

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

BÙI NGỌC PHƯƠNG CHÂU

**NGHIÊN CỨU CHIẾT TÁCH, XÁC ĐỊNH
THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA DỊCH CHIẾT
VỎ QUẢ BỨA KHÔ HÒA VANG, ĐÀ NẴNG**

Chuyên ngành: Hóa 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. **ĐẶNG MINH NHẬT**

Phản biện 2: TS. **ĐẶNG QUANG VINH**

Luận văn sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm Luận văn tốt nghiệp thạc sĩ 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. Tính cấp thiết của đề tài

Cây bứa – tên khoa học là *Garcinia oblongifolia* Champ. ex Benth, thuộc họ bứa và chi bứa. Ở Việt Nam, cây bứa tương đối dễ trồng, phát triển tốt, cho năng suất cao và có mặt ở hầu hết các địa bàn trong cả nước, nhất là những vùng rừng núi phía Bắc, miền Trung, Tây Nguyên. Từ lâu, con người đã dùng lá, quả bứa để chế biến trong món ăn và chữa bệnh. Lá bứa có vị chua thường được thái nhỏ để nấu canh chua. Vỏ bứa thường dùng để trị loét dạ dày, loét tá tràng; viêm dạ dày ruột, kém tiêu hoá; viêm miệng, bệnh cận răng; ho ra máu. Vỏ bứa có thể giã nhuyễn đắp ngoài da để trị bỏng, mụn nhọt, eczema, dị ứng mẩn ngứa. Ngoài ra, cây bứa còn được dùng để ngăn gió, chắn bão.

Trên thế giới việc nghiên cứu cây bứa đã được chú trọng từ lâu. Tính đến nay, đã có hàng trăm công trình nghiên cứu về cây bứa bao gồm các lĩnh vực chiết tách, xác định thành phần hóa học các hợp chất hữu cơ, ứng dụng trong công nghệ thực phẩm và công nghệ dược phẩm. Ở nước ta, nhiều công trình nghiên cứu về cây bứa cũng đã được công bố nhưng hầu hết đều nghiên cứu chiết tách, tạo muối kim loại của axit HCA – chất có tác dụng kìm hãm quá trình chuyển hóa lượng đường thừa trong cơ thể thành mỡ, giảm các loại mỡ xấu cho sức khỏe, làm gia tăng nồng độ Serotonin, một chất dẫn truyền thần kinh chính yếu có vai trò kiểm soát sự thèm ăn. Cho đến nay ở Việt Nam chưa có nghiên cứu nào mang tính hệ thống về thành phần hóa học, tính chất của các hợp chất hóa học có trong cây bứa. Đây là những vấn đề rất đáng được quan tâm nghiên cứu nhằm góp phần quy

hoạch, khai thác, chế biến và ứng dụng các sản phẩm của cây bứa một cách có hiệu quả, khoa học hơn.

Với những lý do trên, chúng tôi chọn đề tài “***Nghiên cứu chiết tách, xác định thành phần hóa học của dịch chiết vỏ quả bứa khô Hòa Vang, Đà Nẵng***”.

2. Mục tiêu nghiên cứu

- Xác định thành phần hóa học của dịch chiết vỏ quả bứa khô Hòa Vang, Đà Nẵng trong các dung môi khác nhau;
- Phân lập, xác định cấu trúc của một số cấu tử chính.

3. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu

Vỏ quả bứa (*Garcinia oblongifolia* Champ. ex Benth) thu hái tại xã Hòa Liên, huyện Hòa Vang, thành phố Đà Nẵng.

Phạm vi nghiên cứu

- Xác định một số chỉ số vật lý của nguyên liệu như độ ẩm, hàm lượng tro, thành phần và hàm lượng kim loại nặng;
- Chiết tách các cấu tử hữu cơ trong vỏ quả bứa khô bằng các dung môi hexane, ethyl acetate, dichloromethane, methanol;
- Định danh, xác định thành phần của các cấu tử trong vỏ quả bứa bằng phương pháp GC-MS;
- Nghiên cứu phân lập, xác định cấu trúc của cấu tử chính của dịch chiết vỏ quả bứa khô bằng các phương pháp phổ;
- Thẩm dò hoạt tính sinh học của một số cấu tử.

4. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu lý thuyết

- Thu thập các thông tin tài liệu liên quan đến đề tài;

- Xử lý các thông tin về lý thuyết để đưa ra các vấn đề cần thực hiện trong quá trình thực nghiệm.

Phương pháp thực nghiệm

- Phương pháp lấy và xử lý mẫu;
- Phương pháp trọng lượng xác định các thông số vật lý của nguyên liệu;
- Phương pháp AAS xác định hàm lượng các kim loại nặng;
- Phương pháp chiết nóng soxhlet;
- Phương pháp sắc ký bản mỏng, sắc ký cột để phân lập cấu tử chính;
- Phương pháp sắc ký GC-MS và các phương pháp phổ để định danh các cấu tử chính trong các dịch chiết.

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

Ý nghĩa khoa học

Cung cấp những thông tin khoa học về quy trình chiết tách xác định thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của một số dịch chiết vỏ quả bứa khô.

Ý nghĩa thực tiễn

- Cung cấp thêm thông tin, làm tài liệu tham khảo cho các nghiên cứu về cây bứa;
- Định hướng cho những nghiên cứu sâu hơn về cây bứa ở Việt Nam.

6. Bố cục luận văn

Luận văn gồm 67 trang, trong đó có 13 bảng và 35 hình. Phần mở đầu 03 trang, kết luận và kiến nghị 02 trang, tài liệu tham khảo 05 trang. Nội dung của luận văn chia làm 03 chương:

Chương 1: Tổng quan, 20 trang.

Chương 2: Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu, 7 trang.

Chương 3: Kết quả và bàn luận, 30 trang.

CHƯƠNG 1 TỔNG QUAN

1.1. CÂY BỨA

1.1.1. Đặc điểm, phân bố cây bứa

1.1.2. Bứa

1.1.3. Phân loại bứa

a. *Bứa mọi*

b. *Bứa mũ vàng*

c. *Bứa nhà*

d. *Tai chua*

e. *Garcinia cambogia*

f. *Garcinia indica*

g. *Garcinia atrovirens*

h. *Garcinia dulcis*

i. *Garcinia hombroniana*

j. *Garcinia echinocarpa*

1.2. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TRONG NƯỚC VÀ TRÊN THẾ GIỚI VỀ CÂY BỨA

1.2.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới

a. *Những nghiên cứu về (-)-HCA*

b. *Những nghiên cứu về các muối kim loại của (-)-HCA*

1.2.2. Tình hình nghiên cứu trong nước

CHƯƠNG 2

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. NGUYÊN LIỆU

2.1.1. Thu nguyên liệu

Quả bứa được thu hái từ xã Hòa Liên – huyện Hòa Vang – Thành phố Đà Nẵng.

2.1.2. Xử lý nguyên liệu

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Xác định một số chỉ số vật lý

a. Độ ẩm

b. Hàm lượng tro

c. Xác định hàm lượng một số kim loại bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS)

2.2.2. Phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ GC–MS

2.2.3. Phân lập và xác định cấu trúc cấu tử tách được từ dịch chiết methanol (MeOH)

a. Sắc ký bản mỏng (TLC)

Trong luận văn này, chúng tôi phân tích TLC sử dụng:

- Sắc kí bản mỏng TLC Silicagel 60 F₂₅₄ hãng Merck, dày 0.25 mm tráng trên nền nhôm.

- Thuốc thử phun lên bản mỏng sử dụng vanilin 1% trong dung dịch methanol – H₂SO₄ đặc, sau đó sấy bản mỏng ở nhiệt độ khoảng 110⁰C.

b. Sắc ký cột (SKC)

Trong luận văn này, chúng tôi sử dụng:

- Silicagel nhồi cột là silicagel Merck có kích thước hạt 0.04 – 0.06 mm.

- Cột sắc kí là các ống thủy tinh có kích thước: đường kính cột $\Phi = 2$ cm, chiều cao cột $d = 50$ cm và đường kính cột $\Phi = 3$ cm, chiều cao cột $d = 75$ cm, bên dưới có van khóa.

c. Xác định cấu trúc của cấu tử tách được

Xác định cấu trúc của cấu tử tách được bằng các phương pháp phổ: MS, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT...

2.2.4. Thử hoạt tính sinh học

Thử hoạt tính sinh học của các dịch chiết hexane, ethyl acetate, dichloromethane và methanol trên một số chủng vi khuẩn và nấm men tại phòng Thử hoạt tính sinh học – Viện Hóa học Việt Nam, quận Cầu Giấy, Hà Nội.

2.3. SƠ ĐỒ NGHIÊN CỨU

CHƯƠNG 3 KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. KẾT QUẢ XÁC ĐỊNH MỘT SỐ CHỈ TIÊU HÓA LÝ

3.1.1. Xác định độ ẩm

Độ ẩm trung bình của bột vỏ quả bứa khô là **5,838%**. Với độ ẩm này, chúng tôi đã bảo quản nguyên liệu trong thời gian dài nhưng không bị mốc, không có những thay đổi về mặt cảm quan, nguyên liệu có độ ổn định tốt.

3.1.2. Xác định hàm lượng tro

Hàm lượng tro trung bình trong vỏ quả bứa khô là rất thấp, chiếm **1,66%** khối lượng vỏ. Điều này dự báo hàm lượng các kim loại có trong quả bứa nói chung và vỏ quả bứa khô nói riêng là rất ít.

3.1.3. Khảo sát hàm lượng kim loại

Thành phần kim loại nặng có trong vỏ quả bứa thấp. Kết quả so sánh với tiêu chuẩn CODEX STAN 164-1989 và tiêu chuẩn về chất lượng trái cây và hàm lượng kim loại nặng cho phép trong các loại rau quả quy định tại Quyết định số 867/1998/QĐ-BYT của Bộ Y Tế ngày 4 tháng 4 năm 1998 về việc ban hành Danh mục Tiêu chuẩn vệ sinh đối với lương thực, thực phẩm thì các hàm lượng kim loại nặng nằm trong khoảng cho phép. Vì vậy có thể sử dụng vỏ quả bứa để làm thực phẩm hoặc dược phẩm mà không ảnh hưởng đến sức khoẻ con người.

3.2. KẾT QUẢ KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA YẾU TỐ THỜI GIAN ĐẾN QUÁ TRÌNH CHIẾT BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHIẾT SOXHLET

3.2.1. Dung môi hexane

Lấy 5 mẫu bột vỏ quả bứa khô, mẫu có khối lượng m_0 . Tiến hành chiết soxhlet với 150 ml hexane (khối lượng riêng $D = 0.655$ g/ml) trong các khoảng thời gian là 4 giờ, 6 giờ, 8 giờ, 10 giờ và 12 giờ. Đối với mỗi mẫu đo thể tích (V) dịch chiết thu được. Dùng pipet có bầu lấy chính xác 10 ml dịch chiết của mỗi mẫu cho vào cốc đã biết chính xác khối lượng. Cân cốc và tính khối lượng (m) của 10 ml dịch chiết, từ đó suy ra khối lượng riêng (d) của mỗi mẫu dịch chiết. Khối lượng sản phẩm chiết được tính như sau:

$$d = m/10 \text{ (g/ml)} \quad (3.1)$$

$$m' = d.V - D.V \text{ (g)} \quad (3.2)$$

Trong đó: m' : khối lượng chất chiết ra được từ 10g nguyên liệu

D: khối lượng riêng của dung môi nguyên chất

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết đến khối lượng sản phẩm chiết đối với dung môi hexane được biểu diễn ở bảng 3.4.

Bảng 3.4. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết đến khối lượng sản phẩm chiết đối với dung môi hexane

<i>Thời gian (h)</i>	$m_0(g)$	$V(ml)$	$m(g)$	$d(g/ml)$	$m'(g)$	<i>% m chiết ra</i>
4	10.086	147.5	6.589	0.659	0.581	5.76
6	10.075	145.4	6.593	0.659	0.623	6.18
8	10.067	143.3	6.607	0.661	0.818	8.13
10	10.064	142.6	6.604	0.660	0.771	7.66
12	10.036	139.7	6.602	0.660	0.723	7.20

☞ **Nhận xét:** Từ kết quả ở bảng 3.4 cho thấy khi tăng thời gian chiết từ 4 giờ lên 8 giờ thì khối lượng sản phẩm chiết tăng lên nhưng khi tiếp tục tăng thời gian chiết thì khối lượng sản phẩm chiết liên tục giảm. Điều này có thể giải thích là do ban đầu khi được gia nhiệt khả năng hòa tan của các chất trong nguyên liệu vào dung môi lớn nên khối lượng chất chiết ra tăng lên. Sau một thời gian, các chất có trong nguyên liệu không thể tan vào dung môi thêm được nữa, khi đó quá trình hòa tan kém dần và quá trình bay hơi tăng lên nên khối lượng sản phẩm chiết giảm. Hơn nữa, những chất tan được trong dung môi hexane là những chất kém phân cực, dễ bay hơi nên khi đun càng lâu thì lượng chất chiết ra càng hao hụt dần. Vì vậy, đối với dung môi hexane chúng tôi chọn thời gian chiết thích hợp là **8 giờ**, tỉ lệ % khối lượng sản phẩm chiết ra là **8.13%**.

3.2.2. Dung môi ethyl acetate

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết đến khối lượng sản phẩm chiết đối với dung môi ethyl acetate được biểu diễn ở bảng 3.5.

Bảng 3.5. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết đến khối lượng sản phẩm chiết đối với dung môi ethyl acetate

Thời gian (h)	$m_0(g)$	$V(ml)$	$m(g)$	$d(g/ml)$	$m'(g)$	% m chiết ra
4	10.184	148.9	9.029	0.903	0.883	8.67
6	10.156	147.2	9.034	0.903	0.942	9.28
8	10.085	146.3	9.048	0.905	1.135	11.25
10	10.136	144.8	9.057	0.906	1.253	12.36
12	10.057	142.7	9.054	0.905	1.195	11.88

☞ **Nhận xét:** Từ kết quả ở bảng 3.5 cho thấy khối lượng sản phẩm chiết nhìn chung khi tăng thời gian chiết thì khối lượng sản phẩm chiết tăng lên và đạt kết quả cao nhất sau 10 giờ. Nếu tiếp tục tăng thời gian chiết thì khối lượng sản phẩm chiết giảm (Tuương tự cách giải thích đối với dung môi hexane). Vì vậy, đối với dung môi ethyl acetate chúng tôi chọn thời gian chiết thích hợp là **10** giờ, tỉ lệ % khối lượng sản phẩm chiết ra là **12.36%**.

3.2.3. Dung môi dichloromethane

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết đến khối lượng sản phẩm chiết đối với dung môi dichloromethane được biểu diễn ở bảng 3.6.

Bảng 3.6. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết đến khối lượng sản phẩm chiết đối với dung môi dichloromethane

<i>Thời gian (h)</i>	<i>m₀(g)</i>	<i>V(ml)</i>	<i>m(g)</i>	<i>d(g/ml)</i>	<i>m'(g)</i>	<i>% m chiết ra</i>
4	10.113	148.7	13.314	1.331	0.214	2.12
6	10.079	146.6	13.318	1.332	0.262	2.60
8	10.085	145.3	13.317	1.332	0.247	2.45
10	10.104	144.8	13.317	1.332	0.251	2.48
12	10.066	142.5	13.316	1.332	0.231	2.29

☞ **Nhận xét:** Từ kết quả ở bảng 3.6 cho thấy khối lượng chất chiết ra được là rất ít và đạt kết quả cao nhất sau 6 giờ. Điều này có thể giải thích là do khoảng chênh lệch về độ phân cực giữa dichloromethane và ethyl acetate là khá nhỏ đồng nghĩa với có nhiều chất có khả năng tan trong cả 2 dung môi trên. Do đó, khi chiết với ethyl acetate hầu hết các chất này đã được chiết ra nên khi chiết với dichloromethane lượng chất còn lại là rất ít. Dù có tăng thời gian chiết thì khối lượng sản phẩm chiết không tăng lên được nữa. Vì vậy, đối với dung môi dichloromethane chúng tôi chọn thời gian chiết thích hợp là **6** giờ, tỷ lệ % khối lượng sản phẩm chiết ra là **2.60%**.

3.2.4. Dung môi methanol

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết đến khối lượng sản phẩm chiết đối với dung môi methanol được biểu diễn ở bảng 3.7.

Bảng 3.7. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết đến khối lượng sản phẩm chiết đối với dung môi methanol

<i>Thời gian (h)</i>	<i>m₀(g)</i>	<i>V(ml)</i>	<i>m(g)</i>	<i>d(g/ml)</i>	<i>m'(g)</i>	<i>% m chiết ra</i>
4	10.031	148.3	8.054	0.805	1.989	19.83
6	10.019	146.1	8.070	0.807	2.194	21.90
8	10.016	143.9	8.096	0.810	2.536	25.32
10	10.132	141.7	8.119	0.812	2.815	27.78
12	10.051	140.2	8.111	0.811	2.672	26.58

☞ **Nhận xét:** Từ kết quả ở bảng 3.7 cho thấy khi tăng thời gian chiết thì khối lượng sản phẩm chiết tăng dần và đạt giá trị cao nhất sau 10 giờ; tiếp tục tăng thời gian chiết đến 12 giờ thì khối lượng sản phẩm chiết giảm nhẹ. Điều này có thể giải thích là do methanol là dung môi có khả năng hòa tan được nhiều cấu tử nên khi tăng thời gian chiết, lượng chất chiết ra được càng nhiều nhưng khi đun với thời gian quá lâu thì một số cấu tử có khối lượng phân tử lớn, mạch phân tử dài bị bẻ gãy thành những phân tử nhỏ hơn nên dễ bị bay hơi hơn. Do đó, khối lượng sản phẩm chiết giảm. Vì vậy, đối với dung môi methanol chúng tôi chọn thời gian chiết thích hợp là **10** giờ, tỷ lệ % khối lượng sản phẩm chiết ra là **27.78%**.

☞ **Nhận xét chung**

Qua khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết đến khối lượng sản phẩm chiết trong quá trình chiết liên tục vỏ quả bứa khô lần lượt với các dung môi hexane, ethyl acetate, dichloromethane và methanol với tỷ lệ rắn/lỏng là 10 g/150ml chúng tôi nhận thấy: Thời gian chiết thích hợp tương ứng với các dung môi lần lượt là 8 giờ, 10 giờ, 6 giờ và 10

giờ. Tỷ lệ % khối lượng sản phẩm chiết ra từ dung môi methanol là lớn nhất (27.78%), từ dung môi dichloromethane là bé nhất (2.60%).

3.3. KẾT QUẢ XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN HÓA HỌC CÁC DỊCH CHIẾT BẰNG GC – MS

3.3.1. Thành phần hóa học trong dịch chiết hexane

Kết quả phân tích định danh thành phần hóa học của vỏ quả bứa khô trong dịch chiết hexane thể hiện ở bảng 3.8.

Bảng 3.8. Thành phần hóa học trong dịch chiết hexane

<i>STT</i>	<i>RT (phút)</i>	<i>Area (%)</i>	<i>Tên</i>
1	4.633	5.51	Furfural
2	8.617	0.17	2-Furancarboxaldehyde, 5- methyl-
3	11.922	3.60	Acetophenone
4	15.475	1.41	Benzoic acid
5	20.915	0.15	Copaene
6	22.048	0.21	Caryophyllene
7	22.901	0.31	.alpha.-Caryophyllene
8	32.075	0.37	Tetradecanoic acid
9	33.585	1.43	Caffeine
10	34.836	0.82	Hexadecanoic acid, methyl ester
11	35.068	0.50	cis-9-Hexadecenoic acid
12	35.476	23.53	n-Hexadecanoic acid
13	36.947	0.56	cis-13-Octadecenoic acid, methyl ester
14	37.452	17.01	cis-Vaccenic acid
15	37.548	0.26	Oleic Acid
16	37.643	1.95	Octadecanoic acid
17	40.402	0.63	9-Octadecenal, (Z)-

18	40.998	0.40	2-Pyridinecarbohydrazonamide,N'-[2,4dimethoxyphenyl)methylidene]-
19	46.139	2.77	Heneicosane

☞ **Nhận xét:** Từ bảng 3.8 cho thấy phương pháp GC-MS đã định danh được 19 cấu tử trong dịch chiết hexane từ vỏ quả bứa khô. Thành phần hóa học trong dịch chiết hexane chủ yếu là những cấu tử có độ phân cực yếu đến không phân cực, bao gồm các acid hữu cơ mạch dài 14C ÷ 19C và este của chúng, ketone và ankan.

Với thành phần chủ yếu là các acid hữu cơ (7 cấu tử), dịch chiết hexane của vỏ quả bứa khô được dự đoán có tiềm năng kháng khuẩn, nhất là đối với những vi khuẩn nhạy cảm với pH. Cơ chế hoạt động của các acid hữu cơ với vi khuẩn là acid hữu cơ không phân li có thể xâm nhập vào thành tế bào vi khuẩn và làm gián đoạn sinh lý bình thường của chúng.

3.3.2. Thành phần hóa học trong dịch chiết ethyl acetate

Kết quả phân tích định danh thành phần hóa học của vỏ quả bứa khô trong dịch chiết ethyl acetate thể hiện ở bảng 3.9.

Bảng 3.9. Thành phần hóa học trong dịch chiết ethyl acetate

STT	RT(phút)	Area (%)	Tên
1	4.672	5.30	Furfural
2	5.278	0.23	Maleic anhydride
3	8.630	0.26	2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-
4	15.360	1.57	Benzoic acid
5	32.075	0.11	Tetradecanoic acid
6	33.629	0.90	Caffeine
7	35.360	3.64	n-Hexadecanoic acid

8	35.727	1.45	Hexadecanoic acid, ethyl ester
9	37.357	1.06	Cis-Vaccenic acid
10	37.583	0.78	Octadecanoic acid

☞ **Nhận xét:** Từ bảng 3.9 cho thấy phương pháp GC–MS đã định danh được 10 cấu tử trong dịch chiết ethyl acetate từ vỏ quả bứa khô. Thành phần hóa học trong dịch chiết chủ yếu là những cấu tử có độ phân cực trung bình và yếu như các acid hữu cơ tồn tại chủ yếu ở dạng tự do và este, các hợp chất dị vòng chứa oxi và nitơ. Do có cấu trúc tương tự nên các cấu tử này dễ dàng phân bố vào pha dung môi ethyl acetate. Các cấu tử có hàm lượng cao là furfural (5.30%), n-hexadecanoic acid (3.64%). Các acid hữu cơ còn lại như benzoic acid, tetradecanoic acid, cis-vaccenic acid, octadecanoic acid chiếm hàm lượng thấp chỉ 0.11÷1.57%.

3.3.3. Thành phần hóa học trong dịch chiết dichloromethane

Kết quả phân tích định danh thành phần hóa học của vỏ quả bứa khô trong dịch chiết dichloromethane thể hiện ở bảng 3.10.

Bảng 3.10. Thành phần hóa học trong dịch chiết dichloromethane

STT	RT (phút)	Area (%)	Tên
1	4.635	24.10	Furfural
2	33.583	5.19	Caffeine
3	35.320	5.44	n-Hexadecanoic acid
4	35.724	4.10	Hexadecanoic acid, ethyl ester
5	37.345	2.32	9-Octadecenoic acid, (E)
6	37.583	0.58	9,17-Octadecadienal, (Z)

☞ **Nhận xét:** Từ bảng 3.10 cho thấy phương pháp GC–MS đã định danh được 6 cấu tử trong dịch chiết dichloromethane từ vỏ quả

búa khô. Cấu tử furfural có hàm lượng rất cao, chiếm đến 24,10%. Các cấu tử khác như n-hexadecanoic acid; caffeine; hexadecanoic acid, ethyl ester lần lượt chiếm 5.44%; 5.19% và 4.10%. Các cấu tử này đều đã được định danh trong dịch chiết hexane và ethyl acetate với các hàm lượng khác nhau. Ngoài ra còn có cấu tử 9-Octadecenoic acid, (E) có tên thông thường là acid oleic chiếm 2.32%.

3.3.4. Thành phần hóa học trong dịch chiết methanol

Kết quả phân tích định danh thành phần hóa học của vỏ quả bưởi khô trong dịch chiết dichloromethane thể hiện ở bảng 3.11.

Bảng 3.11. Thành phần hóa học trong dịch chiết methanol

STT	RT (phút)	Area (%)	Tên
1	4.697	1.72	Furfural
2	8.632	0.51	2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-
3	13.932	1.22	dl-Malic acid, dimethyl ester
4	34.845	3.32	Hexadecanoic acid, ethyl ester
5	35.332	0.60	n-Hexadecanoic acid
6	36.888	0.49	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester
7	36.955	1.25	cis-13-Octadecenoic acid, methyl ester
8	37.224	0.24	Octadecanoic acid, methyl ester
9	37.853	0.24	Methyl 9-cis,11-trans octadecadienoate

☞ **Nhận xét:** Từ bảng 3.11 cho thấy phương pháp GC-MS đã định danh được 9 cấu tử trong dịch chiết methanol từ vỏ quả bưởi khô. Hầu hết các cấu tử được định danh đều có hàm lượng thấp. Thành phần hóa học trong dịch chiết chủ yếu là ester các acid hữu cơ như hexadecanoic acid, ethyl ester (3.32%); dl-Malic acid, dimethyl ester (1.22%), cis-13-Octadecenoic acid, methyl ester (1.25%). Ngoài ra

còn có các cấu tử là hợp chất dị vòng chứa oxi chiếm hàm lượng thấp 0.51÷1.72%.

↪ Nhận xét chung

Bằng phương pháp GC-MS, một số thành phần hóa học trong các dịch chiết từ vỏ quả bứa khô đã được xác định. Tổng kết quả đã xác định được 44 cấu tử trong 4 dịch chiết khác nhau từ vỏ quả bứa khô bao gồm các acid hữu cơ, ester của các acid hữu cơ, steroid, aldehyde, ketone và hợp chất dị vòng chứa oxi, nitơ. Trong đó dịch chiết hexane định danh được nhiều cấu tử nhất với 19 cấu tử. Trong 4 dịch chiết có chung một số cấu tử hàm lượng cao là n-hexadecanoic acid và furfural. Một cấu tử được định danh có hoạt tính sinh học đáng quan tâm như n-hexadecanoic acid, vaccenic acid, acetophenone và oleic acid.

3.4. KẾT QUẢ PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC CÁC CẤU TỬ TỪ DỊCH CHIẾT METHANOL

3.4.1. Kết quả phân lập các cấu tử

3.4.2. Kết quả xác định cấu trúc chất đã phân lập

Mẫu chất rắn **BH6** được phân tích tại Phòng NMR – Viện Hóa học – Viện Khoa học Việt Nam – 18 Hoàng Quốc Việt, Hà Nội thu được kết quả như sau:

Số liệu phổ EI-MS (m/z) có các mảnh 774(M^*); 613; 318.2; 221.1; 220.1; 83.8.

Số liệu phổ IR: $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$: 3431.81(m) ứng với dao động hóa trị ν_{OH} của nhóm OH.

$\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$: 3019.86(tb) ứng với dao động hóa trị ν_{CH} của nhóm CH của nhóm xiclo.

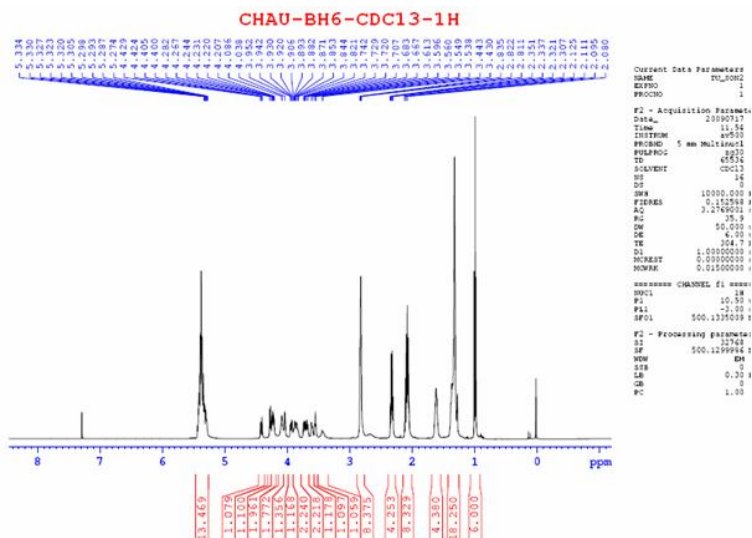
$\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$: 2927.53(m), 2856.51(tb) ứng với dao động hóa trị $\nu_{\text{C-H}}$ và ν_{CH_3} .

$\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$: 1733.18(m) ứng với dao động hóa trị $\nu_{\text{C=O}}$ của nhóm C=O của dạng este.

$\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$: 1652(y) ứng với dao động hóa trị $\nu_{\text{C=C}}$ của nhóm C=C của anken.

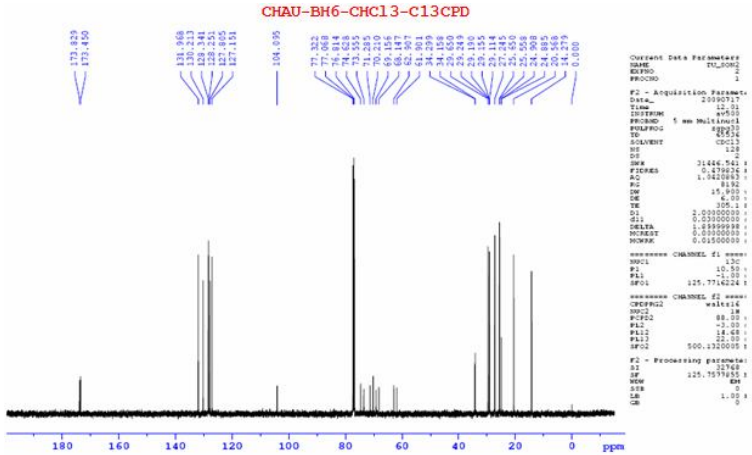
$\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$: 1170.26(tb), 1068.99(tb) ứng với dao động hóa trị $\nu_{\text{C-O-C}}$ của nhóm C-O-C của ete mạch thẳng.

Từ kết quả phổ $^1\text{H-NMR}$ hình 3.11 của chất **BH6** kết hợp với phần mềm máy phân tích phổ ACD/HNMR DB(v.6.12), chúng tôi phân tích được một số dữ liệu sau: δ_{ppm} : 7.3 (s, CH-OH), 5.39 (m, =CH-), 4.405 (s, O=CH), 4.086 (s, HO-CH-), 3.729 (m, -CH₂), 3.613 (s, -CH), 2.82 (s, -OH), 2.337 (dd, -CH₂), 2.095(dd, -CH₂), 1.618 (s, -OH), 1.355 (s, -CH₂-), 1.01 (t, -CH₃).



Hình 3.12. Phổ proton $^1\text{H-NMR}$ của mẫu **BH6**

Từ kết quả phổ $^{13}\text{C-NMR}$ hình 3.12 và phổ DEPT hình 3.13 của mẫu **BH6** kết hợp với phần mềm máy phân tích phổ ACD/CNMR DB(v.6.12), chúng tôi phân tích được một số dữ liệu sau:



Hình 3.13. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của mẫu **BH6**

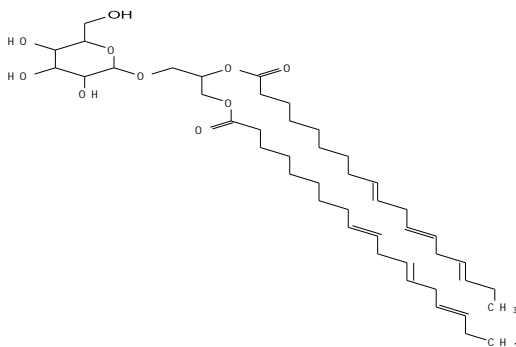
Bảng 3.12. Số liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và DEPT của mẫu **BH6**

Vị trí Carbon	$^{13}\text{C-NMR}$, 125 Hz, δ_{ppm}	DEPT(nhóm loại Carbon)
2	104	CH- của vòng
3	74.25	CH- nối của vòng
4	73.55	CH- nối của vòng
5	71.285	CH- nối của vòng
6	70.210	CH- nối của vòng
8	69.156	CH_2O
9	68.147	CHO

11	173.829	C(-O-C=O este)
16	62.901	OCH ₂
18	61.901	OCH ₂
20	172.55	C(-O-C=O este)
22	34.299	CH ₂
23	25.650	CH ₂
24	28.95	CH ₂
25	29.24	CH ₂
26	29.15	CH ₂
27	29.46	CH ₂
28	31.48	CH ₂
29	135.5	-HC=
30	127.9	=CH-
31	26.25	CH ₂
32	128.83	-HC=
33	129.09	=CH-
34	26.14	CH ₂
35	126.19	HC=
36	132.69	=CH-
37	24.3	CH ₂
38	14.02	CH ₃
39	34.1	CH ₂
40	24.98	CH ₂
41	28.92	CH ₂
42	29.27	CH ₂
43	29.15	CH ₂
44	29.46	CH ₂

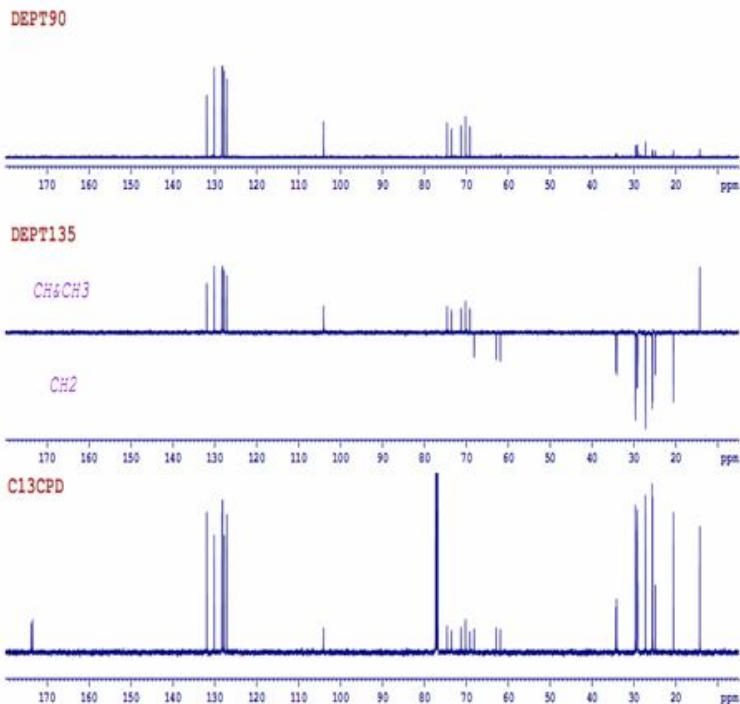
45	31.48	CH ₂
46	135.9	-HC=
47	127.9	=CH-
48	26.25	CH ₂
49	128.83	-HC=
50	129.09	=CH-
51	26.14	CH ₂
52	126.19	-HC=
53	132.69	=CH-
54	24.2	CH ₂
55	14.02	CH ₃

Từ những số liệu phân tích được, kết hợp với phần mềm ACD/HNMR DB (v.6.12), ACD/CNMR DB (v.6.12) và so sánh với tài liệu tham khảo [30], chúng tôi khẳng định rằng chất chúng tôi phân lập được ký hiệu là BH6 có dạng diestepolyhydroxyl, có công thức phân tử là C₄₅H₇₄O₁₀ phù hợp với phổ EI-MS có mũi thấp với mảnh 774, có công thức cấu tạo:



Hình 3.11. Công thức cấu tạo của **BH6**

Chất **BH6** có tên là: 3-(hexopyranosyloxy)propane-1,2-diyl(9E,12E,15E,9'E,12'E,15'E)bis-octadeca-9,12,15-trienoate



Hình 3.14. Phổ DEPT của mẫu **BH6**

3.5. KẾT QUẢ THỬ HOẠT TÍNH KHÁNG VI SINH VẬT KIỂM ĐỊNH

Các cao chiết hexane (B.H), ethyl acetate (B.E), dichloromethane (B.D) và methanol (B.M) từ vỏ quả bứa khô được thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định. Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định được tổng hợp ở bảng 3.13.

Bảng 3.13. Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định

Vi sinh vật và nấm kiểm định		Nồng độ ức chế 50% sự phát triển của vi sinh vật và nấm (IC_{50} , $\mu\text{g/ml}$)			
		B.H	B.E	B.D	B.M
Gram (+)	<i>Staphylococcus aureus</i>	5.11	> 128	> 128	> 128
	<i>Bacillus subtilis</i>	1.90	> 128	> 128	> 128
	<i>Lactobacillus fermentum</i>	5.46	> 128	> 128	> 128
Gram (-)	<i>Salmonella enterica</i>	> 128	> 128	> 128	> 128
	<i>Escherichia coli</i>	> 128	> 128	> 128	> 128
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	> 128	> 128	> 128	> 128
Nấm	<i>Candida albican</i>	> 128	> 128	> 128	> 128

☞ **Nhận xét:**

- Dịch chiết hexane từ vỏ quả bứa khô thể hiện hoạt tính ức chế đặc hiệu với sự phát triển của chủng vi khuẩn Gram (+) *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* và *Lactobacillus fermentum* với giá trị IC_{50} lần lượt là **5.11** $\mu\text{g/ml}$, **1.90** $\mu\text{g/ml}$ và **5.46** $\mu\text{g/ml}$ không thể hiện hoạt tính đối với các chủng vi khuẩn Gram (-) và nấm còn lại ở nồng độ $IC_{50} < 128$ $\mu\text{g/ml}$.

- Các dịch chiết ethyl acetate, dichloromethane, methanol từ vỏ quả bứa khô không thể hiện hoạt tính ức chế sự phát triển của các chủng vi sinh vật và nấm được thử nghiệm ở nồng độ $IC_{50} < 128 \mu\text{g/ml}$.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

Trong quá trình triển khai nghiên cứu, đề tài đã đạt được các kết quả như sau:

- Đã xác định các thông số hóa lý của nguyên liệu: độ ẩm của nguyên liệu bột khô là **5.84%**; hàm lượng tro trung bình là **1.66%**; hàm lượng các kim loại nặng Cu, Pb, Zn, Fe, Sn, As nằm trong khoảng cho phép theo quy định tại tiêu chuẩn CODEX STAN 164-1989 và Quyết định số 867/1998/QĐ-BYT của Bộ Y Tế ngày 4 tháng 4 năm 1998 về việc ban hành Danh mục Tiêu chuẩn vệ sinh đối với lương thực, thực phẩm.

- Đã chiết tách được các cấu tử có trong vỏ quả bứa khô với các dung môi hữu cơ khác nhau: hexane thời gian chiết **8** giờ, % khối lượng sản phẩm chiết **8.13%**; ethyl acetate **10** giờ, **12.36%**; dichloromethane **6** giờ, **2.60%**; methanol **10** giờ, **27.78%**.

- Bằng phương pháp GC-MS đã xác định được một số thành phần hóa học trong các dịch chiết từ vỏ quả bứa khô. Từ 4 dịch chiết hexane, ethyl acetate, dichloromethane, methanol đã định danh được 44 cấu tử, bao gồm các acid hữu cơ, ester, steroid, ankan, ketone, aldehyde, hợp chất dị vòng chứa oxi, nitơ. Trong 4 dịch chiết có

chung một số cấu tử hàm lượng cao là n-hexadecanoic acid và furfural.

- Các dịch chiết hexane, ethyl acetate, dichloromethane và methanol từ vỏ quả bứa khô đã được thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định. Kết quả cho thấy, dịch chiết hexane có hoạt tính ức chế đặc hiệu với sự phát triển của cả 3 chủng vi khuẩn Gram (+) là *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* và *Lactobacillus fermentum* với giá trị IC_{50} lần lượt là **5.11** $\mu\text{g/ml}$, **1.90** $\mu\text{g/ml}$ và **5.46** $\mu\text{g/ml}$. Dịch chiết ethyl acetate, dichloromethane và methanol không thể hiện hoạt tính với các chủng vi sinh vật và nấm thử nghiệm.

- Từ 5.038 gam cao chiết methanol từ vỏ quả bứa khô, bằng phương pháp sắc kí cột silicagel lặp lại nhiều lần kết hợp với sắc kí bản mỏng đã phân lập được 1 chất sạch kí hiệu là BH6. Việc kết hợp các phương pháp phổ hiện đại: phổ hồng ngoại FT- IR, phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^1H -, ^{13}C -NMR, DEPT và phổ khối ESI – MS đã cho phép xác định cấu trúc của các chất phân lập được.

Chất **BH6** có tên là: 3-(hexopyranosyloxy)propane-1,2-diyl(9E,12E,15E,9'E,12'E,15'E)bis-octadeca-9,12,15-trienoate.

Kiến nghị

- Tiếp tục nghiên cứu chiết tách, xác định thành phần hóa học của vỏ quả bứa khô bằng các dung môi khác;

- Phân lập, xác định cấu trúc của các hợp chất có hoạt tính sinh học mạnh đặc biệt từ dịch chiết hexane.