



THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ CẤU HÌNH CỦA ASARONE TRONG DỊCH TRÍCH THÂN RỄ CÂY THỦY XƯƠNG BÒ (*ACORUS SP.*)

Lê Văn Vàng¹, Lê Chí Hùng², Huỳnh Phước Mẫn¹ và Lê Thị Ngọc Xuân¹

¹ Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

² Khoa Kỹ thuật Công nghệ, Trường Cao đẳng Cộng đồng Kiên Giang

Thông tin chung:

Ngày nhận: 08/03/2013

Ngày chấp nhận: 20/08/2013

Title:

Chemical composition and configuration of asarone in the rhizome extract of “Thủy xương bò” (*Acorus sp.*)

Từ khóa:

α -asarone, β -asarone, GC-MS, NMR, cột sắc ký mở

Keywords:

α -asarone, β -asarone, GC-MS, NMR, open column chromatography

ABSTRACT

Chemical composition and configuration of asarone in the rhizome extract of “Thủy xương bò” (*Acorus sp.*) were determined by GC-MS and MNR analyses. Results showed that the rhizome extract of “Thủy xương bò” contained at least 9 compounds. In that, β -asarone was main component with the highest content ratio (66.8%). The content ratios of other components, excepting for 1*H*-Cyclopropa[*a*]naphthalene (13.4%) and (-)-Aristolene (5.8%), were lower than 3%. Otherwise, an open column chromatography on 15% silver nitrate in silica gel using a mixture of successive increase of 2% benzene in *n*-hexane as mobile phase was able to purify β -asarone in the extract.

TÓM TẮT

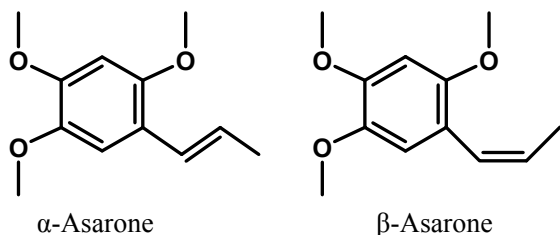
Thành phần hóa học và cấu hình của asarone trong dịch trích thân rễ cây thủy xương bò (*Acorus sp.*) đã được xác định bằng các kỹ thuật phân tích GC-MS và NMR. Kết quả phân tích cho thấy dịch trích thân rễ cây TXB chứa ít nhất 9 hợp chất. Trong đó, β -asarone là thành phần hóa học chính với tỷ lệ hiện diện chiếm 66,8%. Các hợp chất còn lại, trừ 1*H*-Cyclopropa[*a*]naphthalene (13,4%) và (-)-Aristolene (5,8%), đều có tỷ lệ hiện diện không vượt quá 3%. Mặt khác, cột sắc ký mở sử dụng hỗn hợp 20% nitrat bạc trong silica gel làm pha tĩnh và pha động là hỗn hợp tăng lũy tiến của 2% benzen trong *n*-hexane là có khả năng tinh lọc β -asarone trong mẫu ly trích.

1 GIỚI THIỆU

Thủy xương bò (TXB) là loài cây thuộc chi xương bò (*Acorus*) họ Ráy (Araceae) được trồng phổ biến như là một loại dược thảo dùng để giải độc và sát trùng (cả uống và dùng ngoài) ở đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Tại Châu Á hai loài cây thuộc chi xương bò được trồng phổ biến là *Acorus calamus* L. và *A. gramineus* Soland. Các kết quả phân tích cho thấy thành phần chính của tinh dầu ly trích từ sự chưng cất cây *A. calamus* là hợp chất β -asarone (Koul *et al.*, 1990), trong khi hỗn hợp của α -asarone và β -asarone (Hình 1) là thành phần chủ yếu trong tinh dầu ly

trích từ thân rễ cây *A. gramineus* (Lee *et al.*, 2002). Bột nghiền và tinh dầu ly trích từ thân rễ (rhizome) cây *A. calamus* đã được dùng để phòng trị hai loài mọt gây hại kho vựa *Callosobruchus chinensis* và *C. phaseoli* (Coleoptera: Bruchidae) (Shukla *et al.*, 2009; Rahman and Schmidt, 1999) và loài ve (tick) *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* gây hại gia súc (Ghosh *et al.*, 2010). Hiệu lực gây chết của dịch trích thân rễ *A. gramineus* đã được đánh giá trên rầy nâu (*Nilaparvata lugens*) và sâu tơ (*Plutella xylostella*) (Lee *et al.*, 2002). Theo kết quả đánh giá của Koul *et al.* (1990), đối với ấu trùng của một số loài côn trùng thuộc bộ cánh vảy

(Lepidoptera) β -asarone vừa gây độc vừa gây sự chán ăn trong khi α -asarone chỉ gây ra sự chán ăn mà không gây độc. Ngoài ra, hiệu lực ức chế sự phát triển đối với một số loài vi khuẩn và tảo của asarone cũng đã được ghi nhận (McGraw *et al.*, 2002; Pollio *et al.*, 1993).



Hình 1: Công thức cấu tạo của asarone
A) α -asarone; B) β -asarone

Tại Việt Nam, các loài thực vật như neem (chi *Azadirachta*, họ Meliaceae), thuốc lá (chi *Nicotiana*, họ Solanaceae) và ớt (chi *Capsicum*, họ Solanaceae) đã được nghiên cứu và ứng dụng từ lâu để phòng trị côn trùng gây hại cây trồng. Gần đây, cây cỏ hôi (chi *Ageratum*, họ Asteraceae) đã được áp dụng trong kích thích sự kháng của cây lúa đối với bệnh cháy lá do nấm *Pyricularia oryzae*, tên khác là *P. grisea*, gây ra (Phan Thị Hồng Thúy, 2009).

Đề tài được thực hiện nhằm mục tiêu xác định thành phần hóa học, phân lập và xác định cấu hình của asarone trong dịch trích thân rễ cây TXB từ đó làm tiền đề cho việc nghiên cứu và ứng dụng loại vật liệu này trong phòng trị côn trùng và bệnh hại cây trồng ở ĐBSCL.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Hóa chất

n-Hexane (Hx), ethyl acetate (EtOAc), benzen (Bz) và silica gel (60 N) được mua từ công ty Merck (Đức). Nitrat bạc (AgNO_3) và sodiumsulfate (Na_2SO_4) được mua từ công ty Wako (Nhật). α -Asarone với độ tinh khiết >98% được mua từ công ty Aldrich (Mỹ).

2.2 Thân rễ cây thủy xương bồ và mẫu ly trích

Cây TXB con được thu thập từ các vườn thuốc gia đình quanh khu vực Thành phố Cần Thơ rồi chuyển về Bộ môn BVTV để trồng trong các chậu sứ đặt trong nhà lưới cho đến khi cây nảy chồi (khoảng 20 ngày). Phần thân rễ của cây mẹ sẽ được tách lấy, loại bỏ lớp vỏ khô bên ngoài, rửa sạch bằng nước máy, phơi nắng một giờ, cắt thành

những đoạn nhỏ và trộn đều để làm mẫu. 200 g mẫu sẽ được nghiền nát bằng cối sứ rồi cho vào một bình tam giác chứa 200 ml EtOAc để ngâm trong 24 giờ. Phần dịch lỏng của hỗn hợp sẽ được gạn vào một phễu phân tách. Hỗn hợp còn lại trong bình tam giác được rửa với 50 ml ethyl acetate (lặp lại 3 lần). Lượng ethyl acetate rửa được gạn vào kết hợp với phần dịch lỏng trong phễu ly trích. Thêm vào phễu 200 ml nước, lắc đều, tách lấy phần hữu cơ (phần nổi bên trên) rồi lọc qua một cột nhồi Na_2SO_4 vào một bình cầu. Cho tiếp vào phễu 200 ml ethyl acetate, lắc đều rồi tách lấy phần hữu cơ, lọc qua cột nhồi Na_2SO_4 để kết hợp với phần hữu cơ trong bình cầu (lặp lại 3 lần). Lượng dung môi trong bình cầu được bay hơi để cô đặc xuống còn khoảng 2 ml, chuyển vào một lọ thủy tinh dung tích 3 ml (đã được cân trọng lượng) có nắp đậy. Sau khi tiếp tục được bay hơi ở áp suất 90 Tor và nhiệt độ 40°C trong 15 phút bằng một hệ thống cô - quay, lọ đựng mẫu được đặt vào một buồng chân không trong 30 phút để đảm bảo dung môi (EtOAc) bay hơi hoàn toàn, cân trọng lượng của mẫu, thêm vào lọ 1 ml Hx, đậy lại bằng nắp có lớp Teflon và trữ trong tủ lạnh cho đến khi đem đi phân tích ở phòng thí nghiệm Sinh thái hóa chất của Trường Đại học Nông nghiệp và Công nghệ Tokyo (Tokyo, Nhật Bản).

2.3 Xác định thành phần hóa học trong mẫu ly trích

Thành phần hóa học trong mẫu ly trích được xác định bằng phân tích Sắc ký khí - Khối phổ (Gas Chromatography - Mass Spectrometry, GC-MS). Máy liên hợp GC-MS gồm GC HP 6890 series và đầu dò MS (Mass Selective Detector) HP 5973. Sự i-on hóa được thực hiện theo kiểu va chạm i-on (Electron Impact, EI mode) ở điện thế 70 eV và nhiệt độ 230°C . Cột sắc ký dùng trong phân tích là cột mao dẫn DB-23 (capillary column, 0,25 mm ID x 30 m; J&W Scientific) với chương trình nhiệt độ: bắt đầu và ổn định ở 50°C trong 2 phút, tăng lên 160°C ở tốc độ $4^\circ\text{C}/\text{phút}$, tiếp tục tăng lên 220°C ở tốc độ $10^\circ\text{C}/\text{phút}$, ổn định ở 220°C trong 15 phút.

Danh pháp và công thức hóa học của các thành phần hóa học trong dịch ly trích được xác định bằng cách so sánh kết quả phân tích với cơ sở dữ liệu khối phổ của Agilent (Agilent Technology, Mỹ). Đối với thành phần asarone, sự so sánh còn được tiến hành với chất chuẩn α -asarone (Aldrich, Mỹ).

2.4 Xác định cấu hình của asarone trong mẫu ly trích

Asarone trong mẫu ly trích thân rễ cây TXB sẽ được phân lập bằng kỹ thuật ly trích phân đoạn sử dụng cột sắc ký mở với silica gel làm pha tĩnh. Pha động là 200 ml các hỗn hợp dung môi tăng 10% lũy tiến của Bz trong Hx (mỗi hỗn hợp tương ứng với một phân đoạn). Sự xuất hiện của asarone trong mỗi phân đoạn được kiểm tra bằng kỹ thuật sắc ký lớp mỏng (TLC) lấy chỉ số R_f của α-asarone làm điểm chuẩn. Các phân đoạn chứa asarone được phân tách tiếp bằng kỹ thuật tương tự, nhưng pha tĩnh của cột sắc ký được thay bằng hỗn hợp 15% nitrate bạc (AgNO₃) trong silica gel và pha động là 200 ml các hỗn hợp dung môi của 2% tăng lũy tiến bezen trong n-hexane. Thành phần asarone trong mỗi phân đoạn được kiểm tra bằng phân tích GC-MS. Các phân đoạn chứa một thành phần asarone sẽ được kết hợp, cô đặc và phân tích bằng kỹ thuật Cộng hưởng từ hạt nhân (Nuclear Magnetic Resonance, NMR).

Phổ NMR ¹H và ¹³C của mẫu được đo

Bảng 1: Thành phần hóa học trong dịch trích thô của thân rễ cây thủy xương bò được xác định bằng GC-MS^a

HC ^b	Tên thông thường	Công thức phân tử	Phân tử lượng	Tỷ lệ (%)	Rt (phút)	Ion peaks (m/z)	
						Base	Phân tử
1	(-)-Aristolene	C ₁₅ H ₂₄	204,19	5,79	9,33	105	204,10
2	1H-Cyclopropa[α]naphthalene	C ₁₅ H ₂₄	204,19	13,37	9,53	161	204,10
3	Gamma-Elementene	C ₁₅ H ₂₄	204,19	1,68	11,36	121	204,10
4	1,2-dimethoxy-4-(1-propenyl)-benzen	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178,10	2,36	14,63	178	178,00
5	Spathulenol	C ₁₅ H ₂₄ O	220,18	2,46	14,89	205	220,10
6	1,2,3-trimethoxy-5-(-2-propenyl)-benzen	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	208,11	1,60	16,52	208	208,00
7	β-Asarone	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	208,11	66,79	17,77	208	208,10
8	α-Asarone	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	208,11	2,90	19,40	208	208,00
9	5(1H)-Azulenone	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	218,17	3,05	21,47	218	218,10

^a Cột phân tích: DB-23; Chương trình nhiệt độ: 50^oC (2 phút), tăng lên 160^oC ở tốc độ 4^oC/phút, tăng lên 220^oC ở tốc độ 10^oC/phút, giữ ở 220^oC trong 15 phút

^b Theo danh pháp của Liên đoàn Hóa học Tinh khiết và Ứng dụng Quốc tế (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC): hợp chất 1 là 1,1,1,7,7a-Tetramethyl-1a,3a,4,5,6,7,7a,7b-octahydro-1H-cyclopropa[α]naphthalene; hợp chất 2 là 1,1,1,7,7a-Tetramethyl-1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1H-cyclopropa[α]naphthalene; hợp chất 3 là 2-Isopropenyl-4-isopropylidene-1-methyl-1-vinyl-cyclohexane; hợp chất 4 là 1,2-Dimethoxy-4-propenyl-benzen; hợp chất 5 là 1,1,7-Trimethyl-4-methylene-decahydro-cyclopropa[ε]azulen-7-ol; hợp chất 6 là 5-Allyl-1,2,3-trimethoxy-benzen; hợp chất 7 là 1,2,4-Trimethoxy-5-propenyl-benzen(Z); hợp chất 8 là 1,2,4-Trimethoxy-5-propenyl-benzen(E); hợp chất 9 là 4-Isopropylidene-3,8-dimethyl-2,4,6,7,8,8a-hexahydro-1H-azulen-5-one

3.2 Cấu trúc hóa học của asarone trong mẫu ly trích

3.2.1 Phân tích GC-MS

Kết quả trình bày trong Hình 2 cho thấy trên biểu đồ Sắc ký tổng ion (Total ion chromatogram, TIC) hai hợp chất asarone (hợp chất 7 và 8 trình bày ở Bảng 1) xuất hiện ở các thời gian lưu

bằng máy Jeol Alpha 300 Fourier transform spectrometer (Nihondenshi, Tokyo, Japan) ở 300.4 MHz và 75.45 MHz, tương ứng. Dung môi sử dụng cho phân tích là deuterium chloroform (CDCl₃) với Tetramethylsilane (TMS) được dùng làm chất nội chuẩn (internal standard). Nhiệt độ của mẫu khi phân tích là 20^oC.

3 KẾT QUẢ

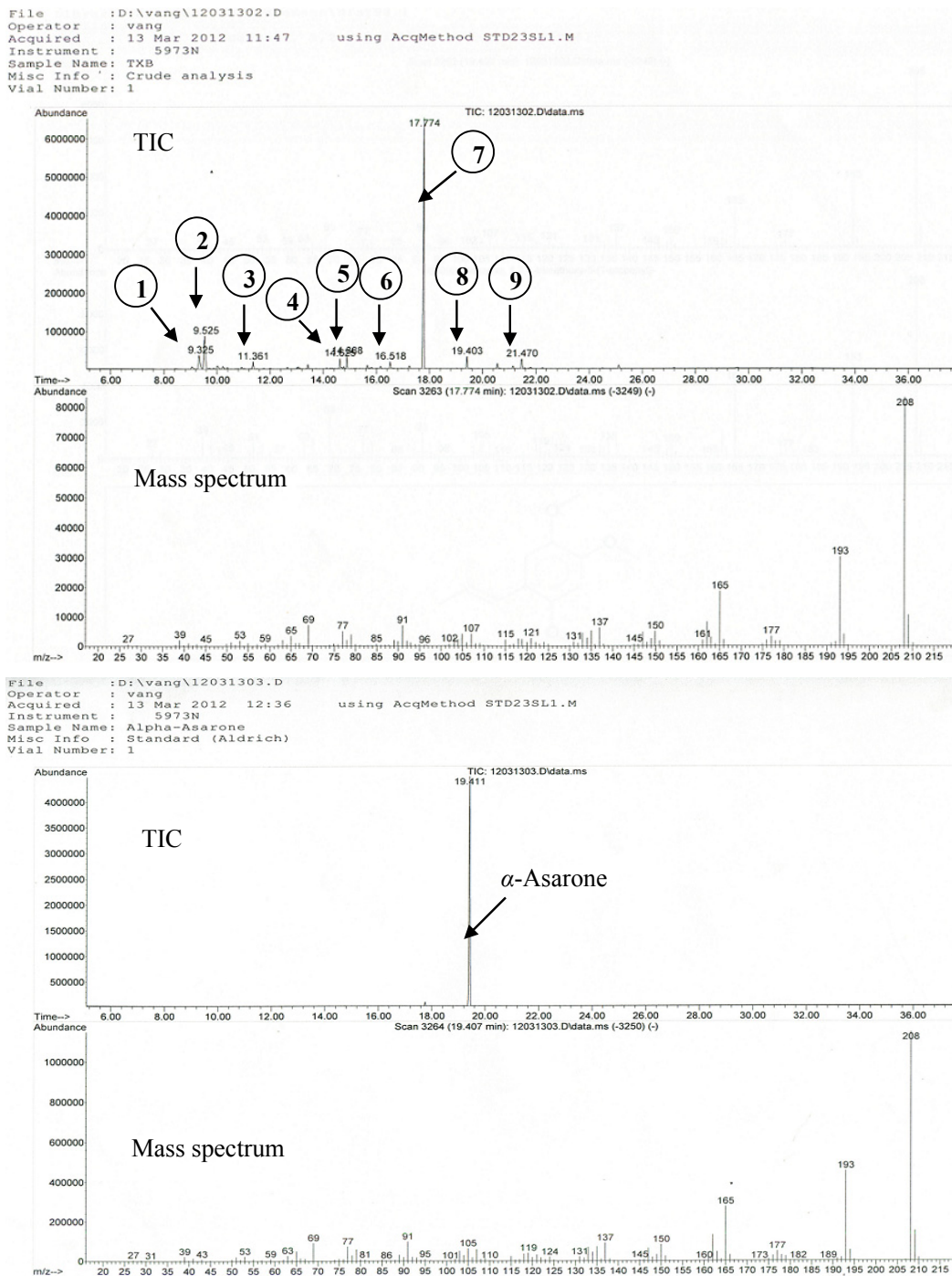
3.1 Thành phần hóa học trong mẫu ly trích của thân rễ cây TXB

Kết quả phân tích GC-MS của mẫu ly trích thân rễ cây TXB cho thấy trong thành phần của mẫu bao gồm ít nhất 9 hợp chất. Trong đó β-asarone chiếm tỉ lệ cao nhất với 66,8%, kế đến là hợp chất 1H-Cyclopropa[α]naphthalene với tỉ lệ 13,4% và (-)-Aristolene với tỉ lệ 5,8%, các hợp chất còn lại, kể cả α-asarone, đều không vượt quá tỷ lệ 3% (Bảng 1). Điều này chứng tỏ β-asarone là thành phần hóa học chủ yếu của dịch trích thân rễ cây TXB.

(retention time, Rt) lần lượt là 17,77 phút và 19,40 phút. Phổ khối lượng (Mass spectrum) của hợp chất 7 và 8, và Rt của hợp chất 8 là trùng khớp với chất chuẩn α-asarone, chứng tỏ hợp chất 7 là β-asarone và hợp chất 8 là α-asarone. Như vậy, trong phân tích GC-MS, phổ khối lượng của α-asarone và β-asarone là tương tự nhau, đặc điểm phân biệt rõ rệt nhất giữa hai hợp chất này là thời

gian lưu của chúng xuất hiện trên biểu đồ sắc ký tổng ion. Kết quả phân tích cho thấy cột sắc ký mao dẫn phân cực DB-23 và chương trình nhiệt độ bắt đầu ở 50°C ổn định trong 2 phút, tăng lên

160°C ở tốc độ 4°C/phút, tiếp tục tăng lên 220°C ở tốc độ 10°C/phút, ổn định ở 220°C trong 15 phút là thích hợp cho việc phân tích các hợp chất α -asarone và β -asarone.

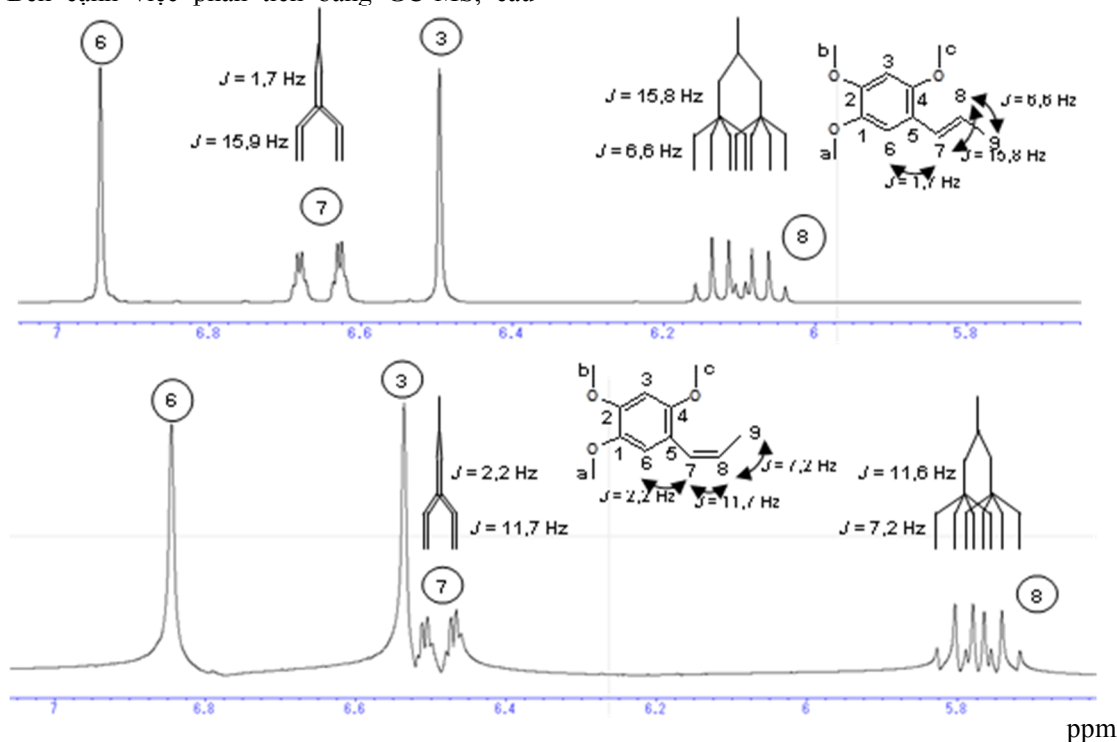


Hình 2: Phân tích GC-MS của mẫu ly trích từ thân rễ cây TXB (bên trên) và mẫu chuẩn α -asarone (bên dưới)

3.2.2 Phân tích NMR

Bên cạnh việc phân tích bằng GC-MS, cấu

hình của asarone trong mẫu ly trích cũng đã được xác định bằng phân tích phân tích NMR.



Hình 3: Chemical shift và hằng số bất cặp của các proton ở vị trí C₃, C₆, C₇ và C₈ trong phân tử α -asarone (bên trên) và asarone phân lập (bên dưới)

Phổ ¹H NMR của mẫu α -asarone (mẫu chuẩn) và mẫu asarone phân lập được trình bày trong Hình 3 cho thấy độ dịch chuyển hóa học (chemical shift) của các proton (H) ở vị trí carbon thứ 3 (C₃) (s, 6,54 ppm), C₆ (s, 6,84 ppm), C₇ (dd, 6,46-6,50 ppm) và C₈ (dq, 5,72-5,582 ppm) trong phân tử asarone của mẫu phân lập là rất khác biệt so với proton ở các vị trí C₃ (s, 6,50 ppm), C₆ (s, 6,95 ppm), C₇ (dd, 6,63 - 6,68 ppm) và C₈ (dq, 6,04-6,16 ppm) trong phân tử α -asarone. Thêm vào đó, ở mẫu phân lập, hằng số bất cặp (coupling constant) của các proton tại C₇ (dd) là 11,7 Hz (vicinal coupling, vc) và 2,2 Hz (long range coupling, lrc) và C₈ (dq) là 11,6 Hz (vc) và 7,2 Hz (vc), trong khi ở mẫu α -asarone chuẩn, hằng số bất cặp của các proton tại C₇ (dd) là 15,9 Hz (vc) và 1,7 Hz (lrc) và C₈ (dq) là 15,8 Hz (vc) và 6,6 Hz (vc). Điều này theo khẳng định của Silverstein and Webster (1998) nối đôi giữa vị trí C₇ và C₈ trong phân tử của mẫu phân lập có cấu hình Z (cis). Hay nói cách khác, asarone trong mẫu phân lập là β -asarone.

Bảng 2: Độ dịch chuyển hóa học của carbon đồng vị 13 (¹³C) trong phân tử α -asarone và asarone phân lập

¹³ C ở vị trí*	Độ dịch chuyển hóa học (ppm)	
	α -Asarone	Asarone phân lập
1	143,34	142,33
2	148,70	148,52
3	97,86	97,38
4	150,61	151,50
5	109,68	114,01
6	118,97	117,96
7	125,02	125,86
8	124,41	124,82
9	18,83	14,72
a	56,46	56,43
b	56,74	56,60
c	56,11	56,08

* Vị trí carbon trong phân tử được biểu thị như trình bày trong Hình 3

Bảng 2 trình bày kết quả phân tích ¹³C NMR của α -asarone và mẫu asarone phân lập. Độ dịch chuyển hóa học ở vị C₉ của α -asarone là 18,83 ppm còn ở mẫu asarone phân lập là

14,72 ppm. Trong khi đó, độ dịch chuyển hóa học ở các vị trí carbon còn lại trong phân tử của hai mẫu phân tích là gần như tương đương nhau. Sự dịch chuyển hóa học thấp (tương ứng với mức che chắn cao, more shielded) của carbon ở vị trí đầu mạch liền kề với nối đôi (C₉) trong phân tử asarone phân lập so với α -asarone chứng tỏ một lần nữa nối đôi giữa vị trí C₇ và C₈ của mẫu asarone phân lập có cấu hình Z (Silverstein and Webster, 1998).

4 THẢO LUẬN

Kết quả phân tích GC-MS và NMR cho thấy thành phần hóa học của dịch trích thân rễ cây TXB gồm ít nhất 9 hợp chất. Trong đó, β -asarone là hợp chất chủ yếu chiếm 66,8% (95,8% trên hàm lượng asarone) còn α -asarone hiện diện ở một tỷ lệ rất thấp chiếm 2,9% (4,2% trên hàm lượng asarone). Theo Koul *et al.* (1990), thành phần chính trong tinh dầu thu được từ sự chưng cất thân rễ cây *A. calamus* (gọi tắt là tinh dầu *A. calamus*) là hợp chất β -asarone, trong khi hỗn hợp của α -asarone và β -asarone là thành phần chủ yếu trong tinh dầu *A. gramineus* (Lee *et al.*, 2002). Hàm lượng β -asarone trong tinh dầu *A. calamus* biến động từ 0-95%, thay đổi tùy thuộc vào số lượng chromosome trong nhân tế bào (karyotype) của giống. Ở giống *A. calamus* tetraploid (Ấn Độ) hàm lượng β -asarone chiếm $\geq 95\%$, ở giống *A. calamus* triploid (Châu Âu) hàm lượng β -asarone chiếm khoảng 10% trong khi ở giống *A. calamus* diploid thì hàm lượng của β -asarone chỉ hiện diện ở mức độ rất thấp (Liddle and Bossard, 1985). Như vậy, kết quả phân tích đã cho thấy cây TXB được trồng phổ biến ở ĐBSCL là *A. calamus* thuộc nhóm tetraploid.

Thân rễ và tinh dầu *A. calamus* đã được dùng rộng rãi trong lĩnh vực Đông y ở một số nước Châu Á, trong đó có Việt Nam và sản xuất đồ uống có cồn như bia đắng, rượu mùi và rượu vecmut ở Châu Âu. Theo báo cáo năm 2002 của Ủy ban Bảo vệ Sức khỏe Tiêu dùng thuộc Hội đồng Châu Âu (European Commission-Health & Consumer Protection Directorate-General), β -asarone đã cho thấy có tác động gây ung thư yếu đối với chuột ở nồng độ thử nghiệm 20 mg/kg thể trọng/ngày, từ đó chỉ định giới hạn hàm lượng của β -asarone trong thực phẩm. Kết quả khảo nghiệm trên hệ thống tế bào HepG2 của chuột bởi Unger and Melzig (2012) chứng tỏ α -asarone có tính độc đối với tế bào (cytotoxicity)

cao hơn so với β -asarone, ở điều kiện thông thường cả hai hợp chất này đều không độc đối với vật liệu di truyền của tế bào (genotoxicity), nhưng khi có sự hiện diện của chất kích hoạt biến dưỡng (metabolic activation) thì β -asarone ở nồng độ từ $\geq 50 \mu\text{g/ml}$ gây genotoxicity. Ở khía cạnh khác, các kết quả nghiên cứu của Liu *et al.* (2010) và Zou *et al.* (2012) lại khẳng định β -asarone đã làm giảm sự tự chết của tế bào thần kinh (neuronal apoptosis) và sự phát triển của tế bào ung thư Lovo colon. Trong đánh giá về tính an toàn của thực vật và chế phẩm thực vật dùng trong thực phẩm và chất phụ gia thực phẩm của EFSA (European Food Safety Authority) (2012) thì lá và thân rễ của cây *A. calamus* có chứa β -asarone không nằm trong cột ghi nhận về ảnh hưởng độc đáng chú ý.

Trong những năm gần đây do kinh tế phát triển đời sống xã hội được nâng cao đã đồng thời thúc đẩy nhu cầu đối với các sản phẩm nông nghiệp an toàn. Canh tác nông nghiệp theo các tiêu chuẩn GAP đang ngày được mở rộng. Qua đó, công tác bảo vệ thực vật được đòi hỏi phải thực hiện theo hướng an toàn với sức khỏe của con người và thân thiện với môi trường sinh thái. Mặt khác, kinh tế phát triển lại phụ thuộc chủ yếu vào nông nghiệp cũng đã đặt ra vấn đề cấp thiết là hạn chế sự ô nhiễm môi trường do dư lượng của các loại hóa chất nông nghiệp. Như vậy, việc nghiên cứu và áp dụng các nguồn vật liệu có nguồn gốc tự nhiên, ít độc và thân thiện với môi trường sinh thái như cây TXB để luân phiên hoặc thay thế cho nông dược hóa học tổng hợp trong bảo vệ thực vật là phù hợp với chủ trương phát triển một nền nông nghiệp bền vững của nhà nước và đáp ứng với yêu cầu thực tế của sản xuất nông nghiệp.

LỜI CẢM TẠ

Nhóm tác giả xin chân thành cảm tạ Gs. Tetsu Ando Phòng thí nghiệm Sinh thái học Hóa chất, Trường Đại học Nông nghiệp và Công nghệ Tokyo (Nhật) đã hỗ trợ trong phân tích GC-MS và NMR.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. EFSA. 2012. Compendium of botanicals reported to contain naturally occurring substances of possible concern for human health when used in food and food supplements. *EFSA Journal* 10(5):2663.

2. Ghosh, S., Sharma A. K., Kumar S., Tiwari S. S., Rastogi S., Srivastava S., Singh M., Kumar R., Paul S., Ray D. D. and Rawat A. K. S. 2011. *In vitro* and *in vivo* efficacy of *Acorus calamus* extract against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Parasitology Research* 108 (2): 361-370.
3. Koul, O., Smirle M. J., Isman M. B. 1990. Asarone from *Acorus calamus* L. oil. Their effect on feeding behavior and dietary utilization in *Peridroma saucia*. *Journal of Chemical Ecology* 16 (6): 1911-1920.
4. Lee, K. H., Park C. and Ahn Y. J.. 2002. Insecticidal activities of asarones identified in *Acorus gramineus* rhizome against *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae) and *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutoidea). *Applied Entomology and Zoology* 37 (3): 459-464.
5. Liddle, P. A. P. and Bossard A. 1985. Volatile naturally-occurring restricted derived from flavourings, and their determination in foods and beverages. In: Progress in Flavour Research. Proceedings of the 4th Weurman Flavour Research Symposium, Dourdan, France, 9-11 May 1984. Adda, J. (Ed), Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, p: 467-476.
6. Liu, J., Li C., Xing G., Zhou L., Dong M., Geng Y., Li X., Li J., Wang G., Zou D. and Niu Y. 2010. Beta-asarone attenuates neuronal apoptosis induced by beta amyloid in rat hippocampus. *Yakugaku Zasshi* 130(5): 737-746.
7. McGraw, L. J., Jäger A. K. and Staden J. V. 2002. Isolation of β -asarone, an antibacterial and anthelmintic compound, from *Acorus calamus* in South Africa. *South Africa Journal of Botany* 68: 31-35.
8. Phan Thị Hồng Thúy. 2009. Khảo sát khả năng hạn chế bệnh cháy lá và đốm nâu trên lúa khi xử lý với ba loại dịch trích thực vật. *Luận văn tốt nghiệp Thạc sỹ ngành Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Cần Thơ*, 60 trang.
9. Pollio, A., Pinto G., Ligrone R. and Aliotta G. 1991. Effects of the potential allelochemical a-asarone on growth, physiology and ultrastructure of two unicellular green algae. *Journal of Applied Phycology* 5: 395-403.
10. Rahman, M. M. and Schmidt G. H. 1999. Effect of *Acorus calamus* (L.) (Araceae) essential oil vapours from various origins on *Callosobruchus phaseoli* (Gyllenhal) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 35: 285-295.
11. European Commission – Health & Consumer Protection Directorate-General. 2002. Opinion of the Scientific Committee on Food on the presence of β -asarone in flavourings and other food ingredients with flavouring properties. *SCF/CS/FLAV/FLAVOUR/9 ADD1 Final*, 15 pages.
12. Shuklar, R., Kumar A., Prasad C. S., Srivastava B. and Dubey N. K. 2009. Efficacy of *Acorus calamus* L. leaves and rhizome on mortality and reproduction of *Callosobruchus chinensis* L. (Coleoptera: Bruchidae). *Applied Entomology and Zoology* 44 (2): 241-247.
13. Silverstein, R. M and Webster F. X. 1998. Spectrometric identification of organic compounds. Sixth Edition. *John Wiley & Sons, Inc.* p: 114-249.
14. Unger, P., Meizig M. F. 2012. Comparative Study of the cytotoxicity and genotoxicity of α - and β -asarone. *Scientia Pharmaceutica* 80: 663-668.
15. Zou, X., Liu S. L., Zhou J. Y., Wu J., Ling B. F., Wang R. P. 2012. Beta-asarone induces LoVo colon cancer cell apoptosis by up-regulation of caspases through a mitochondrial pathway *in vitro* and *in vivo*. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 13 (10): 5291-5298.