

LY TRÍCH TINH DẦU TỪ VỎ CHANH (*Citrus Aurantifolia* L.)

● LÝ THỊ THANH THẢO - VƯƠNG BẢO NGỌC

TÓM TẮT:

Mục tiêu của nghiên cứu là ly trích tinh dầu vỏ chanh thu ở huyện Châu Thành, tỉnh An Giang bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước, khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chưng cất tinh dầu như lượng nước chưng cất và thời gian chưng cất. Tinh dầu thu được sau khi chưng cất được xử lý loại bỏ nước và tạp chất, sau đó tiến hành xác định hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu. Kết quả nghiên cứu cho thấy hiệu suất tinh dầu thu được cao nhất 1,65% khi chưng cất vỏ chanh trong 70 phút, hàm lượng nước/nguyên liệu với tỷ lệ 5/1 w/v. Tinh dầu thu được có khả năng ức chế được chủng vi khuẩn *Escherichia coli* với vòng vô khuẩn 3,42 mm.

Từ khóa: vỏ chanh, chưng cất hơi nước, tinh dầu, kháng khuẩn.

1. Đặt vấn đề

Tinh dầu từ các nguyên liệu tự nhiên có nguồn gốc thực vật ngày càng được xã hội quan tâm. Tinh dầu không chỉ được ứng dụng phổ biến trong thực phẩm, dược phẩm, mỹ phẩm mà ngay cả trong y học cũng được sử dụng.

Ở Việt Nam, đồng bằng sông Cửu Long là vùng đồng bằng lớn thứ hai cả nước, có lượng phù sa màu mỡ là điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của nhiều loài cây cho tinh dầu rất lớn. Trong đó, chi *Citrus* thuộc họ Rutaceae có tiềm năng lớn nhưng chưa được khai thác một cách triệt để, hầu như chỉ dừng lại ở việc sử dụng múi, chưa chế biến và tận dụng tinh dầu từ vỏ quả. Cho nên, hằng năm chúng ta phải nhập một lượng tinh dầu để đáp ứng nhu cầu tiêu thụ.

Chanh là một trong những loại trái cây được sử dụng phổ biến nhất trên thế giới do vị chua và giá trị dinh dưỡng cao (Nguyen *et al.*, 2009). Ấn Độ cùng với Mexico, Argentina và Brazil chiếm gần một nửa sản lượng chanh trên thế giới. Chanh ta (*Citrus aurantifolia* L.) là loại chanh phổ biến ở Việt Nam. Vỏ chanh chứa nhiều tuyến dầu chứa một lượng đáng kể tinh dầu (Lota *et al.*, 2000). Cũng như các loại chanh khác, vỏ chanh ta cũng có thể sử dụng làm nguyên liệu cho việc sản xuất tinh dầu chanh (Võ Văn Chi, 1996). Tinh dầu chanh có mùi thơm đặc trưng, vị ngọt sắc, kích thích dịch vị, nhất là tuyến nước bọt. Nó tham gia vào thành phần của nhiều chất thơm. Do đó, người ta thường sử dụng một ít để pha chế mùi tổng hợp nhân tạo. Tinh dầu từ vỏ quả chanh hầu như không tan trong nước, tan

ít ở nhiệt độ và áp suất cao (Nguyễn Văn Ninh, 2003). Chanh cũng làm giảm các rối loạn liên quan đến stress hoặc chứng mất ngủ. Nó cũng có tiềm năng chống viêm cho hệ tiêu hóa. Tinh dầu vỏ cho thấy các hoạt động chống sản lá, kháng khuẩn, chống cholinesterase, chống co thắt, chống đông máu và chống ung thư (Janick & Paull, 2008). Do đó, thay vì ném những lớp vỏ này ra ngoài như một chất rắn chất thải có thể được sử dụng để khai thác dầu (Virot *et al.*, 2008). Thành phần dầu chiết xuất từ vỏ Chanh thay đổi tùy theo về các loài chanh được trồng trong khu vực cụ thể (Adam, 2001; Steuer *et al.*, 2001). Vì lý do đó, nên việc nghiên cứu tìm ra điều kiện tối ưu trong quá trình ly trích và đồng thời tận dụng nguồn nguyên liệu rẻ tiền để sản xuất tinh dầu có giá trị kinh tế cao từ quả chanh là vấn đề cần thiết. Vỏ chanh có rất nhiều tiềm năng về mặt tinh dầu nhưng chưa khai thác triệt để, vì vậy nghiên cứu “Ly trích tinh dầu từ vỏ chanh (*Citrus aurantifolia* L.)” được thực hiện với mục đích tìm ra điều kiện tối ưu trong quá trình ly trích, hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu vỏ chanh.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Phương tiện nghiên cứu

Mẫu chanh được thu mua tại vườn trên địa bàn huyện Châu Thành, tỉnh An Giang. Chanh được chọn có quả to tròn, không sâu hại, đường kính 4 - 5 cm/quả, trọng lượng trái trung bình từ 60 - 90 gram/quả, tỷ lệ khối lượng giữa thịt quả/vỏ là khoảng 15%, vỏ có màu xanh đậm, bóng được thu từ vườn trên huyện Châu Thành, tỉnh An Giang. Quả chanh được bảo quản tươi cho đến khi tiến hành thí nghiệm chưng cất lôi cuốn hơi nước để ly trích tinh dầu.

2.2. Phương pháp ly trích

* *Vỏ chanh*: Sau khi chọn được những loại quả đạt chất lượng, quả được thái lấy phần vỏ, mỗi bình chưng cất sử dụng 100g vỏ chanh. Nếu lấy quá ít hiệu suất tinh dầu đạt được không cao, không đủ cho thí nghiệm. Ngược lại, nếu quá nhiều sẽ tốn nhiều thời gian và chi phí khi chưng cất.

* *Làm sạch*: Vỏ chanh được rửa sạch, loại bỏ những chất bẩn, để ráo.

* *Xay*: Vỏ chanh sau khi để ráo được xay để phá vỡ cấu trúc tế bào, thu tinh dầu dễ dàng hơn trong quá trình chưng cất.

* *Chưng cất*: Tỷ lệ vỏ chanh/nước chưng cất ảnh hưởng mạnh đến hiệu suất thu tinh dầu. Lượng nước quá nhiều một số thành phần tinh dầu có tính phân cực sẽ tan vào nước. Nếu lượng nước quá ít không đủ hòa tan các chất keo, muối bao bọc xung quanh túi tinh dầu. Thời gian chưng cất càng lâu lượng tinh dầu thu được càng nhiều. Tuy nhiên, đến một thời điểm nào đó lượng tinh dầu thu được không tăng theo thời gian. Mặt khác, kéo dài thời gian chưng cất còn ảnh hưởng đến chất lượng tinh dầu do nguyên liệu bị cháy khét làm mất mùi thơm tự nhiên của tinh dầu.

* *Ngưng tụ*: Khi đun sôi, hơi nước bay ra sẽ cuốn theo tinh dầu, hơi ngưng tụ bay ra thu được hỗn hợp gồm nước và tinh dầu, hai thành phần này không hòa tan vào nhau nên dễ dàng tách ra khỏi nhau.

* *Phân ly*: Để yên cho hỗn hợp thu được trong bộ phận ngưng tụ để khi tách ra hoàn toàn thành 2 pha. Cho lớp tinh dầu bên trên chảy qua ống xiphông vào bình hứng để thu tinh dầu thô.

* *Làm khan*: Thêm Na_2SO_4 khan vào bình chứa tinh dầu thô, vừa thêm vừa khuấy đều cho đến khi quan sát thấy các tinh thể muối Na_2SO_4 bắt đầu rời ra.

* *Lắng - thu tinh dầu*: Để lắng hỗn hợp trên. Cho phần tinh dầu đã làm khan bên trên chảy qua ống xiphông vào bình chứa sản phẩm. Sản phẩm tinh dầu thu được cho vào các bình chứa hay lọ thủy tinh sẫm màu, đậy kín, bảo quản 2 - 5°C.

2.3. Bố trí thí nghiệm

2.3.1. Khảo sát hàm lượng nước chưng cất

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 1 nhân tố (thể tích nước cất), 3 mức độ (A1: 400 mL, A2: 450 mL và A3: 500 mL) và 3 lần lặp lại.

Cho 100 gram vỏ chanh đã được ngâm với 400 mL nước vào bình cầu đáy tròn có nhánh 1 L → Lắp bình cầu vào bộ chưng cất lôi cuốn hơi nước. Đun sôi nước để hơi nước sang bình cất → Đun đều lửa và theo dõi hệ thống qua ống thủy tinh bình

nước sôi. Theo dõi lượng tinh dầu được chưng cất ra. Sau đó, cho hỗn hợp tinh dầu và nước vào bình và làm khan bằng Na_2SO_4 → Lắp lại thí nghiệm với khối lượng mẫu là 100 gram và quá trình chưng cất thực hiện trong 3 giờ với lượng nước thay đổi theo mỗi lần thực hiện 450 mL, 500 mL.

2.3.2. Khảo sát thời gian chưng cất

Mục đích: Khảo sát khối lượng quả Đại hồi chưng cất nhằm xác định thời gian tốt nhất để thu được lượng tinh dầu tối ưu với khối lượng mẫu như nhau. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên gồm một nhân tố (thời gian chưng cất), ba mức độ (B1: 60 phút, B2: 70 phút, B3: 80 phút) và 3 lần lặp lại.

Cho 100 gram vỏ chanh đã được nghiền với kết quả hàm lượng nước tối ưu được tính ở thí nghiệm 1 vào bình cầu đáy tròn có nhánh 1 L, chưng cất trong 60 phút. Lắp bình cầu vào bộ chưng cất lôi cuốn hơi nước → Đun sôi nước để hơi nước sang bình cất. Đun đều lửa và theo dõi hệ thống qua ống thủy tinh bình nước sôi. Theo dõi lượng tinh dầu được chưng cất ra. Sau đó, cho hỗn hợp tinh dầu và nước vào bình và làm khan bằng Na_2SO_4 → Lắp lại thí nghiệm với thời gian lần lượt là 70 phút và 80 phút với kết quả hàm lượng nước tối ưu được tính ở thí nghiệm 1. Sau đó, làm khan bằng Na_2SO_4 .

2.3.3. Xác định hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu bằng phương pháp đo đường kính vòng kháng khuẩn

Mục đích: Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu vỏ chanh gây ức chế sự tăng trưởng của vi khuẩn E. Coli. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 1 nhân tố (tinh dầu vỏ chanh), 4 mức độ với C1, C2, C3, C4 là tỷ lệ % phối trộn tinh dầu quả đại hồi và DMSO (C1: 100%, C2: 80:20, C3: 50:50, C4: 30:70), và 3 lần lặp lại.

Chuẩn bị môi trường LB đặc, dung dịch tinh dầu vỏ chanh → Pha tinh dầu vừa ly trích với DMSO theo tỉ lệ C1, C2, C3, C4, cho dung dịch tinh dầu vào eppendorf → Cho khoanh giấy thấm đường kính 6 mm vô trùng vào eppendorf ngâm. Đối chứng dương là kháng sinh, đối chứng âm là DMSO → Trãi vi khuẩn gây bệnh E. coli lên bề mặt đĩa

môi trường LB đặc sao cho đạt khoảng 10^8 CFU trên 1 mL Đặt giấy thấm lên bề mặt môi trường đã trải vi khuẩn E. coli → Ủ mẫu ở nhiệt độ phòng khoảng 30 phút cho dịch từ khoanh giấy khuếch tán ra bề mặt môi trường nuôi cấy vi khuẩn. Sau đó, mẫu được ủ ở nhiệt độ 30°C trong 24 - 48 giờ → Quan sát và ghi nhận kết quả về khả năng ức chế sự phát triển ở vi khuẩn gây bệnh E. coli của tinh dầu vỏ chanh thông qua hình thành vòng vô khuẩn quanh giấy thấm trên môi trường → Ghi nhận khả năng gây ức chế của tinh dầu vỏ chanh với vi khuẩn gây bệnh E.coli.

Vòng vô khuẩn được xác định như sau:

Vòng vô khuẩn (mm) = Đường kính vòng sáng - Đường kính giấy thấm

2.4. Xử lý số liệu

Số liệu trong các thí nghiệm được xử lý bằng Microsoft Office Excel 2010 và phần mềm thống kê Statgraphics Centurion XVI.II.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả khảo sát hàm lượng nước ảnh hưởng đến quá trình chưng cất

Bảng 1 cho thấy khi thay đổi lượng nước chưng cất, khối lượng và hiệu suất tinh dầu thu được cũng thay đổi theo.

Khối lượng tinh dầu thu được cao nhất ở hàm lượng nước A3 (500 mL), bởi vì nước sẽ có tác dụng thẩm thấu qua màng tế bào và xâm nhập vào trong các tế bào chứa tinh dầu làm chúng trương lên cho đến khi màng tế bào bị phá vỡ và

Bảng 1. Ảnh hưởng của hàm lượng nước đến khối lượng tinh dầu thu được sau chưng cất

Hàm lượng nước (mL)	Khối lượng nguyên liệu (g)	Khối lượng tinh dầu (g)	Hiệu suất thu hồi (%)
A1	100	0,80 ^a	0,80 ^a
A2	100	1,20 ^b	1,20 ^b
A3	100	1,57 ^c	1,57 ^c

*Ghi chú: các giá trị trung bình trong cùng một cột theo sau có các mẫu tự giống nhau biểu thị sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

phóng thích tinh dầu ra ngoài, sau đó sẽ bị lôi cuốn theo hơi nước.

Khối lượng tinh dầu thu được ở hàm lượng A1 và A2 (400 mL và 450 mL) thấp hơn do lượng nước đem chưng cất không đủ để hòa tan lượng chất keo có trong màng tế bào làm giảm độ thẩm thấu và độ khuếch tán của tinh dầu. Đồng thời, khi nước quá ít sẽ không phá vỡ được các tế bào chứa tinh dầu để lôi cuốn theo hơi nước ra ngoài. Do đó, lượng tinh dầu thu được sẽ ít hơn. Theo kết quả trên, ta chọn hàm lượng nước chưng cất A3 (500 mL) có triển vọng tạo ra khối lượng tinh dầu tối ưu.

Kết luận: Hàm lượng A3 có triển vọng tạo ra lượng tinh dầu tối ưu với hiệu suất 1,57%. Từ kết quả thí nghiệm 1 tiến hành cố định lượng nước cất là 500 mL và thay đổi thời gian chưng cất ở thí nghiệm tiếp theo. (Hình 1)

3.2. Kết quả khảo sát thời gian chưng cất

Kết quả Bảng 2 cho thấy thời gian chưng cất ảnh hưởng đến lượng tinh dầu thu được trong quá trình chưng cất và hiệu suất thu hồi tinh dầu.

Ở cùng lượng nước chưng cất, hiệu suất thu hồi tinh dầu ở các mẫu khác nhau về khối lượng khác biệt có ý nghĩa thống kê. Ở mẫu B2, hiệu suất thu hồi tinh dầu cao hơn 2 mẫu còn lại và khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Lượng tinh dầu thu được sau chưng cất ở thời gian B1 là 1,29 g (hiệu suất thu hồi 1,29%), sau đó tăng và thu được giá trị cao nhất ở B2 1,65 g (hiệu suất thu hồi 1,65%), gấp 1,28 lần so với khi chưng cất ở B1, có khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5% giữa B1 so với B2.

Hình 1: Tinh dầu vỏ chanh thu được



Tuy nhiên, nếu tiếp tục chưng cất lượng tinh dầu bị giảm còn 0,76 g (hiệu suất 0,76%) ở B3 và B2 gấp 2,17 so với B3. B3 có sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5% so với chưng cất ở B1 và B2. Vậy nên, B2 là thời gian chưng cất tốt nhất.

Lượng tinh dầu thu được phụ thuộc vào thời gian chưng cất, nếu thời gian ngắn không đủ để lôi cuốn tinh dầu triệt để. Ngược lại, thời gian quá dài, tinh dầu bị hòa tan một phần vào nước gây thất thoát tinh dầu dẫn đến hiệu suất thu hồi thấp. Mặt khác, kéo dài thời gian chưng cất còn ảnh hưởng đến chất lượng do nguyên liệu bị cháy khét làm mất mùi thơm tự nhiên của tinh dầu. Theo kết quả trên, ta nên chưng cất ở 70 phút.

Kết luận: Thời gian B2 có triển vọng tạo ra khối lượng tinh dầu tối ưu với hiệu suất 1,65%.

Theo Nguyễn Thiện Chí và các cộng sự năm 2016, tinh dầu lá trầu không được ly trích thành

Bảng 2. Ảnh hưởng của thời gian đến khối lượng tinh dầu thu được sau chưng cất

Thời gian (phút)	Khối lượng nguyên liệu (g)	Lượng nước chưng cất (mL)	Khối lượng tinh dầu (g)	Hiệu suất thu hồi (%)
B3	100	500	0,76 ^a	0,76 ^a
B1	100	500	1,29 ^b	1,29 ^b
B2	100	500	1,65 ^c	1,65 ^c

*Ghi chú: các giá trị trung bình trong cùng một cột theo sau có các mẫu tự giống nhau biểu thị sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

công bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước đạt hiệu suất 0,63%. Trần Hữu Anh và cs (1999) đã chưng cất lôi cuốn hơi nước 300g tía tô qua trong 3 h, hiệu suất thu hồi 0,17%. Điều này cho thấy sau khi tiến hành chưng cất, hiệu suất thu hồi tinh dầu vỏ chanh khá cao so với tinh dầu của các nguyên liệu khác.

3.3. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu bằng phương pháp đo đường kính vòng kháng khuẩn

Mục đích: tìm ra ứng dụng mới của tinh dầu trong y học, tiến hành thử hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu. Kết quả ghi nhận ở Bảng 3.

Ở nồng độ C1 (100% tinh dầu) có sự kháng khuẩn mạnh, gấp 1,63 lần so với nồng độ C2 (80:20), gấp khoảng hơn 2 lần so với nồng độ C3 và C4 (50:50, 30:70). Điều này chứng tỏ, nồng độ tinh dầu nguyên chất có khả năng kháng khuẩn mạnh hơn so với các nồng độ tinh dầu được pha loãng với DMSO. Theo kết quả trên, nồng độ C1 (100% tinh dầu) có khả năng kháng khuẩn tốt nhất.

4. Kết luận

Từ kết quả nghiên cứu trên cho thấy điều kiện

Bảng 3. Khả năng kháng khuẩn của tinh dầu quả đại hồi ở các nồng độ pha loãng khác nhau

Nồng độ tinh dầu (%)	Vòng vô khuẩn (mm)
C1	3,42 ^c
C2	2,10 ^b
C3	1,73 ^b
C4	0,04 ^a

*Ghi chú: các giá trị trung bình trong cùng một cột theo sau có các mẫu tự giống nhau biểu thị sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo phép thử Duncan.

thích hợp để ly trích tinh dầu vỏ chanh như sau: Hàm lượng nước chưng cất/nguyên liệu với tỷ lệ 5/1 w/v. Thời gian chưng cất 70 phút. Hiệu suất tinh dầu thu được cao nhất khoảng 1,65%. Tinh dầu thu được có khả năng kháng được chủng vi khuẩn E. Coli với vòng kháng khuẩn là 3,42. Tinh dầu vỏ chanh thu được có một số đặc tính sau: trong suốt, không màu, có mùi thơm nhẹ, đặc trưng của tinh dầu chanh ■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Nguyen, H.; Campi, E.M.; Roy Jackson, W. and Patti, A.F. (2009). Effect of oxidative deterioration on flavor and aroma component of lemon oil. *Food Chemistry*, 112(2), 388-393.
2. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2012). Citrus Fruit Fresh and Processed annual statistics. [Online] Available at <https://www.fao.org/3/cb6492en/cb6492en.pdf>
3. Lota, M.L.; Rocca Serra, D.De.; Tomi, F.; and Casanova, J. (2000). Chemical Variability of peels and leaf essential oils of mandarins from Citrus reticulata Blanco. *Bio- chemical systematic and Ecology*, 28(1), 61-78.
4. Võ Văn Chi, (1996). *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. TP. Hồ Chí Minh: NXB Y học.
5. Nguyễn Văn Ninh, (2003). *Nghiên cứu chiết rút tinh dầu từ một số loại quả*. Khoa Chế biến, Trường Đại học Nha Trang.
6. Janick, J.; Paull, R.E., (2008). *The encyclopedia of fruit & nuts*. USA: CABI.
7. Virost, M.; Tomao, V.; Ginies, C.; Visinoni, F. and Chemat, F. (2008). Green procedure with a green solvent for fats and oils determination. Microwave-integrated Soxhlet using limonene followed by microwave Clevenger distillation. *Journal of Chromatography A*, 1196-1197(1-2), 147-152.
8. Adams, R.P. (2001). *Identification of Essential Oil components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy*. USA: Allured publishing Corporation, Carol Stream, III.

9. Steuer, B.; Schulz, H. and Lager, E. (2001). Classification and analysis of citrus oils by NIR spectroscopy. *Food Chemistry*, 72(1), 113-117.
10. Trần Hữu Anh, Phạm Đình Hùng, Lê Ngọc Thạch và Nguyễn Trình Cao Sơn, (1999). *Khảo sát tinh dầu tía tô Perilla frutescens (L.) Britt.* Đề tài cấp trường, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

Ngày nhận bài: 3/8/2022

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 4/9/2022

Ngày chấp nhận đăng bài: 14/9/2022

Thông tin tác giả:

1. ThS. LÝ THỊ THANH THẢO

2. ThS. VƯƠNG BẢO NGỌC

Khoa Nông nghiệp - Tài nguyên thiên nhiên

Trường Đại học An Giang - Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

EXTRACTION OF ESSENTIAL OIL FROM THE PEELS OF LEMON (*Citrus Aurantifolia L.*)

● MA. LY THI THANH THAO¹

● MA. VUONG BAO NGOC¹

¹Faculty of Agriculture and Natural Resources

An Giang University, Vietnam National University - Ho Chi minh City

ABSTRACT:

This study is to extract essential oil from the peels of lemon grown in Chau Thanh district, An Giang province by using the steam distillation, and explores the factors affecting this extraction including the ratio of water to lemon peels and the distillation time. Water and impurities in the obtained essential oil are removed, and then the antibacterial activity of the essential oil is analyzed. The study's results show that the highest extraction yield is 1.65 percent when the distillation time is of 70 minutes and the ratio of water to the lemon peels is 5:1(w/v). And the obtained essential oil has activity against *Escherichia coli*.

Keywords: lemon peels, steam distillation, essential oil, antibacterial activity.