

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO**  
**ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG**

**LÊ THỊ CÚC**

**NGHIÊN CỨU CHIẾT TÁCH**  
**AXÍT HYDROXYCITRIC TỪ LÁ, VỎ QUẢ BỨA**  
**BẰNG DUNG DỊCH KIỀM**

**Chuyên ngành : Hoá Hữu cơ**

**Mã số : 60.44.27**

**TÓM TẮT LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC**

**Đà Nẵng, Năm 2013**

Công trình được hoàn thành tại

**ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG**

Người hướng dẫn khoa học: **GS.TS. ĐÀO HÙNG CƯỜNG**

Phản biện 1: **PGS.TS. TRẦN THỊ XÔ**

Phản biện 2: **TS. BÙI XUÂN VŨNG**

Luận văn được bảo vệ tại Hội đồng chấm Luận văn tốt nghiệp Thạc sĩ khoa học họp tại Đại học Đà Nẵng vào ngày 31 tháng 5 năm 2013

*\* Có thể tìm hiểu luận văn tại :*

- Trung tâm Thông tin - Học liệu, Đại học Đà Nẵng
- Thư viện trường Đại học Sư phạm, Đại học Đà Nẵng.

## MỞ ĐẦU

### 1. Lý do chọn đề tài

Trên thế giới việc nghiên cứu cây bứa đã được chú trọng từ lâu, tính đến nay có rất nhiều công trình, nhiều đề tài nghiên cứu về cây bứa bao gồm các lĩnh vực khác nhau: như chiết tách, xác định thành phần hóa học của hợp chất hữu cơ, ứng dụng trong công nghệ thực phẩm, công nghệ dược phẩm, đặc biệt là các chế phẩm giảm béo.

Bệnh béo phì không chỉ ảnh hưởng đến lao động, sinh hoạt, thẩm mỹ mà còn nguy hại nhất định đến sức khỏe. Người trung niên và lớn tuổi bị béo phì sẽ dễ mắc các bệnh như: huyết áp cao, bệnh mạch vành, tiểu đường, bệnh Gout, tai biến mạch não, sỏi túi mật ...Béo phì là bệnh do mỡ tích lũy quá nhiều trong cơ thể làm thay đổi chức năng sinh lý, sinh hoá của cơ thể.

Cây bứa là một loại cây dễ trồng, phát triển tốt, cho năng suất cao có hầu hết trên địa bàn Miền Trung, Tây Nguyên và trên thế giới cũng có rất nhiều loại bứa. Người Việt nam ta dùng lá bứa làm món ăn, dùng vỏ bứa để chữa bệnh ngoài da, búp non nhai ăn chữa bệnh động thai...

HCA được chiết từ vỏ quả bứa có tác dụng ngăn chặn quá trình tích lũy mỡ, cải thiện bilance trong máu, kìm hãm quá trình chuyển hóa lượng đường thừa trong cơ thể thành mỡ, giúp ngăn chặn quá trình béo phì. Ngoài ra, HCA còn cải thiện giảm các loại mỡ xấu. Bên cạnh đó, HCA làm tăng nồng độ serotonin có vai trò kiểm soát sự thèm ăn, làm tăng quá trình tổng hợp glycogen và tăng độ oxi hóa, đốt cháy mỡ thừa...Dạng lỏng tự do của HCA có xu hướng không ổn định, dễ bị lacton hóa nên việc tổng hợp muối đi từ HCA đã được nghiên cứu nhằm làm tăng sự ổn định và hoạt tính sinh học của HCA.

Lowenstein đã mô tả các muối của HCA dựa trên các kim loại kiềm, kiềm thổ như: kali, natri, canxi..., các muối này dễ hấp thu vào cơ thể con người và tăng cường hiệu quả giảm cân. Vì vậy việc tạo ra được muối kiềm của HCA cần được nâng cao chất lượng và hiệu suất, và cũng chưa thấy công trình nào nghiên cứu chiết tách HCA bằng cách dùng trực tiếp dung môi kiềm, với cách này có thể ta sẽ thu lượng HCA có hàm lượng cao hơn.

Với những lý do trên mà tôi chọn đề tài: “***Nghiên cứu chiết tách HCA trong lá, vỏ quả bứa bằng dung dịch kiềm***”.

## **2. Mục đích nghiên cứu**

- Khảo sát quá trình chiết tách axit hydroxycytric từ vỏ quả bứa bằng dung dịch kiềm để tạo muối.
- So sánh hiệu suất chiết HCA bằng dung dịch kiềm và dung môi nước đã sử dụng trước đây.
- Đóng góp thêm những thông tin, tư liệu khoa học về cây bứa, tạo cơ sở khoa học ban đầu cho các nghiên cứu sâu về ứng dụng của axit hydroxycytric .

## **3. Đối tượng nghiên cứu và phạm vi nghiên cứu**

### ***3.1. Đối tượng nghiên cứu***

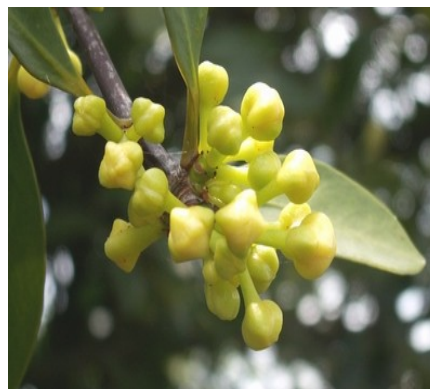
Vỏ quả, lá của cây bứa (*Garcinia oblongifolia* Champ. Ex Benth.) tại xã Bình Hải và Bình Hoà, huyện Bình Sơn, tỉnh Quảng Ngãi.

### ***3.2. Phạm vi nghiên cứu***

- Chiết tách axit hydroxycytric bằng phương pháp chung ninh bằng dung môi kiềm. Kiểm tra sản phẩm chiết bằng phương pháp chuẩn độ axit-bazơ, phổ hồng ngoại (IR) và phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).
- Khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố: Nồng độ kiềm, tỉ lệ rắn

lỏng, nhiệt độ, thời gian chưng cất tới hiệu suất quá trình chiết tách axit HCA bằng dung dịch kiềm gồm KOH và NaOH.

- So sánh công nghệ chiết tách axit trong dung dịch kiềm và dung môi nước về hiệu suất.



**Hình 1.1. Quả, lá, hoa của bura**

#### **4. Phương pháp nghiên cứu**

##### **4.1. Nghiên cứu lý thuyết**

Phương pháp nghiên cứu các hợp chất thiên nhiên, tổng quan các tài liệu về đặc điểm hình thái thực vật, thành phần hoá học, ứng dụng của một số loài thực vật thuộc họ bura *Clusiaceae*.

##### **4.2. Phương pháp thực nghiệm**

*Phương pháp chiết tách:* Phương pháp chiết chưng cất sử dụng dung dịch là kiềm (KOH, NaOH)

*Phương pháp phân tích công cụ:* Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS), phương pháp đo phổ hồng ngoại (IR).

#### **5. Ý nghĩa khoa học và tính thực tiễn của đề tài**

Từ các nghiên cứu trên, đề tài đã thu được một số kết quả với ý nghĩa như sau:

- Xây dựng quy trình chiết tách axit hydroxycytric tạo muối từ dung dịch kiềm từ vỏ quả bura khô.

- So sánh hiệu suất chiết axit giữa phương pháp dung dịch là kiềm và phương pháp đã sử dụng trước đó để rút ra phương pháp nào hiệu quả hơn.

- Cung cấp các thông tin khoa học về thành phần và cấu tạo của muối kalixihydroxycitrat và natrxihydroxycitrat.

- Làm cơ sở dữ liệu để ứng dụng muối kalihydroxycitrat trong thực tế.

## **6. Cấu trúc của luận văn**

Luận văn gồm phần mở đầu, kết luận, kiến nghị, tài liệu tham khảo. Nội dung của luận văn chia làm ba chương như sau:

Chương 1: Tổng quan

Chương 2: Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Chương 3: Kết quả và thảo luận.

## **CHƯƠNG 1**

### **TỔNG QUAN ĐỀ TÀI**

#### **1.1. MỘT SỐ LOÀI BỨA VIỆT NAM VÀ THẾ GIỚI**

*Đặc điểm, phân bố cây bứa:*

Ở nước ta có các loại bứa như: Bứa nhà, Tai chua, Bứa mọi, Bứa đồng, Buaws mũ vàng. Một số loại bứa khác ở Ấn Độ như: *Garcinia cambogia*; *Garcinia indica*; *Garcinia atro Viridis*.

#### **1.2. GIỚI THIỆU AXIT HYDROXYCITRIC (HCA)**

##### **1.2.1. Nguồn gốc HCA**

HCA được tìm thấy trong vỏ quả của một vài loài bứa, bao gồm *tai chua (G. cowa)*, *G. cambogia*, *G. indica* và *G. atroViridis*. Các nhà này mọc nhiều tại lục địa Ấn Độ và phía tây Sri Lanka.

##### **1.2.2. Hóa học của HCA**

###### **a. Sự khám phá HCA**

*b. Chiết tách*

*c. Định lượng HCA*

*d. Dẫn xuất của axit hydroxy citric*

**1.2.3. Tác dụng của HCA**

### **1.3. CÁC PHƯƠNG PHÁP KỸ THUẬT [3],[7].**

**1.3.1. Phương pháp trọng lượng**

**1.3.2. Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS)**

**1.3.3. Phương pháp chung ninhydrin**

**1.3.4. Phương pháp sắc ký lỏng cao áp (HPLC)**

*a. Cơ sở lý thuyết của phương pháp sắc ký*

*b. Cơ sở lý thuyết của sắc ký lỏng cao áp*

**1.3.5. Phương pháp chuẩn độ axit – bazơ**

## **CHƯƠNG 2**

### **NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

#### **2.1. THIẾT BỊ - DỤNG CỤ - HÓA CHẤT**

#### **2.2. NGUYÊN LIỆU**

**2.2.1. Điều tra sơ bộ cây bứa:** lá, quả bứa được hái từ xã Bình Hòa, huyện Bình Sơn- Quảng Ngãi.

**2.2.2. Thu nguyên liệu**

**2.2.3. Xử lý nguyên liệu**

#### **2.3. XÁC ĐỊNH TÍNH CHẤT VẬT LÝ**

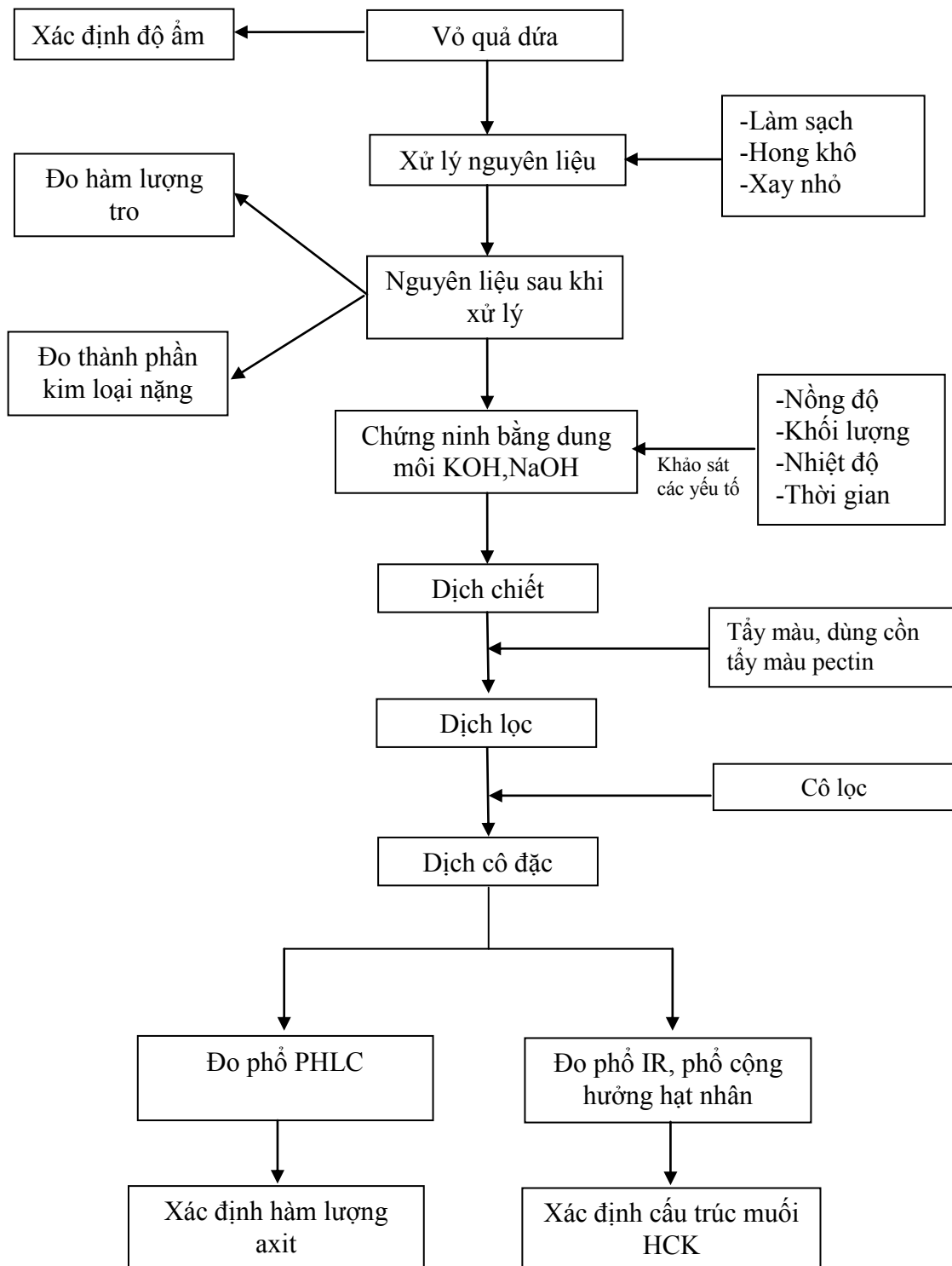
Nguyên liệu được kiểm tra độ ẩm, hàm lượng tro bằng phương pháp trọng lượng.

Các chế phẩm HCK, HCNa sau chiết tách, cô đặc được kiểm tra bằng sắc ký lỏng cao áp; quang phổ hấp thụ nguyên tử; cộng hưởng từ hạt nhân, phổ hồng ngoại IR.

## 2.4. PHƯƠNG PHÁP HÓA LÝ

Sử dụng phương pháp chiết tách HCA từ lá, vỏ quả dưa: chiết chung ninh bằng dung môi kiềm theo các yếu tố nồng độ, tỉ lệ rắn lỏng, nhiệt độ, thời gian. Tổng lượng axit trong dung dịch chiết được xác định phương pháp chuẩn độ.

## 2.5. SƠ ĐỒ QUY TRÌNH THỰC NGHIỆM





## CHƯƠNG 3

### KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. MỘT SỐ TÍNH CHẤT VẬT LÝ CỦA NGUYÊN LIỆU

##### 3.1.1. Xác định độ ẩm của nguyên liệu

Hàm lượng nước trong lá, vỏ quả bứa được xác định bằng phương pháp trọng lượng và thu được kết quả: Độ ẩm trung bình trong lá bứa tươi cao chiếm khoảng 70% khối lượng lá. Độ ẩm trung bình trong vỏ quả bứa tươi cao chiếm khoảng 84% khối lượng vỏ.

##### 3.1.2. Xác định hàm lượng tro

Hàm lượng tro trong vỏ bứa thấp, chiếm 3,4 % khối lượng vỏ bứa khô, chứng tỏ lượng chất vô cơ và kim loại nặng trong đó không nhiều. Hàm lượng tro trung bình trong lá quả bứa khô là 1,42%. Hàm lượng tro rất thấp và chiếm khoảng 1,4% khối lượng lá bứa khô, ít hơn so với vỏ bứa khô, nên lượng chất vô cơ và kim loại nặng trong đó ít. Thành phần kim loại nặng trong lá vỏ quả bứa thấp nên đạt tiêu chuẩn về vệ sinh đối với lương thực, thực phẩm. Có thể sử dụng vỏ quả bứa để làm thực phẩm hoặc dược phẩm mà không ảnh hưởng đến sức khỏe con người.

#### 3.2. NGHIÊN CỨU CHIẾT TÁCH HCA TRONG VỎ BỨA KHÔ BẰNG DUNG DỊCH KIỀM

##### 3.2.1. Dung dịch KOH

###### a. Quy trình chiết tách

Lá, vỏ bứa khô xây mịn được cho vào bình cầu thể tích 500ml với 200ml dung môi KOH chưng cất bằng sinh hàn hồi lưu, đun ở thời gian T(phút), nhiệt độ t<sup>0</sup>C. Sau đó lọc phần bã rắn và dịch chiết bằng vải muslin. Tiến hành tẩy màu bằng 5g than hoạt tính ngâm trong nước ấm 30 phút, lọc bằng giấy lọc rửa 2 lần với 15 ml nước. Trộn

dịch lọc và rửa, cô đặc rồi tủa pectin bằng cồn 96<sup>0</sup>, lọc tủa pectin. Bay hơi cồn, cô đặc dung dịch về còn 50 ml ta thu được dịch cô, chia dịch cô làm 2 phần. Phần 1 dùng để chuẩn độ để xác định lượng HCA, phần 2 đem xác định công thức cấu tạo axit HCA bằng phương pháp đo phổ IR và NMR, kiểm tra sản phẩm bằng phương pháp đo phổ HPLC.

### ***b. Các yếu tố ảnh hưởng***

Có 4 yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết tách mà ta cần khảo sát + Nồng độ kiềm; Khối lượng búa trong 1 lượng dung môi ( tỉ lệ R/L). Nhiệt độ; Thời gian.

#### ***- Nồng độ kiềm***

Khảo sát đầu tiên ta làm với lượng búa trung bình là 20 gam, thể tích dung môi là 200 ml, ở nhiệt độ là 75<sup>0</sup>C, thời gian là 120 phút, yếu tố nồng độ KOH thay đổi. Môi trường trong dịch sau xử lí sẽ thay đổi từ axit đến trung tính, qua bazơ. Lượng axit trong dịch sau khi xử lí sẽ biến đổi từ dư ít (vẫn môi trường axit) đến khi kiềm dư qua môi trường trung tính, thì ta sẽ chọn giá trị KOH tại điểm đó. Ban đầu chuẩn độ lượng axit dư trong dịch bằng dung dịch chuẩn NaOH 0,1N với chất chỉ thị là phenolphthalein, chuẩn từ không màu đến có màu hồng thì dừng. Mặt khác ta có lượng KOH phản ứng ban đầu sẽ suy ra lượng axit phản ứng trong đó, cộng 2 kết quả lại ta có tổng lượng axit. Đến giá trị KOH mà tại đó môi trường của dịch thu được là bazơ, sau khi đo giá trị pH, tiến hành chuẩn độ mẫu bằng dung dịch HCl chuẩn có nồng độ là 0,1 N, chuẩn độ 3 lần, lấy giá trị trung bình sau 3 lần chuẩn ấy, chất chỉ thị là phenolphthalein, chuẩn đến khi nào dung dịch từ màu hồng chuyển sang không màu thì dừng, mỗi lần chuẩn lấy ra 5ml dung dịch mẫu. Từ giá trị  $V_{HCL}$  tiêu tốn ta suy ra lượng KOH đã

tác dụng để tham gia tạo muối. Ta có

$$V_{\text{HCl}} \cdot C_{\text{HCl}} = V_{\text{dung dịch mẫu}} \cdot C_{\text{KOH dư}}$$

lấy lượng KOH ban đầu trừ đi lượng dư sẽ có lượng phản ứng, từ đây ta lại tính ra giá trị tổng lượng axit trong vỏ búa khi chiết bằng lượng dung môi kia. Kết quả xác định tổng lượng axit trong vỏ búa bằng dung môi KOH theo nồng độ qua bảng 3.4

**Nhận xét :**

+ Khi tăng nồng độ KOH tăng dần thì thể tích chuẩn độ HCl tăng dần tức lượng dư axit trong dịch bị giảm dần, khi KOH đạt giá trị là 0,7M thì môi trường bazơ, lúc này trong dịch không còn axit dư .

+ Lượng axit tổng trung bình là 24,95 % là tương đối trung bình, tiếp tục lấy giá trị nồng độ là 0,7 M này khảo sát yếu tố thứ 2 là tỉ lệ rắn lỏng.

**- Khối lượng vỏ quả búa trong 1 lượng dung môi ( tỉ lệ R/L) :**

Sau khi khảo sát nồng độ kiềm , lấy giá trị lượng KOH là 0,7 M, khối lượng búa lúc này là đại lượng thay đổi, vẫn tiến hành chung bình mẫu với lượng thể tích dung môi là 200 ml, nhiệt độ là 75<sup>0</sup>C , thời gian là 120 phút Sau khi xử lí theo các bước trong sơ đồ, môi trường của dịch sau khi xử lí thu được là bazơ, chuẩn độ lượng KOH dư rồi tính ra lượng KOH phản ứng, từ lượng KOH phản ứng tính ra tổng lượng axit .

Giá trị thích hợp nhất trong khảo sát này là tỉ lệ khoảng 25 gam búa trên 200 ml dung môi, tổng lượng axit là **25,01g /100g**.

**- Nhiệt độ**

Ta tiếp tục khảo sát yếu tố nhiệt độ , giữ nguyên các điều kiện khác như khối lượng búa, lượng dung môi, thời gian chiết. Tiếp tục thu lấy dịch xử lí như các bước trên rồi chuẩn độ xem lượng KOH dư

bao nhiêu để rút ra điều kiện chiết được tổng lượng axit nhiều nhất.

Vậy nhiệt độ thích hợp trong khảo sát này là  $75^{\circ}\text{C}$ , tổng lượng axit là  $25,02\text{g}/100\text{g}$ .

**- Thời gian**

Yếu tố sau ảnh hưởng đến quá trình chiết axit là thời gian. Yếu tố thời gian thay đổi, còn các yếu tố còn lại cố định như khối lượng búa, lượng dung môi, nhiệt độ. Tiến hành chiết tách và xử lý dịch chiết như theo quy trình và chuẩn độ ở trên, tính ra tổng lượng axit dư và so sánh các thông số.

Lượng axit thu được ở thời gian 150 phút là cao nhất ( $27,24\text{g}/100\text{g}$ ).

**KẾT LUẬN :**

+ Sau khi khảo sát thì rút ra điều kiện thích hợp để chiết HCA trong dung dịch kiềm KOH :

M= 25g, V KOH= 200ml, Nồng độ là 0,7M, nhiệt độ  $75^{\circ}\text{C}$  , thời gian là 150 phút

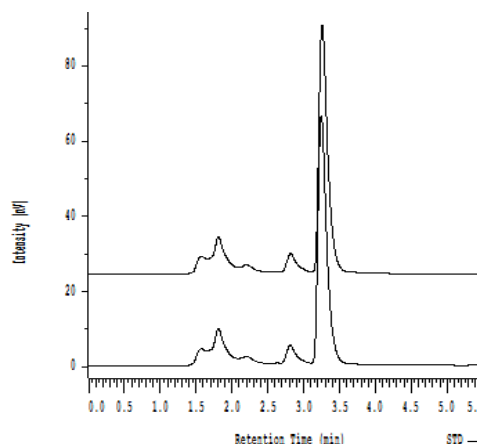
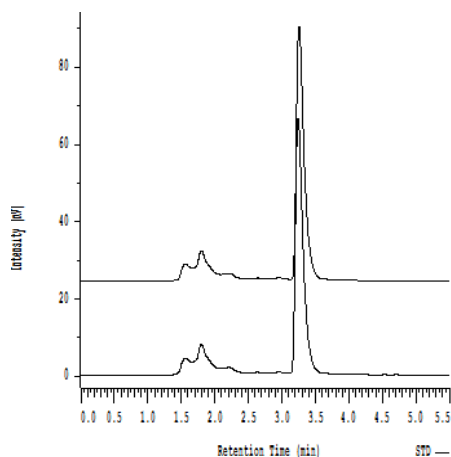
+ Nhiệt độ và thời gian có ảnh hưởng đáng kể đến lượng axit được chiết ra

**3.2.2. Nghiên cứu xác định lượng HCA trong dung dịch KOH bằng phương pháp đo phổ HPLC :**

Để kiểm tra sản phẩm muối tạo thành ta tiến hành kiểm tra sản phẩm muối HCK thu được bằng phổ HPLC rồi so sánh với phổ HPLC của HCCa chuẩn.

Kết quả đo phổ HPLC cho thấy thời gian lưu của muối HCK đã tổng hợp là 3,253 phút. So sánh với kết quả đo HPLC của HCCa chuẩn có thời gian lưu là 3,247 phút. Do đó có thể kết luận là lượng muối HCK nhiều trong vỏ.

Tuy nhiên, trên phổ đồ tổng hợp xuất hiện nhiều số pic nhỏ. Như vậy, ngoài lượng lớn HCK còn có lẫn các tạp chất khác. Hàm lượng HCK trong muối đã tổng hợp được xác định bằng HPLC là 91,351%.



Hình 3.1. Phổ HPLC của HCCa      Hình 3.2. Phổ HPLC của HCK

### 3.2.3. Dung dịch NaOH

#### a. Quy trình chiết tách

Giống như quy trình chiết tách HCA khi dùng dung dịch KOH, ở đây ta chỉ thay KOH bằng dung dịch NaOH.

#### b. Các yếu tố ảnh hưởng

Vấn xét 4 yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết tách mà ta cần khảo sát:

+ Nồng độ kiềm ; Khối lượng bừa trong 1 lượng dung môi (tỉ lệ R/L); Nhiệt độ; Thời gian

#### - Nồng độ kiềm

Lấy lượng vỏ quả bừa 20 gam, thể tích dung môi là 200 ml, ở nhiệt độ là  $75^{\circ}\text{C}$ , thời gian là 120 phút, yếu tố nồng độ NaOH thay đổi.

Lượng axit tổng trung bình khi chiết trong dung dịch NaOH là 22,06 gam ( ít hơn so với KOH là 24,95 g)

+ Điều kiện nồng độ thích hợp trong khảo sát này là nồng độ **0,6**

M, lấy giá trị nồng độ này ta tiếp tục khảo sát các yếu tố còn lại.

**- Khối lượng búa trong 1 lượng dung môi (tỉ lệ R/L)**

+ Sau khi khảo sát nồng độ kiềm, lấy giá trị lượng NaOH là 0,6 M, khối lượng búa lúc này là đại lượng thay đổi, vẫn tiến hành chung nình mẫu với lượng thể tích dung môi là 200 ml, nhiệt độ là 75<sup>0</sup>C, thời gian là 120 phút. Giá trị thích hợp nhất trong khảo sát này là tỉ lệ khoảng 25 gam búa trên 200 ml dung môi, tổng lượng axit là 23,01g /100g.

**- Nhiệt độ**

Vậy nhiệt độ thích hợp trong khảo sát này là 75<sup>0</sup>C, tổng lượng axit là 23,03 g/100g.

**- Thời gian**

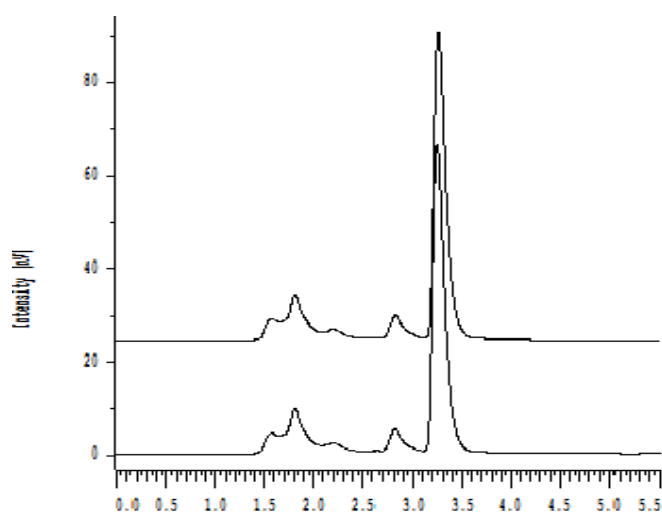
+ Thời gian có ảnh hưởng mạnh tới lượng axit chiết được trong cùng lượng dung môi và khối lượng búa, thời gian chiết càng lâu thì lượng axit thu được càng nhiều. Lượng axit thu được ở thời gian 150 phút là cao nhất (25,13g/100g). Nhưng nếu ngâm lâu hơn nữa thì lượng axit không thay đổi là bao nhiêu.

**Kết luận chung:**

+ Sau khi khảo sát thì rút ra điều kiện thích hợp để chiết HCA trong dung dịch kiềm NaOH :m= 25g, VKOH= 200ml, Nồng độ là 0,6M, nhiệt độ 75<sup>0</sup>C, thời gian là 150 phút

**3.2.4. Nghiên cứu xác định lượng HCA trong vỏ búa bằng dung dịch NaOH bằng phương pháp đo phổ HPLC**

Để kiểm tra sản phẩm muối tạo thành ta tiến hành kiểm tra sản phẩm muối HCNa thu được bằng phổ HPLC rồi so sánh với phổ HPLC của HCCa chuẩn.



Hình 3.3. Phổ HPLC của HCNa

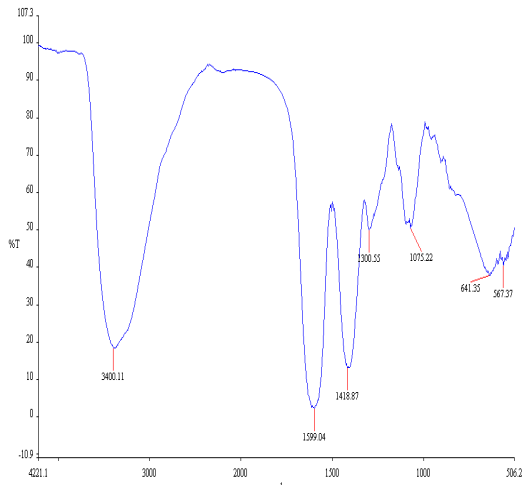
Nhận xét:

Kết quả đo phổ HPLC cho thấy thời gian lưu của muối HCNa đã tổng hợp là 3,255 phút. So sánh với kết quả đo HPLC của HCCa chuẩn có thời gian lưu là 3,247 phút. Do đó có thể kết luận là lượng muối HCNa không nhiều bằng muối HCK. Tuy nhiên, trên phổ đồ tổng hợp xuất hiện nhiều số pic nhỏ chứng tỏ còn có lẫn các tạp khác. Hàm lượng HCNa trong muối đã tổng hợp được xác định bằng HPLC là 85.33%.

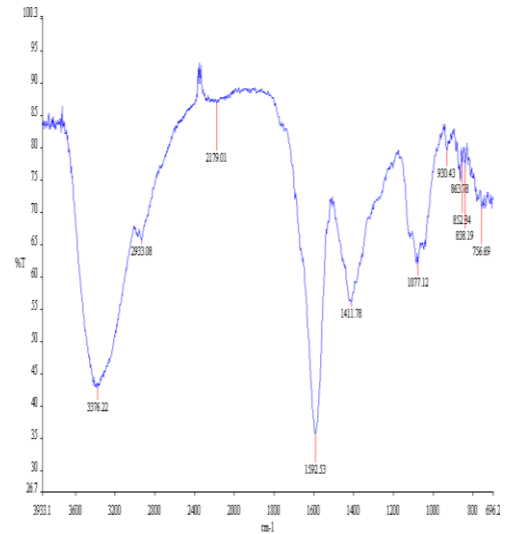
### 3.3. XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC HCK

#### 3.3.1. Xác định cấu trúc HCK bằng phương pháp đo phổ hồng ngoại IR

Về hình dáng phổ IR của muối HCK và HCCa chuẩn tương tự nhau. Như vậy, có sơ bộ thể kết luận muối được tạo thành có cấu trúc tương tự với muối chuẩn của axit(-)-hydroxy xitric. Mà lượng axit tồn tại trong dịch là ở dạng muối



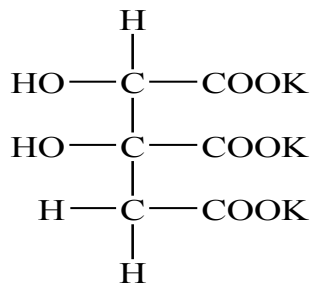
Hình 3.6. Phổ IR của HCCa chuẩn.



Hình 3.7. Phổ IR của HCK

### 3.3.2. Xác định cấu trúc HCK bằng phổ cộng hưởng từ hạt nhân

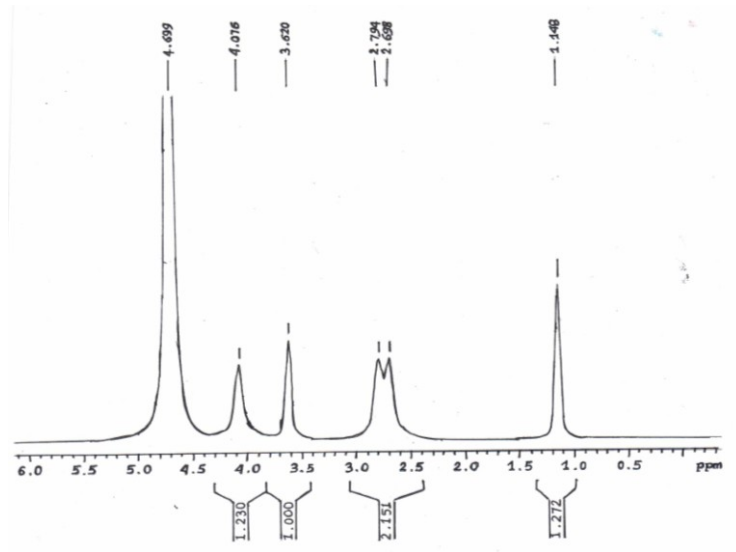
Để xác định cấu trúc chi tiết của sản phẩm muối HCK tạo thành ta tiến hành đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân  $^1\text{H}$ - NMR và  $\text{C}^{13}$ - NMR của HCK.



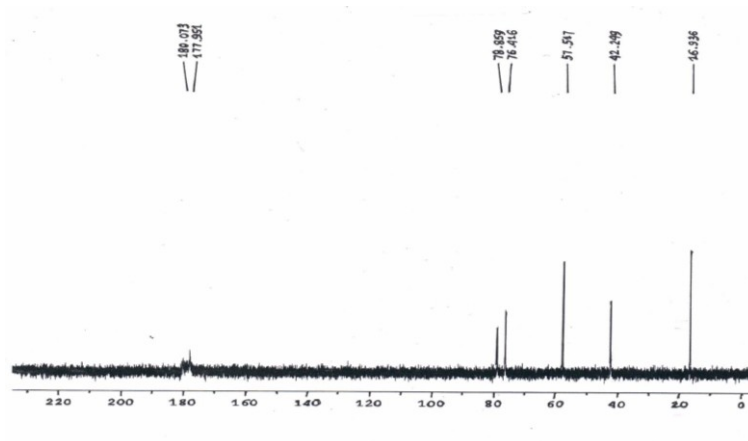
Hình 3.8. Cấu trúc muối Kali của HCA

Phổ  $\text{C}^{13}$ - NMR của muối HCK được thể hiện ở hình 3.9 trên có 03 pic tại 42,249;76,416;78,859 kết quả tương ứng của methylene cacbon(C-5), methylene cacbon(C-1), và cacbon bậc 4(C-3) trong muối HCK. Các pic tại 177,951;180,073 là của cacbonyl cacbon(C-2; C-4 và C-6) của 03 nhóm cacboxylat trong muối HCK.





Hình 3.9. Phổ  $C^{13}$ -NMR của muối HCK



Hình 3.10. Phổ  $^1H$ -NMR của muối HCK

Kết quả kiểm tra phổ phổ  $C^{13}$ -NMR và  $^1H$ -NMR cho thấy sản phẩm muối HCK điều chế được có công thức cấu tạo phù hợp với công thức muối kali như dự đoán ban đầu hình 3.8.

### 3.4. NGHIÊN CỨU CHIẾT TÁCH HCA TRONG LÁ BỨA KHÔ BẰNG DUNG DỊCH KIỀM

#### 3.4.1. Dung dịch KOH

*a. Quy trình chiết tách* : Giống như quy trình chiết tách ở phần vỏ quả. Ta chỉ dùng nguyên liệu lá khô, xây mịn.

*b. Các yếu tố ảnh hưởng*

Có 4 yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết tách mà ta cần khảo sát + Nồng độ kiềm ; Khối lượng búa trong 1 lượng dung môi ( tỉ lệ R/L ); Nhiệt độ; Thời gian

**- Nồng độ kiềm :**

Lượng axit tổng trung bình là 3,21 % là tương đối thấp, so với vỏ búa thì lượng nồng độ cần thiết để đưa môi trường chuyển từ môi trường axit sang kiềm yếu là thấp hơn so với vỏ búa. Vậy tạo khảo sát này thì nồng độ KOH 0,3 M là thích hợp.

**- Khối lượng lá búa trong 1 lượng dung môi ( tỉ lệ R/L)**

Giá trị thích hợp nhất trong khảo sát này là tỉ lệ khoảng 25 gam búa trên 200 ml dung môi, tổng lượng axit vẫn thấp, là 3,32 g/100g.

**- Nhiệt độ**

Ta tiếp tục khảo sát yếu tố nhiệt độ , giữ nguyên các điều kiện khác như khối lượng búa. Vậy nhiệt độ thích hợp trong khảo sát này là 75<sup>0</sup>C , tổng lượng axit là 3,30 g/100g.

**- Thời gian**

Lượng axit thu được ở thời gian 150 phút là cao nhất ( 3,65 g/100g). Nhưng nếu ngâm lâu hơn nữa thì lượng axit không thay đổi là mấy mà thậm chí còn bị giảm

Kết luận:

+ Sau khi khảo sát thì rút ra điều kiện thích hợp để chiết HCA trong lá búa bằng dung môi kiềm KOH : M= 25 g, V KOH= 200 ml, Nồng độ là 0,3M, nhiệt độ 75<sup>0</sup>C , thời gian là 150 phút

+ Nhiệt độ và thời gian có ảnh hưởng đáng kể đến lượng axit được chiết ra.

### **3.4.2. Dung dịch NaOH**

**a. Quy trình chiết tách :**

Tương tự như trên, và cũng xét 4 yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết tách mà ta cần khảo sát: Nồng độ kiềm; Khối lượng bừa trong 1 lượng dung môi (tỉ lệ R/L); Nhiệt độ; Thời gian.

**- Nồng độ kiềm :**

Lượng axit tổng trung bình khi chiết trong dung môi NaOH là 2,15 gam (ít hơn so với KOH là 24,95g)

**- Khối lượng bừa trong 1 lượng dung môi (tỉ lệ R/L) :**

Giá trị thích hợp nhất trong khảo sát này là tỉ lệ khoảng 25gam bừa trên 200ml dung môi, tổng lượng axit là 2,98g/100g. Đây là lượng giá trị thấp.

**- Nhiệt độ :**

Nhiệt độ thích hợp trong khảo sát này là 85<sup>0</sup>C, tổng lượng axit là 3,12 g/100g.

**- Thời gian :**

Lượng axit thu được ở thời gian 150 phút là cao nhất (3,36 g/100g).

**Kết luận :**

Sau khi khảo sát thì rút ra điều kiện thích hợp để chiết HCA từ lá trong dung môi kiềm NaOH :

m= 25g, V NaOH= 200ml, Nồng độ là 0,4M, nhiệt độ 85<sup>0</sup>C , thời gian là 150 phút

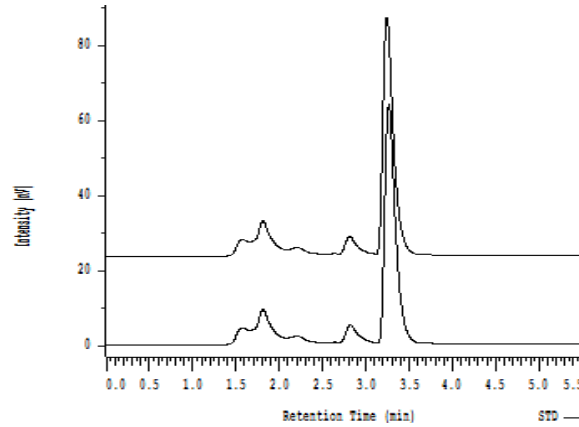
Nhiệt độ và thời gian có ảnh hưởng đáng kể đến lượng axit được chiết ra, về điều kiện cơ bản là giống với dung môi KOH.

**3.4.3. Nghiên cứu xác định lượng HCA trong dung môi kiềm bằng phương pháp đo phổ HPLC**

Để kiểm tra sản phẩm muối tạo thành ta tiến hành kiểm tra sản phẩm muối HCK thu được bằng phổ HPLC rồi so sánh với phổ HPLC

của (-)-HCCa chuẩn.

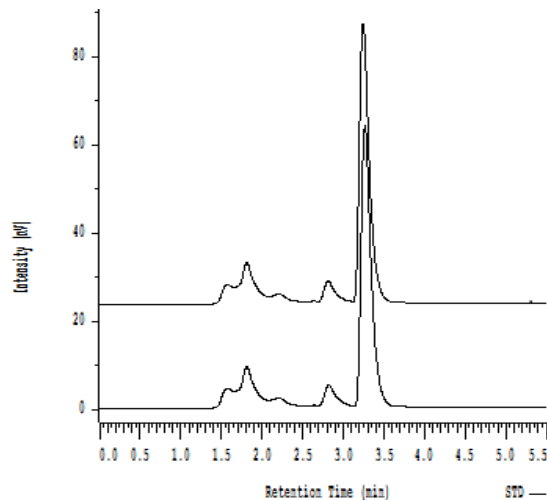
Kết quả kiểm tra bằng phổ HPLC thể hiện ở hình 3.11 và hình 3.12.



Hình 3.11. Phổ HPLC HCK chiết từ lá

Nhận xét:

Kết quả đo phổ HPLC cho thấy thời gian lưu của muối HCK của lá bứa đã tổng hợp là 3,235 phút. So sánh với kết quả đo HPLC của HCK chuẩn có thời gian lưu là 3,247 phút. Do đó có thể kết luận là ở lá bứa vẫn có hàm lượng HCA nhưng rất ít.



Hình 3.12. Phổ HPLC HCNa chiết từ lá

### 3.5. SO SÁNH HIỆU QUẢ 2 PHƯƠNG PHÁP CHIẾT BẰNG DUNG DỊCH KIỀM VÀ DUNG MÔI NƯỚC

#### 3.5.1. So sánh tổng lượng axit trong vỏ bứa bằng phương pháp chiết trong dung môi kiềm và nước qua tổng khối lượng

Tiến hành chiết tách axit trong 2 loại dung môi với các yếu tố cơ bản như nhau sau : khối lượng bứa là 25 g, nhiệt độ là 75<sup>0</sup>C, thời gian là 150 phút, thể tích dung môi là 200ml, đối với dung môi là kiềm thì nồng độ là 0,7 M.

**Bảng 3.24. Tổng lượng axit chiết trong các loại dung môi với điều kiện đã khảo sát**

Dung môi	Tổng lượng axit thu được (g/100g)
KOH	27,24
NaOH	25,13
Nước	18,89

**Nhận xét :**

- Trong cùng một điều kiện tiến hành chiết tách thì dung môi nước cho ra tổng lượng axit ít nhất (18,89 g/100g), còn dung môi KOH cho ra lượng axit là cao nhất (27,24 g/100g ), giữa NaOH và KOH thì dung môi KOH cho ra lượng axit cao hơn

#### 3.5.2. So sánh lượng axit HCA trong vỏ bứa qua phương pháp chiết trong dung dịch kiềm và nước qua hiệu suất

**Bảng 3.25. Tổng lượng axit HCA chiết trong các loại dung môi với điều kiện đã khảo sát**

Dung môi	Hàm lượng HCA (g/100g)	Hiệu suất ( %)
KOH	24,83	91,16
NaOH	21,44	85,33
Nước	16,09	85,18

**Nhận xét :**

Hiệu suất của phương pháp chiết bằng dung môi KOH là cao nhất, cho ra lượng axit HCA là 24,83 g/100g. Kế tiếp là dung môi NaOH với lượng axit là 21,44 g/100g, thấp nhất là dung môi nước với lượng axit là 16,09g/100g

Kết quả trên cho thấy khả năng tương tác để chiết axit trong dung môi kiềm cao hơn so với dung môi nước ở cùng điều kiện chiết tách, trong 2 dung môi kiềm thì dung môi KOH tương tác tốt hơn dung môi NaOH.

**3.6. So sánh lượng axit HCA của lá và của vỏ quả qua phương pháp chiết trong dung dịch kiềm và nước qua hiệu suất :**

Lượng axit HCA chiết được bằng dung môi kiềm vẫn cao hơn so với dung môi nước dù là chiết với vỏ búa hay lá búa. Trong 2 dung môi kiềm thì dung môi KOH cho ra hiệu suất cao hơn NaOH.

Hiệu suất khi chiết với lá búa thấp hơn nhiều so với vỏ búa là do hàm lượng axit khác nhau giữa lá và vỏ cùng sự tương tác giữa các cấu tử với dung môi trong quá trình chiết.

Bảng 3.26. Tổng lượng axit HCA chiết trong các loại dung môi với điều kiện đã khảo sát

Loại mẫu	Dung môi	Lượng HCA (g/100g)	Hiệu suất (%)
Vỏ búa	KOH	24,83	91,16
	NaOH	21,44	85,33
	Nước	16,09	85,18
Lá búa	KOH	1,83	50,01
	NaOH	1,57	47,00
	Nước	1,48	30,03

### 3.6.1. So sánh các chỉ tiêu về công nghệ chiết tách HCA trong dung môi kiềm và dung môi nước

#### *a. Đối với dung dịch kiềm*

##### + **Nhược điểm :**

1. Phương pháp này phù hợp là chưng cất bằng bếp cách thủy với lượng lớn, hạn chế dùng nồi áp suất vì có thể dung môi kiềm làm bào mòn hư hại dụng cụ.

2. Dung môi pha chế đúng nồng độ, giữ ổn định môi trường pH từ 8-8,7, môi trường kiềm yếu nên phức tạp hơn dung môi nước.

3. Vì dung môi ngay ban đầu là kiềm nên sẽ phản ứng với hết các lượng axit trong đó nên quy trình chiết tách và tinh chế thu được axit có kết quả sau cùng có thể sẽ ít tinh khiết hơn do có lẫn muối của các axit trong búa.

##### + **Ưu điểm :**

1. Lượng axit và lượng muối chiết ra được nhiều hơn do tương tác các dung môi kiềm với búa, nên hiệu suất chung tạo muối sẽ cao hơn so với dung môi là nước.

2. Vì có sự tương tác mạnh giữa dung môi và axit trong búa tương đối mạnh nên thời gian chiết có thể rút ngắn hơn so với dung môi nước.

#### *b. Đối với dung môi nước*

##### + **Nhược điểm :**

1. Hiệu suất thấp hơn hẳn so với phương pháp dùng dung môi là kiềm.

2. Thời gian chiết cũng kéo dài hơn mới chiết được hết lượng axit trong búa.

**+ Ưu điểm :**

1. Vì dung môi là nước nên có thể dùng phương pháp chung ning với các dụng cụ khác nhau như nồi áp suất, bếp cách thủy...
2. Dung môi nước ít tạp chất hơn.

**3.6.2 . Kết luận**

Mỗi phương pháp đều có những hạn chế và ưu điểm nhất định, trong sản xuất nên có biện pháp dung hòa về hiệu suất lẫn độ tinh khiết để cho ra sản phẩm tốt hơn.



## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### *Kết luận*

Trong đề tài nghiên cứu chúng tôi đã thu được một số kết quả như sau:

1/ Độ ẩm trung bình trong lá chiếm 70%, trong vỏ quả bứa khô: 84,34 %, Hàm lượng trot rung bình trong lá 1,42%, vỏ quả bứa khô: 1,4 % .

Thành phần kim loại nặng gồm

2/ Đã chiết tách thành công HCA trong bứa bằng dung dịch KOH với điều kiện :

- Vỏ bứa khô : 25 g, nồng độ KOH là 0,7M , thể tích dung môi là 200 ml, nhiệt độ là 75<sup>0</sup>C, thời gian là 150 phút, hiệu suất là 91,16 %.

- Lá bứa khô : 25 g, nồng độ KOH là 0,3M , thể tích dung môi là 200 ml, nhiệt độ là 75<sup>0</sup>C, thời gian là 150 phút, hiệu suất là 50,01 %.

Bằng dung môi NaOH với điều kiện :

- Vỏ bứa khô : 25 g, nồng độ KOH là 0,6M , thể tích dung môi là 200 ml, nhiệt độ là 75<sup>0</sup>C, thời gian là 150 phút, hiệu suất là 85,33 %.

- Lá bứa khô : 25 g, nồng độ KOH là 0,4M , thể tích dung môi là 200 ml, nhiệt độ là 85<sup>0</sup>C, thời gian là 150 phút, hiệu suất là 47,00 %.

3/ Đã xác định được muối HCK tạo thành bằng phổ hồng ngoại (IR), NMR, xác định hàm lượng muối bằng sắc ký lỏng cao áp (HPLC) . Hàm lượng muối HCK trong sản phẩm vỏ quả chuyển hoá là 91,16% ứng với thời gian lưu là 3,91 phút, trong lá là 50,03%.

### *Kiến nghị*

1/ Axit(-)-HCA có tính năng chống béo phì hiệu quả được cung cấp chủ yếu dưới dạng các muối. Vì vậy, chúng ta nên tiếp tục nghiên cứu theo hướng điều chế và ứng dụng các muối của (-)-HCA ở dạng

muối kép để tăng hiệu quả trong sản xuất dược liệu hay thực phẩm chức năng với mục đích giảm cân.

2/ Nghiên cứu xây dựng quy trình chiết tách (-)-HCA từ vỏ quả bứa theo quy mô công nghiệp để sản xuất thực phẩm giảm cân chứa (-)- HCA tại Việt Nam.