

THÀNH PHẦN HÓA HỌC TINH DẦU CỦA MỘT SỐ LOÀI TRONG HỌ CAM (RUTACEAE JUSS.) Ở VƯỜN QUỐC GIA BẾN EN, TỈNH THANH HÓA

Hoàng Thị Nhung¹, Trần Minh Hợi^{2,3}

¹Trường THPT Vĩnh Lộc

²Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Học viện Khoa học và Công nghệ,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Hiện nay ở Việt Nam, đã thống kê được khoảng 10.500 loài thực vật bậc cao có mạch, trong đó có khoảng 657 loài thuộc 357 chi và 114 họ chứa tinh dầu (chiếm khoảng 6,3% tổng số loài; 15,8% tổng số chi và 37,8% số họ).

Họ Cam (Rutaceae Juss.) theo Nguyễn Tiến Bản có 28 chi với 127 loài và dưới loài. Theo Bùi Thu Hà (2011) thì họ Cam (Rutaceae Juss.) ở Việt Nam đã biết có 26 chi với 108 loài, 1 phân loài và 3 thứ. Họ Cam (Rutaceae Juss.) được coi là họ tinh dầu vì có nhiều chi và loài chứa tinh dầu. Tác giả đã thống kê được 34 loài có chứa tinh dầu trong họ Cam ở Vườn Quốc gia Bến En. Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu tinh dầu của 3 loài trong họ Cam (Rutaceae) ở VQG Bến En.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Thu mẫu và chưng cất tinh dầu

Mẫu để chưng cất tinh dầu là các bộ phận riêng biệt của cây (lá, thân, rễ, hoa, quả). Mỗi mẫu thu từ 1-2 kg tươi. Mẫu được ghi số hiệu (số hiệu này trùng với số hiệu mẫu để định loại tên khoa học) và được lưu giữ tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật. Sau khi thu hái, mẫu được cắt nhỏ và chưng cất bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước có hồi lưu trong thiết bị Clevenger trong thời gian 2-4 giờ ở áp suất thường theo Tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam II (2002).

2. Phương pháp định lượng tinh dầu

Tinh dầu của các bộ phận khác nhau được định lượng theo phương pháp I của Dược điển Việt Nam II (2002). Hàm lượng tinh dầu được tính theo công thức.

Hàm lượng tinh dầu trong mẫu tươi

Hàm lượng tinh dầu trong mẫu tươi là tỷ lệ tính bằng % của khối lượng tinh dầu chứa trong mẫu so với khối lượng của mẫu tươi. Công thức tính:

$$\begin{aligned} \text{HI (t) (\%)} &= \frac{\text{lượng tinh dầu thu được (gam)} \times \%}{\text{Khối lượng mẫu chưng cất (g)}} \\ &= \frac{N (\text{khối lượng tinh dầu}) \times 0,9 (\text{tỷ trọng quy ước với tinh dầu nhẹ hơn nước}) \times 100}{M (\text{khối lượng mẫu chưng cất})} \end{aligned}$$

Tinh dầu được làm khô bằng Na₂SO₄ khan, đựng trong các lọ tiêu chuẩn đậy kín, bảo quản ở 0-5°C trước khi đem phân tích.

3. Phương pháp phân tích thành phần hoá học tinh dầu

Chuẩn bị mẫu phân tích cho sắc ký khí: Hoà tan 1,5 mg tinh dầu đã được làm khô bằng Na₂SO₄ khan trong 1ml hexan tinh khiết loại dùng cho phân tích sắc ký.

+ *Sắc ký khí (GC) với đầu dò FID*: Được thực hiện trên máy Agilent Technologies HP 6890N Plus với detector FID, cột mao quản HP-5MS chiều dài 30 m, đường kính trong (ID) = 0,25 mm, lớp phim mỏng 0,25µm với khí mang là hydro. Nhiệt độ buồng bơm mẫu là 250°C. Nhiệt độ Detector là 260°C. Chương trình nhiệt độ 60°C (2 phút), tăng 4°C/phút cho đến 220°C, dừng ở nhiệt độ này trong 10 phút.

+ *Sắc ký khí-khối phổ (GC/MS)*: Được thực hiện trên hệ thống thiết bị sắc ký khí khối phổ liên hợp Agilent Technologies HP 6890N/ HP 5973 MSD với cột tách và các điều kiện vận hành sắc ký như nêu ở trên và với Heli làm khí mang.

Việc xác định các thành phần của tinh dầu được thực hiện bằng các phương pháp sau:

- Dựa trên giá trị của chỉ số lưu giữ (Retention Index), xác định với một dãy các đồng đẳng n-alkan trong cùng một điều kiện sắc ký.

- Dựa trên sắc ký nội chuẩn (co-injection) với các chất chuẩn thương mại (của hãng Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) hoặc với các thành phần tinh dầu đã biết.

- Dựa trên phổ khối lượng, so sánh với phổ khối lượng tìm thấy trong các ngân hàng dữ liệu (NIST 08 và Wiley 9th Version) hoặc so sánh với các dữ liệu của các tài liệu tham khảo (Adams R.P., 2001; Lawrence B.M., 2001).

Tỉ lệ % các thành phần trong tinh dầu được tính toán dựa trên diện tích hoặc chiều cao của pic sắc ký (detector FID) mà không sử dụng các yếu tố điều chỉnh.

4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý trên phần mềm Microsoft Office Excel 2007.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

1. Thành phần hóa học tinh dầu của một số loài trong họ Cam (Rutaceae) ở VQG Bến En, tỉnh Thanh Hóa

1.1. Thành phần hóa học tinh dầu lá loài Quýt dại (*Atalantia roxburghiana* Hook.f.)

Mẫu lá với số hiệu (HVC 375) được dùng để chưng cất và phân tích tinh dầu được thu ở Khe Bu vào tháng 4 năm 2014. Hàm lượng tinh dầu lá đạt 0,35% so với trọng lượng tươi. Tinh dầu có màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước (bảng 1).

Bảng 1

Thành phần hóa học tinh dầu lá loài Quýt rừng (*Atalantia roxburghiana* Hook.f.)

TT	Hợp chất	RI	Tỷ lệ %
1	α-thujene	930	1,2
2	α-pinene	939	2,1
3	Camphene	953	0,1
4	Sabinene	976	36,9
5	β-myrcene	990	2,4
6	α-phellandrene	1006	0,3
7	δ ³ -carene	1011	0,7
8	α-terpinene	1017	2,2

9	o-cymene	1024	0,5
10	(Z)- β -ocimene	1043	0,1
11	(E)- β -ocimene	1052	0,5
12	γ-terpinene	1061	3,7
13	Cis sabinene hydrate	1070	0,3
14	α -terpinolene	1090	0,9
15	Alloocimene	1128	0,1
16	Terpinene-1-ol	1139	0,1
17	Terpinen-4-ol	1177	0,7
18	Geraniol	1253	0,1
19	Bornyl axetate	1289	0,1
20	Bicycloelemene	1327	3,7
21	α -cubebene	1351	0,1
22	α -ylangene	1375	0,1
23	α -copaene	1377	0,2
24	β -elemene	1391	0,6
25	α -gurjunene	1412	2,7
26	β-caryophyllene	1419	6,1
27	γ -elemene	1437	1,0
28	Aromadendrene	1441	1,3
29	α -humulene	1454	1,3
30	Ishwaran	1467	0,6
31	γ -muurolene	1480	0,5
32	Epi-bicyclosesquiphellandrene	1489	1,7
33	Zingiberene	1494	1,5
34	Bicyclogermacrene	1500	2,7
35	α -curcumene	1516	1,7
36	δ -cadinene	1525	0,5
37	Selina-4(15), 7(11)-dien	1534	0,2
38	Germacren B	1561	0,5
39	(E)-nerolidol	1563	0,6
40	Spathoulenol	1578	0,6
41	Caryophyllene oxid	1583	0,4
42	3,6-dimethylpiperazine-2,5-dione	1612	7,6
43	β -eudesmol	1651	0,8
	Tổng		90,0

Kết quả bảng trên cho thấy 43 hợp chất được xác định, chiếm 90,0% tổng lượng tinh dầu. Thành phần chính của tinh dầu là sabinen (36,9%), 3,6-dimethylpiperazin-2,5-dion (7,6%), β -caryophyllen (6,1%), γ -terpinen (3,7%), bicycloelemen (3,7%).

So sánh với kết quả nghiên cứu của Trần Huy Thái và cs [4] khi nghiên cứu tinh dầu loài Quýt rừng tại Mê Linh, Vĩnh Phúc, cho biết đã xác định thành phần một số chất chính như β -pinen (4,59%), *p*-cymen (13,39%) và γ -terpinen (40,6%). Như vậy, so với kết quả mà chúng tôi đã xác định được thì trong cùng một loài (Quýt rừng) ở hai địa điểm khác nhau thì có sự khác nhau về thành phần các chất chính và khác nhau về hàm lượng của chúng.

1.2. Thành phần hóa học tinh dầu lá loài Bưởi bung ít gân (*Macclurodendron oligophlebia* (Merr.) Hartl.)

Mẫu lá với số hiệu (HVC 432) được dùng để chưng cất và phân tích tinh dầu được thu ở Khe Bu vào tháng 4 năm 2014. Hàm lượng tinh dầu lá đạt 0,43% so với trọng lượng tươi. Tinh dầu có màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước (bảng 2).

Bảng 2

Thành phần hóa học tinh dầu lá loài Bưởi bung ít gân
(*Macclurodendron oligophlebia* (Merr.) Hartl.)

TT	Hợp chất	RI	432L	432F
1	α-pinene	939	17,5	3,6
2	Camphene	953	0,2	-
3	Sabinene	976	0,8	0,8
4	β -pinene	980	-	1,1
5	β -myrcene	990	0,6	0,8
6	α -phellandrene	1006	0,1	1,3
7	α -terpinene	1017	-	0,5
8	Limonene	1032	1,4	4,7
9	(Z)- β -ocimene	1043	3,0	1,0
10	(E)- β -ocimene	1052	4,9	0,8
11	γ -terpinene	1061	0,2	0,9
12	α -terpinolene	1090	0,3	-
13	Linalool	1100	0,2	1,2
14	Alloocimene	1128	1,4	-
15	Camphor	1145	-	0,7
16	Nealloocimene	1147	1,0	2,4
17	Borneol	1167	-	1,9
18	Terpinen-4-ol	1177	-	0,9
19	Decanal	1200	0,1	-
20	Bicycloelemene	1327	3,0	-
21	α -cubebene	1351	0,4	-
22	α -copaene	1377	3,1	-
23	β -elemene	1391	0,9	1,1
24	α -gurjunene	1412	0,3	-
25	β-caryophyllene	1419	15,5	6,0
26	β -gurjunene	1434	-	0,9
27	α -bergamotene	1435	1,5	-
28	Aromadendrene	1441	1,0	-
29	α -humulene	1454	2,4	2,1
30	γ -gurjunene	1477	0,8	-
31	Germacren D	1485	0,7	1,1
32	Eudesma-4(14),11-diene	1485	0,2	-
33	α -amorphene	1485	-	2,4
34	β -selinene	1486	-	4,4
35	Cadina-1,4-diene	1496	1,7	1,2
36	Bicyclogermacrene	1500	3,6	-

37	α -muurolene	1500	-	1,4
38	(E,E)- α -farnesen	1508	0,8	-
39	δ -cadinene	1525	1,9	1,5
40	Cadina-1(2),4-diene	1539	3,8	-
41	γ -cadinene	1541	0,5	-
42	Calacorene	1546	-	0,9
43	selina-3, 7(11)-dien	1547	1,0	-
44	α -agarofuran	1551	0,2	-
45	Spathoulenol	1578	-	1,1
46	Caryophyllene oxid	1583	10,6	1,1
47	Viridiflorol	1593	0,5	-
48	α -guaiol	1600	1,8	1,5
49	β -oplopenone	1608	-	1,5
50	Caryophyllenol	1611	2,8	-
51	β -eudesmol	1651	-	2,7
52	α-cadinol	1654	-	4,7
53	Bulnesol	1672	-	2,7
54	α -bisabolol	1685	0,6	-
55	Calamenene	1702	-	1,5
56	Farnesol	1718	0,5	8,3
57	farnesyl acetate	1726	-	3,8
58	benzyl benzoate	1760	-	16,8
59	Phytol	2125	0,3	-
	Tổng		92,1	91,3

Qua bảng trên cho thấy, ở lá đã xác định được 41 hợp chất, chiếm 92,1% tổng lượng tinh dầu. α -pinen (17,5%), β -caryophyllen (15,5%), caryophyllen oxid (10,6%) là các thành phần chính của tinh dầu. (E)- β -ocimen (4,9%), cadina-1(2),4-dien (3,8%), bicyclogermacren (3,6%), α -copaen (3,1%), (Z)- β -ocimen (3,0%), bicycloelemen (3,0%) là các thành phần nhỏ hơn.

Từ quả, 37 hợp chất được xác định, chiếm 91,3% tổng lượng tinh dầu. Thành phần chính của tinh dầu là benzyl benzoat (16,8%), farnesol (8,3%), β -caryophyllen (6,0%), limonen (4,7%), α -cadinol (4,7%).

Khi so sánh với công trình công bố của Nguyễn Việt Hùng và cs (2016) thì có sự khác biệt về thành phần chính, mẫu nghiên cứu được đặc trưng bởi α -pinen (17,5%), β -caryophyllen (15,5%); trong khi công trình công bố trước đó là sabinen (23,4%), (E)- β -ocimen (10,1%), α -pinen (9,3%). Như vậy, trong cùng 1 loài, nhưng ở các điều kiện sinh thái khác nhau thì thành phần hóa học tinh dầu cũng khác nhau.

1.3. Dầu dầu lá chẽ ba (*Tetradium trichophorum* Lour.)

Mẫu lá với số hiệu (HVC 433) được dùng để chưng cất và phân tích tinh dầu được thu ở Đảo Thực vật vào tháng 4 năm 2014. Hàm lượng tinh dầu lá đạt 1,22% so với trọng lượng tươi. Tinh dầu có màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước (bảng 3).

Bảng 3

Thành phần hóa học tinh dầu lá loài Dầu dầu lá chẽ ba (*Tetradium trichophorum* Lour.)

TT	Hợp chất	RI	Lá
146	α -pinene	939	10,4

147	Camphene	953	0,2
148	β -pinene	980	0,7
149	β -myrcene	990	1,9
150	n-nonane	1000	1,1
151	Limonene	1032	0,9
152	(Z)-β-ocimene	1043	9,4
153	(E)-β-ocimene	1052	24,8
154	linalool	1100	0,7
155	Alloocimene	1128	5,0
156	Nealloocimene	1147	0,3
157	2,6-dimethyl-3,5,7-octatriene-2-ol, E,E	1209	0,7
158	2-undecanone	1291	3,9
159	Bicycloelemene	1327	2,4
160	α -cubebene	1351	0,2
161	α -copaene	1377	0,2
162	β -cubebene	1388	0,2
163	β -elemene	1391	5,7
164	β-caryophyllene	1419	8,0
165	Aromadendrene	1441	0,1
166	α -humulene	1454	1,3
167	germacren D	1485	1,1
168	α -amorphene	1485	0,3
169	Valencene	1496	0,3
170	Bicyclogermacrene	1500	3,3
171	(E,E)- α -farnesen	1508	1,3
172	δ -cadinene	1525	1,0
173	γ -cadinene	1541	0,2
174	Elemol	1550	0,2
175	Ledol	1561	0,4
176	(E)-nerolidol	1563	0,6
177	Spathoulenol	1578	2,3
178	caryophyllene oxid	1583	1,5
179	α -cadinol	1654	2,3
180	Farnesol	1718	1,4
181	benzyl benzoate	1760	4,4
	Tổng		98,7

Kết quả bảng trên cho thấy, 36 hợp chất được xác định từ lá, chiếm 98,7% tổng lượng tinh dầu. Thành phần chính của tinh dầu là (E)- β -ocimen (24,8%), α -pinen (10,4%), (Z)- β -ocimen (9,4%), β -caryophyllen (8,0%). Các thành phần nhỏ hơn là β -elemen (5,7%), alloocimen (5,0%), benzyl benzoat (4,4%), 2-undecanon (3,9%), bicyclogermacren (3,3%).

Đây là loài lần đầu tiên được phân tích thành phần hóa học của tinh dầu.

III. KẾT LUẬN

Đã tiến hành xác định hàm lượng và phân tích thành phần hóa học tinh dầu của 3 loài thuộc 3 chi tại VQG Bến En là Quýt gai (*Atalanta*), Bưởi bung (*Maclurodendron*), Dầu dẫu

(*Tetradium*). Trong đó, loài Dầu dậu lá chẻ ba (*Tetradium trichophorum* Lour.) lần đầu tiên được nghiên cứu thành phần hóa học tinh dầu ở Việt Nam.

Từ lá của loài Quýt rừng (*Atalantia roxburghiana* Hook.f.) với thành phần chính của tinh dầu là sabinen (36,9%), 3,6-dimethylpiperazin-2,5-dion (7,6%), β -caryophyllen (6,1%), γ -terpinen (3,7%), bicycloelemen (3,7%).

Buồng ỉt gân (*Macclurodendron oligophlebia* (Merr.) Hartl.) ở lá được đặc trưng bởi α -pinen (17,5%), β -caryophyllen (15,5%), caryophyllen oxit (10,6%). Trong quả với benzyl benzoat (16,8%), farnesol (8,3%), β -caryophyllen (6,0%), limonen (4,7%), α -cadinol (4,7%) là các thành phần chính.

Dầu dậu lá chẻ ba (*Tetradium trichophorum* Lour.) với các thành phần chính từ lá là (E)- β -ocimene (24,8%), α -pinen (10,4%), (Z)- β -ocimene (9,4%), β -caryophyllen (8,0%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Adams R. P.**, 2001. Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Quadrupole mass spectrometry, Allured Publishing Corp. Carol Stream, IL.
2. **Nguyễn Tiến Bản** (Chủ biên), 2003. Danh lục các loài thực vật Việt Nam, tập 2. Nxb. Nông nghiệp.
3. **Bộ Y tế**, 2002. Dược điển Việt Nam II.
4. **Lawrence B. M.**, 2001. Progress in Essential oils, *Perfumer & Flavorist*, **26**: 44-57.
5. **Đỗ Tất Lợi**, 1985. Cây tinh dầu Việt Nam, Nxb. Y học Tp Hồ Chí Minh.
6. **Trần Huy Thái, Trần Minh Hợi, Nguyễn Quang Hưng, Vũ Thị Mỹ và Nguyễn Thị Hiền**, 2003. Thành phần hóa học của tinh dầu Quýt rừng tại Mê Linh, Vĩnh Phúc. Tạp chí Dược liệu, số 6, tập 8, trang 189-190.
7. **Zhang J, Feng G, Luo Y.**, 1999. Analysis of chemical constituents in the essential oil from *Evodia fargesii* by GC/MS, *Zhong Yao Cai.*, 22(1): 30-31.

CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OILS FROM SOME SPECIES OF RUTACEAE JUSS. IN BEN EN NATIONAL PARK, THANH HOA PROVINCE

Hoang Thi Nhung, Tran Minh Hoi

SUMMARY

The present work reports the chemical composition of essential oil from some Rutaceae species from Ben En National Park. The principal components of leaf essential oil of *Atalantia roxburghiana* Hook.f. are sabinene (36.9%), 3,6-dimethylpiperazin-2,5-dione (7.6%), β -caryophyllene (6.1%), γ -terpinene (3.7%) and bicycloelemene (3.7%). The leaf essential oil of *Macclurodendron oligophlebia* (Merr.) Hartl. is characterized by α -pinene (17.5%), β -caryophyllene (15.5%), caryophyllene oxit (10.6%). In fruit essential oil of *M. oligophlebia*, benzyl benzoate (16.8%), farnesol (8.3%), β -caryophyllene (6.0%), limonene (4.7%) and α -cadinol (4.7%) are principal components.

Leaf essential oil of *Tetradium trichophorum* Lour. has principal components: (E)- β -ocimene (24.8%), α -pinene (10.4%), (Z)- β -ocimene (9.4%), β -caryophyllene (8.0%). The chemical composition of essential oils from this species is studied for the first time.