



DOI:10.22144/ctujos.2024.460

XÂY DỰNG CÔNG THỨC VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG VI SINH VẬT CỦA NHŨ TƯƠNG TẠO BỌT CHỨA TINH DẦU VỎ BƯỞI (*Citrus grandis*)

Nguyễn Đình Thị Thanh Tuyền và Hoàng Đức Thuận*

Khoa Dược, Trường Đại học Lạc Hồng

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): thuanhoang@lhu.edu.vn

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 30/05/2024

Sửa bài (Revised): 29/06/2024

Duyệt đăng (Accepted): 12/08/2024

Title: Study of foamable emulsion formulation containing essential oil of *Citrus grandis* and evaluate its antibacterial activity

Author(s): Nguyen Dinh Thi Thanh Tuyen and Hoang Duc Thuan*

Affiliation(s): Faculty of Pharmacy, Lac Hong University

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu là xây dựng một công thức nhũ tương tạo bọt chứa tinh dầu vỏ bưởi (*Citrus grandis*) và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của nó. Nghiên cứu đã khảo sát các thông số: tỷ lệ chất tạo bọt, loại chất nhũ hóa, tỷ lệ chất nhũ hóa và ethanol trong Smix, tỷ lệ Smix và tinh dầu cần thiết để đạt được sự hình thành nhũ tương. Kết quả cho thấy tỷ lệ giữa chất tạo bọt cocamidopropyl betaine và decyl glucoside là 1:1 (kl/kl); tỷ lệ tinh dầu vỏ Bưởi sử dụng là 5% với chất nhũ hóa cremophor RH 40 và ethanol lần lượt là 7,59% và 5,10%. Công thức nhũ tương tạo bọt hơi đục, có mùi thơm của tinh dầu vỏ bưởi, pH 7,02, tỷ trọng 1,05 g/mL, mật độ bọt tạo ra 0,103 g/cm³. Sản phẩm nhũ tương tinh dầu vỏ bưởi có khả năng kháng lại các chủng *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* và *Candida albicans* với MIC lần lượt là 10%, 10%, 20% và 20%.

Từ khóa: Cocamidopropyl betaine, decyl glucoside, kháng khuẩn, nhũ tương tạo bọt, tinh dầu vỏ bưởi

ABSTRACT

The objective of the study was to develop a foaming emulsion formula containing *Citrus grandis* peel essential oil and evaluate its antimicrobial activity. The study investigated the following parameters: ratio of foaming agents, type of emulsifier, ratio of emulsifier and ethanol in Smix, and the ratio of Smix to essential oil. The results showed that the ratio between the foaming agents cocamidopropyl betaine and decyl glucoside was 1:1 (w/w). The formula used 5% *Citrus grandis* peel essential oil with cremophor RH 40 as the emulsifier and ethanol at an amount of 7.59% and 5.10%, respectively. The resulting foaming emulsion formula was slightly opaque, had a grapefruit essential oil scent, a pH of 7.02, a density of 1.05 g/mL, and a foam density of 0.103 g/cm³. The *Citrus grandis* peel essential oil emulsion product had the ability to inhibit *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, with MIC of 10%, 10%, 20%, and 20%, respectively.

Keywords: Antimicrobial activity, *Citrus grandis* peel essential oil, cocamidopropyl betaine, decyl glucoside, foaming emulsion

1. GIỚI THIỆU

Tinh dầu là hợp chất được biết đến với nhiều hoạt tính sinh học và có khả năng tăng cường tính thấm trong các hệ vận chuyển thuốc qua da (Alhasso et al., 2022), có tiềm năng ứng dụng trong các sản phẩm mỹ phẩm và da liễu (Abelan et al., 2022). Các dạng nhũ tương tinh dầu như vi nhũ tương, nano nhũ tương được nghiên cứu nhiều với mục đích cải thiện được khả năng phân tán của tinh dầu trong nước, tăng cường hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu (Franklyne et al., 2016) cũng như kết hợp với các hợp chất khác với mục đích cải thiện độ tan, độ ổn định hoặc tính thấm để tăng hoạt tính sinh học (Lu et al., 2017).

Ở Việt Nam, tinh dầu vỏ bưởi (*Citrus grandis*) được sử dụng khá phổ biến với các công dụng như làm sạch, làm thơm, dưỡng tóc,... Tinh dầu vỏ bưởi có trong các sản phẩm dùng ngoài như dầu gội, lotion hay dạng nguyên chất để phun xịt vào tóc và da đầu. Tinh dầu vỏ bưởi có khả năng kháng các chủng vi sinh vật gây bệnh ở người như *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* và *Candida albicans*,... có tiềm năng ứng dụng trong dược phẩm, thực phẩm có nguồn gốc tự nhiên, an toàn và hiệu quả (Chen et al., 2018; Phong và ctv., 2021; Mohammed et al., 2024; Olatunya et al., 2024).

Mặt khác, trong các dạng thuốc và mỹ phẩm dùng qua da, hệ phân tán dạng bột cũng được ứng dụng với nhiều ưu điểm về tính thấm, ưu điểm trong quá trình sử dụng so với các dạng dung dịch, cream hay gel như tăng thời gian tiếp xúc, không gây cảm giác nhờn rít,...(Arzhavitina et al, 2010).

Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này là xây dựng công thức nhũ tương tạo bột chứa tinh dầu vỏ bưởi. Dạng bào chế được lựa chọn là vi nhũ tương nhằm kết hợp pha dầu là tinh dầu vỏ bưởi với pha nước với mục đích cải thiện khả năng phân tán của tinh dầu, có thể dễ dàng kết hợp với các thành phần dược liệu khác để phát triển các sản phẩm kích thích mọc tóc (Lourith et al., 2013) hoặc sát khuẩn, làm sạch (Parekh et al., 2005)... Đồng thời khảo sát lựa chọn các chất tạo bột có nguồn gốc thiên nhiên để xây dựng công thức nhũ tương tạo bột an toàn, khắc phục được các nhược điểm của các dạng bào chế khác và tiện sử dụng. Trong nghiên cứu này, nhũ tương tạo bột chứa tinh dầu vỏ bưởi sau khi xây dựng sẽ được đánh giá tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Tinh dầu vỏ bưởi (Công ty Herbal Pharma, Việt Nam). Các hóa chất: Cremophor RH 40, cocamidopropyl betain (CAPB), decyl glucoside (DG) có xuất xứ Đức, Tween 80 đạt tiêu chuẩn Dược điển Trung Quốc 2010 do công ty Labtech Việt Nam cung cấp. Dung môi ethanol 99% do công ty Cemaco Việt Nam cung cấp.

2.2. Xây dựng công thức nhũ tương tạo bột

2.2.1. Khảo sát tỷ lệ chất tạo bột

Natri lauryl sulfat (NLS) và CAPB là cặp chất tạo bột thường được sử dụng trong các công thức nhũ tương tạo bột. Tuy nhiên, nghiên cứu muốn thay thế natri lauryl sulfat bằng một chất tạo bột dịu nhẹ có nguồn gốc thiên nhiên là DG để hạn chế kích ứng cho các đối tượng da nhạy cảm (Marinova et al., 2017).

Tỷ lệ phối hợp giữa cặp chất tạo bột CAPB và DG được khảo sát với 9 công thức có tỷ lệ tương ứng thay đổi từ 1:9 đến 9:1 (kl/kl) với tổng hàm lượng chất tạo bột là 5%. Sau đó, các công thức này được đánh giá thông qua tiêu chí khả năng tạo bột để xác định tỷ lệ tạo bột tốt nhất. Phương pháp đánh giá dựa trên chiều cao cột bột tạo được (Brazil National Health Surveillance Agency, 2005).

2.2.2. Khảo sát lựa chọn chất nhũ hóa

Tween 80 và cremophor RH40 được sử dụng phổ biến như chất hoạt động bề mặt trong nhũ tương D/N. Việc phối hợp với ethanol với vai trò là chất đồng điện hoạt như ethanol giúp làm tăng khả năng hình thành và ổn định nhũ tương (Zeng et al, 2017). Khả năng nhũ hóa tinh dầu vỏ Bưởi của 2 loại chất điện hoạt trên được đánh giá theo các công thức trong Bảng 1, và đánh giá độ bền của nhũ tương sau khi điều chế.

Bảng 1. Công thức khảo sát chất nhũ hóa

Công thức	Tinh dầu vỏ bưởi (%)	Cremophor RH40 (%)	Tween 80 (%)	EtOH (%)
1	5	5	-	10
2	5	10	-	10
3	5	20	-	10
4	5	30	-	10
5	5	-	5	10
6	5	-	10	10
7	5	-	20	10
8	5	-	30	10

Cho tinh dầu vỏ bưởi, chất nhũ hóa và ethanol vào becher và khuấy đều khoảng 1 phút bằng máy

khuấy từ tốc độ 200 vòng/phút. Sau đó thêm từ từ nước và khuấy ở tốc độ cố định 1000 vòng/phút trong vòng 3 phút để tạo nhũ tương đồng nhất. Chuyển sang ống nghiệm có nắp và để ổn định 24 giờ để quan sát sự tách lớp.

2.2.3. *Khảo sát thăm dò tỷ lệ thành phần chất nhũ hóa và ethanol*

Nghiên cứu tiến hành phối hợp chất nhũ hóa và ethanol (Smix) theo tỷ lệ lần lượt từ 3:1; 5:2; 2:1; 3:2; 1:1; 2:3; 1:2; 2:5; 1:3 (kl/kl) đến khi thành hỗn hợp đồng nhất, với hàm lượng tinh dầu bưởi được cố định ở tỷ lệ 5% (kl/kl), hàm lượng Smix là 20% (kl/kl), lượng nước cất vừa đủ 10 g. Sau đó, hỗn hợp này được thêm tinh dầu vào và khuấy đều cho đồng nhất. Hỗn hợp tiếp tục được bổ sung nước từ từ khi đang khuấy ở tốc độ cố định cho đến khi tạo nhũ tương đồng nhất.

2.2.4. *Khảo sát thăm dò tỷ lệ tinh dầu và Smix*

Nghiên cứu tiến hành phối hợp chất nhũ hóa và ethanol theo tỷ lệ đã chọn ở khảo sát trên, khuấy đều ở máy khuấy từ thành hỗn hợp đồng nhất. Hỗn hợp Smix được thêm vào tinh dầu với các tỷ lệ thăm dò lần lượt là 1:3; 2:5; 1:2; 2:3 1:1; 3:2; 2:1; 5:2; 3:1 (kl/kl) sao cho tổng hàm lượng đạt 10% (kl/kl). Hỗn hợp tinh dầu và Smix được bổ sung từ từ nước vừa đủ 10 g khi đang khuấy cho đến khi đồng nhất. Sản phẩm của các thí nghiệm được chuyển sang ống nghiệm có nắp và để ổn định 24 giờ để quan sát sự tách lớp và độ đục. Nhũ tương hình thành được đánh giá qua chỉ tiêu cảm quan: đồng nhất, không có sự tách lớp, đục mờ ánh xanh nhẹ (Đức & Trị, 2010).

2.2.5. *Thiết kế và tối ưu hóa công thức nhũ tương tạo bọt*

Nhằm tối ưu hóa công thức, mô hình I-Optimal được thiết kế bằng phần mềm Design-Expert phiên

Bảng 2. Thang điểm đánh giá mức độ tách lớp

Thang điểm	0	1	2	3	4
Độ ổn định nhũ tương	100%	>75%	>50 %	>25%	≤ 25%

– *Khả năng tạo bọt (R₂)*

Mỗi công thức được lấy 5 g cho vào ống nghiệm có nắp, đường kính 2 cm, dài 15 cm. Sau đó, ống nghiệm được lắc rung bằng máy lắc rung orbital ở mức 200 vòng/phút trong 5 phút. Kết quả tạo bọt được tính bằng chiều cao cột bọt ngay sau khi lắc (cm). Mỗi công thức được thực hiện 3 lần, lấy giá trị trung bình (Klein et al., 2004).

– *Độ bền bọt (R₃)*

Hệ số bền bọt = (chiều cao cột bọt sau khi lắc – chiều cao cột bọt sau 5 phút để yên)/chiều cao cột

bán 12. Ba biến số độc lập quan trọng ảnh hưởng đến tính chất sản phẩm được thiết lập bao gồm: tỷ lệ tinh dầu vỏ bưởi (X₁), tỷ lệ cremophor RH40 (X₂), tỷ lệ ethanol (X₃). Mô hình thiết kế với 3 biến số trên, số điểm lặp lại là 6, gồm 21 công thức. Các biến số phụ thuộc gồm mức độ tách lớp sau khi ly tâm (R₁), chiều cao cột bọt (R₂) và độ bền bọt (R₃). Việc lựa chọn công thức tối ưu dựa vào chỉ số mong muốn được gợi ý từ phần mềm Design-Expert, chỉ số này càng cao thì các giá trị dự đoán càng có khả năng sát với giá trị thực tế nhất.

2.3. **Quy trình điều chế nhũ tương tạo bọt**

Hòa tan ethanol và cremophor RH 40, khuấy trộn trên máy khuấy từ với tốc độ 500 vòng/phút để tạo thành hỗn hợp đồng nhất. Phối hợp từ từ tinh dầu Bưởi vào hỗn hợp trên và khuấy đều đến đồng nhất (1). Hòa tan chất tạo bọt được lựa chọn với nước cất cho tan hoàn toàn (2). Phối hợp (2) từ từ với tốc độ ổn định vào (1) đang được khuấy trộn trên máy khuấy từ với tốc độ cố định 800 vòng/phút cho đến khi thu được hỗn hợp đồng nhất. Để ổn định nhũ tương 24 giờ trước khi thực hiện các đánh giá cần thiết (Duy & Oanh, 2018).

2.4. **Xác định các thông số phụ thuộc**

– *Độ ổn định (R₁)*: Được đánh giá bằng phương pháp ly tâm. Lấy 1,5 mL sản phẩm đã điều chế cho vào ống ly tâm 2 mL. Sau khi để ổn định 24 giờ, các mẫu được đem đi ly tâm ở tốc độ 3000 vòng/phút trong 30 phút (Brazil National Health Surveillance Agency, 2005). Quan sát mức độ tách lớp dựa trên độ ổn định pha nhũ tương (Badawi et al., 2014).

$$\text{Độ ổn định (\%)} = \frac{\text{Thể tích của phần trên pha (mL)}}{\text{Tổng thể tích nhũ tương (mL)}}$$

bọt sau khi lắc. Thực hiện mỗi công thức 3 lần để lại giá trị trung bình (Klein et al., 2004).

2.5. **Đánh giá sơ bộ tính chất của nhũ tương tạo bọt chứa tinh dầu vỏ Bưởi**

Từ các kết quả tối ưu hóa, tiến hành điều chế 100 g nhũ tương tạo bọt chứa tinh dầu vỏ bưởi để đánh giá các tính chất sau.

Cảm quan: Trong hoặc mờ đục, không tách lớp, mùi thơm tinh dầu vỏ bưởi. Tạo bọt đều, mịn, có độ bền.

pH: Đo bằng máy đo pH ZENWAY. Thực hiện 6 lần lấy giá trị trung bình.

Tỷ trọng: Xác định bằng picnomet ở 20°C. Thực hiện 6 lần và lấy giá trị trung bình.

Mật độ bọt: Cho nhũ tương tạo bọt vào bình xịt tạo bọt, xịt vào cốc (có thể tích V; khối lượng m₀) sao cho bọt phủ đầy và cao hơn mặt cốc. Dùng một lame kính mỏng gạt cho bọt bằng phẳng và vừa đúng thể tích của cốc. Cân khối lượng thu được m. Tính mật độ bọt tạo ra theo công thức:

$$\text{Mật độ bọt} = \frac{(m-m_0)}{V} \text{ (g/cm}^3\text{)}$$

V: Thể tích cốc đo (mL)

m₀: Khối lượng cốc đo (g)

m: Khối lượng cốc sau khi xịt đầy bọt

Thực hiện 6 lần và lấy giá trị trung bình (Klein, 2004).

Độ ổn định vật lý: Được thực hiện theo phương pháp chu kỳ nóng-lạnh. Cân 10 g chế phẩm cho vào ống nghiệm có nắp đậy. Đặt ống nghiệm này lần lượt ở các điều kiện nhiệt độ 45°C ở bếp cách thủy trong 10 giờ, nhiệt độ 4°C ở tủ lạnh trong 14 giờ. Mẫu được cho là tách lớp khi chế phẩm bị tách thành 2 pha rõ rệt khi quan sát bằng mắt thường. Tiến hành lặp lại 12 chu kỳ nóng-lạnh (Brazil National Health Surveillance Agency, 2005).

2.6. Đánh giá tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm

Giá trị MIC (Minimum Inhibitory Concentration: nồng độ ức chế tối thiểu) thực hiện theo phương pháp pha loãng. Kết quả được thể hiện bằng nồng độ chất thử tối thiểu có khả năng ức chế sự phát triển của vi sinh vật.

2.6.1. Vi sinh vật thử nghiệm

Vi sinh vật gồm *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* và *Candida albicans* được cấy hoạt hóa trong môi trường Brain Heart Infusion (BHI), ủ 37°C trong 24 giờ để có độ đục bằng độ đục McFarland 0,5 (OD tại 600 nm từ 0,08 - 0,10) tương đương với 1,0 - 1,5.10⁸ CFU/mL. Vi sinh vật đã chỉnh McFarland 0,5 được pha loãng 150 lần vào môi trường Mueller Hinton Broth (MHB) với vi khuẩn hoặc MHB bổ sung 2% glucose với vi nấm.

2.6.2. Tiến hành

Pha loãng chất thử trong nước tinh khiết thành giai mẫu (nồng độ sau bằng ½ nồng độ trước).

Hút chất thử đã pha thành giai mẫu vào phiên 96 giếng (40 µL). Môi trường chứa vi sinh vật được bổ sung vào mỗi giếng vừa đủ 200 µL, sao cho nồng độ cuối của chất thử trong môi trường thử nghiệm như sau: 20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625%, 0,32%, 0,16%, 0,08%, 0,04% (tt/tt).

Ủ ở 37°C trong 24 giờ, quan sát độ đục trong giếng. MIC là nồng độ thấp nhất của mẫu thử ức chế sự phát triển của vi khuẩn và vi nấm.

Thực hiện song song với mẫu chứng âm (môi trường và vi sinh vật) và chứng dương (môi trường). Chứng âm phải có sự phát triển của vi sinh vật, chứng dương không có sự phát triển của vi sinh vật sau 24 giờ (Wayne, 2010).

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Kết quả xây dựng công thức nhũ tương tạo bọt

3.1.1. Kết quả khảo sát tỷ lệ chất tạo bọt

Kết quả khảo sát thể hiện ở Bảng 3 cho thấy khi kết hợp các chất tạo bọt làm gia tăng chiều cao cột bọt so với dùng đơn lẻ từng chất. DG tạo bọt nhanh nhưng bọt thoát nhanh, có độ bền bọt kém. Vai trò của CAPB trong hỗn hợp như chất diện hoạt thứ cấp, với vai trò tăng cường sự ổn định và làm bền bọt hơn (Cornwell, 2018). Sự kết hợp này phù hợp để thay thế trong các sản phẩm không chứa gốc sulfat. Tỷ lệ CAPB:DG là 1:1 (kl/kl) cho chiều cao cột bọt cao nhất khi khảo sát. Do đó, tỷ lệ 1:1 được chọn trong công thức nhũ tương tạo bọt chứa tinh dầu vô bụi.

Bảng 3. Kết quả khảo sát tỷ lệ chất tạo bọt CAPB:DG

Công thức	CAPB	DG	Chiều cao cột bọt
1	10	0	3,6
2	9	1	4,0
3	8	2	4,5
4	7	3	5,0
5	6	4	5,0
6	5	5	5,2
7	4	6	4,8
8	3	7	4,7
9	2	8	4,0
10	1	9	3,5
11	0	10	3,0

3.1.2. Kết quả khảo sát lựa chọn chất nhũ hóa

Kết quả khảo sát Bảng 4 cho thấy tween 80 ở các nồng độ khảo sát tạo các nhũ tương tinh dầu đục rõ và có sự tách lớp. Theo như kết quả nghiên cứu của Elfiyani et al. (2017), có thể cân nồng độ tween 80 và ethanol cao hơn để nhũ tương ổn định.

Đối với cremophor RH40 nồng độ từ 10%, kết quả cho thấy khả năng nhũ hóa và ổn định nhũ tương cao hơn tween 80. Kết quả phù hợp với nghiên cứu của Zeng et al. (2017), có thể do cremophor RH40 có thông số đóng gói để hình thành giọt dầu trong nước phù hợp góp phần tăng khả năng nhũ hóa và ổn định nhũ tương.

Bảng 4. Kết quả khảo sát chất nhũ hóa

Công thức	Độ bền
1	+
2	-
3	-
4	-
5	+
6	+
7	+
8	+

Bảng 5. Kết quả khảo sát thăm dò tỷ lệ hỗn hợp Smix

Công thức	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Tinh dầu vô Bưởi 5%										
Smix 20%	X ₂	3	5	2	3	1	2	1	2	1
	X ₃	1	2	1	2	1	3	2	5	3
H₂O vd 10 g										
Độ đục		++	++	+	+	++	++	++	+++	++++

(X₂: cremophor RH40; X₃: ethanol; số lượng dầu + biểu thị độ đục của nhũ tương)

3.1.4. Kết quả thăm dò tỷ lệ tinh dầu và Smix để hình thành nhũ tương

Với tổng hàm lượng Smix và tinh dầu là 10%, kết quả khảo sát khi thay đổi tỷ lệ Smix:tinh dầu được thể hiện trong Bảng 6.

Với tỷ lệ Smix:tinh dầu càng lớn thì khả năng hình thành nhũ tương càng tốt, độ đục giảm dần từ

Bảng 6. Công thức khảo sát hàm lượng Smix

CT	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Smix	1	2	1	2	1	3	2	5	3
TD	3	5	2	3	1	2	1	2	1
H₂O vd 10 g									
Độ đục	++++	++++	+++	++	++	++	++	+	+

(TD: tinh dầu; số lượng dầu + biểu thị độ đục của nhũ tương)

3.1.5. Kết quả tối ưu hóa

Từ các kết quả thăm dò, đề xuất các thành phần trong công thức để thiết kế thí nghiệm như sau:

Dữ liệu khảo sát thực nghiệm các công thức về mức độ tách lớp (R₁), chiều cao cột bọt (R₂) và độ bền bọt (R₃) được trình bày trong Bảng 8.

(+ Tách lớp; - Không tách lớp)

3.1.3. Kết quả thăm dò tỷ lệ hỗn hợp chất nhũ hóa cremophor RH40 và ethanol (Smix)

Từ kết quả khảo sát sơ bộ (Bảng 5), với hàm lượng tinh dầu Bưởi 5%, tỷ lệ cremophor RH40:ethanol nhỏ hơn 1 tạo nhũ tương đục rõ, không bền và có tách lớp (CT 8, 9). Độ đục giảm dần khi tăng tỷ lệ cremophor RH40:ethanol đến 3:2 và sau đó độ đục tăng lên khi tăng đến 3:1.

Với cùng 1 lượng tinh dầu là 5%; ở tỷ lệ 3:2 lượng chất nhũ hóa cremophor RH40 dùng ít hơn lượng chất nhũ hóa cremophor RH40 ở tỷ lệ 2:1. Do đó, chọn tỷ lệ 3:2 trong công thức đề xuất để thiết kế thực nghiệm.

CT 1 đến 9. Tỷ lệ 5:2 và 3:1 vì nhũ tương hình thành đồng nhất, không có sự tách lớp, đục mờ ánh xanh nhẹ. Do đó, tỷ lệ Smix:tinh dầu là 5:2 trong thành phần được đề xuất để thiết kế thực nghiệm vì tỉ lệ tinh dầu bưởi được nhũ hóa cao hơn so với tỷ lệ Smix:tinh dầu là 3:1.

Bảng 7. Thành phần đề xuất trong công thức

STT	Thành phần	Hàm lượng
1	Tinh dầu vô bưởi	3%-10%
2	Cremophor RH40	4,5%-15%
3	Ethanol	3%-10%
4	CAPB	2,5%
5	DG	2,5%
6	Nước cất	Vừa đủ 50 g

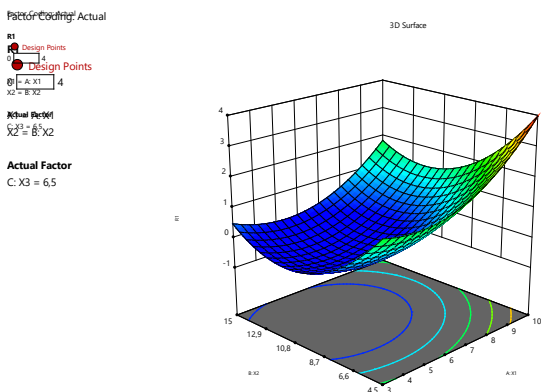
Bảng 8. Dữ liệu bào chế các công thức trong thiết kế

CT	X ₁ (%)	X ₂ (%)	X ₃ (%)	R ₁	R ₂ (cm)	R ₃
1	3,35	14,48	6,50	0	3,50	0,60
2	5,35	4,50	6,12	2	5,70	0,32
3	3,00	15,00	3,00	1	3,30	0,67
4	5,63	4,50	10,00	1	5,20	0,41
5	10,00	11,12	10,00	1	4,90	0,52
6	10,00	4,50	5,66	4	5,70	0,33
7	10,00	11,12	10,00	1	4,90	0,52
8	6,85	14,79	6,85	0	3,70	0,57
9	6,85	14,79	6,85	0	3,70	0,57
10	3,00	4,50	3,00	1	5,50	0,35
11	6,89	9,17	7,99	0	5,50	0,43
12	10,00	4,50	5,66	4	5,70	0,33
13	10,00	10,49	5,63	1	5,00	0,47
14	10,00	15,00	3,00	3	3,60	0,67
15	6,50	14,48	3,33	1	3,70	0,65
16	6,85	9,17	3,14	0	5,60	0,42
17	6,85	9,17	3,14	0	5,60	0,42
18	3,00	15,00	10,00	0	3,60	0,62
19	3,14	9,23	6,85	0	5,50	0,40
20	3,14	9,23	6,85	0	5,50	0,40
21	5,63	4,50	10,00	1	5,20	0,41

(X₁: hàm lượng tinh dầu vỏ bưởi; X₂: hàm lượng cremophor RH 40; X₃: hàm lượng ethanol; R₁: Độ tách lớp; R₂: Chiều cao cột bọt; R₃: Độ bền bọt)

Mô hình quy trình bậc 2 được đề xuất để tiến hành phân tích ANOVA ở cả 3 biến R₁, R₂, R₃.

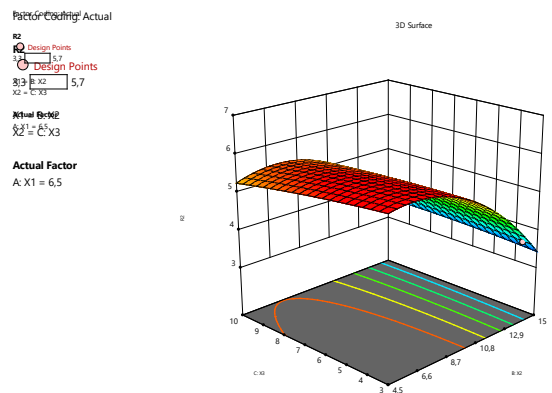
Đối với biến R₁, qua kết quả phân tích và đồ thị 3D (Hình 1) cho thấy biến phụ thuộc R₁ phụ thuộc đáng kể vào 2 yếu tố X₁ và X₂. Mức độ tách lớp tăng khi tăng hàm lượng tinh dầu và giảm hàm lượng cremophor RH 40. Phương trình hồi quy được thể hiện như sau.



Hình 1. Đồ thị 3D của các yếu tố tương tác trên R₁

$$R_1 = 4,564 - 0,549869 * X_1 - 0,83609 * X_2 + 0,353721 * X_3 - 0,0110617 * X_1 * X_2 - 0,0167571 * X_1 * X_3 - 0,0319583 * X_2 * X_3 + 0,0784925 * X_1^2 + 0,0488497 * X_2^2 + 0,00128941 * X_3^2$$

$$R_2 = 4,32577 + 0,143359 * X_1 + 0,343594 * X_2 - 0,0172651 * X_3 - 0,000303486 * X_1 * X_2 - 0,00816651 * X_1 * X_3 + 0,00946388 * X_2 * X_3 -$$



Hình 2. Đồ thị 3D của các yếu tố tương tác trên R₂

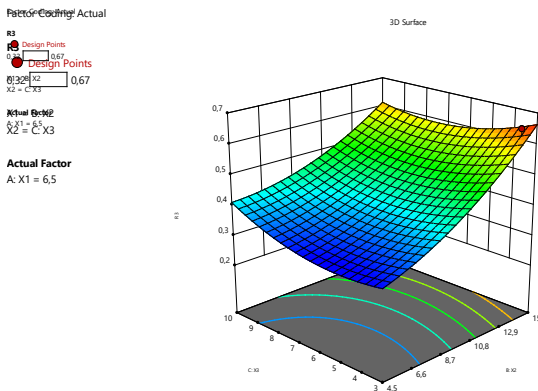
Đối với biến R₂, qua kết quả phân tích và đồ thị 3D (Hình 2) cho thấy biến phụ thuộc R₂ phụ thuộc đáng kể vào yếu tố X₂. Chiều cao cột bọt giảm mạnh khi tăng hàm lượng cremophor RH 40. Phương trình hồi quy được đề xuất như sau.

$$R_2 = 4,32577 + 0,143359 * X_1 + 0,343594 * X_2 - 0,0172651 * X_3 - 0,000303486 * X_1 * X_2 - 0,00816651 * X_1 * X_3 + 0,00946388 * X_2 * X_3 -$$

$$0,00573773 * X_1^2 - 0,0305812 * X_2^2 - 0,00392599 * X_3^2$$

Đối với biến phụ thuộc R₃, qua kết quả phân tích và đồ thị 3D (Hình 3) cho thấy biến phụ thuộc R₃ phụ thuộc đáng kể vào 2 yếu tố X₂ và X₃. Hàm lượng cremophor RH 40 và ethanol nhỏ thì R₃ càng thấp, nghĩa là càng bền bọt. Phương trình hồi quy được đề xuất như sau.

$$R_3 = 0,413335 + 0,00438258 * X_1 + 0,135026 * X_2 + 0,00920305 * X_3 - 0,000546192 * X_1 * X_2 + 0,00624533 * X_1 * X_3 + -0,0341005 * X_2 * X_3 + 0,0145487 * X_1^2 + 0,0451044 * X_2^2 + 0,0448431 * X_3^2$$



Hình 3. Đồ thị 3D của các yếu tố tương tác trên R₃

Với kết quả $p < 0,0001$ và hệ số tương quan hiệu chỉnh R²_{ad} và hệ số tương quan dự đoán R²_{pred} có giá trị gần nhau (< 0,2), cho thấy mức độ phù hợp, mô hình có ý nghĩa thống kê và đủ mạnh để tiến hành tối ưu hóa (Badawi et al., 2014).

Kết quả tối ưu hóa được ràng buộc bởi các điều kiện của các biến số độc lập (X₁, X₂, X₃) và các biến số phụ thuộc (R₁, R₂, R₃) được trình bày trong Bảng 9.

Bảng 9. Điều kiện ràng buộc cho các biến số

Biến số	Mục tiêu	Khoảng giới hạn
X1	Biến thiên trong khoảng	3%-10%
X2	Biến thiên trong khoảng	4,5%-15%
X3	Biến thiên trong khoảng	3%-10%
R1	Tiến về 0	0
R2	Lớn nhất	3,3-5,7
R3	Nhỏ nhất	0,32-0,67

Dựa vào dữ liệu thực nghiệm từ Bảng 8, phần mềm Design-Expert đã đưa ra các công thức tối ưu với các chỉ số mong muốn D (Desirability) khác

nhau. Công thức với chỉ số mong muốn cao nhất được lựa chọn và trình bày trong Bảng 10.

Bảng 10. Bảng công thức kết quả tối ưu và dự đoán

Biến số	Công thức tối ưu
X ₁	5,00%
X ₂	7,59%
X ₃	5,10%
R ₁	0
R ₂	5,701
R ₃	0,365
D (Desirability)	0,963

3.1.6. Kết quả kiểm chứng và đánh giá công thức tối ưu

Bào chế lặp lại 3 lần công thức tối ưu đã tìm được, với cùng các điều kiện và quy trình như trong giai đoạn thiết kế, mỗi công thức có khối lượng 50 g. Sau đó, tiến hành xác định chỉ tiêu R₁: Độ tách lớp sau ly tâm; R₂: Chiều cao cột bọt; R₃: Độ bền bọt. Kết quả được trình bày trong bảng 11.

Bảng 11. Kết quả kiểm chứng công thức tối ưu

Mẫu	R ₁	R ₂	R ₃
1	0	5,600	0,370
2	0	5,500	0,350
3	0	5,700	0,370
TB	0	5,600	0,370
Giá trị dự đoán	0	5,701	0,365
CV(%)	0	1,790	2,780
Sai số tương đối giữa giá trị trung bình và dự đoán (%)	0	1,780	1,370

Kết quả sau khi thực hiện công thức tối ưu, kết quả các biến số R₁, R₂, R₃ có sự lặp lại và chênh lệch với giá trị dự đoán thấp.

3.2. Kết quả đánh giá sơ bộ tính chất của nhũ tương tạo bọt chứa tinh dầu Bưởi

Từ kết quả đánh giá sơ bộ cho thấy, sản phẩm có khả năng tạo bọt tốt và mật độ bọt tương tự như sản phẩm dùng ngoài da chứa CAPB và NLS làm chất tạo bọt của Duy và Oanh (2018). pH trung tính, có thể dễ dàng hiệu chỉnh đến pH 5,5-6,5 để sử dụng ngoài da. Nhũ tương đạt độ bền thử nghiệm theo Brazil National Health Surveillance Agency (2005).

Bảng 12. Tính chất của nhũ tương tạo bọt

Thử nghiệm	Mô tả
Cảm quan	Đục mờ, mùi thơm tinh dầu Bưởi, không tách lớp. Tạo bọt đều màu, mịn, có độ bền bọt.
pH	7,02
Tỷ trọng	1,05 g/mL
Mật độ bọt	0,103 g/cm ³
Độ bền vật lý	Không tách lớp, thể chất đồng nhất khi thực hiện 12 chu kỳ nhiệt nóng-lạnh

3.3. Kết quả hoạt tính kháng khuẩn

Nhũ tương tạo bọt chứa tinh dầu vỏ bưởi thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật trên cả 4 chủng: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* và *Candida albicans*. Kết quả phù hợp như các các nghiên cứu của Mohammed et al. (2024) và Olatunya et al. (2024) đã công bố. Bên cạnh đó, việc nhũ hóa tinh dầu, giúp tăng khả năng phân tán cũng có thể làm tăng hoạt tính kháng vi sinh vật của tinh dầu vỏ bưởi (Chen et al., 2018).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abelan, U. S., de Oliveira, A. C., Cacoci, É. S. P., Martins, T. E. A., Giacon, V. M., Velasco, M. V. R., & Lima, C. D. C. (2022). Potential use of essential oils in cosmetic and dermatological hair products: A review. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 21(4), 1407-1418. <https://doi.org/10.1111/jocd.14286>

Alhasso, B., Ghori, M. U., & Conway, B. R. (2022). Systematic review on the effectiveness of essential and carrier oils as skin penetration enhancers in pharmaceutical formulations. *Scientia Pharmaceutica*, 90(1), 14. <https://doi.org/10.3390/scipharm90010014>

Arzhavitina, A., & Steckel, H. (2010). Foams for pharmaceutical and cosmetic application. *International Journal of Pharmaceutics*, 394(1-2), 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.048>

Badawi, M. A., & El-Khordagui, L. K. (2014). A quality by design approach to optimization of emulsions for electrospinning using factorial and D-optimal designs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58, 44-54. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2014.03.004>

Brazil National Health Surveillance Agency. (2005). *Cosmetic Products Stability Guide*. Brazil National Health Surveillance Agency Press.

Bảng 13. Giá trị MIC của nhũ tương chứa tinh dầu vỏ Bưởi

STT	Chủng VSV	MIC
1	<i>E. coli</i> ATCC 25922	10%
2	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	10%
3	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	20%
4	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	20%

(MIC được tính theo % (tt/tt) của mẫu thử)

4. KẾT LUẬN

Từ các kết quả trên, nghiên cứu đã xây dựng thành công công thức nhũ tương tạo bọt chứa tinh dầu vỏ bưởi với các thành phần: Tinh dầu vỏ bưởi (5%); cremophor RH 40 (7,59%); ethanol (5,10%); lượng chất tạo bọt sử dụng 5% với tỷ lệ chất tạo bọt CAPB: DG (1:1). Sản phẩm đạt độ ổn định vật lý cao, có khả năng tạo bọt tốt và mật độ bọt tương tự như sản phẩm dùng trên da đầu kích thích mọc tóc hay dung dịch phụ khoa chứa CAPB và NLS làm chất tạo bọt của Duy và Oanh (2018). Ngoài ra, sản phẩm còn có khả năng kháng các chủng *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* và *C. albicans* với MIC tương ứng 10%; 10%; 20% và 20%. Tóm lại, sản phẩm có tiềm năng làm nhũ tương nền để phát triển các sản phẩm chứa tinh dầu vỏ bưởi.

Chen, G. W., Lin, Y. H., Lin, C. H., & Jen, H. C. (2018). Antibacterial activity of emulsified pomelo (*Citrus grandis Osbeck*) peel oil and water-soluble chitosan on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Molecules*, 23(4), 840. <https://doi.org/10.3390/molecules23040840>

Cornwell, P. A. (2018). A review of shampoo surfactant technology: consumer benefits, raw materials and recent developments. *International journal of cosmetic science*, 40(1), 16-30. <https://doi.org/10.1111/ics.12439>

Duy, P. Đ., & Oanh, T. T. T. (2018). Xây dựng công thức nhũ tương tạo bọt chứa dầu mè đen (*Sesamum indicum* L.), cao chiết Cỏ mực (*Eclipta prostrata* L.) và cao chiết Hồng hoa (*Carthamus tinctorius* L.). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 60(2), 21-26.

Đức, N. M., & Trĩ, T. C. (2010). *Tiểu phân nano, kỹ thuật bào chế, phân tích ứng dụng trong ngành Dược*. Nhà xuất bản Y học.

Elfiyani, R., Amalia, A., & Pratama, S. Y. (2017). Effect of using the combination of tween 80 and ethanol on the forming and physical stability of microemulsion of eucalyptus oil as antibacterial. *Journal of Young Pharmacists*, 9(1s), s1. <https://doi.org/10.5530/jyp.2017.1s.1>

- Franklyne, J. S., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2016). Essential oil micro-and nanoemulsions: promising roles in antimicrobial therapy targeting human pathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 63(5), 322-334. <https://doi.org/10.1111/lam.12631>
- Klein, K. (2004). *Evaluating shampoo foam. Cosmetic and Toiletries*, 119(10), 32-35.
- Lourith, N., & Kanlayavattanakul, M. (2013). Hair loss and herbs for treatment. *Journal of cosmetic dermatology*, 12(3), 210-222. <https://doi.org/10.1111/jocd.12051>
- Lu, X., Liu, T., Ma, H., Tian, Y., Li, L., Li, Z., & Tang, Z. (2017). Preparation of essential oil-based microemulsions for improving the solubility, pH stability, photostability, and skin permeation of quercetin. *Aaps Pharmscitech*, 18(3), 3097-3104. <https://doi.org/10.1208/s.12249.017.0798x>
- Marinova, K. G., Naydenova, K. T., Basheva, E. S., Bauer, F., Tropsch, J., & Franke, J. (2017). New surfactant mixtures for fine foams with slowed drainage. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 523, 54-61. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.03.050>
- Mohammed, I. O., Alrasheid, A. A., & Hussein Ayoub, S. M. (2024). GC-MS Analysis and Study of the Antimicrobial Activity of *Citrus paradisi*, *Citrus aurantifolia*, and *Citrus sinensis* Peel Essential Oils as Hand Sanitizer. *International Journal of Microbiology*, 2024(1), 4957712. <https://doi.org/10.1155/2024/4957712>
- Olatunya, A. M., Olatunya, O. S., Hassan, G. F., Adeyemi, L. A., Oyelami, O. A., & Akintayo, E. T. (2024). Antimicrobial activities of essential oils from three species of citrus fruits against six infectious tropical bacteria: implications for the care and control of common bacterial tropical diseases in developing countries. *Discover Applied Sciences*, 6(4), 209.
- Parekh, J., Jadeja, D., & Chanda, S. (2005). Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antibacterial activity. *Turkish Journal of Biology*, 29(4), 203-210. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/18036.86>
- Phong, H. X., Ngan, M. K., Nguyễn, T. T. T., Châu, L. M., Thanh, N. N., Giang, B. L., Cang, M. H., Dũng, N. T., & Ấy, N. V. (2021). Thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh vật gây bệnh của tinh dầu vỏ bưởi Năm Roi (*Citrus grandis* (L.) Osbeck). *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 57, 189-195.
- Wayne, P. (2010). Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 20th informational supplement. *CLSI document M100-S20*: 100-121.
- Zeng, L., Xin, X., & Zhang, Y. (2017). Development and characterization of promising Cremophor EL-stabilized o/w nanoemulsions containing short-chain alcohols as a cosurfactant. *RSC advances*, 7(32), 19815-19827.