

DOI:10.22144/ctu.jvn.2022.031

## NGHIÊN CỨU CHUNG CẤT TINH DẦU CHỨC (*Citrus hystrix* DC.) VÀ ỨNG DỤNG PHỐI CHẾ XÀ PHÒNG DIỆT KHUẨN

Đặng Huỳnh Giao\*, Nguyễn Huỳnh Thu Thảo, Lê Thị Ái Ni, Lê Thị Tuyết Nhi, Lương Huỳnh Vũ Thanh, Cao Lưu Ngọc Hạnh và Ngô Trương Ngọc Mai

Khoa Công nghệ, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Đặng Huỳnh Giao (email: dhgiao@ctu.edu.vn)

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 08/11/2021

Ngày nhận bài sửa: 09/12/2021

Ngày duyệt đăng: 22/04/2022

### Title:

Distillation of kaffir lime (*Citrus hystrix* DC.) essential oil and making of antibacterial liquid soap

### Từ khóa:

Tinh dầu, trái chức, trích ly, xà phòng

### Keywords:

Essential oil, extraction, kaffir lime, soap

### ABSTRACT

In this study, the kaffir lime essential oil was distilled by steam distillation and used for preparation of antibacterial liquid soap. Optimal conditions for extraction were pureed shell, shell:water ratio (g/mL) 1:2 in 150 minutes, extraction temperature of 100°C, and extraction efficiency achieved 1.85%. The results showed that the main components of kaffir lime essential oil presented by gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS) method included 30,42%  $\beta$ -pinene, 18,09% sabinene, 17,56% limonene and 10,77%  $\beta$ -citronellal. The antibacterial activity of essential oil was shown on 6 strains of bacterial, namely *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Samonella typhi* and *Listeria innocua*. The ingredients of mixing antibacterial soap included coconut oil, sunflower oil, 25% KOH solution, kaffir lime essential oil, citric acid and vitamin E. The soap was formed as a viscous liquid, with a pleasant aroma characteristic of kaffir lime, and was able to resist all above 6 strains of bacterial.

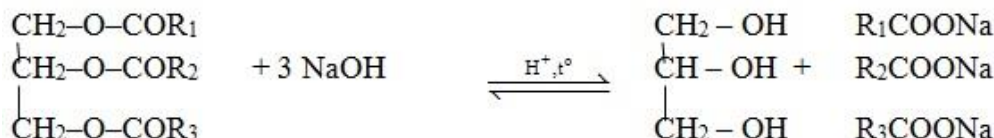
### TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, tinh dầu chức được chưng cất bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước và ứng dụng vào phối chế xà phòng diệt khuẩn. Điều kiện tối ưu cho quá trình trích ly tinh dầu chức là vỏ trái chức xay nhuyễn, tỉ lệ vỏ chức:nước cất (g/mL) (1:2), thời gian chưng cất 150 phút, nhiệt độ chưng cất 100 °C và hiệu suất trích ly tinh dầu thu được là 1,85%. Kết quả phân tích sắc ký ghép khối phổ (GC-MS) cho thấy thành phần chính có trong tinh dầu chức là 30,42%  $\beta$ -pinene, 18,09% sabinene, 17,56% limonene và 10,77%  $\beta$ -citronellal. Hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu chức được thể hiện trên 6 chủng vi khuẩn là *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Samonella typhi* và *Listeria innocua*. Tinh dầu chức sau khi trích ly được sử dụng trong xà phòng diệt khuẩn. Công thức phối chế xà phòng diệt khuẩn gồm dầu dừa, dầu hướng dương, dung dịch KOH 25%, tinh dầu chức, citric acid, vitamin E. Xà phòng ở trạng thái lỏng sánh, có mùi thơm dễ chịu đặc trưng hương chức, có khả năng kháng được cả 6 đối tượng vi khuẩn trên.

### 1. GIỚI THIỆU

Xã hội ngày càng phát triển, nhu cầu bảo vệ, chăm sóc và làm đẹp cơ thể cũng ngày càng cao. Các sản phẩm chăm sóc cá nhân hiện có trên thị trường phần lớn có nguồn gốc tổng hợp, không ít sản phẩm kém chất lượng, chứa hóa chất độc hại ảnh hưởng tiêu cực đến sức khỏe của người tiêu dùng. Để khắc phục những nhược điểm này, các sản phẩm có nguồn gốc từ thiên nhiên xuất hiện trên thị trường

ngày càng nhiều, đa dạng về chủng loại và mẫu mã với ưu điểm an toàn với con người và thân thiện với môi trường. Trong bối cảnh dịch bệnh Covid-19 diễn biến phức tạp trên toàn thế giới và trong nước, xà phòng trở thành sản phẩm vô cùng thiết yếu, việc rửa tay thường xuyên với xà phòng và tuân thủ khuyến cáo “5K” của Bộ Y tế là một cách đơn giản góp phần đẩy lùi dịch bệnh.



**Hình 1. Phương trình tổng quát phản ứng xà phòng hóa**

Xà phòng là muối của một acid béo, được tổng hợp từ quá trình kiềm hóa các ester của acid béo từ dầu thực vật hoặc mỡ động vật bằng KOH hoặc NaOH (Hình 1). Hiện nay, có nhiều loại dầu có nguồn gốc thực vật như dầu dừa, dầu hướng dương, dầu olive, dầu đậu nành,... được sử dụng rộng rãi

trong đời sống và cũng là nguyên liệu thích hợp để sản xuất xà phòng do có chứa các acid béo. Khi ứng dụng phối chế xà phòng, mỗi loại dầu thực vật đều có ưu và nhược điểm riêng, tùy thuộc vào các thành phần trong đó (Bảng 1).

**Bảng 1. Ưu điểm và nhược điểm của các loại dầu thực vật phổ biến trong phối chế xà phòng**

Loại dầu	Ưu điểm	Nhược điểm
Dầu olive	Phổ biến, được sử dụng nhiều để làm xà phòng	Đắt tiền
Dầu dừa	Dễ xà phòng hóa, tạo bọt tự nhiên, tẩy rửa mạnh	Khô da
Dầu hướng dương	Giàu vitamin A, B, D, E, dưỡng ẩm tốt	Tẩy rửa không tốt
Dầu đậu nành	Dễ tìm mua	Không có tính chất nổi bật

Việc nghiên cứu sử dụng kết hợp các loại dầu thực vật cũng như ứng dụng các tinh dầu thiên nhiên để khắc phục nhược điểm trong phối chế xà phòng là vấn đề cần đặc biệt quan tâm. Hiện nay, trên thị trường có nhiều sản phẩm xà phòng hữu cơ như xà phòng Dr. Bronner, xà phòng nước castile với nhiều mùi hương đa dạng từ tinh dầu thiên nhiên như bạc hà, trà, hoa hồng, hoa oải hương,... Theo tìm hiểu, cho đến nay vẫn chưa có loại xà phòng nào chứa tinh dầu chức, mặc dù tinh dầu chức có hương thơm tươi mát cùng hoạt tính diệt khuẩn.

và các thành phần khác, cụ thể được trình bày trong Bảng 2 (Tran et al., 2019).

**Bảng 2. Thành phần chính của tinh dầu chức**

STT	Hợp chất	Tỉ lệ (%)
1	$\beta$ -pinene	34,741
2	sabinene	23,637
3	D-limonene	19,08
4	citronellal	8,181
5	$\alpha$ -pinene	3,378
6	L-4-terpineol	3,178
7	$\alpha$ -terpineol	1,205
8	moslene	1,081
9	$\beta$ -myrene	1,04

Trái chức hay còn được gọi là chanh thái hoặc tráp (tên tiếng Anh là kaffir lime) thuộc chi Citrus, họ Rutaceae, có tên khoa học là *Citrus hystrix DC* (Srifuengfung et al., 2020). Trái chức chứa tinh dầu ở lá, hoa và trái, đặc biệt chứa nhiều ở phần vỏ xanh của trái. Hàm lượng tinh dầu có trong trái chức cao gấp 3-5 lần so với các loại quả khác cùng họ. Thành phần chính trong tinh dầu vỏ chức là  $\beta$ -pinene (34,741%), sabinene (23,637%), D-limonene (19,08%), citronellal (8,181%),  $\alpha$ -pinene (3,378%)

Tinh dầu chức có mùi thơm the mát, thanh khiết, có khả năng xua đuổi côn trùng và có nhiều lợi ích đối với sức khỏe như giúp giảm stress, cải thiện giấc ngủ và lưu thông máu huyết. Vì vậy, tinh dầu trái chức có nhiều ứng dụng trong đời sống như sản xuất mỹ phẩm, dược liệu, làm hương liệu sản xuất xà

phòng, làm tiền chất sản xuất thuốc,... Ngoài ra, tinh dầu trái chóc còn được biết đến với khả năng kháng khuẩn tự nhiên (Habsari et al., 2018; Budierto et al., 2021). Do đó, tinh dầu chóc còn được nghiên cứu ứng dụng trong các sản phẩm diệt khuẩn (Srifuengfung et al., 2020; Sreepian et al., 2019).

Trong nghiên cứu này, các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly tinh dầu chóc bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước đã được khảo sát để tìm ra điều kiện tối ưu, đồng thời ứng dụng tinh dầu chóc phối chế xà phòng diệt khuẩn. Quy trình phối chế xà phòng chứa tinh dầu chóc và hoạt tính kháng khuẩn của xà phòng cũng được khảo sát.

## 2. THỰC NGHIỆM

### 2.1. Quy trình trích ly tinh dầu chóc

#### 2.1.1. Nguyên liệu và thiết bị

Trái chóc tươi được mua tại thị xã Tịnh Biên, tỉnh An Giang và bảo quản ở nhiệt độ từ 4-10°C. NaCl và Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dạng rắn, xuất xứ Xilong, Trung Quốc. Thiết bị GC-MS Shimadzu 2010 plus Autosampler AOC 20i được sử dụng để phân tích định lượng thành phần tinh dầu chóc. Thiết bị chưng cất lôi cuốn hơi nước để trích ly tinh dầu chóc.

#### 2.1.2. Quy trình trích ly tinh dầu chóc

Trái chóc rửa sạch bằng nước cất, dùng dao gọt lấy phần vỏ xanh và xay nhuyễn; cân 200 g vỏ chóc trộn với thể tích dung môi tương ứng cho vào bình cầu 1000 mL và lắp vào hệ thống chưng cất lôi cuốn hơi nước. Các yếu tố khảo sát bao gồm ảnh hưởng các loại dung môi trích ly, gồm nước cất, dung dịch NaCl ở các nồng độ 2%, 4% và 6%, tỉ lệ vỏ chóc:dung môi là 2:1, 1:1, 1:2, 1:3 và 1:4. Khảo sát thời gian trích ly ở các mức 90 phút, 120 phút, 150 phút và 180 phút. Tinh dầu được khảo sát nhiệt độ trích ly ở các mức 85, 90, 95 và 100°C. Hỗn hợp tinh dầu và nước sau khi trích ly được làm khan bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, thu được tinh dầu chóc tinh khiết.

#### 2.1.3. Đánh giá định tính, định lượng và xác định hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu chóc

Tinh dầu chóc sau khi trích ly được tiến hành đánh giá định tính kim loại nặng bằng cách dùng 1 mL tinh dầu cho vào ống nghiệm, thêm tiếp 9 mL ethanol, thêm tiếp 10 giọt dung dịch Na<sub>2</sub>S 0,1 M, lắc đều và để yên (Kỳ, 1998). Chất béo được định tính bằng cách nhỏ vài giọt tinh dầu lên một tờ giấy dày trắng, khô và để yên một thời gian cho bay hơi hoàn toàn (Kỳ, 1998).

Tinh dầu được định lượng bằng phương pháp ghép khối phổ GC-MS. Sau đó, mẫu tinh dầu chóc

được xác định hoạt tính kháng khuẩn với 6 đối tượng vi khuẩn là *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi* và *Listeria innocua* bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch tại phòng thí nghiệm sinh hóa, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ.

## 2.2. Quy trình phối chế xà phòng

### 2.2.1. Hóa chất, nguyên liệu

Dầu dừa Vietcoco và dầu hương dương nguyên chất Meizan được mua ở các siêu thị. KOH, NaCl và citric acid dạng rắn xuất xứ Xilong, Trung Quốc. Tinh dầu chóc thu được từ thí nghiệm tối ưu của quy trình trích ly chưng cất lôi cuốn hơi nước.

### 2.2.2. Quy trình phối chế xà phòng

Hỗn hợp hai loại dầu được gia nhiệt ở 60°C, sau đó thêm dung dịch KOH vào hỗn hợp dầu và khuấy từ với tốc độ 1000 rpm. Sau một thời gian, hỗn hợp tăng độ nhớt, chuyển sang dùng máy khuấy cơ với cánh khuấy thủy tinh để tiếp tục nấu xà phòng. Hỗn hợp có dạng sáp như vaseline thì quá trình nấu xà phòng kết thúc. Trong quy trình này, hỗn hợp dầu được khảo sát ở các tỷ lệ 1:1, 1:2 và 2:1 với tổng khối lượng hai loại dầu là 30 g và nồng độ dung dịch KOH ở các giá trị 20, 25, 30 và 35%. Tiếp theo, dùng dung dịch NaCl để tách glycerin ra khỏi xà phòng. Cuối cùng, pha loãng xà phòng với nước ấm, sau đó thêm tinh dầu chóc, vitamin E và citric acid để điều chỉnh pH (Sanubo, 2017). Mẫu xà phòng chứa tinh dầu chóc được xác định hoạt tính kháng khuẩn với 6 đối tượng vi khuẩn là *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cereus*, *S. typhi* và *L. innocua*. Việc so sánh với đối chứng dương kháng sinh vancomycin liều 200 µg/mL và đối chứng âm DMSO được thực hiện tại phòng thí nghiệm sinh hóa, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Trích ly tinh dầu chóc

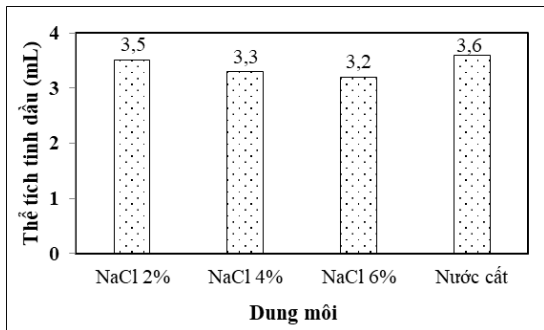
Quy trình trích ly tinh dầu chóc khảo sát các yếu tố: dung môi trích ly, tỉ lệ vỏ: nước cất, thời gian và nhiệt độ trích ly. Sau khi tìm được điều kiện tối ưu, tinh dầu chóc được đánh giá bằng các phép phân tích định tính, định lượng bằng GC-MS và kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu.

#### 3.1.1. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly

Dung môi trích ly là yếu tố đóng vai trò quan trọng trong quá trình trích ly tinh dầu. Theo nghiên cứu của Furter et al. (1967), nếu dùng nước cất kết hợp với NaCl ở các nồng độ khác nhau có thể làm

tăng độ phân cực và sức căng bề mặt của nước, giúp dễ dàng phá vỡ hệ nhũ tương tinh dầu-nước, làm cho tinh dầu dễ dàng tách lớp trong quá trình chưng cất. Chính vì vậy, nghiên cứu này khảo sát các loại dung môi bao gồm nước cất và dung dịch NaCl lần lượt ở các nồng độ 2%, 4% và 6% ứng với điều kiện sử dụng khối lượng vỏ xay nhuyễn 200 g, nhiệt độ trích ly 100°C và thời gian trích ly là 2 giờ. Kết quả khảo sát được trình bày ở Hình 2.

Kết quả cho thấy sau 2 giờ trích ly ở nhiệt độ 100°C, nồng độ dung dịch NaCl tăng dần thì thể tích tinh dầu chức thu được giảm dần. Cụ thể, lượng tinh dầu chức trích ly bằng NaCl 6% đạt thấp nhất (3,2 mL), trong khi nước cất cho lượng tinh dầu cao nhất (3,6 mL). Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra muối có khả năng làm tăng hiệu suất trích ly đối với một số hệ nhất định có thành phần dễ bay hơi. Tuy nhiên, việc kết hợp muối với nước cất để làm dung môi trích ly tinh dầu gây ra sự giảm độ bay hơi tương đối, tăng nhiệt độ bay hơi của dung môi, từ đó lôi cuốn được ít tinh dầu và làm giảm hiệu suất trích ly. Khi nồng độ NaCl tăng cũng làm giảm khả năng hòa tan trong dung môi và vì vậy không đạt hiệu suất cao (Lei et al., 2002). Do đó, dung môi tối ưu để trích ly tinh dầu chức là nước cất.

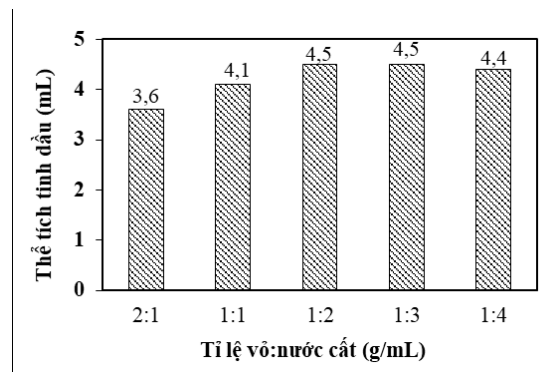


**Hình 2. Ảnh hưởng của dung môi đến thể tích tinh dầu trích ly được**

(Khối lượng vỏ xay nhuyễn 200 g, nhiệt độ trích ly 100°C, thời gian 2 giờ)

Trong quá trình trích ly tinh dầu bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước, khi gia nhiệt, hơi nước thẩm thấu vào trong các lớp tế bào, làm phá vỡ túi tinh dầu và bị lôi cuốn theo hơi nước. Vì vậy, tỉ lệ vỏ chức:nước cất cũng là một yếu quan trọng ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly. Do đó, tiến hành khảo sát tỉ lệ vỏ chức:nước cất (g/mL) ở các tỉ lệ 2:1, 1:1, 1:2, 1:3 và 1:4 với điều kiện vỏ xay nhuyễn 200 g, nhiệt độ trích ly 100°C và thời gian trích ly là 2 giờ. Kết quả khảo sát được trình bày ở Hình 3.

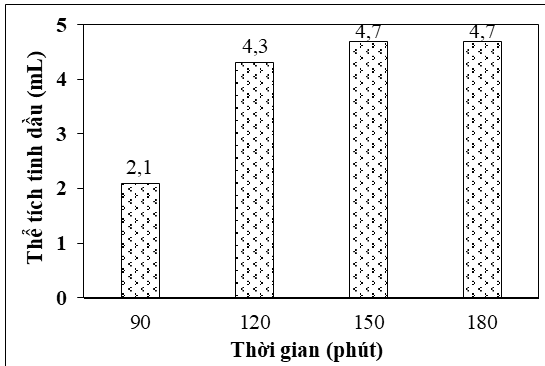
Kết quả cho thấy khi tăng thể tích nước cất so với khối lượng vỏ chức thì thể tích tinh dầu chức thu được cũng tăng, tuy nhiên khi tăng lượng nước cất lên gấp 3 lần khối lượng vỏ thì lượng tinh dầu không tăng thêm nữa và sau đó có xu hướng giảm. Kết quả này phù hợp với công bố trước đây đối với nghiên cứu quá trình sản xuất tinh dầu từ vỏ quả chanh không hạt (Tran et al., 2019). Lượng nước quá ít thì không đủ hòa tan các chất keo và muối bao bọc xung quanh túi tinh dầu, làm tinh dầu không thoát ra được. Khi sử dụng càng nhiều dung môi để trích ly thì khả năng khuếch tán của tinh dầu vào dung môi càng lớn, dung môi dễ dàng thẩm thấu vào nguyên liệu và hòa tan các cấu tử cần trích ly nên lượng tinh dầu thu được càng nhiều (Lành và ctv., 2016). Tuy nhiên, khi đạt đến một giới hạn nhất định, lượng tinh dầu sẽ không tăng dù tăng lượng dung môi. Vì vậy, tỉ lệ vỏ chức:nước cất tối ưu cho quá trình trích ly tinh dầu là 1:2.



**Hình 3. Ảnh hưởng của tỉ lệ vỏ chức:nước cất đến thể tích tinh dầu trích ly được**

(Khối lượng vỏ xay nhuyễn 200 g, nhiệt độ trích ly 100°C, thời gian 2 giờ)

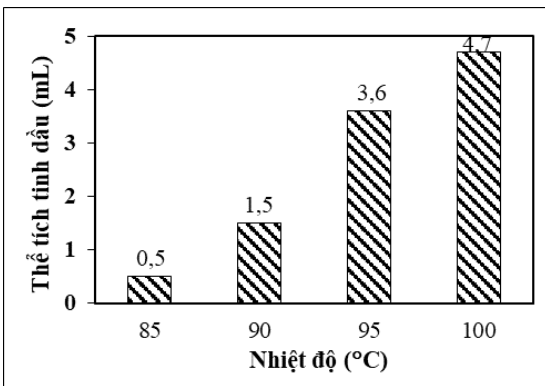
Thời gian chưng cất và nhiệt độ cũng là các yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến chất lượng và hiệu suất trích ly tinh dầu. Với 200 g vỏ trái chức xay nhuyễn, tinh dầu chức được chưng cất từ 90 phút đến 180 phút và nhiệt độ ở các mức từ 85 đến 100°C. Kết quả khảo sát được trình bày trong Hình 4 và Hình 5. Kết quả cho thấy khi tăng thời gian trích ly thì thể tích tinh dầu chức thu được cũng tăng (Hình 4). Cụ thể, thời gian trích ly tăng từ 90 phút lên 150 phút thì lượng tinh dầu tăng từ 2,1 mL lên 4,7 mL. Tuy nhiên, khi thời gian tăng lên đến 180 phút thì lượng tinh dầu không tăng nữa. Mặt khác, việc 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 (Automatik et al., 2013). Do đó, thời gian tối ưu cho quá trình trích ly tinh dầu chức là 150 phút.



**Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian trích ly đến thể tích tinh dầu thu được**

(Khối lượng vỏ xay nhuyễn 200 g, thể tích nước cất 400 mL, nhiệt độ chung cất 100°C)

Hình 5 thể hiện ảnh hưởng của nhiệt độ đối với quá trình trích ly tinh dầu. Kết quả cho thấy khi nhiệt độ trích ly tăng dần thì thể tích tinh dầu chức thu được cũng tăng. Cụ thể, tại 85°C, 90°C và 95°C, lượng tinh dầu thu được lần lượt là 0,5 mL, 1,5 mL, và 3,6 mL. Khi trích ly ở nhiệt độ 100°C, lượng tinh dầu nhiều nhất là 4,7 mL. Điều này có thể là do khi tăng nhiệt độ, dung môi dễ dàng xuyên qua lớp nguyên liệu và làm tăng khả năng tiếp xúc giữa nguyên liệu và dung môi. Do đó, khi tăng nhiệt độ đến nhiệt độ bay hơi của dung môi, lượng dung môi bốc hơi càng nhiều sẽ càng lôi cuốn được nhiều tinh dầu. Vì vậy, nhiệt độ tối ưu được chọn để trích ly tinh dầu chức là 100°C.



**Hình 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly đến thể tích tinh dầu thu được**

(Khối lượng vỏ xay nhuyễn 200 g, thể tích nước cất 400 mL, thời gian chung cất 150 phút)

Như vậy, với tỉ lệ vỏ chức xay nhuyễn:nước cất (g/mL) là 1:2 ở 100 °C, tinh dầu chức thu được nhiều nhất sau 150 phút là 4,7 mL bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước.

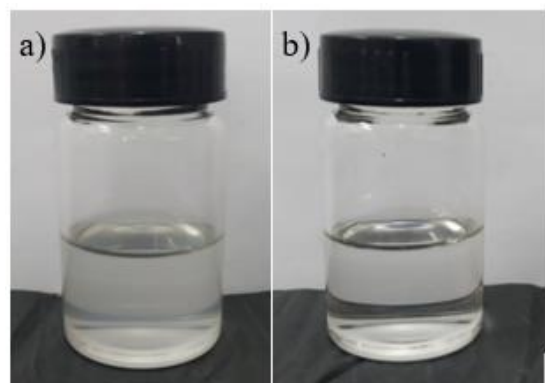
### 3.1.2. Kết quả phân tích định tính tinh dầu chức

Việc định tính kim loại nặng có trong tinh dầu rất quan trọng, vì tinh dầu thường được sử dụng trực tiếp trên da hoặc là thành phần tạo mùi hương cho mỹ phẩm. Nếu mẫu tinh dầu có chứa các loại kim loại nặng sẽ gây nguy cơ ung thư cho người sử dụng. Kim loại nặng chính là một trong số các chất cấm sử dụng trong mỹ phẩm. Bên cạnh đó, định tính chất béo để chứng minh độ tinh khiết của mẫu tinh dầu không chứa chất giả mạo, trên thị trường chất độn vào tinh dầu thường là dầu mỡ có mục đích để giảm giá thành sản phẩm. Trong nghiên cứu này, tinh dầu chức sau khi được trích ly và làm khan bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> được đánh giá cảm quan: không màu, trong suốt (Hình 6). Tinh dầu có mùi thơm đặc trưng hương chức và cho cảm giác thư giãn, dễ chịu.



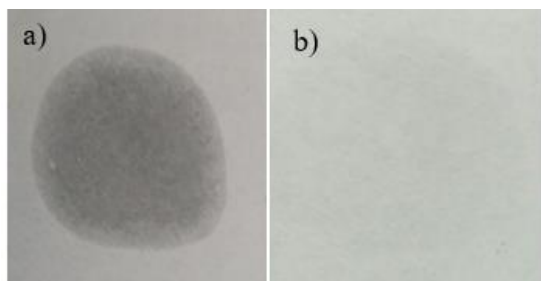
**Hình 6. Màu sắc của mẫu tinh dầu chức trích ly được**

Kết quả định tính kim loại nặng của tinh dầu chức được thể hiện ở Hình 7. Tinh dầu sau khi định tính không xuất hiện kết tủa đen, chứng tỏ mẫu tinh dầu không lẫn kim loại nặng.



**Hình 7. Mẫu tinh dầu chức trước (a) và sau khi định tính kim loại nặng (b)**

Định tính chất béo mẫu tinh dầu chức sau khi cho bay hơi hoàn toàn, mẫu không để lại vết, chứng tỏ mẫu tinh dầu không lẫn chất béo (Hình 8).



**Hình 8. Tinh dầu chúc trước (a) và sau khi định tinh chất béo (b)**

3.1.3. Kết quả phân tích định lượng

**Bảng 3. Kết quả GC-MS phân tích thành phần tinh dầu chúc**

STT	Thành phần	Hàm lượng (%)
1	$\beta$ -Pinene	30,42
2	Sabinene	18,09
3	Limonene	17,56
4	$\beta$ -Citronellal	10,77
5	$\alpha$ -Phellandren	5,38
6	$\alpha$ -Pinene	2,66
7	4-Butoxy-2-butanone	2,52
8	1-Terpinen-4-ol	2,47
9	3-Methylcyclopentanol	1,43
10	$\beta$ -Myrcene	1,37
11	$\alpha$ -Terpieol	1,3
12	3-Methylcyclopentanone	1,29
13	$\gamma$ -Terpinene	0,92
14	$\beta$ -Citronellol	0,86
15	Linalool	0,74
16	Acetic acid, geraniol ester	0,59
17	$\beta$ -Citronellyl acetate	0,49
18	$\alpha$ -Cubebene	0,4
19	L-isopulegol	0,34
20	Caryphyllene	0,21
21	Camphene	0,19

**Bảng 4. Đường kính vòng tròn kháng khuẩn (mm) theo nồng độ tinh dầu (%)**

Nồng độ (%)	Đường kính vòng tròn kháng khuẩn (mm) theo nồng độ tinh dầu (%)					
	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. typhi</i>	<i>L. innocua</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
0,1	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
0,2	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
0,4	10,27 ±0,31	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
0,8	12,23 ±0,25	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
1,6	13,37 ±0,15	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	12,50±0,50
3,2	15,17 ±0,29	13,27 ± 0,31	0,00±0,00	11,53±0,50	0,00±0,00	13,43±0,40
6,4	20,00 ±0,20	14,53 ± 0,31	0,00±0,00	13,50±0,50	11,57±0,51	14,70±0,27

Ở điều kiện tối ưu, quá trình trích ly tinh dầu chúc bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước thu được 3,69 g tinh dầu chúc thu được 4,7 mL tinh dầu chúc, hiệu suất trích ly đạt 1,85%. Khối lượng riêng của tinh dầu chúc ở 30°C được xác định là 0,7846 g/mL, kết quả này phù hợp với khối lượng tinh dầu đã biết (Automatik et al., 2013). Kết quả phân tích định lượng tinh dầu chúc bằng phương pháp GS-MS cho biết hàm lượng các thành phần có trong mẫu tinh dầu và được trình bày trong Bảng 6. Trong đó, thành phần chính có trong tinh dầu chúc bao gồm  $\alpha$ -pinene, sabinen, limonene và  $\beta$ -citronellal, kết quả này phù hợp với nghiên cứu trước đây (Tran et al., 2019).

3.1.4. Kết quả phân tích hoạt tính kháng khuẩn

Kết quả hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu chúc được thể hiện thông qua đường kính kháng khuẩn (mm) ở Bảng 4 và giá trị MIC (%) ở Bảng 5. Kết quả cho thấy tùy thuộc nồng độ tinh dầu chúc mà đối tượng kháng khuẩn sẽ khác nhau. Cụ thể, tinh dầu chúc có khả năng kháng khuẩn đối với chủng *S. aureus* ở nồng độ 0,4% và tạo thành vòng vô khuẩn có đường kính 10,27 mm. Tương tự như vậy, tinh dầu chúc cũng có khả năng kháng khuẩn đối với chủng *S. aureus* ở nồng độ 0,8% và tạo thành vòng vô khuẩn có đường kính 13,37 mm. Khi tăng nồng độ lên 1,6% thì tinh dầu chúc thể hiện hoạt tính kháng khuẩn với chủng *S. aureus* và *P. aeruginosa*. Bảng 4 cho thấy tinh dầu chúc có khả năng kháng khuẩn với bốn đối tượng vi khuẩn là *P. aeruginosa*, *B. cereus*, *L. innocua* và *S. aureus* ở nồng độ 3,2%. Đặc biệt, khi tăng nồng độ lên 6,4% thì tinh dầu chúc thể hiện hoạt tính kháng khuẩn với năm đối tượng vi khuẩn là *P. aeruginosa*, *B. cereus*, *L. innocua*, *S. aureus* và *E. coli* với đường kính vòng vô khuẩn tăng dần. Tuy nhiên, tinh dầu chúc không thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đối với chủng *S. typhi*.

**Bảng 5. Giá trị MIC của tinh dầu chóc (%)**

Chủng vi khuẩn	Giá trị MIC
<i>S. aureus</i>	0,4
<i>B. cereus</i>	3,2
<i>S. typhi</i>	12,8
<i>L. innocua</i>	3,2
<i>E. coli</i>	6,4
<i>P. aeruginosa</i>	1,6

Kết quả Bảng 5 cho thấy giá trị MIC của từng đối tượng vi khuẩn là khác nhau. Cụ thể, với chủng vi khuẩn *S. aureus* thì tinh dầu chóc có khả năng kháng khuẩn ở giá trị MIC = 0,4. Với các chủng vi khuẩn *P. aeruginosa*, *B. cereus* và *L. innocua*, *E. coli*, *S. typhi*, giá trị MIC tăng dần từ 1,6 đến 12,8. Từ kết quả đường kính kháng khuẩn và giá trị MIC của tinh dầu chóc đối với 6 chủng vi khuẩn được

**Bảng 6. Kết quả khảo sát tỉ lệ giữa các loại dầu**

*Dung dịch KOH 25%, nhiệt độ nấu xà phòng 60 °C.*

Tỉ lệ	Khối lượng dầu dừa (g)	Khối lượng dầu hướng dương (g)	pH	Độ cao bọt (cm)	Khối lượng xà phòng (g)
1:1	15	15	10,2	6	38
1:2	10	20	10,1	3	29
2:1	20	10	10,3	6	42

Kết quả xà phòng từ 3 mẫu đều cho ra chất lượng tương tự nhau, có màu trắng và mùi dễ chịu và giá trị pH cũng không chênh lệch nhiều. Tuy nhiên, có sự chênh lệch đáng kể về độ cao bọt và khối lượng xà phòng thu được. Với khối lượng hỗn hợp dầu như nhau, khi tăng lượng dầu hướng dương trong hỗn hợp thì độ cao bọt và khối lượng xà phòng giảm và ngược lại. Cụ thể, ở tỉ lệ 1 dầu dừa:2 dầu hướng dương chỉ thu được 29 g xà phòng và độ cao bọt 3 cm. Nhưng với tỉ lệ 1:1 và 2:1 thì thu được lần lượt 38 g và 42 g xà phòng, độ cao bọt đều đạt 6 cm. Do giá trị pH của xà phòng ở các tỉ lệ không có sự chênh

khảo sát cho thấy tinh dầu chóc có hiệu quả ức chế mạnh nhất đối với chủng *S. aureus*.

**3.2. Phối chế xà phòng diệt khuẩn**

*3.2.1. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng*

Dầu là tác chất chính để phối chế xà phòng. Việc sử dụng kết hợp các loại dầu với tỉ lệ thích hợp giúp tận dụng được ưu điểm của chúng. Dựa trên các đặc tính của các loại dầu đã được giới thiệu, nhóm chọn dầu dừa và dầu hướng dương là thành phần chính để phối chế xà phòng tinh dầu chóc. Khảo sát 3 mẫu xà phòng có tỉ lệ giữa dầu dừa và dầu hướng dương ở các giá trị 1:1; 1:2 và 2:1 với khối lượng hỗn hợp dầu là 30 g, nồng độ dung dịch KOH 25% và nấu ở 60°C. Kết quả khảo sát được trình bày ở Bảng 6.

*Dung dịch KOH 25%, nhiệt độ nấu xà phòng 60 °C.*

lệch đáng kể, nên ưu tiên chọn tỉ lệ tạo ra loại xà phòng nhiều bọt hơn. Mặt khác, xà phòng chứa nhiều dầu dừa sẽ có khả năng tẩy rửa mạnh vì vậy mà giảm sự dịu nhẹ với da. Do đó, tỉ lệ dầu dừa:dầu hướng dương bằng 1:1 là tối ưu nhất.

Nồng độ dung dịch KOH là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến giá trị pH của xà phòng làm ra. Do đó, tiến hành khảo sát nồng độ dung dịch KOH ở các mức 20, 25, 30 và 35% ở điều kiện khối lượng dầu dừa và dầu hướng dương là 15 g mỗi loại và nấu ở 60°C. Kết quả khảo sát được trình bày trong Bảng 7.

**Bảng 7. Ảnh hưởng của nồng độ KOH đối với xà phòng:**

Nồng độ KOH (%)	pH	Độ cao bọt (cm)	Khối lượng xà phòng (g)	Nồng độ KOH (%)
20	10,1	3,4	22	20
25	10,3	6,2	37	25
30	10,6	6,5	37	30

Kết quả cho thấy khi tăng dần nồng độ dung dịch KOH từ 20% lên 35% thì giá trị pH tăng dần từ 10,1 lên 11. Khối lượng xà phòng thu được có xu hướng tăng tỉ lệ thuận với nồng độ KOH và sau đó đạt bão hòa. Cụ thể, khi dùng KOH nồng độ 20% thì thu được khối lượng xà phòng là 22 g, nhưng khi tăng KOH lên nồng độ 25% thì khối lượng này tăng mạnh lên 37 g và đây cũng là nồng độ KOH bão hòa cho

quá trình phối chế xà phòng, vì sau đó khối lượng xà phòng không tăng thêm nữa dù tiếp tục tăng nồng độ KOH lên 30% và 35%. Do đó, nồng độ KOH 25% được chọn là tối ưu cho quy trình phối chế xà phòng.

Qua quá trình khảo sát, công thức tối ưu để phối chế xà phòng được xác định gồm dầu dừa, dầu hướng dương, dung dịch KOH 25%, nước cất, tinh

dầu chức 1,5%, vitamin E giúp dưỡng ẩm và citric acid để điều chỉnh đến pH9 với lượng dùng được trình bày cụ thể ở Bảng 8.

**Bảng 8. Công thức tối ưu phối chế xà phòng**

STT	Thành phần	Lượng dùng
1	Dầu dừa	15 g
2	Dầu hướng dương	15 g
3	KOH	6,72 g
4	Nước cất	90,16 g
5	Tinh dầu chức 1,5%	0,7 mL
6	Citric acid	10 mL
7	Vitamin E	5 giọt

Xà phòng được phối chế theo công thức tối ưu được thể hiện ở Hình 9. Xà phòng ở trạng thái lỏng sánh đồng nhất, màu trắng, mùi thơm dễ chịu, đặc trưng hương chức.



**Hình 9. Xà phòng lỏng chứa tinh dầu chức**

3.2.2. Đánh giá xà phòng

Khả năng tẩy rửa của xà phòng được kiểm chứng bằng cách sử dụng xà phòng để rửa sạch những vết mực trên da tay mà nước không thể rửa sạch.



**Hình 10. Khả năng tẩy rửa của xà phòng chứa tinh dầu chức**

(a) Trước khi rửa, b) Rửa với xà phòng, c) Sau khi rửa, d) Sau khi rửa 5 phút

Kết quả Hình 10 cho thấy xà phòng có khả năng rửa sạch các vết mực trên da dễ dàng. Trong quá trình rửa, xà phòng có mùi thơm dễ chịu, tươi mát và có khả năng tạo nhiều bọt với nước sinh hoạt. Sau khi rửa 5 phút, da không bị khô, không có hiện tượng bị kích ứng gây mẩn đỏ. Do đó, xà phòng rửa tay

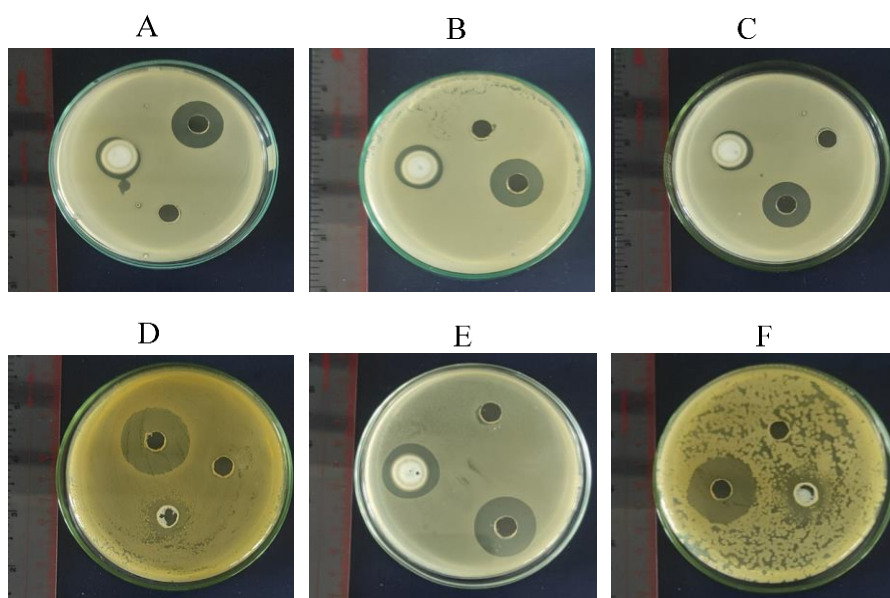
diệt khuẩn chứa tinh dầu chức an toàn với người sử dụng.

Xà phòng được kiểm tra khả năng kháng khuẩn so sánh với đối chứng âm và đối chứng dương và kết quả được trình bày trong Bảng 9 và Hình 11.

**Bảng 9. Hoạt tính kháng khuẩn của mẫu xà phòng và đối chứng dương vancomycin**

Mẫu	Đường kính vòng tròn vô khuẩn (mm)					
	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. typhi</i>	<i>L. innocua</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Xà phòng	16,27	19,6	21,6	24,37	14,5	19,1
Vancomycin (200 µg/mL)	29,6	24,23	23,47	27,37	29,13	23,47
DMSO	Không có khả năng kháng khuẩn					





**Hình 11. Kết quả đo hoạt tính kháng khuẩn của mẫu xà phòng tinh dầu chúc, đối chứng dương vancomycin và đối chứng âm DMSO trên 6 chủng vi khuẩn: A: *B. cereus*; B: *S. typhi*; C: *P. aeruginosa*; D: *S. aureus*; E: *L. innocua*; F: *E. coli***

(Vòng vô khuẩn tạo bởi giếng thạch không màu là đối chứng dương vancomycin.  
 Vòng vô khuẩn tạo bởi giếng thạch màu trắng đục là xà phòng chứa tinh dầu chúc.  
 Giếng thạch không màu không tạo vòng vô khuẩn là đối chứng âm DMSO.)

Kết quả cho thấy vòng vô khuẩn có đường kính giảm dần từ kháng sinh Vancomycin liều 200  $\mu\text{g/mL}$  đến xà phòng tinh dầu chúc và cuối cùng là DMSO không tạo được vòng kháng khuẩn (Bảng 9 và Hình 11). Đường kính vô khuẩn của xà phòng chứa tinh dầu chúc và đối chứng dương Vancomycin không chênh lệch nhiều. Xà phòng chứa tinh dầu chúc có tác dụng mạnh đối với khuẩn *L. innocua* với đường kính vòng vô khuẩn 24,37 mm và có tác dụng yếu nhất đối với khuẩn *E. coli* với đường kính vòng vô khuẩn là 14,5 mm.

Hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu chúc ở nồng độ 1,6% và xà phòng chứa tinh dầu chúc 1,5% cũng có sự khác biệt. Tinh dầu chúc ở nồng độ 1,6% chỉ có hoạt tính đối với *S. aureus* và *P. aeruginosa*, không có hoạt tính kháng khuẩn đối với 4 chủng khuẩn còn lại là *B. cereus*, *S. typhi*, *L. innocua* và *E. coli*, nhưng xà phòng có khả năng ức chế cả 6 chủng vi khuẩn được khảo sát. Nguyên nhân là do pH của sản phẩm xà phòng tác động đến vi khuẩn, làm thay đổi sự cân bằng về trao đổi chất giữa môi trường và

vi khuẩn nên có thể giết chết vi khuẩn. *S. typhi* và *E. coli* sống trong điều kiện pH thấp hơn 9 (Nabbut & Kurayiyah, 1972; Parhad & Rao, 1974), còn xà phòng có tính kiềm (pH =9) hoàn toàn có thể diệt được hai chủng vi khuẩn này.

#### 4. KẾT LUẬN

Tinh dầu chúc đã được trích ly thành công bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước ở nhiệt độ 100°C với thời gian 150 phút. Các thành phần và hàm lượng của tinh dầu được xác định bằng phương pháp GC-MS, chủ yếu gồm 30,42%  $\beta$ -pinene, 18,09% sabinene, 17,56% limonene và 10,77%  $\beta$ -citronellal. Tùy thuộc vào nồng độ, tinh dầu chúc thể hiện khả năng kháng khuẩn khác nhau đối với từng chủng vi khuẩn. Tinh dầu chúc được sử dụng phối chế xà phòng diệt khuẩn với thành phần tối ưu gồm dầu dừa, dầu hương dương (tỉ lệ 1:1), dung dịch KOH 25%, tinh dầu chúc 1,5%, vitamin E, citric acid. Xà phòng sau phối chế có chứa tinh dầu chúc có hoạt tính kháng khuẩn, trạng thái lỏng sánh, có mùi thơm dễ chịu đặc trưng hương chúc.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abirami, A., Nagarani, G., & Siddhuraju, P. (2014). The medicinal and nutritional role of underutilized citrus fruit-*Citrus hystrix* (kaffir lime): A Review. *Drug Invention Today*, 6(1), 1-5.
- Automatik, W., & Minyak, A. K. H. (2013). Extraction of *Citrus hystrix DC* (kaffir lime) essential oil using automated steam distillation process: Analysis of volatile compounds. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 17(3), 359-369.
- Budiarto, R., Poerwanto, R., Santosa, E., Efendi, D., & Agustina, A. (2021). Preliminary Study on Antioxidant and Antibacterial Activity of Kaffir Lime (*Citrus hystrix DC*) Leaf Essential Oil. *Applied Research in Science and Technology*, 1(2), 58-65.  
<https://doi.org/10.33292/areste.v1i2.8>
- Furter, W. F., & Cook, R. A. (1967). Salt effect in distillation: a literature review. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 10(1), 23-36.  
[https://doi.org/10.1016/0017-9310\(67\)90181-0](https://doi.org/10.1016/0017-9310(67)90181-0)
- Habsari, R. A., Warsito, W., & Noorhamdani, N. (2018). Chemical Composition of Oil Fraction Kaffir Lime (*Citrus hystrix DC*) as Antibacterial Activity of *E. coli*. *The Journal of Pure and Applied Chemistry Research*, 7(1), 32.  
<https://doi:10.21776/ub.jpacr.2018.007.01.352>
- Lành, T. V. T. N., Trang, N. H., Cường, N. C., & Chung, N. Đ. (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.
- Lei, Z., Wang, H., Zhou, R., & Duan, Z. (2002). Influence of salt added to solvent on extractive distillation. *Chemical Engineering Journal*, 87(2), 149-156.  
[https://doi.org/10.1016/s1385-8947\(01\)00211-x](https://doi.org/10.1016/s1385-8947(01)00211-x)
- Mohan, V., Wibisono, R., de Hoop, L., Summers, G., & Fletcher, G. C. (2019). Identifying suitable *Listeria innocua* strains as surrogates for *Listeria monocytogenes* for horticultural products. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2281.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02281>
- Nabbut, N. H., & Kurayiyah, F. (1972). Survival of *Salmonella typhi* in sea-water. *Epidemiology & Infection*, 70(2), 223-228.  
<https://doi.org/10.1017/S0022172400022270>
- Parhad, N. M., & Rao, N. U. (1974). Effect of pH on survival of *Escherichia coli*. *Journal Water Pollution Control Federation*, 46(5), 980-986.  
<https://www.jstor.org/stable/25038739>
- Kỳ, P. T. (1998). *Bài giảng dược liệu tập 2*. Nhà xuất bản Hà Nội.
- Sanubo, T. (2017). *The development of indigenous liquid soap for the prevention of infectious diseases in impoverished rural communities* (master's thesis), California State University, Long Beach.
- Sreepian, A., Sreepian, P. M., Chanthong, C., Mingkhwancheep, T., & Prathit, P. (2019). Antibacterial activity of essential oil extracted from *Citrus hystrix* (kaffir lime) peels: An in vitro study. *Tropical Biomedicine*, 36(2), 531-541.
- Srifuengfung, S., Bunyapraphatsara, N., Satitpatipan, V., Tribuddharat, C., Junyaprasert, V. B., Tungrugsasut, W., & Srisukh, V. (2020). Antibacterial oral sprays from Kaffir lime (*Citrus hystrix DC*) fruit peel oil and leaf oil and their activities against respiratory tract pathogens. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 10(6), 594-598.  
<https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2019.09.003>
- Tran, T. K. N., Tran, T. H., Tran, T. L., Trieu, T. A., Pham, M. Q., Mai, H. C., Le, N. T. T., Vo, T. D., Le, Ng. Y. T., & Tran, Q. T. (2019). Physico-Chemical Profile of Essential oil of Kaffir Lime(*Citrus hystrix DC*) Grown in An Giang Province, Vietnam. *Asian Journal of Chemistry*, 31(12), 2855-285.  
<https://doi.org/10.14233/ajchem.2019.22167>
- Valero, M., Fernandez, P. S., & Salmeron, M. C. (2003). Influence of pH and temperature on growth of *Bacillus cereus* in vegetable substrates. *International Journal of Food Microbiology*, 82(1), 71-79.  
[https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00265-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00265-9)