

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA TINH DẦU CÂY BON BO (*Alpinia blepharocalyx* K. Schum) TẠI VIỆT NAM

Đến tòa soạn 09-03-2021

Nguyễn Thị Nữ Trinh, Nguyễn Bá Thanh

Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp Tp. Hồ Chí Minh

SUMMARY

THE CHEMICAL COMPOSITION OF *Alpinia blepharocalyx* K. Schum IN VIETNAM

In this study, samples of leaves, stems, rhizomes and fruits of *Alpinia blepharocalyx* were collected from Pu Hoat Nature Reserve - Que Phong District - Nghe An Province, Vietnam, and the essential oils of the The above part was analyzed for chemical composition of the group of compounds. GC-MS analysis method was used and identified 78 components belonging to 5 main groups: monoterpen compounds, oxygen-containing monoterpen compounds, sesquiterpen compounds, oxygen-containing sesquiterpen compounds, diterpen compounds and group of other compounds. PCA analysis results showed that sesquiterpen compounds (containing oxygen and not containing oxygen) concentrated in the fruit organ; Monoterpen compounds (both oxygen-free and oxygen-free) are more concentrated in the leaves and rhizomes and eventually diterpen compounds are more concentrated in the stem. The research results are significant in the optimal exploitation of essential oils in parts of the *Alpinia* species.

Keywords: *Alpinia blepharocalyx* K. Schum, essential oils, chemical composition, PCA.

1. GIỚI THIỆU

Cây bon bo (*Alpinia blepharocalyx* K. Schum.) hay còn gọi là cây riềng Bắc lá có độ tán che khoảng 30 - 70%. Theo các tài liệu khoa học, bon bo là loài cây có nhiều tác dụng, quả được sử dụng làm thuốc chữa các loại bệnh như thấp khớp, đau lưng, đau tức ngực, đau dạ dày. Bon bo thuộc chi *Alpinia* (Riềng) là một trong những chi lớn thuộc họ Gừng (Zingiberaceae). Chi *Alpinia* gồm khoảng 200 loài khác nhau mọc rải rác ở vùng Đông Á và Đông Nam Á, từ Ấn Độ đến Nhật Bản, châu Úc và khu vực Thái Bình Dương [8].... Các loài thuộc chi *Alpinia* đều có chứa các hợp chất chuyển hóa bậc hai có hoạt tính được lý rất đa dạng [1,3,6-9], hầu hết các loài cho tinh dầu với những giá trị sử dụng như làm thuốc, làm gia vị, làm hương liệu. Theo các công trình nghiên cứu đã công bố, từ các bộ phận khác nhau của các loài

Alpinia (như lá, hoa, thân rễ và rễ con...), người ta đã thu nhận được tinh dầu, và phân lập được nhiều hợp chất thuộc các lớp terpenoit, diarylheptanoit, flavonoid [10], ...

Ở Việt Nam, các nhà nghiên cứu bước đầu chỉ tập trung nghiên cứu về đa dạng sinh học và thành phần tinh dầu trong một số loài *Alpinia*. Phan Tổng Sơn và cộng sự, Nguyễn Xuân Dũng và cộng sự... [2,12] đã công bố thành phần chính của tinh dầu của loài *Alpinia*. Trong nghiên cứu này, mẫu lá, thân, thân rễ và quả của loài bon bo (*Alpinia blepharocalyx* K. Schum) được thu hái ở khu bảo tồn thiên nhiên Pù Hoạt - Huyện Quế Phong – Tỉnh Nghệ An, Việt Nam và tinh dầu của các bộ phận trên được tiến hành phân tích thành phần hóa học thuộc nhóm các hợp chất bằng phương pháp GC-MS kết hợp với phân tích thành phần chính (PCA).

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Mẫu lá, thân, thân rễ và quả của loài bon bo (*Alpinia blepharocalyx* K. Schum) được thu hái ở khu bảo tồn thiên nhiên Pù Hoạt - Huyện

Quế Phong – Tỉnh Nghệ An, Việt Nam vào tháng 08 năm 2018. Mẫu được định danh bởi PGS.TS. Trần Huy Thái, Viện sinh thái và tài nguyên sinh vật. Tiêu bản được lưu giữ tại khoa Viện Công nghệ Hóa, Sinh và Môi trường, Trường Đại học Vinh.



Hình 1.1. Hoa và quả cây bon bo

2.2. Thiết bị

Hệ thống cất tinh dầu Clevenger; thiết bị được sử dụng để phân tích sắc ký khí (GC) là máy sắc ký khí Agilent Technologies HP 6890 Plus được giao tiếp với đầu dò FID và khối phổ kế HP 5973 MSD được sử dụng để phân tích GC-MS. Cột được sử dụng là HP-5MS (30 m x 0,25 mm với độ dày màng 0,25 μ m).

2.3. Chiết tách tinh dầu

Trích ly tinh dầu từ lá, thân, thân rễ, quả bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước. Các bộ phận của cây sau khi thu hái về sẽ được cắt nhỏ khoảng 1-2cm. Sau khi cắt xong, mẫu được phơi tự nhiên đến độ ẩm còn 50% so với ban đầu. Các mẫu tiến hành chưng cất với tỉ lệ 1:6 (g:ml). Lắp bình vào hệ thống cất tinh dầu clevenger. Tiến hành chưng cất trong thời gian 2h. Tinh dầu thu được tiến hành làm khan bằng Na_2SO_4 .

2.4. Phân tích bằng phương pháp sắc ký khí (GC)

Hòa tan 15 mg mỗi loại tinh dầu lá, thân rễ và quả, đã được làm khan bằng Na_2SO_4 với trong 1ml n-hexan. Sau đó tiến hành phân tích bằng phương pháp sắc ký khí (GC-FID) kết hợp với đầu dò FID với các điều kiện cụ thể như sau: khí mang H_2 được sử dụng với tốc độ dòng 1 mL/phút Nhiệt độ injector: được duy trì 250°C,

nhiệt độ detector: 260 °C. Chương trình nhiệt độ: 40 °C được giữ trong thời gian 2 phút, tăng 4°C / phút đến 220 °C (giữ trong thời gian 2 phút), tăng 20 °C/phút đến 250 °C (giữ 10 phút). Thể tích mẫu bơm vào 1.0 μ L. Áp suất inlet là 6.1 kPa.

2.5. Phân tích bằng phương pháp sắc ký khí ghép nối khối phổ (GC-MS)

Tinh dầu từ các bộ phận của cây bon bo được tiến hành phân tích thành phần hóa học bằng GC-MS với các điều kiện giống như điều kiện được sử dụng trong phân tích GC được nêu trên với khí mang là khí Heli (1ml/phút). Các mẫu tinh dầu được bơm vào GC bằng phương pháp tách dòng với tỷ lệ phân chia là 1: 10 (mẫu: khí mang). Áp suất đầu vào được duy trì ở 6,1 kPa. Điện áp ion hóa là 70 eV với dòng phát xạ là 40 mA. Phạm vi khối lượng quét thu nhận của MS là 35-350 amu.

2.6. Xác định thành phần của tinh dầu

Các thành phần của tinh dầu được xác định trên cơ sở chỉ số lưu giữ (RI). Chỉ số RI được xác định bằng cách đồng tiêu với tham chiếu đến một dãy đồng đẳng của n-ankan (C4-C32). Việc xác định thêm được thực hiện bằng cách so sánh phổ khối của chúng với phổ từ Thư viện NIST 17 (trên ChemStation HP) và phiên bản thứ 9 của Wiley. Hàm lượng phần trăm

của các cấu tử trong tinh dầu được tính toán dựa trên diện tích peak (thu được từ FID).

2.7. Xử lý số liệu

Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả sử dụng gói chương trình FactomineR trong phần mềm mã nguồn mở R phiên bản 4.0.1 (www.r-project.org). Dữ liệu của nghiên cứu được cấu trúc với hàng là các hợp chất và cột là tỉ lệ các thành phần. Phương pháp phân tích thành phần chính (Principal Component Analysis-PCA) [7] được sử dụng đánh giá sự phân nhóm của

các nhóm tính chất theo từng bộ phận của lá, thân, thân rễ và quả.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Phân tích thành phần hóa học tinh dầu

Mẫu lá, thân, thân rễ và quả của loài bon bo (*Alpinia blepharocalyx*) cho tinh dầu có màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước. Hàm lượng tinh dầu đạt 0,15; 0,15% : 0,17% và 0,18% trọng lượng tươi tương ứng với lá, thân, thân rễ và quả. Kết quả phân tích thành phần tinh dầu của lá, thân, thân rễ và quả được trình bày ở bảng 3.1.

Bảng 3.1. Tỷ lệ phần trăm các cấu tử chứa trong các bộ phận của loài bon bo (*Alpinia blepharocalyx*)

TT	Hợp chất	RI	Tỷ lệ %			
			Lá	Thân	Thân rễ	Quả
1	Tricyclen	926	0,3	-	-	-
2	α -Thujen	930	0,3	0,4	0,5	-
3	α-Pinen	939	12,5	11,3	12,8	1,4
4	Camphen	953	7,1	5,7	5,6	3,6
5	Benzaldehyt	961	-	-	-	0,2
6	β-Pinen	980	21,3	17,4	23,2	2,8
7	β -Myrcen	990	1,6	2,1	1,8	0,6
8	α -Phellandren	1006	2,1	2,5	3,3	1,8
9	δ -3-careen	1011	0,2	1,0	0,6	-
10	α -Terpinen	1017	0,1	0,3	0,3	0,2
11	<i>p</i> -Cymen	1026	-	-	1,2	0,7
12	Limonen	1032	-	-	-	2,5
13	1,8-Cineol	1034	20,9	19,9	18,6	1,6
14	(<i>E</i>)- β -Ocimen	1052	-	0,6	0,6	0,7
15	γ -Terpinen	1061	0,2	0,9	0,6	0,3
16	<i>n</i> -Octanol	1071	-	-	-	0,9
17	Fenchon	1089	-	3,9	-	-
18	α -Terpinolen	1090	-	-	-	0,5
19	Linalool	1100	2,1	0,7	0,7	1,3
20	α -Thujon	1105	4,6	-	2,6	-
21	(<i>E</i>)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatrien	1110	-	-	-	0,7
22	Fenchyl alcohol	1120	0,3	-	0,4	-
23	<i>allo</i> -Ocimen	1128	0,1	0,1	0,1	-
24	<i>trans</i> -Pinocarveol	1133	-	-	-	0,8
25	Camphor	1145	2,0	0,5	0,5	7,8
26	<i>trans</i> -Verbenol	1147	0,1	-	-	-
27	Borneol	1167	3,1	0,8	0,9	3,5
28	Terpinen-4-ol	1177	0,8	0,3	0,3	0,3
29	α -Terpineol	1189	0,7	0,3	0,3	-
30	Myrtenal	1200	0,2	0,3	0,1	1,0
31	Verbenon	1205	-	-	-	0,2
32	<i>trans</i> -Carveol	1217	-	-	0,1	-
33	Fenchyl axetat	1222	0,2	0,3	7,0	-
34	3-Phenyl-2-butanon	1227	-	-	-	5,2
35	Linalyl axetat	1257	-	0,5	-	-
36	Geraniol	1265	-	0,3	-	-
37	Cyclodecan	1271	-	-	-	3,4

38	Bornyl axetat	1289	1,6	0,2	0,3	0,4
39	2-Undecanon	1299	-	-	-	0,2
40	Bicycloelemen	1327	-	0,3	0,7	-
41	Linalyl propanoat	1333	-	-	-	0,4
42	δ -Elemen	1340	-	-	0,6	0,3
43	α -Cubeben	1351	0,1	0,2	-	-
44	α -Ylangen	1375	-	0,2	0,2	-
45	α -Copaen	1377	0,5	0,4	0,2	1,2
46	Geranyl axetat	1381	0,2	-	-	-
47	β -Elemen	1391		0,3	0,3	0,2
48	β -Caryophyllen	1419	3,2	2,4	1,7	22,6
49	β -Gurjunen	1434	-	-	-	1,2
50	<i>trans</i> - α -Bergamoten	1435	-	-	0,2	-
51	γ -Elemen	1437	0,3	0,8	0,4	1,3
52	Aromadendren	1441	0,7	-	0,3	-
53	α -Humulen	1454	1,5	0,9	0,9	2,6
54	<i>allo</i> -Aromadendren	1467	-	-	0,3	0,4
55	γ -Muurolen	1480	0,3	0,8	0,4	0,2
56	Germacren D	1485	0,2	1,3	-	-
57	α -Amorphen	1485	2,0	2,7	1,6	2,1
58	β -Selinen	1486	0,5		0,4	0,5
59	<i>epi</i> -Bicyclosesquiphellandren	1489	-	-	-	1,8
60	α -Selinen	1493	0,6	-	0,6	-
61	Cadina-1,4-dien	1496	0,1	0,2	0,2	-
62	α -Muurolen	1500	0,3	2,0	-	-
63	(<i>E,E</i>)- α -Farnesen	1508	-	-	-	1,0
64	δ -Cadinen	1525	1,5	4,5	1,7	1,1
65	α -Cadinen	1539	0,1	0,3	0,2	0,5
66	α -Calacoren	1546	0,1	-	-	0,2
67	Guaia-3,9-dien	1556	-	0,1	-	-
68	(<i>E</i>)-Nerolidol	1563	0,9	2,3	0,9	1,0
69	Spathulenol	1578	-	0,1	-	0,4
70	Caryophyllen oxit	1583	1,3	0,5	0,6	3,2
71	Humulene epoxit II	1625	0,3	0,1	0,2	-
72	τ -Muurolol	1646	-	-	-	1,2
73	α -Cadinol	1654	1,1	2,5	1,1	8,9
74	(<i>E,E</i>)-Farnesol	1718	-	0,2	1,9	0,4
75	Zerumbon	1732	-	0,3	0,2	-
76	Benzyl benzoat	1760	-	4,0	-	-
77	Vulgarol B	1869	-	-	-	0,4
78	Phytol	2125	-	0,1	-	-
Tổng			98,6	98,1	97,6	95,7
Các hợp chất monoterpen			46,8	42,3	50,5	15,3
Các hợp chất monoterpen chứa oxy			36,2	27,7	31,2	16,7
Các hợp chất sesquiterpen			12,0	17,4	10,9	37,2
Các hợp chất sesquiterpen chứa oxy			3,6	10,0	4,7	15,5
Các hợp chất diterpen			-	0,3	0,1	-
Các hợp chất khác			-	0,4	0,2	11,0

Kết quả bảng 3.1 cho thấy:

Hàm lượng các hợp chất monoterpen chiếm tỉ lệ cao ở lá, thân và thân rễ (83%; 70% và 81,7%) nhưng lại thấp hơn nhiều ở quả (chỉ chiếm 32%).

Thành phần, hàm lượng các hợp chất tinh dầu lá, thân và thân rễ là gần như nhau, chúng có các hợp chất chính chung là β -pinen (21,3%; 17,4% và 23,2%) và 1,8-cineol (20,9%; 19,9%

và 18,6%), α -pinen (12,5%; 11,3% và 12,8%) và camphen (7,1%; 5,7% và 5,6%). Nhưng chúng lại rất khác so với quả camphen (3,1%), α -pinen (1,4%), β -pinen (2,8%) và 1,8-cineol (1,6%). Thành phần chính của tinh dầu quả là β -caryophyllen (22,6%), α -cadinol (8,9%) và camphor (7,8%). Mặt khác ở tinh dầu quả các hợp chất sesquiterpen (chiếm 52,7%) tỉ lệ cao hơn so với các hợp chất monoteren (32,0%). Như vậy, trong tinh dầu quả thì các hợp chất chứa oxi và hợp chất sesquiterpen có tỉ lệ tương đối cao (69,4%), mặt khác hàm lượng tinh dầu trong quả là cao nhất, do đó tinh dầu quả có thể được dùng trong công nghệ định hương.

44 hợp chất đã được xác định từ tinh dầu lá chiếm 98,6% hàm lượng tinh dầu tổng số, trong đó thành phần chính tinh dầu của lá là: β -pinen (21,3%), 1,8-cineol (20,9%), α -pinen (12,5%) và camphen (7,1%).

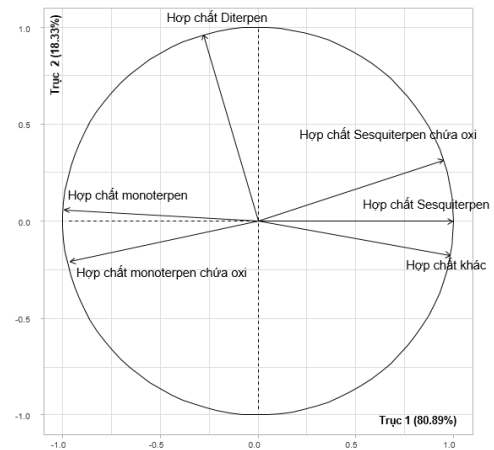
Từ tinh dầu của thân đã xác định được 48 hợp chất, chiếm 98,1% hàm lượng tinh dầu tổng số. Trong đó 1,8-cineol (19,9%), β -pinen (17,4%), α -pinen (11,3%) và camphen (5,7%) là các thành phần chính của tinh dầu thân.

Thành phần chính của tinh dầu thân rễ là: β -pinen (23,2%), 1,8-cineol (18,6%), α -pinen (12,8%) và fenchyl acetat (7,0%). So sánh thành phần tinh dầu của thân rễ loài nghiên cứu với loài này ở Selagor thì thấy có sự sai khác nhiều. Thành phần chính tinh dầu thân rễ ở Selagor là camphor (35,6%), 1,8-cineol (9,4%), borneol (8,3%), α -pinene (7,3%) [4]. Trong khi đó ở loài nghiên cứu camphor chỉ chiếm 0,5%.

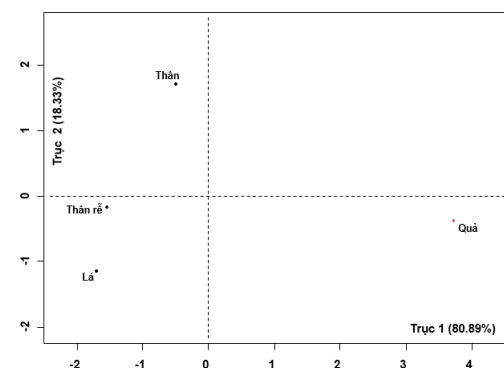
Thành phần chính của tinh dầu quả là: β -caryophyllen (22,6%), α -cadinol (8,9%) và camphor (7,8%). So sánh với thành phần tinh dầu quả được công bố ở Malaysia cũng thấy có sự khác nhau nhiều, tinh dầu quả chứa các hợp chất chính camphor (15,8%-21,0%), camphene (10,2%-16,6%), β -pinene (8,6% -13,5%) [4]. Đối với lá ở Malaysia được đặc trưng bởi β -sesquiphellandrene (29,2%) [5] có khác biệt lớn với kết quả nghiên cứu là β -pinen (21,3%), 1,8-cineol (20,9%). Cũng mẫu lá của loài này ở Malaysia được đặc trưng bởi camphor (35,6%),

1,8-cineol (9,4%) [4]. Gần đây Ibrahim H. và cs (2014) đã công bố tinh dầu lá được đặc trưng bởi camphor (21,0%), camphen (16,6%) và β -pinen (8,6%) [5].

Kết quả phân tích thành phần chính (PCA) với tổng số thông tin trên trục 1 (80,9%) và trục 2 (18,3%) đã cho thấy kết quả có tương quan mạnh với các thành phần tinh dầu của các hợp chất sesquiterpen, sesquiterpen chưa oxi và hợp chất khác nhiều trong bộ phận quả của cây bon bo, trong khi đó hợp chất monoteren, hợp chất monoterin chứa oxi có nhiều trong bộ phận thân rễ và lá; cuối cùng thành phần hợp chất diterpen có trong thân (Hình 3.1 và 3.2)



Hình 3.1. Vòng tròn tương quan các nhóm tính chất tinh dầu của bon bo



Hình 3.2. Mặt phẳng các bộ phận của bon bo

Trong kết quả này, một lần nữa khẳng định nhóm các hợp chất của tinh dầu bon bo tập trung đặc thù ở các bộ phận khác nhau của bon bo. Các bộ phận của quả, thân, lá và thân rễ đều có các hoạt chất đặc biệt.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã xác định được 78 cấu tử thuộc từ 5 nhóm chính: các hợp chất monoterpen, Các hợp chất monoterpen chứa oxy, Các hợp chất sesquiterpen, các hợp chất sesquiterpen chứa oxy, các hợp chất diterpen và 01 nhóm các hợp chất khác. Kết quả phân tích PCA cho thấy hợp chất sesquiterpen (chứa oxy và không chứa oxy) tập trung ở bộ phận quả; hợp chất monoterpen (chứa oxy và không chứa oxy) tập trung nhiều hơn ở lá và thân rễ và cuối cùng hợp chất diterpen tập trung nhiều trong phần thân. Kết quả nghiên cứu có ý nghĩa trong việc khai thác tối ưu các thành phần tinh dầu ở các bộ phận của loài bon bo.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả trân thành cảm ơn Bộ giáo dục và đào tạo đã hỗ trợ kinh phí cho đề tài này (No. B2018-TDV-09).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Đ. T. Lợi, “Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam.” 2004.
- [2] H. Dong, S. X. Chen, H. X. Xu, S. Kadota, and T. Namba, “A new antiplatelet diarylheptanoid from *Alpinia blepharocalyx*,” *J. Nat. Prod.*, **61(1)**, pp. 142–144, 1998.
- [3] H. Itokawa, H. Morita, K. Osawa, K. Watanabe, and Y. Iitaka, “Novel Guaiane- and Secoguaiane-Type Sesquiterpenes from *Alpinia japonica* (Thunb.) Miq.,” *Chem. Pharm. Bull.*, **35 (7)**, pp. 2849–2859, 1987.
- [4] H. Kikuzaki and S. Tesaki, “New flavonol-phenylbutadiene adducts from the leaves of *Alpinia flabellata*,” *J. Nat. Prod.*, **65(3)**, pp. 389–391, 2002.
- [5] J. Hu, W. Ma, N. Li, and K. J. Wang, “Antioxidant and anti-inflammatory flavonoids from the flowers of chuju, a medical cultivar of *chrysanthemum morifolium* ramat,” *J. Mex. Chem. Soc.*, **61(4)**, pp. 282–289, 2017.
- [6] J. K. Prasain *et al.*, “Six novel diarylheptanoids bearing chalcone or flavanone moiety from the seeds of *Alpinia blepharocalyx*,” *Tetrahedron*, **53(23)**, pp. 7833–7842, 1997.
- [7] Le, S., Josse, J. & Husson, F. (2008). FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*. **25(1)**. pp. 1-18. <https://www.jstatsoft.org/v25/i01/>
- [8] K. S. Ngo and G. D. Brown, “Stilbenes, monoterpenes, diarylheptanoids, labdanes and chalcones from *Alpinia katsumadai*,” *Phytochemistry*, **47(6)**, pp. 1117–1123, 1998.
- [9] S. I. Uehara, I. Yasuda, K. Akiyama, H. Morita, K. Takeya, and H. Itokawa, “Diarylheptanoids from the Rhizomes of *Curcuma Xanthorrhiza* and *Alpinia Officinarum*,” *Chem. Pharm. Bull.*, **35(8)**, pp. 3298–3304, 1987.
- [10] Srisawat T, Suvarnasingsh A, Maneenoon K., Traditional Medicinal Plants Notably Used to Treat Skin Disorders Nearby Khao Luang Mountain Hills Region, Nakhon Si Thammarat, Southern Thailand. *J. Herbs Spices Med. Plants*; **22(1)**; 35-36, 2016.
- [11] Wu D, Kai L. in *Flora of China*, ed. Wu ZY, *Science Press, Beijing.*; **24**; 333, 2000.
- [12] Y. Tezuka, M. S. Ali, A. H. Banskota, and S. Kadota, “Blepharocalyxins C-E: Three novel antiproliferative diarylheptanoids from the seeds of *Alpinia blepharocalyx*,” *Tetrahedron Lett.*, **41(31)**, pp. 5903–5907, 2000.