

EVALUATION OF THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL EXTRACTED FROM THE PEEL OF CITRUS AURANTIFOLIA COLLECTED AT THE MEDICINAL PLANT GARDEN OF THANH DO UNIVERSITY

Phi Thi Tuyet Nhung¹ Trinh Thi Thu Huyen² Do Thi Hong Nhung³
Doan Van Thai⁴ Tran Yen Nhi⁵ Nguyen Thi Tra Giang⁶

^{1, 2, 3, 4, 5, 6}Thanh Do University

Email: pttnhung@thanhdouni.edu.vn¹; trinhthithuhuyend116k15.tdu@gmail.com²;
hongnhung311205@gmail.com³; thaidv.biomeq@gmail.com⁴; tranyennhi16122005@gmail.com⁵;
zanggnii@gmail.com⁶

Received: 1/6/2026; Reviewed: 8/6/2026; Revised: 24/7/2026; Accepted: 28/10/2026

DOI: <https://doi.org/10.58902/nckhpt.e-v2i2.383>

Abstract: This study was conducted to preliminarily evaluate the antibacterial activity of essential oil extracted from the peel of *Citrus aurantifolia* fruits collected from the Medicinal Plant Garden, Thanh Do University. The essential oil was obtained by mechanical pressing with a yield of $0.29 \pm 0.03\%$ (w/w, based on fresh material). Chemical composition analysis revealed that the essential oil was predominantly composed of D-limonene, a monoterpene compound. Antibacterial activity was evaluated by determining the minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC), and concentration-dependent bactericidal activity against three reference bacterial strains: *Staphylococcus aureus* ATCC 33591, *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Klebsiella pneumoniae* ATCC 2146. The essential oil exhibited strong antibacterial activity against *S. aureus* (MIC = 62.5 $\mu\text{L/mL}$; MBC = 125 $\mu\text{L/mL}$), moderate activity against *E. coli* (MIC = MBC = 125 $\mu\text{L/mL}$), and little to no activity against *K. pneumoniae*. Concentration-dependent killing assays demonstrated a clear dose-dependent bactericidal effect. At concentrations above $2 \times \text{MIC}$, the essential oil reduced bacterial counts by more than $2 \log_{10}$ CFU/mL, corresponding to a bactericidal efficacy exceeding 99% against *S. aureus* and *E. coli*. These findings suggest that *C. aurantifolia* essential oil has promising potential as a natural antibacterial agent, particularly against Gram-positive bacteria.

Keywords: *Citrus aurantifolia*; *C. aurantifolia*; Vietnamese lime; Green lime; antibacterial activity; Mechanical pressing; Lime essential oil.

1. Đặt vấn đề

Chanh ta (*Citrus aurantifolia*), còn được gọi là chanh xanh hoặc chanh thường, thuộc họ Cam (Rutaceae), là loài cây ăn quả quen thuộc ở Việt Nam và nhiều quốc gia nhiệt đới. Loài cây này có nguồn gốc từ khu vực Đông Nam Á, sau đó được trồng phổ biến ở Ấn Độ, Trung Quốc, vùng Caribe và Nam Mỹ. Chanh ta là cây bụi nhỏ, cao khoảng 2–5 m, có lá xanh bóng, hoa màu trắng, tỏa hương thơm dịu, quả hình cầu hoặc hơi bầu dục, vỏ mỏng, có màu xanh khi non và chuyển vàng khi chín (Lemes và cộng sự, 2018).

Tinh dầu từ vỏ quả chanh ta là sản phẩm có giá trị kinh tế, chứa nhiều hợp chất dễ bay hơi, trong đó limonene thường là thành phần chủ yếu,

bên cạnh β -pinene, γ -terpinene, citral và linalool. Nhiều nghiên cứu đã ghi nhận hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu chanh đối với các vi sinh vật như *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* và *Candida albicans*, đồng thời cho thấy tiềm năng chống oxy hóa và kháng viêm (Aziz và cộng sự, 2018; Oikeh và cộng sự, 2020; Permadi và cộng sự, 2024). Nhờ những đặc tính này, tinh dầu chanh được quan tâm ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm với vai trò chất bảo quản có nguồn gốc tự nhiên, trong dược phẩm và mỹ phẩm.

Bên cạnh đó, các nghiên cứu về nước ép và tinh dầu chanh còn đề cập đến tiềm năng hỗ trợ phòng ngừa sỏi thận thông qua việc tăng bài tiết citrate trong nước tiểu, góp phần hạn chế sự kết

tinh của oxalat và calci (Dosoky và Setzer, 2018). Những kết quả này cho thấy tiềm năng khai thác và phát triển các sản phẩm từ chanh, đồng thời đặt ra yêu cầu nghiên cứu cụ thể về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của nguyên liệu.

Chất lượng và hoạt tính sinh học của tinh dầu có thể chịu ảnh hưởng của nguồn nguyên liệu, phương pháp chiết xuất và thành phần hóa học của sản phẩm thu được. Vì vậy, việc nghiên cứu tinh dầu từ vỏ quả chanh ta tại từng nguồn nguyên liệu cụ thể có ý nghĩa trong việc xác định đặc điểm của sản phẩm và cung cấp dữ liệu phục vụ định hướng khai thác, sử dụng. Trong đó, xác định các thành phần hóa học chính và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn là những nội dung cần thiết để bước đầu làm rõ tiềm năng ứng dụng của tinh dầu.

Xuất phát từ cơ sở khoa học và thực tiễn trên, đề tài nghiên cứu tinh dầu từ vỏ quả chanh ta (*Citrus aurantifolia*) thu hái tại vườn được liệu Trường Đại học Thành Đô được thực hiện với ba mục tiêu chính:

(1) Chiết xuất tinh dầu từ vỏ quả chanh ta (*Citrus aurantifolia*) thu hái tại vườn được liệu Trường Đại học Thành Đô bằng phương pháp ép.

(2) Định lượng các thành phần chính trong tinh dầu chanh.

(3) Đánh giá sơ bộ hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu đối với một số chủng vi sinh vật kiểm định gồm *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* và *Klebsiella pneumoniae* bằng phương pháp vi pha loãng trong môi trường lỏng trên đĩa 96 giếng, theo khuyến cáo của CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).

2. Tổng quan tình hình nghiên cứu

2.1. Nghiên cứu về phương pháp chiết xuất tinh dầu chanh ta

Các phương pháp chiết xuất tinh dầu chanh ta đã được nghiên cứu nhằm nâng cao hiệu suất thu hồi và bảo đảm chất lượng sản phẩm. Trong đó, chưng cất lôi cuốn hơi nước là phương pháp truyền thống được sử dụng phổ biến nhờ kỹ thuật tương đối đơn giản, chi phí thấp và khả năng ứng dụng ở quy mô công nghiệp. Tuy nhiên, quá trình gia nhiệt có thể làm biến đổi hoặc phân hủy một số hợp chất nhạy cảm với nhiệt (Fornari và cộng sự, 2012).

Phương pháp ép lạnh cũng được sử dụng rộng rãi, đặc biệt trong sản xuất thương mại. Phương

pháp này giúp hạn chế tác động của nhiệt và góp phần duy trì đặc trưng hương thơm tự nhiên của tinh dầu, mặc dù hiệu suất thu hồi có thể thấp hơn so với một số phương pháp khác (Guan và cộng sự, 2007).

Trong những năm gần đây, các kỹ thuật hiện đại như chiết xuất bằng CO₂ siêu tới hạn, chiết xuất có hỗ trợ vi sóng và siêu âm đã được nghiên cứu nhằm cải thiện hiệu suất chiết xuất, chất lượng và khả năng thu hồi các hợp chất dễ bay hơi. Tuy nhiên, việc triển khai các phương pháp này đòi hỏi thiết bị chuyên dụng và điều kiện vận hành phù hợp (Della Porta và cộng sự, 1998).

Nhìn chung, chưng cất lôi cuốn hơi nước và ép lạnh là những phương pháp quan trọng trong nghiên cứu và sản xuất tinh dầu chanh ta. Các công nghệ chiết xuất hiện đại là hướng tiếp cận có tiềm năng cải thiện hiệu quả khai thác, song việc lựa chọn phương pháp cần căn cứ vào đặc điểm nguyên liệu, mục tiêu nghiên cứu và điều kiện thực hiện.

2.2. Nghiên cứu về thành phần hóa học của tinh dầu chanh ta

Tinh dầu vỏ chanh ta chứa nhiều hợp chất dễ bay hơi, trong đó limonene thường chiếm tỷ lệ cao, bên cạnh các thành phần như β -pinene, γ -terpinene, citral và linalool (Aziz và cộng sự, 2018; Oikeh và cộng sự, 2020; Permadi và cộng sự, 2024). Thành phần và hàm lượng tương đối của các hợp chất có thể thay đổi tùy theo nguồn nguyên liệu, điều kiện sinh trưởng, độ chín của quả và phương pháp chiết xuất.

Việc xác định thành phần hóa học có ý nghĩa quan trọng trong đánh giá đặc điểm và chất lượng tinh dầu, đồng thời cung cấp cơ sở để đối chiếu kết quả giữa các nghiên cứu. Bên cạnh đó, thành phần hóa học là một trong những yếu tố cần xem xét khi nghiên cứu mối liên hệ giữa đặc điểm của tinh dầu và hoạt tính sinh học.

Do đó, việc xác định các thành phần hóa học chính trong tinh dầu thu được từ vỏ quả chanh ta là nội dung cần thiết để bổ sung dữ liệu về mẫu nguyên liệu được khảo sát và phục vụ đánh giá tiềm năng ứng dụng của sản phẩm.

2.3. Nghiên cứu về hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu chanh ta

Hoạt tính kháng khuẩn là một trong những đặc tính sinh học được quan tâm khi nghiên cứu tinh dầu chanh ta. Một số nghiên cứu đã khảo sát khả

năng ức chế các vi sinh vật gây bệnh, trong đó có *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* và *Candida albicans* (Aziz và cộng sự, 2018; Oikeh và cộng sự, 2020). Những kết quả này góp phần làm rõ tiềm năng ứng dụng của tinh dầu chanh trong kiểm soát vi sinh vật.

Phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch hoặc khuếch tán giếng thạch được sử dụng phổ biến để đánh giá sơ bộ hoạt tính kháng khuẩn. Ưu điểm của các phương pháp này là quy trình tương đối đơn giản, có thể đánh giá khả năng ức chế thông qua đường kính vòng vô khuẩn. Tuy nhiên, kết quả còn phụ thuộc vào khả năng khuếch tán của các thành phần tinh dầu trong môi trường thạch.

Phương pháp pha loãng trong môi trường lỏng và vi pha loãng được sử dụng để xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và, khi cần thiết, nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC). Các phương pháp này cung cấp dữ liệu định lượng về khả năng ức chế hoặc tiêu diệt vi sinh vật, hỗ trợ so sánh hoạt tính giữa các mẫu nghiên cứu (Oluwatobi và cộng sự, 2023; Oikeh và cộng sự, 2020).

Ngoài ra, một số nghiên cứu quốc tế đã sử dụng phương pháp theo dõi đường cong tăng trưởng của vi khuẩn và đo mật độ quang học (OD) để đánh giá sự thay đổi khả năng phát triển của vi sinh vật theo thời gian khi tiếp xúc với tinh dầu (Putnik và cộng sự, 2017). Các kỹ thuật như sắc ký kết hợp sinh học và kính hiển vi điện tử quét (SEM) cũng được ứng dụng nhằm hỗ trợ xác định các thành phần có hoạt tính và khảo sát những biến đổi hình thái của tế bào vi khuẩn (Bousbia và cộng sự, 2009).

Nhìn chung, các phương pháp đánh giá hoạt tính kháng khuẩn có ưu điểm và giới hạn riêng. Việc lựa chọn phương pháp cần phù hợp với mục tiêu nghiên cứu và đặc tính của mẫu thử. Đối với nghiên cứu tinh dầu, phương pháp vi pha loãng trong môi trường lỏng trên đĩa 96 giếng là hướng tiếp cận phù hợp để khảo sát nhiều nồng độ và xác định MIC, với điều kiện quy trình được xây dựng và kiểm soát phù hợp đối với tinh dầu.

Trên cơ sở kế thừa các nghiên cứu trước, nghiên cứu tập trung chiết xuất tinh dầu từ vỏ quả chanh ta thu hái tại vườn được liệu Trường Đại học Thành Đô bằng phương pháp ép, xác định các thành phần hóa học chính và đánh giá sơ bộ hoạt tính kháng khuẩn đối với *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* và *Klebsiella pneumoniae*

bằng phương pháp vi pha loãng trong môi trường lỏng trên đĩa 96 giếng. Kết quả nghiên cứu góp phần cung cấp dữ liệu ban đầu về thành phần hóa học và hoạt tính kháng khuẩn của mẫu tinh dầu được khảo sát.

3. Phương pháp nghiên cứu

3.1. Chuẩn bị mẫu, chiết xuất và định lượng các thành phần chính trong tinh dầu

3.1.1. Chuẩn bị mẫu

Sau khi thu hái, quả chanh được rửa sạch bằng nước, để ráo, sau đó tiến hành gọt tách vỏ. Nguyên liệu sau sơ chế được bảo quản trong điều kiện thoáng mát, khô ráo và tiến hành chiết xuất trong vòng 24 giờ để hạn chế sự biến đổi thành phần hóa học do quá trình oxy hóa hay bay hơi của tinh dầu.

3.1.2. Quy trình chiết xuất

Trong nghiên cứu này, tinh dầu vỏ quả chanh ta (*Citrus aurantifolia*) được thu bằng phương pháp ép cơ học sử dụng dụng cụ ép cầm tay. Vỏ chanh được cắt nhỏ và đưa vào dụng cụ ép cầm tay để nén, làm vỡ các túi tinh dầu, giải phóng tinh dầu. Sau đó tiến hành để lắng ly tâm nhẹ để tách lớp tinh dầu nổi trên bề mặt. Thí nghiệm được lặp lại 06 lần.

Tinh dầu thu được có màu vàng nhạt, mùi thơm đặc trưng, được bảo quản trong lọ thủy tinh tối màu, đặt ở 4–8 °C để hạn chế sự oxy hóa và bay hơi, đảm bảo chất lượng trong quá trình lưu giữ và sử dụng để đánh giá hoạt tính kháng khuẩn.

Hàm lượng tinh dầu (HL%) được tính theo công thức:

$$H\% = \frac{x}{m} \times 100\%$$

Trong đó:

x: Thể tích tinh dầu cất được

m: Khối lượng được liệu

3.1.3. Định lượng các thành phần chính trong tinh dầu

Thành phần hóa học của tinh dầu vỏ chanh ta được xác định bằng phương pháp sắc ký khí khối phổ GC–MS.

3.2. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn

3.2.1. Vi sinh vật thử nghiệm

Ba chủng vi khuẩn kiểm định chuẩn được lựa chọn để đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu chanh, bao gồm: *Staphylococcus aureus* ATCC 33591, *Escherichia coli* ATCC 25922 và *Klebsiella pneumoniae* ATCC 2146.

3.2.2. *Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC)*

Xác định giá trị MIC

Giá trị MIC của tinh dầu được xác định bằng phương pháp vi pha loãng trong môi trường lỏng trên đĩa 96 giếng, dựa trên khuyến nghị của CLSI. Vi khuẩn được chuẩn bị từ các khuẩn lạc thuần trên đĩa thạch TSA, điều chỉnh độ đục về tương đương 0,5 McFarland, sau đó pha loãng để đạt nồng độ làm việc khoảng $1,5 \times 10^6$ CFU/mL trong môi trường canh thang MHB (Mueller–Hinton Broth).

Tinh dầu chanh được hòa tan trong MHB có bổ sung 4% Tween 80, sau đó tiến hành pha loãng hai lần liên tiếp trên đĩa 96 giếng từ cột 1 đến cột 10 để thu dãy nồng độ giảm dần. Cột 11 được sử dụng làm chứng dương (chỉ chứa vi khuẩn, không có tinh dầu), trong khi cột 12 là chứng âm (không chứa vi khuẩn). Đĩa được ủ ở 37 °C trong 24 giờ. MIC được xác định là nồng độ tinh dầu thấp nhất tại đó không quan sát thấy sự phát triển của vi sinh vật.

Xác định giá trị MBC

Xác định nồng độ tối thiểu diệt vi khuẩn (MBC) dựa trên đĩa xác định MIC, tất cả các giếng không mọc được cấy lên đĩa thạch TSA để xác định MBC. Mẫu được ủ ở 37°C trong 24 giờ, đếm số khuẩn lạc xuất hiện. Nồng độ MBC là nồng độ thấp nhất có khả năng diệt lớn hơn 99 % số vi khuẩn so với thời điểm ban đầu.

3.2.3. *Đánh giá khả năng diệt khuẩn theo nồng độ*

Giá trị MBC được xác định dựa trên kết quả thí nghiệm MIC. Từ các giếng không có sự phát

triển vi khuẩn, hút dịch cấy chuyển lên đĩa thạch TSA và ủ ở 37 °C trong 24 giờ, sau đó đếm số khuẩn lạc xuất hiện. Nồng độ MBC được xác định là nồng độ tinh dầu thấp nhất có khả năng làm giảm trên 99% số lượng vi khuẩn sống (tương đương giảm $\geq 2 \log_{10}$ CFU/mL) so với thời điểm ban đầu.

4. Kết quả nghiên cứu

4.1. Hiệu suất chiết tinh dầu

Hiệu suất chiết tinh dầu từ vỏ chanh ta trong nghiên cứu này đạt $0,29 \pm 0,03\%$ (v/w, tính trên nguyên liệu tươi). Giá trị này thấp hơn so với kết quả của một số nghiên cứu trong nước, chẳng hạn Lý Thị Thanh Thảo và Vương Bảo Ngọc (2022) báo cáo hiệu suất đạt 1,65% khi sử dụng phương pháp cất kéo hơi nước. Trên phạm vi quốc tế, Permadi và cộng sự (2024) ghi nhận hiệu suất đạt 0,5%, trong khi Lemes và cộng sự (2018) báo cáo hiệu suất khoảng 3% với cùng phương pháp (Lemes và cộng sự, 2018; Permadi và cộng sự, 2024). Như vậy, hiệu suất $0,29 \pm 0,03\%$ thu được trong nghiên cứu này thấp hơn so với các nghiên cứu sử dụng phương pháp cất kéo hơi nước, điều này có thể được giải thích bởi sự khác biệt về phương pháp chiết xuất, điều kiện sinh trưởng của cây, giống chanh, độ chín của nguyên liệu cũng như điều kiện xử lý sau thu hoạch. Mặc dù cho hiệu suất thu hồi thấp hơn, phương pháp ép cơ học có ưu điểm là không sử dụng nhiệt, giúp hạn chế sự phân hủy hoặc biến đổi các hợp chất dễ bay hơi, từ đó góp phần bảo tồn tốt hơn thành phần hóa học tự nhiên của tinh dầu.

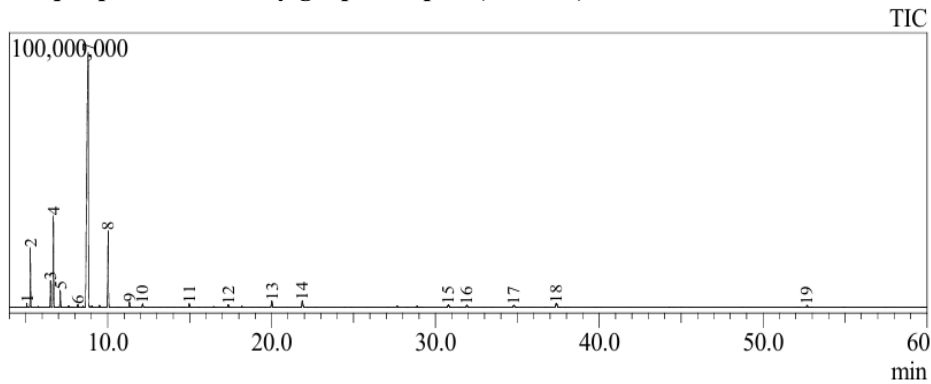
Bảng 1. So sánh hiệu suất chiết tinh dầu từ vỏ chanh ta với các nghiên cứu khác

Đối tượng nghiên cứu	Phương pháp chiết xuất	Hiệu suất tinh dầu (%)	Tài liệu tham khảo	Nhận xét
C.aurantifolia (Việt Nam)	Ép cơ học (dùng cụ cầm tay)	0,28	Kết quả nghiên cứu	
C.aurantifolia (Việt Nam)	Cất kéo hơi nước	1,65	Lý Thị Thanh Thảo và Vương Bảo Ngọc, 2022	Cao hơn nghiên cứu hiện tại
C.aurantifolia (Brazil)	Cất kéo hơi nước	3,0	Lemes và cộng sự, 2018	Cao hơn nghiên cứu hiện tại
C.aurantifolia (Indonesia)	Cất kéo hơi nước	0,5	Permadi và cộng sự, 2024	Cao hơn nghiên cứu hiện tại

Nguồn: Kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả; Thảo & Ngọc, 2022; Lemes và cộng sự, 2018; Permadi và cộng sự, 2024

4.2. Thành phần hóa học của tinh dầu

Kết quả xác định thành phần hóa học của tinh dầu vỏ chanh ta bằng phương pháp GC–MS được trình bày ở hình 1 và bảng 2.

Hình 1. Kết quả phân tích sắc ký ghép khối phổ (GC-MS) của tinh dầu chanh**Bảng 2. Thành phần hoá học trong tinh dầu chanh**

STT	Tên hợp chất	Hàm lượng các hợp chất trong tinh dầu (%)	STT	Tên hợp chất	Hàm lượng các hợp chất trong tinh dầu (%)
1	α -Thujence	0,33	11	Citronellal	0,55
2	α -Pinene	4,93	12	L- α -Terpineol	0,39
3	4(10)-Thujence	2,58	13	β -Citral	1,05
4	L- β -Pinene	9,34	14	α -Citral	1,09
5	β - Myrcene	1,68	15	Caryophyllene	0,44
6	α -Terpinene	0,33	16	Cis α -Bergamotene	0,35
7	D-Limonene	64,72	17	β -Copaene	0,42
8	γ -Terpinene	9,49	18	β -Bisabolene	0,94
9	Terpinolene	0,65	19	Citroptene	0,25
10	Linalool	0,45			

Kết quả phân tích sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS) cho thấy tinh dầu vỏ chanh ta trong nghiên cứu này chứa 19 hợp chất, được xác định dựa trên thời gian lưu và phổ khối đặc trưng. Các hợp chất chủ yếu thuộc nhóm monoterpene hydrocarbon, monoterpene oxygenated và một số sesquiterpene, phản ánh đặc trưng hóa học điển hình của tinh dầu Citrus.

Trong số các cấu tử được xác định, D-limonene là hợp chất chiếm ưu thế tuyệt đối, với hàm lượng 64,72%, cho thấy đây là thành phần chính quyết định mùi hương và nhiều hoạt tính sinh học của tinh dầu vỏ chanh ta. Kết quả này phù hợp với các công bố trước đây, trong đó limonene thường được ghi nhận là cấu tử chính của tinh dầu Citrus aurantifolia (Adokoh và cộng sự, 2019).

Bên cạnh limonene, tinh dầu còn chứa hàm lượng đáng kể các monoterpene khác như γ -terpinene (9,49%), α -pinene (4,93%), 4(10)-

Nguồn: Kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả thujene (2,58%), L- β -pinene (9,34%) và β -myrcene (1,68%). Sự hiện diện đồng thời của các hợp chất này góp phần tạo nên mùi hương đặc trưng, tươi mát và phức hợp của tinh dầu, đồng thời có thể đóng vai trò hiệp đồng trong các hoạt tính sinh học như kháng khuẩn, chống oxy hóa và kháng viêm.

Nhóm monoterpene chứa oxy được ghi nhận với hàm lượng thấp hơn, bao gồm linalool (0,45%), citronellal (0,55%), α -terpineol (0,39%), α -citral (1,09%) và β -citral (1,05%). Mặc dù chiếm tỷ lệ nhỏ, các hợp chất này có vai trò quan trọng trong việc hoàn thiện hương thơm và thường liên quan đến các hoạt tính sinh học mạnh, đặc biệt là khả năng kháng vi sinh vật và tạo hương đặc trưng của tinh dầu chanh.

Ngoài ra, một số sesquiterpene như caryophyllene (0,44%), cis- α -bergamotene (0,35%), β -copaene (0,42%) và β -bisabolene (0,94%) cũng được phát hiện với hàm lượng thấp.

Sự hiện diện của các hợp chất này cho thấy tinh dầu có cấu trúc hóa học đa dạng, góp phần nâng cao giá trị sinh học và tiềm năng ứng dụng của tinh dầu trong các lĩnh vực dược phẩm, mỹ phẩm và hương liệu.

4.3. Hoạt tính kháng khuẩn

Kết quả MIC, MBC

Bảng 3. Kết quả MIC và MBC của tinh dầu chanh trên 3 chủng vi sinh vật thử nghiệm

Chủng vi sinh vật	MIC ($\mu\text{L/mL}$)*	MIC (%)**	MBC*** ($\mu\text{L/mL}$)	MBC (%)
S. aureus ATCC 33591	62,5	6,25	125	12,5
E. coli ATCC 25922	125	12,5	125	12,5
K. pneumoniae ATCC 2146	>125	>12,5	>125	>12,5

* (μL tinh dầu/mL môi trường), ** tỷ lệ % tinh dầu trong môi trường, *** MBC: $-2 \log \text{CFU/mL}$ so với lượng VSV tại thời điểm t_0 . Thí nghiệm thực hiện 3 lần độc lập.

Kết quả trong bảng cho thấy tinh dầu chanh thể hiện hoạt tính kháng khuẩn khác nhau đối với các chủng vi sinh vật Gram dương và Gram âm được khảo sát.

Đối với S. aureus ATCC 33591 (Gram dương), tinh dầu có tác dụng mạnh nhất, với giá trị MIC đạt 62,5 $\mu\text{L/mL}$ (6,25%) và MBC bằng 125 $\mu\text{L/mL}$ (12,5%). Điều này chứng tỏ tinh dầu có khả năng ức chế và diệt khuẩn tương đối tốt đối với chủng tụ cầu kháng methicillin này.

Đối với hai chủng Gram âm (E. coli ATCC 25922 và K. pneumoniae ATCC 2146), hoạt tính kháng khuẩn giảm đáng kể. Với E. coli, MIC và MBC đều đạt 125 $\mu\text{L/mL}$ (12,5%), cho thấy chỉ đạt mức kìm khuẩn – diệt khuẩn ở nồng độ cao hơn đáng kể so với S. aureus.

Riêng K. pneumoniae ATCC 2146 không bị ức chế hoặc tiêu diệt hoàn toàn ở nồng độ tối đa thử nghiệm (>125 $\mu\text{L/mL}$), cho thấy mức đề kháng tự nhiên cao, phù hợp với đặc điểm của loài

Bảng 3 trình bày nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của tinh dầu đối với ba chủng vi sinh vật thử nghiệm, bao gồm Staphylococcus aureus ATCC 33591, Escherichia coli ATCC 25922 và Klebsiella pneumoniae ATCC 2146.

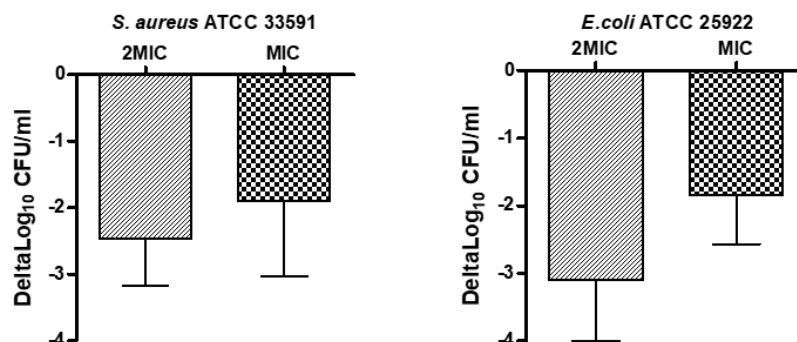
Nguồn: Kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả vi khuẩn Gram âm có cấu trúc màng ngoài phức tạp, cản trở sự xâm nhập của các hợp chất kỵ nước như tinh dầu.

Nhìn chung, các kết quả này cho thấy tinh dầu có hoạt tính kháng khuẩn mạnh hơn trên vi khuẩn Gram dương so với Gram âm. Điều này phù hợp với cơ chế tác dụng của tinh dầu – thường dễ dàng phá vỡ lớp peptidoglycan của Gram dương nhưng khó xuyên qua lớp màng ngoài lipopolysaccharide của Gram âm. Việc MBC luôn cao hơn hoặc bằng MIC chứng tỏ tác dụng của tinh dầu thiên về kìm khuẩn và cần nồng độ cao hơn để đạt hiệu lực diệt khuẩn.

Kết quả diệt khuẩn theo nồng độ

Kết quả về sự giảm mật độ vi khuẩn cho thấy hoạt tính diệt khuẩn của tinh dầu chanh có xu hướng phụ thuộc nồng độ (dose-dependent) đối với cả S. aureus ATCC 33591 và E. coli ATCC 25922 (hình 3).

Hình 2. Kết quả diệt khuẩn theo nồng độ của tinh dầu chanh đối với S. aureus và E. coli



Khi tăng nồng độ tinh dầu từ MIC lên 2MIC, mức giảm $\log_{10}$ CFU/mL gia tăng rõ rệt; đặc biệt ở nồng độ >2MIC, tinh dầu chanh đạt hiệu quả diệt khuẩn mạnh với mức giảm >2 $\log_{10}$ CFU/mL (tương đương tiêu diệt >99% tế bào sống). Cơ chế này có thể liên quan đến sự phá vỡ tính toàn vẹn màng tế bào vi khuẩn do các hợp chất kỵ nước trong tinh dầu, đặc biệt là limonene—thành phần chính gây rối loạn cấu trúc phospholipid, làm tăng tính thấm màng và thất thoát các thành phần nội bào.

Đáng chú ý, tinh dầu chanh cho thấy hiệu lực mạnh hơn trên *S. aureus* (Gram dương) so với *E. coli* (Gram âm). Điều này phù hợp với đặc điểm cấu trúc của hai nhóm vi khuẩn: Gram dương chỉ có thành tế bào peptidoglycan dày nhưng đơn giản, dễ bị các phân tử tinh dầu xuyên qua; trong khi Gram âm sở hữu lớp màng ngoài lipopolysaccharide (LPS) tạo thành hàng rào bảo vệ giúp hạn chế sự thâm nhập của các hợp chất kỵ nước. Xu hướng này cũng hoàn toàn tương đồng với dữ liệu MIC/MBC, trong đó *S. aureus* có MIC thấp hơn và đạt MBC ở nồng độ thấp hơn so với *E. coli*.

Như vậy, cả dữ liệu MIC/MBC và thử nghiệm thay đổi mật độ vi khuẩn đều cho thấy tinh dầu chanh có tiềm năng kháng khuẩn đáng kể, đặc biệt đối với vi khuẩn Gram dương, và thể hiện khả năng diệt khuẩn khi sử dụng ở nồng độ cao hơn.

5. Bàn luận

Kết quả về hiệu suất chiết tinh dầu cho thấy phương pháp ép cơ học chỉ thu được một lượng tinh dầu ở mức khiêm tốn, phản ánh bản chất của kỹ thuật này khi lực cơ học khó có thể giải phóng hoàn toàn tinh dầu nằm sâu trong cấu trúc mô của vỏ chanh. Sự chênh lệch hiệu suất giữa nghiên cứu này với các nghiên cứu sử dụng phương pháp cắt kéo hơi nước là điều dễ hiểu, bởi hơi nước ở nhiệt độ cao có khả năng phá vỡ cấu trúc tế bào mạnh hơn và khuếch tán tinh dầu hiệu quả hơn. Tuy vậy, giá trị thu được vẫn nằm trong phạm vi được công bố ở nhiều nghiên cứu quốc tế, cho thấy đặc tính tích lũy tinh dầu của chanh ta tại Việt Nam không khác biệt đáng kể so với các vùng sinh thái khác. Kết quả này cho thấy nguồn nguyên liệu bản địa có chất lượng ổn định, đồng thời gợi ý rằng các yếu tố như giống cây, điều kiện canh tác và thời điểm thu hái có thể không gây biến động lớn đối với hàm lượng tinh dầu khi

được xử lý đúng quy trình.

Về hoạt tính kháng khuẩn, sự khác biệt rõ rệt giữa vi khuẩn Gram dương và Gram âm là hoàn toàn phù hợp với cấu trúc sinh học đặc trưng của hai nhóm vi khuẩn này. Thành tế bào của Gram dương có cấu trúc đơn giản hơn, dễ bị các hợp chất kỵ nước trong tinh dầu thâm nhập và gây tổn thương màng, trong khi lớp màng ngoài lipopolysaccharide của Gram âm lại đóng vai trò như hàng rào bảo vệ hiệu quả. Đây cũng là lý do tinh dầu thường phát huy tác dụng mạnh hơn trên các chủng Gram dương. Sự kém nhạy cảm của *Klebsiella pneumoniae*, vốn là vi khuẩn có cấu trúc màng ngoài phức tạp và nhiều cơ chế đề kháng.

Xu hướng tăng hiệu lực khi tăng nồng độ tinh dầu cho thấy tác động của tinh dầu là dạng phụ thuộc nồng độ, phù hợp với cơ chế gây tổn thương màng và làm rối loạn hoạt động nội bào. Ở nồng độ cao, các monoterpene như limonene có khả năng làm mất tính toàn vẹn của màng tế bào, gây rò rỉ ion và chất nền, từ đó dẫn đến sự suy giảm số lượng vi khuẩn một cách nhanh chóng. Kết quả này mang giá trị thực tiễn vì chứng minh rằng tinh dầu chanh có thể là một tác nhân sinh học đáng cân nhắc cho các ứng dụng kháng khuẩn tự nhiên, đặc biệt trong lĩnh vực thực phẩm hoặc chế phẩm sát khuẩn thân thiện với môi trường.

Mặc dù hiệu suất thu được không cao, tinh dầu vẫn thể hiện hoạt tính sinh học rõ rệt cho thấy chất lượng tinh dầu không phụ thuộc hoàn toàn vào lượng thu được, mà chủ yếu phụ thuộc vào tỷ lệ của các hợp chất hoạt tính trong tinh dầu. Đây là yếu tố quan trọng mở ra hướng nghiên cứu tiếp theo nhằm phân tích thành phần hóa học chi tiết để xác định các hợp chất chủ đạo góp phần vào hoạt tính kháng khuẩn.

6. Kết luận

Nghiên cứu đã tiến hành chiết xuất tinh dầu từ vỏ quả chanh ta (*Citrus aurantifolia*) thu hái tại vườn dược liệu Trường Đại học Thành Đô bằng phương pháp ép cơ học và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu trên ba chủng vi sinh vật kiểm định gồm *Staphylococcus aureus* ATCC 33591, *Escherichia coli* ATCC 25922 và *Klebsiella pneumoniae* ATCC 2146. Hiệu suất chiết đạt 0,28%, thấp hơn một số nghiên cứu trong nước và tương đương với tài liệu quốc tế do đặc trưng của phương pháp ép là hiệu suất thấp.

Kết quả MIC và MBC cho thấy tinh dầu chanh ta biểu hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh đối với *S. aureus*, trung bình đối với *E. coli*, và gần như không hiệu quả trên *K. pneumoniae*. Thử nghiệm diệt khuẩn theo nồng độ cũng chứng minh hiệu ứng phụ thuộc nồng độ rõ rệt với hiệu quả diệt khuẩn >99% ở nồng độ >2MIC đối với cả hai chủng *S. aureus* và *E. coli*. Những kết quả này khẳng định tiềm năng sử dụng tinh dầu chanh ta như một tác nhân kháng khuẩn tự nhiên, đặc biệt đối với vi khuẩn Gram dương.

Từ kết quả nghiên cứu, nhóm tác giả đề xuất một số định hướng phát triển trong tương lai như

sau: (1) Tối ưu hóa quy trình chiết xuất để nâng cao hiệu suất và chất lượng tinh dầu trong điều kiện phòng thí nghiệm và sản xuất nhỏ; (2) Đánh giá độ ổn định và an toàn của tinh dầu để định hướng ứng dụng vào các sản phẩm chăm sóc cá nhân hoặc dung dịch xịt kháng khuẩn có nguồn gốc tự nhiên; (3) Khảo sát phổ tác dụng rộng hơn, bao gồm thêm các chủng vi sinh vật gây bệnh thường gặp, nhằm hoàn thiện dữ liệu kháng khuẩn của tinh dầu; (4) Xem xét thử nghiệm công thức sản phẩm mẫu, kết hợp tinh dầu chanh với các tinh dầu khác để tăng cường hiệu lực và tính ứng dụng thực tế.

Tuyên bố về GenAI và Quyền tác giả: Nhóm tác giả có sử dụng công cụ AI hỗ trợ trong phân tích thống kê mô tả, rà soát cấu trúc và biên tập ngôn ngữ bản thảo và hiệu chỉnh một số đoạn văn bản trong quá trình phản hồi ý kiến phản biện. Toàn bộ định hướng nội dung, số liệu khảo sát, diễn giải kết quả và kết luận do các tác giả quyết định và chịu trách nhiệm cuối cùng.

Tuyên bố về xung đột lợi ích: Nhóm tác giả không có bất kỳ xung đột lợi ích nào liên quan đến việc thực hiện, nghiên cứu và công bố bài báo này.

Tài liệu tham khảo

- Adokoh, C. K., Asante, D.-B., Acheampong, D. O., Kotsuchibashi, Y., Armah, F. A., Sirikiyi, I. H., Kimura, K., Gmakame, E., & Abdul-Rauf, S. (2019). Chemical profile and in vivo toxicity evaluation of unripe *Citrus aurantifolia* essential oil. *Toxicology Reports*, 6, 692–702. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.06.020>.
- Aziz, Z. A. A., Ahmad, A., Setapar, S. H. M., Karakucuk, A., Azim, M. M., Lokhat, D., Rafatullah, Mohd., Ganash, M., Kamal, M. A., & Ashraf, G. M. (2018). Essential Oils: Extraction techniques, pharmaceutical and therapeutic potential - A Review. *Current Drug Metabolism*, 19(13), 1100–1110. <https://doi.org/10.2174/1389200219666180723144850>.
- Bousbia, N., Abert Vian, M., Ferhat, M. A., Petitcolas, E., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (2009). Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. *Food Chemistry*, 114(1), 355–362. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.106>.
- Della Porta, G., Taddeo, R., D'Urso, E., & Reverchon, E. (1998). Isolation of clove bud and star anise essential oil by supercritical CO₂ Extraction. *LWT - Food Science and Technology*, 31(5), 454–460. <https://doi.org/10.1006/fstl.1998.0381>.
- Dosoky, N. S., & Setzer, W. N. (2018). Biological activities and safety of *Citrus* spp. essential oils. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7), 1966. <https://doi.org/10.3390/ijms19071966>.
- Fornari, T., Vicente, G., Vázquez, E., García-Risco, M. R., & Reglero, G. (2012). Isolation of essential oil from different plants and herbs by supercritical fluid extraction. *Journal of Chromatography A*, 1250, 34–48. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.04.051>.
- Guan, W., Li, S., Yan, R., Tang, S., & Quan, C. (2007). Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food Chemistry*, 101(4), 1558–1564. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.009>.
- Lemes, R. S., Alves, C. C. F., Estevam, E. B. B., Santiago, M. B., Martins, C. H. G., Santos, T. C. L. DOS, Crotti, A. E. M., & Miranda, M. L. D. (2018). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from

- Citrus aurantifolia* leaves and fruit peel against oral pathogenic bacteria. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 90(2), 1285–1292.
- Oikeh, E. I., Oviasogie, F. E., & Omoregie, E. S. (2020). Quantitative phytochemical analysis and antimicrobial activities of fresh and dry ethanol extracts of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (sweet Orange) peels. *Clinical Phytoscience*, 6(1), 46. <https://doi.org/10.1186/s40816-020-00193-w>
- Oluwatobi, F., Afolabi, O., Okiki, P., Adeniyi, F., & Akpor, O. (2023). Bioactive properties of the extracts of peels, pomace, seeds, and essential oils of *Citrus limon* and *Citrus aurantifolia*. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*. <https://doi.org/10.7324/JABB.2023.143783>.
- Permadi, N., Nurzaman, M., Doni, F., & Julaha, E. (2024). Elucidation of the composition, antioxidant, and antimicrobial properties of essential oil and extract from *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle peel. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 31(6), 103987. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2024.103987>.
- Putnik, P., Bursać Kovačević, D., Režek Jambrak, A., Barba, F., Cravotto, G., Binello, A., Lorenzo, J., & Shpigelman, A. (2017). Innovative “Green” and novel strategies for the extraction of bioactive added value compounds from *Citrus* wastes—A Review. *Molecules*, 22(5), 680. <https://doi.org/10.3390/molecules22050680>.
- Thao, L. T. T., & Ngoc, V. B. (2022). Ly trích tinh dầu từ vỏ chanh (*Citrus Aurantifolia* L.). *Tap chí công thương*, 22, 368–373.

ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA TINH DẦU CHIẾT XUẤT TỪ VỎ QUẢ CÂY CHANH TA TẠI VƯỜN DƯỢC LIỆU TRƯỜNG ĐẠI HỌC THÀNH ĐÔ

Phí Thị Tuyết Nhung¹ Trịnh Thị Thu Huyền² Đỗ Thị Hồng Nhung³

Đoàn Văn Thái⁴ Trần Yến Nhi⁵ Nguyễn Thị Trà Giang⁶

^{1, 2, 3, 4, 5, 6}Trường Đại học Thành Đô

Email: pttnhung@thanhdoni.edu.vn¹; trinhthithuhuyend116k15.tdu@gmail.com²; hongnhung311205@gmail.com³; thaidv.biomeq@gmail.com⁴; tranyennhi16122005@gmail.com⁵; zanggnii@gmail.com⁶

Ngày nhận bài: 1/6/2026; Ngày phản biện: 8/6/2026; Ngày tác giả sửa: 24/7/2026;

Ngày duyệt đăng: 28/10/2026

DOI: <https://doi.org/10.58902/nckhpt.e-v2i2.383>

Tóm tắt: Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá sơ bộ hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu chiết xuất từ vỏ quả cây chanh ta (*Citrus aurantifolia*) thu hái tại Vườn Dược liệu, Trường Đại học Thành Đô. Tinh dầu được thu nhận bằng phương pháp ép cơ học với hiệu suất 0,29±0,03% (tính theo khối lượng nguyên liệu tươi). Kết quả phân tích thành phần hóa học cho thấy tinh dầu chứa chủ yếu D-limonene – hợp chất monoterpen. Hoạt tính kháng khuẩn được xác định thông qua giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC), nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) và khảo sát khả năng diệt khuẩn theo nồng độ đối với ba chủng vi sinh vật kiểm định gồm *Staphylococcus aureus* ATCC 33591, *Escherichia coli* ATCC 25922 và *Klebsiella pneumoniae* ATCC 2146. Kết quả cho thấy tinh dầu có hoạt tính mạnh trên *S. aureus* (MIC = 62,5 µL/mL; MBC = 125 µL/mL), hoạt tính trung bình trên *E. coli* (MIC = MBC = 125 µL/mL) và hầu như không hiệu quả với *K. pneumoniae*. Thử nghiệm diệt khuẩn theo nồng độ ghi nhận hiệu ứng phụ thuộc nồng độ rõ rệt; tại nồng độ >2MIC, tinh dầu chanh gây giảm >2 log₁₀ CFU/mL, tương đương hiệu quả diệt khuẩn >99% đối với *S. aureus* và *E. coli*. Các kết quả này cho thấy tinh dầu chanh ta có tiềm năng ứng dụng làm tác nhân kháng khuẩn tự nhiên, đặc biệt đối với các chủng vi khuẩn Gram dương.

Từ khóa: *Citrus aurantifolia*; *C. aurantifolia*; Chanh ta; Chanh xanh; Kháng khuẩn; Phương pháp ép; Tinh dầu chanh.