

THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG VI SINH VẬT GÂY BỆNH CỦA TINH DẦU TỪ VỎ BƯỞI DA XANH (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.)

Huỳnh Xuân Phong^{1*}, Lưu Minh Châu¹, Trần Thị Xuân Nghi¹, Nguyễn Ngọc Thanh¹, Bùi Hoàng Đăng Long¹, Bạch Long Giang², Nguyễn Văn Mười³, Trần Thanh Trúc³

¹ Viện NC&PT Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ, Khu II, Đường 3/2, Xuân Khánh, Ninh Kiều, Cần Thơ

² Viện Kỹ thuật Công nghệ cao, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, 300A Nguyễn Tất Thành, Q. 4, TP. HCM

³ Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ, Khu II, Đường 3/2, Xuân Khánh, Ninh Kiều, Cần Thơ

* Tác giả liên hệ Huỳnh Xuân Phong <hxphong@ctu.edu.vn>

(Ngày nhận bài: 15-03-2021; Ngày chấp nhận đăng: 29-06-2021)

Tóm tắt. Bưởi là loài cây không chỉ có giá trị cao về mặt dinh dưỡng mà còn có giá trị cao về mặt kinh tế và được trồng phổ biến ở Việt Nam. Ngoài ra, tinh dầu bưởi chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học cao. Tinh dầu bưởi được chiết xuất bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước và thành phần hóa học được phân tích bằng phương pháp GC-MS. Thành phần chính của tinh dầu gồm limonene (91,19%), β -myrcene (2,92%), α -phellandrene (1,98%) và α -pinene (1,19%). Hoạt tính kháng vi sinh vật của tinh dầu được khảo sát với vi khuẩn Gram dương (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*), Gram âm (*Escherichia coli*) và nấm mốc *Aspergillus flavus* ở nồng độ 5, 10, 25 và 50% bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch. Tinh dầu có khả năng kháng *B. cereus*, *S. aureus* và *E. coli* với đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là 8,3–11,3, 10,3–18,7 và 9,0–11,7 mm và ức chế sự phát triển của *A. flavus* (18,9–65,0%).

Từ khóa: bưởi da xanh, *Citrus maxima*, kháng khuẩn, kháng nấm, tinh dầu

Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil extracted from pomelo (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.)

Huynh Xuan Phong^{1*}, Luu Minh Chau¹, Tran Thi Xuan Nghi¹, Nguyen Ngoc Thanh¹, Bui Hoang Dang Long¹, Bach Long Giang², Nguyen Van Muoi³, Tran Thanh Truc³

¹ Biotechnology R&D Institute, Can Tho University, Campus II, 3/2 St., Ninh Kieu, Can Tho City, Vietnam

² NTT Hi-Tech Institute, Nguyen Tat Thanh University, 300A Nguyen Tat Thanh St., Ho Chi Minh City, Vietnam

³ College of Agriculture, Can Tho University, Campus II, 3/2 St., Ninh Kieu, Can Tho City, Vietnam

* Correspondence to Huynh Xuan Phong <hxphong@ctu.edu.vn>

(Received: 15 March 2021; Accepted: 29 June 2021)

Abstract. Pomelo is a Vietnam's plant species with high nutritional and economic value. Besides, pomelo essential oil contains numerous compounds with high biological activity. The essential oil is extracted by using steam distillation, and its chemical composition is determined by means of GC-MS. The major components are limonene (91.19%), β -myrcene (2.92%), α -phellandrene (1.98%), and α -pinene (1.19%). The antimicrobial activity of essential oils is tested against pathogenic Gram-positive bacteria (*Bacillus*

cerus, *Staphylococcus aureus*), Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*), and *Aspergillus flavus* at different concentrations with the agar well diffusion method. This essential oil is active against *B. cereus*, *S. aureus*, and *E. coli* with inhibition diameter zones at 8.3–11.3, 10.3–18.7, and 9.0–11.7 mm, respectively, and inhibits *A. flavus* mold with 18.9–65.0% efficiency.

Keywords: pomelo, *Citrus maxima*, Gram-positive, Gram-negative, *Aspergillus flavus*, essential oil

1 Mở đầu

Cây có múi là một trong những loại cây ăn quả phổ biến trên thế giới với sản lượng dồi dào. Chúng được trồng rộng rãi ở các khu vực có khí hậu thích hợp như nhiệt đới và cận nhiệt đới [1]. Việt Nam là nước có tiềm năng lớn về loại cây này, phục vụ nhu cầu trong và ngoài nước. Ở Việt Nam, bưởi có giá trị kinh tế cao và chứa nhiều khoáng chất, vitamin C và các hợp chất polyphenol [2] và tăng cường chức năng gan thông qua việc giảm tích tụ chất béo [3]. Ngoài giá trị của thịt bưởi, tinh dầu thu được từ phụ phẩm vỏ bưởi cũng mang lại nhiều giá trị. Tinh dầu tồn tại trong các loại cây thuộc chi *Citrus* với số lượng lớn, chứa 85–99% thành phần dễ bay hơi và 1–15% thành phần không bay hơi [4]. Các hợp chất hữu cơ trong tinh dầu gồm hydrocarbon béo, rượu (linalool), aldehyde (citral), acid, ester và một số hợp chất thơm [5]. Vì vậy, tinh dầu được ứng dụng nhiều trong dược phẩm và được xem như một chất chống lại vi khuẩn, chống tiểu đường, chất chống oxy hóa, chất chống độc và giảm đau [6]. Ngoài ra, tinh dầu được tách chiết từ các bộ phận như hạt, chồi, lá, hoa, thân, quả, cành và rễ và được tích lũy dần trong các tế bào tiết nên có hương thơm tự nhiên và dễ chịu [7]. Vì vậy, tinh dầu được sử dụng rộng rãi trong ngành thực phẩm như dùng làm hương liệu, bổ sung vào đồ uống, trái cây, bánh kẹo và nước ngọt [8]. Mục đích của nghiên cứu này là xác định thành phần hóa học của tinh dầu từ vỏ bưởi da xanh, chiết xuất bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước và khảo sát hoạt tính kháng vi sinh vật gây bệnh của tinh dầu vỏ bưởi ở các nồng độ khác nhau. Từ đó, nghiên cứu góp phần mở ra tiềm năng trong việc đa dạng hóa các sản phẩm mỹ phẩm, dược phẩm, thực phẩm sử dụng tinh dầu

bưởi và bổ sung về thành phần hóa học vào danh sách các loại tinh dầu được chiết xuất từ các loài thực vật ở Việt Nam.

2 Vật liệu và phương pháp

2.1 Nguyên vật liệu và hóa chất

Vỏ bưởi da xanh (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) được thu mua trên địa bàn thành phố Cần Thơ dùng làm nguyên liệu để chiết xuất tinh dầu.

Các chủng vi khuẩn *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* và nấm *Aspergillus flavus* được lưu trữ ở phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học Thực phẩm, Viện NC&PT Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

Hóa chất: NaCl, Na₂SO₄, agar, dimethyl sulfoxide (DMSO), potato dextrose agar (PDA), nutrient broth (NB), nutrient agar (NA) được mua từ các sản phẩm thương mại của Merck (Đức) và HiMedia Laboratories (Ấn Độ).

2.2 Chiết xuất tinh dầu

Sử dụng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước nhằm chiết xuất tinh dầu và đánh giá hiệu suất tinh dầu được thu hồi. Phương pháp thực hiện dựa trên nghiên cứu của Nguyễn Đức Phát [9]. Lấy 400 g nguyên liệu vỏ bưởi đã loại bỏ phần trắng cho vào máy xay cùng với 1088 mL nước cất và 132,7 g muối NaCl. Xay nhuyễn hỗn hợp trong 2 phút. Chuyển toàn bộ hỗn hợp trên vào bình cầu của hệ thống chưng cất có tuần hoàn nước ngưng tụ. Dùng nút bịt kín miệng bình cầu và ngâm trong 140 phút. Sau đó tiến hành chiết xuất trong 105 phút bằng hệ thống chưng cất hơi nước (thời gian được tính khi bắt đầu thu hồi được tinh dầu).

2.3 Xác định thành phần hóa học của tinh dầu

Tinh dầu thô được lắng tạp chất và làm khan bằng Na_2SO_4 . Mẫu được gửi phân tích tại Trung tâm Kỹ thuật Tiêu chuẩn Đo lường chất lượng Cần Thơ (CATECH) để xác định thành phần hóa học bằng phương pháp sắc ký khí ghép nối khối phổ (GC-MS).

2.4 Khảo sát hoạt tính kháng vi khuẩn gây bệnh

Nhằm mục đích khảo sát khả năng ức chế vi sinh vật gây bệnh của tinh dầu bưởi da xanh, chúng tôi tiến hành các thí nghiệm theo phương pháp của Okunowo và cs. [10] có chỉnh sửa. Hút 50 μL dịch tăng sinh của các chủng vi khuẩn chỉ thị (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) với mật số 10^8 tế bào/mL và bơm vào đĩa thạch. Dùng tấm bông vô trùng trải đều dịch vi khuẩn trên toàn bộ mặt đĩa thạch NA. Đóng nắp và để đĩa thạch ở nhiệt độ phòng trong vài phút cho đến khi thấy mặt môi trường đã khô, tiến hành tạo giếng với đường kính 6 mm. Pha loãng tinh dầu bằng DMSO 100% (v/v) để tạo thành dãy bốn nồng độ 5, 10, 25 và 50% (v/v). Cho 100 μL tinh dầu, DMSO 100% (đối chứng âm) và ciprofloxacin 5 mg/mL (đối chứng dương) vào trong mỗi giếng, để yên các đĩa ở nhiệt độ phòng, sau đó đem ủ ở 37 °C trong 24 giờ. Đo đường kính vòng vô khuẩn (ĐKVVK) (mm) để đánh giá hiệu quả ức chế các vi khuẩn gây bệnh của tinh dầu.

2.5 Hoạt tính kháng nấm mốc *A. flavus*

Thí nghiệm khảo sát khả năng ức chế nấm mốc *A. flavus* của tinh dầu được tiến hành theo phương pháp của Okunowo và cs. [10] có chỉnh sửa. Chủng nấm mốc *A. flavus* được nuôi cấy trong 3–5 ngày. Tiến hành tạo khoanh khuẩn ty (giai đoạn phát triển mạnh) và đặt vào tâm đĩa môi trường PDA mới. Tạo giếng với đường kính 6 mm trên đĩa thạch PDA. Pha loãng tinh dầu với DMSO 100% (v/v) để tạo thành dãy bốn nồng độ 50, 25, 10

và 5 (v/v). Cho 100 μL tinh dầu đã pha loãng vào giếng, để yên các đĩa ở nhiệt độ phòng và sau đó đem ủ ở 30 °C trong 72 giờ. Tiến hành tương tự với nystatin 0,5 mg/mL và DMSO 100% (v/v) để làm các đĩa đối chứng dương và đối chứng âm. Khả năng ức chế được đánh giá bằng cách đo đường kính khuẩn ty phát triển trong vòng năm ngày so với đối chứng và được xác định bằng công thức % $\text{Ức chế} = (DC - D) \times 100/DC$, trong đó DC là đường kính phát triển khuẩn ty trong đĩa đối chứng và D là đường kính phát triển khuẩn ty của từng nồng độ tinh dầu.

2.6 Phân tích và xử lý kết quả

Kết quả được xử lý và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, Hoa Kỳ). Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm Statgraphics Centurion XVI (Statpoint Technologies Inc., Hoa Kỳ).

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Chiết xuất tinh dầu bưởi da xanh bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước

Kết quả thu hồi lượng tinh dầu bằng phương pháp chưng cất hơi nước được trình bày ở Bảng 1. Tinh dầu thu được sau khi trích ly có trạng thái trong suốt, không màu, mùi thơm dễ chịu và đặc trưng của tinh dầu bưởi. Hiệu suất thu hồi tinh dầu nằm trong khoảng 1,88–1,93% (theo khối lượng tươi).

Bảng 1. Thể tích và hiệu suất tinh dầu thu hồi

Thí nghiệm	Vỏ bưởi (g)	Tinh dầu (mL)	Hiệu suất (%)
1	400	7,7	1,93
2	400	7,5	1,88
3	400	7,5	1,88
Trung bình	400	7,6	1,90

Như vậy, trung bình khi chiết xuất 100 g mẫu thì thu được 7,6 mL tinh dầu, tương ứng với hiệu suất thu hồi là 1,90%. Kết quả này cao hơn so với hiệu suất tinh dầu bưởi thu hồi theo nghiên cứu của Nguyễn Đắc Phát (1,49%) [9]. Tuy nhiên, kết quả này lại thấp hơn so với kết quả của Trần Thị Phả và cs. [11] và thấp hơn khoảng 2,3 lần so với kết quả của Hien và cs. [12] khi tối ưu hóa quy trình chiết xuất tinh dầu bưởi bằng phương pháp chưng cất có sự hỗ trợ của vi sóng. Điều này có thể là do vỏ bưởi dùng trong các nghiên cứu được thu hoạch

ở những giai đoạn tăng trưởng hay thời gian thu hoạch khác nhau trong ngày dẫn đến sự khác biệt về hàm lượng tinh dầu [13]. Ngoài ra, các yếu tố thổ dưỡng, khí hậu... và đặc biệt là phương pháp chiết xuất cũng ảnh hưởng đến lượng tinh dầu thu được.

3.2 Thành phần hóa học

Tinh dầu được phân tích bằng phương pháp GC-MS (Bảng 2).

Bảng 2. Thành phần hóa học của tinh dầu vỏ bưởi da xanh

STT	RT (phút)	Tên thành phần	Công thức phân tử	Hàm lượng (%)
1	6,181	α -Thujene	C ₁₀ H ₁₆	0,01
2	6,370	α -Pinene	C ₁₀ H ₁₆	1,19
3	6,801	Camphene	C ₁₀ H ₁₆	0,01
4	7,446	Sabinene	C ₁₀ H ₁₆	0,39
5	7,575	β -Pinene	C ₁₀ H ₁₆	0,04
6	7,932	β -Myrcene	C ₁₀ H ₁₆	2,92
7	8,404	α -Phellandrene	C ₁₀ H ₁₆	1,98
8	8,719	α -Terpiene	C ₁₀ H ₁₆	0,07
9	8,930	o-Cymene	C ₁₀ H ₁₄	0,03
10	9,213	Limonene	C ₁₀ H ₁₆	91,19
11	9,601	cis- β -Ocimene	C ₁₀ H ₁₆	0,24
12	9,938	γ -Terpinene	C ₁₀ H ₁₆	0,11
13	10,309	trans-Linalool oxide	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	0,22
14	10,777	Terpinolene	C ₁₀ H ₁₆	0,20
15	11,180	Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	0,26
16	13,383	4-Terpinenol	C ₁₀ H ₁₈ O	0,07
17	13,729	α -Terpieol	C ₁₀ H ₁₈ O	0,31
18	14,359	trans-Geraniol	C ₁₀ H ₁₈ O	0,05
19	14,628	β -Citral	C ₁₀ H ₁₆ O	0,15
20	14,878	cis-Geraniol	C ₁₀ H ₁₈ O	0,04
21	15,205	α -Citral	C ₁₀ H ₁₆ O	0,20
22	17,755	Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	0,23
23	18,225	α -Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	0,02
24	18,531	Germacrene	C ₁₅ H ₂₄	0,05
25	18,731	α -Farnesene	C ₁₅ H ₂₄	0,02

Kết quả cho thấy 25 hợp chất được xác định trong tinh dầu bưởi da xanh. Trong đó, các thành phần hóa học chính bao gồm limonene (91,19%), β -myrcene (2,92%), α -phellandrene (1,98%) và α -pinene (1,19%). Ngoài ra, trong tinh dầu còn tồn tại các thành phần khác như sabinene (0,39%), α -terpineol (0,31%), linalool (0,26%), cis- β -ocimene (0,24%), caryophyllene (0,23%), linalool oxide trans (0,22%), terpinolene (0,2%) và α -citral (0,2%). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Anupama và cs. [14] khi phân tích thành phần hóa học của *Citrus maxima* ở Ấn Độ với limonene là hợp chất chính (89,04%), ba hợp chất chính khác là β -pinene (2,25%), β -myrcene (2,06%) và β -copaene (1,76%). Ngoài ra, kết quả này cũng tương tự với kết quả của một số nghiên cứu khác được thực hiện trên các loài thuộc chi *Citrus*, trong đó limonene là thành phần chủ yếu và chiếm tỉ lệ cao nhất, cùng với một số hợp chất khác như β -myrcene, α -pinene, phellandrene... được xem như là thành phần chính của tinh dầu cây có múi [15].

Thành phần của 25 hợp chất được xác định trong tinh dầu bưởi da xanh tương tự với thành phần tinh dầu trong bưởi *Citrus maxima* [14]. Tuy

nhiên, Chen và cs. đã xác định được 66 thành phần hóa học của bưởi *Citrus maxima* (Burm.) Merr. cv. Shatian Yu [16]. Nguyên nhân có sự khác biệt về thành phần hóa học của các loại tinh dầu xuất phát từ sự khác biệt sinh học của nguyên liệu thực vật, các phương pháp, các thông số chiết xuất cũng như điều kiện sinh sống của các loài thực vật [17]. Có thể thấy, hầu hết các loại tinh dầu đều chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học, có thể được sử dụng trong các nghiên cứu sâu hơn chống lại các vi sinh vật gây bệnh. Trong đó, limonene là hợp chất dễ bay hơi với hoạt tính kháng khuẩn cao, oxy hóa mạnh và khả năng hòa tan trong nước thấp [18].

3.3 Hoạt tính kháng vi khuẩn

Cả bốn nồng độ thử nghiệm của tinh dầu đều có khả năng ức chế các chủng vi khuẩn chi thị. Dưới tác động của kháng sinh ciprofloxacin 0,5 mg/mL, sự ức chế ba chủng vi khuẩn *S. aureus*, *B. cereus* và *E. coli* là cao nhất với ĐKVVK lần lượt là 47,7, 47,0 và 37,3 mm. Ngược lại, ở các giếng chứa đối chứng âm DMSO 100%, không xuất hiện vòng vô khuẩn (Bảng 3).

Bảng 3. Đường kính vòng vô khuẩn của tinh dầu với các chủng vi khuẩn gây bệnh

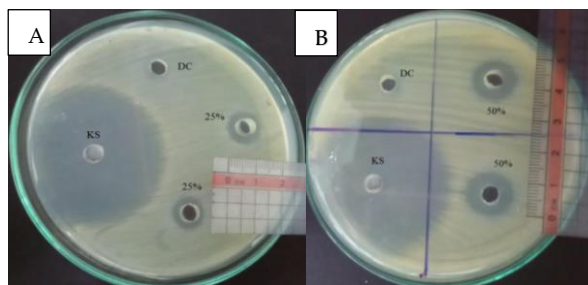
Vi khuẩn	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)					
	Ciprofloxacin (0,5 mg/mL)	DMSO (100%)	Nồng độ tinh dầu (%)			
			50	25	10	5
<i>S. aureus</i>	47,7	6,0	18,7 ^a	17,3 ^a	13 ^b	10,3 ^c
<i>B. cereus</i>	47,0	6,0	11,3 ^a	9,8 ^{ab}	9,0 ^b	8,3 ^b
<i>E. coli</i>	37,3	6,0	11,7 ^a	10,7 ^b	10,0 ^b	9,0 ^c

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình của ba lần lặp lại. Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo kiểm định LSD. Đối chứng dương là ciprofloxacin và DMSO là đối chứng âm.

Khi khảo sát tinh dầu ở các nồng độ khác nhau, ĐKVVK có xu hướng giảm dần theo nồng độ. Cụ thể là tinh dầu ở nồng độ 50 và 25% có khả năng ức chế *S. aureus* tương đương nhau với ĐKVVK là 18,7 và 17,3 mm (sai khác không có ý nghĩa thống kê). Tinh dầu ở nồng độ 10 và 5% có

hiệu quả ức chế *S. aureus* yếu hơn với ĐKVVK là 13 và 10,3 mm. Đối với *B. cereus*, khả năng ức chế của tinh dầu ở các nồng độ khác nhau không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê; ĐKVVK là 8,3 và 11,3 mm ở nồng độ tinh dầu 5 và 50%. Nhìn chung, sự khác biệt về khả năng ức chế sự phát triển của hai

chủng vi khuẩn này ở nồng độ 50 và 25% không có ý nghĩa thống kê (Hình 1). Do đó, có thể lựa chọn nồng độ thích hợp cho khả năng kháng khuẩn tốt nhất tùy theo mục đích sử dụng để tiết kiệm tinh dầu và chi phí sản xuất. Cuối cùng, hiệu quả kháng khuẩn của tinh dầu đối với *E. coli* đạt được cao nhất ở nồng độ 50% với ĐKVVK là 11,7 mm và thấp nhất ở 5% (ĐKVVK 9,0 mm). Các tác động lên cấu trúc và chức năng của tế bào thường được sử dụng để giải thích hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu. Một trong những đặc trưng không thể không kể đến của tinh dầu là tính kỵ nước, cũng là nguyên nhân gây ra sự phá vỡ cấu trúc tế bào của vi khuẩn. Màng tế bào đảm nhận các chức năng quan trọng và trên thực tế các hoạt động kháng khuẩn của tinh dầu bao gồm làm mất sự ổn định của lớp phospholipid [19], tăng tính thấm, phá hủy chức năng và thành phần màng sinh chất, làm mất các thành phần quan trọng trong tế bào [20] hay làm thay đổi tính thấm của màng bằng cách phá hủy hệ thống vận chuyển điện tử [21].



Hình 1. Sự ức chế của tinh dầu đối với *B. cereus* ở nồng độ 25 (A) và 50% (B). KS: iprofloxacin (đối chứng dương), DC: DMSO (đối chứng âm)

Kết quả này tương đối phù hợp với nghiên cứu của Edogbanya và cs., tinh dầu vỏ cam thu được thông qua phương pháp ép lạnh cho khả năng kháng *S. aureus* ở nồng độ 30% với ĐKVVK là 13,75 mm và ở nồng độ 60% là 22,25 mm, tương tự đối với kháng *E. coli* ở nồng độ 30% là 6 mm và 60% là 13,25 mm. Tuy nhiên, tinh dầu chanh ở nồng độ 30 và 60% gần như không thể hiện hoạt tính kháng với *E. coli* và *S. aureus* [22]. Hơn nữa, việc chiết xuất tinh dầu *Citrus paradisi* L. bằng phương pháp vi sóng (không dung môi) và phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước cũng cho thấy sự khác biệt về hoạt tính kháng khuẩn. Cụ thể là tinh dầu thu được từ phương pháp vi sóng và phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước có khả năng ức chế *S. aureus* ATCC 25923 với đường kính vòng vô khuẩn đo được là 53 và 41 mm và ức chế *E. coli* ATCC 35218 là 30 và 28 mm [23]. Nhìn chung, limonene, linalool hoặc citral là thành phần đóng góp chính cho khả năng kháng khuẩn của tinh dầu cây có mùi. Fisher và Phillips cho thấy sự ức chế vi khuẩn của tinh dầu là do sự có mặt của linalool chứ không phải là limonene [24]. Tuy nhiên, các nghiên cứu khác chỉ ra rằng khả năng kháng khuẩn không chỉ được tạo ra bởi một thành phần chính cụ thể mà còn do tác dụng đối kháng và tương tác của nhiều loại hợp chất [25].

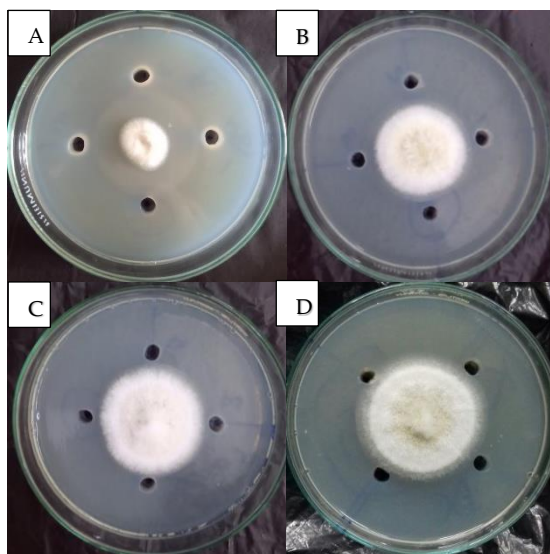
3.4 Hoạt tính kháng nấm mốc *A. flavus*

Khả năng ức chế của tinh dầu bưởi da xanh tỉ lệ thuận với nồng độ tinh dầu, cụ thể là nồng độ từ 5 đến 50% tương ứng với 18,9 đến 65,0% ức chế sự phát triển của nấm mốc (Bảng 4 và Hình 2).

Bảng 4. Hiệu quả ức chế của tinh dầu bưởi da xanh với nấm mốc *A. flavus*

<i>A. flavus</i>	Đối chứng	Nồng độ tinh dầu (%)			
		50	25	10	5
Đường kính khuẩn ty (mm)	47,7	16,7 ^a	34,0 ^b	38,0 ^c	38,7 ^c
(%) ức chế	0	65,0	28,7	20,3	18,9

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình của ba lần lặp lại. Trong cùng một hàng, các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo kiểm định LSD. Đối chứng âm là DMSO.



Hình 2. Sự ức chế của tinh dầu đối với *A. flavus* ở nồng độ 25% (A), 10% (B), 5% (C) và đối chứng (D)

Viuda-Martos và cs. nghiên cứu ảnh hưởng ức chế của tinh dầu vỏ quýt, cam và bưởi đối với bốn loại nấm bệnh. Trong đó, tinh dầu quýt ức chế mạnh nhất đối với *A. flavus* và sự phát triển của *A. niger* bị ảnh hưởng bởi tinh dầu cam. Tinh dầu bưởi có hiệu quả nhất đối với *Penicillium verrucosum* và *P. chrysogenum*. [26]. Trong một nghiên cứu khác của Singh và cs., tinh dầu của *C. maxima*, *C. sinensis* và hỗn hợp hai loại tinh dầu này ở nồng độ 500 ppm đã ức chế *A. flavus* với hiệu suất ức chế lần lượt là 48,1, 46,2 và 44,0%. Khi tăng nồng độ lên 750 ppm thì *A. flavus* bị ức chế hoàn toàn [27]. Các kết quả này cho thấy hoạt tính kháng nấm có thể được tạo ra bởi một hợp chất hoặc do tác dụng đồng thời hoặc đối kháng của các hợp chất khác nhau trong tinh dầu [25]. Điều này đã được một số nghiên cứu trước đây chứng minh; các tác giả cho rằng khả năng kháng nấm của tinh dầu là do sự có mặt của các thành phần như limonene, linalool hoặc citral với các nồng độ khác nhau [28, 29]. Một số khác thì cho rằng nguyên nhân là do các hợp chất phenol tác động lên màng tế bào của nấm [30, 31].

4 Kết luận

Chúng tôi đã chiết xuất tinh dầu từ vỏ bưởi da xanh bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước đạt hiệu suất 1,90% (v/w). Thành phần chính của tinh dầu gồm limonene, β -myrcene, α -phellandrene và α -pinene. Tinh dầu có khả năng kháng vi khuẩn *B. cereus* và *S. aureus*, *E. coli* và ức chế sự phát triển của nấm mốc *A. Flavus*.

Thông tin tài trợ

Nghiên cứu được thực hiện thông qua sự tài trợ kinh phí của Bộ GD&ĐT qua đề tài mã số: CT2020.01.TCT.07 thuộc Chương trình KH&CN “Nghiên cứu ứng dụng và phát triển công nghệ tiên tiến trong bảo quản, chế biến nông thủy sản vùng Đồng bằng Sông Cửu Long”.

Tài liệu tham khảo

1. Kahn TL, Krueger RR, Gumpf DJ, Roose ML, Arpaia ML, Batkin TA, Bash JA, et al. *Citrus* genetic resources in California: Analysis and recommendations for long-term conservation. California (USA): University of California, Division of Agriculture and Natural Resources; 2001. 43 p. Report No.: 22.
2. Tripoli E, Guardia LM, Giammanco S, Majo DD, Giammanco M. *Citrus* flavonoids: molecular structure, biological activity and nutritional properties. *Food Chemistry*. 2007;104:466-479.
3. Gliozzi M, Carresi C, Musolino V, Palma E, Muscoli C, Vitale C, et al. The effect of bergamot-derived polyphenolic fraction on LDL small dense particles and nonalcoholic fatty liver disease in patients with metabolic syndrome. *Advances in Biological Chemistry*. 2014;04:129-137.
4. Nannapaneni R, Chalova VI, Crandall PG, Ricke SC, Johnson MG, O'Bryan CA. *Campylobacter* and *Arcobacter* species sensitivity to commercial orange oil fractions. *International Journal of Food Microbiology*. 2009;129(1):43-49.
5. Sharma N, Tripathi A. Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and

- morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van. Microbiological Research. 2006;10:1016-1020.
- Kanaze FI, Termentzi A, Gabrieli C, Niopas I, Georgarakis M, Kokkalou E. The phytochemical analysis and antioxidant activity assessment of orange peel (*Citrus sinensis*) cultivated in Greece-Crete indicates a new commercial source of hesperidin. Biomedical Chromatography. 2008;23:239-249.
 - Ahmad MM, Rehman S, Iqbal Z, Anjum FM, Sultan JI. Genetic variability to essential oil composition in four *Citrus* fruit species. Pakistan Journal of Botany. 2006;38: 319-324.
 - Hardin A, Crandall PG, Stankus T. Essential oils and antioxidants derived from citrus by-products in food protection and medicine: an introduction and review of recent literature. Journal of Agricultural & Food Information, 2010;11(2): 99-122.
 - Phát NĐ. Nghiên cứu chiết xuất tinh dầu từ vỏ bưởi Năm roi (*Citrus grandis* (L.) Osbeck var. *Grandisgrandis*) bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước [thesis]. Nha Trang (VN): Đại học Nha Trang; 2011
 - Okunowo WO, Olajumoke O, Afolabi LO, Matanmi E. Essential oil of grapefruit (*Citrus paradisi*) peels and its antimicrobial activities. American Journal of Plant Sciences 2013;4:1-9.
 - Phả TT, Biễn VV, Hào NT, Đáo HV, Ánh VV. Kết quả bước đầu nghiên cứu xây dựng mô hình chưng cất tinh dầu cam, bưởi phục vụ xử lý rác thải xốp. Tạp chí Khoa học & Công nghệ - Đại học Thái Nguyên. 2014;122(08):117-123.
 - Hien, TT, Nhan NPT, Trinh ND, Ho VTT, Bach LG. Optimizing the pomelo oils extraction process by microwave-assisted hydro-distillation using soft computing approaches. Solid State Phenomena. 2018;279:217-221.
 - Bourgou S, Rahali FZ, Ourghemmi I, Tounsi SM. Changes of peel essential oil composition of four tunisian citrus during fruit maturation. The Scientific World Journal. 2012;1-10.
 - Anupama DP, Rajendra PB, Krishna DP, Puneeth Shetty. Sunil Kumar KN. GC-MS Compositional Analysis of Essential Oil of Leaf and Fruit Rind of *Citrus maxima* (Burm.) Merr. from Coastal Karnataka, India. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2016;6(5):68-72.
 - Zohra HF, Rachida A, Malika M, Benali S, Samir AA, Meriem B. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of Algerian *Citrus*. African Journal of Biotechnology. 2015; 14(12):1048-55.
 - Chen Y, Li T, Bai J, Nong L, Ning Z, Hu Z, et al. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Citrus maxima* (Burm.) Merr. Cv. Shatian Yu. Journal of Biologically Active Products from Nature. 2018; 8(4): 228–233.
 - Gamarra FMC, Sakanaka LS, Tambourgi EB, Cabral FA. Influence on the quality of essential lemon (*Citrus aurantifolia*) oil by distillation process. Brazilian Journal of Chemical Engineering. 2006;23(1):147-151.
 - Inouye S, Takizawa T, Yamaguchi H. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2001;47(5):565-573.
 - Gill AO, Holley AR. Disruption of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics. Journal of Food Microbiol 2006;108:1-9.
 - Juven BJ, Kanner J, Schved F, Weisslowicz H. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. Journal Application of Bacterial. 1994;76:626-631.
 - Tassou C, Koutsoumanis K, Nychas G-EJ. Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. Food Research International. 2000;33:273-280.
 - Edogbanya S, Olorunmola JB, Oijagbe IJ. Comparative study on the antimicrobial effects of essential oils from peels of three citrus fruits. MOJ Biology and Medicine. 2019;4:49-54.
 - Uysal B, Sozmen F, Aktas O, Oksal BS, Kose EO. Essential oil composition and antibacterial activity of the grapefruit (*Citrus paradisi* L.) peel essential oils obtained by solvent-free microwave extraction: comparison with hydrodistillation. International Journal of Food Science & Technology. 2011;46(7):1455-1461.
 - Fisher K, Phillips CA. The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro and in food systems. Journal of Applied Microbiology. 2006;101:1232-1240.
 - Deba F, Xuan TD, Yasuda M, Tawata S. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and

- antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. Food Control. 2008;19(4):346-352.
26. Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernández-López J, Perez-Álvarez J. Antibacterial activity of lemon (*Citrus limon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. Journal of Food Safety. 2008;28:567-576.
27. Singh P, Shukla R, Prakash B, Kumar A, Singh S, Mishra PK, et al. Chemical profile, antifungal, antiaflatoxicogenic and antioxidant activity of *Citrus maxima* Burm and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, dl-limonene. Food and Chemical Toxicology. 2010;48(6):1734-1740.
28. Bezic N, Skocibusic M, Dunkic V. Phytochemical composition and antimicrobial activity of *Satureja montana* L. and *Satureja cuneifolia* Ten. essential oils. Acta Botanica Croatica. 2005;64(2):313-322.
29. Sonboli A, Babakhani B, Mehrabian AR. Antimicrobial activity of six constituents of essential oil from Salvia. Zeitschrift fur Naturforschung Section C, Biosciences. 2006;61(3/4):160-164.
30. Cristani M, d'Arrigo M, Mandalari G, Castelli F, Sarpietro MG, Micieli D. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2007;55(15):6300-6308.
31. Veldhuizen EJ, Tjeerdsmá-van Bokhoven JL, Zweijtzer C, Burt SA, Haagsman HP. Structural requirements for the antimicrobial activity of carvacrol. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2006;54:1874-1879.