

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

**BÙI THỊ SÂM**

**NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP VÀ ĐỊNH LƯỢNG CATECHIN  
TỪ BÚP CHÈ XANH TẠI MỘT SỐ ĐỊA BÀN  
TỈNH THÁI NGUYÊN**

**Ngành: Hóa Hữu cơ  
Mã số: 8 44 01 14**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC**

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

**THÁI NGUYÊN - 2019**

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận văn “*Nghiên cứu phân lập và định lượng catechin từ búp chè xanh tại một số địa bàn tỉnh Thái Nguyên*” là do bản thân tôi thực hiện. Các số liệu, kết quả trong luận văn là hoàn toàn trung thực. Nếu điều tôi cam đoan là sai sự thật tôi sẽ hoàn toàn chịu trách nhiệm.

*Thái nguyên, tháng 05 năm 2019*

**Tác giả đề tài**

**Bùi Thị Sâm**

## 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 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 5 năm 2019*

**Học viên thực hiện**

**Bùi Thị Sâm**

## MỤC LỤC

Lời cam đoan .....	i
Lời cảm ơn .....	ii
Mục lục .....	iii
Danh mục các chữ viết tắt.....	iv
Danh mục các bảng.....	v
Danh mục các hình .....	vi
<b>MỞ ĐẦU</b> .....	<b>1</b>
1. Lý do chọn đề tài .....	1
2. Mục tiêu của đề tài.....	2
3. Nội dung nghiên cứu .....	2
4. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài.....	2
5. Bố cục đề tài .....	2
<b>Chương 1: TỔNG QUAN</b> .....	<b>3</b>
1.1. Tổng quan về cây chè (Trà).....	3
1.1.1. Tên khoa học .....	3
1.1.2. Đặc điểm thực vật học .....	3
1.1.3. Nguồn gốc và tình hình trồng chè trong và ngoài nước .....	3
1.1.4. Công dụng của chè xanh.....	4
1.1.5. Thành phần hóa học.....	6
1.2. Tình hình nghiên cứu trong nước và trên Thế Giới .....	10
1.3. Hoạt tính sinh học của catechin chè xanh .....	12
1.3.1. Hoạt tính chống oxy hóa.....	13
1.3.2. Hoạt tính kháng khuẩn, kháng viêm, kháng virus.....	15
1.3.3. Phòng và trị ung thư .....	16
1.3.4. Bảo vệ tim mạch .....	19
1.3.5. Chống béo phì.....	20

1.3.6. Hoạt động chống tiêu cầu và tác dụng chống huyết khối của EGCG và catechin trong chè xanh .....	20
1.4. Tổng quan về phương pháp HPLC.....	21
1.4.1. Khái niệm .....	21
1.4.2. Hệ thống HPLC .....	22
1.4.3. Pha tĩnh.....	24
1.4.4. Pha động .....	24
1.4.5. Đánh giá peak .....	25
1.4.6. Đánh giá kết quả.....	25
1.5. Một số đại lượng cơ bản trong phân tích sắc ký.....	26
1.5.1. Hệ số phân bố .....	26
1.5.2. Thời gian lưu, thể tích lưu .....	26
1.5.3. Hệ số dung lượng.....	27
1.5.4. Hệ số đối xứng.....	27
1.5.6. Độ phân giải.....	28
1.5.7. Phương trình Van - Deemter .....	28
<b>Chương 2: THỰC NGHIỆM</b> .....	30
2.1. Đối tượng nghiên cứu .....	30
2.2. Hóa chất, dụng cụ và thiết bị nghiên cứu .....	30
2.2.1. Hóa chất .....	30
2.2.2. Thiết bị.....	31
2.3. Sơ đồ chiết và phân lập hợp chất hữu cơ.....	31
2.4. Chiết hợp chất hữu cơ.....	32
2.5. Quá trình phân lập các chất từ cao ethyl acetate .....	32
2.6. Phương pháp khảo sát cấu trúc hóa học các chất .....	34
2.7. Phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao (HPLC) .....	34
2.7.1. Chuẩn bị các dung dịch phân tích xác định đường chuẩn EGCG .....	34
2.7.2. Chuẩn bị các dung dịch cần khảo sát hàm lượng EGCG .....	34

2.7.3. Phương pháp xử lý số liệu.....	35
<b>Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN .....</b>	<b>37</b>
3.1. Kết quả chiết và phân lập hợp chất trong chè xanh.....	37
3.1.1. Kết quả chiết và phân lập EGCG .....	37
3.1.2. Xác định độ tinh khiết của hợp chất ST4 .....	37
3.1.3. Phân lập và xác định cấu trúc.....	38
3.2. Xác định hàm lượng EGCG trong chè xanh trồng tại một số địa bàn Thái Nguyên .....	45
3.2.1. Xây dựng điều kiện sắc kí .....	45
3.2.2. Kiểm tra tính thích hợp của hệ thống .....	54
3.2.3. Kết quả khảo sát độ tuyến tính của phương pháp .....	55
3.2.4. Xác định độ lặp lại của phương pháp .....	56
3.2.5. Hàm lượng EGCG trong chè.....	58
3.2.6. Khảo sát độ đúng của phép xác định EGCG theo phương pháp thêm chuẩn .....	60
<b>KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....</b>	<b>62</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO.....</b>	<b>63</b>
<b>PHỤ LỤC</b>	

## DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

APP	Protein tiền chất của amyloid
<sup>13</sup> C-NMR	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân cacbon
δ	Độ chuyển dịch hóa học
<sup>1</sup> H-NMR	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân hidro
C	Catechin
CG	Catechin gallate
CH <sub>3</sub> CN	Axetonitrin
d	Doublet
dd	Doublet of doublet
DEPT	Phổ DEPT ( Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer)
DNMT	5-cytosine ADN methyltransferase
đvC	Đơn vị cacbon
EC	Epicatechin
ECDG	Epicatechin digallate
ECG	Epicatechin gallate
EGC	Epigallocatechin
EGCDG	Epigallocatechin digallate
EGCG	Epigallocatechin gallate
GC	Gallocatechin
GCG	Gallo catechin gallate
HIV	Virus gây suy giảm miễn dịch ở người
HMBC	Heteronuclear multiple-bond correlation
HPLC	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
HSQC	Heteronuclear single quantum correlation
IC <sub>90</sub>	Nồng độ ức chế 90% đối tượng thử
J	Hằng số tương tác spin-spin (trong phổ <sup>1</sup> H NMR)
LDL	Lipoprotein tỉ trọng thấp
MRSA	Staphylococcus aureus
NF-κB	Yếu tố Nhân kappa B
ROS	Reactive oxygen species (gốc tự do oxi hóa)
s	Singlet
SKLM	Sắc ký lớp mỏng
t	Triplet
v	Thể tích

## DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1. Ứng dụng của chế phẩm polyphenol chè xanh trong chế biến thực phẩm.....	5
Bảng 1.2. Các catechin chính có trong chè xanh.....	8
Bảng 1.3. Hàm lượng catechin trong từng bộ phận riêng biệt của búp chè .....	8
Bảng 1.4. Hàm lượng catechin chính trong lá chè xanh.....	12
Bảng 2.1. Kết quả sắc ký cột silica gel của cao chiết Ethyl acetate .....	33
Bảng 2.2. Kết quả sắc ký cột silica gel của phân đoạn ET3 .....	33
Bảng 2.3. Kết quả sắc ký cột silica gel của phân đoạn ET4.....	33
Bảng 3.1. Độ dịch chuyển hóa học của proton trên Phổ $^1\text{H-NMR}$ của các chất ST4 và epi -gallocatechin gallat.....	38
Bảng 3.2. Độ dịch chuyển hóa học của cacbon trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của các chất ST4 và epi -gallocatechin gallat.....	41
Bảng 3.3. Khảo sát sự ảnh hưởng của EGCG vào nhiệt độ.....	53
Bảng 3.4. Kết quả khảo sát tính thích hợp của hệ thống sắc kí.....	54
Bảng 3.5. Kết quả khảo sát khoảng nồng độ tuyến tính của EGCG chuẩn bằng phương pháp HPLC .....	55
Bảng 3.6. Kết quả đo mẫu chè PX.....	57
Bảng 3.7. Bảng xác định hàm lượng EGCG trong các mẫu chè Tân cương- Thái Nguyên .....	58
Bảng 3.8. Bảng so sánh hàm lượng EGCG trong các mẫu chè xanh trên một số địa bàn tỉnh Thái Nguyên .....	59
Bảng 3.9. Bảng xác định hàm lượng EGCG trong các mẫu chè trồng tại Ba Vì, Phú Thọ.....	59
Bảng 3.10. Kết quả khảo sát độ đúng .....	60



## DANH MỤC CÁC HÌNH VÀ SƠ ĐỒ

Hình 1.1. Chè xanh .....	3
Hình 1.2. Công thức tổng quát của catechin.....	7
Hình 1.3. Công thức cấu tạo của các catechin chính có chè xanh.....	9
Hình 1.4. Sơ đồ hệ thống máy HPLC .....	22
Hình 1.5. Hình ảnh máy HPLC ở phòng thí nghiệm .....	23
Hình 1.6. Thời gian lưu của cấu tử phân tích .....	27
Hình 2.1. Chè nguyên liệu .....	30
Hình 2.2. Sơ đồ quy trình chiết và phân lập hợp chất từ chè xanh.....	31
Hình 3.1. Sắc kí đồ hợp chất ST4.....	37
Hình 3.2. Phổ <sup>1</sup> H-NMR của hợp chất ST4 .....	39
Hình 3.3. Phổ <sup>13</sup> C-NMR của hợp chất ST4 .....	40
Hình 3.4. Công thức cấu tạo flavan .....	42
Hình 3.5. Công thức cấu tạo của epi -gallocatechin gallat (EGCG) .....	42
Hình 3.6. Phổ HSQC của hợp chất ST4 .....	43
Hình 3.7. Phổ HMBC của hợp chất ST4 .....	44
Hình 3.8. Sắc kí đồ 3D khảo sát bước sóng của dung dịch EGCG chuẩn.....	45
Hình 3.9. Sắc kí đồ khảo sát bước sóng của dung dịch EGCG chuẩn.....	46
Hình 3.10. Sắc kí đồ dung dịch EGCG ở tốc độ dòng bằng 0,8 ml/phút .....	47
Hình 3.11. Sắc kí đồ dung dịch EGCG ở tốc độ dòng bằng 1 ml/phút .....	48
Hình 3.12. Sắc kí đồ dung dịch EGCG ở tốc độ dòng bằng 1,2 ml/phút .....	48
Hình 3.13. Sắc kí đồ dung dịch EGCG ở tốc độ dòng bằng 1,4 ml/phút .....	49
Hình 3.14. Sắc kí đồ dung dịch EGCG ở tỉ lệ pha động CH <sub>3</sub> CN: KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> = 17:83 ...	49
Hình 3.15. Sắc kí đồ dung dịch EGCG ở tỉ lệ pha động CH <sub>3</sub> CN : KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> = 15:85 .....	50
Hình 3.16. Sắc kí đồ dung dịch EGCG ở tỉ lệ pha động CH <sub>3</sub> CN: KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> = 13:87 ...	50
Hình 3.17. Sắc kí đồ dung dịch EGCG ở nhiệt độ 20°C .....	51
Hình 3.18. Sắc kí đồ dung dịch EGCG ở nhiệt độ 25°C .....	51
Hình 3.19. Sắc kí đồ dung dịch EGCG ở nhiệt độ 30°C .....	52
Hình 3.20. Sắc kí đồ dung dịch EGCG ở nhiệt độ 35°C .....	52
Hình 3.21. Sắc kí đồ dung dịch EGCG ở nhiệt độ 40°C .....	53
Hình 3.22. Sắc kí đồ EGCG (600 µg/ml) chuẩn.....	54
Hình 3.23. Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc tuyến tính giữa nồng độ và diện tích peak của mẫu EGCG chuẩn.....	56
Hình 3.24. Sắc kí đồ biểu thị hàm lượng EGCG trong chè Phúc Xuân .....	57

## MỞ ĐẦU

### 1. Lý do chọn đề tài

Chè vốn là loại thức uống nổi tiếng thế giới. Cây chè đã xuất hiện lâu đời trước Công Nguyên tập trung chủ yếu ở vùng gió mùa Đông Nam Á. Ở Việt Nam, từ xa xưa nhân dân đã có tập quán uống chè, do có hương vị đặc biệt và có nhiều tác dụng đối với con người như: khả năng chống lão hóa, giảm cholesterol, chống đột biến, phòng chống và hạn chế khả năng phát triển ung thư....

Chè xanh (Trà) có tên khoa học *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze, thuộc họ chè Theaceae

Dược tính của chè có được chủ yếu là do trong chè có chứa các hợp chất catechin. Các nghiên cứu khảo sát trên mô hình thực nghiệm oxy hóa lipit cho thấy các catechin có khả năng chống lại quá trình oxy hóa của lipit lớn hơn so với các chất chống oxy hóa khác như vitamin C và vitamin E [9]. Các catechin trong chè là chất quét gốc tự do hiệu quả vượt trội hơn so với các catechin chiết xuất từ các loại cây khác như nho, đay....[37]

Ngày nay với khả năng chống oxy hóa mạnh, các hợp chất catechin đã được sử dụng nhiều trong mỹ phẩm, đồ uống và thực phẩm chức năng. Trong y học, catechin có tác dụng kìm hãm đối với sự phát triển khối u và làm chậm giai đoạn phát sinh ung thư ở các mô hình động vật gây u thực nghiệm [49]. Qua các nghiên cứu *invitro* được thử nghiệm trên các hệ vi khuẩn, hệ thống tế bào động vật có vú đã cho thấy polyphenol trong chè có tác dụng kháng khuẩn, chống viêm loét, chống đột biến... [20]

Thái Nguyên là một tỉnh trung du miền núi phía Bắc, khí hậu nhiệt đới ẩm gió mùa, độ ẩm cao rất thích hợp cho cây chè sinh trưởng và phát triển. Vì vậy, chè Thái Nguyên mang hương vị đặc trưng riêng mà không nơi nào có được. Vì vậy Thái Nguyên được mệnh danh là “Đệ nhất danh trà”.

Phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao (HPLC) là phương pháp hiện đại để đánh giá đúng chất lượng sản phẩm một cách nhanh chóng, chính xác, an toàn và hiệu quả. Do đó, chúng tôi đã lựa chọn đề tài: **“Nghiên cứu phân lập và định lượng catechin từ búp chè xanh tại một số địa bàn tỉnh Thái Nguyên”**.