

# KHẢO SÁT TINH DẦU VÀ THÀNH PHẦN HÓA HỌC CAO ETHYL ACETATE TỪ CỦ GỪNG NHẬT BẢN (*Zingiber officinale* Roscoe var *Kintoki*)

Nguyễn Thị Bích Thuyền<sup>1</sup> và Nguyễn Ngọc Hạnh<sup>2</sup>

## ABSTRACT

*The Kintoki ginger was transplanted from Japan and cultivated in Lam Dong, Dac Lac and Phu Yen provinces. The content of essential oil changes from different provinces (0,50% in Lam Dong; 0,24% in Dac Lac and 0,32% in Phu Yen).*

*The volatile oil has been studied by the combination of GC and GC-MS. The main components are zingiberen,  $\beta$ -bisabolene,  $\beta$ -sequiphellandrene depending on the material sources.*

*Three compounds were isolated from an ethyl acetate extract. One of them was identified such as  $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -glucopyranoside.*

**Keywords:** *Zingiber officinale* Roscoe, Ginger, Kintoki

**Title:** *Investigation of essential oil and chemical constituents of an ethyl acetate extract from Zingiber officinale Roscoe var Kintoki*

## TÓM TẮT

Gừng “Kintoki” di thực từ Nhật Bản được trồng tại Lâm Đồng, Đắk Lắk và Phú Yên. Hàm lượng tinh dầu củ gừng thay đổi theo điều kiện địa lý khi hậu khác nhau (0,50% tại Lâm Đồng; 0,24% tại Đắk Lắk và 0,32% tại Phú Yên) so với giống gừng Việt Nam trồng tại Đắk Lắk là 0,18% và trồng tại Đồng Tháp là 0,21%).

Kết quả phân tích bằng GC-MS cho thấy hàm lượng các cấu tử chính như zingiberene,  $\beta$ -bisabolene,  $\beta$ -sequiphellandrene trong tinh dầu củ gừng cũng thay đổi theo các vùng trồng khác nhau. Cây trồng ở Lâm Đồng có hàm lượng zingiberene cao nhất là 28,07% so với cây trồng ở Đắk Lắk là 20,39% và ở Phú Yên là 20,71%, trong khi giống gừng Việt Nam khoảng 14,27-16,15%.

Từ dịch chiết ethyl acetate của gừng Kintoki trồng tại Đắk Lắk, đã cô lập được 3 chất tinh khiết. Một trong ba chất đã được nhận danh đó là  $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -glucopyranoside.

**Từ khóa:** Củ gừng, gừng

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Gừng có tên khoa học: *Zingiber officinale* Roscoe, thuộc họ Gừng (Zingiberaceae). Gừng là một loại cây nhỏ, cao từ 0,6 đến 1 m. Thân rễ mầm lên thành củ, lâu dần thành xơ, tế bào chứa dầu nhựa, có sợi thưa, mùi thơm, vị cay nóng (Đỗ Tất Lợi, 1995)

Thành phần hóa học trong củ gừng:

<sup>1</sup> Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Viện Công Nghệ Hóa Học, Viện Khoa học & Công nghệ Việt Nam

- Tinh dầu: thường là hỗn hợp gồm nhiều chất như rượu, phenol, aldehyde, ceton, acid hữu cơ, ester...
- Nhựa dầu gừng: chứa tinh dầu và các chất cay. Thành phần chủ yếu của nhóm chất cay là zingeron, shogaol và gingerol, trong đó gingerol chiếm tỷ lệ cao nhất.
- Ngoài ra còn có tinh bột, protein, lipid, enzyme, các acid hữu cơ, các vitamin, amino acid...

Trong bài báo này, chúng tôi xin trình bày kết quả khảo sát thành phần hóa học của tinh dầu củ gừng với các nguồn nguyên liệu khác nhau và một hợp chất được nhận danh từ nhựa củ gừng Kintoki trồng ở Đắc Lắc.

## 2 NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1 Nguyên liệu

Củ gừng Kintoki trồng tại Lâm Đồng, Đắc Lắc và Phú Yên được cung cấp bởi Trung tâm Bảo tồn và Phát triển Dược liệu miền Trung. Củ gừng Việt Nam được thu mua tại Đắc Lắc và Đồng Tháp.

Cả 4 mẫu đều được thu hoạch vào năm 2006 sau khi cây bắt đầu trụi lá.

### 2.2 Phương pháp chiết xuất, cô lập

Xác định hàm lượng tinh dầu bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước với dụng cụ Clevenger. Phần bã sau khi đã lấy tinh dầu được trích bằng ethyl acetat (EtOAc) trong 3 giờ, cô loại dung môi dưới áp suất kém còn 152 g cao (G). Cao G được cho thêm nước và một ít EtOAc để được dịch hơi sệt. Dịch này được lắc bằng petroleum ether (PE). Pha nước được lấy ra và tiếp tục quy trình lắc cho đến khi dịch trong thì ngừng lắc, phần cặn thu được là cao ethyl acetate GA (40 g).

Từ cao GA (40 g), tiến hành sắc ký nhanh trên cột silica gel với hệ dung môi giải ly (PE, EtOAc) có độ phân cực tăng dần. Kết quả thu được 12 phân đoạn (GA1, GA2,..., GA12).

Tại phân đoạn GA9 được tiếp tục tiến hành sắc ký cột silica gel lần 2 với hệ dung môi giải ly có độ phân cực tăng dần là (PE, EtOAc). Kết quả thu được 4 phân đoạn (GA9-1, GA9-2,..., GA9-4)

Tại phân đoạn GA9-2 (dung môi giải ly PE: EtOAc = 6: 4 ) thu được cặn màu vàng nâu có vết chính với  $R_f = 0,31$  (chloroform: methanol = 9: 1). Kết tinh lại trong methanol thu được tinh thể dạng bột trắng, mp = 283-284°C, ký hiệu là GA9-2 (31 mg).

### 2.3 Phương pháp nhận danh thành phần hóa học

#### 2.3.1 Tinh dầu

Thành phần hóa học của tinh dầu được xác định bằng phương pháp sắc ký khí và sắc ký khí ghép khối phổ.

- Phương pháp sắc ký khí (GC) thực hiện trên máy Hewlett-Packard 6890 Series II (USA), cột HP5 (dài 30 m; đường kính trong 0,32 mm; lớp phim dày 0,25  $\mu$ m). Khí mang nitơ (1 ml/phút), detector FID. Chương trình nhiệt độ: 40°C

(giữ 2 phút), tăng 6°C/phút cho đến 200°C (giữ 2 phút), tăng 10°C/phút đến 280 °C (giữ 10 phút). Nhiệt độ injector: 280°C, nhiệt độ detector: 300°C.

- Phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC/MS) thực hiện trên máy Agilent Technologies 6890N (USA), cột HP5-MS (dài 30 m; đường kính trong 0,25 mm; lớp phim dày 0,25 μm) liên hợp với máy khối phổ Agilent Technologies 5973 inert (USA), khí mang Heli (0,9 ml/phút). Chương trình nhiệt độ: 40 °C (giữ 2 phút), tăng 3°C/phút cho đến 200°C (giữ 2 phút), tăng 20°C/phút đến 250°C (giữ 10 phút). Nhiệt độ inlet: 250°C, nhiệt độ MSD: 350°C. Thư viện phổ NIST-MS search 2.0a-2002.

### 2.3.2 Chất GA9-2

Điểm nóng chảy được đo trên máy Electrothermal 9100 (UK), mao quản không hiệu chỉnh. Phổ hồng ngoại được đo trên máy VECTOR 22, dùng viên nén KBr. Phổ UV-VIS được đo trên máy UV-2450 (Japan). Các phổ <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, DEPT, HMQC, HMBC được ghi trên máy Bruker Avance 500 MHz, độ dịch chuyển hóa học được tính theo δ (ppm), hằng số tương tác (J) tính bằng Hz. Phổ khối lượng được đo trên máy 1100 series LC/MS Trap Agilent. Sắc ký lớp mỏng sử dụng bản nhôm silica gel Merck 60F<sub>254</sub> trắng sẵn dày 0,2 mm.

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 Kết quả khảo sát tinh dầu

Tinh dầu củ gừng ở dạng lỏng, nhẹ hơn nước, màu vàng hơi xanh lục, vị nhạt, có mùi đặc trưng của gừng.

**Bảng 1: Hiệu suất và tính chất của tinh dầu với các nguồn nguyên liệu khác nhau**

Nguồn nguyên liệu	Hiệu suất (%)	Tỉ trọng	Chỉ số khúc xạ
Gừng Kintoki (Lâm Đồng)	0,50	0,8885	1,484
Gừng Kintoki (Đắc Lắc)	0,24	0,8818	1,486
Gừng Kintoki (Phú Yên)	0,32	0,8883	1,483
Gừng Việt Nam (Đắc Lắc)	0,18	0,8808	1,484
Gừng Việt Nam (Đồng Tháp)	0,21	0,8377	1,486

Kết quả phân tích trên cho thấy: trong tinh dầu gừng có khoảng 35- 48 thành phần hoá học khác nhau. Trong đó có khoảng 24 chất chiếm tỷ lệ đáng kể với thành phần chính là các hợp chất như là: zingiberene, β-bisabolene, β-sesquiphellandrene, curcumene, camphene.

### 3.2 Nhận dạng cấu trúc GA9-2

Tinh thể GA9-2 kết tinh trong methanol là chất bột, màu trắng, điểm nóng chảy 283-284°C, sắc ký bản mỏng trong hệ dung môi (chloroform: methanol = 9: 1), hiện vết bằng thuốc thử H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> cho vết tím có R<sub>f</sub> = 0,31

Phổ hồng ngoại IR (ν<sub>max</sub>, cm<sup>-1</sup>) cho vạch hấp thu mạnh, rộng của nhóm -OH tại 3400, các vạch 2937 và 2870 thể hiện sự dao động của C-H, vạch 1625 thuộc dao động của C=C, các vạch 1065, 1024 cm<sup>-1</sup> đặc trưng cho nhóm liên kết C-O.

Khối phổ có mũi chính  $m/z$   $[M+H]^+ = 577$  cho biết khối lượng phân tử của GA9-2 là 576 đvC.

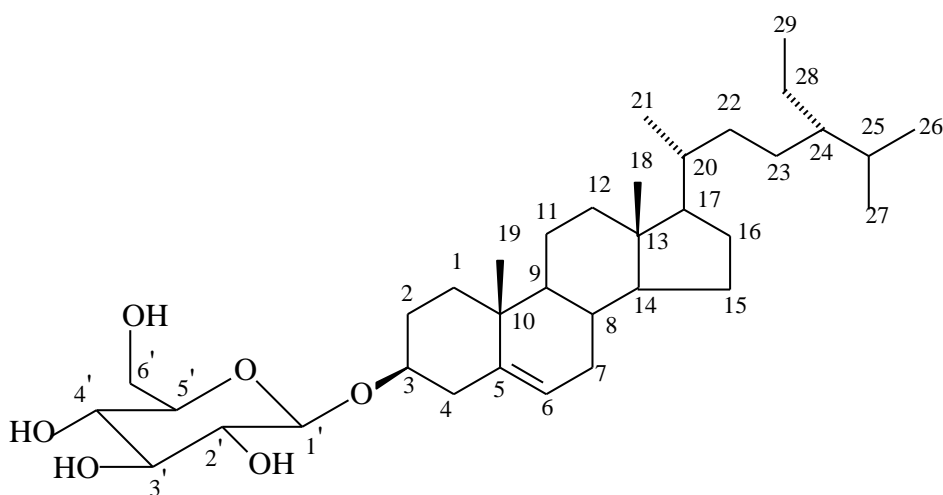
Phổ  $^1H$ -NMR (DMSO,  $\delta$  ppm, 500 MHz) xác nhận có một vạch nổi đôi nhọn tại 5,32 ppm ( $H_6$ ) cùng với tín hiệu phổ  $^{13}C$ -NMR ở 121,3 ppm chứng minh nổi đôi ở vị trí 6. Đồng thời, cacbon vị trí thứ 5 là tứ cấp (DEPT) và cũng là =C (Phổ  $^{13}C$ -NMR cho tín hiệu 140,4 ppm) chứng tỏ khung sterol có nổi đôi ở vị trí 5-6.

Phổ  $^{13}C$ -NMR cho các mũi ở 140,4 ppm và 121,3 ppm cho thấy trong phân tử GA9-2 có nổi đôi. Các mũi trong khoảng 61,1 ppm đến 76,9 ppm cho thấy có nhiều nhóm C-O. Ngoài ra, kết hợp kỹ thuật DEPT cho thấy trong phân tử GA9-2 có 35 cacbon, trong đó có 6 nhóm  $CH_3$  ở vị trí 11,5; 11,7; 18,5; 18,9; 19,0; 19,5 ppm. Có 12 nhóm  $CH_2$  ở vị trí 20,5; 22,6; 23,8; 25,2; 27,7; 29,2; 31,4; 33,3; 36,8; 38,2; 39,3 và 61,0 ppm, 4 nhóm cacbon tứ cấp ở các vị trí 36,2; 41,8; 49,5 và 140,4 ppm và 13 nhóm CH ở vị trí 28,7; 31,3; 35,4; 45,1; 55,4; 56,2; 70,0; 73,4; 76,6; 76,7; 76,9; 100,8 và 121,2 ppm.

Phổ  $^{13}C$ -NMR (DMSO,  $\delta$  ppm, 500 MHz) cho một mũi ở 100,8 ppm, đây là mũi -CH đặc trưng cho vị trí 1' của đường, điều này cho thấy trong phân tử có một đơn vị đường. Phần aglycon có 29 cacbon, kết hợp với dấu hiệu định tính ở trên sắc ký bản mỏng có màu tím khi phun thuốc thử  $H_2SO_4$ . Điều này cho phép giả thiết khung aglycon có 29 cacbon của GA9-2 là một sterol có 29 cacbon.

Phổ HMBC cho thấy có sự tương tác  $H_{1'}$  và  $C_3$  chứng minh phần đường gắn vào aglycon ở vị trí 3, đồng thời hằng số tương tác spin-spin giữa  $H_{1'}$  và  $H_{2'}$ , hằng số  $J = 8$  Hz chứng tỏ liên kết kiểu *trans-diaxial*, kết hợp với số liệu phổ  $^{13}C$ -NMR của phần đường và phổ proton hai chiều COSY cho thấy phù hợp với D-glucose và nổi liên kết  $\beta$ .

Cấu trúc của GA9-2 như hình 1.



Hình 1:  $\beta$ -Sitosterol-3-O- $\beta$ -glucopyranoside

Vậy GA9-2 là  $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ - glucopyranoside.

Các số liệu phổ của GA9-2 phù hợp số liệu phổ của chất  $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -glucopyranoside đã được công bố (Chang, 1981)

**Bảng 2: Thành phần hóa học của tinh dầu theo các nguồn nguyên liệu khác nhau**

S	T	Tên hợp chất	Hàm lượng (%)				
			Gừng Kintoki (trồng ở Đà Lạt)	Gừng Kintoki (trồng ở Đắc Lắc)	Gừng Kintoki (trồng ở Phú Yên)	Gừng Việt Nam (trồng ở Đắc Lắc)	Gừng Việt Nam (trồng ở Đồng Tháp)
01		$\alpha$ -Pinene	1,66	3,11	1,81	3,97	1,95
02		Camphene	6,33	9,32	7,47	11,34	5,97
03		$\beta$ -Pinene	0,53	2,06	0,40	2,23	0,71
04		$\beta$ -Phellandrene	1,55	-	-	7,29	3,20
05		Eucalyptol	6,94	12,43	12,41	4,99	6,92
06		Linalool	0,31	0,49	0,49	0,84	0,78
07		p-Meth-2-en-1-ol	1,0	0,57	-	0,67	-
08		Citronol	0,19	0,69	0,09	0,78	1,32
09		Borneol	1,35	0,30	1,43	1,16	1,46
10		$\beta$ -Citral	3,39	6,89	9,53	7,53	5,33
11		2,6-Octadien-1-ol-3,7-dimethyl	0,46	0,57	0,17	1,99	1,11
12		$\alpha$ -Citral	5,24	11,29	12,24	11,44	15,67
13		Copanene	0,49	-	0,30	0,51	0,37
14		$\beta$ -Elemene	0,57	0,61	1,19	0,57	0,43
15		$\gamma$ -Elemene	0,05	-	0,12	-	0,29
16		$\beta$ -Farnesene	0,85	0,57	-	0,32	0,36
17		Guaien	0,25	0,47	0,33	-	-
18		Germacren	1,33	1,28	1,27	-	-
19		Curcumene	8,40	4,40	3,64	5,56	6,37
20		$\beta$ -Selinene	1,39	1,10	0,96	-	1,58
21		Zingiberene	28,07	20,39	20,71	14,27	16,15
22		$\beta$ -Bisabolene	10,76	9,81	9,03	6,00	6,50
23		$\beta$ -Cubebene	0,72	0,53	-	-	0,80
24		$\beta$ -Sesquiphellandrene	10,99	7,15	8,97	6,77	8,44

Ghi chú: Các cấu tử hóa học được sắp xếp theo thứ tự có thời gian lưu tăng dần.

#### 4 KẾT LUẬN

- Thành phần hóa học của tinh dầu củ gừng Kintoki trồng tại Lâm Đồng, Đắc Lắc và Phú Yên được khảo sát bằng sắc ký khí ghép khối phổ và so sánh với gừng Việt Nam. Các cấu tử chính như zingiberene (28,07%; 20,39% và 20,71%),  $\beta$ -bisabolene (10,76%; 9,81% và 9,03%),  $\beta$ -sesquiphellandrene (10,99%; 7,15% và 8,97%) trong tinh dầu củ gừng Kintoki đều cao hơn tinh dầu củ gừng Việt Nam.
- Đã cô lập và nhận danh cấu trúc của  $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -glucopyranosid từ cao chiết với dung môi ethyl acetat. Cấu trúc các chất tinh khiết khác đang được xác định.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chang, I. L, Yun, H. S. and Yamasaki, K., 1981. Revision of  $^{13}\text{C}$ -NMR assignments of  $\beta$ -sitosterol and  $\beta$ -sitosteryl- 3-O- $\beta$  glucopyranoside isolated from *Plantago asiatica* seed. *Kor. J. pharmacog*, 12, 12-24.
- Donell. D. W, Sutherlan. M. D, 1969. A re-examination of gingerol, shogaol, zingerone, the pungent principles of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Aust. J. Chem*, 22, 1033-1041.
- Đỗ Tất Lợi, 1995. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXB KHKT, 475-478.
- Fummiyuki Kiuchi, Masaaki Shibuya, 1982. Inhibitors of prostaglandin biosynthesis from Ginger. *Chem. Pharm. Bull*, 30 (2), 754-757.
- Hiroe Kikuzaki, Saiu-Mei Tsai and Nobuji Nakatanit, 1992. Gingerdiol related compound from The Rhizomes Of *Zingiber officinale*. *Phytochemistry*, Vol.31, No.5, 1783- 1786.
- Masada.. Y, Inoue. T, Hashimoto. K, Fujioka. M, Shiraki. K, 1973. Studies on the pungent principles of Ginger by GC-MS. *Vakugaki Zasshi*, 93, 318-321.
- Nguyễn Khắc Quỳnh Cứ, 1999-2000. Bài giảng chiết xuất dược liệu. Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.
- Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Việt Tựu, 1985. Phương pháp nghiên cứu cây thuốc. NXB Y học.
- Phạm Hoàng Hộ, 1999. Cây cỏ Việt Nam. Nhà xuất bản Trẻ, quyển 3, 444-447.
- Qirong, Masatsugu Iwamoto, 1991. Anti-5-Hydroxytryptamine effect of galanolactone, diterpenoid isolated from Ginger. *Chem. Pharm. Bull*, 39 (2) ,97-399.
- Võ Văn Chi, 1999. Từ điển cây thuốc Việt Nam, NXB Y học.