

Đặc điểm hiển vi và thành phần hóa học tinh dầu cây sa nhân quế (*Amomum cinnamomeum* Škorničk., Luu & H. Đ. Trần) tại tỉnh Khánh Hòa

Võ Văn Sỹ¹, Phạm Đức Thắng¹, Dương Đình Ánh¹, Lê Quang Đạt¹
Cao Duy Tâm¹, Đỗ Thành Long², Kiều Thị Hoài², Nguyễn Thanh Tùng^{2*}

¹Trường Đại học Kỹ thuật Y – Dược Đà Nẵng

²Trường Đại học Dược Hà Nội

Summary

The microscopical characteristics of *Amomum cinnamomeum* Škorničk., Luu & H. Đ. Trần collected in Khanh Vinh district (Khanh Hoa province) were described and illustrated with pictures. The content of essential oil in the fresh plant material was 0.1 % determined by steam distillation. GC-MS analyse of essential oil led to identification of 25 compounds with main constituents were trans-cinnamaldehyde (72.31%), benzaldehyde (6.42%), menthol (6.37%) and cinnamyl alcohol (5.68%). These results are useful in identification and quality control of plant material of *Amomum cinnamomeum*.

Keywords: *Amomum cinnamomeum* Škorničk., Luu & H. Đ. Trần, microscopical characteristics, essential oil, GC-MS.

Đặt vấn đề

Sa nhân quế, loài phân bố phổ biến tại Khánh Vĩnh (tỉnh Khánh Hòa), từ lâu đã được người dân địa phương sử dụng để giải cảm cũng như tạo hương vị cho rượu cần do có mùi thơm đặc trưng của quế. Gần đây, tên khoa học của loài này được xác định là *Amomum cinnamomeum* Škorničk., Luu & H. Đ. Trần, họ Gừng (Zingiberaceae) bởi Jana và CS. [4]. Tuy nhiên, các nghiên cứu về đặc điểm hiển vi cũng như thành phần hóa học tinh dầu của loài vẫn chưa được thực hiện. Nghiên cứu của chúng tôi cung cấp cơ sở dữ liệu giúp nhận biết loài sa nhân quế cũng như cung cấp các thông tin về thành phần tinh dầu của loài sa nhân quế nhằm làm cơ sở sử dụng hợp lý dược liệu này.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu

Chịu trách nhiệm: Nguyễn Thanh Tùng
Email: thanhtungng.pharmacist@gmail.com
Ngày nhận: 25/8/2020
Ngày phân biên: 07/9/2020
Ngày duyệt bài: 29/10/2020

Mẫu cây sa nhân quế được thu hái tại huyện Khánh Vĩnh, tỉnh Khánh Hòa vào tháng 4 năm 2019. Mẫu thu được có đặc điểm hình thái như sau (hình 1): Cây thảo (1), có thể cao đến 50 cm, toàn cây có mùi thơm của quế. Thân rễ (13, 14) đường kính từ 0,3 – 1 cm. Lá đơn, nguyên, gân lá song song; phiến lá hình elip, kích thước 15 – 25 x 3 – 5 cm, mặt trên màu xanh đậm, mặt dưới màu xanh nhạt; bề mặt lá không có nếp gấp, hai mặt không phủ lông, ngọn lá có phần đuôi kéo dài từ 4 – 6 cm (2, 3). Cụm hoa (5) mọc từ thân rễ, dạng bông. Lá bắc (9) kích thước 20 – 35 x 15 – 25 mm, hình trứng, mũi nhọn, màu trắng ở gốc, xanh nhạt hoặc hồng ở đỉnh, không có lông. Lá bắc con kích thước 3 – 5 x 2 – 3 mm, hình tam giác, màu trắng, bề mặt không có lông, mép có lông mịn. Hoa (4) dài từ 7,5 – 8,5 cm; hoa lưỡng tính, đối xứng 2 bên. Đài hoa hình ống, dài khoảng 4 cm, màu trắng, phủ lông ở nửa gần gốc, phần đỉnh hầu như nhẵn, đỉnh có 3 răng, mỗi răng dài khoảng 1 mm. Tràng hoa dính nhau tạo thành hình ống, trên chia thành 3 thùy (10, 11, 12). Thùy giữa (11, 12) có kích thước 8 x 24 mm, màu trắng ở gốc, vàng nhạt ở đỉnh, hình dạng thuôn dài, đỉnh uốn cong tạo thành mũ, hai mặt không có lông. Hai thùy bên (10) kích thước 5 x 20 mm,

màu trắng ở gốc, vàng nhạt ở đỉnh, dạng mũ ở đỉnh không rõ như thùy giữa. Cánh môi ở giữa lớn nhất (6), kích thước 30 mm chiều dài, 28 mm chiều rộng ở chỗ rộng nhất, hình trứng, mỏng dễ nhàu nát, màu trắng ở 2 bên, ở giữa màu vàng với các đường màu đỏ, nửa dưới phủ nhiều lông. Nhị hoa dài 18 mm (8), chỉ nhị phát triển mạnh, nạc, hình lòng máng, đỉnh có khía, màu trắng, không mang lông, các nhị lép không tồn tại; bao phấn 2 ô, phần kết nối 2 bao phấn có phủ lông. Bầu dưới (7), kích thước 4 x 3 mm, màu xanh nhạt hơi hồng, phủ lông. Vòi nhụy màu trắng, dạng chỉ, đi xuyên qua khe giữa hai ô phần. Đầu nhụy hình phễu, chia 3 thùy không rõ ràng, kích thước 3 x 3 mm, miệng nhỏ có phủ lông mịn. Không thấy quả.

Dựa vào đặc điểm hình thái thực vật, đối chiếu với các tài liệu về thực vật, chúng tôi giám định tên khoa học của cây sa nhân quế thu hái tại huyện Khánh Vĩnh, tỉnh Khánh Hòa là *Amomum cinnamomeum* Škorničk., Luu & H. Đ. Trần, họ Gừng (Zingiberaceae) [3-5].

Mẫu nghiên cứu sau khi thu hái được xử lý như sau: một phần được ngâm trong hỗn hợp ethanol – nước (1:1) để nghiên cứu đặc điểm

vi phẫu; một phần được rửa sạch sấy khô ở nhiệt độ 50°C trong tủ sấy, bảo quản trong các túi PE kín, để nơi thoáng mát, khô ráo, làm nguyên liệu nghiên cứu đặc điểm bột. Phần mẫu tươi còn lại được cắt nhỏ để xác định hàm lượng tinh dầu.

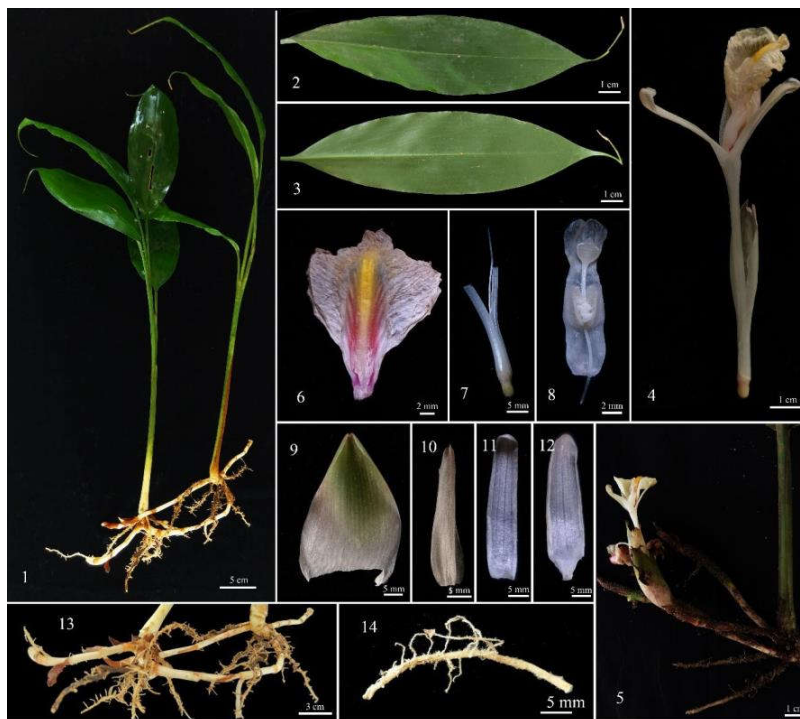
Thiết bị nghiên cứu

Dụng cụ thủy tinh phòng thí nghiệm, kính hiển vi, máy chụp ảnh chuyên dụng. Bộ dụng cụ định lượng tinh dầu nhẹ hơn nước theo Dược điển Mỹ. Hệ thống sắc ký khí kết hợp khối phổ bao gồm hệ thống sắc ký khí Agilent 7890A kết nối detector khối phổ 5975C, cột sắc ký DB-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m).

Phương pháp nghiên cứu

Mô tả đặc điểm vi phẫu

Cắt vi phẫu bằng dụng cụ cắt vi phẫu cầm tay, chọn các lát cắt mỏng, tẩy vi phẫu bằng cloramin B/javen, rửa nhiều lần với nước, ngâm các lát cắt trong acid acetic 5%, rửa lại với nước, tiếp tục ngâm với cloral hydrat nếu lát cắt nhiều tinh bột. Nhuộm vi phẫu theo phương pháp nhuộm kép với xanh methylen và đỏ son phen. Lên tiêu bản trong glycerin, quan sát trên kính hiển vi và chụp ảnh [2].



Hình 1. Đặc điểm hình thái cây sa nhân quế

1: Toàn cây; 2, 3: Lá; 4, 5: Hoa; 6: Cánh môi; 7: Bầu; 8: Nhị; 9: Lá bắc;
10, 11, 12: Thùy tràng; 13: Thân rễ; 14: Rễ

Mô tả đặc điểm bột

Soi bột: Mẫu nghiên cứu được sấy khô, tán thành bột, rây qua rây cỡ 150 μm . Lên bột trong nước, quan sát trên kính hiển vi, chọn các đặc điểm điển hình để chụp ảnh [2].

Định lượng tinh dầu trong dược liệu

Định lượng tinh dầu trong dược liệu theo phương pháp cất kéo hơi nước bằng bộ định lượng tinh dầu nhẹ hơn nước theo Dược điển Mỹ [1]. Cân chính xác 200 g dược liệu tươi đã được thái nhỏ cho vào bình cầu 2000 ml. Thêm 1000 ml nước. Cất kéo hơi nước trong 3 giờ, cho đến khi thể tích tinh dầu trong ống hứng không tăng lên nữa, để nguội, đọc thể tích tinh dầu thu được trong bộ phận hứng. Tính hàm lượng tinh dầu theo công thức sau:

$$X\% = (a \times 100)/b$$

Trong đó: X: Hàm lượng phần trăm tinh dầu (thể tích/khối lượng);

a: Thể tích tinh dầu đọc được sau khi cất (tính theo ml);

b: Khối lượng dược liệu tươi (tính theo gam).

Phân tích thành phần tinh dầu bằng GC/MS

Tinh dầu được pha loãng trong cloroform đến nồng độ thích hợp (10^{-3} , v/v). Chương trình nhiệt độ được cài đặt như sau: nhiệt độ bắt đầu ở 40 °C, giữ nguyên trong 2 phút. Tiếp tục tăng nhiệt độ với tốc độ 3 °C/phút đến 180 °C, giữ nguyên trong 5 phút. Sau đó tiếp tục tăng nhiệt độ với tốc độ 10 °C/phút đến 250 °C và giữ nguyên trong 2 phút. So sánh dữ liệu phổ khối của các thành phần trong mẫu phân tích với thư viện phổ NIST 08 kết hợp với tính toán giá trị RI (retention indices) của các chất dựa trên dãy đồng đẳng alkan (C8-C20) được phân tích ở cùng điều kiện để xác định các thành phần trong tinh dầu.

Kết quả

Đặc điểm vi phẫu

Vi phẫu lá

Gân giữa: Gân trên hơi lõm, gân dưới lõ (hình 2). Biểu bì trên (1) và biểu bì dưới (2) gồm một hàng tế bào hình chữ nhật, kích thước đồng đều. Dưới biểu bì là mô dày (3). Mô mềm (4) gồm những tế bào đa giác, thành mỏng, kích thước không đồng đều, xếp lộn xộn. Các bó libe - gỗ nằm rải rác trong mô mềm, kích thước không đồng đều, tạo thành vòng cung không liên tục hướng về phía gân trên. Mỗi bó có các mạch gỗ kích thước không đều (5), libe (6) xếp thành hình nón, sợi (7) bao quanh phần libe.

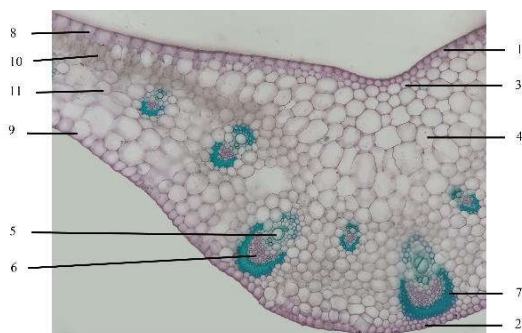
Phiến lá: Biểu bì trên (8) và biểu bì dưới (9) gồm những tế bào hình chữ nhật, kích thước đồng đều, kích thước lớn hơn so với biểu bì gân lá. Mô giậu (10) gồm 1 lớp tế bào xếp vuông góc với biểu bì trên. Mô mềm phiến lá (11) gồm các tế bào hình đa giác, kích thước không đều, xếp lộn xộn.

Vi phẫu thân rễ

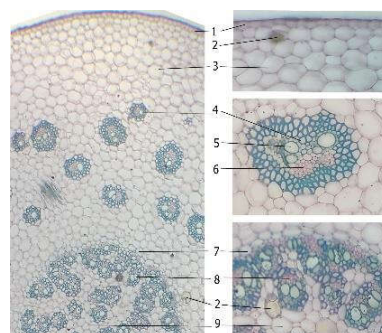
Vi phẫu có tiết diện tròn (hình 3). Từ ngoài vào trong gồm có: Biểu bì (1) gồm 1 lớp tế bào. Mô mềm vỏ (3) tế bào hình đa giác, kích thước không đều. Rải rác trong mô mềm có các tế bào tiết tinh dầu (2). Nội bì gồm một hàng tế bào khá đều đặn xếp thành vòng liên tục (7). Các bó libe - gỗ (4, 8) kích thước không đều, xếp lộn xộn cả ở vùng mô mềm vỏ và trung trụ. Mỗi bó gồm gỗ với các mạch gỗ kích thước không đều (5) và libe (6). Xung quanh các bó libe - gỗ thường có mô cứng bao quanh. Mô mềm ruột (9), tế bào hình đa giác, kích thước nhỏ hơn tế bào mô mềm vỏ.

Đặc điểm bột toàn cây

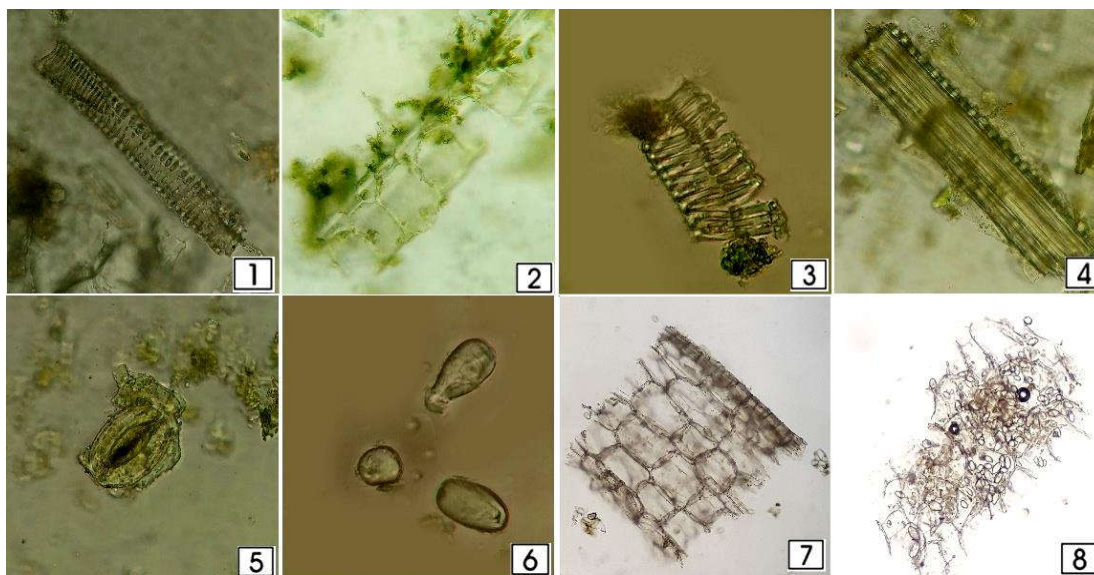
Bột màu xanh đậm, mùi thơm đặc trưng, vị hơi cay. Quan sát dưới kính hiển vi (hình 4) thấy: Các mảnh mạch xoắn hay mạch mạng (1, 3), mảnh phiến lá (2). Bó sợi (4) mang tinh thể canxi oxalat hình khối. Rải rác có thể quan sát thấy lỗ khí (5), các hạt tinh bột nhiều hình dạng (6), mảnh mô mềm (7, 8).



Hình 2. Vi phẫu lá sa nhân quế
 1: Biểu bì trên (gân lá); 2: Biểu bì dưới (gân lá); 3: Mô dày; 4: Mô mềm; 5: Gỗ; 6: Libe; 7: Sợi; 8: Biểu bì trên (phiến lá); 9: Biểu bì dưới (phiến lá); 10: Mô giậu; 11: Mô mềm phiến lá.



Hình 3. Vi phẫu thân rễ sa nhân quế
 1: Biểu bì; 2: Tế bào tiết; 3: Mô mềm vỏ; 4, 8: Bó dẫn; 5: Mạch gỗ; 6: Libe; 7: Nội bì; 9: Mô mềm ruột



Hình 4. Một số đặc điểm bột sa nhân quế
 1, 3, 9: Mạch; 2: Mảnh phiến lá; 4: Bó sợi; 5: Lỗ khí; 6: Hạt tinh bột; 7, 8: Mảnh mô mềm

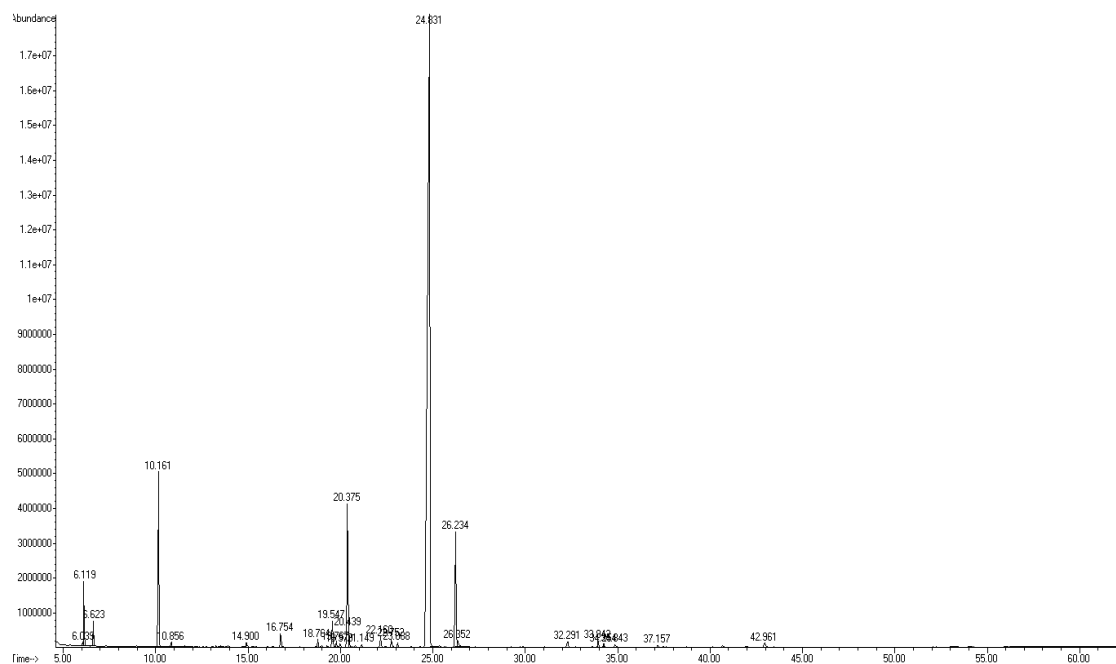
Hàm lượng tinh dầu trong dược liệu

Hàm lượng tinh dầu trong dược liệu là 0,1 % tính theo nguyên liệu tươi.

Thành phần tinh dầu sa nhân quế

25 hợp chất đã được xác định trong tinh dầu sa nhân quế sử dụng phương pháp sắc ký khí kết nối khối phổ (hình 6). Trong các thành phần đã được xác định, trans-cinnamaldehyd

là hợp chất chiếm tỷ lệ phần trăm tính theo diện tích pic cao nhất (72,31%). Đây chính là thành phần giúp cho dược liệu có mùi thơm đặc trưng của quế. Ngoài ra một số thành phần khác cũng chiếm tỷ lệ tương đối lớn như benzaldehyd (6,42%), menthol (6,37%) và cinnamyl alcohol (5,68%). 4 thành phần này chiếm 90,78% các chất trong tinh dầu tính theo diện tích pic.



Hình 5. Sắc ký đồ GC-MS phân tích tinh dầu sa nhân quế

Bảng 1. Kết quả phân tích thành phần tinh dầu sa nhân quế bằng GC-MS

TT	Rt	RI	Hợp chất	% diện tích pic
1	6,120	844,34	3-hexen-1-ol	1,72
2	6,625	860,13	1-hexanol	0,7
3	10,163	957,09	benzaldehyd	6,42
4	10,858	971,79	β-pinen	0,17
5	14,901	1057,3	phenyl methyl keton	0,21
6	16,754	1096,5	linalool	0,54
7	18,763	1138,7	camphor, (1R, 4R)-(+)-	0,32
8	19,549	1155,2	benzenepropanal	1,34
9	19,768	1159,8	1,2-propanedion, 1-phenyl-	0,23
10	19,977	1164,2	endo-borneol	0,17
11	20,373	1172,5	menthol	6,37
12	20,439	1173,9	p-menth-1-en-4-ol	0,62
13	21,149	1188,8	α-terpineol	0,13
14	22,158	1210,3	cis-cinnamaldehyd	0,53
15	22,754	1223,3	benzenepropanol	0,39
16	23,087	1230,5	d-pulegon	0,19
17	24,830	1268,4	trans-cinnamaldehyd	72,31
18	26,235	1298,9	cinnamyl alcohol	5,68
19	26,354	1301,5	2-methoxy-4-vinylphenol	0,41
20	32,292	1437,4	cinnamyl acetat	0,3
21	33,944	1476,2	β-selinen	0,32
22	34,254	1483,4	α-selinen	0,17
23	34,844	1497,3	pentadecan	0,16
24	37,159	1552,6	nerolidol	0,11
25	42,959	1690,3	heptadecan	0,37

Ghi chú: Rt: Thời gian lưu, RI: Retention indices

Bàn luận

Loài sa nhân quế (*Amomum cinnamomeum* Škorničk., Luu & H. Đ. Trần) gần đây đã được công bố là loài mới bởi nhóm nghiên cứu của Lưu Hồng Trường và CS., với mẫu nghiên cứu thu tại Ninh Thuận. Trong nghiên cứu này, mẫu sa nhân quế thu tại huyện Khánh Vĩnh, tỉnh Khánh Hòa được nghiên cứu đặc điểm hiển vi, hàm lượng và thành phần hóa học của tinh dầu. Những dữ liệu thu được cung cấp các thông tin hữu ích để xác định tính đúng của mẫu nghiên cứu cũng như làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo trên dược liệu này.

Kết luận

Tên khoa học của cây sa nhân quế thu tại tỉnh Khánh Hòa được giám định là *Amomum cinnamomeum* Škorničk., Luu & H. Đ. Trần, họ Gừng (Zingiberaceae). Đặc điểm vi phẫu lá, vi phẫu thân rễ và đặc điểm bột dược liệu được mô tả, minh họa bằng ảnh chụp. Hàm lượng tinh dầu trong toàn cây là 0,1% tính theo dược liệu tươi. Phân tích thành phần hóa học của tinh dầu sử dụng sắc ký khí ghép nối khối phổ giúp phát hiện 25 hợp chất trong tinh dầu

với trans-cinnamaldehyd (72,31%), benzaldehyd (6,42 %), menthol (6,37 %) và cinnamyl alcohol (5,68 %) là các thành phần chính. Những dữ liệu thu được hữu ích trong việc nhận biết, kiểm nghiệm dược liệu cũng như là cơ sở cho các nghiên cứu sâu hơn về thành phần hóa học và tác dụng sinh học của loài sa nhân quế.

Tài liệu tham khảo

1. Phạm Thanh Kỳ, Nguyễn Thị Tâm (2015), *Dược liệu học*, tập II, NXB Y học, Hà Nội.
2. Trần Công Khánh (2005), *Phương pháp nghiên cứu với kính hiển vi*, NXB Y học, Hà Nội.
3. Armen Takhtajan (2009), *Flowering plants*, Springer Science & Business Media.
4. Jana leong - Škorníčková et al. (2019), "The identity of *Amomum trilobum* and *Amomum unifolium* (Zingiberaceae: Alpinioideae), and description of four new related species from Vietnam", *Phytotaxa*, 401 (3), pp. 149-165.
5. Tong S. Q. et al. (2000), "*Amomum*", in *Flora of China*, vol. 24, pp. 347-356.