

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM**

SATHAPANA KHAMPHILA

**ĐỊNH LƯỢNG VITAMIN C VÀ PHÂN LẬP HỢP CHẤT
TỪ LÁ CÂY CHANH THÁI (*CITRUS HYSTRIX*)
TẠI TỈNH CHAMPASACK, MIỀN NAM LÀO**

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

THÁI NGUYÊN - 2020

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

SATHAPANA KHAMPHILA

**ĐỊNH LƯỢNG VITAMIN C VÀ PHÂN LẬP HỢP CHẤT
TỪ LÁ CÂY CHANH THÁI (*CITRUS HYSTRIX*)
TẠI TỈNH CHAMPASACK, MIỀN NAM LÀO**

Ngành: Hóa học hữu cơ

Mã ngành: 8440114

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

Cán bộ hướng dẫn khoa học: TS. Mai Thanh Nga

THÁI NGUYÊN - 2020

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận văn “***Định lượng vitamin C và phân lập hợp chất từ lá cây chanh Thái (citrus hystrix) tại tỉnh Champasack, miền Nam Lào***” là công trình nghiên cứu riêng của tôi đã thực hiện. Các số liệu trong luận văn được sử dụng đều là trung thực. Kết quả nghiên cứu được trình bày trong luận văn này chưa từng được công bố tại bất kỳ công trình nào khác.

Thái Nguyên, tháng 9 năm 2020

Người viết luận văn

Sathapana KHAMPHILA

LỜI CẢM ƠN

Luận văn này được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Hóa hữu cơ của khoa Hóa học - Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên.

Lời đầu tiên, em xin tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến cô giáo TS. Mai Thanh Nga đã tận tình hướng dẫn và giúp đỡ em trong thời gian thực hiện luận văn.

Em xin gửi lời cảm ơn chân thành tới Ban chủ nhiệm Khoa Hóa học và các thầy cô làm việc tại phòng thí nghiệm Khoa hóa học - Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên đã tạo điều kiện, giúp đỡ cho em trong quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thiện luận văn.

Do thời gian nghiên cứu luận văn chưa nhiều nên không tránh khỏi những thiếu sót, em rất mong nhận được những ý kiến đóng góp của quý thầy cô và các bạn để luận văn được hoàn thiện hơn.

Em xin chân thành cảm ơn.

Thái Nguyên, tháng 9 năm 2020

Người viết luận văn

Sathapana KHAMPHILA

MỤC LỤC

| | |
|---|------|
| LỜI CAM ĐOAN | i |
| LỜI CẢM ƠN..... | ii |
| MỤC LỤC | iii |
| DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT DÙNG TRONG LUẬN VĂN..... | vi |
| DANH MỤC CÁC BẢNG | vii |
| DANH MỤC CÁC HÌNH | viii |
| MỞ ĐẦU | 1 |
| 1. Tính cấp thiết của đề tài..... | 1 |
| 2. Mục tiêu của đề tài..... | 1 |
| Chương 1: TỔNG QUAN | 2 |
| 1.1. Tổng quan về cây chanh Thái (<i>Citrus hystrix</i>) | 2 |
| 1.1.1. Tên khoa học | 2 |
| 1.1.2. Đặc điểm thực vật..... | 2 |
| 1.1.3. Nguồn gốc..... | 3 |
| 1.1.4. Ứng dụng và tác dụng cây chanh Thái | 3 |
| 1.2. Tình hình nghiên cứu trên thế giới | 7 |
| 1.2.1. Tình hình nghiên cứu thành phần hóa học trong chanh Thái..... | 7 |
| 1.2.2. Tình hình nghiên cứu về thành phần tinh dầu chanh Thái | 15 |
| 1.2.3. Tình hình nghiên cứu hoạt tính sinh học trong chanh Thái. | 21 |
| 1.3. Hoạt tính sinh học của vitamin C | 23 |
| 1.3.1. Chất chống oxy hóa | 24 |
| 1.3.2. Tổng hợp collagen | 24 |
| 1.3.3. Ngăn ngừa bệnh ung thư | 24 |
| 1.3.4. Chống căng thẳng | 25 |
| 1.3.5. Tăng đề kháng với bệnh nhiễm vi sinh vật..... | 25 |
| 1.4. Tổng quan về phương pháp HPLC..... | 26 |

| | |
|---|-----------|
| 1.4.1. Khái niệm..... | 26 |
| 1.4.2. Sơ lược về hệ thống HPLC..... | 26 |
| 1.4.3. Pha tĩnh..... | 27 |
| 1.4.4. Pha động..... | 28 |
| 1.4.5. Đánh giá peak..... | 29 |
| 1.4.6. Đánh giá kết quả..... | 30 |
| Chương 2: THỰC NGHIỆM..... | 32 |
| 2.1. Đối tượng nghiên cứu..... | 32 |
| 2.2. Hóa chất, dụng cụ và thiết bị nghiên cứu..... | 32 |
| 2.2.1. Hóa chất..... | 32 |
| 2.2.2. Thiết bị..... | 32 |
| 2.3. Phương pháp chiết và phân lập hợp chất hữu cơ..... | 33 |
| 2.3.1. Sơ đồ chiết và phân lập hợp chất hữu cơ..... | 33 |
| 2.3.2. Phương pháp chiết hợp chất hữu cơ..... | 34 |
| 2.3.3. Quá trình phân lập các chất từ cao ethyl acetate..... | 34 |
| 2.4. Phương pháp khảo sát cấu trúc hóa học các chất..... | 36 |
| 2.5. Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)..... | 36 |
| 2.5.1. Chuẩn bị các dung dịch phân tích xác định đường chuẩn Vitamin C..... | 36 |
| 2.5.2. Chuẩn bị các dung dịch cần khảo sát hàm lượng Vitamin C..... | 36 |
| 2.5.3. Phương pháp xử lý số liệu..... | 37 |
| Chương 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN..... | 38 |
| 3.1. Kết quả phân lập các hợp chất trong lá cây chanh Thái..... | 39 |
| 3.2. Kết quả xác định cấu trúc các hợp chất..... | 39 |
| 3.2.1. Phân tích cấu trúc hợp chất KS1..... | 39 |
| 3.2.2. Phân lập cấu trúc hợp chất KS2..... | 45 |
| 3.3. Xác định hàm lượng vitamin C trong lá và quả chanh Thái..... | 48 |
| 3.3.1. Khảo sát điều kiện nghiên cứu..... | 48 |
| 3.3.2. Kiểm tra tính thích hợp của hệ thống..... | 49 |

| | |
|---|-----------|
| 3.3.3. Xác định khoảng tuyến tính, xây dựng đường chuẩn..... | 50 |
| 3.3.4. Khảo sát độ lặp lại, Xác định hàm lượng vitamin C trong mẫu lá và quả cây Chanh Thái trồng tại tỉnh Champasack, miền Nam Lào..... | 51 |
| 3.4. Khảo sát độ đúng | 53 |
| KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ..... | 55 |
| DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN..... | 56 |
| TÀI LIỆU THAM KHẢO..... | 57 |

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT DÙNG TRONG LUẬN VĂN

| Chữ viết tắt | Chữ viết đầy đủ tiếng Anh | Chữ viết đầy đủ tiếng Việt |
|---------------------|---|--|
| ADN | Acid deoxyribonucleic | Phân tử mang thông tin di truyền |
| ¹³ C-NMR | ¹³ C-Nuclear Magnetic Resonance | Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹³ C |
| DEPT | Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer | Phổ DEPT |
| GCMS | Gas Chromatography Mass Spectrometry | Sắc ký khí khối phổ |
| ¹ H-NMR | ¹ H- Nuclear Magnetic Resonance | Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹ H |
| HMBC | Heteronuclear multiple-Bond Correlation | Phổ tương quan hai chiều H-C |
| HPLC | High-Performance Liquid Chromatography | Sắc ký lỏng hiệu năng cao |
| HSQC | Heteronuclear Single-Quantum Coherence | Phổ tương tác C-H |
| LLC | Liquid-Liquid Chromatography | Sắc ký lỏng lỏng |
| LSC | Liquid-Solid Chromatography | Sắc ký lỏng rắn |
| STT | - | Số thứ tự |
| TLTK | - | Tài liệu tham khảo |
| UHPLC | Ultra High-Performance Liquid Chromatography | Sắc ký lỏng hiệu suất cực cao |

DANH MỤC CÁC BẢNG

| | |
|---|----|
| Bảng 1.1. Thành phần hóa học trong chanh Thái (Citrus hystrix DC) | 8 |
| Bảng 1.2. Thành phần tinh dầu của canh Thái (Citrus hystrix) | 17 |
| Bảng 2.1. Kết quả sắc ký cột silica gel của cao chiết Ethyl acetate..... | 35 |
| Bảng 2.2. Kết quả sắc ký cột silica gel của phân đoạn ET4..... | 35 |
| Bảng 3.1. Độ dịch chuyển hóa học của proton trên Phổ 1H-NMR của các chất KS1 và quercetin..... | 41 |
| Bảng 3.2. Độ dịch chuyển hóa học của proton trên Phổ 1H-NMR của các chất KS2 và myricetin | 47 |
| Bảng 3.3. Kết quả khảo sát tính thích hợp của hệ thống sắc ký..... | 50 |
| Bảng 3.4. Kết quả khảo sát khoảng nồng độ tuyến tính của vitamin C chuẩn bằng phương pháp HPLC | 50 |
| Bảng 3.5. Kết quả khảo sát độ lặp lại và hàm lượng vitamin C trong 100g lá và quả chanh Thái | 53 |
| Bảng 3.6. Kết quả khảo sát độ đúng..... | 54 |

DANH MỤC CÁC HÌNH

| | |
|---|----|
| Hình 1.1. Cây chanh Thái..... | 3 |
| Hình 1.2. Sơ đồ hệ thống máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) | 26 |
| Hình 1.3. Hình ảnh máy HPLC ở phòng thí nghiệm..... | 27 |
| Hình 2.1. Lá chanh thái và bột lá chanh Thái..... | 32 |
| Hình 2.2. Sơ đồ quy trình chiết và phân lập hợp chất từ lá chanh Thái | 33 |
| Hình 3.1. Phổ ^1H - NMR của hợp chất KS1 | 40 |
| Hình 3.2. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất KS1 | 40 |
| Hình 3.3. Phổ DEPT của hợp chất KS1 | 41 |
| Hình 3.4. Tương quan phổ HMBC của hợp chất KS1 | 43 |
| Hình 3.5. Phổ HSQC của hợp chất KS1 | 43 |
| Hình 3.6. Phổ HMBC của hợp chất KS1..... | 44 |
| Hình 3.7. Cấu trúc hợp chất quercetin..... | 45 |
| Hình 3.8. Phổ ^1H - NMR của hợp chất KS2..... | 45 |
| Hình 3.9. Phổ ^{13}C - NMR của KS2..... | 46 |
| Hình 3.10. Cấu trúc hợp chất myricetin | 48 |
| Hình 3.11. Sắc kí đồ 3D khảo sát bước sóng thích hợp của hợp chất vitamin C .. | 49 |
| Hình 3.12. Sắc ký đồ của vitamin C | 49 |
| Hình 3.13. Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc tuyến tính giữa nồng độ và diện tích peak của mẫu vitamin C chuẩn..... | 51 |
| Hình 3.14. Sắc ký đồ của vitamin C chiết từ lá chanh Thái | 52 |
| Hình 3.15. Sắc ký đồ của vitamin C chiết từ quả chanh Thái | 52 |