

KHẢO SÁT TINH DẦU VỎ TRÁI VÀ LÁ TẮC, *Fortunella japonica*, Thumb.**Trịnh Hoàng Hiếu, Nguyễn Thị Thảo Trân, Lê Ngọc Thạch**

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

(Bài nhận ngày 08 tháng 01 năm 2009, hoàn chỉnh sửa chữa ngày 24 tháng 08 năm 2009)

TÓM TẮT: Tắc hay còn gọi là quất, hạnh, họ Cam quýt (*Rutaceae*), được trồng rất phổ biến ở Việt Nam. Đề tài này tiến hành khảo sát tinh dầu vỏ trái và lá, trên nhiều lĩnh vực: hiệu suất tối ưu theo các phương pháp ly trích, chỉ số vật lý và hoá học, thành phần hóa học và hoạt tính sinh học. Sự ly trích tinh dầu được thực hiện theo phương pháp chưng cất hơi nước đun nóng cổ điển và chiếu xạ vi sóng. Thành phần hóa học tinh dầu được xác định bằng phương pháp GC-MS cho thấy tinh dầu vỏ trái có cấu phân chính là limonen (92%) và tinh dầu lá chứa chủ yếu các phân chính là elemol (18%), β -eudesmol (16%), *epi-biciclosesquiphelandren* (16%).

Từ khóa: *Fortunella japonica* Thumb., Tắc, chưng cất hơi nước, chiếu xạ vi sóng, hàm lượng tối ưu, thành phần hóa học, chỉ số lý-hóa, hoạt tính sinh học, limonen, elemol, *epi-biciclosesquiphelandren*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tắc là một loài cây dễ trồng. Trái tắc ngoài việc làm cảnh trong những ngày Tết cổ truyền, còn được dùng thay chanh trong một số món ăn, thức uống và gia vị. Lá có hương vị đặc trưng. Hoa trắng, đẹp và có mùi thơm. Tên khoa học là *Fortunella japonica* Thumb., họ *Rutaceae*. Tên thường gọi: hạnh, quất,^[1-6] Một số tên nước ngoài khác như: calamondin, kumquat....^[8] Các nghiên cứu về tinh dầu lá và vỏ trái tắc được thực hiện khá nhiều trên thế giới^[1, 8-15] nhưng ở tại Việt Nam thì còn hạn chế.^[4,16] Tuy nhiên, tất cả chủ yếu quan tâm về mặt thành phần hóa học của tinh dầu. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học tinh dầu vỏ trái và lá tắc được tìm thấy rất ít.^[12]

2. THỰC NGHIỆM**2.1. Nguyên liệu**

Vỏ trái và lá cây tắc, *Fortunella japonica* Thumb., được thu hái tại huyện Châu Thành, tỉnh Tiền Giang.

2.2. Xác định bộ phận chứa tinh dầu

Thực hiện sự phân phẫu học tuyến tinh dầu để xác định bộ phận chứa tinh dầu trên nguyên liệu khảo sát. Giải phẫu học được thực hiện tại Bộ môn Thực vật, Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên Thành phố Hồ Chí Minh.

2.3. Ly trích

Tinh dầu được ly trích bằng phương pháp chưng cất hơi nước đun nóng cổ điển (ĐNCĐ) hoặc chiếu xạ vi sóng (CXVS) trong lò vi sóng gia dụng cải tiến Sanyo EM-D553N, 2450 MHz, 450 W, với bộ Clevenger 2.000 ml (bộ tách tinh dầu nhẹ).^[17-19] Mỗi lần thí nghiệm sử dụng 300 g nguyên liệu xay nhỏ và 1.000 ml nước. Tiến hành ly trích trong những khoảng thời gian nhất định. Sử dụng dietil eter để ly trích phân tinh dầu, làm khan nước bằng Na_2SO_4 khan và cô quay thu hồi dung môi. Cân và tính hiệu suất tinh dầu thu được.

2.4. Thành phần hóa học

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS) trên máy HP 5890GC/5972MS, cột mao quản: RTX 5 (30,0 m x 250 μm x 0,25 μm), nhiệt độ injector: 250 $^{\circ}\text{C}$, tốc độ dòng: 3 ml/phút. Chương trình nhiệt: nhiệt độ đầu 40 $^{\circ}\text{C}$, tăng 2 $^{\circ}\text{C}$ /phút, đến 80 $^{\circ}\text{C}$, lưu 4 phút, tăng 4 $^{\circ}\text{C}$ /phút đến 180 $^{\circ}\text{C}$, lưu 6 phút, tăng 15 $^{\circ}\text{C}$ /phút đến 280 $^{\circ}\text{C}$ và lưu 2 phút.

2.5. Chỉ số vật lý và hóa học

Tỉ trọng được xác định bằng tỉ trọng kế thủy tinh. Chỉ số khúc xạ được xác định trên khúc xạ kế WYA-S ABBE. Góc quay cực được ghi trên triền quang kế A. Krüss Optronic. Các chỉ số acid (IA), ester (IE), sapon hóa (IS) được xác định theo tiêu chuẩn Pháp. ^[20]

2.6. Hoạt tính kháng khuẩn

Thực hiện tại Phòng Vi sinh Thực phẩm, Khoa Xét nghiệm, Viện Pasteur Tp Hồ Chí Minh theo phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch, đo đường kính vòng vô trùng tạo ra bởi đĩa giấy (D = 6 mm) tẩm tinh dầu với các nồng độ thay đổi từ 10^0 (tinh dầu nguyên chất), đến các nồng độ pha loãng dần.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

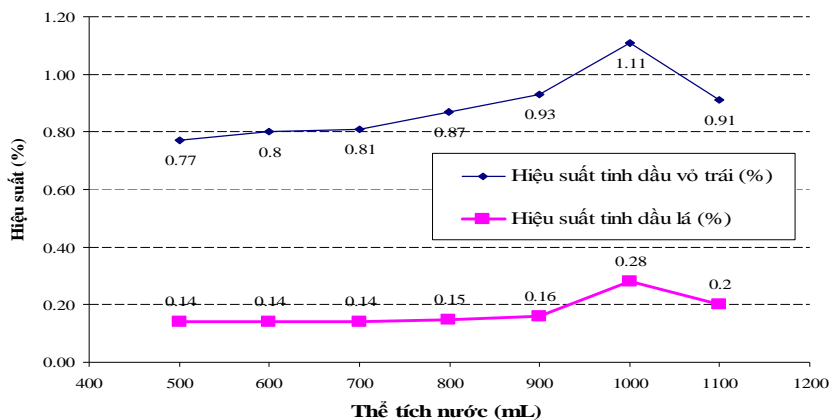
3.1. Giải phẫu học tuyến tinh dầu

Tinh dầu phân bố trong vỏ trái và lá tắc dưới dạng tuyến tiết, hình cầu hoặc hình bầu dục.

3.2. Ly trích tinh dầu

3.2.1. Khảo sát tỉ lệ nguyên liệu - nước

Tiến hành khảo sát tỉ lệ với 100 g nguyên liệu (vỏ trái hoặc lá) xay nhỏ, với thể tích nước từ 500 đến 1.100 ml, đun trong 1 giờ bằng phương pháp chưng cất hơi nước đun nóng cố định. Kết quả được ghi nhận trong Hình 1.



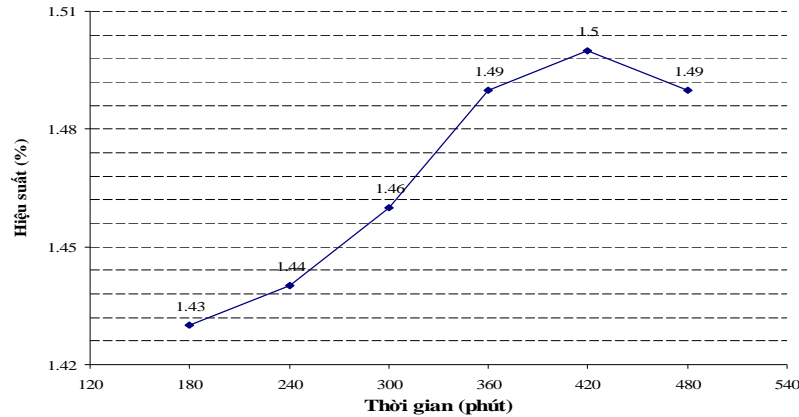
Hình 1. Hiệu suất tinh dầu vỏ trái và lá tắc theo thể tích nước chưng cất

Từ Hình 1 cho thấy với 100 g vỏ trái hoặc lá tắc cần có 1.000 ml nước để có thể thu được hiệu suất cao nhất.

3.2.2. Khảo sát thời gian chưng cất theo các phương pháp

3.2.2.1. Vỏ trái

3.2.2.1.1. Chưng cất bởi sự ĐNCD: Tiến hành chưng cất từ 3 đến 9 giờ, kết quả được ghi nhận trong Hình 2.



Hình 2. Hiệu suất tinh dầu vỏ trái tắc theo thời gian chưng cất bởi sự đun ĐNCĐ

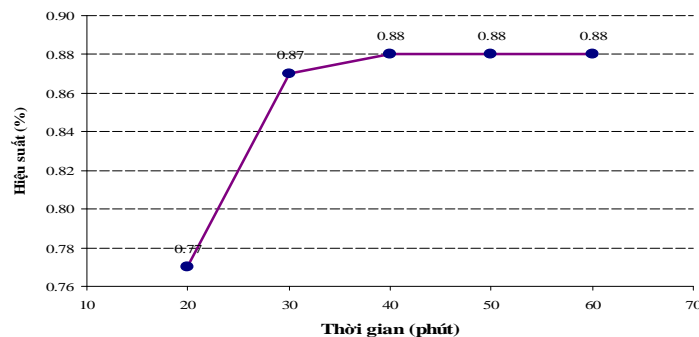
Theo Hình 2, hiệu suất tinh dầu đạt giá trị cao nhất (1,50%) sau 7 giờ chưng cất.

3.2.2.1.2. Chưng cất dưới sự CXVS

Tiến hành chưng cất từ 20 phút đến 60 phút, kết quả được biểu diễn theo Hình 3. Kết quả từ Hình 3 cho thấy, hiệu suất tinh dầu vỏ trái tắc đạt cao nhất 0,88% sau 40 phút.

Như vậy sự chưng cất hơi nước dưới sự CXVS trong trường hợp tinh dầu này không thích hợp (0,88% so với 1,50%). Có lẽ là do thành phần hóa học của tinh dầu chứa rất nhiều hợp chất không phân cực, do đó không chịu ảnh hưởng của vi sóng.

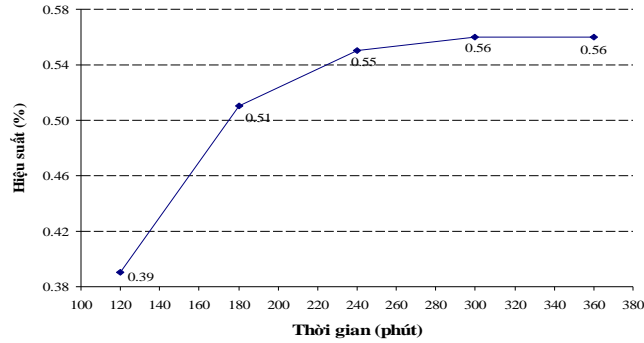
Bên cạnh việc thực hiện chưng cất tinh dầu dưới sự CXVS-CN (có nước), chúng tôi cũng thực hiện việc khảo sát dưới sự CXVS không cho thêm nước vào nguyên liệu (CXVS-KN). Tuy nhiên, trường hợp CXVS-KN, hiệu suất đạt cao nhất chỉ là 0,39%, sau 20 phút. Điều này chứng tỏ lượng nước tự nhiên có sẵn trong nguyên liệu không đủ lôi cuốn hết tinh dầu. Do đó, tinh dầu ly trích từ phương pháp CXVS-KN không phản ánh tự nhiên nên không được sử dụng làm mẫu vật cho các khảo sát tiếp theo.



Hình 3. Hiệu suất tinh dầu vỏ trái tắc theo thời gian chưng cất bởi sự CXVS có nước (CXVS-CN)

3.2.2.2. Lá

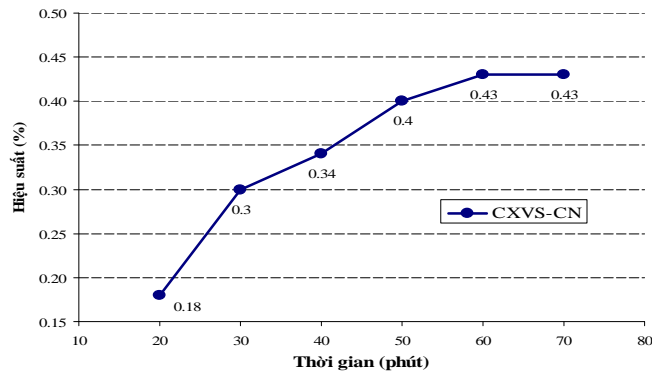
3.2.2.2.1. Chưng cất bởi sự ĐNCĐ: Tiến hành chưng cất từ 2 giờ đến 6 giờ, kết quả được ghi nhận trong Hình 4.



Hình 4. Hiệu suất tinh dầu lá tắc theo thời gian chưng cất bởi sự ĐNCD

Hiệu suất tinh dầu đạt giá trị cao nhất (0,56%) sau 5 giờ chưng cất.

3.2.2.2. Chưng cất dưới sự CXVS: Tiến hành chưng cất từ 20 phút đến 60 phút, kết quả được ghi nhận trong Hình 5.



Hình 5. Hiệu suất tinh dầu lá tắc theo thời gian chưng cất bởi sự CXVS-CN

Thực nghiệm cho thấy phương pháp chưng cất hơi nước dưới sự CXVS-CN đưa đến kết quả có nhiều ưu điểm: rút ngắn thời gian ly trích (cao nhất 0,43% sau 60 phút), tiết kiệm năng lượng. Tuy nhiên, hiệu suất tinh dầu thu được (0,43%) thấp hơn từ sự ĐNCD (0,56%).

Thực hiện sự chưng cất tinh dầu bởi phương pháp CXVS-KN, hiệu suất đạt được cao nhất là 0,38% sau 20 phút, thấp hơn phương pháp CXVS-CN (0,43%) Từ đây, có thể nói rằng lượng nước tự nhiên có sẵn trong nguyên liệu không đủ lôi cuốn hết tinh dầu. Do đó, chúng tôi không tiếp tục nghiên cứu trên loại sản phẩm này.

3.3. Chỉ số vật lý và hóa học

Các chỉ số vật lý, hóa học của tinh dầu vỏ và lá tắc được thực hiện trên các mẫu tinh dầu được ly trích theo ĐNCD và CXVS-CN.

Bảng 1. Chỉ số vật lý và hóa học

Nguyên liệu	Phương pháp	d_{31}^{31}	n_D^{29}	a_D^{29}	IA	IS	IE
Vỏ	ĐNCĐ	0,8373	1,4686	-89,166	3,23	7,33	4,10
	CXVS-CN	0,8375	1,4687	-89,119	2,22	10,60	7,78
Lá	ĐNCĐ	0,9140	1,4935	-7,890	4,90	9,10	4,20
	CXVS-CN	0,9170	1,4942	-1,062	2,78	21,00	18,22

Qua kết quả Bảng 1, cho thấy các chỉ số hóa lý của tinh dầu vỏ trái tắc thu được từ hai phương pháp ĐNCĐ và CXVS-CN không khác nhau nhiều lắm. Trong khi đó đối với tinh dầu lá tắc có sự khác biệt rõ rệt giữa hai mẫu tinh dầu.

3.4. Thành phần hóa học

Thành phần hóa học của tinh dầu vỏ và lá tắc thu được theo hai phương pháp ĐNCĐ và CXVS-CN được xác định bằng phương pháp GC-MS.

Bảng 2. Một số cấu phần chính của tinh dầu vỏ và lá tắc

Stt (*)	Cấu phần	% GC-MS			
		Vỏ		Lá	
		ĐNCĐ	CXVS-CN	ĐNCĐ	CXVS-CN
4	β -Pinen	0,47	0,74	7,98	3,78
8	Limonen	92,62	90,17	1,45	0,71
40	Epi-biciclosesquiphelandren	-	-	16,64	15,16
46	Elemol	0,12	0,10	17,72	18,54
51	Guaien	-	-	6,57	9,07
52	β -Eudesmol	0,24	0,33	16,65	20,27
Tổng cộng		99,76	99,69	99,96	99,86
Hợp chất hydrocarbon		97,49	97,00	53,93	48,21
Hợp chất oxigen		2,27	2,69	46,03	51,65

* theo thứ tự kết quả phân tích

Từ kết quả thành phần hóa học ghi trong Bảng 2, có thể lý giải được tại sao hiệu suất chưng cất hơi nước tinh dầu vỏ trái tắc dưới sự CXVS thấp hơn sự ĐNCĐ. Đó là vì tinh dầu này có thành phần hợp chất hydrocarbon rất cao (97%). Mà hydrocarbon là những hợp chất kém phân cực do đó ít chịu ảnh hưởng của vi sóng.

Thành phần hóa học của hai loại tinh dầu lá tắc phản ánh hai kiểu kích hoạt chưng cất hơi nước (ĐNCĐ/CXVS) rất rõ ràng. Tinh dầu thu được dưới sự chiếu xạ vi sóng có thành phần hợp chất oxigen cao hơn hợp chất hydrocarbon (52% / 48%) và tinh dầu thu được bằng sự đun nóng cổ điển thì có kết quả ngược lại (46% / 54%). Việc này cũng ảnh hưởng đến các chỉ số vật lý và hóa học (Bảng 1). Tuy nhiên tỉ lệ thành phần bách phân của hợp chất hydrocarbon và hợp chất oxigen gần như tương đương nhau. Chính vì vậy, hiệu suất tinh dầu thu được từ sự ĐNCĐ và CXVS không khác biệt nhau nhiều như trong trường hợp vỏ trái.

3.5. Thử nghiệm hoạt tính kháng vi sinh vật

Bảng 3. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng vi sinh vật của tinh dầu vỏ trái và lá tắc

Vi sinh vật	Tinh dầu	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)					
		Nồng độ tinh dầu					
		10^0		10^{-1}		10^{-2}	
		ĐNCĐ	CXVS-CN	ĐNCĐ	CXVS-CN	ĐNCĐ	CXVS-CN
<i>Bacillus subtilis</i>	Vỏ	18.5	15	6	6	6	6
	Lá	20	25	10.5	12.5	9	9
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Vỏ	9	6	6	6	6	6
	Lá	6	12.5	6	8	6	6
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Vỏ	12	11	6	6	6	6
	Lá	19	13	12	8	8.5	7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Vỏ	6	6	6	6	6	6
	Lá	11.5	7	10	6	6	6
<i>Candida albicans</i>	Vỏ	12	17	8.5	9	6	6
	Lá	11.5	14	10.5	13.5	9	10

Hoạt tính kháng vi khuẩn và vi nấm của tinh dầu lá tắc tương đối mạnh hơn tinh dầu vỏ tắc trên các chủng khảo sát.

4. KẾT LUẬN

- Ly trích tinh dầu bằng phương pháp chưng cất hơi nước dưới sự CXVS đưa đến kết quả có nhiều ưu điểm như: rút ngắn thời gian ly trích, tiết kiệm năng lượng. Tuy nhiên, trong trường hợp ly trích tinh dầu vỏ trái tắc và lá tắc, sự CXVS được xem như không thích hợp vì cho hiệu suất tinh dầu thấp hơn sự ĐNCĐ.

- Thành phần hóa học tinh dầu vỏ tắc là *d*-limonen và thành phần hóa học tinh dầu lá tắc là elemol, β -eudesmol, epi-biciclosesquiphelandren.

- Các chỉ số vật lý và hóa học thay đổi theo sự kích hoạt phương pháp chưng cất hơi nước.

- Hoạt tính kháng vi sinh vật cũng có sự khác biệt giữa hai sự kích hoạt và tùy thuộc nguyên liệu là lá hay vỏ trái tắc.

STUDY OF PEEL AND LEAF CALAMONDIN OIL, *Fortunella japonica* Thumb.

Trinh Hoang Hieu, Nguyen Thi Thao Tran, Le Ngoc Thach

University of Science, VNU-HCM

ABSTRACT: The essential oils of peel and leaf of *Fortunella japonica* Thumb. were isolated by using classical heating and microwave irradiation hydrodistillation. The oil yields of the different parts were also studied. The physical and chemical indices of the oils were identified. The chemical composition was examined by GC/MS analysis. The main components of peel oils and the leaf oils are limonene (92,62%) and elemol (17,72%), β -eudesmol

(16,65%), *epi-bicyclosesquiphellandrene* (16,64%) respectively. The antimicrobial property of these oils was determined.

Key words: *Limonene, elemol, β -eudesmol, epi-bicyclosesquiphellandrene, peel and leaf calamondin oil, Fortunella japonica* Thumb..

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Gupta, G.N., Gupta, J.C. *Indian Perfume* 1, 36-38 (1957).
- [2]. Phạm Hoàng Hộ, *Cây thuốc Việt Nam*, quyển 2, Nhà xuất bản Trẻ, Tp Hồ Chí Minh, 424 (1996).
- [3]. Võ Văn Chi, *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y Học, Hà Nội, 171-176 (1996).
- [4]. Nguyễn Mạnh Pha, Vũ Ngọc Lộ. *Journal of Essential Oil Research* 8, 415-416 (1996).
- [5]. Lã Đình Môi. *Tài nguyên thực vật có tinh dầu ở Việt Nam*, Tập 3. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội, 83-84 (2001).
- [6]. Lê Ngọc Thạch, *Tinh dầu*, Nhà xuất bản Đại Học Quốc Gia, Tp Hồ Chí Minh, 80-106 (2003).
- [7]. Giovanni Dugo, Angelo Di Giacomo. *Citrus: The Genus Citrus*, Taylor and Francis, Boca Raton, 1-15 (2003).
- [8]. S. R Agrawal, R. P. Agrawal, G. N. Gupta. *Proceedings of the Institution of Chemists* (India) 31, 207-209 (1959).
- [9]. Richard A. Bernhard, Byron Scubis. *Journal of Chromatography* 5, 137-146 (1961).
- [10]. A.Koyasako, R. A. Bernhard. *Journal of Food Science* 48, 1807-1812 (1983).
- [11]. Katumi Umamo, Yukio Hagi, Tomoko Tamra, Akihiro Shoji, Takayuki Shibamoto. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 1888-1890 (1994).
- [12]. Jamal Yulliasri, Agusta Praptiwi dan Andria. *Majalah Farmasi Indonesia* 11, 77-85 (2000).
- [13]. S. P.Yo, C. H. Lin. *European Journal of Horticultural Science* 69, 117-124 (2004).
- [14]. Hyang-Sook Choi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 1642-1647 (2005).
- [15]. Mohamed A. Ferhat, Brahim Y. Meklati, Jaqueline Smadja, Farid Chemat. *Journal of Chromatography A* 1112, 12-126 (2006).
- [16]. Nguyễn Thị Thanh Lan, Lê Ngọc Thạch, Cao Như Anh, Trần Hữu Anh, Đoàn Ngọc Nhuận, Đỗ Quang Hiền. *Tuyển tập*. Hội nghị Hóa học Toàn quốc lần thứ 4 (Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên và Hóa Dược), Hà Nội 20/10/2003, 224-228 (2003).
- [17]. Nguyen Duong Thanh Thi, Tran Huu Anh, Le Ngoc Thach. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants* 11, 154-161 (2008).
- [18]. Nguyễn Quỳnh Trang, Lê Ngọc Thạch. *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ* 11, 67-72 (2008).
- [19]. Bùi Thị Thanh Thùy, Lê Ngọc Thạch, Trần Minh Thông. *Tạp chí Dược liệu* 13, 116-119 (2008).
- [20]. AFNOR. *Huiles essentielles*. Syndicat National des Industries Aromatiques Alimentaires, Paris. 37-156 (1992).