Исследование технологии производства экстрактов зёрен чёрного обжаренного кофе Арабика (*Coffea arabica*) и зелёного кофе Робуста (*Coffea canephora*) с антиоксидантной активностью: определение типа растворителя

Дмитрий Валерьевич Будылин

ФГБОУ ВО «Самарский государственный технический университет»
Адрес: 443100, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244
E-mail: chief.budylin2013@yandex.ru

Надежда Викторовна Макарова

ФГБОУ ВО «Самарский государственный технический университет»
Адрес: 443100, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244
E-mail: makarovav1969@yandex.ru

Мария Олеговна Карпова

ФГБОУ ВО «Самарский государственный технический университет»
Адрес: 443100, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244
E-mail: karpova-mara@mail.ru

Динара Фанисовна Игнатова

ФГБОУ ВО «Самарский государственный технический университет»
Адрес: 443100, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244
E-mail: dinara-bakieva@mail.ru

В данной статье исследуются показатели общего содержания фенолов, флавоноидов, антирадикальной активности по методу DPPH, восстанавливающей силы по методу FRAP для экстрактов зёрен чёрного обжаренного кофе Арабика (*Coffea arabica*) и зелёного кофе Робуста (*Coffea canephora*). Исследовались экстракты, полученные с использованием различных видов растворителей: вода, смесь вода-этанол (96%) (75% об./25% об.), смесь вода-этанол (50% об./50% об.), смесь вода-этанол (96%) (25% об./75% об.) и вода-этанол (96%). Определен тип растворителя, позволяющий максимально полно экстрагировать антиоксидантные вещества из кофе. Максимальные значения общего содержания фенольных веществ обнаружены в экстракте кофе Робуста на основе системы растворителей вода-этанол (75/25), для экстрактов чёрного кофе максимальные значения получены при его экстрагировании водой. Наивысшие показатели общего содержания флавоноидов установлены для экстрактов кофе Робуста и Арабика на основе воды. Низкая антирадикальная активность обнаружена в кофе Арабика и Робуста при соотношении растворителей вода-этанол (25/75). Наибольший показатель восстанавливающей силы обнаружен в экстракте кофе Робуста на основе воды, для получения высоких показателей восстанавливающей силы в экстрактах кофе Арабика в качестве растворителя рекомендуется использовать этанол. Таким образом, можно рекомендовать систему растворителей вода 50% – этанол 50% для получения экстрактов из зёрен чёрного обжаренного кофе Арабика (*Coffea arabica*) и зелёного кофе Робуста (*Coffea canephora*), обладающих способностью тормозить окислительный стресс в организме человека.

Ключевые слова: антиоксидантная активность; зёрна кофе Робуста (*Coffea canephora*); зёрна кофе Арабика (*Coffea arabica*); фенолы; флавоноиды; свободные радикалы; растворитель

Введение

Экстракция является начальным и наиболее важным этапом восстановления и очистки биоло-

гически активных соединений из растительных материалов. Многие факторы, такие как состав растворителя, температура экстракции и отношение растворителя к твердому веществу, могут

значительно влиять на эффективность экстракции, антиоксидантную активность и содержание фенолов (Carciochi, Sologubik, Fernández, Manrique, D'Alessandro, 2018, P. 1–10).

Выбор растворителя имеет решающее значение для экстракции. При выборе растворителя должны учитываться растворимость, селективность, стоимость, безопасность. Основываясь на законе подобия и смешиваемости: растворители со значением полярности, близким к полярности растворенного вещества, вероятно, будут работать лучше, и наоборот (Delfanian, Kenari, Sahari, 2015, P. 179–187).

Многие растворители, такие как этанол, метанол, ацетон, вода и их комбинации были использованы для извлечения соединений из растительного сырья. Несмотря на то, что водные органические растворители более эффективны, чем вода для извлечения биоактивных соединений из растительного сырья, вода остается наиболее используемым растворителем в пищевой и фармацевтической промышленности, благодаря своей недорогой, нетоксичной и экологически чистой среде (Tchabo, Ma, Kwaw, Xiao, Wu, Apaliya, 2018, P. 717–732).

Литературный обзор

Большинство проведенных исследований, в которых рассматриваются методы экстракции, касаются в основном поиска ответа на вопрос: сколько же кофеина содержится в кофе? Но помимо кофеина в кофе содержатся и другие вещества, такие как фенолы, флавоноиды, лактоны, ниацин, соединения, обладающие антиоксидантными свойствами. Примеры того, как на извлечение соединений, присутствующих в кофе могут влиять выбранные растворители, их соотношение, изменения температуры экстракции, представлены в следующих работах. Итальянские учёные в исследовании (Baiano, Previtali, 2018, P. 31–35) проводили оценку экстрактов кофе на основе воды для восьми марок кофейных капсул, шести марок домашнего кофе «тока» и пяти марок кофе из бара. В экстрактах оценивалось общее содержание фенолов, концентрации кофеина и хлорогеновых кислот, а также антиоксидантная активность. Кофе из капсул, домашний «тока» и кофе из бара, показали различные значения концентрации фенолов вследствие различных условий заваривания (время, температура, давление). Кофе из капсул показал самые высокие средние значения антиоксидантной активности среди трех типов исследуемого кофе.

Болгарские учёные провели (Boyadzhieva, Angelov, Georgieva, Yankov, 2018, P. 85–89) исследования на определение содержания полифенолов и антиоксидантной способности экстрактов из жареного кофе с содержанием использованного молотого кофе. Для определения состава растворителя, при котором извлекается максимальное количество целевых биоактивных компонентов, проводили экстракцию с различными концентрациями этанола (0, 24, 40, 48, 60, 72, 96%) в воде. Максимальное количество полифенолов извлекается при использовании в качестве растворителя 48%-го этанола.

Антиоксидантная активность тринадцати сортов кофе была исследована в экстрактах зеленых и жареных кофейных зерен (Priftis, Stagos, Konstantinopoulos, Tsitsimpikou, Spandidos, Tsatsakis, Tzatzarakis, Kouretas, 2015, P. 7293–7302). Наблюдаемые различия в антиоксидантной активности между различными сортами кофе можно объяснить их различной природой и составом полифенолов, а также наличием молекул, образующимися во время обжарки. Также показано, что время обжарки влияет на антиоксидантную активность жареных кофейных зерен.

На примере *Coffea arabica* L. учёные из Восточной Африки (Эфиопия) изучили (Geremu, Tola, Sualeh, 2016, P. 1–6) влияние трёх типов растворителей (80% водный метанол, 80% ацетон и 80% этанол) на способность извлекать максимальное количество полифенолов и обеспечивать высокий уровень антиоксидантной способности. Необходимо отметить, что уровень показателей зависит от типа используемого растворителя. При использовании в качестве растворителя 80% метанола экстракты кофе проявляют высокие значения содержания полифенолов, антиоксидантной активности.

Отработанная кофейная гуща является потенциально ценным источником липидов для устойчивого производства биотоплива. В исследовании (Efthymiopoulos, Hellier, Ladommatos, Kay, Mills-Lampitey, 2019, P. 253–264) представлены результаты лабораторных и экспериментальных исследований в масштабе завода по извлечению липидов из отработанного кофе, определение эффектов факторов экстракции растворителем, включая продолжительность, в отношении отработанной кофейной гущи к растворителю.

В исследовании (Ballesteros, Teixeira, Mussatto, 2014, P. 1322–1332) оценивалось влияние различных растворителей, таких как метанол, этанол, ацетон и дистиллированная вода с целью получения экс-

трактов из *Coffee Silverskin*, показывающие высокие значения антиоксидантной активности. Экстракты из *Coffee Silverskin* на основе метанола и этанола показали высокие результаты, но из-за низкой токсичности именно этанол был выбран в качестве оптимального растворителя, на основании чего проводились дополнительные эксперименты, чтобы максимизировать результаты экстракции.

На примере отработанной кофейной гущи в исследовании (Mariotti-Celis, Martínez-Cifuentes, Huamán-Castilla, Vargas-González, Pedreschi, Pérez-Correa, 2017, P. 1–11) изучали влияние комбинированного процесса экстракции жидкостью и горячей смолой под давлением на извлечение полифенолов и гидроксиметилфурфурола (ГМФ) из кофейной гущи. В качестве соразтворителя использовали этанол из-за того, что во время извлечения давлением это улучшает эффективность экстракции полифенолов при умеренных температурах и препятствует восстановлению ГМФ из кофейной гущи, тогда как экстракция чистой водой при высоких температурах (200°C) дает экстракты с нежелательным высоким содержанием ГМФ.

Польские учёные (Jeszka-Skowron, Sentkowska, Ryzyn'ska, Paz De Peña, 2016, P. 1403–1409) провели исследования экстрактов двенадцати образцов кофе из зёрен Робусты и Арабики разного географического происхождения, включая кофе на пару и кофе без кофеина. В качестве растворителя использовалась вода, и экстракты проверялись на содержание хлорогеновой кислоты и кофеина. Необходимо отметить, что процесс удаления кофеина не влияет на концентрацию хлорогеновой кислоты.

Влияние различий в расположении и типе зелёного кофе на общее содержание фенолов в зелёных кофейных зернах показано в исследовании (Perdani, Pranowo, Qonitatilah, 2019, P. 1–6). Кофе отличалось по двум факторам: вид (Робуста и Арабика) и место выращивания (например, Malang, Jember, Bondowoso и Banyuwangi). В качестве растворителя использовалась дистиллированная вода. Необходимо отметить, что тип и местоположение роста зеленого кофе оказывают существенное влияние на общее содержание фенолов.

На примере кофейных зёрен зелёного Робуста (*green coffee Robusta sp. Beans*) малазийские учёные провели исследование (Siva, Rajikin, Haiyee, Ismail, 2016, P. 1059–1065) экстракции. Метанол и изо-пропанол использовали в качестве экстракционного растворителя (в соотношении с водой 60:40). Кроме того, была проанализирована антиоксидантная активность и общее содержание фе-

нолов. Результаты показали, что оптимальным растворителем для получения необходимых результатов является изо-пропанол. Процентный выход хлорогеновой кислоты и общее содержание фенолов, экстрагированных с использованием изо-пропанола, был значительно выше по сравнению с метанолом.

Таким образом, на основании данных, проанализированных литературных источников, можно сделать вывод о решающем влиянии типа (природы, полярности) растворителя, используемого для экстракции, на уровень значений антиоксидантной активности зёрен кофе Робуста (*Coffea canephora*).

Кофе после нефти стал вторым самым ценным товаром во всем мире. Сегодня кофе является одним из наиболее широко употребляемых фармакологически активных напитков, и его потребление стало регулярной частью повседневной жизни во всем мире (Bae, Park, Im, Song, 2014, P. 189–191). Это объясняется тем, что кофе благотворно влияет на некоторые хронические заболевания, особенно сахарный диабет 2 типа (Reis, Dórea, Costa, 2019, P. 184–191).

Целью нашего исследования был подбор оптимального растворителя для зёрен чёрного обжаренного кофе Арабика (*Coffea arabica*) и зелёного кофе Робуста (*Coffea canephora*), для получения экстрактов с высокими значениями общего содержания фенолов, флавоноидов, антирадикальной активности по методу DPPH, восстанавливающей силы по методу FRAP.

Материалы и методы исследования

Проводилось исследование экстрактов зёрен чёрного обжаренного кофе Арабика (*Coffea arabica*) и зелёного кофе Робуста (*Coffea canephora*) растворителями: вода (дистиллированная) и этанол (96%) в различных соотношениях:

1. 100% вода;
2. 25% вода /75% этанол (96%);
3. 50% вода /50% этанол (96%);
4. 75% вода /25% этанол (96%);
5. 100% этанол (96%).

Для 5 образцов экстрактов, полученных из зёрен чёрного обжаренного кофе Арабика (*Coffea arabica*) и зелёного кофе Робуста, определяли такие показатели как:

- общее содержание фенольных веществ;
- общее содержание флавоноидов;

- антирадикальная активность по методу DPPH;
- восстанавливающая сила по методу FRAP.

Получение экстракта: 1 г исследуемого кофе переносят в стеклянную колбу с притертой крышкой и заливают 4 мл растворителя (для каждого растворителя 3 колбы). Экстракция кофе продолжается 24 ч в термостате при температуре 37°C. Полученный экстракт отделяют на центрифуге при 2500 об./мин в течение 30 мин.

Для испытания каждого отдельного образца кофе на одном растворителе были взяты 3 пробы. Измерения проводились трижды. Полученные результаты обработаны с помощью программы обработки статистических данных Minitab 18.

Определение общего содержания фенольных веществ в экстрактах кофе проводились на основе методики (Ribeiro, Luzia, Jorge, 2019, P. 1–10) с актуализацией для своих экстрактов кофе. Экстракт кофе на основе выбранного растворителя в количестве 0.25 см³ водного раствора реактива Фолина-Чокалтеу (в соотношении 1:1), 0.25 см³ раствора насыщенного карбоната натрия. Полученную смесь оставляют на 30 мин, оптическую плотность проб измеряют на спектрофотометре при длине волны 725 нм. По полученным значениям оптической плотности, используя калибровочную кривую, находят значения общего содержания фенольных веществ в мг галловой кислоты/100 г исходного сырья.

Определение общего содержания флавоноидов исследуют фотометрическим методом. Измерения оптической плотности раствора исследования на спектрофотометре проводят при длине световой волны 510 нм. Для обработки результатов измерений в качестве исходной методики была взята (Hudáková, Marcinčáková, Legáth, 2016, P. 34–38) с изменениями для экстрактов кофе. В исследуемый экстракт кофе объёмом 0.5 см³ добавляют 2.5 см³ дистиллированной воды, затем 0.15 см³ раствора нитрита натрия с концентрацией 5%, экспозиция 5 мин, прибавляют 0.3 см³ 10%-го раствора хлорида алюминия, оставляют на 5 мин. Результаты общего содержания флавоноидов определяют по калибровочной кривой и выражают в мг катехина/100 г исходного сырья.

Определение антирадикальной активности по методу DPPH экстрактов кофе в изучаемых растворителях проводилось с использованием раствора 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (DPPH) в этаноле, имеющего насыщенную пурпурно-синюю окраску. Методика (Xu, Wang, Liu, Yuan, Gao, 2015,

P. 946–954) была взята за базу и доработана для собственных типов экстрактов кофе. Из экстрактов на основе каждого типа растворителя для каждого образца кофе приготавливают растворы различной концентрации, из которых набирают в пробирку 0.2 см³, добавляют 2 см³ дистиллированной воды, 2 см³ раствора DPPH. Готовые растворы оставляют в затемненном месте на 30 мин. На спектрофотометре измеряется оптическая плотность полученных растворов исследования при длине световой волны 517 нм. Определение антирадикальной активности по методу DPPH ведется по показателю E_{c50}, как концентрации экстракта кофе, необходимой для поглощения 50% свободных радикалов DPPH.

В качестве исходной методики для определения восстанавливающей силы по методу FRAP используют метод (Kwak, Ji, Kim, Lee, Jeong, 2016, P. 15–19) с модификацией для экстрактов кофе. Смешивают в пробирке 0.1 см³ исходного экстракта кофе, 3 см³ дистиллированной воды, 1 см³ раствора реагента FRAP и выдерживают 4 мин в термостате при температуре 37°C. Измерение оптической плотности полученного раствора измеряют на спектрофотометре при длине световой волны 593 нм. Результаты восстанавливающей силы по методу FRAP рассчитывают по калибровочному графику в ммоль Fe²⁺/1 кг исходного сырья.

Результаты и обсуждения

Кофе, помимо кофеина содержит другие биологически активные соединения, включая фенольные соединения. Фенольные соединения представляют собой гетерогенную группу соединений, происходящих из вторичного метаболизма растений. Структурно фенольные соединения имеют, по меньшей мере, одно ароматическое кольцо, с которым одна или несколько гидроксильных групп связаны с ароматическими или алифатическими структурами. В последние годы фенольные соединения вызывают растущий интерес в науке и пищевой промышленности из-за их полезного воздействия на здоровье (Ambriz-Pérez, Leyva-López, Gutierrez-Grijalva, Heredia, 2016, P. 1–14). Наиболее распространенные фенольные соединения в растениях можно классифицировать на фенольные кислоты, токоферолы и флавоноиды (Hannan, Khan, Ullah, Ullah, 2016, P. 1–10). Фенольные кислоты и фенольные спирты представляют собой молекулы только с одним фенольным кольцом; другие фенольные соединения содержат более одного фенольного кольца и множество молекул, причем все они имеют полифенольную структуру (Ştefănescu, Szabo, Mocan, Crişan, 2019, P. 1–20).

Результаты испытаний определения общего содержания фенольных веществ в экстрактах зёрен чёрного обжаренного кофе Арабика (*Coffea arabica*) и зелёного кофе Робуста (*Coffea canephora*) представлены на Рисунке 1.

Высокий результат по содержанию фенольных веществ в экстрактах кофе Робуста (*Coffea canephora*) приходится на соотношение 75% вода/25% этанол – 1805 мг (ГК)/100 г. Несколько меньшее значение фенольных веществ приходится на экстракт кофе 50% вода/50% этанол – 1606 мг (ГК)/100 г. Экстракты в соотношении 25% вода/75% этанол, 100% вода, и 100% этанол показывают меньшие значения содержания фенольных веществ: 877 мг (ГК)/100 г, 858 мг (ГК)/100 г, 768 мг (ГК)/100 г соответственно.

В экстрактах зёрен чёрного обжаренного кофе Арабика (*Coffea arabica*) большее значение содержания фенольных веществ приходится на водный экстракт кофе и на соотношение 75% вода/этанол 25% – 1013 мг (ГК)/100 г и 1003 мг (ГК)/100 г соответственно. Содержание фенольных веществ в экстрактах зёрен кофе Арабика уменьшается приблизительно в 2 раза при использовании в качестве растворителя 100% этанола и таких соотношений как 25% вода/75% этанол, 50% вода/50% этанол – 499 мг (ГК)/100 г, 557 мг (ГК)/100 г, 634 мг (ГК)/100 г соответственно.

На основании результатов исследования содержания фенолов в экстрактах кофе можно сделать вывод, что максимальное количество фенольных

веществ в Робусте, экстрагируется с помощью соотношения растворителей вода-этанол 75/25, тогда как в Арабике большее количество фенольных веществ экстрагируется при использовании воды.

Флавоноиды представляют собой большую группу природных веществ с изменяющейся структурой, присутствующих почти во всех растущих частях растений и являются наиболее распространенным пигментом растений наряду с хлорофиллом и каротиноидами, а также обеспечивают аромат и вкус фруктов, цветов и семян. В настоящее время флавоноиды являются основными биологически активными соединениями, известными своей потенциальной пользой для здоровья, которые используются против многих хронических заболеваний, таких как рак, противовирусные, воспалительные, сердечно-сосудистые и нейродегенеративные заболевания. Содержание флавоноидов в пищевых продуктах варьируется, в зависимости от источника, овоща, фруктов или семян, а также от технологии обработки пищевого сырья (Ruiz-Cruz, Chaparro-Hernández, Hernández-Ruiz, Cira-Chávez, Estrada-Alvarado, Gassos Ortega, Ornelas-Paz, Lopez Mata, 2017).

Полученные результаты определения общего содержания флавоноидов в экстрактах зёрен чёрного обжаренного кофе Арабика (*Coffea arabica*) и зелёного кофе Робуста (*Coffea canephora*) представлены на Рисунке 2.

При экстракции водой содержания флавоноидов в зёрнах кофе Робуста (*Coffea canephora*) равно –

Рисунок 1. Результаты исследования общего содержания фенольных веществ в различных экстрактах зёрен чёрного обжаренного кофе Арабика (*Coffea arabica*) и зелёного кофе Робуста (*Coffea canephora*)

Рисунок 2. Результаты исследования общего содержания флавоноидов в различных экстрактах зёрен чёрного обжаренного кофе Арабика (*Coffea arabica*) и зелёного кофе Робуста (*Coffea canephora*)

339 мг (К)/100 г. Несколько меньшее содержание флавоноидов получено при экстракции 50% вода / 50% этанол: 304 мг (К)/100 г. Экстракты: 25% вода / 75% этанол, 100% этанол, 75% вода / 25% этанол показывают почти не отличающиеся значения содержания флавоноидов – 266 мг (К)/100 г, 261 мг (К)/100 г, 256 мг (К)/100 г соответственно.

Наивысшее значения содержания флавоноидов чёрный кофе Арабика (*Coffea arabica*) показал при его экстракции водой – 394 мг (К)/100 г. Немного меньшее значение содержания флавоноидов получено при соотношении вода-этанол (50/50) – 312 мг (К)/100 г. Более низкие значения содержания флавоноидов получились из экстрактов на основе 100% этанол (283 мг (ГК)/100 г), 25% вода/75% этанол (277 мг (ГК)/100 г) и 75% вода/25% этанол (272 мг (ГК)/100 г).

Для получения экстрактов из зёрен чёрного обжаренного кофе Арабика (*Coffea arabica*) и зелёного кофе Робуста (*Coffea canephora*) с высоким содержанием флавоноидов в качестве растворителя можно рекомендовать использовать воду, что очень выгодно с экономической точки зрения.

Свободные радикалы могут быть определены как молекулы или молекулярные фрагменты, содержащие один или несколько неспаренных электронов на атомных или молекулярных орбиталях (Gupta, Patel, Shah, Chaudhary, Jha, Yadav, Gupta, Pakuwal, 2014, P. 4405–4409). Свободные ради-

калы – это незаряженные, очень реактивные и недолговечные молекулы. Многие из этих радикалов полезны тем, что работают на иммунные клетки, ответственные за уничтожение бактериальных клеток и тонизирование гладких мышц, которые, в свою очередь, регулируют нормальную работу кровеносных сосудов и внутренних органов.

Свободные радикалы продуцируются во время генерации АТФ (аденозинтрифосфат) через митохондрии. Они обычно делятся на две общеизвестные сущности: активные формы кислорода (АФК) и активные формы азота (АФА). АФК и АФА вместе образуют все радикальные и нерадикальные (окислители) образования. Радикалы более реактивны и менее стабильны, чем их нерадикальные аналоги. Нерадикальные производные или окислители могут легко превращаться в свободные радикалы с помощью различных реакций в живых организмах (Rizwan, 2018, P. 1–4). Когда свободные радикалы подавляют способность организма регулировать их, возникает состояние, известное как окислительный стресс. Они неблагоприятно изменяют липиды, белки и ДНК, которые вызывают ряд заболеваний человека. АФК, которые в основном продуцируются сосудистыми клетками, участвуют в качестве возможных патогенных механизмов в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, включая ишемическую болезнь сердца, атеросклероз, сердечную аритмию, гипертонию и диабет (Singh, Devi, Gollen, 2015, P. 113–126).

По результатам исследования (Рисунок 3) антирадикальной активности экстрактов зёрен зелёного кофе Робуста (*Coffea canephora*) видно, что наименьшая антирадикальная активность обнаружена у экстракта на основе смеси вода-этанол (25/75) $E_{c50} = 0.26$ мг/см³. Другие экстракты с различными соотношениями воды и этанола, а также водный экстракт имеют показатели антирадикальной активности в несколько раз превышающие первое значение (75% вода/25% этанол – $E_{c50}=3.75$ мг/см³, 100% вода – $E_{c50}=4.62$ мг/см³, 50% вода/50% этанол – $E_{c50}=4.95$ мг/см³). Этанольный экстракт кофе обладает очень высокой антирадикальной активностью ($E_{c50} = 7.85$ мг/см³).

У экстрактов зёрен чёрного обжаренного кофе Арабика (*Coffea arabica*) на основе растворителей вода-этанол (25/75) наблюдается наименьшая антирадикальная активность – 0.86 мг/см³, при увеличении объёма воды в соотношении вода-этанол значения антирадикальной активности значительно возрастают (50% вода/50% этанол – $E_{c50}=4.55$ мг/см³, 75% вода/25% этанол – $E_{c50}=4.99$ мг/см³, 100% вода – $E_{c50} = 5.42$ мг/см³. Экстракт на основе этанола обладает наибольшей антирадикальной активностью – 8.95 мг/см³.

Итак, оптимальным растворителем для получения высоких показателей по улавливанию свободного радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила для экстрактов зёрен чёрного обжаренного кофе Арабика (*Coffea arabica*) и кофе Робуста (*Coffea canephora*) оптимальным будет являться соотношение 25% вода/75% этанол.

Метод FRAP основан на восстановлении Fe^{3+} до Fe^{2+} антиоксидантами в присутствии тридентатного лиганда 2,4,6-трипиридил-5-триамина, который образует с ионом железа окрашенный комплекс (Apak, Özyürek, Güclüç, Çaranoglu, 2016, P. 997–1027). В качестве восстановителя используются антиоксиданты в колориметрическом методе с окислительно-восстановительной связью, в котором используется легко восстановленная система окислителя (Gupta, 2015, P. 546–566).

Минимальное значение восстанавливающей силы (см. рис. 4) наблюдается в экстракте зёрен чёрного и зелёного кофе Робуста (*Coffea canephora*) на основе вода-этанол (75/25) – 36.18 ммоль Fe^{2+} /кг. Значение восстанавливающей силы значительно повышается при добавлении этанола: 50/50 вода-этанол 39.96 ммоль Fe^{2+} /кг. Далее наблюдается повышение восстанавливающей силы от содержания спирта в экстракте (25/75 – 43.2 ммоль Fe^{2+} /кг) и 100%-ный этанол – 47.52 ммоль Fe^{2+} /кг. Самый высокий показатель восстанавливающей силы приходится на экстракт на основе воды – 54,54 ммоль Fe^{2+} /кг.

Экстракт чёрного кофе Арабика (*Coffea arabica*) имеет наибольший показатель восстанавливающей силы для экстрактов на основе 100%-ного этанола – 7.29 ммоль Fe^{2+} /кг и системы растворителей вода-этанол (75/25) – 7.11 ммоль Fe^{2+} /кг. При использовании других систем растворителей вода-этанол и воды наблюдается уменьшение восстанавливающей силы: 6.12 ммоль Fe^{2+} /кг (25/75), 5.67 ммоль Fe^{2+} /кг (50/50), 4.23 ммоль Fe^{2+} /кг.

Рисунок 3. Результаты исследования антирадикальной активности по методу DPPH в различных экстрактах зёрен чёрного обжаренного кофе Арабика (*Coffea arabica*) и зелёного кофе Робуста (*Coffea canephora*)

Рисунок 4. Результаты исследования восстанавливающей силы по методу FRAP в различных экстрактах зёрен чёрного обжаренного кофе Арабика (*Coffea arabica*) и зелёного кофе Робуста (*Coffea canephora*)

Таким образом, для получения высоких показателей восстанавливающей силы у кофе Арабика (*Coffea arabica*) и кофе Робуста (*Coffea canephora*) нужно использовать в качестве растворителя этанол и воду соответственно.

Выводы

В результате проведения исследования технологических параметров производства экстрактов кофе, отличающихся используемым растворителем (100% вода, 25% вода /75% этанол (96%), 50% вода /50% этанол (96%), 75% вода /25% этанол (96%), 100% этанол (96%)), были получены следующие результаты:

1. Максимальные значения общего содержания фенольных веществ обнаружены в экстракте кофе Робуста на основе системы растворителей вода-этанол (75/25), для экстрактов чёрного кофе максимальные значения получены при его экстрагировании водой.
2. Наивысшие показатели общего содержания флавоноидов установлены для экстрактов кофе Робуста и Арабика на основе воды (Ruiz-Cruz, Chaparro-Hernández, Hernández-Ruiz, Cira-Chávez, Estrada-Alvarado, Gassos Ortega, Ornelas-Paz, Lopez Mata, 2017, P. 353–369).
3. Низкая антирадикальная активность обнаружена в кофе Арабика и Робуста при соотношении растворителей вода-этанол (25/75).
4. Наибольший показатель восстанавливающей силы обнаружен в экстракте кофе Робуста на

основе воды, для получения высоких показателей восстанавливающей силы в экстрактах кофе Арабика в качестве растворителя рекомендуется использовать этанол.

Таким образом, на основании сделанных выводов для получения средних значений общего содержания фенолов, флавоноидов, антирадикальной активности, восстанавливающей силы из зёрен чёрного кофе и зелёного кофе Робуста (*Coffea canephora*) лучше всего подойдет использовать систему растворителей вода 50% – этанол 50%.

Работа выполнена в рамках государственного задания на фундаментальные исследования Самарского государственного технического университета № 0778–2020–0005.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках государственного задания на фундаментальные исследования Самарского государственного технического университета № 0778–2020–0005.

Литература

- Ambriz-Pérez D.L., Leyva-López N., Gutierrez-Grijalva E.P., Heredia J. B. Phenolic compounds: natural alternative in inflammation treatment. A review // Food Science & Technology. 2016. Vol. 2. P. 1–14. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1131412>
- Apak R., Özyürek M., Güçlüç K., Çapanoğlu E. Antioxidant activity/capacity measurement. 1. clas-

- sification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (et)-based assays // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2016. Vol. 64, issue 5. P. 997–1027. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04739>
- Bae J.H., Park J.H., Im S.S., Song D.K. Coffee and health // *Integrative Medicine Research*. 2014. Vol. 3. P. 189–191. <http://dx.doi.org/10.1016/j.imr.2014.08.002>
- Baiano A., Previtali M.A. Coffee spent as a potential source of bioactive compounds // *Acta Scientific Nutritional Health*. 2018. Vol. 2, issue 1. P. 31–35. URL: <https://actascientific.com/ASNH/pdf/ASNH-02-0046.pdf> (дата обращения: 10.08.2020).
- Ballesteros L.F., Teixeira J.A., Mussatto S.I. Selection of the solvent and extraction conditions for maximum recovery of antioxidant phenolic compounds from coffee silverskin // *Food and Bioprocess Technology*. 2014. Vol. 7, issue 5. P. 1322–1332. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1115-7>
- Boyadzhieva S., Angelov G., Georgieva S., Yankov D. Characterization of polyphenol content and antioxidant capacity of spent coffee grounds // *Bulgarian Chemical Communications*. 2018. Vol. 50, issue C. P. 85–89. URL: http://bcc.bas.bg/BCC_Volumes/Volume_50_Special_C_2018/pdf/BCC-50-C-2018-85-89-Boyadzhieva-4.pdf (дата обращения: 10.08.2020).
- Carciochi R.A., Sologubik C.A., Fernández M.B., Manrique G.D., D'Alessandro L.G. Extraction of antioxidant phenolic compounds from brewer's spent grain: optimization and kinetics modeling // *Antioxidants*. 2018. Vol. 7, issue 4. P. 1–10. <https://doi.org/doi:10.3390/antiox7040045>
- Delfanian M., Kenari R.E., Sahari M.A. Influence of extraction techniques on antioxidant properties and bioactive compounds of loquat fruit (*eriobotrya japonica* lindl.) skin and pulp extracts // *Food Science & Nutrition*. 2015 Vol. 3, issue 3. P. 179–187. <http://dx.doi.org/10.1002/fsn3.201>
- Efthymiopoulos I., Hellier P., Ladommatis N., A. Kay, Mills-Lamptey B. Effect of solvent extraction parameters on the recovery of oil from spent coffee grounds for biofuel production // *Waste Biomass Valorization*. 2019. Vol. 10, issue 2. P. 253–264. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0061-4>
- Geremu M., Tola Y.B., Sualeh A. Extraction and determination of total polyphenols and antioxidant capacity of red coffee (*coffea arabica* l.) pulp of wet processing plants // *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 2016. Vol. 3. P. 1–6. <https://doi.org/10.1186/s40538-016-0077-1>
- Gupta D. Methods for determination of antioxidant capacity: A review // *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2015. Vol. 6, issue 2. P. 546–566. URL: <https://ijpsr.com/bft-article/methods-for-determination-of-antioxidant-capacity-a-review/?view=fulltext> (дата обращения: 13.08.2020).
- Gupta R.K., Patel A.K., Shah N., Chaudhary A.K., Jha U.K., Yadav U.C., Gupta P.K., Pakuwal U. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: A review // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*. 2014. Vol. 15, issue 11. P. 4405–4409. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.11.4405>
- Hannan P.A., Khan J.A., Ullah I., Ullah S. Synergistic combinatorial antihyperlipidemic study of selected natural antioxidants; modulatory effects on lipid profile and endogenous antioxidant // *Lipids in Health and Disease*. 2016. Vol. 15, issue 1. P. 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12944-016-0323-3>
- Hudáková J., Marcinčáková D., Legáth J. Study of antioxidant effects of selected types of coffee // *Folia Veterinaria*. 2016. Vol. 60, issue 3. P. 34–38. <https://doi.org/10.1515/fv-2016-0026>
- Jeszka-Skowron M., Sentkowska A., Pyrzyńska K., Paz De Peña M. Chlorogenic acids, caffeine content and antioxidant properties of green coffee extracts: influence of green coffee bean preparation // *European Food Research and Technology*. 2016. Vol. 242. P. 1403–1409. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2643-y>
- Kwak H.S., Ji S., Kim M., Lee Y., Jeong Y. Antioxidant activity and total polyphenol content of coffee extracted by three extraction methods // *AgroFOOD Industry Hi Tech*. 2016. Vol. 27, issue 1. P. 15–19. URL: https://www.teknoscienze.com/tks_article/antioxidant-activity-and-total-polyphenol-content-of-coffee-extracted-by-three-extraction-methods/ (дата обращения: 09.08.2020).
- Mariotti-Celis M.S., Martínez-Cifuentes M., Huamán-Castilla N., Vargas-González M., Pedreschi F., Pérez-Correa J. R. The antioxidant and safety properties of spent coffee ground extracts impacted by the combined hot pressurized liquid extraction–resin purification process // *Molecules*. 2017. Vol. 23, issue 1. P. 1–11. <https://doi.org/10.3390/molecules23010021>
- Perdani C.G., Pranowo D., Qonitatilah. Total phenols content of green coffee (*coffea arabica* and *coffea canephora*) in east Java // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2019. Vol. 230. P. 1–6. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/230/1/012093>
- Priftis A., Stagos D., Konstantinopoulos K., Tsitsimpikou C., Spandidos D.A., Tsatsakis A.M., Tzatzarakis M.N., Kouretas D. Comparison of antioxidant activity between green and roasted coffee beans using molecular methods // *Molecular Medicine Reports*. 2015. Vol. 12, issue 5. P. 7293–7302. <https://doi.org/10.3892/mmr.2015.4377>

- Reis C.E.G., Dórea J.G., Costa T.H.M. Effects of coffee consumption on glucose metabolism: a systematic review of clinical trials // *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2019. Vol. 9, issue 3. P. 184–191. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2018.01.001>
- Ribeiro E.F., Luzia D.M.M., Jorge N. Antioxidant compounds extraction from coffee husks: the influence of solvent type and ultrasound exposure time // *Acta Scientiarum. Technology*. 2019. Vol. 41. P.1–10.
- Rizwan A. Introductory chapter: Basics of free radicals and antioxidants // *Free Radicals, Antioxidants and Diseases*. Dammam: Imam Abdulrahman Bin Faisal University, 2018. P. 1–4. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76689>
- Ruiz-Cruz S., Chaparro-Hernández S., Hernández-Ruiz K.L., Cira-Chávez L.A., Estrada-Alvarado M.I., Gassos Ortega L.E., Ornelas-Paz J.J., Lopez Mata M.A. Flavonoids: important biocompounds in food // *Flavonoids – From Biosynthesis to Human Health*. Lisbon: Universidade de Lisboa, 2017. P. 353–369. <https://doi.org/10.5772/67864>
- Singh R., Devi S., Gollen R. Role of free radical in atherosclerosis, diabetes and dyslipidaemia: larger-than-life // *Diabetes Metabolism Research and Review*. 2015. Vol. 31, issue 2. P. 113–126. <https://doi.org/10.1002/dmrr.2558>
- Siva R., Rajikin N., Haiyee Z.A., Ismail W.I.W. Assessment of antioxidant activity and total phenolic content from green coffee robusta sp. beans // *Malaysian Journal of Analytical Sciences*. 2016. Vol. 20, issue 5. P. 1059–1065. <https://doi.org/10.17576/mjas-2016-2005-10>
- Ștefănescu B.E., Szabo K., Mocan A., Crișan G. Phenolic compounds from five ericaceae species leaves and their related bioavailability and health benefits // *Molecules*. 2019. Vol. 24, issue 11. P. 1–20. <https://doi.org/10.3390/molecules24112046>
- Tchabo W., Ma Y., Kwaw E., Xiao L., Wu M., Apaliya M.T. Impact of extraction parameters and their optimization on the nutraceuticals and antioxidant properties of aqueous extract mulberry leaf // *International Journal of Food Properties*. 2018. Vol. 21, issue 1. P. 717–732. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1446025>
- Xu H., Wang W., Liu X., Yuan F., Gao Y. Antioxidative phenolics obtained from spent coffee grounds (*coffea arabica* l.) by subcritical water extraction // *Industrial Crops and Products*. 2015. Vol. 76, issue 15. P. 946–954. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.054>

Study of the Technology for the Production of Extracts of Grains of Black Roasted Coffee Arabica (*Coffea Arabica*) and Green Coffee Robusta (*Coffea Canephora*) with Antioxidant Activity: Determination of the Type of Solvent

Dmitry V. Budylin

Samara State Technical University
244, Molodogvardeyskaya str., Samara, 443100, Russian Federation
E-mail: chief.budylin2013@yandex.ru

Nadezhda V. Makarova

Samara State Technical University
244, Molodogvardeyskaya str., Samara, 443100, Russian Federation
E-mail: makarovanv1969@yandex.ru

Maria O. Karpova

Samara State Technical University
244, Molodogvardeyskaya str., Samara, 443100, Russian Federation
E-mail: karpova-mana@mail.ru

Dinara F. Ignatova

Samara State Technical University
244, Molodogvardeyskaya str., Samara, 443100, Russian Federation
E-mail: dinara-bakieva@mail.ru

This article studies the indicators of the total content of phenols, flavonoids, antiradical activity according to the DPPH method, restoring strength according to the FRAP method for extracts of beans of roasted black coffee Arabica (*Coffea arabica*) and green coffee Robusta (*Coffea canephora*). We studied the extracts obtained using various types of solvents: water, a mixture of water-ethanol (96%) (75% vol./ 25% vol.), A mixture of water-ethanol (50% vol./ 50% vol.), A mixture of water ethanol (96%) (25% vol./ 75% vol.) and water-ethanol (96%). The type of solvent is determined, which allows the most complete extraction of antioxidant substances from coffee. The maximum values of the total phenolic content were found in Robusta coffee extract based on a water-ethanol solvent system (75/25); for black coffee extracts, the maximum values were obtained when it was extracted with water. The highest total flavonoid levels were found for water-based Robusta and Arabica coffee extracts. Low antiradical activity was found in Arabica and Robusta coffee with a ratio of solvents water-ethanol (25/75). The highest recovery power was found in water-based Robusta coffee extract; ethanol is recommended as a solvent to obtain high recovery power in Arabica coffee extracts. Thus, it is possible to recommend a solvent system of water 50% – ethanol 50% for extracts from beans of roasted black coffee Arabica (*Coffea arabica*) and green coffee Robusta (*Coffea canephora*), which have the ability to inhibit oxidative stress in the human body.

Keywords: antioxidant activity, Robusta coffee beans (*Coffea canephora*), Arabica coffee beans (*Coffea arabica*), phenols, flavonoids, free radicals, solvent

References

- Ambriz-Pérez D.L., Leyva-López N., Gutierrez-Grijalva E.P., Heredia J. B. Phenolic Compounds: Natural Alternative in Inflammation Treatment. A Review. *Food Science & Technology*, 2016, vol. 2, pp. 1–14. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1131412>
- Apak R., Özyürek M., Güçlü K., Çapanoğlu E. Antioxidant Activity/Capacity Measurement 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms,

- and Electron Transfer (ET)-Based Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, vol. 64, issue 5, pp. 997–1027. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04739>
- Bae J.H., Park J.H., Im S.S., Song D.K. Coffee and Health. *Integrative Medicine Research*, 2014, vol. 3, pp. 189–191. <http://dx.doi.org/10.1016/j.imr.2014.08.002>
- Baiano A., Previtali M.A. Coffee Spent as a Potential Source of Bioactive Compounds. *Acta Scientific Nutritional Health*, 2018, vol. 2, issue 1, pp. 31–35. URL: <https://actascientific.com/ASNH/pdf/ASNH-02-0046.pdf> (accessed 10.08.2020).
- Ballesteros L.F., Teixeira J.A., Mussatto S.I. Selection of the Solvent and Extraction Conditions for Maximum Recovery of Antioxidant Phenolic Compounds from Coffee Silverskin. *Food and Bioprocess Technology*, 2014, vol. 7, issue 5, pp. 1322–1332. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1115-7>
- Boyadzhieva S., Angelov G., Georgieva S., Yankov D. Characterization of Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Spent Coffee Grounds. *Bulgarian Chemical Communications*, 2018, vol. 50, issue C, pp. 85–89. URL: http://bcc.bas.bg/BCC_Volumes/Volume_50_Special_C_2018/pdf/BCC-50-C-2018-85-89-Boyadzhieva-4.pdf (accessed 10.08.2020).
- Carciochi R.A., Sologubik C.A., Fernández M.B., Manrique G.D., D'Alessandro L.G. Extraction of Antioxidant Phenolic Compounds from Brewer's Spent Grain: Optimization and Kinetics Modeling. *Antioxidants*, 2018, vol. 7, issue 4, pp. 1–10. <https://doi.org/doi:10.3390/antiox7040045>
- Delfanian M., Kenari R.E., Sahari M.A. Influence of Extraction Techniques on Antioxidant Properties and Bioactive Compounds of Loquat Fruit (*Eriobotrya Japonica* Lindl.) Skin and Pulp Extracts. *Food Science & Nutrition*, 2015, vol. 3, issue 6, pp. 613–613. <http://dx.doi.org/10.1002/fsn3.201>
- Efthymiopoulos I., Hellier P., Ladommatos N., A. Kay, Mills-Lamptey B. Effect of Solvent Extraction Parameters on the Recovery of Oil from Spent Coffee Grounds for Biofuel Production. *Waste Biomass Valorization*, 2019, vol. 1, issue 2, pp. 253–264. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0061-4>
- Geremu M., Tola Y.B., Sualeh A. Extraction and Determination of Total Polyphenols and Antioxidant Capacity of Red Coffee (*Coffea Arabica* L.) Pulp of Wet Processing Plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2016, vol. 3, pp. 1–6. <https://doi.org/10.1186/s40538-016-0077-1>
- Gupta D. Methods for Determination of Antioxidant Capacity: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2015, vol. 6, issue 2, pp. 546–566. URL: <https://ijpsr.com/bft-article/methods-for-determination-of-antioxidant-capacity-a-review/?view=fulltext> (accessed 13.08.2020).
- Gupta R.K., Patel A.K., Shah N., Chaudhary A.K., Jha U.K., Yadav U.C., Gupta P.K., Pakuwal U. Oxidative Stress and Antioxidants in Disease and Cancer: A Review. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 2014, vol. 15, issue 11, pp. 4405–4409. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.11.4405>
- Hannan P.A., Khan J.A., Ullah I., Ullah S. Synergistic Combinatorial Antihyperlipidemic Study of Selected Natural Antioxidants; Modulatory Effects on Lipid Profile and Endogenous Antioxidant. *Lipids in Health and Disease*, 2016, vol. 15, issue 1, pp. 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12944-016-0323-3>
- Hudáková J., Marcinčáková D., Legáth J. Study of Antioxidant Effects of Selected Types of Coffee. *Folia Veterinaria*, 2016, vol. 60, issue 3, pp. 34–38. <https://doi.org/10.1515/fv-2016-0026>
- Jeszka-Skowron M., Sentkowska A., Pyrzyńska K., Paz De Peña M. Chlorogenic Acids, Caffeine Content and Antioxidant Properties of Green Coffee Extracts: Influence of Green Coffee Bean Preparation. *European Food Research and Technology*, 2016, vol. 242, pp. 1403–1409. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2643-y>
- Kwak H.S., Ji S., Kim M., Lee Y., Jeong Y. Antioxidant Activity and Total Polyphenol Content of Coffee Extracted by Three Extraction Methods. *Agro-FOOD Industry Hi Tech*, 2016, vol. 27, issue 1, pp. 15–19. URL: https://www.teknoscienze.com/tks_article/antioxidant-activity-and-total-polyphenol-content-of-coffee-extracted-by-three-extraction-methods/ (accessed 09.08.2020).
- Mariotti-Celis M.S., Martínez-Cifuentes M., Huamán-Castilla N., Vargas-González M., Pedreschi F., Pérez-Correa J. R. The Antioxidant and Safety Properties of Spent Coffee Ground Extracts Impacted by the Combined Hot Pressurized Liquid Extraction–Resin Purification Process. *Molecules*, 2017, vol. 23, issue 1, pp. 1–11. <https://doi.org/10.3390/molecules23010021>
- Perdani C.G., Pranowo D. Qonitatilah. Total Phenols Content of Green Coffee (*Coffea Arabica* and *Coffea Canephora*) in East Java. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2019, vol. 230, pp. 1–6. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/230/1/012093>
- Priftis A., Stagos D., Konstantinopoulos K., Tsitsimikou C., Spandidos D.A., Tsatsakis A.M., Tzatzarakis M.N., Kouretas D. Comparison of Antioxidant Activity Between Green and Roasted Coffee Beans Using Molecular Methods. *Molecular Medicine Reports*, 2015, vol. 12, issue 5, pp. 7293–7302. <https://doi.org/10.3892/mmr.2015.4377>
- Reis C.E.G., Dórea J.G., Costa T.H.M. Effects of Coffee Consumption on Glucose Metabolism: A Systematic Review of Clinical Trials. *Journal of Traditional*

- and Complementary Medicine*, 2019, vol. 9, issue 3, pp. 184–191. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2018.01.001>
- Ribeiro E.F., Luzia D.M.M., Jorge N. Antioxidant Compounds Extraction from Coffee Husks: The Influence of Solvent Type and Ultrasound Exposure Time. *Acta Scientiarum. Technology*, 2019, vol. 41, pp. 1–10.
- Rizwan A. Introductory Chapter: Basics of Free Radicals and Antioxidants. *Free Radicals, Antioxidants and Diseases*. Dammam: Imam Abdulrahman Bin Faisal University, 2018, pp. 1–4. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76689>
- Ruiz-Cruz S., Chaparro-Hernández S., Hernández-Ruiz K.L., Cira-Chávez L.A., Estrada-Alvarado M.I., Gassos Ortega L.E., Ornelas-Paz J.J., Lopez Mata M.A. Flavonoids: Important Biocompounds in Food. *Flavonoids – From Biosynthesis to Human Health*. Lisbon: Universidade de Lisboa, 2017, pp. 353–369. <https://doi.org/10.5772/67864>
- Singh R., Devi S., Gollen R. Role of Free Radical in Atherosclerosis, Diabetes and Dyslipidaemia: Larger-Than-Life. *Diabetes Metabolism Research and Review*, 2015, vol. 31, issue 2, pp. 113–126. <https://doi.org/10.1002/dmrr.2558>
- Siva R., Rajikin N., Haiyee Z.A., Ismail W.I.W. Assessment of Antioxidant Activity and Total Phenolic Content from Green Coffee Robusta Sp. Beans. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 2016, vol. 20, issue 5, pp. 1059–1065. <https://doi.org/10.17576/mjas-2016-2005-10>
- Ștefănescu B.E., Szabo K., Mocan A., Crișan G. Phenolic Compounds from Five Ericaceae Species Leaves and Their Related Bioavailability and Health Benefits. *Molecules*, 2019, vol. 24, issue 11, pp. 1–20. <https://doi.org/10.3390/molecules24112046>
- Tchabo W., Ma Y., Kwaw E., Xiao L., Wu M., Apaliya M.T. Impact of Extraction Parameters and Their Optimization on the Nutraceuticals and Antioxidant Properties of Aqueous Extract Mulberry Leaf. *International Journal of Food Properties*, 2018, vol. 21, issue 1, pp. 717–732. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1446025>
- Xu H., Wang W., Liu X., Yuan F., Gao Y. Antioxidative Phenolics Obtained from Spent Coffee Grounds (*Coffea Arabica* L.) by Subcritical Water Extraction. *Industrial Crops and Products*, 2015, vol. 76, issue 15, pp. 946–954. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.054>