Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ
Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học
ISSN 1859-2333 | e-ISSN 2815-5599

DOI:10.22144/ctujos.2026.228

ẢNH HƯỞNG CỦA QUÁ TRÌNH LÊN MEN BẰNG VI KHUẨN LACTIC ĐẾN HÀM LƯỢNG PHENOLIC VÀ HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA CỦA DỊCH VỎ CÀ PHÊ

Huỳnh Nguyễn Phương Trang[1,2,3], Nguyễn Dương Hoàng Vinh[3], Hồ Hoàng Hải[3] và Trịnh Thị Phi Ly[4,*]

[1]*Bộ môn Vi sinh, Khoa Sinh học - Công nghệ sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên (TP. Hồ Chí Minh), Việt Nam*
[2]*Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam*
[3]*Công ty Cổ phần Công nghệ Enzyme Khai Minh Việt, Việt Nam*
[4]*Viện Nghiên cứu Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam*
**Tác giả liên hệ (Corresponding author): phily@hcmuaf.edu.vn*

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 23/02/2026
Sửa bài (Revised): 19/03/2026
Duyệt đăng (Accepted): 24/09/2026

Title: *Effects of lactic acid bacteria fermentation on phenolic compounds and antioxidant activity of coffee husk extract*

Author(s): *Huynh Nguyen Phuong Trang[1,2,3], Nguyen Duong Hoang Vinh[3], Ho Hoang Hai[3] and Trinh Thi Phi Ly[4,*]*

Affiliation(s): *[1]Department of Microbiology, Faculty of Biology and Biotechnology, University of Science (Ho Chi Minh City), Viet Nam; [2]Vietnam National University Ho Chi Minh City, Viet Nam; [3]Khai Minh Viet Enzyme Technology Joint Stock Company, Viet Nam; [4]Research Institute for Biotechnology and Environment, Nong Lam University - Ho Chi Minh City, Viet Nam*

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm đánh giá ảnh hưởng của quá trình lên men bằng các chủng vi khuẩn lactic (LAB) đến hàm lượng các hợp chất phenolic và hoạt tính chống oxy hóa của dịch vỏ cà phê. Kết quả cho thấy Lacticaseibacillus paracasei LC giúp tăng hàm lượng phenolic tổng số (TPC) từ 15,30 mg GAE/g lên mức tối đa 16,65 mg GAE/g sau 12 giờ. Đồng thời, L. paracasei LC duy trì hàm lượng axit chlorogenic (CGA) và axit caffeic (CA) ổn định, giúp dịch lên men đạt hoạt tính chống oxy hóa ABTS cao, đạt mức 17,89 mg AAE/g tại thời điểm 36 giờ. Trong khi đó, Lactiplantibacillus plantarum LP sinh trưởng mạnh nhất và làm giảm 15,30% hàm lượng caffeine sau 48 giờ, nhưng cũng làm giảm hàm lượng phenolic và hoạt tính chống oxy hóa trong giai đoạn 24 - 48 giờ. Những kết quả này khẳng định hiệu quả lên men phụ thuộc vào đặc tính chủng và thời gian lên men. Trong đó, L. paracasei LC và Limosilactobacillus fermentum LF phù hợp để phát triển đồ uống chức năng giàu chất chống oxy hóa, còn L. plantarum LP lại cho thấy tiềm năng ứng dụng trong sản xuất các sản phẩm lên men giảm caffeine từ vỏ cà phê.

Từ khóa: *Hoạt tính chống oxy hóa, hợp chất phenolic, lên men, vi khuẩn lactic (LAB), vỏ cà phê*

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effects of fermentation using lactic acid bacteria strains on phenolic compounds and antioxidant activity of coffee husk extracts. The results showed that Lacticaseibacillus paracasei LC increased the total phenolic content (TPC) from 15.30 to a maximum of 16.65 mg GAE/g after 12 h. L. paracasei LC maintained stable levels of chlorogenic acid (CGA) and caffeic acid (CA), leading to high ABTS radical scavenging activity, which peaked at 17.89 mg ascorbic acid equivalents per gram (mg AAE/g) at 36 h. Lactiplantibacillus plantarum LP exhibited the strongest proliferation and reduced caffeine content by 15.3% after 48 h; but also caused a decline in phenolic content and antioxidant capacity during the 24-48h. These findings indicate that fermentation efficiency depends on strain characteristics and fermentation time. Specifically, L. paracasei LC and Limosilactobacillus fermentum LF are suitable for developing antioxidant-rich functional beverages, while L. plantarum LP highlights its potential application in the production of low-caffeine fermented products from coffee husks.

Keywords: *Antioxidant activity, coffee husk, fermentation, lactic acid bacteria (LAB), phenolic compounds*

1. GIỚI THIỆU

Cà phê là một trong những mặt hàng nông sản được tiêu thụ lớn nhất toàn cầu, đóng vai trò quan trọng trong kinh tế của nhiều quốc gia. Trong đó, Việt Nam được ghi nhận là một trong các nước xuất khẩu cà phê robusta lớn nhất hiện nay (Stiefel et al., 2022). Sự phát triển mạnh mẽ của ngành công nghiệp cà phê kéo theo lượng phế phụ phẩm trong quá trình trồng trọt và chế biến tăng. Trong đó, vỏ cà phê chiếm từ 40 đến 45% khối lượng quả tươi tùy theo phương pháp chế biến và có nguy cơ gây ô nhiễm nếu không được xử lý thích hợp (Lee et al., 2023).

Vỏ cà phê chứa nhiều thành phần dinh dưỡng như carbohydrate, chất xơ hòa tan và không hòa tan, protein, lipid. Hơn nữa, hiện diện trong vỏ cà phê là các hợp chất có hoạt tính sinh học quan trọng như axit chlorogenic, axit caffeic, axit protocatechuic và flavonoid đã được chứng minh có khả năng mang lại nhiều lợi ích sức khỏe, như chống oxy hóa, kháng viêm, hỗ trợ chuyển hóa đường huyết và tăng cường sức khỏe đường ruột (Lee et al., 2023; Costa et al., 2025). Tuy nhiên, việc sử dụng trực tiếp vỏ cà phê còn gặp hạn chế do hàm lượng tannin và caffeine, gây ảnh hưởng đến vị giác cũng như khả năng tiêu hóa (Sarno & Iuliano, 2018; San Martin et al., 2021). Do đó, cần có các giải pháp xử lý để phát huy giá trị dinh dưỡng và sinh học của nguồn nguyên liệu dồi dào này.

Trong một số nghiên cứu gần đây, việc lên men bằng vi khuẩn lactic (LAB) được xem là giải pháp tiềm năng giúp nâng cao giá trị sinh học của phụ phẩm nông nghiệp này. Ngoài ra, các chủng LAB, đặc biệt thuộc chi *Lactobacillus*, đã được công nhận là an toàn (GRAS) bởi FDA và đồng thời được Cơ quan An toàn Thực phẩm Châu Âu (EFSA) đưa vào danh sách QPS (Qualified Presumption of Safety) – giả định đủ điều kiện về an toàn (Anumudu et al., 2024). Đồng thời, nhóm này có khả năng giải phóng các hợp chất phenolic liên kết, tăng chống oxy hóa và tạo ra axit hữu cơ góp phần nâng cao hoạt tính sinh học của nguyên liệu (Aguirre-Garcia et al., 2024; Méndez-Galarraga et al., 2025). Tuy nhiên, sự thay đổi này phụ thuộc rất lớn vào từng chủng vi khuẩn, điều kiện lên men, mật độ ban đầu và thời gian lên men.

López et al. (2013) ghi nhận lên men bã cà phê bằng LAB trong điều kiện kỵ khí giúp tăng đáng kể hoạt tính chống oxy hóa, thể hiện qua giá trị thu hồi gốc tự do cao hơn so với mẫu không lên men. Ngoài ra, một số chủng *L. plantarum* và *L. casei* được báo cáo có khả năng cải thiện hàm lượng phenolic tổng số của phụ phẩm cà phê, cho thấy tiềm năng tối ưu hóa hoạt tính chống oxy hóa (Myo et al., 2021; Sholichah et al., 2021).

Tại Việt Nam, các nghiên cứu về ứng dụng vi khuẩn lactic (LAB) bản địa trong lên men vỏ cà phê còn tương đối hạn chế. Các công bố trước đây chủ yếu tập trung vào quá trình lên men sử dụng các chủng vi sinh vật tham chiếu (từ ngân hàng vi sinh vật quốc tế American Type Culture Collection) nói chung, trong khi thông tin so sánh giữa các chủng LAB bản địa vẫn còn thiếu. Đặc biệt, sự biến đổi của hàm lượng polyphenol tổng, cũng như các hợp chất đặc trưng như axit chlorogenic, axit caffeic và caffeine, cùng với hoạt tính chống oxy hóa trong quá trình lên men vẫn chưa được khảo sát một cách hệ thống. Trên cơ sở kết quả nghiên cứu trước đây về khả năng cải thiện hàm lượng phenolic và hoạt tính chống oxy hóa của các chủng *Lactobacillus* (Huynh et al., 2025), nghiên cứu này được thực hiện nhằm tuyển chọn và đánh giá tiềm năng của các chủng bản địa phù hợp cho lên men vỏ cà phê. Nghiên cứu tập trung đánh giá khả năng sinh trưởng và hiệu quả chuyển hóa của các chủng LAB bản địa thông qua sự biến đổi hàm lượng polyphenol tổng và một số hợp chất chính, cũng như hoạt tính chống oxy hóa của dịch lên men vỏ cà phê. Kết quả nghiên cứu giúp cung cấp cơ sở khoa học cho việc ứng dụng lên men lactic nhằm nâng cao giá trị phụ phẩm, phát triển sản phẩm hỗ trợ sức khỏe và thúc đẩy tính bền vững của ngành công nghiệp cà phê Việt Nam.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Ba chủng vi khuẩn lactic bao gồm *L. fermentum* LF được phân lập từ quả khóm chín tại Tây Ninh, *L. paracasei* LC từ quả cà phê chín tại Lâm Đồng, *L. plantarum* LP từ cải sậy ở Vĩnh Long lần lượt được ký hiệu là LF, LC và LP. Các chủng được lưu trữ trên môi trường MRS agar (Himedia, Ấn Độ) ở 4°C tại phòng Nghiên cứu và phát triển, Công ty cổ phần Công nghệ Enzyme Khai Minh Việt, Thành phố Hồ Chí Minh.

Quả cà phê robusta chín mọng được thu hái vào tháng 10, năm 2024 tại Bảo Lộc (Lâm Đồng), bảo quản 4°C và vận chuyển về phòng thí nghiệm trong vòng 24 giờ. Quả cà phê được làm sạch tạp chất, tách lấy vỏ và sấy ở 40 - 45°C cho đến khi độ ẩm còn dưới 13%. Sau đó, vỏ cà phê được nghiền và cho qua rây kính lỗ lưới ϕ = 1 mm và bảo quản trong bình hút ẩm để sử dụng cho các thí nghiệm sau. Tiếp

theo, mẫu vỏ cà phê được bổ sung nước cất (1:10 w/v) và hấp tiệt trùng ở 121°C trong 15 phút.

Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu bao gồm Folin-Ciocalteu, Na_2CO_3, thuốc thử ABTS, potassium persulfate, axit gallic và trolox; đạt độ tinh khiết phân tích.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Lên men vỏ cà phê

Các chủng *Lactobacillus* spp. được tăng sinh trong môi trường MRS (Himedia, Ấn Độ), sau 24 giờ, dịch nuôi cấy được thu và ly tâm ở tốc độ 8.000 vòng/phút trong 3 phút và rửa hai lần bằng dung dịch đệm phosphate (PBS, pH 7,0). Tiếp theo, sinh khối tế bào vi khuẩn được hòa trong nước muối sinh lý 0,9% (w/v) để đạt giá trị OD_{600} là 0,5 và bổ sung vào hỗn hợp môi trường vỏ cà phê (đã được tiệt trùng ở mục 2.1) với tỷ lệ 1% (v/v) và ủ trong điều kiện tĩnh ở 37°C trong 48 giờ. Mẫu dịch lên men được thu ở 0, 12, 24, 36, 48 giờ để xác định mật độ vi khuẩn, hàm lượng các hợp chất phenolic và hoạt tính chống oxy hóa. Mật độ vi khuẩn sống được xác định theo phương pháp được mô tả bởi Hurtado-Murillo et al. (2025), các mẫu được pha loãng thập phân liên tiếp bằng nước muối sinh lý (NaCl 0,9%). Tiếp theo, 0,1 mL mỗi mẫu pha loãng được cấy trải trên môi trường MRS agar và ủ ở 37°C trong 48 giờ. Các đĩa MRS chứa khoảng 25 - 250 khuẩn lạc LAB được sử dụng để xác định mật độ vi khuẩn, kết quả được biểu thị bằng CFU/mL. Dịch lên men được ly tâm 5.000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C, thu dịch nổi và bảo quản ở -23°C cho các thí nghiệm sau.

2.2.2. Xác định hàm lượng phenolic tổng

Hàm lượng polyphenol tổng được xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử dựa trên phản ứng màu với thuốc thử Folin-Ciocalteu theo mô tả của Huynh et al. (2025) với một số điều chỉnh về nồng độ Na_2CO_3 và kéo dài thời gian ủ. Theo đó, 100 µL mẫu hoặc chất chuẩn axit gallic (GA) được thêm vào ống nghiệm và trộn với 2 mL nước cất, sau đó thêm 100 µL thuốc thử Folin-Ciocalteu. Sau 5 phút, tiếp tục bổ sung 300 µL dung dịch natri carbonate (Na_2CO_3) 20% và định mức lên 5 mL bằng nước cất. Hỗn hợp phản ứng được ủ trong điều kiện tránh sáng ở 37°C trong 120 phút để đảm bảo quá trình tạo phức màu diễn ra hoàn toàn. Độ hấp thu của mẫu được đo tại bước sóng 760 nm bằng máy quang phổ hấp thụ phân tử UV-Vis (UH5300, Hitachi, Nhật Bản). Nồng độ polyphenol tổng được tính toán dựa trên đường chuẩn axit gallic đã được xây dựng và được biểu thị dưới dạng mg GAE/g.

2.2.3. Xác định hàm lượng các hợp chất sinh học chính trong quá trình lên men

Nghiên cứu định lượng caffeine và các hợp chất phenolic bao gồm axit chlorogenic (CGA) và axit caffeic (CA) trong dịch vỏ cà phê lên men bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) gắn đầu dò mảng diode (Diode Array Detector, DAD, Agilent 1260 Infinity II, Hoa Kỳ). Mẫu sau khi lọc qua màng nylon 0,22 µm được tiêm vào cột pha đảo Poroshell 120 EC-C18 (100 mm x 4,6 mm, kích thước hạt 2,7 µm) với thể tích tiêm 5 µL và tốc độ dòng rửa giải duy trì ở 1 mL/phút. Pha động bao gồm hỗn hợp nước khử ion với 1% axit acetic (pha động A) và acetonitrile với 1% axit acetic (pha động B). Đầu dò được cài đặt ở bước sóng 272 nm nhằm phát hiện caffeine và 324 nm phát hiện CGA và CA (Trinh et al., 2018). Hàm lượng từng hợp chất được xác định dựa trên thời gian lưu và diện tích đỉnh so với chuẩn ngoại tương ứng.

2.2.4. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của dịch vỏ cà phê lên men

Thử nghiệm bắt gốc tự do DPPH$^{\bullet}$ (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl)

Gốc tự do DPPH$^{\bullet}$ là gốc tự do bền màu tím, có điện tử tự do và có độ hấp thu cực đại tại bước sóng 517 nm (Sangwan et al., 2011). Khi gốc tự do DPPH$^{\bullet}$ bắt cặp với một electron từ chất chống oxy hóa thì dung dịch chuyển sang màu vàng. Trong đó, 0,5 mL dịch lên men vỏ cà phê đã pha loãng ở nồng độ thích hợp được cho vào 1 mL dung dịch DPPH 0,5 mM. Sau đó, hỗn hợp được lắc mạnh và ủ ở nhiệt độ phòng trong điều kiện tránh sáng trong 15 phút. Độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng được đo bằng máy quang phổ hấp thụ phân tử (UV-Vis) ở 517 nm. Khả năng chống oxy hóa được biểu thị bằng phần trăm bắt gốc tự do DPPH$^{\bullet}$. Axit ascorbic được dùng làm chất chuẩn ở nồng độ từ 20 mg/L đến 100 mg/L. Hàm lượng chất chống oxy hóa của vỏ cà phê được quy về mg axit ascorbic tương đương trên 1 g nguyên liệu (mg AAE/g).

Thử nghiệm bắt gốc tự do ABTS$^{\bullet+}$ (2,2'-azino-bis(axit 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic))

Hoạt tính chống oxy hóa của dịch lên men tiếp tục được đánh giá thông qua khả năng trung hòa gốc tự do ABTS$^{\bullet+}$. Dung dịch gốc ABTS$^{\bullet+}$ được chuẩn bị bằng cách phản ứng giữa dung dịch ABTS 7 mM và potassium persulfate 2,45 mM theo tỉ lệ 1 : 0,5. Sau đó, hỗn hợp này được ủ trong tối 16 giờ để quá trình oxy hóa diễn ra hoàn toàn và đạt độ hấp thu cực đại. Tiếp theo, dung dịch này được pha loãng bằng ethanol 96% cho đến khi đạt giá trị hấp thu

0,70 ± 0,02 tại 734 nm (Prasedya et al., 2021). Kế tiếp, 100 µL dịch lên men được cho vào 2 mL dung dịch $ABTS^{+}$, trộn đều và hỗn hợp được ủ trong 6 phút ở điều kiện tối. Độ hấp thu được ghi nhận tại 734 nm và khả năng chống oxy hóa được biểu thị bằng phần trăm khử gốc $ABTS^{\bullet+}$. Axit ascorbic (20 - 100 mg/L) được sử dụng làm chất chuẩn. Hàm lượng chất chống oxy hóa của vỏ cà phê được quy về mg axit ascorbic tương đương trên 1 g nguyên liệu (mg AAE/g).

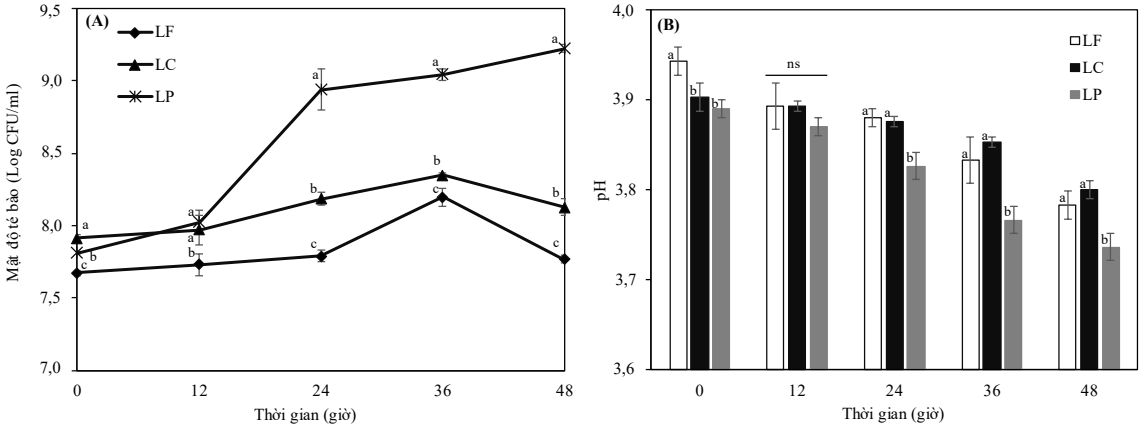
2.2.6. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được thực hiện ba lần lặp lại (n = 3), số liệu được xử lý thống kê trên phần mềm Minitab 16.0 (Minitab, LLC, Hoa Kỳ) và kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (mean ± SD). Mô hình General Linear Model (GLM) được sử dụng để kiểm định ảnh hưởng của chủng, thời gian và sự tương tác. Sự khác biệt giữa các nghiệm thức tại từng thời điểm được xác định bằng phân tích phương sai một yếu tố (one-way ANOVA) kết hợp với phép thử Tukey với độ tin cậy 95%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng tăng trưởng và axit hóa môi trường

Khả năng thích nghi và phát triển của ba chủng LAB (LF, LC và LP) trong môi trường chứa vỏ cà phê được thể hiện qua sự thay đổi mật độ tế bào và giá trị pH trong 48 giờ lên men (Hình 1).



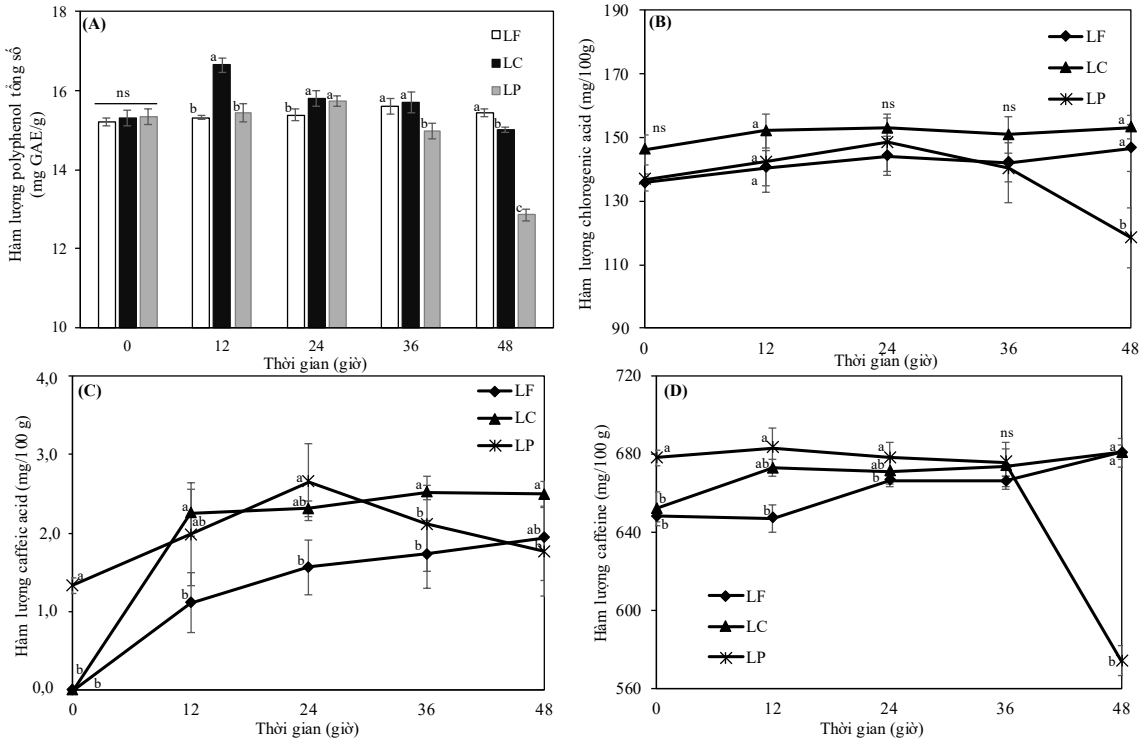
Hình 1. Sự thay đổi mật độ tế bào (A) và pH (B) của *L. fermentum* LF, *L. paracasei* LC và *L. plantarum* LP trong quá trình lên men

Ghi chú: Số liệu biểu diễn giá trị trung bình với thanh sai số biểu thị độ lệch chuẩn. Các chữ cái khác nhau tại cùng một thời điểm biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các chủng ($p < 0,05$), ns ký hiệu biểu thị không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các chủng tại thời điểm khảo sát ($p > 0,05$).

Hình 1A thể hiện cả ba chủng đều có khả năng sinh trưởng trong môi trường chứa vỏ cà phê; tuy nhiên, tốc độ và mật độ tế bào đạt được qua thời gian có sự khác biệt rõ rệt. Tại thời điểm ban đầu (0 giờ), kết quả phân tích thống kê cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) về mật độ tế bào và giá trị pH giữa các nghiệm thức. Cụ thể, mật độ vi khuẩn khởi điểm dao động từ $6,48 \times 10^7$ đến $8,22 \times 10^7$ CFU/mL và pH dao động từ 3,89 đến 3,91. Tuy nhiên, trong vi sinh học thực phẩm và lên men, biên độ dao động này không mang ý nghĩa về mặt sinh học và không đủ để tạo ra ưu thế cạnh tranh hoặc ảnh hưởng đến động lực học sinh trưởng ở các giai đoạn sau (Lombard, 2006; Ohn, 2026). Do đó, các nghiệm thức được xem như có xuất phát điểm tương đương nhau về mặt thực tiễn.

Nhìn chung, cả ba chủng *Lactobacillus* đều tăng mật độ đến 36 giờ nhưng xu hướng tại thời điểm 48 giờ khác nhau. Trong đó, mật độ chủng LP tiếp tục gia tăng và đạt mật độ tế bào cao nhất ($1,68 \times 10^9$ CFU/mL) ở 48 giờ. Tuy nhiên, mật độ hai chủng LC và LF giảm khi thời gian tăng sinh kéo dài đến 48 giờ với mật độ tương ứng là $1,35 \times 10^8$ và $5,87 \times 10^7$ CFU/mL. Kết quả này tương đồng với báo cáo của Dias et al. (2025). Trong đó, chủng *L. plantarum* cũng được ghi nhận có tốc độ tăng trưởng tốt nhất trong môi trường bán rắn của cà phê nhờ cơ chế ưu tiên sử dụng fructose làm nguồn năng lượng chính. Đáng chú ý, khả năng sinh tổng hợp các enzyme thủy phân như tannase, decarboxylase và benzyl-alcohol dehydrogenase giúp LP phân giải các chất hữu cơ phức tạp thành các phân tử nhỏ dễ hấp thu,

đồng thời đóng vai trò then chốt trong việc chuyển hóa các hợp chất phenolic vốn có khả năng ức chế sinh trưởng của vi sinh vật thành các dẫn xuất ít độc tính hơn. Bên cạnh đó, khả năng chịu đựng tốt đối với các hợp chất thứ cấp như polyphenol, có thể là yếu tố quan trọng giúp LP duy trì ưu thế tăng trưởng trong môi trường giàu hợp chất có hoạt tính sinh học như vỏ cà phê (Mantzourani et al., 2024) . Trong khi đó, mật độ LF và LC suy giảm ở 48 giờ có thể do cạn kiệt dinh dưỡng hoặc nồng độ phenolic cao và pH môi trường thấp gây ức chế quá trình tăng sinh.



Hình 2. Sự thay đổi hàm lượng (A) polyphenol tổng số, (B) axit chlorogenic, (C) axit caffeic và (D) caffeine trong môi trường lên men bởi *L. fermentum* LF, *L. paracasei* LC và *L. plantarum* LP

Ghi chú: Số liệu biểu diễn giá trị trung bình với thanh sai số biểu thị độ lệch chuẩn. Các chữ cái khác nhau tại cùng một thời điểm biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các chủng ($p < 0,05$), ns ký hiệu biểu thị không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các chủng tại thời điểm khảo sát ($p > 0,05$).

Sự sinh trưởng của ba chủng vi khuẩn có mối liên hệ chặt chẽ với sự thay đổi pH của môi trường lên men (Hình 1B). Trong 36 giờ đầu, sự gia tăng mạnh mẽ của mật độ tế bào đi kèm với sự sụt giảm của giá trị pH ở tất cả các nghiệm thức. Điều này phản ánh quá trình trao đổi chất của LAB chuyển hóa đường thành các axit hữu cơ, chủ yếu là axit lactic (Rachwał & Gustaw, 2024).

Đáng chú ý, ở giai đoạn 36 - 48 giờ của quá trình lên men, mật độ tế bào của chủng LF và LC bắt đầu suy giảm. Đồng thời, giá trị pH tiếp tục giảm nhẹ, có thể do sự tích lũy các axit hữu cơ được tạo ra trong quá trình chuyển hóa và một phần được giải phóng ra khi tế bào vi khuẩn bị ly giải. Tương ứng với sự phát triển ổn định và mật độ tế bào cao nhất, môi trường lên men bởi chủng LP ghi nhận pH giảm thấp nhất, đạt 3,74 ± 0,02 sau 48 giờ, thấp hơn có ý nghĩa so với chủng LC (3,80 ± 0,01) và LF (3,78 ± 0,02). Việc lên men trong môi trường pH thấp không chỉ giúp ức chế vi sinh vật gây hư hỏng mà còn tạo điều kiện môi trường axit thuận lợi cho việc trích ly và ổn định các hợp chất sinh học (Raman et al., 2022). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Myo et al. (2021) khi lên men dịch quả cà phê và phù hợp với cơ chế axit hóa môi trường thường thấy ở các chủng LAB.

3.2. Sự biến đổi các hợp chất trong quá trình lên men

3.2.1. Hàm lượng polyphenol tổng số

Quá trình lên men bởi các chủng vi khuẩn *Lactobacillus* (LF, LC và LP) đã tác động khác nhau đến hàm lượng polyphenol tổng số (TPC). Kết quả

định lượng TPC được thể hiện ở Hình 2A. Tại thời điểm ban đầu (0 giờ), hàm lượng TPC của các mẫu dao động từ 15,22 đến 15,34 mg GAE/g. Quá trình lên men bằng chủng LC làm tăng hàm lượng TPC cao nhất, đạt mức 16,65 ± 0,13 mg GAE/g sau 12 giờ, cao hơn các nghiệm thức được lên men bằng LF và LP ($p < 0,05$). Sự gia tăng TPC trong giai đoạn này có thể được giải thích bởi hoạt động của enzyme β-glucosidase và cellulase do LAB tiết ra. Các enzyme này phá vỡ thành tế bào thực vật và cắt đứt các liên kết glycosidic, chuyển các hợp chất phenolic từ dạng liên kết thành dạng tự do (Quines-Lagmay et al., 2020; Sawant et al., 2025; Therdtatha et al., 2023). Mức gia tăng TPC này xấp xỉ 8,34% là một hiệu suất chuyển hóa đáng chú ý trên nền cơ chất vỏ cà phê. Các công bố trước đây trên cùng cơ chất, thời gian để đạt đỉnh giải phóng polyphenol thường kéo dài đáng kể hơn. Myo et al. (2021) ghi nhận hàm lượng TPC đạt cực đại sau 24 đến 48 giờ khi lên men bằng chủng *L. plantarum*. Ở nghiên cứu của Moukamnerd et al. (2025), quá trình lên men vỏ cà phê cũng đòi hỏi thời gian ủ kéo dài liên tục đến 72 giờ để TPC gia tăng và đạt mức tối đa ở các nghiệm thức có bổ sung đường, đồng thời các nghiệm thức chỉ lên men vỏ cà phê bằng các chủng LAB ghi nhận TPC sụt giảm theo thời gian. Việc giải phóng nhanh chóng một lượng lớn phenolic dạng liên kết thành dạng tự do trong 12 giờ này tạo ra tiền đề rất lớn cho việc rút ngắn thời gian lên men, giúp tiết kiệm chi phí năng lượng khi triển khai ở quy mô công nghiệp.

Tuy nhiên, ở giai đoạn 36 đến 48 giờ, TPC có xu hướng giảm, đặc biệt ở chủng LP. Nguyên nhân dẫn đến hiện tượng này có thể đến từ quá trình oxy hóa polyphenol hoặc do LAB sử dụng các hợp chất này làm nguồn carbon cho sự sinh trưởng và LP cũng là chủng tăng sinh mạnh nhất trong suốt quá trình lên men, hoặc sự trùng hợp của các phenol thành các hợp chất cao phân tử khác (de Lacey et al., 2014). Hàm lượng TPC trong dịch lên men 48 giờ bằng LC và LF tuy giảm nhưng vẫn ở mức cao hơn LP ($p < 0,05$).

3.2.2. Hàm lượng các axit phenolic

Hàm lượng axit chlorogenic (CGA) và axit caffeic (CA) được thể hiện ở Hình 2B và Hình 2C. Trong 24 giờ đầu, hàm lượng CGA và CA ở dịch lên men bởi chủng LP đều tăng đáng kể và đạt cực đại (tương ứng 148,40 ± 9,0 và 2,65 ± 0,49 mg/100 g). Kết quả này tương quan chặt chẽ với sự gia tăng hàm lượng TPC trong giai đoạn đầu. Tuy nhiên, từ 24 đến 48 giờ, cả hai hợp chất này có xu hướng giảm, cụ thể CGA giảm mạnh xuống 118,57 ± 9,4 mg/100 g và CA giảm về mức 1,76 ± 0,57 mg/100 g. Điều này gợi ý rằng giai đoạn sau, quá trình chuyển hóa sinh học bắt đầu chiếm ưu thế. Theo Massaro et al. (2025), quá trình lên men bởi *L. plantarum* ghi nhận sự suy giảm đáng kể hàm lượng axit chlorogenic (CGA) và axit caffeic (CA). Hiện tượng này được lý giải do chủng vi khuẩn này sở hữu hệ enzyme esterase và decarboxylase nổi trội, cho phép thủy phân axit chlorogenic và axit chuyển hóa caffeic. Đây được xem là cơ chế giúp vi khuẩn giải độc môi trường và thích nghi tốt trong quá trình lên men. Điều này giúp cho LP tăng sinh mạnh mẽ trong giai đoạn sau của quá trình lên men (24 - 48 giờ) và đạt mật độ cao nhất trong 3 chủng khảo sát.

Ở chủng LC, CA ghi nhận gia tăng nhanh chóng trong 12 giờ đầu và duy trì ổn định cho đến 48 giờ. Tương tự, hàm lượng CGA của chủng này duy trì ở 150 mg/100 g và không có dấu hiệu sụt giảm. Ngược lại, ở chủng LF, cả CGA và CA đều có xu hướng tăng chậm theo thời gian. Điều này chỉ ra rằng hoạt tính của các enzyme thủy phân CGA hay phân giải CA của hai chủng này thấp hơn hoặc bị ức chế, dẫn đến việc các hợp chất này được bảo toàn và tích lũy trong sản phẩm cuối cùng thay vì bị phân hủy.

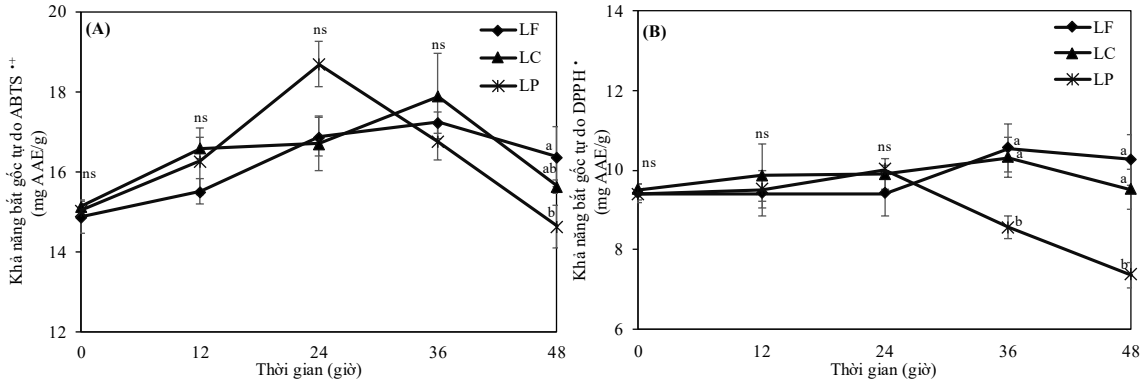
3.2.3. Hàm lượng caffeine

Kết quả nghiên cứu cho thấy sự khác biệt rõ rệt về khả năng dung nạp và chuyển hóa caffeine giữa các chủng thử nghiệm (Hình 2D). Kết quả cho thấy hàm lượng caffeine ở chủng LF và LC tăng nhẹ trong quá trình lên men khoảng 4,6 - 4,9% sau 48 giờ lên men (tăng từ khoảng 648,0 lên xấp xỉ 680,0 mg/100 g). Caffeine là một alkaloid có cấu trúc bền vững, không bị phân giải bởi hệ enzyme của LF và LC nên hàm lượng không bị suy giảm. Điều này cũng xảy ra tương tự ở các chủng *Lactobacillus* và *Bifidobacterium* trong nghiên cứu của Sales et al. (2020). Trong đó, caffeine không gây ức chế sự sinh trưởng của các chủng, nhưng chúng cũng không có khả năng sử dụng caffeine làm nguồn cơ chất.

Trong khi đó, hàm lượng caffeine ở dịch lên men của chủng LP giảm mạnh tại 48 giờ, từ 667,88 xuống 517,18 mg/100 g (giảm 15,30%so với ban đầu). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Baek et al. (2025) và Saroglu et al. (2025), các nhóm tác giả ghi nhận quá trình lên men với *L. plantarum* dẫn đến nồng độ caffeine thấp hơn đáng kể so với mẫu đối chứng. Đây là đặc tính tiềm năng, giúp chủng LP có khả năng ứng dụng trong việc sản xuất các sản phẩm giảm caffeine tự nhiên bằng con đường sinh học.

3.3. Hoạt tính chống oxy hóa *in vitro*

Hoạt tính chống oxy hóa của dịch vỏ cà phê trong quá trình lên men được đánh giá thông qua khả năng quét gốc tự do ABTS$^{\bullet+}$ và DPPH$^{\bullet}$ (Hình 3). Trong giai đoạn 24 giờ đầu của quá trình lên men, hoạt tính bắt gốc tự do ABTS và DPPH của dịch lên men bằng các chủng vi khuẩn lactic gia tăng nhưng không thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các chủng trong cùng mốc thời gian (12 giờ và 24 giờ) ($p > 0,05$). Chủng LP nổi trội hơn với khả năng quét gốc tự do ABTS$^{\bullet+}$ cực đại tại 24 giờ với hàm lượng chất chống oxy hóa 18,69 ± 0,57 mg AAE/g. Kết quả này tương đồng với tốc độ tăng trưởng và khả năng axit hóa môi trường nhanh chóng của LP. Tuy nhiên, hoạt tính này không bền và sụt giảm nhanh chóng xuống 14,63 ± 0,57 mg AAE/g tại 48 giờ. Khả năng chống oxy hóa trong dịch lên men suy giảm ở giai đoạn 24 - 48 giờ tương quan với sự suy giảm hàm lượng TPC, CGA và CA thể hiện trong dịch lên men bằng LP ghi nhận trước đó (Hình 2). Tương tự, khả năng bắt gốc tự do DPPH của dịch lên men bằng LP cũng suy giảm trong giai đoạn này. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Wu et al. (2022) trên đối tượng yến mạch lên men bởi *L. Plantarum,* trong đó tác giả chỉ ra mối tương quan giữa hàm lượng TPC và hoạt tính oxy hóa. Cụ thể, kết quả ghi nhận quá trình lên men làm tăng hàm lượng phenolic gấp 2,56 - 2,72 lần so với mẫu không lên men, cùng với sự gia tăng khả năng bắt gốc tự do DPPH$^{\bullet}$ gấp 1,99 - 2,10 lần tương ứng.



Hình 3. Sự thay đổi khả năng kháng oxy hóa ABTS$^{\bullet+}$ (A) và DPPH$^{\bullet}$ (B) của *L. fermentum* LF, *L. paracasei* LC và *L. plantarum* LP trong quá trình lên men

Ghi chú: Số liệu biểu diễn giá trị trung bình với thanh sai số biểu thị độ lệch chuẩn. Các chữ cái khác nhau tại cùng một thời điểm biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các chủng ($p < 0,05$), ns ký hiệu biểu thị không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các chủng tại thời điểm khảo sát ($p > 0,05$).

Trong khi đó, dịch lên men bằng chủng LC và LF thể hiện khả năng bắt gốc tự do cao nhất sau 36 giờ với hàm lượng chất chống oxy hóa tương ứng là 17,89 ± 1,05 và 17,23 ± 0,28 mg AAE/g trong thử nghiệm ABTS. Hoạt tính chống oxy hóa này không tương quan với hàm lượng polyphenol tổng, vốn đạt cực đại ở 12 giờ (Hình 2), cho thấy sự đóng góp của các hợp chất chuyển hóa khác được hình thành trong quá trình lên men với LC và LF. Đáng chú ý, hoạt tính chống oxy hóa của LC và LF giảm nhẹ sau 48 giờ lên men nhưng vẫn duy trì mức cao hơn so với LP trong cả hai thử nghiệm ABTS và DPPH. Kết quả cho thấy LC và LF tiềm năng hơn cho các sản phẩm lên men bảo quản trong thời gian dài, đồng thời giảm thiểu sự biến đổi chất lượng trong quá trình lưu trữ.

Theo Ghiasi et al. (2023), các hệ enzyme thủy phân của LAB giúp giải phóng các hợp chất phenolic từ dạng liên kết thành các dạng tự do giàu nhóm hydroxyl, qua đó làm tăng khả năng bắt gốc tự do. Đồng thời, sự tích lũy các sản phẩm trao đổi chất thứ cấp có hoạt tính kháng oxy hóa trong quá trình lên men cũng tạo ra hiệu ứng cộng gộp. Sự chênh lệch về thời điểm đạt hoạt tính cực đại (LP ở 24 giờ, LF và LC ở 36 giờ) cho thấy năng lực này mang tính đặc hiệu chủng, phụ thuộc vào tốc độ sinh trưởng và hoạt lực enzyme phân giải của từng chủng vi khuẩn. Nhận định này phù hợp với công bố của Shirkhan et al. (2023) khi sử dụng các chủng LAB khác nhau để lên men sữa. Kết quả nghiên cứu cũng đã chứng minh sự khác biệt về hiệu quả thủy phân và tính chọn lọc cơ chất của các enzyme do từng chủng LAB tiết ra dẫn đến hiệu suất giải phóng các hợp chất có hoạt tính sinh học khác nhau. Kết quả tạo ra các giá trị khác biệt trên thử nghiệm bắt gốc tự do DPPH$^{\bullet}$ và ABTS$^{\bullet+}$.

Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH$^{\bullet}$ thể hiện cùng xu hướng nhưng hàm lượng chất chống oxy hóa thấp

hơn so với thử nghiệm ABTS (10,55 ± 0,59 mg AAE/g ở LF và 10,32 ± 0,50 mg AAE/g ở LC). Hoạt tính bắt gốc tự do đo bằng DPPH thấp hơn ABTS là kết quả thường gặp ở các hệ mẫu nước giàu hợp chất phenolic phân cực. Về nguyên lý, gốc $ABTS^{\bullet+}$ hòa tan tốt trong cả nước và dung môi hữu cơ, do đó phản ánh toàn diện hơn năng lực khử của hỗn hợp chất chống oxy hóa trong dịch lên men. Ngược lại, gốc DPPH• có tính kỵ nước và hầu như không tan trong nước, dẫn đến hạn chế trong khả năng tiếp xúc với các hợp chất chống oxy hóa phân cực. Kết quả các nghiên cứu trước đây đều cho thấy ABTS phù hợp hơn với hệ mẫu phức tạp và giàu chất chống oxy hóa ưa nước, trong khi DPPH có thể đánh giá thấp hoạt tính do hạn chế về độ hòa tan, hiệu ứng cản trở lập thể và động học phản ứng chậm hơn ở một số hợp chất phenolic (Re et al., 1999; Kim et al., 2002; Bibi Sadeer et al., 2020).

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy tiềm năng của các chủng vi khuẩn lactic trong quá trình lên men phụ phẩm vỏ cà phê. Cả ba chủng *L. fermentum* LF, *L. paracasei* LC và *L. plantarum* LP đều có khả năng thích nghi tốt trên cơ chất vỏ cà phê, trong đó LP là chủng có khả năng tăng sinh mạnh mẽ hơn hai chủng còn lại. *L. fermentum* LF và *L. paracasei* LC hiệu quả trong việc ổn định các hợp chất polyphenol và nâng cao hoạt tính chống oxy hóa. Đây là các ứng viên tiềm năng cho sản xuất các loại đồ uống chức năng giàu hoạt chất chống oxy hóa. Ngoài ra, *L. plantarum* LP thể hiện đặc tính nổi bật trong chuyển hóa caffeine, giúp giảm 15,30% caffeine sau 48 giờ lên men, mở ra triển vọng trong việc phát triển các sản phẩm cà phê lên men có hàm lượng caffeine thấp. Nghiên cứu tiếp theo cần tập trung vào việc khảo sát phương pháp đồng nuôi cấy để tận dụng đồng thời ưu điểm của các chủng, cũng như đánh giá độ ổn định của các hợp chất sinh học trong quá trình bảo quản và chế biến sản phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Aguirre-Garcia, Y. L., Nery-Flores, S. D., Campos-Muzquiz, L. G., Flores-Gallegos, A. C., Palomo-Ligas, L., Ascacio-Valdés, J. A., Sepúlveda-Torres, L., & Rodríguez-Herrera, R. (2024). Lactic acid fermentation in the food industry and bio-preservation of food. *Fermentation*, *10*(3), 168. https://doi.org/10.3390/fermentation10030168

Anumudu, C. K., Miri, T., & Onyeaka, H. (2024). Multifunctional applications of lactic acid bacteria: enhancing safety, quality, and nutritional value in foods and fermented beverages. *Foods*, *13*(23), 3714. https://doi.org/10.3390/foods13233714

Baek, J. S., Nam, Y., Kim, S., Kim, H. S., Lee, E. J., Lee, M.-R., & Kim, S. R. (2025). Development of low-caffeine kombucha using lotus root tea and an evaluation of its functional properties. *Beverages*, *11*(2), 55. https://doi.org/10.3390/beverages11020055

Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The versatility of antioxidant assays in food science and safety-Chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants*, *9*(8), 709. https://doi.org/10.3390/antiox9080709

Costa, A. S., Peixoto, J. A. B., Machado, S., Espírito Santo, L., Soares, T. F., Andrade, N., Azevedo, R., Almeida, A., Costa, H. S., & Oliveira, M. B. P. P. (2025). Coffee pulp from Azores: a novel phytochemical-rich food with potential anti-diabetic properties. *Foods*, *14*(2), 306. https://doi.org/10.3390/foods14020306

de Lacey, A. M. L., Pérez-Santín, E., López-Caballero, M. E., & Montero, P. (2014). Biotransformation and resulting biological properties of green tea polyphenols produced by probiotic bacteria. *LWT-Food Science Technology*, *58*(2), 633-638. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.040

Dias, S. R., Bressani, A. P. P., Batista, N. N., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2025). Increasing the quality and complexity of pulped coffee fermentation with *Lactiplantibacillus plantarum* and selected yeasts. *European Food Research Technology*, *251*(2), 283-297. https://doi.org/10.1007/s00217-024-04640-7

Ghiasi, F., Hashemi, S. M. B., & Abedi, E. (2023). Effective enhancement of food oxidative stability induced by *Lactobacillus* strains: In vitro activity. *Food Control*, *153*, 109912. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109912

Hurtado-Murillo, J., Franco, W., & Contardo, I. (2025). Impact of homolactic fermentation using *Lactobacillus acidophilus* on plant-based protein hydrolysis in quinoa and chickpea flour blended beverages. *Food Chemistry*, *463*, 141110. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.141110

Huynh, T. N. P., Nguyen, T. T. T., Nguyen, V. D. H., Ho, H. H., Nguyen, A. Q., & Trinh, L. T. P. (2025). Enhancing bioactive compounds from coffee cascara via enzymatic treatment and

microbial fermentation. *Coffee Science*, *20*, e202309. https://doi.org/10.25186/.v20i.2309

Kim, D. O., Lee, K. W., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and food chemistry*, *50*(13), 3713-3717. https://doi.org/10.1021/jf020071c

Lee, Y.-G., Cho, E.-J., Maskey, S., Nguyen, D.-T., & Bae, H.-J. (2023). Value-added products from coffee waste: a review. *Molecules*, *28*(8), 3562. https://doi.org/10.3390/molecules28083562

Lombard, B. (2006). Estimation of measurement uncertainty in food microbiology: the ISO approach. *Accreditation Quality Assurance*, *11*(1), 94-100. https://doi.org/10.1007/s00769-005-0085-5

López, T., Prado-Barragán, A., Nevárez-Moorillón, G., Contreras, J., Rodríguez, R., & Aguilar, C. (2013). Incremento de la capacidad antioxidante de extractos de pulpa de café por fermentación láctica en medio sólido. *CyTA-Journal of Food*, *11*(4), 359-365. https://doi.org/10.1080/19476337.2013.773563

Mantzourani, I., Nikolaou, A., Kourkoutas, Y., Alexopoulos, A., Dasenaki, M., Mastrotheodoraki, A., Proestos, C., Thomaidis, N., & Plessas, S. (2024). Chemical profile characterization of fruit and vegetable juices after fermentation with probiotic strains. *Foods*, *13*(7), 1136. https://doi.org/10.3390/foods13071136

Massaro, S., Sica, J., Ghion, G., Nadai, C., Vincenzi, S., Porcellato, D., Corich, V., Giacomini, A., & Tarrah, A. (2025). Enhancing Malva sylvestris extract properties through lactic acid bacteria fermentation: impact on phytochemical profile and bioactivity. *Food Production, Processing Nutrition*, *7*(1), 40. https://doi.org/10.1186/s43014-025-00315-2

Méndez-Galarraga, M. P., Pirovani, M. E., García-Cayuela, T., & Van de Velde, F. (2025). Fruit and vegetable beverages fermented with probiotic strains: impact on the content, bioaccessibility, and bioavailability of phenolic compounds and the antioxidant capacity. *Current Food Science Technology Reports, 3*(1), 1-11. https://doi.org/10.1007/s43555-024-00049-1

Moukamnerd, C., Pothimoi, S., Peerakietkhajorn, S., & Tipbunjong, C. (2025). Sustainable co-fermentation of seagrape (*Caulerpa lentillifera*) and coffee cherry pulp: enhancing bioactivity and stability for functional beverages. *Future Foods*, *12*, 100688. https://doi.org/10.1016/j.fufo.2025.100688

Myo, H., Nantarat, N., & Khat-Udomkiri, N. (2021). Changes in bioactive compounds of coffee pulp through fermentation-based biotransformation using *Lactobacillus plantarum* TISTR 543 and its antioxidant activities. *Fermentation*, *7*(4), 292. https://doi.org/10.3390/fermentation7040292

Ohn, H.-M. (2026). Practical aspect of measurement uncertainty in a conventional testing microbiology laboratory. *Accreditation Quality Assurance*, *31*(1), 57-66. https://doi.org/10.1007/s00769-025-01674-6

Prasedya, E., Frediansyah, A., Martyasari, N., Ilhami, B., Abidin, A., Padmi, H., Fahrurrozi, Juanssilfero, A., Widyastuti, S., & Sunarwidhi, A. (2021). Effect of particle size on phytochemical composition and antioxidant properties of *Sargassum cristaefolium* ethanol extract. *Scientific Reports*, *11*(1), 17876. https://doi.org/10.1038/s41598-021-95769-y

Quines-Lagmay, V. C., Jeong, B.-G., Kerr, W. L., Choi, S.-G., & Chun, J. (2020). Antioxidative properties of eastern prickly pear (*Opuntia humifusa*) fermented with lactic acid bacteria and cell wall-hydrolyzing enzymes. *LWT*, *122*, 109029. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109029

Rachwał, K., & Gustaw, K. (2024). Lactic acid bacteria in sustainable food production. *Sustainability*, *16*(8), 3362. https://doi.org/10.3390/su16083362

Raman, J., Kim, J.-S., Choi, K. R., Eun, H., Yang, D., Ko, Y.-J., & Kim, S.-J. (2022). Application of lactic acid bacteria (LAB) in sustainable agriculture: advantages and limitations. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(14), 7784. https://doi.org/10.3390/ijms23147784

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, *26*(9-10), 1231-1237.

Sales, A. L., dePaula, J., Silva, C. M., Cruz, A., Miguel, M. A. L., & Farah, A. (2020). Effects of regular and decaffeinated roasted coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*) extracts and bioactive compounds on in vitro probiotic bacterial growth. *Food & Function*, *11*(2), 1410-1424. https://doi.org/10.1039/C9FO02589H

San Martin, D., Orive, M., Iñarra, B., García, A., Goiri, I., Atxaerandio, R., Urkiza, J., & Zufia, J. (2021). Spent coffee ground as second-generation feedstuff for dairy cattle. *Biomass Conversion and Biorefinery*, *11*(2), 589-599. https://doi.org/10.1007/s13399-020-00610-7

Sangwan, V., Tomar, S., Singh, R., Singh, A., & Ali, B. (2011). Galactooligosaccharides: novel

components of designer foods. *Journal of food science technology*, *76*(4), 103-111. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02131.x

Sarno, M., & Iuliano, M. (2018). Active biocatalyst for biodiesel production from spent coffee ground. *Bioresource Technology*, *266*, 431-438. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.108

Saroglu, O., Irmak, Y. G., Yildirim, R. M., & Karadag, A. (2025). Characterization of SCOBY and *Lactiplantibacillus plantarum* ELB90 fermented coffee kombucha from different coffee sources. *Fermentation*, *11*(8), 428. https://doi.org/10.3390/fermentation11080428

Sawant, S. S., Park, H.-Y., Sim, E.-Y., Kim, H.-S., & Choi, H.-S. (2025). Microbial fermentation in food: impact on functional properties and nutritional enhancement - A review of recent developments. *Fermentation*, *11*(8), *428*. https://doi.org/10.3390/fermentation11010015

Shirkhan, F., Mirdamadi, S., Mirzaei, M., Akbari-Adergani, B., & Nasoohi, N. (2023). The role of lactic acid bacteria in production of bioactive peptides in fermented milk with antioxidant and antidiabetic properties. *Journal of Food Measurement*, *17*(5), 4727-4738. https://doi.org/10.1007/s11694-023-01968-8

Sholichah, E., Desnilasari, D., Subekti, R., Karim, M., & Purwono, B. (2021). The influence of coffee cherry fermentation on the properties of Cascara arabica from Subang, West Java. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (p. 012006). IOP Publishing. https://doi.org/10.1088/1757-899X/1011/1/012006

Stiefel, C., Lindemann, B., & Morlock, G. E. (2022). Non-target bioactive compound profiles of coffee roasts and preparations. *Food Chemistry*, *391*, 133263. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133263

Therdtatha, P., Jareontanahun, N., Chaisuwan, W., Yakul, K., Paemanee, A., Manassa, A., Moukamnerd, C., Phimolsiripol, Y., Sommano, S. R., & Seesuriyachan, P. (2023). Production of functional Arabica and Robusta green coffee beans: Optimization of fermentation with microbial cocktails to improve antioxidant activity and metabolomic profiles. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *53*, 102869. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102869

Trinh, L. T. P., Choi, Y.-S., & Bae, H.-J. (2018). Production of phenolic compounds and biosugars from flower resources via several extraction processes. *Industrial Crops Products*, *125*, 261-268. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.008

Wu, H., Liu, H.-N., Ma, A.-M., Zhou, J.-Z., & Xia, X.-D. (2022). Synergetic effects of *Lactobacillus plantarum* and *Rhizopus oryzae* on physicochemical, nutritional and antioxidant properties of whole-grain oats (*Avena sativa* L.) during solid-state fermentation. *LWT*, *154*, 112687. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112687