

THỬ NGHIỆM TINH SẠCH ACID CHLOROGENIC TỪ DỊCH CHIẾT CÀ PHÊ XANH BẰNG SẮC KÝ LỌC GEL SEPHADEX LH-20

Đặng Ngọc Khánh Hà*, **Võ Tấn Hậu†**, **Lưu Thị Lệ Thủy†**
Email: visinh@gmail.com

Ngày tòa soạn nhận được bài báo: 03/04/2024

Ngày phản biện đánh giá: 14/10/2024

Ngày bài báo được duyệt đăng: 28/10/2024

DOI: 10.59266/houjs.2024.466

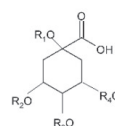
Tóm tắt: Acid chlorogenic (CGAs) tách chiết từ hạt cà phê xanh có nhiều lợi ích đối với sức khỏe. Quá trình tách chiết các hợp chất CGA trong dung môi ethanol luôn có cả các tạp chất được hòa tan trong dịch chiết. Nghiên cứu này thử nghiệm tinh sạch acid chlorogenic (CGAs) bằng phương pháp sắc ký lọc gel. Dịch chiết cà phê xanh được tinh sạch sơ bộ với ethanol 80% rồi tinh sạch bằng cách lọc gel Sephadex LH-20. Dịch chiết cà phê xanh được nạp vào cột gel, rửa giải bằng 160mL dung môi có nồng độ xác định (ethanol/nước 20%, 30% và 40%) để thu nhận 7 phân đoạn, mỗi phân đoạn khoảng 20mL. Với dung dịch rửa giải ethanol 40%, phân đoạn 5 có độ tinh sạch CGA đạt được là 94,29%; 91,68% và 81,89% tương ứng với thể tích nạp mẫu lần lượt là 0,5mL; 1mL và 2mL. Dịch chiết từ hạt cà phê xanh sau khi lọc gel có độ tinh sạch khác nhau cho thấy tiềm năng ứng dụng CGA trong ngành thực phẩm và dược phẩm.

Từ khóa: Acid chlorogenic, dịch chiết cà phê xanh, tinh sạch CGA, Sephadex LH-20, sắc ký lọc gel.

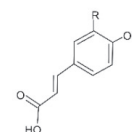
I. Đặt vấn đề

Acid chlorogenic (CGAs) gồm một nhóm các hợp chất là este của axit quinic và axit trans-cinnamic. Khoảng 71 hợp chất CGAs khác nhau được xác định từ các loài thực vật khác nhau hạt cà phê, trà, atisô, trái cây (nhô, táo), các loại rau và cà tím. Những chất được tìm thấy có nồng độ cao nhất là axit caffeoylquinic (CQA), đặc biệt là mono- và di-CQA, các hợp

chất đồng phân của axit feruloylquinic (FQA). [8]



Quinic acid
R1, R2, R3, and R4 =
esterification with
hydroxycinnamic acid
derivative

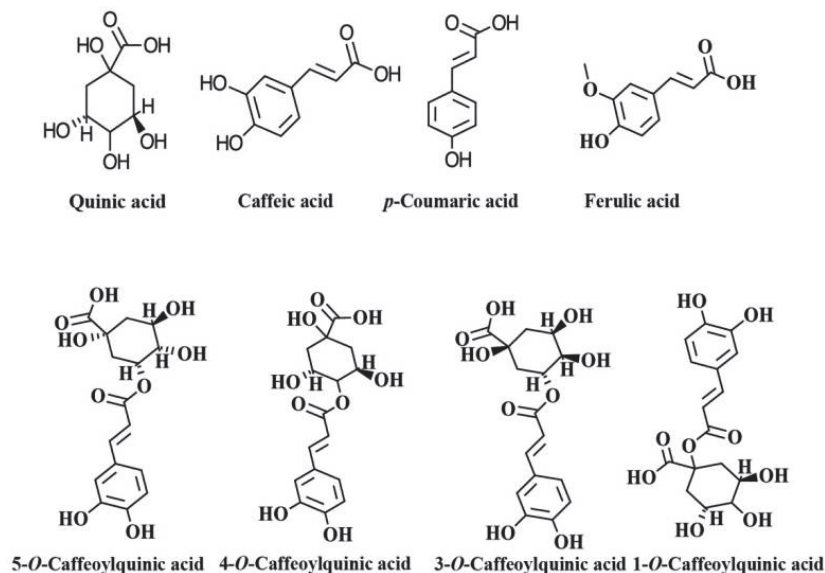


Hydroxycinnamic acid derivative
R = H p-coumaric acid
R = OH caffeic acid
R = OCH₃ ferulic acid

Hình 1: Cấu trúc chung của acid chlorogenic (ester của acid quinic và các dẫn xuất của cinnamic acid) [8]

* Đại học khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

† Phân Viện Công nghiệp thực phẩm tại Thành phố Hồ Chí Minh, Bộ Công Thương



Hình 2: Cấu trúc hóa học của các axit chlorogenic chính và các đồng phân của axit caffeoylquinic [3]

Acid chlorogenic có trọng lượng phân tử khoảng 190 - 354g/mol, chúng là các hợp chất phân cực nên dễ hòa tan trong các dung môi phân cực như metanol, axeton hoặc ethanol. [8]

Các hợp chất CGAs trong hạt cà phê xanh là nguồn quan trọng nhất, chiếm 6 - 12%. CQA chiếm tới 80% tổng hàm lượng CGA. Trong đó, 5-CQA chiếm gần 60%. Đây là những chất tạo vị đắng và các chất làm se trong cà phê. [4]. Hiện nay, có khoảng 30 loại CGAs khác nhau đã được xác định ở hạt cà phê, điển hình là axit caffeoylquinic (CQA), axit dicaffeoylquinic (DCQA), axit tricaffeoylquinic (TCQA), axit feruloylquinic (FQA) và axit *p*-coumaroylquinic (*p*-CoQA).

Hạt cà phê xanh có các lợi ích đối với sức khỏe là do hoạt tính chống oxy hóa của các hợp chất CGAs và polyphenol có trong nhân. Ngoài ra, acid chlorogenic còn có vai trò kháng vi sinh vật như vi khuẩn, nấm men, nấm mốc, virus và amip. Acid

chlorogenic cũng có hoạt tính prebiotic, chống oxy hóa lipid, giúp nó trở nên hữu ích trong việc bảo quản các sản phẩm thực phẩm. [2, 7]

Phương pháp tách chiết acid chlorogenic sử dụng các loại dung môi khá phổ biến như nước, dung môi ethanol-nước, ethanol và *n*-butyl alcohol, nhiệt độ tách chiết từ 40-60°C [8]. Quá trình tách chiết acid chlorogenic từ hạt cà phê xanh trong môi trường lỏng có thể kèm theo sự khuếch tán và hòa tan vào môi trường của các thành phần có trong hạt như polysaccharide và oligosaccharide, protein và các acid amin, khoáng chất, caffein.... [4].

Quá trình tinh sạch dịch chiết (tinh sạch acid chlorogenic) NaH_2PO_4 được sử dụng để loại bỏ các tạp chất tan trong pha nước [9], các dung môi phân cực thấp như hexan, chloroform hoặc methylene chloride được dùng để tách loại chất béo và caffein. Một số nghiên cứu khác sử dụng kỹ thuật sắc ký lọc gel để tinh sạch và nâng cao hàm lượng CGA. Tinh sạch CGA bằng nhựa XAD-16, kết hợp nhựa

polyamide với tinh chế bằng cột sắc ký silicagel hoặc Sephadex LH-20.[14]

Nghiên cứu này thử nghiệm sắc ký lọc gel Sephadex LH-20 để tinh sạch acid chlorogenic từ dịch chiết cà phê xanh.

II. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

300 g bột cà phê xanh nghiền mịn, đem tách chiết trong 4 giờ ở 50°C – 60°C trong 3L dung dịch ethanol 50- 60%, thu lấy 1,6L dịch chiết rồi lọc qua giấy để tách cặn. Cô đặc dịch chiết ở 70°C với tốc độ 40 vòng/phút thu được 200mL dịch chiết cà phê xanh.

2.2. Hóa chất

Chất chuẩn acid chlorogenic $\geq 95\%$ (*Sigma Aldrich*)

Gel Sephadex LH-20 (GE Healthcare)

Các hóa chất: cồn 98% (Việt Nam); HCl, phosphoric acid, PbO, thuốc thử 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl, vitamin C, dichloromethane và ethanol 99,5%; thuốc thử 3,5- Dinitrosalicylic acid, $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$. $3\text{H}_2\text{O}$ và CH_3COOK (Trung Quốc).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Tinh sạch sơ bộ dịch chiết cà phê xanh

Dịch chiết cà phê xanh được tinh sạch sơ bộ bằng phương pháp tủa cồn để tránh làm tắc nghẽn cột gel: 200 mL dịch chiết cà phê xanh được kết tủa với ethanol 80%. Dịch chiết sau khi tủa còn được lọc qua giấy để loại bỏ kết tủa. Dịch chiết sau khi lọc đem cô đuổi dung môi ở 70°C được 160mL dịch chiết cô đặc. Xác định hàm lượng CGA trong mẫu.

Tinh sạch bằng phương pháp lọc gel Sephadex LH-20

Chuẩn bị cột sắc ký (1,7 × 12 cm): gel Sephadex LH-20 được ngâm nở trong dung dịch rửa giải có nồng độ xác định (ethanol/nước 20%, 30% và 40%) trong 24 giờ.

Cố định một ít bông gòn thấm dung môi để chặn đầu ra của cột, không để gel chảy ra, sau đó thêm một lượng dung môi rửa giải có nồng độ tương ứng để tạo khoảng đệm trước khi nạp gel. Sau khi gel đã ổn định trong cột, tiếp tục bổ sung 100mL dung môi rửa giải có nồng độ tương ứng để rửa cột gel đến khi dung môi vừa chạm mặt gel thì khóa van [5]. Tốc độ dòng chảy của cột đạt 1mL/phút.

Nạp mẫu: dịch chiết cà phê xanh đã tinh chế sơ bộ được nạp từ từ vào cột với thể tích nạp mẫu tương ứng (0,5mL; 1mL; 2mL) bằng pipetman để không làm xáo trộn mặt gel, tiến hành mở khóa van để chạy mẫu. Sau khi mẫu đã vào trong gel, cột được rửa giải bằng 160mL dung môi có nồng độ xác định và thu 7 phân đoạn bằng ống đong, mỗi phân đoạn khoảng 20mL. Ghi nhận lại thể tích các phân đoạn và tiến hành xác định hàm lượng CGAs và hàm lượng chất khô hòa tan.

Các thử nghiệm tinh sạch dịch chiết CGAs gồm:

+ Khảo sát ảnh hưởng của dung môi (ethanol/nước) rửa giải ở các nồng độ 20%, 30% và 40%v/v.

+ Khảo sát ảnh hưởng của thể tích nạp mẫu (0,5mL; 1 mL và 2 mL).

2.4. Phương pháp phân tích

+ Xác định nồng độ chất khô hòa tan gián tiếp sau khi xác định hàm lượng nước ở 105°C [13]

+ Xác định hàm lượng tro bằng phương pháp nung ở nhiệt độ 550°C. [12]

+ Định lượng đường khử theo phương pháp DNS (3,5-Dinitrosalicylic acid). [10]

+ Xác định hàm lượng CGAs trong dịch chiết theo TCVN 13001:2020 bằng phương pháp quang phổ. [1, 11]

Độ tinh sạch CGA trong mẫu (%), tính theo chất khô) được xác định theo công thức:

$$\text{Hiệu suất thu hồi} = \frac{\text{Nồng độ CGA sau tinh sạch (mg/mL)} \times V_2}{\text{Nồng độ CGA trước tinh sạch (mg/mL)} \times V_1} \times 100 (\%)$$

Trong đó, V_1 : Thể tích của mẫu trước tinh sạch (mL)

V_2 : Thể tích của mẫu sau tinh sạch (mL)

Xử lý số liệu: Mỗi thí nghiệm được tiến hành lặp lại ba lần, ghi nhận giá trị trung bình \pm SD. Kết quả được tính toán bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2018 với độ tin cậy $\geq 95\%$.

III. Kết quả và bàn luận

Dịch chiết cà phê xanh đã tinh sạch sơ bộ có hàm lượng CGAs $58,68 \pm 0,035$ mg/mL, hàm lượng chất khô hòa tan $176,4 \pm 0,41$ mg/mL.

Bảng 1: Ảnh hưởng của nồng độ dung môi (ethanol/nước) đến hàm lượng CGA của các phân đoạn

Phân đoạn	Thể tích (mL)	CGA (mg/mL)	Chất khô (mg/mL)	Độ tinh sạch CGA (%)	
1 mL, 20%	1	23,0	$0,009 \pm 0,000$	$0,40 \pm 0,000$	2,15
	2	22,5	$0,024 \pm 0,001$	$0,41 \pm 0,007$	5,88
	3	22,5	$0,741 \pm 0,001$	$4,38 \pm 0,085$	16,92
	4	23,0	$1,058 \pm 0,007$	$1,92 \pm 0,014$	55,12
	5	23,0	$0,084 \pm 0,004$	$0,21 \pm 0,161$	39,88
	6	22,5	$0,014 \pm 0,001$	$0,08 \pm 0,000$	17,74
	7	22,5	$0,041 \pm 0,000$	$0,19 \pm 0,016$	21,32

Độ tinh sạch CGA = (%)

$$\text{Độ tinh sạch CGA} = \frac{x \times a \times 10^{-3}}{\text{Nồng độ chất khô (mg/mL)}} \times 100(\%)$$

Trong đó:

x: Nồng độ CGA ($\mu\text{g/mL}$)

a: Độ pha loãng của mẫu

10^{-3} : Đổi đơn vị từ μg thành mg

3.1. Ảnh hưởng nồng độ dung môi (ethanol/nước) rửa giải

Khả năng trương nở của gel phụ thuộc vào loại dung môi sử dụng, gel Sephadex LH-20 trương nở tốt trong nước và trong ethanol [6]. Khi rửa giải với dung dịch ethanol ở 20%, 30% và 40%, lượng acid chlorogenic phân bố chủ yếu trong các phân đoạn 3 và 4 (Hình 1) trong khi hàm lượng các tạp chất cao nhất ở phân đoạn 3, giảm nhanh ở phân đoạn 4, 5 và 6.

Phân đoạn	Thể tích (mL)	CGA (mg/mL)	Chất khô (mg/mL)	Độ tinh sạch CGA (%)	
1 mL, 30%	1	22,5	0,004 ± 0,000	0,17 ± 0,014	2,32
	2	22	0,096 ± 0,003	0,57 ± 0,014	16,79
	3	22	0,889 ± 0,001	4,27 ± 0,042	20,81
	4	22	0,874 ± 0,007	1,89 ± 0,042	46,27
	5	22	0,123 ± 0,004	0,43 ± 0,014	28,51
	6	22,5	0,066 ± 0,003	0,30 ± 0,028	21,98
	7	22	0,074 ± 0,001	0,18 ± 0,000	41,17
1 mL, 40%	1	21,5	0,007 ± 0,000	0,10 ± 0,000	7,25
	2	21,5	0,017 ± 0,000	0,23 ± 0,001	7,43
	3	23,5	0,808 ± 0,001	5,0 ± 0,014	16,17
	4	23	0,781 ± 0,007	1,8 ± 0,014	43,40
	5	21	0,293 ± 0,003	0,32 ± 0,001	91,68
	6	23	0,026 ± 0,000	0,06 ± 0,000	42,72
	7	22,5	0,004 ± 0,000	0,08 ± 0,001	4,42

Khi so sánh độ tinh sạch của các phân đoạn: các phân đoạn 4 ở các nồng độ cồn khác nhau đều có độ tinh sạch cao hơn so với mẫu dịch chiết CGA ban đầu là do hàm lượng tạp chất trong phân đoạn 4 giảm mạnh sau khi lọc. Như vậy, việc lọc gel Sephadex LH-20 kết hợp với rửa giải bằng ethanol có các nồng độ khác nhau (20%, 30% và 40%) có thể phân tách CGAs và các tạp chất có trong dịch chiết cà phê xanh ban đầu. Trong đó, ethanol 40% có khả năng phân tách tốt CGAs và

các tạp chất có trong dịch chiết qua cột gel nên phân đoạn 5 có hàm lượng CGAs là cao nhất (đạt 91,68%).

3.2. Ảnh hưởng của thể tích nạp mẫu

Thể tích nạp mẫu dịch chiết CGA được khảo sát lần lượt là 0,5 mL; 1 mL và 2 mL với dung môi rửa giải là ethanol 40%. Kết quả ở Bảng 2 cho thấy, khi tăng thể tích dịch nạp mẫu nghiền là hàm lượng CGA và hàm lượng chất khô qua cột lọc cũng tăng.

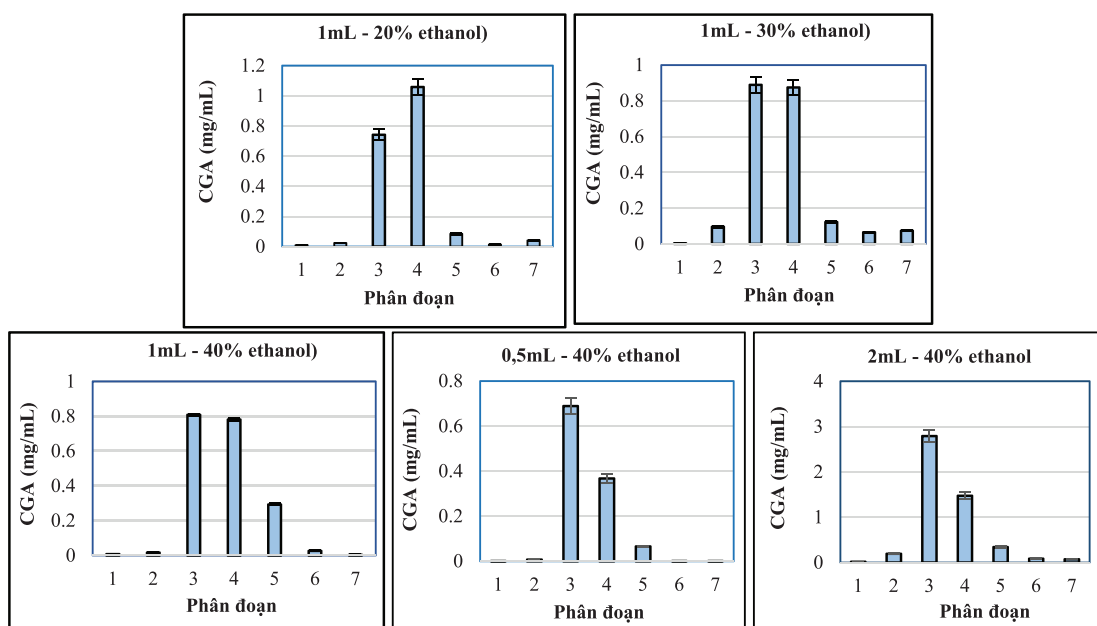
Bảng 2: Ảnh hưởng của thể tích nạp mẫu đến hàm lượng CGA của các phân đoạn

Phân đoạn	Thể tích (mL)	CGA (mg/mL)	Chất khô (mg/mL)	Độ tinh sạch CGA (%)	
0,5 mL, 40%	1	23,5	0,001 ± 0,000	0,060 ± 0,000	2,46
	2	23	0,007 ± 0,000	0,300 ± 0,028	2,49
	3	23	0,689 ± 0,000	2,360 ± 0,028	29,20
	4	23	0,367 ± 0,001	0,410 ± 0,014	89,51
	5	23	0,066 ± 0,000	0,070 ± 0,014	94,29
	6	23	0,001 ± 0,000	0,020 ± 0,000	5,0
	7	23	0,001 ± 0,000	0,020 ± 0,028	5,0
2 mL, 40%	1	22,5	0,018 ± 0,000	1,28 ± 0,028	1,41
	2	22,5	0,192 ± 0,000	0,56 ± 0,000	34,29
	3	22,5	2,792 ± 0,001	10,48 ± 0,000	26,64
	4	23	1,475 ± 0,000	2,32 ± 0,028	63,56
	5	23	0,344 ± 0,001	0,42 ± 0,000	81,89
	6	22,5	0,087 ± 0,000	0,12 ± 0,000	72,76
	7	22,5	0,071 ± 0,000	0,30 ± 0,028	23,67

Với thể tích nạp mẫu 0,5 mL: hàm lượng chlorogenic acid cao nhất được ghi nhận ở phân đoạn 3 nhưng do hàm lượng tạp chất cao nên độ tinh sạch thấp hơn dịch chiết ban đầu. Trong khi phân đoạn 5 có độ tinh sạch cao nhất (đạt 94,29%) với hiệu suất thu hồi 5,176%; tiếp theo là phân đoạn 4 có độ tinh sạch đạt 89,51% tương ứng với hiệu suất thu hồi 28,782% là do tạp chất đã bị loại bỏ trong các phân đoạn trước.

Tương tự thể tích nạp mẫu 1 mL: hàm lượng chlorogenic acid cao nhất ở phân đoạn 3, tiếp theo là phân đoạn 4. Độ tinh sạch cao nhất đạt 91,68% thuộc về phân đoạn 5 với hiệu suất thu hồi 10,499%, tăng gấp đôi so với thể tích nạp mẫu 0,5 mL.

Với thể tích nạp mẫu 2 mL: các phân tử CGA phải cạnh tranh với các phân tử khác cùng kích thước để di chuyển qua lỗ gel, khi không còn lỗ trống buộc các phân tử phải di chuyển qua khoảng trống giữa các hạt gel để rời khỏi cột, điều đó giải thích cho sự xuất hiện đáng kể hàm lượng CGA ở phân đoạn 2. Trong khi các phân tử CGA còn lại cùng với các tạp chất cùng kích thước tiếp tục di chuyển qua các khoảng trống giữa các hạt gel và ra khỏi cột gel chậm hơn ở các phân đoạn sau. Hàm lượng CGA cao nhất được ghi nhận ở phân đoạn 3. Các phân đoạn 4, 5 và 6 đều có độ tinh sạch cao từ 63,56 - 81,9% trong đó, độ tinh sạch cao nhất thuộc phân đoạn 5 với hiệu suất thu hồi là 6,74%.



Hình 3: Sự phân bố chlorogenic acid trong các phân đoạn lọc gel Sephadex LH-20

Với tải lượng dịch chiết qua cột khác nhau thì độ tinh sạch của dịch chiết và hiệu suất thu hồi CGAs cũng khác nhau. Phân đoạn 5 có độ tinh sạch cao nhất theo thứ tự nạp mẫu 0,5mL (94,29%) > 1mL (91,68%) > 2mL (81,89%). So với

nghiên cứu của Wenwen Zhao và cộng sự (2015) thì độ tinh sạch CGA trong nghiên cứu này cao hơn có thể là do sự khác nhau về nguyên liệu, hợp chất cần tinh sạch và phương pháp xác định.

Tùy theo yêu cầu về độ tinh sạch của sản phẩm CGA mà chọn thể tích nạp mẫu phù hợp. Trong sản xuất thực phẩm bổ sung, độ tinh khiết CGA nên chọn ở mức vừa phải để tăng hiệu suất thu hồi

CGA. Chẳng hạn như chọn tải lượng dịch chiết qua cột là 1mL với dung dịch rửa giải còn 40%, thu lấy phân đoạn gộp (4 và 5) với độ tinh sạch của CGA là 50,14% tương ứng với hiệu suất thu hồi (41,14%).

Bảng 3: Thành phần dịch chiết của các mẫu trước và sau khi lọc gel Sephadex LH-20

Mẫu	Chất khô (mg/mL)	Đường khử (%)	Chất khoáng (%)
Dịch chiết CGA trước lọc gel	176,4 ± 0,41	36,962 ± 0,053	27,42 ± 0,5
Dịch chiết CGA sau lọc gel (gộp phân đoạn 4 và 5)	19,403 ± 0,04	0,12 ± 0,01	8,25 ± 0,36

Hàm lượng các chất hòa tan của dịch chiết cà phê xanh giảm 89% sau khi lọc gel Sephadex LH-20; hàm lượng đường giảm 99,67%; hàm lượng chất khoáng giảm 69,91%; hàm lượng CGAs tăng đáng kể từ 33,25% lên 50,14%.

IV. Kết luận

Phương pháp sắc ký lọc gel hiệu quả trong phân tách acid chlorogenic và các tạp chất có trong dịch chiết cà phê xanh. Dịch chiết cà phê xanh được tinh sạch sơ bộ với ethanol 80% rồi tinh sạch bằng cách lọc gel Sephadex LH-20. Với dung dịch rửa giải ethanol 40%, phân đoạn 5 có độ tinh sạch CGA đạt được là 94,29%; 91,68% và 81,89% tương ứng với thể tích nạp mẫu lần lượt là 0,5mL; 1mL và 2mL. Dịch chiết từ hạt cà phê xanh sau khi lọc gel có độ tinh sạch khác nhau cho thấy tiềm năng ứng dụng CGA trong ngành thực phẩm và dược phẩm.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí từ nhiệm vụ khoa học và công nghệ của Bộ Công thương: “Nghiên cứu xây dựng quy trình công nghệ và dây chuyền thiết bị sản xuất một số sản phẩm đồ uống hỗ trợ sức khỏe giàu acis chlorogenic (CGA) từ hạt cà phê xanh”. Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn.

Tài liệu tham khảo

- [1]. Abebe Belay, A. V. Gholap (2009). *Characterization and determination of chlorogenic acids (CGA) in coffee beans by UV-Vis spectroscopy*. African Journal of Pure and Applied Chemistry, 3(11), pp. 234 – 240.
- [2]. Adriana Farah and Juliana de Paula Lima. (2019). *Consumption of Chlorogenic Acids through Coffee and Health Implications*. Beverages (Review). www.mdpi.com/journal/beverages
- [3]. Alexis Rojas-González, Claudia Yuritzi Figueroa-Hernández, Oscar González-Rios, Mirna Leonor Suárez-Quiroz, Rosa María González-Amaro, Zorba Josué Hernández-Estrada and Patricia Rayas-Duarte. *Chlorogenic Acids Incorporation for Bioactivity Enhancement of Foods: A Review*. Molecules 2022, 27, 3400
- [4]. Feifei Wei, Masaru Tanokura. *Chemical Changes in the Components of Coffee Beans during Roasting*. Chapter 10, December 2015, Pages 83-91.
- [5]. Feifei Wei, Masaru Tanokura. *Organic compounds in green coffee beans*. Chapter 17, December 2015, Pages 149-161.
- [6]. GE Healthcare Life Sciences, *Handbook - Size Exclusion Chromatography: Principles and Methods 18-1022-18*, Danaher Corporation Life Sciences platform, Massachusetts, pp. 15 – 35, 83 – 87.

- [7]. Huijie Lu, Zhimei Tian, Yiyan Cui, Zhichang Liu, Xianyong Ma (2020). *Chlorogenic acid: A comprehensive review of the dietary sources, processing effects, bioavailability, beneficial properties, mechanisms of action, and future directions*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 19(6), pp. 1 – 29.
- [8]. Ilaria Frosi, Irene Montagna, Raffaella Colombo, Chiara Milanese and Adele Papetti. *Recovery of Chlorogenic Acids from Agri-Food Wastes: Updates on Green Extraction Techniques*. Molecules 2021, 26, 4515. <https://doi.org/10.3390/molecules26154515>
- [9]. Linna Xie, Kar Yeen Chong, Roumiana Stefanova, Joseph P. M. Hui, Junzeng Zhang, Marianne Su-Ling Brooks. *Recovery of chlorogenic acid from haskap leaves (Lonicera caerulea) using aqueous two-phase extraction*. Biomass Conversion and Biorefinery (IF 4) Pub Date: 2021-04-29
- [10]. Lương Bảo Uyên, Trần Quốc Tuấn, Trình Mai Duy Lưu, Ngô Đại Nghiệp (2015), *Thực tập chuyên ngành sinh hóa*, NXB Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Hồ Chí Minh.
- [11]. TCVN 13001:2020
- [12]. TCVN 5353:1990
- [13]. TCVN 6928:2007
- [14]. Wenwen Zhao, Yuru Chen, Shaofeng Li, Kewei Dai, Yan Chen and Shijie Yang. *Separation and purification of chlorogenic acid from tobacco by-products by polyamide and silica gel column chromatography*. African Journal of Biotechnology. Vol. 14(20), pp. 1731-1736, 20 May, 2015.

TESTING THE PURIFICATION OF CHLOROGENIC ACID FROM GREEN COFFEE BEAN EXTRACT USING SEPHADEX LH-20 GEL FILTRATION CHROMATOGRAPHY

Ha Dang Ngoc Khanh[‡], Hau Vo Tan[§], Thuy Luu Thi Le[§]

Abstract: Chlorogenic acid (CGAs) extracted from green coffee beans has many health benefits. The extraction process of CGAs in ethanol solvent always includes impurities dissolved in the extract. This study tested chlorogenic acid (CGAs) purification using gel filtration chromatography. The green coffee extract was preliminarily purified with 80% ethanol and then purified by Sephadex LH-20 gel filtration. The green coffee extract was loaded into the gel column and eluted with 160mL of solvent (ethanol/water 20%, 30%, and 40%) to obtain seven fractions, about 20mL for each fraction. With 40% ethanol eluent, fraction 5 had a CGA purity of 94.29%; 91.68% and 81.89% correspond to a sample loading volume of 0.5mL, 1mL, and 2mL. After gel filtration, the green coffee bean extract had different purity levels, showed the potential for CGA application in the food and pharmaceutical industries.

Keywords: chlorogenic acid, green coffee bean extract, CGA purification, Sephadex LH-20, gel filtration chromatography.

[‡] University of Natural Sciences, Vietnam National University Ho Chi Minh City

[§] Food Industries Research Institute Branch in Ho Chi Minh City, Ministry of Industry and Trade