủ ở 50 $^\circ\text{C}$ trong 20 phút. Sau đó thêm 2,5 mL dung dịch acid trichloroacetic 10% vào mỗi ống, Tiến hành ly tâm ở 2000 rpm trong 10 phút. Thu hồi 2,5 mL dịch trong ở lớp trên trộn với 2,5 mL nước cất. Cuối cùng thêm 0,5 mL FeCl_3 0,1% trước khi tiến hành đo độ hấp thụ ở bước sóng 700 nm. Kết quả được biểu diễn dưới dạng tương đương vitamin C (mg VCE/g chất khô) [15].

Xử lý số liệu: Số liệu thí nghiệm được phân tích trên phần mềm Microsoft Excel và IBM SPSS 20 Statistics. Kết quả được trình bày dưới dạng trung bình \pm độ lệch chuẩn. Tương quan giữa hai yếu tố sử dụng hệ số tương quan Pearson (Pearson correlation coefficient). Phân tích phương sai ANOVA và kiểm định Tukey được thực hiện nhằm đánh giá mức độ sai khác giữa các giá trị trung bình ở mức ý nghĩa 0,05.









3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Quá trình nảy mầm hạt cà phê robusta

Chất lượng cà phê sau thu hoạch là một chuỗi phức tạp ảnh hưởng bởi các biến đổi sinh học, trong đó có quá trình nảy mầm và lên men v.v. Quá trình nảy mầm bắt đầu khi quả chín và một loạt các phản ứng trao đổi chất diễn ra ảnh hưởng đến thành phần carbohydrate, protein, lipid và các hoạt chất sinh học khác trong nhân hạt [16]. Tuy nhiên, những nghiên cứu về sự thay đổi các hoạt chất của hạt cà phê nảy mầm rất khan hiếm. Lớp vỏ lụa bao bọc nhân hạt hút nước và trương nở sau đó bị bong ra khi nảy mầm. Sự phát triển của mầm hạt cà phê theo thời gian thí nghiệm được thể hiện ở Bảng 1.

Nhân hạt cà phê có cấu trúc rắn chắc, màu hơi xanh được bao bọc bởi lớp vỏ lụa màu bạc bên ngoài. Sau khi xử lý quả cà phê để nảy mầm (ngày 0) một đầu ở mặt lưng nhân cà phê quan sát kỹ sẽ thấy chấm trắng là phôi mầm nằm bên trong nội nhũ hạt. Sau 7 ngày, mầm phát triển và bắt đầu nhô ra khỏi hạt, tỷ lệ hạt nảy mầm chiếm $54,33 \pm 1,76\%$ nhưng kích thước mầm rất nhỏ, khó xác định. Từ ngày nảy mầm thứ 9 đến ngày 15, kích thước mầm đạt 1-2 mm và tỷ lệ nảy mầm đạt $63,67 \pm 1,76\%$ đến $87,67 \pm 3,53\%$ (Bảng 1).

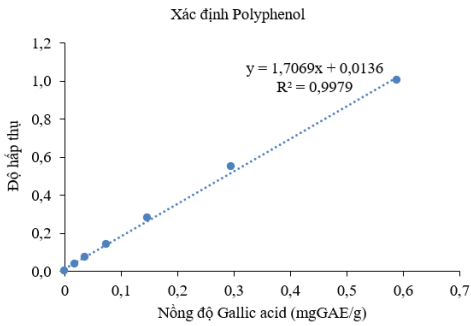
Bảng 1. Sự thay đổi hình dạng hạt cà phê trong quá trình nảy mầm

Thời gian theo dõi (ngày)	Biểu hiện	Hình ảnh
0	Mẫu đối chứng chưa nảy mầm Dấu hiệu chám trắng mầm không rõ rệt	
3	Bắt đầu xuất hiện chám trắng mầm nhỏ, nhưng chưa nhô ra khỏi mặt hạt	
5	Xuất hiện dấu hiệu màu trắng mầm rõ rệt Mầm vẫn còn ẩn trong nội nhũ hạt	
7	Mầm màu trắng trong nội nhũ bắt đầu nhô lên Phần lớn mầm chưa nhú ra khỏi bề mặt hạt Chiếm tỷ lệ $54,33 \pm 1,76\%$ Kích thước mầm khó xác định	
9	Mầm trắng đã nhú ra khỏi bề mặt hạt Kích thước mầm < 1 mm chiếm tỷ lệ $63,67 \pm 1,76\%$	
11	Đa số mầm phát triển ra khỏi bề mặt hạt. Kích thước mầm trung bình 1-1,5 mm Tỷ lệ nảy mầm $70,67 \pm 2,6\%$	
13	Mầm phát triển hoàn toàn ra khỏi bề mặt hạt Chiều dài mầm lớn hơn 2 mm Tỷ lệ nảy mầm $75,33 \pm 1,76 \%$	
15	Đa số mầm phát triển tốt Chiều dài mầm lớn hơn 2 mm Tỷ lệ nảy mầm $87,67 \pm 3,53\%$	

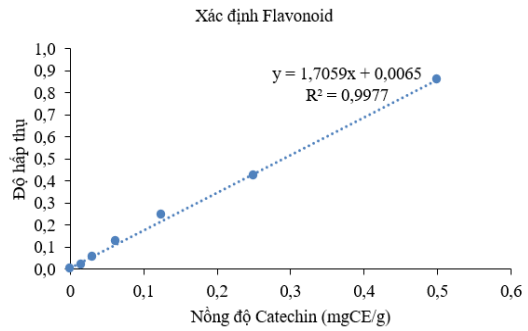
3.2. Ảnh hưởng của thời gian nảy mầm của hạt cà phê robusta đến hàm lượng polyphenol tổng và flavonoid tổng

Cà phê là thức uống phổ biến và có nhiều tác động ảnh hưởng đến sức khỏe. Cà phê không chỉ là nguồn giàu caffeine mà còn là nguồn giàu các hợp chất có hoạt tính sinh học gồm polyphenol như là chlorogenic acid, caffeic acid, ferulic acid v.v. và chúng thể hiện hoạt tính chống oxy hóa [17]. Các hợp chất sinh học chống oxy hóa của hạt cà phê giảm dần sau quá trình rang do nhiệt độ rang cao [18] nhưng ngược lại chúng lại được cải thiện ở những điều kiện nhất định trong giai đoạn nảy mầm [7]. Hàm lượng polyphenol và flavonoid được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn của gallic acid và catechin. Phương trình đường tuyến tính về sự tương quan giữa hàm lượng chất chuẩn và độ hấp thụ trong dung

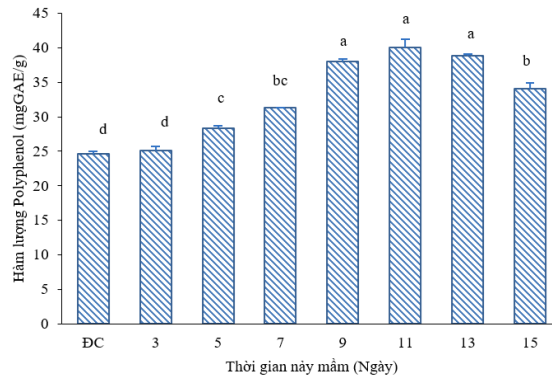
dịch mẫu được thể hiện ở Hình 1 và 2. Kết quả sự thay đổi của thành phần polyphenol trong quá trình nảy mầm hạt cà phê robusta được thể hiện ở Hình 3.



Hình 1. Phương trình đường chuẩn Gallic acid



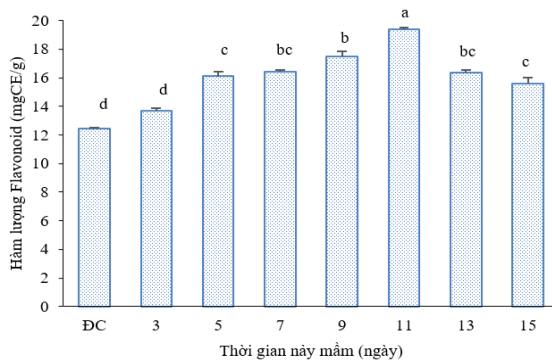
Hình 2. Phương trình đường chuẩn Catechin



Hình 3. Hàm lượng polyphenol tổng thay đổi theo thời gian nảy mầm hạt cà phê robusta (Các cột có các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$)

Qua kết quả hình 3 cho thấy, hàm lượng polyphenol tổng là $24,64 \pm 0,3$ mg GAE/g chứa trong hạt cà phê trước khi nảy mầm không thay đổi có ý nghĩa thống kê sau 3 ngày nảy mầm ($p < 0,05$). Tuy nhiên, sau 5-7 ngày nảy mầm sự tăng hàm lượng polyphenol tổng đạt giá trị sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) lần lượt là $28,37 \pm 0,39$ và $31,29 \pm 0,08$ mg GAE/g. Sau 9-13 ngày nảy mầm, hàm lượng polyphenol tổng đạt giá trị cao nhất $38 \pm 0,33$ đến $40 \pm 1,19$ mg GAE/g và giảm rõ rệt ở ngày thứ 15 đạt $34,02 \pm 0,93$ mg GAE/g ($p < 0,05$). Như vậy, hàm lượng polyphenol tổng khác biệt không đáng kể sau 9 – 13 ngày nảy mầm về mặt ý nghĩa thống kê và đạt giá trị cao nhất ở ngày nảy mầm thứ 11 là $40 \pm 1,19$ mg GAE/g ($p < 0,05$).

Flavonoid là nhóm phenolic khá phổ biến trong thực vật. Việc hàm lượng polyphenol tổng thay đổi trong quá trình nảy mầm sẽ ảnh hưởng đến sự chuyển đổi giữa các thành phần phenolic. Vì vậy, cần phân tích sự thay đổi của flavonoid trong quá trình nảy mầm được biểu hiện ở Hình 4.

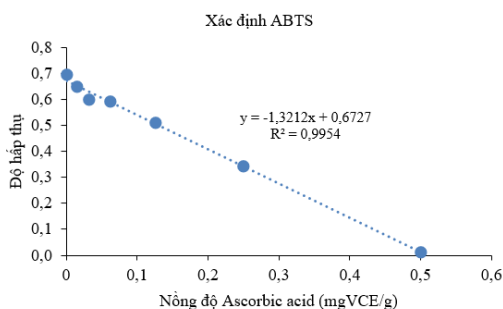


Hình 4. Hàm lượng flavonoid thay đổi theo thời gian nảy mầm hạt cà phê robusta (Các cột có các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$)

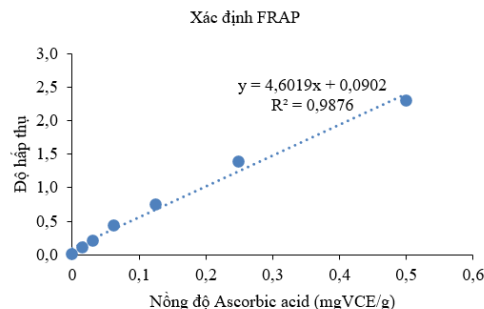
Hàm lượng flavonoid dao động từ $12,44 \pm 0,05$ đến $19,38 \pm 0,16$ mgCE/g tương ứng nghiệm thức đối chứng và 11 ngày nảy mầm đạt giá trị cao nhất ($p < 0,05$). Sau 5 ngày nảy mầm hàm lượng flavonoid tăng có sự sai khác ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với đối chứng và nghiệm thức 3 ngày nảy mầm. Tuy nhiên xu hướng tăng hàm lượng flavonoid theo thời gian thí nghiệm bị thay đổi ở ngày thứ 13 đến ngày 15 theo chiều hướng giảm lần lượt là $16,38 \pm 0,17$ và $15,59 \pm 0,43$ mgCE/g ($p < 0,05$). Theo Manach và cộng sự (2004) những hợp chất phenolic là chất chuyển hóa thứ cấp liên quan đến sự thích nghi của thực vật với điều kiện căng thẳng của môi trường [19]. Do đó, ở giai đoạn nảy mầm thích hợp các hợp chất này tăng để đáp ứng lại điều kiện sinh lý thay đổi sau đó có xu hướng giảm dần [7].

3.3. Hoạt tính chống oxy hóa ABTS và FRAP thay đổi theo thời gian nảy mầm hạt cà phê robusta

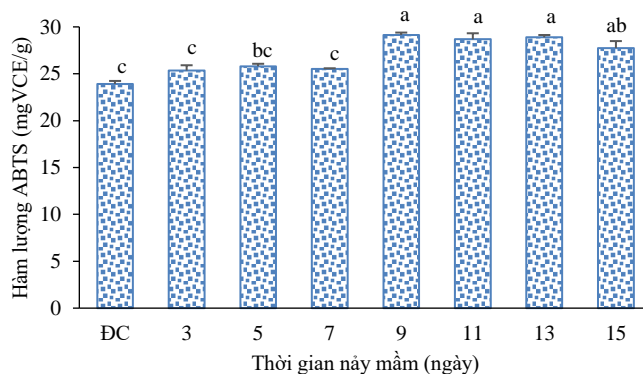
Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của hợp chất phenolic thay đổi trong quá trình nảy mầm hạt cà phê robusta bằng cách đo khả năng chống oxy hóa ABTS và năng lực khử sắt FRAP. Từ độ hấp thụ và nồng độ chất chuẩn ban đầu được xác định đường tuyến tính thể hiện lần lượt ở Hình 5 và 6.



Hình 5. Phương trình đường chuẩn Ascorbic acid



Hình 6. Phương trình đường chuẩn Ascorbic acid

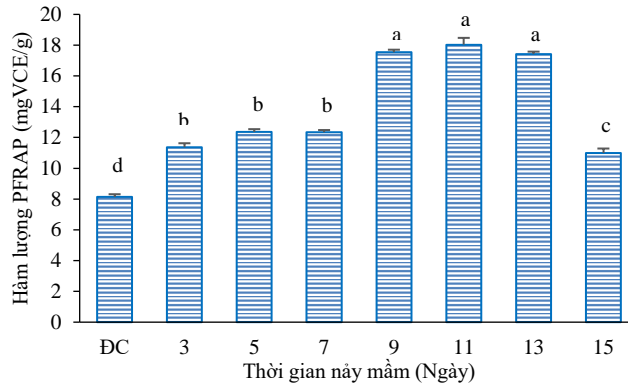


Hình 7. Hoạt tính chống oxy hóa ABTS thay đổi theo thời gian thí nghiệm (Các cột có các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$)

Từ kết quả phương trình đường chuẩn xác định được hoạt tính chống oxy hóa ABTS và FRAP có trong mẫu được thể hiện ở Hình 7 và 8 như sau:

Kết quả cho thấy khả năng chống oxy hóa của dịch chiết hạt cà phê nảy mầm tỷ lệ thuận với sự dao động của hàm lượng polyphenol tổng. Hoạt tính chống oxy hóa ABTS của dịch chiết cà phê nảy mầm sau 3; 5; và 7 ngày không có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê so với đối chứng ($p < 0,05$). Tuy nhiên, thời gian nảy mầm từ ngày thứ 9 trở đi đến ngày 15 thì hoạt tính chống oxy hóa ABTS tăng mạnh có sự sai khác có ý nghĩa thống kê đạt $27,74 \pm 0,72$ đến $29,13 \pm 0,26$ mgVCE/g so với các nghiệm thức còn lại $23,91 \pm 0,33$ đến $25,8 \pm 0,07$ mgVCE/g ($p < 0,05$). Hiệu quả chống oxy hóa ABTS đạt mức cao nhất ở nghiệm thức 9 ngày nảy mầm, tăng 1,22 lần so với đối chứng.

Bên cạnh đó hiệu quả kháng oxy hóa dịch chiết hạt cà phê nảy mầm còn được phân tích dựa trên chỉ số năng lực khử sắt FRAP, kết quả được trình bày ở Hình 8.



Hình 8. Năng lực khử sắt của dịch chiết hạt cà phê nảy mầm theo thời gian thí nghiệm (Các cột có các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$)

Tương tự hoạt tính chống oxy hóa ABTS, kết quả Hình 8 giá trị FRAP cho thấy năng lực khử sắt tỷ lệ thuận với hàm lượng chất kháng oxy hóa polyphenol tổng. Hiệu quả khử sắt của dịch chiết hạt cà phê nảy mầm tăng nhẹ sau 3-7 ngày nảy mầm là $11,37 \pm 0,26$ đến $12,37 \pm 0,8$ mgVCE/g. Sau đó, giá trị này tăng mạnh từ ngày nảy mầm thứ 9 đến ngày 13 đạt $17,43 \pm 0,15$ đến $18,03 \pm 0,44$ mgVCE/g so với đối chứng là $8,13 \pm 0,18$ mgVCE/g. Tuy nhiên, giá trị FRAP không tiếp tục tăng mà lại giảm ở những ngày nảy mầm tiếp theo và đạt $10,99 \pm 0,29$ mgVCE/g ở ngày thứ 15 ($p < 0,05$). Như vậy, xét về hiệu quả khử sắt của dịch chiết hạt cà phê nảy mầm đạt giá trị cao nhất sau 11 ngày và tăng gấp 2,22 lần so với đối chứng.

Kết quả so sánh tương quan giữa hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa ABTS và FRAP của dịch chiết hạt cà phê nảy mầm qua phân tích tương quan Pearson correlation được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Mối tương quan giữa hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa ABTS và FRAP

	ABTS	FRAP
Polyphenol	0,937**	0,859**
Flavonoid	0,758**	0,847**

** Tương quan có ý nghĩa ở mức 0,01

Kết quả cho thấy có sự tương quan thuận giữa hàm lượng polyphenol, flavonoid và giá trị hoạt tính chống oxy hóa ABTS, FRAP với hệ số tương quan ở mức ý nghĩa 0,01. Quá trình nảy mầm hạt dưới sự xúc tác của các enzyme làm thay đổi tỷ lệ, thành phần các hoạt chất sinh học trong đó có nhóm phenolic. Thực vật sản xuất ra các hợp chất nhóm phenolic để đối phó với các gốc oxy hoạt tính và các gốc tự do chất nền được tạo ra trong quá trình quang hợp phát triển. Sự thay đổi hàm lượng polyphenol tổng, flavonoid tổng thể hiện hoạt tính chống oxy hóa thay đổi trong quá trình nảy mầm. Có sự tương quan giữa hàm lượng polyphenol tổng, flavonoid tổng và hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết hạt cà phê nảy mầm. Hàm lượng hai hoạt chất này có sự biến động theo thời gian nảy mầm, đạt kết quả cao nhất sau 11 ngày nảy mầm. Sự biểu hiện tăng các hoạt tính này có thể do tăng hàm lượng các hợp chất có tác dụng sinh học cao của nhóm phenolic

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy rằng trong quá trình hạt cà phê nảy mầm, có một khoảng thời gian nhất định hàm lượng các hoạt chất sinh học tổng hợp đạt ở mức cao nhất sau đó giảm dần. Hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng đạt cao nhất ở ngày nảy mầm thứ 11 lần lượt là $40 \pm 1,19$ mg GAE/g và $19,38 \pm 0,16$ mgCE/g ($p < 0,05$). Bên cạnh đó, kết quả đánh giá hoạt tính chống oxy hóa ABTS và năng lực khử sắt FRAP đạt giá trị cao nhất lần lượt sau 9 và 11 ngày là $29,13 \pm 0,26$ mgVCE/g và $18,03 \pm 0,44$ mgVCE/g. Từ kết quả này cho thấy hạt cà phê nảy mầm ở thời gian thích hợp sẽ gia tăng những chất có hoạt tính sinh học (polyphenol, flavonoid) cũng như tăng hoạt tính chống oxy hóa (ABTS, FRAP) so với hạt cà

phê chưa nảy mầm. Là cơ sở khoa học trong việc ứng dụng cà phê nảy mầm trong điều trị bệnh và cải thiện lợi ích sức khỏe con người. Tiềm năng to lớn đa dạng hóa sản phẩm chế biến từ nguồn nông sản phổ biến này như thực phẩm chức năng (bột bổ sung, trà, dịch chiết v.v.) giàu chất chống oxy hóa.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này là một phần của đề tài nghiên cứu khoa học cấp cơ sở thực hiện từ 2022-2023. Nhóm nghiên cứu muốn cảm ơn Trường Đại học Đà Lạt đã hỗ trợ kinh phí thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. International Coffee Organization London (2013).
2. Moon J. K., H. S. Yood and T. Shibamoto - Role of roasting conditions in the level of chlorogenic acid content in coffee beans: Correlation with coffee acidity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57** (12) (2009) 5365-5369. <https://doi.org/10.1021/jf900012b>
3. Narges Tajik, Mahboubeh Tajik, Isabelle Mack, Paul Enck. - The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: a comprehensive review of the literature. *European Journal of Nutrition* **56** (2017) 2215-2244. <https://doi: 10.1007/s00394-017-1379-1>
4. Magdalena Jezka-Skowron, Aleksandra Sentkowska, Krystna Pyrzynska, Maria Paz De Pena. - Chlorogenic acids, caffeine content and antioxidant properties of green coffee extracts: influence of green coffee bean preparation. *European Food Research and Technology* **242** (2016) 1403-1409. <https://10.0.3.239/s00217-016-2643-y>
5. Farah A., Donangelo CM. - Phenolic compounds in coffee. *Brazilian Journal of Plant Physiology* **18** (2006) 23-36. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000100003>
6. Shearer J., Farah A. de Paulis T., Bracy DP, Penck RR, Graham TE, Wasserman DH. - Quinides of roasted coffee enhance insulin action in conscious rats. *Journal of Nutrition* **133** (2003) 3529-3532. <https://doi.org/10.1093/jn/133.11.3529>
7. Yeokyeong Kim, Yeongyil Kim, Deok- Young Jhon. - Changes of the chlorogenic acid, caffeine, γ -aminobutyric acid (GABA) and antioxidant activities during germination of coffee bean (*Coffea arabica*). *Emirates Journal of Food and Agriculture* **30** (8) (2018) 675-680. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2018.v30.i8.1763>
8. Wu F., N. Yang, A. Toure, Z. Jin and X. Xu. - Germinated brown rice and its role in human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **53** (5) (2013) 451-463. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.542259>
9. Da Silva, E. A. - Coffee (*Coffea arabica* cv. Rubi) Seed germination: Mechanism and regulation. PhD thesis, Wageningen University (2002) 8-16
10. Cheong M. W., K. H. Tong, J. J. M. Ong, S. Q. Liu, P. Curran, B. Yu. - Volatile composition and antioxidant capacity of Arabica coffee. *Food Research International* **51** (1) (2013) 388-396. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.058>
11. Vernon L. Singleton, Rudolf Orthofer, Rosa M. Lamuela-Raventos. - Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* **299** (1999) 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
12. Chang C., C., Yang M., H., Wen H., M., Chem J., C. - Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* **10** (3) (2002) 178-182. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
13. G. C. Bag, P. Grihanjali Devi, Th. Bhaigyabati. - Assessment of total flavonoid content and antioxidant activity of methanolic rhizome extract of three hedychim species of manipur valley. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* **30** (1) (2015)154-159.
14. Nikolaos Nenadis, Lan-Fen Wang, Maria Tsimidou, Hong-Yu Zhang. - Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS(*+) assay. *Journal of Agricultural Food Chemistry* **52** (15) (2004) 4669-4674. <https://doi.org/10.1021/jf0400056>
15. Iris F. F. Benzie and J. J. Strain. - The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* **239** (1996) 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>

16. Deborah M. Waters, Elke K. Arendt, Alice V. Moroni. – Overview on the mechanism of coffee germination and fermentation and their significance for coffee and coffee beverage quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **57** (2) (2017) 259-274. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.902804>
17. Vanessa Cropley, Rodney Croft, Beata Silber, Chris Neale, Andrew Scholey, Con Stough, Jeroen Schmitt. - Does coffee enriched with chlorogenic acids improve mood and cognition after acute administration in healthy elderly? A pilot study. *Psychopharmacology* **219** (2012) 737-749. <http://doi.org/10.1007/s00213-011-2395-0>
18. Wei, F., Tanokura, M. - Chemical changes in the components of coffee beans during roasting. Coffee in health and disease prevention. Chapter **10** (2015) 83-91. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00010-3>
19. Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. – Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* **79** (2004) 727-747. <http://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>

ABSTRACT

EFFECT OF GERMINATION TIME ON THE CHANGES OF BIOACTIVE COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF ROBUSTA COFFEE BEANS (*Coffea canephora*)

Nguyen Thi Thanh Tinh*, Pham Thi Bich Hoa, Vo Huynh Thanh Tuyen,
Ka Dum, Nguyen Vu Kieu Trinh, Duong Van Khoi, Nguyen Tien An
Faculty of Agriculture and Forestry, Dalat University

*Email: tinhntt@dlu.edu.vn

Fresh coffee beans are known as a rich source of bioactive compounds. However, these valuable substances decrease after roasting. Numerous studies show that the germination process improves the composition of the health-beneficial components. In the current study, Robusta coffee beans were used to investigate the change in polyphenols, flavonoids and their antioxidant activities during germination. The results showed that these two components significantly changed over a germination period, reaching their highest values of 40 ± 1.19 mg GAE/g and 19.38 ± 0.16 mg CE/g after 11 days of germination, followed by a gradual decrease ($p < 0.05$). The antioxidant activity of the germinated coffee bean extract was evaluated using two antioxidant assays, namely the ABTS radical scavenging capacity and the ferric reducing antioxidant power (FRAP). Both parameters varied in parallel with the changes in total polyphenol and flavonoid contents. The ABTS radical scavenging capacity increased by 1.22 folds, reaching 29.13 ± 0.26 mg VCE/g, and the FRAP assay values increased by 2.22 folds, reaching 18.03 ± 0.44 mg VCE/g compared to the control. These research findings indicated positive changes in bioactive compounds occurred in Robusta coffee beans during germination under optimal germination conditions. This study serves as an initial foundation for further research and the development of health-promoting functional foods derived from germinated Robusta coffee beans.

Keywords: Robusta coffee beans germination, polyphenol, flavonoid, antioxidant activity.