

THÀNH PHẦN HÓA HỌC, HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA VÀ KHÁNG KHUẨN CỦA TINH DẦU VỎ QUẢ CHANH RỪNG MẪU SƠN

CHEMICAL COMPOSITIONS, ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF ESSENTIAL OILS FROM MAU SON *ATALANTIA CITROIDES* FRUIT PEELS

Khiếu Thị Tâm^{1,*}, Trần Quốc Toàn²

DOI: <http://doi.org/10.57001/huinh5804.2025.140>

TÓM TẮT

Chanh rừng (*Atalantia citroides* Pierre ex Guill) được coi là sản vật đặc trưng của núi rừng Mẫu Sơn, tỉnh Lạng Sơn. Vỏ quả chanh rừng chứa nhiều tinh dầu, có tác dụng giảm ho, viêm họng và cảm cúm. Tuy nhiên, đến nay chưa có nghiên cứu nào về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của quả Chanh rừng. Trong nghiên cứu này, thành phần hoá học và hoạt tính chống oxy hoá của tinh dầu vỏ quả Chanh rừng được đánh giá. Kết quả phân tích cho thấy tinh dầu của vỏ quả Chanh rừng gồm 14 hợp chất trong đó D-limonene (36,213%), α -terpinene (25,740%) và o-cymene (24,079%) là thành phần chính. Tinh dầu của vỏ quả Chanh rừng thể hiện hoạt tính chống oxy hoá đáng kể với giá trị IC_{50} là $367,65 \pm 4,51 \mu\text{g/mL}$. Hơn nữa, tinh dầu vỏ Chanh rừng thể hiện hoạt tính kháng khuẩn *E. coli* mạnh nhất với giá trị IC_{50} là $62,50 \pm 0,00 \mu\text{g/mL}$. Đây là công bố đầu tiên về thành phần hoá học và hoạt tính chống oxy hoá và kháng khuẩn của vỏ quả Chanh rừng được thu hái ở Mẫu Sơn, Lạng Sơn. Kết quả này cho thấy tiềm năng ứng dụng của tinh dầu vỏ quả Chanh rừng trong y dược.

Từ khóa: Chanh rừng, thành phần hoá học, tinh dầu, hoạt tính chống oxy hoá.

ABSTRACT

Atalantia citroides is considered as a specialty of the mountainous region of Mau Son in Lang Son Province. The peel of *Atalantia citroides* fruit contains a significant number of essential oils, which is used for reducing coughs, throat inflammation, and colds. However, no research has been reported on the chemical compositions and biological activities of this species. This study investigated the chemical constituents and antioxidant activity of the essential oils extracted from the peel of *Atalantia citroides* fruit. The analysis revealed that the essential oils consisted of 14 compounds, with D-limonene (36.213%), α -terpinene (25.74%), and o-cymene (24.079%) as the major components. The essential oils of *Atalantia citroides* fruit peel demonstrated moderate antioxidant activity with an IC_{50} value of $367.65 \pm 4.51 \mu\text{g/mL}$. Furthermore, they displayed the strongest antibacterial activity against *E. coli* with an IC_{50} value of $62.50 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$. This is the first report on the chemical compositions and antioxidant activity of *Atalantia citroides* fruit peel harvested from Mau Son, Lang Son. The results indicate the potential applications of *Atalantia citroides* fruit peel essential oils in pharmaceuticals.

Keywords: *Atalantia citroides*; chemical compositions, essential oils, antioxidant activity.

¹Khoa Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, Trường Đại học Khoa học Thái Nguyên

²Khoa Hóa học, Trường Đại học Sư phạm Thái Nguyên

*Email: tamkt@tnus.edu.vn

Ngày nhận bài: 24/02/2025

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 19/5/2025

Ngày chấp nhận đăng: 28/5/2025

1. GIỚI THIỆU

Chi *Atalantia* thuộc họ Rutaceae, gồm 20 loài và được tìm thấy ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, khu vực Đông Nam Á và Trung Quốc [1, 2]. Ở Việt Nam, chi *Atalantia* gồm

8 loài phân bố khắp cả nước [3]. Tinh dầu của các loài thuộc chi *Atalantia* nổi tiếng với hương thơm đặc trưng và khả năng chữa bệnh tiềm năng [4-8]. Thành phần hoá học của tinh dầu các loài thuộc chi *Atalantia* rất phong

phủ với phổ hoạt tính rộng [4-8], tuy nhiên, hoạt tính của chúng chưa được nghiên cứu rộng. Chanh rừng hay tiểu quất chanh có tên khoa học là *Atalantia citroides* Pierre ex Guill, thuộc chi *Atalantia*, cây mọc tự nhiên ở trên núi, chủ yếu ở các tỉnh miền núi phía Bắc như Lạng Sơn, Yên Bái, Cao Bằng, Hà Giang và Sơn La. Đặc biệt, Chanh rừng được coi là sản vật đặc trưng của núi rừng Mẫu Sơn, tỉnh Lạng Sơn. Phần thịt của quả Chanh rừng chứa hàm lượng đáng kể các vitamin A, B1, B2, C và citric acid, có tác dụng giải nhiệt, lợi tiểu, kháng viêm và tiêu độc, trong khi đó, vỏ quả chanh rừng chứa nhiều tinh dầu, có tác dụng giảm ho, viêm họng và cảm cúm [9]. Cho đến nay, chưa có một công bố nào về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của quả Chanh rừng. Vì vậy, nghiên cứu này tập trung xác định thành phần hoá học và chống oxy hoá và kháng khuẩn của tinh dầu vỏ quả Chanh rừng nhằm làm cơ sở khoa học cho các ứng dụng và sản xuất hương liệu.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Đối tượng nghiên cứu và hóa chất

Quả Chanh rừng được thu hái ở trên núi Mẫu Sơn tỉnh Lạng Sơn vào tháng 9 năm 2024 và được xác định tên khoa học bởi TS. Nông Thị Anh Thư, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Thái Nguyên. Các hóa chất gồm *n*-hexane ($\geq 99,5\%$), Na_2SO_4 ($\geq 99,0\%$), 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (100%), dimethyl sulfoxide (DMSO) (99,5%) của hãng Merck. Các chủng vi khuẩn gồm *E. coli* (ATCC 25922), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *K. pneumoniae* (ATCC 700603) và *S. aureus* (ATCC 25927).

2.2. Chiết tinh dầu

Quả Chanh rừng được bóc lấy vỏ và cắt nhỏ. 0,5kg vỏ quả Chanh rừng tươi được cho vào bình cầu 2L và được chiết bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước với bộ dụng cụ Clevenger trong thời gian 4 giờ thu được tinh dầu vỏ quả Chanh rừng. Tinh dầu được làm khô bằng Na_2SO_4 khan, được bảo quản ở nhiệt độ 4°C và được dùng để phân tích thành phần hoá học và đánh giá hoạt tính chống oxy hoá. Quá trình chưng cất tinh dầu được lặp lại 3 lần. Hiệu suất chiết tinh dầu được tính theo công thức (1).

$$\text{Hiệu suất (\%)} = \frac{m_{\text{tinh dầu}}}{m_{\text{mẫu}}} \times 100 \quad (1)$$

Trong đó, $m_{\text{tinh dầu}}$ là khối lượng tinh dầu thu được, $m_{\text{mẫu}}$ là khối lượng vỏ quả Chanh rừng tươi.

2.3. Phân tích thành phần của tinh dầu vỏ quả Chanh rừng bằng phương pháp GC/MS

Thành phần hoá học của tinh dầu vỏ quả Chanh rừng được phân tích bằng sắc ký khí ghép nối khối phổ (GC/MS) trên hệ thống sắc ký khí Agilent 8890 với đầu dò

khối phổ Agilent 5977B, cột mao quản HP-5MS 30m x 0,25mm x 0,25 μm . Cột được lập trình nhiệt độ từ 60°C trong 2 phút, sau đó, nhiệt độ được tăng đến 240°C với tốc độ $4^\circ\text{C}/\text{phút}$ và giữ 10 phút mỗi lần tăng nhiệt. Tinh dầu được pha loãng bằng *n*-hexane và được bơm vào buồng nhiệt 250°C . Helium là khí mang với tốc độ chảy là 1mL/phút. Thể tích mẫu bơm là 0,2 μL . Hợp chất được xác định bằng cách so sánh phổ khối của chúng với thư viện phổ NIST02. Hàm lượng của các hợp chất được xác định sử dụng phần trăm diện tích peak tương quan.

2.4. Hoạt tính chống oxy hoá

Hoạt tính chống oxy hóa được xác định bằng phương pháp bắt gốc tự do 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Hỗn hợp phản ứng gồm 0,1mL tinh dầu được hoà tan trong DMSO và được pha loãng trong methanol ở các nồng độ khác nhau (50 - 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$) và 0,9mL DPPH nồng độ 10^{-4}M và được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong thời gian 30 phút. Sau thời gian ủ, hỗn hợp được đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 517nm. Ascorbic acid được sử dụng như là chất đối chứng dương. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Khả năng chống oxy hoá của tinh dầu được đánh giá thông qua phần trăm bắt gốc tự do được tính toán theo công thức (2).

$$I(\%) = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

Trong đó, I là phần trăm bắt gốc tự do, A_0 là độ hấp thụ quang của mẫu trắng, A_t là độ hấp thụ quang của mẫu. Giá trị IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$) được tính toán dựa vào phương trình tuyến tính thể hiện mối tương quan giữa nồng độ của mẫu và phần trăm bắt gốc tự do.

2.5. Hoạt tính kháng khuẩn

Hoạt tính kháng khuẩn chống lại các chủng vi khuẩn gồm *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* và *S. aureus* của tinh dầu vỏ quả Chanh rừng được đánh giá sử dụng phương pháp pha loãng nồng độ. Tinh dầu vỏ quả Chanh rừng được hòa tan trong dung môi DMSO để tạo thành dung dịch có nồng độ 1mg/mL. Sau đó, 100 μL tinh dầu có nồng độ 1mg/mL được pha loãng tuần tự trong đĩa 96 giếng chứa 100 μL môi trường Mueller Hinton Broth tạo thành dải nồng độ 500 - 7,81 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Cuối cùng 100 μL vi khuẩn ở dạng huyền phù được thêm vào môi trường và ủ ở 37°C trong 24 giờ. DMSO (100%) và ciprofloxacin (4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) lần lượt là đối chứng âm và đối chứng dương. Sự phát triển của vi khuẩn được đánh giá bằng cách đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 600nm bằng máy đọc khay vi thể Bioteck. Giá trị MIC được xác định là nồng độ thấp nhất của tinh dầu mà ức chế vi khuẩn phát triển. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

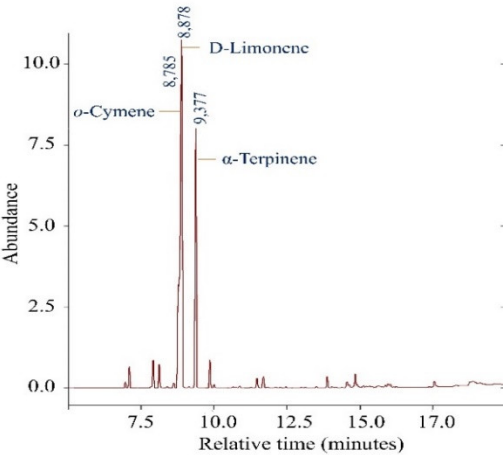
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần hoá học của tinh dầu vỏ quả Chanh rừng

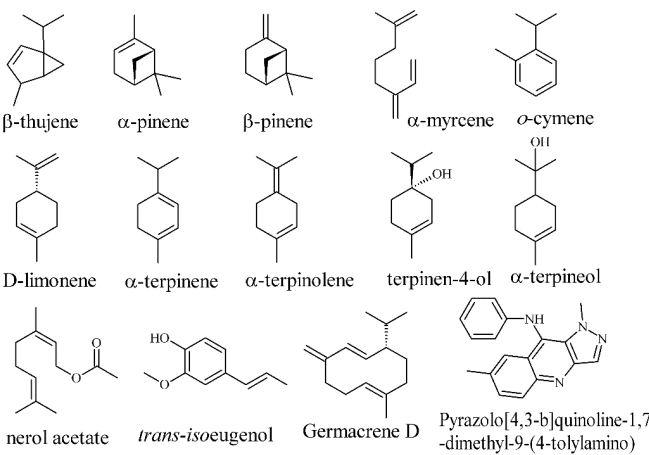
Hiệu suất chiết tinh dầu vỏ quả Chanh rừng được tính theo công thức (1) là $0,32 \pm 0,05\%$ so với khối lượng vỏ quả Chanh rừng tươi. Thành phần hoá học của tinh dầu vỏ quả Chanh rừng được phân tích bằng sắc ký khí ghép nối với khối phổ MS. Kết quả phân tích thành phần chỉ ra rằng 14 hợp chất được xác định trong tinh dầu vỏ quả Chanh rừng như thể hiện ở bảng 1 và hình 1, đạt 100%. Cấu trúc của các hợp chất được thể hiện ở hình 2.

Bảng 1. Thành phần hoá học của tinh dầu vỏ quả chanh rừng

STT	Tên hợp chất	RT (phút)	RI	Hàm lượng (%)
1	β -thujene	6,954	930	0,533
2	α -Pinene	7,095	941	1,876
3	β -Pinene	7,911	982	2,302
4	α -Myrcene	8,124	991	2,06
5	<i>o</i> -Cymene	8,785	1029	24,079
6	D-Limonene	8,878	1032	36,213
7	α -Terpinene	9,377	1059	25,74
8	α -Terpinolene	9,852	1090	2,414
9	Terpinen-4-ol	11,472	1180	0,816
10	α -Terpineol	11,682	1197	0,94
11	Nerol acetate	13,868	1362	1,02
12	<i>trans</i> -isoeugenol	14,55	1378	0,419
13	Germacrene D	14,836	1497	1,027
14	Pyrazolo[4,3- <i>b</i>]quinoline-1,7-dimethyl-9-(4-tolylamino)	17,56	1520	0,562
Tổng				100



Hình 1. Sắc ký đồ GC/MS của tinh dầu vỏ quả Chanh rừng



Hình 2. Cấu trúc của các hợp chất trong tinh dầu vỏ quả Chanh rừng

Trong đó, D-limonene (36,213%), α -terpinene (25,74%) và *o*-cymene (24,079%) là những hợp chất chính có trong tinh dầu vỏ quả Chanh rừng. Hợp chất D-limonene cũng được xác định trong tinh dầu của nhiều loài thuộc chi *Atalantia* và là thành phần phổ biến trong nhiều tinh dầu thực vật [7, 10, 11]. Tinh dầu của lá và thân loài *Atalantia buxifolia* ở Việt Nam chứa lần lượt 16,18% và 14,92% D- limonene [6]. Trong khi, tinh dầu vỏ quả Chanh (*Citrus aurantiifolia*) chứa 29,69 % D- limonene [12]. D-limonene, α -terpinene và *o*-cymene là hợp chất hữu cơ thể hiện hoạt tính chống oxy hoá, kháng khuẩn, chống viêm và chống ung thư [11, 13, 14]. Đây là công bố đầu tiên về thành phần hoá học của tinh dầu vỏ quả Chanh rừng được thu hái ở Mẫu Sơn, Lạng Sơn.

3.2. Hoạt tính chống oxy hoá

Bảng 2. Kết quả hoạt tính chống oxy hoá của tinh dầu vỏ quả Chanh rừng

STT	Tên mẫu	Nồng độ thử ($\mu\text{g/mL}$)	% bắt giữ gốc tự do	Giá trị IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
1	Tinh dầu vỏ quả Chanh rừng	50	4,31	367,65 $\pm$ 4,51
		100	14,93	
		200	29,76	
		300	41,91	
		400	54,93	
		500	66,51	
2	Chất tham chiếu	600	80,77	29,71 $\pm$ 1,75

Hiệu quả chống oxy hoá của tinh dầu vỏ quả Chanh rừng được xác định dựa vào tỉ lệ phần trăm ức chế DPPH được tính toán dựa vào công thức (2) và được trình bày ở bảng 2. Kết quả cho thấy khi tăng nồng độ của tinh dầu vỏ quả Chanh rừng từ 50 $\mu\text{g/mL}$ đến 600 $\mu\text{g/mL}$ thì hiệu quả ức chế DPPH tăng từ 4,306% đến 80,766%. Giá trị IC₅₀

được tính toán dựa vào phương trình tuyến tính $y = 0,1344x + 0,5884$ ($R^2 = 0,996$) là $367,65 \pm 4,51 \mu\text{g/mL}$, thể hiện hoạt tính chống oxy hoá thấp hơn so với chất tham chiếu là ascorbic acid ($\text{IC}_{50} = 29,71 \pm 1,75 \mu\text{g/mL}$) và thấp hơn so với tinh dầu *Atalantia monophylla* ($\text{IC}_{50} = 198,97 \pm 0,002 \mu\text{g/mL}$) [15] và mạnh hơn so với tinh dầu vỏ quả Chanh ($\text{IC}_{50} = 3,03 \pm 0,019 \text{mg/mL}$) [12]. Như vậy, tinh dầu vỏ quả Chanh rừng thể hiện hoạt tính chống oxy hóa đáng kể.

3.3. Hoạt tính kháng khuẩn

Bảng 3 thể hiện hoạt tính kháng các khuẩn *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* và *S. aureus* của tinh dầu vỏ quả Chanh rừng. Kết quả cho thấy tinh dầu vỏ quả Chanh rừng thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đáng kể với giá trị MIC trong khoảng 62,5 - 250 $\mu\text{g/mL}$, trong đó, tinh dầu vỏ quả Chanh rừng thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh nhất đối với *E. coli* sau đó là *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* và *S. aureus*. Khả năng kháng khuẩn của tinh dầu vỏ quả Chanh rừng mạnh hơn so với tinh dầu vỏ quả Chanh, loài *Atalantia monophylla* và yếu hơn so với thuốc kháng sinh ciprofloxacin.

Bảng 3. Hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu vỏ quả Chanh rừng

Vi khuẩn	MIC ($\mu\text{g/mL}$)				
	Tinh dầu vỏ quả Chanh rừng	Tinh dầu <i>A. monophylla</i> [15]	Tinh dầu vỏ quả Chanh [12]	DMSO	Ciprofloxacin
<i>E. coli</i>	62,50 $\pm 0,00$	328,14	-	0	0,5 $\pm 0,00$
<i>P. aeruginosa</i>	125,00 $\pm 0,00$	203,84	1560	0	0,25 $\pm 0,00$
<i>K. pneumoniae</i>	187,50 $\pm 0,00$	516,73	3130	0	0,25 $\pm 0,00$
<i>S. aureus</i>	250,00 $\pm 0,00$	541,11	-	0	0,5 $\pm 0,00$

(-): không xác định

4. KẾT LUẬN

Tóm lại, đây là công bố đầu tiên về thành phần hóa học và hoạt tính chống oxy hoá của vỏ quả Chanh rừng được thu hái ở Mẫu Sơn, Lạng Sơn. Tinh dầu vỏ quả Chanh rừng gồm 14 hợp chất trong đó D-limonene (36,213%), α -terpinene (25,74%) và o-cymene (24,079%) là thành phần chính. Tinh dầu của vỏ quả Chanh rừng thể hiện hoạt tính chống oxy hoá và khả năng kháng khuẩn đáng kể. Kết quả này cho thấy tiềm năng ứng dụng của tinh dầu vỏ quả Chanh rừng trong y dược.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. S. Ranade, K. Nair, A. P. Srivastava, P. Pushpangadan, "Analysis of diversity amongst widely distributed and endemic *Atalantia* (family Rutaceae) species from Western Ghats of India," *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 15 (3), 211-224, 2009.
- [2]. P. Shelar, S. K. Singh, "Ethnomedicinal Uses, Phytochemistry and Pharmacology of Few Species of Genus *Atalantia* (Rutaceae): A Review," *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 10 (3), 805-820, 2023.
- [3]. N. V. Hùng, T. H. Thái, N. A. Dũng, Đ. N. Đài, "Thành phần hóa học tinh dầu của loài quýt rừng (*Atalantia guillauminii* Swingle) (Rutaceae) ở Vườn Quốc gia Pù Mát, Nghệ An," *Tạp chí Sinh học*, 38 (1), 70-74, 2016.
- [4]. P. Pavithra, N. Sreevidya, R. Verma, "A review of chemistry and biological activity of genus *Atalantia* (Rutaceae)," *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, 31 (1), 63-72, 2009.
- [5]. K. Baskar, V. Sudha, G. Nattudurai, S. Ignacimuthu, V. Duraipandian, M. Jayakumar, N. A. Al-Dhabi, G. Benelli, "Larvicidal and repellent activity of the essential oil from *Atalantia monophylla* on three mosquito vectors of public health importance, with limited impact on non-target zebra fish," *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 10, 197-20, 2018.
- [6]. B. Thinh, N. Tan, D. Thin, R. Doudkin, "Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the leaves and stems of *Atalantia buxifolia* from Vietnam," in *Proceeding of the 5th national scientific conference on biological research and teaching in Vietnam*, 8-16, 2022.
- [7]. N. T. Le, M. G. Donadu, D. V. Ho, T. Q. Doan, A. T. Le, A. Raal, D. Usai, G. Sanna, M. Marchetti, M. Usai, "Biological activities of essential oil extracted from leaves of *Atalantia sessiflora* Guillaumin Vietnam," *Journal of Infection in Developing Countries*, 14 (9), 1054-1064, 2020.
- [8]. K. Yang, C.X. You, C.F. Wang, N. Lei, S.S. Guo, Z.F. Geng, S.S. Du, P. Ma, Z.W. Deng, "Chemical composition and bioactivity of essential oil of *Atalantia guillauminii* against three species stored product insects," *Journal of oleo science*, 64 (10), 1101-1109, 2015.
- [9]. P. H. Hộ, *Cây cỏ Việt Nam - Quyển II*. Nhà xuất bản Trẻ, 96-97, 2021.
- [10]. X. Pang, B. Almaz, X.-J. Qi, Y. Wang, Y.X. Feng, Z.F. Geng, C. Xi, S.S. Du, "Bioactivity of essential oil from *Atalantia buxifolia* leaves and its major sesquiterpenes against three stored-product insects," *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23 (1), 38-50, 2020.
- [11]. H. T. Van, T. D. Thang, T. N. Luu, V. D. Doan, "An overview of the chemical composition and biological activities of essential oils from *Alpinia* genus (Zingiberaceae)," *RSC advances*, 11 (60), 37767-37783, 2021.
- [12]. N. Permadi, M. Nurzaman, F. Doni, E. Julaeah, "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, 2024.
- [13]. S. Dagdelen, T. Bilenler, G. Durmaz, I. Gokbulut, A. Hayaloglu, I. Karabulut, "Volatile Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of

Herbal Plants Used in the Manufacture of V an Herby (OTLU) Cheese," *Journal of Food Processing and Preservation*, 38 (4), 1716-1725, 2014.

[14]. A. A. Sheashea, F. A. Ahmed, E. El Zayat, B. W. Ebeed, M. H. Elberry, Z. K. Hassan, M. M. Hafez, "In Vitro Antiviral and Anticancer Effects of Tanacetum sinaicum Essential Oil on Human Cervical and Breast Cancer," *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 25 (4), 1457, 2024.

[15]. R. Thirugnanasampandan, R. Gunasekar, M. Gogulramnath, "Chemical composition analysis, antioxidant and antibacterial activity evaluation of essential oil of *Atalantia monophylla* Correa," *Pharmacognosy Research*, 7 (1), 52-56, 2015.

AUTHORS INFORMATION

Khieu Thi Tam¹, Tran Quoc Toan²

¹Faculty of Basic Sciences, Thai Nguyen University of Sciences, Vietnam

²Faculty of Chemistry, Thai Nguyen University of Education, Vietnam