

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

HOÀNG CHÂU THANH THẢO

**NGHIÊN CỨU CHIẾT TÁCH VÀ XÁC ĐỊNH
THÀNH PHẦN HÓA HỌC TRONG MỘT SỐ
DỊCH CHIẾT CỦA LÁ CÂY RỄ QUẠT**

**Chuyên ngành: Hóa hữu cơ
Mã số: 60 44 01 14**

TÓM TẮT LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC

Đà Nẵng – Năm 2016

Công trình được hoàn thành tại
ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG

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

Phản biện 1: TS. Nguyễn Đình Anh

Phản biện 2: TS. Giang Thị Kim Liên

Luận văn đã được bảo vệ tại Hội đồng chấm Luận văn tốt nghiệp thạc sĩ Khoa học chuyên ngành Hóa Hữu cơ hợp tại Đại học Đà Nẵng vào ngày 21 tháng 8 năm 2016.

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 Rẻ quạt, một trong vô vàn những cây cỏ được xem là dược liệu quý được quan tâm. Bởi Rẻ quạt tồn tại và sinh trưởng rất nhiều trong thiên nhiên, gần gũi với con người và bản thân nó lại chứa khá nhiều công dụng tốt cho việc chữa bệnh. Cụ thể như ở một số nước châu Á, Rẻ quạt được coi là một bài thuốc quý có thể chữa mọi bệnh về cổ họng. Sử dụng để chữa ho đờm do nắng nóng (hỏa độc), chữa viêm họng cấp tính, tắc cổ họng, chữa viêm khí quản mãn tính, ho hen, suyễn thở, chữa các triệu chứng: báng, bụng to nước óc ách, da đen sạm, ... Lá Rẻ quạt có tác dụng chữa ho, viêm họng, sung amidan. Bên cạnh đó cây con được xem là một vị thuốc chữa sốt, đại tiểu tiện không thông, sung tắc vú sữa, chữa kinh nguyệt đau đớn, thuốc lọc máu.

Các nghiên cứu trên thế giới cho thấy bên trong loại cây có nhiều tác dụng dược lý này có các lớp chất flavonoid, iridal-tritecpenoid, isoflavonoid có trong lá và các phenol, benzoquinol, benzofuran có trong hạt.

Hầu hết mọi nghiên cứu mới tập trung ở rễ và hạt, có khá ít công trình tìm hiểu, nghiên cứu về thành phần hóa học, tính chất của các hợp chất hóa học có trong lá cây Rẻ quạt. Hiện nay, ở Việt Nam có khá ít công trình nghiên cứu về thành phần hóa học, tính chất của các hợp chất hóa học có trong lá cây Rẻ quạt. Đây là những vấn đề cần được quan tâm nhằm quy hoạch, khai thác, chế biến và ứng dụng các sản phẩm trong lá cây Rẻ quạt một cách hiệu quả, khoa học hơn.

Với lý do trên, tôi chọn đề tài “ Nghiên cứu chiết tách và xác định thành phần hóa học một số dịch chiết lá cây Rẻ quạt ”

2. Mục tiêu nghiên cứu

- Xây dựng quy trình chiết tách các hợp chất hóa học có trong lá cây Rẻ quạt khô trong các dung môi khác nhau.

- Xác định thành phần hóa học, công thức cấu tạo của các hợp chất có trong lá cây Rẻ quạt.

- Phân lập được hợp chất Tetradecanoic Acid trong cao chiết lá rễ cây Rẻ quạt (*Belamcanda chinensis* L).

- Đánh giá và kiểm tra cấu trúc sản phẩm phân lập được.

3. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu

Lá cây Rẻ quạt thu hái tại phường Hòa Minh, quận Liên Chiểu, TP Đà Nẵng.

Phạm vi nghiên cứu

- Xác định một số chỉ tiêu 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 lá cây Rẻ quạt khô bằng các dung môi

n-hexane, ethyl acetate, dichloromethane, methanol.

- Định danh, xác định thành phần của các cấu tử trong lá cây Rẻ quạt bằng phương pháp GC-MS.

- Tinh chế chất rắn thu được từ 4 dịch chiết.

- Phân lập và xác định cấu trúc của Tetradecanoic Acid .

4. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu lý thuyết

- Thu nhập, tổng hợp các tài liệu, tư liệu về nguồn nguyên liệu, phương pháp nghiên cứu các hợp chất tự nhiên, thành phần hóa học và ứng dụng của lá cây Rẻ quạt.

- Tìm hiểu phương pháp lấy mẫu, chiết tách và xác định cấu trúc hóa học các chất từ thực vật.

Phương pháp thực nghiệm

- Phương pháp nghiên cứu và xử lý mẫu.

- Phương pháp trọng lượng xác định các thông số vật lý của

nguyên liệu.

- Phương pháp AAS xác định thành phần và hàm lượng các kim loại nặng.

- Phương pháp chiết nóng Soxhlet bằng các dung môi n-hexane, ethyl acetate, dichloromethane, methanol.

- Phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS) để định danh các cấu tử chính có trong các dịch chiết.

- Phương pháp kết tinh lại.

- Phương pháp chiết tách chung ninh nghiên cứu chiết tách Acid Tetradecanoic bằng dung môi n-hexan.

- Phương pháp tinh chế Tetradecanoic Acid thô sau khi chiết tách.

- Các phương pháp sắc kí:

- + Sắc kí bản mỏng (SKBM).

- + Sắc kí cột (SKC).

- Các phương pháp xác định cấu trúc:

- + Phương pháp phổ hồng ngoại (IR).

- + Phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton ($^1\text{H-NMR}$).

- + Phương pháp phổ khối (MS).

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

Ý nghĩa khoa học

- Cung cấp các thông tin khoa học về quy trình chiết tách và thành phần cấu tạo một số hợp chất có trong lá cây Rẻ quạt.

- Cung cấp các số liệu thực nghiệm cho các nghiên cứu tiếp theo sâu hơn về lá cây Rẻ quạt.

Ý nghĩa thực tiễn

- Cung cấp các tư liệu về quy trình chiết tách lá cây Rẻ quạt với các dung môi khác nhau, từ đó có thể đề ra quy trình ứng dụng trong thực tế.

- Giải thích một cách khoa học một số kinh nghiệm dân gian

cũng như các bài thuốc cổ truyền về ứng dụng lá cây Rẻ quạt.

6. Cấu trúc luận văn

Ngoài phần mở đầu, kết luận. Luận văn gồm 3 chương:

Chương 1. Tổng quan

Chương 2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu.

Chương 3. Kết quả và bàn luận

CHƯƠNG 1 TỔNG QUAN

1.1. TỔNG QUAN VỀ RỄ QUẠT

1.1.1. Giới thiệu chung về cây Rẻ quạt

1.1.2. Giới thiệu thực vật họ Lay ơn (IRIDACEAE)

1.1.3. Giới thiệu chi BELAMCANDA

1.1.4. Hình thái thực vật của cây Rẻ quạt

1.1.5. Đặc điểm bột dược liệu

1.1.6. Phân bố, thu hái và chế biến

1.1.7. Tác dụng dược lý - Công dụng

1.1.8. Thành phần hóa học có trong lá cây Rẻ quạt

CHƯƠNG 2 NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. NGUYÊN LIỆU

2.1.1. Chọn và thu nguyên liệu

2.1.2. Sơ chế nguyên liệu

2.2. THIẾT BỊ - DỤNG CỤ- HÓA CHẤT

2.2.1. Thiết bị - dụng cụ

2.2.2. Hóa chất

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1. Phương pháp trọng lượng

2.3.2. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết tách

2.3.3. Chiết tách Tetradecanoic Acid bằng phương pháp chưng cất

2.3.4. Kỹ thuật sắc kí bản mỏng

2.3.5. Kỹ thuật sắc kí cột

2.3.6. Các phương pháp xác định cấu trúc hóa học của một hợp chất

2.4. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.4.1. Phương pháp trọng lượng

2.4.2. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết tách

2.4.3. Chiết tách Tetradecanoic Acid bằng phương pháp chưng cất

2.4.4. Phân lập cấu tử tinh khiết

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. XÁC ĐỊNH ĐỘ ẨM, HÀM LƯỢNG TRO VÀ KIM LOẠI CÓ TRONG LÁ RỄ QUẠT

3.1.1. Xác định độ ẩm

Độ ẩm trung bình của bột nguyên liệu là 15.942% quá cao so với độ ẩm an toàn được quy định trong Dược điển Việt Nam IV (lá: 10-12%). Với độ ẩm này cần có những biện pháp bảo quản hợp lý nhằm đảm bảo nguyên liệu trong thời gian dài không bị mốc.

3.1.2. Xác định hàm lượng tro

Hàm lượng tro trung bình của lá cây Rễ quạt là rất thấp, chiếm 5.083% khối lượng lá rất thấp so với hàm lượng tro toàn phần của một

số dược liệu (dạng lá và rễ) được quy định Dược điển Việt Nam IV. Điều này dự đoán hàm lượng các kim loại có trong lá là rất ít.

3.1.3. Xác định thành phần kim loại nặng

Hàm lượng kim loại nặng trong lá cây Rẻ quạt nằm trong khoảng cho phép theo quy định tại tiêu chuẩn Việt Nam cho vệ sinh thực phẩm (theo quyết định của bộ y tế số 505/BYT-QĐ ngày 13 tháng 4 năm 1992) về hàm lượng kim loại nặng tối đa cho phép trong rau quả sấy khô. Với hàm lượng kim loại nặng chiếm tỉ lệ thấp như vậy có thể sử dụng làm dược liệu ứng dụng trong lĩnh vực sản xuất dược phẩm.

3.2. KẾT QUẢ KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA YẾU TỐ THỜI GIAN ĐẾN QUÁ TRÌNH CHIẾT BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHIẾT SOXHLET VÀ THÀNH PHẦN ĐỊNH DANH CỦA CÁC DỊCH CHIẾT

3.2.1. Dung môi n-hexane

- Kết quả khảo sát ảnh hưởng thời gian chiết đến khối lượng sản phẩm chiết đối với dung môi n-hexane được trình bày ở Bảng 3.1.

Bảng 3.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết đến khối lượng sản phẩm chiết đối với dung môi n-hexane

Thời gian (h)	m_0 (g)	V dung môi đầu	V dịch cô ml)	m_1 (g)	m_2 (g)	Hàm lượng cao (%)
4	10.002	150	20ml	6.006	5.862	1.4397
6	10.013	150	20ml	6.018	5.824	1.9375
8	10.032	150	20 ml	6.002	5.726	2.7512
10	10.025	150	20 ml	6.008	5.730	2.7731
12	10.008	150	20 ml	6.024	5.745	2.7878

Nhận xét:

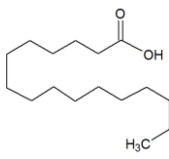
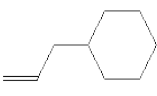
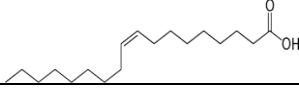
- Từ kết quả ở bảng 1 cho thấy khi tăng thời gian chiết từ 4 giờ lên 8 giờ thì khối lượng sản phẩm chiết tăng lên nhưng khi tiếp tục

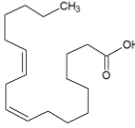
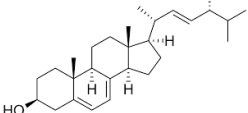
tăng thời gian chiết thì khối lượng sản phẩm chiết tăng ít. Điều này có thể giải thích là do ban đầu khi được gia nhiệt khả năng hòa tan của các chất trong nguyên liệu vào dung môi lớn nên khối lượng chất chiết ra tăng lên. Sau một thời gian, các chất có trong nguyên liệu không thể tan vào dung môi thêm 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 tôi chọn thời gian chiết thích hợp là **8 giờ**, tỉ lệ % khối lượng sản phẩm chiết ra là **2.75%**

Thành phần hóa học trong dịch chiết n-hexane

Kết quả từ sắc ký đồ - khối phổ thu được cho thấy trong dịch chiết n-hexane thu được từ lá Rẻ quạt có nhiều cấu tử. Thành phần hóa học của dịch chiết bằng phương pháp chiết Soxhlet với một số cấu tử chính có thời gian lưu, hàm lượng phần trăm được trình bày trong Bảng 3.2.

Bảng 3.2. Thành phần định danh thành phần hóa học trong dịch chiết n-hexane

STT	RT (phút)	Tên	CTCT	Area (%)
1	8.03	Palmitic hoặc hexadecanoic acid		2.92
2	10.23	3-allylcyclohexene		5.90
3	10.50	Oleic acid		53.75

STT	RT (phút)	Tên	CTCT	Area (%)
4	12.48	linoleic acid		5.94
5	12.69	ergosterol		1.09

Nhận xét:

Từ bảng 3.2 cho thấy, phương pháp GC – MS đã định danh được 5 cấu tử trong dịch chiết n-hexane lá cây Rẻ quạt khô. Thành phần hóa học trong dịch chiết n-hexan chủ yếu là các axit hữu cơ mạch dài trên 10C. Cụ thể, cấu tử có hàm lượng cao nhất là oleic acid chiếm tới (53.75%), tiếp theo đó các cấu tử có hàm lượng $\leq 6\%$ bao gồm Palmitic (2.92%), 3-allylcyclohexene (5.90%), linoleic acid (5.94%), ergosterol (1.09%).

3.2.2. Dung môi ethyl acetate

Kết quả khảo sát ảnh hưởng thời gian chiết đến khối lượng sản phẩm chiết đối với dung môi ethyl acetate được trình bày ở Bảng 3.3.

Bảng 3.3. 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 dung môi đầu	V dịch cô (ml)	m_1 (g)	m_2 (g)	Hàm lượng cao (%)
4	10.006	150	20ml	9.008	8.233	7.7453
6	10.018	150	20ml	9.018	8.221	7.9558
8	10.002	150	20 ml	9.036	8.217	8.1884
10	10.024	150	20 ml	9.015	8.170	8.4264
12	10.026	150	20 ml	9.027	8.176	8.4297

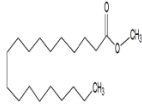
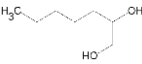
Nhận xét:

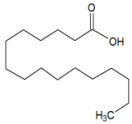
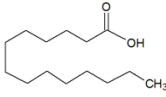

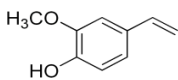
- Từ kết quả bảng 3.3 cho thấy khối lượng sản phẩm chiết ra theo thời gian nhìn chung tăng, và đạt cao nhất ở thời gian chiết là 10 giờ. Nếu tiếp tục tăng thời gian chiết lên là 12 giờ thì % khối lượng chiết ra tăng không đáng kể. Nguyên nhân là do các cấu tử trong dịch chiết ethyl acetate chủ yếu là các hợp chất có độ phân cực yếu và trung bình nên dễ bay hơi. Khi các cấu tử trong bột nguyên liệu tan ra hết vào dung môi, càng tăng thời gian chiết, với tác động của nhiệt độ, các cấu tử này dễ dàng bay hơi khiến khối lượng chất chiết ra ít dần. Vì vậy, đối với dung môi ethyl acetate, tôi chọn thời gian chiết thích hợp là **10 giờ**, tỉ lệ % khối lượng sản phẩm chiết ra là **8.43%**.

Thành phần hóa học trong dịch chiết ethyl acetate

Kết quả từ sắc ký đồ - khối phổ thu được cho thấy trong dịch chiết ethyl acetate thu được từ lá Rẻ quạt có nhiều cấu tử. Thành phần hóa học của dịch chiết bằng phương pháp chiết Soxhlet với một số cấu tử chính có thời gian lưu, hàm lượng phần trăm được trình bày trong Bảng 3.4.

Bảng 3.4. Thành phần định danh thành phần hóa học trong dịch chiết ethyl acetate

STT	RT (phút)	Tên	CTCT	Area (%)
1	3.82	nonadecanoic acid		1.56
2	4.3	1,2- heptanediol		2.90

STT	RT (phút)	Tên	CTCT	Area (%)
3	5.97	palmitic acid		15.29
4	8.64	tetradecanoic acid hoặc myristic acid		32.73
5	13.62	oleic acid		22.52
6	19.88	2-methoxy-4-vinylphenol		3.32

Nhận xét:

Từ bảng 4 cho thấy phương pháp GC – MS đã định danh được 6 cấu tử trong dịch chiết ethyl acetat từ lá cây Rẻ quạt khô. Thành phần hóa học chủ yếu là những cấu tử có độ phân cực trung bình và yếu như các axit hữu cơ tồn tại chủ yếu ở dạng tự do, hợp chất phenolic. Do có cấu trúc tương tự nên các cấu tử này dễ dàng phân bố vào pha dung môi ethyl acetat.

Cấu tử có hàm lượng cao nhất là Tetradecanoic acid (32.73%), tiếp theo đó là 1,2-heptanediol (2.9%); nonadecanoic acid (1.56%); Palmitic acid (2.9%); oleic acid (22.52%); 2-methoxy-4-vinylphenol (3.32%).

3.2.3. Dung môi dichloromethane

Kết quả khảo sát ảnh hưởng thời gian chiết đến khối lượng sản phẩm chiết đối với dung môi dichloromethane được trình bày ở bảng 5.

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

Thời gian (h)	m₀(g)	V dung môi đầu	V dịch cô (ml)	m₁ (g)	m₂ (g)	Hàm lượng cao (%)
4	10.013	150	20ml	13.005	8.526	4.7318
6	10.026	150	20ml	13.028	12.494	5.3262
8	10.015	150	20 ml	13.036	12.438	5.9710
10	10.036	150	20 ml	13.027	12.388	6.3671
12	10.034	150	20 ml	13.016	12.374	6.3982


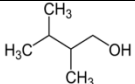

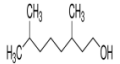

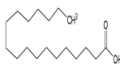
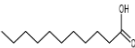
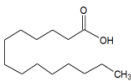

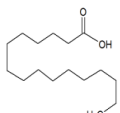
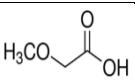
Nhận xét:

Từ kết quả bảng 5 cho thấy khối lượng sản phẩm chiết ra tăng theo thời gian từ 4 giờ đến 10 giờ, đến 12 giờ thì khối lượng chiết tăng ít. Điều này giải thích tương tự với quá trình khảo sát ảnh hưởng thời gian chiết đến khối lượng sản phẩm chiết ra đối với dung môi ethyl acetate. Các cấu tử chiết ra trong dung môi dichloromethane chủ yếu là các hợp chất có độ phân cực yếu và trung bình. Khi các cấu tử hòa tan hoàn toàn vào dung môi, thì quá trình bay hơi tăng lên nên tỉ lệ % khối lượng chiết ra giảm đi ở 12 giờ. Vì vậy, đối với dung môi dichloromethane, tôi chọn thời gian chiết thích hợp là **10 giờ**, tỉ lệ % khối lượng sản phẩm chiết ra là **6.36%**.

Thành phần hóa học trong dịch chiết dichloromethane

Kết quả từ sắc ký đồ - khối phổ thu được cho thấy trong dịch chiết dichloromethane thu được từ lá Rẻ quạt có nhiều cấu tử. Thành phần hóa học của dịch chiết bằng phương pháp chiết Soxhlet với một số cấu tử chính có thời gian lưu, hàm lượng phần trăm được trình bày trong Bảng 3.6.

Bảng 3.6. Thành phần định danh thành phần hóa học trong dịch chiết dichloromethane

STT	RT (phút)	Tên	CTCT	Area (%)
1	1.08	Toluene		21.80
2	1.2	1-butanol-2,3-dimethyl		18.0
3	2.63	2-heptenal		5.10
4	3.07	1-octanol-2,7-dimethyl		1.80
5	8.81	2-decenal,(E)-		1.70
6	9.59	stearic acid		0.80
7	16.21	undecanoic acid		3.4
8	20.5	tetradecanoic acid hoặc myristic acid		24.50
9	22.31	2-pentadecanone-6,10,14-trimethyl		3.50
10	26.29	palmitic acid		13.90
11	41.10	methoxyacetic acid hoặc methyl dodecyl methoxyacetate		5.60

Nhận xét:

Từ bảng 6, cho thấy phương pháp GC-MS đã định danh được 11 cấu tử từ dịch chiết dichloromethane lá cây Rẻ quạt. Tetradecanoic

acid có hàm lượng cao nhất với 24.5%. Các cấu tử khác như toluene (21.8%), 1-butanol-2,3-dimethyl (18%), 2-heptenal (5.1%), 1-octanol-2,7-dimethyl (1.8%), 2-decenal,(E)- (1.7%), stearic acid (0.8%), undecanoic acid (3.4%), 2-pentadecanone-6,10,14-trimethyl (3.5%), palmitic acid (13.9%), methoxyacetic acid (5.6%).

3.2.4. Dung môi methanol

Kết quả khảo sát ảnh hưởng thời gian chiết đến khối lượng sản phẩm chiết đối với dung môi methanol được trình bày 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

Thời gian (h)	m_0 (g)	V dung môi đầu	V dịch cô (ml)	m_1 (g)	m_2 (g)	Hàm lượng cao (%)
4	9.968	150	20ml	8.023	7.261	7.6445
6	10.002	150	20ml	8.035	7.182	8.5283
8	10.001	150	20 ml	8.016	7.107	9.0891
10	10.008	150	20 ml	8.012	7.097	9.1427
12	10.012	150	20 ml	8.038	7.120	9.1690

Nhận xét:


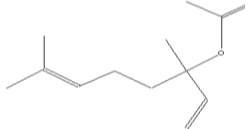
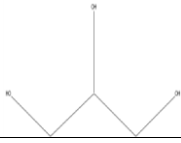
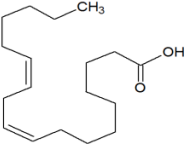
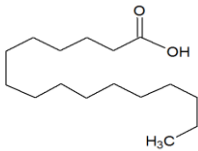
Từ kết quả ở bảng 3.7 cho thấy khi tăng thời gian chiết thì khối lượng sản phẩm chiết tăng dần và đạt giá trị cao nhất sau 8 giờ; tiếp tục tăng thời gian chiết đến 10 và 12 giờ thì khối lượng sản phẩm chiết tăng nhưng không đáng kể. Điều này có thể giải thích là do methanol là dung môi có khả năng hòa 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 dễ bị bay hơi hơn. Do đó, khối lượng sản phẩm chiết giảm. Vì vậy, đối với dung môi methanol, tôi chọn thời gian chiết thích hợp là **8 giờ**, tỷ lệ % khối lượng sản phẩm chiết ra là **9.09%**.

Thành phần hóa học trong dịch chiết methanol

Kết quả từ sắc ký đồ - khối phổ thu được cho thấy trong dịch

chiết methanol thu được từ lá Rẻ quạt có nhiều cấu tử. Thành phần hóa học của dịch chiết bằng phương pháp chiết Soxhlet với một số cấu tử chính có thời gian lưu, hàm lượng phần trăm được trình bày trong Bảng 3.8.

Bảng 3.8. Thành phần định danh thành phần hóa học trong dịch chiết methanol

STT	RT (phút)	Tên	CTCT	Area (%)
1	1.68	p-xylene hoặc benzene-1,4-dimethyl		1.40
2	2.32	linalyn acetate hoặc (1,6-octadien-3-ol-3,7-dimethyl-,acetate)		3.15
3	2.91	glycerin hoặc 1,2,3-propanetriol		46.90
4	3.36	9,12-octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester		7.40
5	10.57	palmitic acid		16.90

Nhận xét:

Từ bảng 3.8 cho thấy phương pháp GC-MS đã định danh được 5 cấu tử trong dịch chiết methanol lá cây Rẻ quạt khô. Thành phần chủ

yếu của dịch chiết metanol lá cây Rẻ quạt là các acid mạch dài, hợp chất phenolic, đặc biệt là sự xuất hiện của hợp chất flavonid. Trong đó glycerin có hàm lượng cao nhất là 46.90%.

Nhận xét chung

Qua quá trình khảo sát ảnh hưởng của thời gian đến quá trình chiết tách, thu được thời gian chiết tốt nhất đối với dung môi n-hexane là 8 giờ; dung môi ethyl acetate là 10 giờ; dung môi dichloromethane là 10 giờ; dung môi methanol là 8 giờ. Khối lượng cần chiết ra được với dung môi methanol ở thời gian tốt nhất là lớn nhất với 9.09%.

3.3. TỔNG HỢP THÀNH PHẦN ĐỊNH DANH CÓ TRONG CÁC DỊCH CHIẾT

Kết quả các thành phần định danh có trong các dịch chiết được trình bày ở Bảng 3.9.

Bảng 3.9. Các thành phần định danh có trong các dịch chiết

STT	Tên cấu tử	Hàm lượng %			
		n-hexane	ethyl acetate	dichlorometane	methanol
1	3-allylcyclohexene	5.9	-	-	-
2	toluen	-	-	21.8	-
3	1-butanol-2,3-dimethyl	-	-	18	-
4	1,2- heptanediol	-	2.9	-	-
5	2-heptenal	-	-	5.1	-
6	2-pentadecanone-6,10,14-trimethyl	-	-	3.5	-
7	1-octanol-2,7-dimethyl	-	-	1.8	-
8	2-decenal,(E)-	-	-	1.7	-
9	undecanoic acid	-	-	3.4	-
10	methoxyacetic acid	-	-	5.6	-
11	linallyn acetate	-	-	-	3.15
12	ergosterol	1.09	-	-	-

STT	Tên cấu tử	Hàm lượng %			
		n-hexane	ethyl acetate	dichlorometane	methanol
13	2-methoxy-4-vinylphenol	-	3.32	-	-
14	tetradecanoic acid (acid myristic)	-	32.73	24.5	-
15	n-hexadecanoic acid (acid palmitic)	2.92	15.29	13.9	16.9
16	octadecanoic acid (acid Stearic)	-	-	0.8	-
17	glycerin	-	-	-	46.9
18	nonadecanoic acid, methyl ester	-	1.56	-	-
19	9,12-octadecadienoic acid (z,z)-(acid linoleic)	5.94	-	-	7.4
20	oleic acid	-	22.52	-	-
21	p-xylen	-	-	-	1.4
Tổng hàm lượng %		15.85	78.32	100.1	75.75

Nhận xét chung:

Bằng phương pháp GC-MS, đã xác định được 21 cấu tử trong 4 dịch chiết khác nhau từ lá cây Rẻ quạt khô, bao gồm các acid hữu cơ, este của các acid hữu cơ, hợp chất phenolic, flavonoid. Trong đó, dịch chiết định danh được nhiều cấu tử nhất là dichloromethane với 11 cấu tử. Trong 4 dịch chiết, có chung cấu tử palmitic acid với hàm lượng ở các dịch chiết đều tương đối cao. Từ kết quả bảng 9 tôi thấy có nhiều cấu tử có hàm lượng cao, vì vậy trong nghiên cứu tiếp theo chúng tôi phân lập cấu tử có hàm lượng cao nhất là tetradecanoic acid từ cao ethyl acetate.

3.4. PHÂN LẬP CẤU TỬ TINH KHIẾT

3.4.1. Tiến hành lựa chọn dung môi kết tinh ở nhiệt độ sôi

- Trong luận văn này, tôi phân tích SKBM sử dụng:

- Sắc kí bản mỏng Silicgel 60 F₂₅₄ hãng Merck, dày 0,2mm tráng trên nền nhôm.
- Hiện vết bằng đèn UV (BIOBLOCK).
- Silicagel nhồi cột là silicagel Merck có kích thước hạt 0,04-0,06mm.
- Cột sắc kí là ống thủy tinh hình trụ có kích thước đường kính cột bằng 2cm, chiều cao cột 50cm, bên dưới có van khóa.
- Tiến hành chạy sắc kí cột với tinh thể kết tinh màu trắng (TT)

3.4.2. Các thao tác khi kết tinh

3.5. KẾT QUẢ KIỂM TRA SẮC KÍ BẢN MỎNG LỰA CHỌN DUNG MÔI GIẢI LI

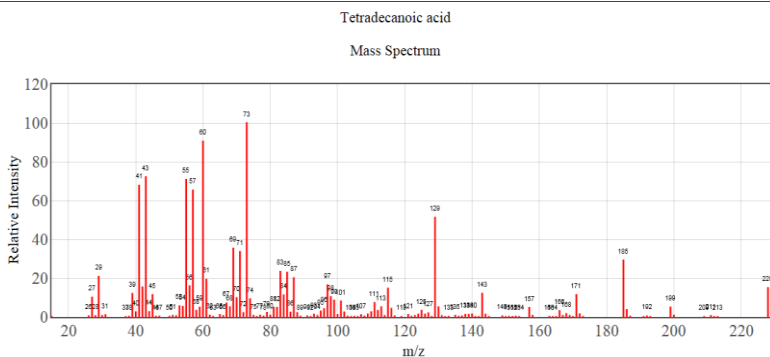
3.6. KẾT QUẢ PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH THỨC CÔNG CẤU TẠO CỦA TINH THỂ MÀU TRẮNG (TT)

3.6.1. Kết quả đo phổ MS

Kết quả phân tích phổ MS được thể hiện ở hình 3.15.

Display Report - Selected Window Selected Analysis

Analysis Name: 110-Van-1.d	Instrument: LC-MSD-Trip-SL	Print Date: 2/22/2016 12:52:43 PM
Method: Cot 25cm.m	Operator: 2195410AE0000514	Acq. Date: 2/22/2016 12:49:50 PM
Sample Name: 110-Van-1		
Analysis Info:		

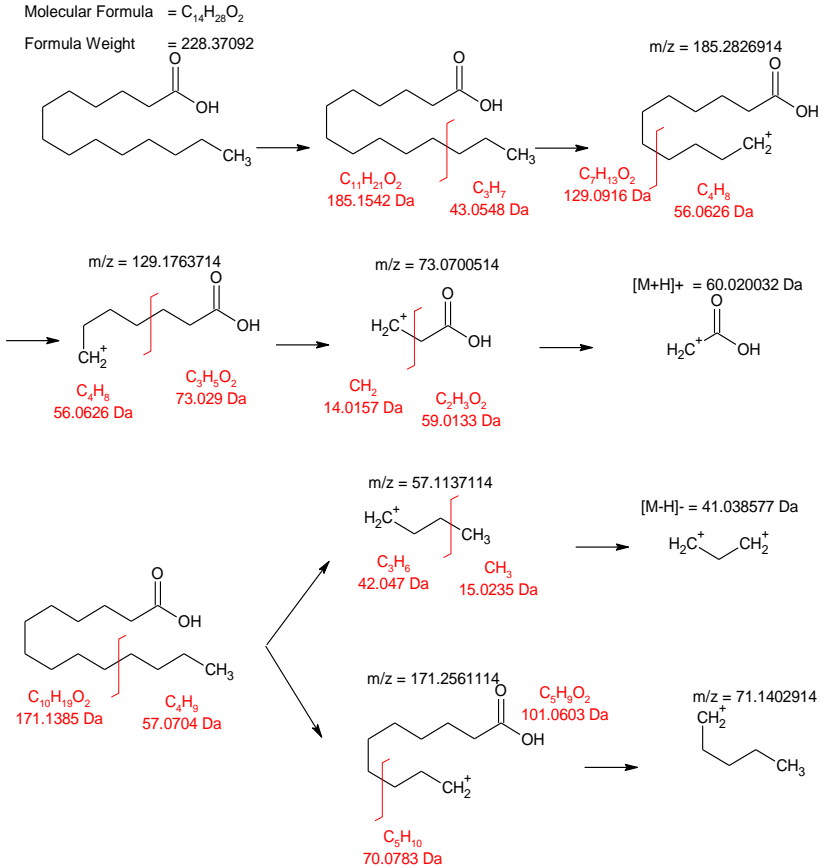


Hình 3.1. Phổ khối MS của mẫu chất rắn TT1

Trên hình 3.1 có một peak ứng với M^+ của hợp chất TT1 ở $m/z=228$, khối lượng này tương ứng với khối lượng của hợp chất tôi dự

đoán ban đầu là Tetradecanoic acid có khối lượng phân tử là 228.

Để khẳng định điều này, tôi tiến hành phân mảnh phổ bằng chương trình ChemSketch được trình bày ở hình 3.2



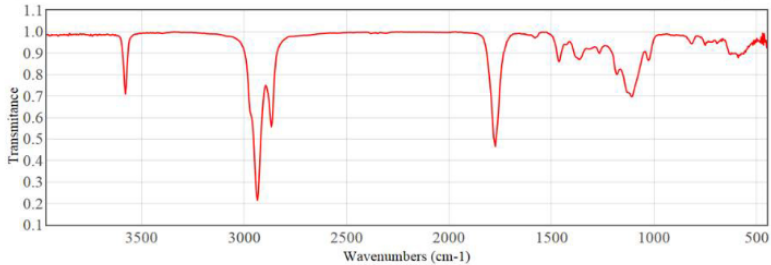
Hình 3.2. Kết quả phân mảnh phổ khối MS

3.6.2. Kết quả đo phổ hồng ngoại IR

Kết quả đo phổ hồng ngoại IR được thể hiện ở hình 3.3

Display Report - Selected Window Selected Analysis

Analysis Name: 110-Var-1.d Instrument: IR-6000 Print Date: 2/22/2016 13:12:43 PM
 Method: Operator: 2195410AE00005 Acq. Date: 2/22/2016 13:19:50 PM
 Sample Name: 110-Var-1
 Analysis Info:



Hình 3.3. Phổ IR của mẫu chất rắn TT1 thu được

Tín hiệu phổ hồng ngoại (IR) được trình bày ở bảng 3.10.

Bảng 3.10. Phân tích phổ hồng ngoại IR của chất rắn TT1

STT	$\nu_{TT1}(\text{cm}^{-1})$	$\nu_{\text{theo tài liệu}}[12](\text{cm}^{-1})$	Dự kiến nhóm chức	Chú thích
1	3600	3300-3600	-OH tự do của nhóm acid	Pic của nhóm OH này có chân rộng
2	2900	2960-2870	Hidro ankan (-CH ₃)	
3	2800	2925-2850	Hidro acid (-CH ₂)	
4	1700	1650-1800	-C=O	Nhóm cacbonyl trong acid

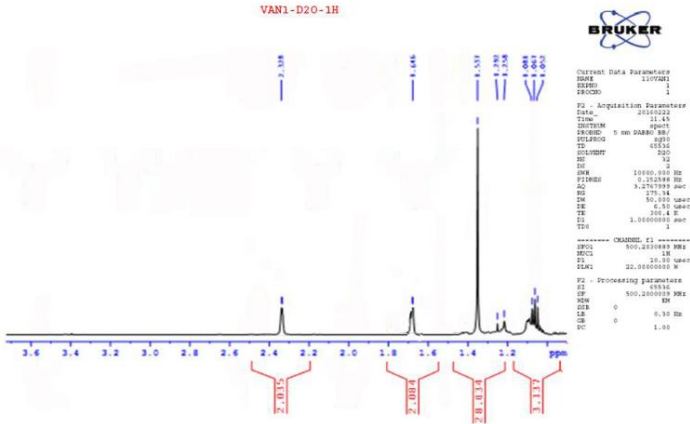
Nhận xét:

- Các peak phía sau không có dao động đặc trưng của C-N, N-O, N-H, vì vậy cấu tử này không chứa N.

- Từ bảng 10 ta thấy phổ hồng ngoại của chất rắn TT1 thu được, có các peak đặc trưng cho nhóm chức và liên kết tương đồng về số sóng theo tài liệu.

3.6.3. Kết quả đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton $^1\text{H-NMR}$

Kết quả đo phổ $^1\text{H-NMR}$ được thể hiện ở hình 1.



Hình 3.4. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của chất rắn TTI

Qua phổ $^1\text{H-NMR}$ thấy chất nghiên cứu có 35 proton. Tín hiệu phổ dựa vào độ dịch chuyển được trình bày ở bảng 3.11.

Bảng 3.11. Phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton của chất rắn TTI

	d (ppm)	Nhóm chức	Ghi chú
H1			Thiếu H trong nhóm OH của COOH, H trong nhóm này có độ dịch chuyển khoảng >10 ppm là do sự trao đổi proton rất nhanh của COOH nên có trường hợp không thu được trên phổ proton
H2	~2.3	Cacbonyl (-CH ₂ -CO-)	2 proton tương đương nhau của H2 ở trường thấp do hiệu ứng chắn của CO(cacbon số 2, cacbon số 1 COOH có chứa nhóm cacbonyl C=O)

Tín hiệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ được trình bày ở bảng 3.12

Bảng 3.12. Phân tích phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của chất rắn TTI

Vị trí C	$\delta_{\text{C}} \text{ppm}$	$\delta_{\text{H}} \text{ppm}$	Nhóm nguyên tử
1	180	9 (1H, t)	C
2	34	1.3 (2H, s)	CH_2
3	34	1.3 (2H, s)	CH_2
4	33	1.3 (2H, s)	CH_2
5	33	1.3 (2H, s)	CH_2
6	29	1.3 (2H, s)	CH_2
7	29	1.3 (2H, s)	CH_2
8	29	1.3 (2H, s)	CH_2
9	29	1.3 (2H, s)	CH_2
10	29	1.3 (2H, s)	CH_2
11	23	1.3 (2H, s)	CH_2
12	22	1.6 (2H, s)	CH_2
13	22	2.3 (2H, s)	CH_2
14	13	0.9 (3H, t)	CH_3

Trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ có 14 tín hiệu, tương ứng với 14C. Trong đó có 13 tín hiệu có độ dịch chuyển từ 0 – 40ppm của Cacbon no, không liên kết trực tiếp với Oxi (CH , CH_2 , CH_3), 1 tín hiệu có độ dịch chuyển lớn hơn 160ppm của Cacbon không no liên kết trực tiếp với Oxi, ở đây là COOH (vì phổ ^1H có 1 proton có độ dịch chuyển lớn hơn 9ppm).

1 nhóm CH_3 ($\delta=13.730$ ppm)

12 nhóm CH_2 ($\delta= 22, 22, 23, 29, 29, 29, 29, 29, 29, 33, 33, 34, 34$ ppm)

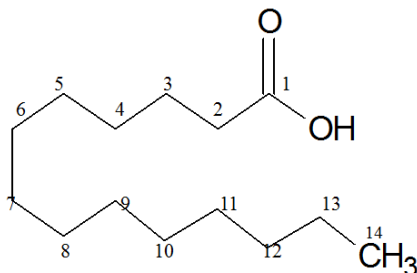
1 nhóm COOH ($\delta=180.24$ ppm)

Kết luận

Từ kết quả kiểm tra phổ MS kết hợp phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ và phổ IR đồng thời so sánh với tài liệu tham khảo cho thấy các tín

hiệu tương tự nhau, một số đỉnh dao động đặc trưng có sự tương đồng về số sóng như vậy sản phẩm phân lập được có công thức cấu tạo phù hợp với công thức Tetradecanoic Acid như dự đoán ban đầu (hình 3).

Vậy có thể kết luận chất rắn TT1 là Tetradecanoic acid có công thức:



Hình 3.6. Công thức cấu tạo của Acid Tetradecanoic

3.7. TETRADECANOIC ACID

Nguồn gốc

Công dụng

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Kết luận

- Qua nghiên cứu thực nghiệm, tôi đã xác định được một số thông số hóa lí của nguyên liệu bột lá cây:

+ Độ ẩm trung bình của lá cây Rẻ quạt khô là 15.942%

+ Hàm lượng tro trung bình của lá cây Rẻ quạt khô là 5.083%

+ Hàm lượng kim loại nặng là Cu (6.72mg/kg), Zn (15.75mg/kg), Pb (0.3mg/kg), As(0.026mg/kg), Hg(<0.05mg/kg)

- Xác định được thời gian tối ưu nhất để thu các dịch chiết với

hàm lượng cao nhất như sau:

+ Dung môi n-hexane: thời gian chiết tốt nhất là 8 tiếng với tỷ lệ phần trăm khối lượng cao chiết ra là 2.75%;

+ Dung môi ethyl acetate thời gian chiết tốt nhất là 10 tiếng với tỷ lệ phần trăm khối lượng cao chiết ra là 8.43%;

+ Dung môi dichloromethane thời gian chiết tốt nhất là 10 tiếng với tỷ lệ phần trăm khối lượng cao chiết ra là 6.36%;

+ Dung môi methanol thời gian chiết tốt nhất là 8 tiếng với tỷ lệ phần trăm khối lượng cao chiết ra là 9.09%.

- Định danh được thành phần một số cấu tử có trong lá cây Rẻ quạt. Tổng số cấu tử định danh được là 21 cấu tử. Có một số cấu tử hàm lượng cao định danh được có hoạt tính sinh học là phenolic, aldohexoes, isoflavonoit. Trong 4 dịch chiết có chung cấu tử Palmitic acid với hàm lượng ở các dịch chiết đều tương đối cao.

- Đã phân lập và xác định được một cấu tử tinh khiết là Tetradecanoic acid. Đây là lần đầu tiên cấu tử này được phân lập từ lá cây Rẻ quạt.

2. Kiến nghị

Do thời gian nghiên cứu có hạn, thông qua kết quả của đề tài tôi mong muốn đề tài được phát triển rộng hơn về một số vấn đề sau:

- Tiếp tục nghiên cứu chiết tách Tetradecanoic Acid từ lá cây Rẻ quạt bằng các dung môi hữu cơ khác để so sánh và đưa ra dung môi tốt hơn nữa để quá trình chiết tách đạt hiệu quả cao.

- Tiếp tục phân lập các cấu tử khác trong dịch chiết lá cây Rẻ quạt.