

THÀNH PHẦN HÓA HỌC TINH DẦU LÁ CAM CHANH - *Citrus sinensis* (L.) Osbeck TRỒNG Ở NGHỆ AN

Phan Xuân Thiệu*, Hoàng Vĩnh Phú, Nguyễn Anh Dũng

Trường đại học Vinh, *phanthieu2003@yahoo.com

TÓM TẮT: Bằng phương pháp cất lôi cuốn hơi nước đã xác định được hàm lượng tinh dầu trong lá của 3 giống cam Chanh (*Citrus sinensis*): cam Chanh, cam Vân Du và cam Chịu nhiệt so với nguyên liệu tươi của tương ứng là 0,45%, 0,25% và 0,30%. Thành phần hóa học của tinh dầu được xác định bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ cho thấy, có 48 hợp chất đã được phát hiện, trong đó, chủ yếu là các monoterpene. Thành phần chính của tinh dầu gồm sabinene (24,85-34,45%), linalool (9,95-12,25%), limonene (7,13-9,80%), (Z)- β -ocimene (6,80-8,87%), Δ^3 -carene (3,08-4,07%), E-citral (geraniol) (6,99-10,66%), Z-citral (neral) (1,65-2,63%), β -caryophyllene (2,52-3,40%), spathoulenol (allo) (3,08-5,11%) và β -sinensal (4,20-6,75%).

Từ khóa: *Citrus sinensis*, monoterpene, linalool, limonene, sabinene, tinh dầu.

MỞ ĐẦU

Chi cam quýt (*Citrus*) có khoảng hơn 20 loài, phân bố tự nhiên ở Ấn Độ, miền Nam Trung Quốc, Việt Nam, Lào, Campuchia, Thái Lan và Mianma, trong đó, trung tâm phong phú và đa dạng nhất là khu vực Ấn Độ và Malaixia [18]. Ở Việt Nam, chi Cam quýt có khoảng 20 loài và rất nhiều giống (cultivars) được trồng hầu hết các vùng [24].

Các giống cam quýt được trồng chủ yếu để lấy quả ăn, ngoài ra, còn được dùng làm nguyên liệu sản xuất axit xitric. Vỏ quả, hoa và lá của nhiều giống dùng để cất tinh dầu và tách các hợp chất flavonoid có hoạt tính sinh học cao như chống oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn, ức chế các tế bào ung thư và ngăn ngừa các bệnh về tim mạch [12, 14, 25]. Hầu như tất cả các loài thuộc chi Cam quýt đều có chứa tinh dầu ở trong vỏ quả, lá và hoa. Tinh dầu trong lá phần lớn ở các loài là nguồn nguyên liệu quan trọng trong công nghệ chế biến thực phẩm, dược phẩm và hương liệu [1, 23].

Việc nghiên cứu tinh dầu của các loài và giống cam quýt đã được nhiều công trình đề cập đến và đã cho thấy, thành phần chủ yếu trong tinh dầu của hầu hết các loài thuộc chi Cam quýt là hợp chất thuộc nhóm terpene và nhóm chức rượu, còn các hợp chất thuộc nhóm sesquiterpene thường rất ít [15, 28]. Bài báo này cung cấp một số dẫn liệu về tinh dầu tách từ lá của 3 giống cam chanh trồng

ở Nghệ An.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu

Vật liệu được dùng trong nghiên cứu là lá của loài Cam chanh (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) bao gồm 3 giống: cam Chanh, cam Chịu nhiệt và cam Vân Du được thu tại Trạm thí nghiệm giống cây ăn quả Phù Quỳ, huyện Nghĩa Đàn, tỉnh Nghệ An. Tiêu bản mẫu thực vật được lưu giữ tại Khoa Sinh học, trường đại học Vinh.

Phương pháp

Tinh dầu từ lá các giống được tách bằng phương pháp cất lôi cuốn hơi nước theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam III [3]. Lá tươi (2 kg) được cắt nhỏ và chưng cất trong thời gian 3 giờ ở áp suất thường. Hàm lượng tinh dầu lá được tính theo nguyên liệu tươi.

Thành phần hóa học của tinh dầu được xác định bằng phương pháp sắc ký khí (GC) và sắc ký khí ghép khối phổ (GC/MS). Sắc ký khí trên máy Hewlett-Packard 6890N Plus gắn với đầu dò FID (Agilent Technologies, Mỹ). Cột tách mao quản HP-5MS: dài 30 m, đường kính 0,25 mm, lớp phim dày 0,25 μ m. Chương trình nhiệt độ: 60°C (2 phút) tăng 4°C/phút, đến 220°C (10 phút); nhiệt độ injector 250°C; nhiệt độ detector 260°C, khí mang H₂ (1,4 ml/phút); bơm mẫu tự động, 1 μ l của dung dịch đã pha loãng (50 mg

tinh dầu hòa tan trong 1 ml metanol); tỷ lệ chia dòng 1:50.

Sắc ký khí ghép khối phổ (GC/MS), trên hệ thống HP 6890N/HP 5973 MS, cột HP-5MS (dài 30 m; đường kính 0,25 mm; lớp phim dày 0,25 μ m), điều kiện phân tích như trên chỉ khác khí mang là He. Các thông số vận hành khối phổ (MS) là điện thế ion hóa 70 eV; nhiệt độ nguồn ion 230°C, khoảng khối lượng m/z 35-50.

Các thành phần tinh dầu được xác nhận bằng cách so sánh các dữ kiện phổ MS của chúng với phổ chuẩn đã được công bố có trong

thư viện Willey/Chemstation HP.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Bằng phương pháp cất lôi cuốn hơi nước đã xác định được hàm lượng tinh dầu trong lá so với nguyên liệu tươi của cam Chanh, cam Vân Du, cam Chịu nhiệt tương ứng là 0,45%, 0,25% và 0,30%. Tinh dầu có màu trắng, mùi thơm tự nhiên.

Sử dụng phương pháp sắc ký khí và sắc ký khí ghép khối phổ, chúng tôi đã xác định được thành phần hóa học của tinh dầu từ lá của các giống Cam chanh (bảng 1).

Bảng 1. Thành phần hoá học của tinh dầu từ lá các giống Cam chanh

STT	Tên hợp chất	Hàm lượng % trong tinh dầu lá		
		Cam Chịu nhiệt	Cam Vân du	Cam Chanh
1	α -thujene	0,30	0,30	0,25
2	α -pinene	1,20	1,34	1,16
3	β -pinene	0,87	Vết	Vết
4	Camphene	0,05	0,05	0,05
5	Sabinene	24,85	34,45	27,18
6	Myrcene	0,20	0,28	0,27
7	Δ^3 -carene	4,07	4,03	3,58
8	Limonene	9,80	7,34	7,13
9	(Z)- β -ocimene	8,87	6,80	8,00
10	trans-sabinen hydrate	0,05	-	-
11	α -terpinolene	0,37	0,75	0,27
12	Linalool	12,25	9,95	9,90
13	(E)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatrien	0,01	0,02	trace
14	Allo-ocimene	1,38	1,29	0,68
15	Citronellal	0,28	0,21	0,22
16	Tecpinol-4-ol	Vết	0,01	Vết
17	Decanon	-	Vết	Vết
18	β -citronellol	Vết	0,01	0,14
19	Z-citral (neral)	2,63	2,25	1,65
20	(trans)-geraniol	Vết	Vết	Vết
21	E-citral (geranial)	6,99	7,62	10,66
22	Thymol	0,01	Vết	0,03
23	Methyl geranate	0,03	0,03	0,02
24	Citronellyl acetate	0,04	0,05	0,03
25	Neryl acetate	0,02	0,03	0,02
26	Geranyl acetate	0,05	0,10	0,06
27	γ -terpinene	0,69	0,58	0,35
28	Bicycloelemene	0,08	0,10	0,10
29	β -elemene	0,09	0,10	0,06

30	β -caryophyllene	3,40	3,23	2,52
31	γ -elemene	0,21	0,12	0,02
32	α -humulene	1,32	1,90	1,81
33	β -selinene	Vết	0,16	0,22
34	α -selinene	0,33	0,05	0,08
35	δ -cadiene	Vết	Vết	0,70
36	Elemol	0,32	Vết	0,17
37	Nerolidol	0,03	0,04	0,09
38	Caryophyllene oxide	0,11	0,14	Vết
39	Isoaromadendrene oxide	Vết	0,05	Vết
40	T-cadiene	0,04	0,04	Vết
41	α -cadinol	1,14	0,89	1,35
42	Spathulenol (allo)	4,54	3,08	5,11
43	Santalol	0,43	0,45	0,81
44	β -sinensal	6,09	4,20	6,75
45	Oplophenon	0,02	0,03	0,1
46	Isospathulenol	0,05	Vết	0,06
47	(E,E)-farnesene	0,01	0,07	0,05
48	α -sinensal	0,04	0,02	0,07
	Monoterpene	74,32	75,18	70,14
	Sesquiterpene	18,88	15,13	20,25
	Monoterpene aldehydes	9,90	8,08	12,53
	Monoterpene alcohols	11,31	7,97	7,92
	Monoterpene esters	0,14	0,22	0,13
	Sesquiterpene aldehydes	6,11	4,22	6,82
	Sesquiterpene alcohols	6,51	4,99	7,42
	Sesquiterpene esters	0,02	0,03	0,10
	Tổng thành phần chứa oxi	34,99	27,03	36,92

Vết < 0,01%.

Dẫn liệu bảng 1 cho thấy, tinh dầu từ lá của các giống Cam chanh được nghiên cứu là hỗn hợp nhiều thành phần khác nhau của hydrocarbon, alcohol, aldehyde, ketone và ester. Tổng số 48 hợp chất đã được xác định, trong đó chủ yếu là các hợp chất monoterpene chiếm 70,14-75,18%, còn lại là sesquiterpen chiếm 15,13-20,25%.

Thành phần chính có hàm lượng lớn nhất của tinh dầu lá các giống Cam chanh là sabinene (24,85-34,45%). Các hợp chất khác có hàm lượng tương đối lớn như linalool (9,95-12,25%), limonene (7,13-9,80%), (Z)- β -ocimene (6,80-8,87%), Δ^3 -carene (3,08-4,07%), E-citral (geranial) (6,99-10,66%), Z-citral (neral) (1,65-2,63%), β -caryophyllene (2,52-3,40%),

spathulenol (3,08-5,11%) và β -sinensal (4,20-6,75%). Kết quả trên còn cho thấy, tinh dầu từ lá có các thành phần chứa oxi chiếm hàm lượng cao (27,03-36,92%), đặc biệt là hợp chất citral: E-citral (geranial) và Z-citral (neral) có hàm lượng khá cao.

THẢO LUẬN

Do khả năng ứng dụng cao cũng như có vai trò kinh tế quan trọng, nên đã có rất nhiều công trình nghiên cứu với mục đích xác định các thành phần của tinh dầu tách từ vỏ và lá của các loài thuộc chi Cam quýt [13, 21, 22, 26]. Tinh dầu cam quýt có chứa lượng lớn monoterpene và sesquiterpene. Những thành phần chứa oxi dẫn xuất từ các hydrocarbon này gồm có

alcohol, aldehyde, ketone, ester, ether, phenol và oxide [20, 23]. Các kết quả đã cho thấy, thành phần chính của tinh dầu của các loài có khác nhau, ngay trong cùng một loài nhưng các bộ phận khác nhau có thành phần cũng khác nhau. Cụ thể, limonene là thành phần chính (71-95%) của tinh dầu các loài *C. grandis*, *C. sienensis*, *C. reticulata* và *C. limonia* [22]. Limonene, β -myrcene và β -pinene là thành phần chính của vỏ quả *C. sinensis* ở Algerian [10]. Trong khi đó, limonene và myrcene được xem là thành phần cơ bản của các loài cam ngọt, cam đắng, bưởi, chanh ở nhiều nước [5].

Kết quả phân tích tinh dầu từ lá của 3 giống Cam chanh (*C. sinensis*) nói trên của chúng tôi cho thấy các hợp chất nhóm monoterpene chiếm chủ yếu (70,14-75,18%). Thành phần có hàm lượng lớn nhất là sabinene, trong khi limonene tương đối thấp (7,13-9,80%). Đáng chú ý là các dẫn xuất chứa oxi của monoterpene và sesquiterpene như linalool, citral, spathoulenol và β -sinensal chiếm tương đối cao (27,03-36,92%). Đây là điều khác biệt khá rõ khi so sánh với tinh dầu nhiều loài cam quýt trong các công trình đã công bố đề cập ở trên cũng như trong cùng giống nhưng khác bộ phận dùng tách tinh dầu [19, 27].

Kết quả phân tích tinh dầu từ lá của 5 giống Cam chanh (*C. sinensis*) ở Ai cập [8] đã cho thấy thành phần chính là limonene (4,68-21,46%), α -pinen (8,66-26,36), β -pinene (10,48-25,00) và linalool (0,79-46,63%). Điều này khá khác biệt khi so sánh với kết quả của chúng tôi, đặc biệt, các hợp chất neral và geranial (< 2%) cũng như sabinene (< 1%) có hàm lượng thấp hơn rất nhiều. Tuy nhiên, hàm lượng của tổng các thành phần chứa oxi cũng như từng thành phần như ancol, andehit, xeton và este trong nghiên cứu của chúng tôi khá phù hợp với những dẫn liệu phân tích của Gancel et al. (2003) [11].

Hàm lượng các hợp chất chứa oxi trong tinh dầu của 3 giống Cam chanh tương đương với tinh dầu lá bưởi chùm (30,20%), cao hơn so với kim quất (19,80) và quýt (1,60%), nhưng thấp hơn so với chanh lá cam (45,70%) và chanh (44,70%) [11]. Trong số các hợp chất là dẫn xuất oxi, citral (geranial và neral) đóng vai trò

quyết định đến chất lượng mùi thơm cũng như giá trị thương phẩm của tinh dầu [4, 7]. Lượng citral và linalool trong nghiên cứu của chúng tôi có thể so sánh với tinh dầu của *C. limon* và *C. aurantifolia* [16]. Đây là những loài cung cấp nguyên liệu chính sản xuất tinh dầu cam quýt trên thế giới, điều này cho thấy, tinh dầu tách từ lá 3 giống Cam chanh nói trên có giá trị về chất lượng.

Thông qua việc phân tích thành phần hóa học của tinh dầu từ lá của các loài cam quýt, dựa vào các cấu tử chính nhiều dạng hóa học (chemotypes) đã được chỉ ra. Đối với *C. limon* (lemon) có 2 dạng là limonene/ β -pinene/geranial/neral hoặc linalool/linalyl acetate/ α -terpineol. Còn *C. aurantifolia* (lime) có 4 dạng là β -pinene/limonene; limonene/geranial/neral; limonene/linalool/citronellal và limonene/sabinene/citronellal/linalool [17]. Linalool, sabinen/linalool, β -pinene/linalool hoặc γ -terpinene hoặc methyl-N-methylantranilate là những dạng hóa học được phát hiện khi phân tích thành phần tinh dầu lá của 35 giống quýt (*C. reticulata*) [9].

Trong khi đó, dạng hóa học được xác định khi phân tích thành phần chính tinh dầu tách từ lá của 5 dòng cam chua (*C. aurantium*) của Italia là β -pinene/myrcene/ linalool/linalyl axetat [6]. Còn từ lá cây chanh yên (*C. medica*) là erucylamid/limonene/citral [2]. Tương tự, limonene/neral/geranial là dạng hóa học quan sát thấy từ nghiên cứu thành phần chính tinh dầu từ lá của 6 giống thuộc 2 loài *C. limonimeditica* và *C. medica* [16].

Từ kết quả phân tích của chúng tôi, nhận thấy có thể xem 3 giống cam chanh là cùng một dạng hóa học với các cấu tử chìa khóa là sabinen và sabinene/linalool hoặc sabinene/linalool/citral. Điều này cũng phù hợp với các nhận định của Lota et al. (1999) [16] khi cho rằng sabinen và sabinene/linalool là những dạng hóa học thường tìm thấy trong loài cam ngọt (*C. sinensis*).

KẾT LUẬN

Đã xác định được tinh dầu từ lá các giống Cam chanh có 48 hợp chất, trong đó chủ yếu là các hợp chất monoterpene. Thành phần chính

của tinh dầu gồm sabinene, linalool, limonene, citral, (Z)- β -ocimene, β -sinensal, spathulenol, Δ^3 -carene và β -caryophyllene. Các dẫn xuất chứa oxi như alcohol, aldehyde, ketone và ester chiếm hàm lượng cao, đặc biệt là hợp chất linalool và citral.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Huy Bích, Phạm Văn Hiến, Trần Toàn, Vũ Ngọc Lộ, 2003. Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam. Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 1137 trang.
2. Bhuiyan M. N. I., Begum J., Sardar P. K., Rahman M. S., 2009. Constituents of peel and leaf essential oils of *Citrus medica* L. J. Sci. Res., 1(2): 6-11.
3. Bộ Y tế, 2002. Dược điển Việt Nam III. Nxb. Y học, Hà Nội, 535 trang.
4. Bradoodck R. J., 1994. By-products of citrus fruit. Food Technol., 49(9): 74-77.
5. Caccioni D. R., Guizzardi M., Biondi D. M., Renda A., Ruberto G., 1998. Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *penicillium italicum*. Int. J. Food Microbiol., 43(1-2): 73-79.
6. Depasquale F., Siragusa M., Abbate L., Tusa N., Depasquale C., Alonzo G., 2006. Characterization of five sour orange clones through molecular markers and leaf essential oils analysis. Sci. Hort., 109(1): 54-59.
7. Diaz S., Espinosa S., Brignole E. A., 2005. Citrus peel oil deterpenation with supercritical fluids optimal process and solvent cycle design. J. Super Flu., 35(1): 49-61.
8. Fadel H. H. M., 1991. Comparison studies on leaf oils of Egyptian citrus varieties. Food Chem., 4(3): 196-199.
9. Fanciullino A. L., Tomi F., Luro F., Desjobert J. M., Casanova J., 2006. Chemical variability of peel and leaf oils of mandarins. Flavour Fragr J., 21(2): 359-367.
10. Ferhat M. A., Meklati B. Y., Smadja J., Chemat F., 2006. An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. J. Chromatogr A., 1112(1-2): 121-126.
11. Gancel A. L., Ollitrault P., Froelicher Y., Tomi F., Jacquemond C., Luro F., Brillouet J. M., 2003. Leaf volatile compounds of seven citrus somatic tetraploid hybrids sharing willow leaf mandarin (*Citrus deliciosa* Ten.) as their common parent. J. Agric. Food Chem., 51(20): 6006-6013.
12. Gorinstein S., 2004. Characterization of antioxidant compounds in Jaffa sweeties and white grapefruits. Food Chem., 84(4): 503-510.
13. Hosni K., Zahed N., Chrif R., Abid I., Medfei W., Kallel M., Brahim N. B., Sebei H., 2010. Composition of peel essential oils from four selected Tunisian Citrus species: Evidence for the genotypic influence. Food Chem., 33(123): 1098-1104.
14. Kim H., Moon J. Y., Mosaddik A., Cho S. K., 2010. Induction of apoptosis in human cervical carcinoma HeLa cells by polymethoxylated flavone-rich *Citrus grandis* Osbeck (Dangyuja) leaf extract. Food Chem. Toxicol., 48(8-9): 2435-2442.
15. Kirbaslar G., Kirbaslar S. I., 2004. Composition of Turkish Bitter Orange and Lemon Leaf Oils. J. Essent. Oil Res., 16(2): 105-108.
16. Lota M. L., Rocca Serra D., Tomi F., Bessiere J. M., Casanova J., 1999. Chemical composition of peel and leaf essential oils of *Citrus medica* L. and *C. limonimeditica* Lush. Flavour Fragr J., 14(3): 161-166.
17. Lota M. L., Rocca S. D., Tomi F., Jacquemond C., Casanova J., 2002. Volatile components of peel and leaf oils of lemon and lime species. J. Agric. Food Chem., 50(4): 796-805.
18. Mabberley D. J., 2004. Citrus (Rutaceae): A Review of Recent Advances in Etymology, Systematics and Medical Applications. Blumea - Biodiver, Evol. Biogeogr. Plants, 49(2-3): 481-498.

19. Hoàng Văn Mai, Phan Xuân Thiệu, 2001. Thành phần tinh dầu vỏ cam Xã Đoài (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). Tạp chí Sinh học, 23(3C): 47-55.
20. Merle H., 2004. Taxonomical contribution of essential oils in mandarins cultivars. *Biochem. Syst. Ecol.*, 32(5): 491-497.
21. Minh Tu N. T., Thanh L. X., Une A., Ukeda H., Sawamura M., 2002. Volatile constituents of Vietnamese pummelo, orange, tangerine and lime peel oils. *Flavour Fragr J.*, 17(3): 169-174.
22. Mitiku S. B., Sawamura M., Itoh T., Ukeda H., 2000. Volatile components of peel cold-pressed oils of two cultivars of sweet orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) from Ethiopia. *Flavour Fragr J.*, 15(4): 240-244.
23. Mohamed A. A., El-etary G. A., Ali H. F., 2010. Influence of Some Citrus Essential Oils on Cell Viability, Glutathione-S-Transferase and Lipid Peroxidation in Ehrlich ascites Carcinoma Cells. *In Vitro.*, 6(10): 820-826.
24. Lã Đình Mối, Lưu Đàm Cư, Trần Minh Hội, Nguyễn Thị Thủy, Nguyễn Thị Phương Thảo, Trần Huy Thái, Ninh Khắc Bản, 2001. Tài nguyên thực có tinh dầu ở Việt Nam. Nxb. Nông nghiệp, Hà Nội, 315 trang.
25. Okonogi S., Duangrat C., Anuchpreeda S., Tachakittirungrod S., Chowwanapoonpohn S., 2007. Comparison of antioxidant capacities and cytotoxicities of certain fruit peels. *Food Chem.*, 103(3): 839-846.
26. Smadja J., Rondeau P., Sing A. S. C., 2005. Volatile constituents of five Citrus Petitgrain essential oils from Reunion. *Flavour Fragr J.*, 20(4): 399-402.
27. Phan Xuân Thiệu, Vũ Đình Anh, Nguyễn Thành Sơn, 2006. Thành phần hóa học trong tinh dầu từ vỏ quả của một số loài thuộc chi cam quýt (*Citrus*) trồng tại huyện Hương Khê, tỉnh Hà Tĩnh. Một số công trình nghiên cứu khoa học trong sinh học. Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
28. Vekari S. A., Protopapadakis E. E., Gianovits-Aegyriadou N., 2004. Composition of the leaf and peel oils of *Citrus medica* L. "Diamante" from Crete. *J. Essent. Oil Res.*, 16(6): 528-530.

CHEMICAL COMPONENTS OF THE ESSENTIAL OILS FROM LEAF OF *Citrus sinensis* (L.) Osbeck IN NGHE AN PROVINCE

Phan Xuan Thieu, Hoang Vinh Phu, Nguyen Anh Dung

Vinh University

SUMMARY

The leaf oil of sweet orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), namely three cultivars "Cam chanh", "cam Chiu nhiet" and "cam Van du" in Nghe An province was obtained by steam distillation. The chemical components of essential oil were analyzed by gas chromatography (GC) and gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). The results showed that there were forty eight components identified. In which, the principal components were monoterpene hydrocarbons. The main constituents of essential oil were found to be sabinene (24.85-34.45%), linalool (9.95-12.25%), limonene (7.13-9.80%), (Z)- β -ocimene (6.80-8.87%), Δ^3 -carene (3.08-4.07%), E-citral (geraniol) (6.99-10.66%), Z-citral (neral) (1.65-2.63%), β -caryophyllene (2.52-3.40%), spathoulenol (allo) (3.08-5.11%) and β - sinensal (4.20-6.75%).

Keywords: *Citrus sinensis*, essential oil, linalool, limonene, monoterpene, sabinene.

Ngày nhận bài: 10-4-2012