

TÍNH CHẤT LÝ HÓA VÀ THÀNH PHẦN HÓA HỌC TINH DẦU SA NHÂN KÉ (*AMOMUM XANTHIODES*) Ở A LƯỚI - THỪA THIÊN HUẾ

Nguyễn Ngọc Lê¹, Nguyễn Thị Tân¹, Trần Nhật Minh¹, Hồ Việt Đức², Nguyễn Thị Hoà²

(1) Khoa Y học cổ truyền, Trường Đại học Y Dược Huế, Đại học Huế

(2) Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Huế, Đại học Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Sa nhân ké (*Amomum xanthiodes*) là cây thuốc quý đã được sử dụng khá phổ biến trong nền y học cổ truyền. Tuy nhiên, các nghiên cứu về tinh dầu sa nhân ké ở huyện A Lưới, tỉnh Thừa Thiên Huế còn khá hạn chế. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành xác định các tính chất lý hóa và thành phần hóa học tinh dầu hạt sa nhân ké nhằm tạo cơ sở khoa học, làm rõ giá trị thực tiễn, góp phần phát triển và bảo tồn nguồn dược liệu quý. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Quả sa nhân ké được thu mua tại A Lưới - Thừa Thiên Huế vào tháng 6 năm 2017. Tinh dầu được chiết tách bằng phương pháp cất kéo hơi nước và được xác định các tính chất lý hóa gồm tỉ trọng, chỉ số khúc xạ, chỉ số acid, xà phòng hóa, chỉ số ester, chỉ số iod. Thành phần hóa học của tinh dầu được phân tích bằng phương pháp sắc ký khí - khối phổ liên hợp (GC/MS). **Kết quả:** Hàm lượng tinh dầu hạt sa nhân ké thu được là 1,66% theo nguyên liệu khô. Tỉ trọng (ở 20°C) là 0,911; chỉ số khúc xạ (ở 20°C) là 1,4734; chỉ số acid là 12,74; chỉ số xà phòng hóa là 110,97; chỉ số ester là 98,23 và chỉ số iod của tinh dầu là 24,89. Tinh dầu chứa 15 cấu tử đã được định danh thuộc nhóm monoterpene và dẫn xuất với một số thành phần chính là bornyl acetate (27,26%), camphor (23,73%), endo-borneol (13,78%), camphene (11,62%), D-limonene (10,96%), β -myrcene (6,17%). **Kết luận:** Đã xác định được tính chất lý hóa và thành phần hóa học tinh dầu sa nhân ké ở A Lưới - Thừa Thiên Huế.

Từ khóa: *Amomum xanthiodes*, tinh dầu, tính chất lý hóa, GC/MS, bornyl acetate, camphor.

Abstract

PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES AND CHEMICAL COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OIL OF *AMOMUM XANTHIODES* FROM A LUOI - THUA THIEN HUE

Nguyen Ngoc Le¹, Nguyen Thi Tan¹, Tran Nhat Minh¹, Ho Viet Duc², Nguyen Thi Hoa²

(1) Faculty of Traditional Medicine, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University

(2) Faculty of Pharmacy, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Background: *Amomum xanthiodes* has been popularly used in traditional medicine. However, the knowledge about essential oil of *A. xanthiodes* from A Luoi district, Thua Thien Hue province (Viet Nam) is rather poor. In this study, we determined the physicochemical properties and chemical composition of seed essential oil of this species to provide scientific basis, clarify practical value, contribute to the development and conservation of precious medicine resources. **Materials and method:** Fruits of *A. xanthiodes* were collected from A Luoi - Thua Thien Hue in June 2017. The seed essential oil was extracted by using the hydrodistillation method. Its physicochemical properties were determined including density, refractive index, acid value, saponification value, ester value, and iod value. This oil was then analysed by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). **Results:** The yield obtained from the hydrodistillation procedures was 1.66% (v/w) calculated on a dry weight basis. Density (at 20°C) was 0.911, refractive index (at 20°C) was 1.4734, acid value was 12.74, saponification value was 110.97, ester value was 98.23, and iod value was 24.89. A total of 15 compounds were found in seed essential oil which belonged to monoterpenes and their derivatives. This oil comprised mainly of bornyl acetate (27.26%), camphor (23.73%), endo-borneol (13.78%), camphene (11.62%), D-limonene (10.96%), and β -myrcene (6.17%). **Conclusion:** the physicochemical properties and chemical composition of the essential oil of *Amomum xanthiodes* from A Luoi - Thua Thien Hue have been determined.

Keywords: *Amomum xanthiodes*, essential oil, physicochemical properties, GC/MS, bornyl acetate, camphor.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sa nhân là loài thuốc quý từ lâu đã được sử dụng khá phổ biến trong y học cổ truyền để làm thuốc chữa các bệnh về đường tiêu hóa (đau bụng, đầy bụng, ăn không tiêu, tả lỵ...), chữa tăng huyết áp và sẩy thai. Ngoài ra, sa nhân còn được dùng làm gia vị và điều chế rượu [7]. Ở Việt Nam, sa nhân vốn được coi là loại dược liệu có giá trị kinh tế cao, chủ yếu được thu hái từ cây mọc tự nhiên và hằng năm vẫn được xuất khẩu ra thị trường quốc tế.

Tinh dầu sa nhân ké (*Amomum xanthiodes* Wall.) thuộc chi *Amomum* họ Gừng (Zingiberaceae) chứa nhiều hợp chất hóa học có giá trị như camphene, α -pinene, β -pinene, limonene, alcanfor, β -cubebene, borneol. Ngoài khả năng kháng khuẩn, kháng nấm và chống oxy hóa với hiệu lực ức chế cao, tinh dầu sa nhân còn được chứng minh có tác dụng kìm hãm sự phát triển của tế bào ung thư [13]. Gần đây, thành phần tinh dầu sa nhân ở các địa bàn khác

nhau như Đồng Nai [1], Nghệ An [5], Hà Nội [9] đã được nghiên cứu và công bố. Tuy nhiên, các nghiên cứu về tinh dầu sa nhân ké tại huyện A Lưới, tỉnh Thừa Thiên Huế còn khá hạn chế. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành xác định tính chất lý hóa và thành phần tinh dầu hạt sa nhân ké được trồng trên vườn đồi thuộc huyện A Lưới, tỉnh Thừa Thiên Huế nhằm bước đầu tạo cơ sở khoa học, làm rõ giá trị thực tiễn, góp phần phát triển và bảo tồn nguồn dược liệu quý này.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Quả sa nhân khô (2 kg) được thu mua trong vào tháng 6 năm 2017 từ huyện A Lưới, tỉnh Thừa Thiên Huế. Quả sa nhân được làm sạch sơ bộ để loại bỏ các quả bị sâu, lép, không bị mốc mọt. Sau đó loại lớp vỏ của quả để giữ lại phần hạt. Hạt được xay mịn với kích thước đường kính $\leq 1\text{mm}$.



Hình 2.1. Cây sa nhân *Amomum xanthiodes* ở A Lưới – Thừa Thiên Huế



Hình 2.2. Quả sa nhân *Amomum xanthiodes* thu ở A Lưới – Thừa Thiên Huế

2.2. Thời gian nghiên cứu

Từ tháng 1/2018 đến tháng 8/2018

2.3 Phương pháp nghiên cứu

Tinh dầu hạt sa nhân được tách bằng phương pháp cất kéo hơi nước và được xác định các tính chất lý hóa theo Dược điển Việt Nam IV (2009).

Thành phần hóa học của tinh dầu sa nhân được phân tích bằng phương pháp sắc ký khí - khối phổ liên hợp (GC/MS) trên hệ thống thiết bị GCMS-QP2010 Plus của hãng Shimadzu, Nhật Bản. Hệ thống GC-2010 được lắp với cột sắc ký INERT CAP 5

với chiều dài 30 m, đường kính trong 0,25 mm, lớp phim mỏng 0,25 μm cùng với đầu dò khối phổ MS QP-2010Plus. Khí mang Heli. Nhiệt độ buồng bơm mẫu 250°C, chương trình nhiệt độ buồng điều nhiệt 40° (giữ 1 phút), tăng 4°/phút cho đến 270°C giữ ở nhiệt độ này trong 20 phút. Việc nhận dạng các hợp chất được thực hiện bằng cách so sánh dữ kiện phổ EIMS của chúng với giá trị tương ứng đã được liệt kê trong các thư viện NIST 14. Hàm lượng của các cấu tử được tính toán thông qua diện tích của pic tương ứng trên sắc ký đồ GC.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tính chất lý hóa của tinh dầu *A. xanthioides*:

3.1.1. Chiết tách tinh dầu *A. xanthioides*

Bảng 3.1. Tinh dầu *A. xanthioides* (A Lưới – Thừa Thiên Huế) được chiết tách theo phương pháp cất kéo hơi nước

N _o	Khối lượng hạt khô (g)	Thể tích nước (ml)	Thời gian cất (giờ)	Thể tích tinh dầu (ml)	Hàm lượng tinh dầu (%)	Hàm lượng trung bình (%)
1	74,15	500	4	1,2	1,62	1,66
2	74,16	500	4	1,2	1,62	
3	74,45	500	4	1,3	1,75	

Quá trình chưng cất tinh dầu sa nhân bằng phương pháp cất kéo hơi nước được lặp lại 3 lần. Kết quả hàm lượng tinh dầu hạt sa nhân kế thu được là 1,66% theo nguyên liệu khô (bảng 3.1.). Tinh dầu sa nhân thu được có màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước, mùi thơm nồng, vị hơi cay.



Hình 3.1. Tinh dầu sa nhân *Amomum xanthioides*

3.1.2 Tính chất lý hóa của tinh dầu *A. xanthioides*

Bảng 3.2. Các chỉ số lý hóa cơ bản của tinh dầu *A. xanthioides* (A Lưới – Thừa Thiên Huế)

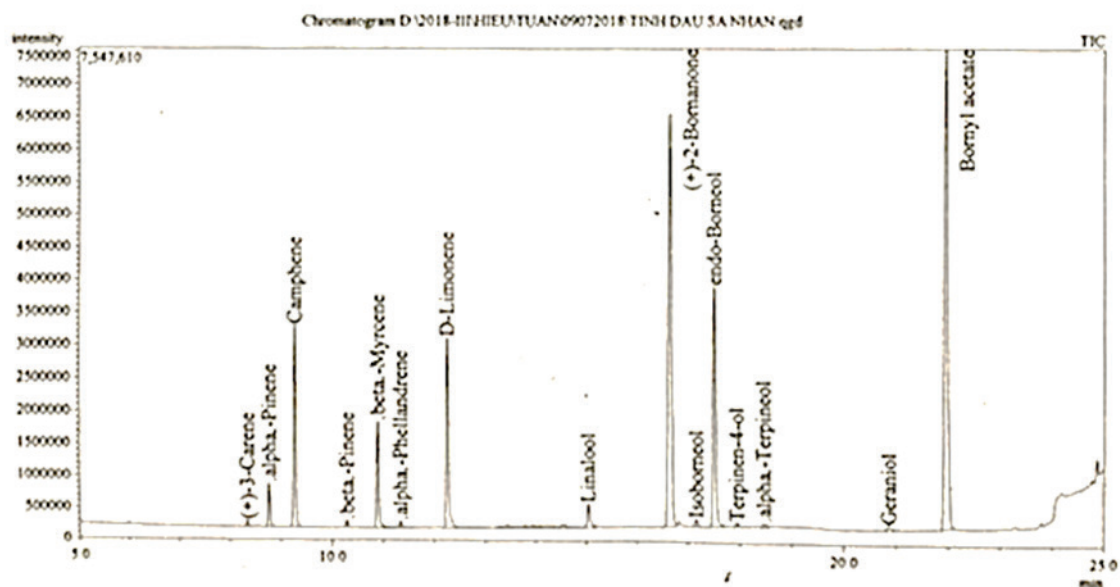
STT	Chỉ số	Kết quả
1	Tỷ trọng $\overline{D}^{20}$	0,911 $\pm$ 0,001
2	Chỉ số khúc xạ N_D^{20}	1,4734 $\pm$ 0,0005
3	Chỉ số acid (I.A.)	12,74 $\pm$ 0,36
4	Chỉ số xà phòng (I.S.)	110,97 $\pm$ 6,16
5	Chỉ số ester (I.E.)	98,23 $\pm$ 3,33
6	Chỉ số iod (I.I.)	24,89 $\pm$ 0,35

Nhận xét: Tinh dầu nghiên cứu có chỉ số khúc xạ thấp ($N_D^{20} = 1,4734$), tinh dầu có hàm lượng acid hữu cơ, ester cao.

3.2. Thành phần hóa học của tinh dầu *A. xanthioides*

Bảng 3.3. Thành phần hóa học của tinh dầu *A. xanthioides* (A Lưới – Thừa Thiên Huế)

STT	Tên hợp chất	Công thức phân tử	Loại	Thời gian lưu (phút)	Hàm lượng (%)
1	(+)-3-Carene	$C_{10}H_{16}$	Monoterpene	8,339	0,41
2	α -Pinene	$C_{10}H_{16}$	Monoterpene	8,763	2,55
3	Camphene	$C_{10}H_{16}$	Monoterpene	9,272	11,62
4	β -Pinene	$C_{10}H_{16}$	Monoterpene	10,285	0,44
5	β -Myrcene	$C_{10}H_{16}$	Monoterpene	10,889	6,17
6	α -Phellandrene	$C_{10}H_{16}$	Monoterpene	11,333	0,37
7	D-Limonene	$C_{10}H_{16}$	Monoterpene	12,262	10,96
8	Linalool	$C_{10}H_{18}O$	Monoterpene ancol	15,040	1,43
9	(+)-2-Bornanone (Camphor)	$C_{10}H_{16}O$	Monoterpene ketone	16,668	23,73
10	Isoborneol	$C_{10}H_{18}O$	Monoterpene ancol	17,159	0,48
11	endo-Borneol (Borneol)	$C_{10}H_{18}O$	Monoterpene ancol	17,520	13,78
12	Terpinen-4-ol	$C_{10}H_{18}O$	Monoterpene ancol	17,945	0,24
13	α -Terpineol	$C_{10}H_{18}O$	Monoterpene ancol	18,466	0,22
14	Geraniol	$C_{10}H_{18}O$	Monoterpene ancol	20,859	0,33
15	Bornyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$	Monoterpene ester	21,977	27,26
Tổng cộng:					100,00



Hình 3.2. Sắc ký đồ GC-MS của tinh dầu hạt sa nhân *Amomum xanthioides* thu ở A Lưới – Thừa Thiên Huế

Nhận xét: Kết quả phân tích GC/MS cho thấy sự hiện diện của 15 cấu tử trong tinh dầu sa nhân *A. xanthioides* thu ở A Lưới – Thừa Thiên Huế (Bảng 3.3.) với hàm lượng dao động trong khoảng 0,22-27,26%. Các cấu tử chính được xác định gồm bornyl acetate, (+)-2-bornanone, endo-borneol, camphene, D-limonene, β -myrcene, chiếm đến 93,52% tổng lượng tinh dầu. Trong số đó, bornyl acetate và (+)-2-bornanone (camphor) chiếm tỉ lệ cao với 27,26, 23,73% tương ứng. Về mặt cấu trúc, tất cả 15 cấu tử đều sở hữu khung monoterpene hoặc các dẫn xuất (ancol, ketone, ester) của chúng.

4. BÀN LUẬN

Tinh dầu có thể được tách ra khỏi nguyên liệu bằng nhiều phương pháp khác nhau như chưng cất bằng nước, hơi nước, chiết bằng dung môi thích hợp, ngâm, ép hay các phương pháp hiện đại như chiết bằng chất lỏng siêu tới hạn, chưng cất với sự hỗ trợ của vi sóng, chiết với sự hỗ trợ của siêu âm, chiết vi sóng không dùng dung môi, vi sóng khuếch tán và trọng lực [16].

Tuy nhiên, chúng tôi chọn phương pháp cất kéo hơi nước vì đây là phương pháp có ưu điểm đơn giản, giá thành rẻ, thân thiện với môi trường, hơn nữa khi cần tách một lượng nhỏ tinh dầu trong điều kiện thiếu các trang bị hiện đại thì đây là sự lựa chọn phù hợp.

Các nghiên cứu trước đây về hàm lượng tinh dầu sa nhân *A. xanthioides* rất hạn chế. Theo tác giả Nguyễn Xuân Dũng và cộng sự [3], quả sa nhân *A. xanthioides* của Việt Nam chứa 1,7-3% tinh dầu. Trong nghiên cứu này, hàm lượng tinh dầu hạt *A. xanthioides* (A Lưới – Thừa Thiên Huế) (1,66%, v/w) được xác định cao hơn nhiều tinh dầu hạt *A. xanthioides* của Nhật Bản (1,0-1,5%, v/w) [12, 17].

Các chỉ số hóa lý (tỉ trọng, chỉ số khúc xạ, acid, xà phòng, ester, iod...) là những thông số quan trọng để đánh giá sơ bộ chất lượng tinh dầu. Ngoài ra, các dữ liệu này cũng có ý nghĩa trong việc phân biệt các loại tinh dầu. Kết quả nghiên cứu cho thấy, tinh dầu sa nhân thu được theo phương pháp cất kéo hơi nước nhẹ hơn nước ($D_{20}^{20} = 0,911$) (Bảng 3.2.). Tinh dầu nghiên cứu có chỉ số khúc xạ thấp ($N_D^{20} = 1,4734$) chứng tỏ khả năng khúc xạ ánh sáng yếu.

Bên cạnh đó, tinh dầu có hàm lượng acid hữu cơ, ester cao (thể hiện ở các chỉ số I.A., I.S., I.E. cao) chứng tỏ tinh dầu có nhiều giá trị trong lĩnh vực hương liệu.

Ngoài ra, do giá trị I.I. (24,89) tương đối lớn, tinh dầu được dự đoán chứa nhiều hợp chất bất bão hòa. Các hợp chất này có khả năng chống oxy hóa, bắt gốc tự do mạnh. Tuy nhiên, nhược điểm lớn của

chúng là dễ thoái biến trong quá trình bảo quản do quá trình tự oxy hóa dẫn đến tinh dầu bị biến mùi, giảm chất lượng.

So với sa nhân miền Bắc [8], tinh dầu *A. xanthioides* (A Lưới – Thừa Thiên Huế) có sự khác biệt lớn về chỉ số acid trong khi các chỉ số khác gần như tương đương. Nghiên cứu trước đây đã chỉ ra tinh dầu *A. xanthioides* có tỉ trọng tương đương với loài *A. subulatum* [10, 11, 14], trong khi các chỉ số khúc xạ, acid, xà phòng hóa và ester đều khác biệt rõ rệt. Giá trị chỉ số khúc xạ lớn gợi ý tinh dầu *A. xanthioides* (A Lưới – Thừa Thiên Huế) có chất lượng tốt hơn tinh dầu *A. subulatum* [15]. Gần đây, Nguyễn Đức Chung và cộng sự [2] đã nghiên cứu tinh dầu hạt sa nhân *A. xanthioides* (Hương Trà – Thừa Thiên Huế), chiết tách bằng ethanol 96°. Tinh dầu thu được có chỉ số acid (1,26), iod (3,58) thấp hơn rất nhiều so với tinh dầu trong nghiên cứu của chúng tôi. Sự khác biệt này chứng tỏ phương pháp chiết tách tinh dầu có ảnh hưởng quyết định các tính chất lý hóa và chất lượng tinh dầu. Phương pháp cất kéo hơi nước được tiến hành ở nhiệt độ cao hơn do vậy trong thành phần tinh dầu chứa nhiều cấu tử có nhiệt độ sôi cao hơn so với phương pháp chiết tách bằng dung môi.

Thành phần hóa học của tinh dầu hạt *A. xanthioides* (A Lưới – Thừa Thiên Huế) nhìn chung có sự tương đồng với loài *A. xanthioides* ở miền Bắc [3] và ở Tiên Phước - Quảng Nam [6] với sự hiện diện của các cấu tử chính gồm bornyl acetate, camphor, camphene, limonene, myrcene trong đó bornyl acetate, camphor chiếm tỉ lệ rất lớn. Điểm khác biệt đáng lưu ý là borneol hiện diện trong tinh dầu *A. xanthioides* (A Lưới – Thừa Thiên Huế) với hàm lượng lớn. Ngoài ra, sự hiện diện của lượng lớn bornyl acetate cho phép giải thích tại sao tinh dầu có chỉ số ester cao (I.E. = 98,23).

Tinh dầu hạt *A. xanthioides* (A Lưới – Thừa Thiên Huế) với thành phần chính là các monoterpene và dẫn xuất cho thấy sự khác biệt rõ rệt khi so sánh với tinh dầu lá, thân, rễ của loài *A. xanthioides* ở Pù Mát – Nghệ An với sự hiện diện chủ yếu của các sesquiterpene (lá, thân) và monoterpene (rễ) [4]. So với tinh dầu *A. xanthioides* (Hương Trà – Thừa Thiên Huế), tinh dầu *A. xanthioides* (A Lưới – Thừa Thiên Huế) sở hữu ít cấu tử hơn, cũng như vắng mặt nerolidol B và germacrene-D. Các kết quả trên chứng tỏ về cơ bản, thành phần hóa học của tinh dầu *A. xanthioides* thu ở A Lưới phù hợp với các địa phương khác, đồng thời cũng ghi nhận sự ảnh hưởng của các yếu tố địa lý, môi trường, phương pháp chiết xuất đến thành phần và chất lượng tinh dầu.

5. KẾT LUẬN

Bằng phương pháp cất kéo hơi nước, hàm lượng tinh dầu hạt sa nhân ké (*A. xanthioides*) ở A Lưới – Thừa Thiên Huế đạt được là 1,66% theo nguyên liệu khô. Tinh dầu sa nhân thu được có màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước, mùi thơm nồng, vị hơi cay. Tỷ trọng (ở 20°C) là 0,911; chỉ số khúc xạ (ở 20°C) là 1,4734; chỉ số acid là 12,74; chỉ số xà phòng hóa là 110,97; chỉ số ester là 98,23 và chỉ số iod của tinh dầu là 24,89. Thành phần hóa học của tinh dầu đã được xác định bằng phương pháp GC/MS với 15 cấu

tử thuộc nhóm monoterpene và dẫn xuất. Trong đó các cấu tử chính là camphene (11,62%), β -myrcene (6,17%), D-limonene (10,96%), camphor (23,73%), borneol (13,78%) và bornyl acetate (27,26%).

LỜI CẢM ƠN

Đề tài này được hỗ trợ kinh phí từ đề tài cấp Tỉnh mã số TTH.2016-KC.06, “Điều tra thành phần loài và đề xuất mô hình phát triển cây Sa nhân (*Amomum* sp.) tại tỉnh Thừa Thiên Huế để tạo nguồn dược liệu”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Xuân Minh Ái, Đinh Bình Phương, Hoàng Việt (2009). *Khảo sát tinh dầu Sa nhân hai hoa (Amomum biflorum Jack.)*. Tuyển tập báo cáo Hội nghị Sinh thái và Tài nguyên sinh vật lần thứ 3. 22/10/2009 – Viện ST&TNSV - Viện KH&VN Việt Nam
2. Nguyễn Đức Chung, Phan Thị Bé, Nguyễn Hiền Trang, Nguyễn Cao Cường (2017). *Nghiên cứu tách chiết và xác định thành phần hóa học tinh dầu sa nhân ở Hương Hồ, Hương Trà, Thừa Thiên Huế*. Tạp chí Khoa học & Công nghệ Nông nghiệp, 1 (1), 27-36.
3. Dung, NX, Phuong, DL, Leclercq, PA, Tam, NT (1990). *Chemical composition of essential oil from Vietnamese Amomum xanthioides Wall.*. Tạp Chí Duoc Hoc, 17-19.
4. Đỗ Ngọc Đài, Lê Thị Hương, Lê Thị Mỹ Châu, Đoàn Mạnh Dũng, Mai Văn Chung (2015). *Các hợp chất dễ bay hơi từ lá và rễ loài Sa nhân ké (Amomum xanthioides Wall. ex Baker) ở Vườn quốc gia Pù Mát, Nghệ An*. Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 6, 1078-1082
5. Lê Thị Hương (2015). *Đặc điểm và phân bố chi Sa nhân ở Nghệ An*. Tạp chí Khoa học và Công nghệ, 9, 19-23.
6. Trần Vũ Thị Như Lành, Nguyễn Hiền Trang, Nguyễn Cao Cường, Nguyễn Đức Chung (2016). *Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng tách chiết tinh dầu từ hạt Sa nhân*. Tạp chí Khoa học - Đại học Huế, 121 (7), 69-76.
7. Đỗ Tất Lợi (1999). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Tái bản lần thứ 8, NXB Y học, trang 400-402.
8. Đào Lan Phương (1995). *Nghiên cứu một số loài mang tên Sa nhân ở miền Bắc Việt Nam*. Luận án tiến sĩ.
9. Lê Minh Thúy, (2014). *Nghiên cứu đặc điểm thực vật, thành phần hóa học của cây Sa nhân tím (Amomum longiligulare T.L.Wu), họ Gừng (Zingiberaceae) trồng tại huyện Thạch Thất, Hà Nội*. Luận án tốt nghiệp Dược sĩ,
- Trường Đại học Dược Hà Nội.
10. Adegoke, GO, Jagan Mohan Rao, L, Shankaracharya, NB (1998). *A comparison of the essential oils of Aframomum daniellii (Hook. f.) K. Schum. and Amomum subulatum Roxb.* Flavour and Fragrance Journal, 13, 349-352.
11. Gilani, SR, Shahid, I, Javed, M, Mehmud, S, Ahme, R (2006). *Antimicrobial activities and physico-chemical properties of the essential oil from Amomum subulatum*. International Journal of Applied Chemistry, 2 (2), 81-86.
12. Kitajima, J, Ishikawa, T (2003). *Water-soluble constituents of Amomum seed*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 51 (7), 890-893.
13. Choi, JW, Kim, KH, Lee, IK, Choi, SU, Lee KR (2009). *Phytochemical constituents of Amomum xanthioides*. Natural Product Sciences, 15 (1), 44-49.
14. Pura Naik, J, Jagan Mohan Rao, Mohan Kumar, LTM, Sampathu, SR (2004). *Chemical composition of the volatile oil from the pericarp (husk) of large cardamom (Amomum subulatum Roxb.)*. Flavour and Fragrance Journal, 19, 441-444.
15. Pujiarti, R, Ohtani, Y, Ichiura, H (2011). *Physicochemical properties and chemical compositions of Melaleuca leucadendron leaf oils taken from the plantations in Java, Indonesia*. J Wood Sci, 57, 446-451.
16. Rassem, HHA, Nour, AH, Yunus, RM (2016). *Techniques for extraction of essential oils from plants: A review*. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 10 (16), 117-127.
17. Zhang, S, Lan, Y, Qin, X (1989). *Gas chromatography analysis of the volatile oil of the imported amomi semen (Amomum xanthioides Wall ex Bak.) and adulterants (Hong Ke Sha, Cao Dou Kou, Hong Dou Kou, and Zhu Mu Sha)*. Yaowu Fenxi Zazhi, 9, 219-222.