XÁC ĐỊNH HOẠT TÍNH SINH HỌC VÀ KHẢ NĂNG BẢO QUẢN THỊT LỢN CỦA TINH DẦU VỎ QUẢ HỒNG BÌ

DETERMINATION OF BIOLOGICAL ACTIVITY AND ABILITY TO PRESERVE PORK MEAT OF *CLAUSENA LANSIUM* (LOUR.) SKEELS PEEL OIL

Nguyễn Văn Lợi

Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội; loichebien@yahoo.com

Tóm tắt - Trong vỏ quả hồng bì có khoảng 0,4 - 0,5% tinh dầu, thành phần chủ yếu trong tinh dầu vỏ quả hồng bì là *β*-pinene, terpinolene, *α*-humulene, *α*-terpineol... Mục đích của nghiên cứu này là xác định một số hoạt tính sinh học và khả năng ứng dụng của tinh dầu vỏ quả hồng bì. Thí nghiệm được tiến hành với 4 công thức như sau: CT-ĐC: 0% tinh dầu, CT-A: 1% tinh dầu, CT-B: 2% tinh dầu, CT-C: 3% tinh dầu. Đã xác định được khả năng kháng khuẩn, đối với chủng *Escherichia coli* nồng độ ức chế tối thiểu của tinh dầu vỏ quả hồng bì là 128µg/ml, các chủng *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* và *Bacillus cereus* nồng độ ức chế tối thiểu của tinh dầu vỏ quả hồng bì là 256µg/ml. Bên cạnh đó cũng đã xác định được khả năng quét gốc tự do của tinh dầu vỏ quả hồng bì, với giá trị IC_{50} = 6,15 ± 0,01µg/ml. Đã xác định được khả năng bảo quản thịt lợn của tinh dầu vỏ quả hồng bì, với nồng độ sử dụng là 2%, thời gian bảo quản là 4 ngày ở nhiệt độ 15°C.

Từ khóa - bảo quản thịt lợn; chỉ tiêu cảm quan; chỉ tiêu hóa sinh; hoạt tính sinh học; tinh dầu vỏ quả hồng bì.

Abstract - In *Clausena lansium* (Lour.) Skeels peel there is about 0.4-0.5% of oil; the major components of the oil are *β*-pinene, terpinolene, *α*-humulene, *α*-terpineol... The purpose of this study is to determine biological activity and usability of *Clausena lansium* (Lour.) Skeels peel oil. Experiments are conducted with the following formula 4: CT-ĐC: 0% the oil, CT-A: 1% the oil, CT-B: 2% the oil and CT-C: 3% the oil. Antibacterial ability is identified for strains of *Escherichia coli* with minimum inhibitory concentration of *Clausena lansium* (Lour.) Skeels peel oil of 128µg/ml. Strains such as *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* have minimum inhibitory concentration of *Clausena lansium* (Lour.) Skeels peel oil of 256µg/ml. The ability of free radical scavenger of *Clausena lansium* (Lour.) Skeels peel oil is determined with IC_{50}= 6.15 ± 0.01µg/ml. The ability to preserve pork meat of *Clausena lansium* (Lour.) Skeels peel oil is rated with the used concentration of 2%; the storage time is 4 days at a temperature of 15°C.

Key words - preserve pork meat; organoleptic indicators; biochemical indicators; biological activity; *Clausena lansium* (Lour.) skeels peel oil.

1. Mở đầu

Cây hồng bì có tên khoa học là *Clausenalansium* (Lour.) Skeels, là cây thuốc trong y học dân gian, được sử dụng để điều trị các bệnh cảm lạnh, sốt, đau dạ dày, viêm xoang... Ngoài việc sử dụng để làm thuốc, quả hồng bì còn sử dụng để ăn và làm gia vị thực phẩm. Cây hồng bì được trồng nhiều ở các tỉnh Bắc Giang, Hòa Bình, Sơn La, Lào Cai, Lạng Sơn, Phú Thọ,... Trong quả hồng bì có chứa nhiều thành phần hóa học, đặc biệt là tinh dầu. Trong quả hồng bì có khoảng 0,4- 0,5% tinh dầu, tinh dầu hồng bì chủ yếu là các thành phần *β*-pinene, terpinolene, *α*-humulene, *α*-terpineol...[1]. Tinh dầu quả hồng bì có mùi thơm đặc trưng, có vai trò quan trọng trong các ngành công nghiệp thực phẩm, dược phẩm và mỹ phẩm [1]. Hiện nay ở trong nước có rất ít các công trình nghiên cứu về hoạt tính sinh học và khả năng ứng dụng của tinh dầu vỏ quả hồng bì trong bảo quản thịt. Mục đích của nghiên cứu này là xác định một số hoạt tính sinh học và khả năng ứng dụng của tinh dầu vỏ quả hồng bì, góp phần làm cơ sở khoa học cho việc ứng dụng tinh dầu này trong công nghiệp thực phẩm.

2. Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên vật liệu

Vỏ quả hồng bì thu mua tại huyện Yên Thế - tỉnh Bắc Giang, được tách tinh dầu bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước và được làm khan bằng natrisunfat. Tinh dầu vỏ quả hồng bì được sử dụng để bảo quản thịt lợn có mùi thơm đặc trưng, trong suốt và có màu vàng nhạt [2]. Thí nghiệm sử dụng các chủng vi khuẩn do Viện Vi sinh vật và Công nghệ Sinh học cung cấp: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli, Salmonella typhi* và *Bacillus cereus.* Thịt lợn được mua tại các lò mổ ở huyện Đông Anh - Hà Nội. Sử dụng thịt của các con lợn khỏe mạnh, để lấy mẫu thịt, dùng dao inox và thớt gỗ nghiến được khử trùng bằng nước sôi, các mẫu thịt sau khi lấy, được bao gói trong bao bì polyetylen và đựng trong thùng xốp có chứa nước đá để vận chuyển về nơi bảo quản. Mỗi mẫu bảo quản sử dụng 1.500g thịt lợn và được chia thành 5 miếng, mỗi miếng có trọng lượng 300g.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu bằng phương pháp đo đường kính vòng kháng khuẩn

Chuẩn bị dịch vi khuẩn: Cấy ria tạo khuẩn lạc trên môi trường thạch MHA, vi khuẩn được tồn trữ trong ống thạch nghiêng và bảo quản lạnh ở 4°C. Từ ống tồn trữ, chọn 2-3 khuẩn lạc đưa vào ống nghiệm chứa 5ml môi trường TSB đã khử trùng, nuôi cấy ở 37°C, với thời gian là 24 giờ. Mật độ vi khuẩn sau khi nuôi cấy trong môi trường TSB được xác định theo phương pháp đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 625nm.

Tiến hành thực hiện: Dùng pipet hút 100µl vi khuẩn mỗi loại (mật độ tế bào 10^6CFU/ml), sau đó dàn đều trên mặt môi trường MHA và chờ khô bề mặt. Đĩa giấy 6mm vô trùng được thấm bão hòa tinh dầu vỏ quả hồng bì, chờ khô rồi đặt lên mặt môi trường MHA đã dàn đều vi khuẩn, đè nhẹ đĩa giấy lên mặt môi trường MHA. Chuyển các đĩa petri vào tủ lạnh ở nhiệt độ 10°C, khoảng 4-8 giờ để tinh dầu khuếch tán ra đĩa thạch, sau đó đem nuôi ở 37°C, với thời gian 24 giờ. Khả năng kháng khuẩn được xác định bằng cách đo bán kính (BK) vòng ức chế vi khuẩn bằng

công thức: D – d = BK (mm) [3], với D: đường kính vòng kháng khuẩn (mm), d: đường kính lỗ khoan thạch (mm).

2.2.2. Phương pháp khảo sát nồng độ ức chế tối thiểu của tinh dầu

Khảo sát nồng độ ức chế tối thiểu MIC theo phương pháp hòa tan trong môi trường lỏng TSB, pha dung dịch đối chứng và tinh dầu thành dãy nồng độ cần thử. Dãy nồng độ cần thử là 128µg/ml, 256µg/ml, 512µg/ml, 1.024µg/ml, 2.048µg/ml, 4.096µg/ml và 8.192µg/ml. Dùng pipet hút tinh dầu pha loãng theo dãy nồng độ thử và dung dịch đối chứng vào các ống nghiệm đã chuẩn bị sẵn môi trường, lắc đều cho tinh dầu và cho dung dịch đối chứng hòa tan đều vào môi trường. Dùng pipet hút 20µl dịch vi khuẩn đã chuẩn bị đưa vào ống nghiệm, nuôi ở 37^{o}C, với thời gian 24 giờ. Nồng độ ức chế tối thiểu MIC được tính ở ống nghiệm có nồng độ tinh dầu thấp nhất có thể ức chế sự phát triển của vi khuẩn. So sánh với ống nghiệm trước khi đem nuôi, ống nghiệm nào đục chứng tỏ ở nồng độ tinh dầu đó vi khuẩn vẫn phát triển, ống nghiệm nào trong chứng tỏ ở nồng độ tinh dầu đó vi khuẩn không phát triển. Ở nồng độ thấp nhất vi khuẩn không phát triển thì ghi kết quả là (≤), trong trường hợp đến nồng độ cao nhất mà vẫn thấy vi khuẩn mọc thì kết quả ghi là (>) [3].

2.2.3. Phương pháp xác định khả năng chống oxy hóa của tinh dầu vỏ quả hồng bì

Khả năng chống oxy hóa của tinh dầu vỏ quả hồng bì được thực hiện theo phương pháp DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) như sau: Mẫu thí nghiệm gồm 0,1 ml tinh dầu vỏ quả hồng bì, 2ml ethyl acetat, 1,9ml methanol và 1ml DPPH. Mẫu trắng gồm 0,1ml tinh dầu vỏ quả hồng bì, 2ml ethyl acetat và 2,9ml methanol. Mẫu kiểm chứng gồm 2ml ethyl acetat, 2ml methanol và 1ml DPPH. Hỗn hợp sau khi phối trộn lắc nhẹ và để yên trong bóng tối ở nhiệt độ phòng 30 phút, đo độ hấp thụ ở bước sóng 517nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần và tính bằng công thức SC% = $[(A_o-(A-A_b)/A_o] \times 100$ % [4], trong đó SC: hoạt tính quét gốc tự do (%), A_o: độ hấp thụ của mẫu kiểm chứng, A: độ hấp thụ của mẫu thí nghiệm, A_b: độ hấp thụ của mẫu trắng.

Giá trị IC_{50} được tính theo hoạt tính quét gốc tự do tương quan với các nồng độ khác nhau của tinh dầu vỏ quả hồng bì, thí nghiệm được lặp lại với n=3. Phương trình biểu diễn mối liên quan giữa nồng độ tinh dầu vỏ quả hồng bì và %DPPH bị khử là y = 405,1x - 1,602. Từ giá trị IC của tinh dầu vỏ quả hồng bì có nồng độ pha loãng khác nhau, bằng phương pháp nội suy tính được giá trị IC_{50}.

2.2.4. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Sử dụng tinh dầu vỏ quả hồng bì để bảo quản thịt lợn ở các nồng độ 0%, 1%, 2% và 3%, thí nghiệm được bố trí như sau:

TT	Thành phần (%)	Công thức thí nghiệm			
		CT-ĐC	CT-A	CT-B	CT-C
1	Thịt lợn	100	99	98	97
2	Tinh dầu	0	1	2	3

Ghi chú: CT-ĐC: Công thức đối chứng, 0% tinh dầu, CT-A: 1% tinh dầu, CT-B: 2% tinh dầu, CT-C: 3% tinh dầu. Các công thức này đều được thực hiện ở nhiệt độ 15^{o}C.

Tiến hành thí nghiệm: Thịt lợn trước khi đưa vào bảo quản được xát muối trên bề mặt, với nồng độ muối 2% so với khối lượng thịt lợn để khử khuẩn, sau đó dùng xi-lanh tiêm tinh dầu vỏ quả hồng bì vào các miếng thịt và phun tinh dầu lên bề mặt các miếng thịt này, rồi bao gói kín bằng bao bì polyetylen và đưa vào tủ lạnh, điều chỉnh nhiệt độ là 15^{o}C. Sở dĩ chọn nhiệt độ 15^{o}C để bảo quản là vì nhiệt độ trung bình vào mùa đông ở miền Bắc trong những năm gần đây là khoảng 15^{o}C. Sau đó phân tích, đánh giá chất lượng sản phẩm thịt lợn ở các công thức này và tìm ra công thức phù hợp để bảo quản.

2.2.5. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu hóa sinh

Xác định hàm lượng protein trong thịt lợn theo tiêu chuẩn TCVN 8134:2009 [5], hàm lượng lipid được xác định theo tiêu chuẩn TCVN 8137: 2009 [6]. Hàm lượng các chất khoáng được xác định theo phương pháp đặc trưng của từng nguyên tố: P được xác định theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 7141:2002 [7]. K, Fe được xác định theo phương pháp đo hấp thụ nguyên tử trên máy AAS-3300 (Perkin Elmer), Ca, Mg được xác định bằng phương pháp chuẩn độ EDTA, S được xác định theo phương pháp khối lượng, Zn, Mn, Cu được xác định theo TCVN 1537: 2007 (ISO 06869: 2000) [8].

2.2.6. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu vi sinh

Tổng số vi khuẩn hiếu khí được xác định theo tiêu chuẩn TCVN 7928:2008 [9], *Coliforms* theo tiêu chuẩn TCVN 6848:2007 [10], *Escherichia coli* theo tiêu chuẩn TCVN 9976:2013 [11], *Clostridium perfringers* theo tiêu chuẩn TCVN 4991: 2005 [12], *Staphylococcus aureus* theo tiêu chuẩn TCVN 4830-1:2005 [13] và *Salmonella* theo tiêu chuẩn TCVN 4829:2005 [14].

2.2.7. Phương pháp đánh giá chất lượng cảm quan

Chỉ tiêu cảm quan của thịt lợn được xác định theo tiêu chuẩn TCVN 3215-79 [15]. Trạng thái, màu sắc, mùi và vị của thịt lợn bảo quản bằng tinh dầu vỏ quả hồng bì được xác định theo thang điểm 5 gồm 6 bậc, cao nhất là 20 điểm và thấp nhất là 0 điểm. Tính điểm trung bình của các thành viên hội đồng đối với từng chỉ tiêu cảm quan, tiếp theo nhân với hệ số quan trọng tương ứng của chỉ tiêu đó, gọi là điểm có trọng lượng của từng chỉ tiêu, sau đó tính tổng số điểm có trọng lượng của tất cả các chỉ tiêu cảm quan, được số điểm chung (có trọng lượng). Với loại tốt (18,6-20 điểm), loại khá (15,2-18,5), loại trung bình (11,2-15,1), loại kém (7,2-11,1), loại rất kém (4,0-7,2) và loại hỏng (0-3,9). Hội đồng cảm quan gồm 9 thành viên, bao gồm chủ tịch, thư ký và các ủy viên. Trước khi đánh giá cảm quan, các thành viên được học những khái niệm cơ bản về sinh lý cảm quan, được giải thích về vai trò của các cơ quan cảm giác và bản chất của các tính chất cảm quan của thịt lợn. Sau phần lý thuyết, các thành viên được làm các bài thí nghiệm để học cách miêu tả và nhận biết cảm giác. Tiếp theo các thành viên trải qua phần thực hiện các thí nghiệm cụ thể về nhận biết, phân biệt, đánh giá và được thử nghiệm trên mẫu thịt lợn. Chủ tịch hội đồng và các thành viên hội đồng thảo luận sơ bộ về nội dung cần đánh giá, thống nhất hệ số quan trọng. Hệ số quan trọng được hội đồng thống nhất là: Hình thức bên ngoài (1,1), trạng thái bên trong (1,3), mùi (0,9) và vị (0,7). Mỗi thành viên

hội đồng nhận được một phiếu đánh giá, các mẫu thịt lợn đã được mã hóa bằng chữ cái in hoa, sau đó đánh giá và điền kết quả vào phiếu. Sau mỗi lần đánh giá từng mẫu, các thành viên phải sử dụng nước lọc để thanh vị trước khi đánh giá mẫu tiếp theo.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Hoạt tính sinh học của tinh dầu vỏ quả hồng bì

3.1.1. Khả năng kháng khuẩn của tinh dầu vỏ quả hồng bì

Tiến hành khảo sát khả năng kháng khuẩn của tinh dầu vỏ quả hồng bì ở các nồng độ là 128µg/ml, 256µg/ml, 512µg/ml, 1.024µg/ml, 2.048µg/ml, 4.096µg/ml và 8.192µg/ml trên các chủng vi khuẩn thí nghiệm như sau: *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella typhi* và *Bacillus cereus*. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. *Khả năng kháng khuẩn của tinh dầu vỏ quả hồng bì*

TT	Chủng vi khuẩn thí nghiệm	Đường kính vòng tròn kháng khuẩn (mm)	Nồng độ ức chế tối thiểu MIC (µg/ml)
1	*Escherichia coli*	46,05	128
2	*Salmonella typhi*	39,15	256
3	*Staphylococcus aureus*	38,12	256
4	*Bacillus cereus*	36,20	256

Kết quả nghiên cứu trong bảng 1 cho thấy tinh dầu vỏ quả hồng bì có khả năng kháng khuẩn mạnh trên cả các chủng vi khuẩn thí nghiệm. Đường kính vòng tròn kháng khuẩn đối với chủng *Salmonella typhi* là 39,15mm, *Staphylococcus aureus* là 38,12mm, *Bacillus cereus* là 36,20mm. Tinh dầu vỏ quả hồng bì có tác dụng mạnh đối với chủng vi khuẩn *Escherichia coli*, đường kính vòng tròn kháng khuẩn đo được lớn nhất là 46,05mm. Tiến hành xác định nồng độ ức chế tối thiểu MIC cho tất cả các chủng vi khuẩn thí nghiệm, kết quả khảo sát cho thấy MIC của tinh dầu vỏ quả hồng bì đối với chủng *Escherichia coli* là 128µg/ml, đối với các chủng *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* và *Bacillus cereus* là 256µg/ml.

3.1.2. Hoạt tính quét gốc tự do DPPH của tinh dầu vỏ quả hồng bì

Hoạt tính quét gốc tự do DPPH của tinh dầu vỏ quả hồng bì được thực hiện tại phòng thí nghiệm Trường Đại học Bách khoa Hà Nội. Tiến hành khảo sát ở các nồng độ khác nhau, kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. *Hoạt tính quét gốc tự do DPPH của tinh dầu vỏ quả hồng bì*

TT	Nồng độ (µg/ml)	%DPPH bị khử	
		Tinh dầu vỏ quả hồng bì	Vitamin E
1	0,06	22,12	89,15
2	0,05	15,58	67,83
3	0,04	12,25	52,35
4	0,03	8,63	32,64
5	0,02	5,15	18,72

Hoạt tính quét gốc tự do DPPH của tinh dầu vỏ quả hồng bì được xác định thông qua giá trị IC_{50} được thể hiện qua bảng 3.

Bảng 3. *Giá trị IC_{50} của tinh dầu vỏ quả hồng bì và vitamin E*

TT	Mẫu	IC_{50} (µg/ml)
1	Tinh dầu vỏ quả hồng bì	6,15 ± 0,01
2	Vitamin E	4,21 ± 0,02

Kết quả trong bảng 3 cho thấy vitamin E trung hòa 50% gốc tự do DPPH ở nồng độ IC_{50}= 4,21± 0,02µg/ml, trong khi đó tinh dầu vỏ quả hồng bì trung hòa được 50% gốc tự do DPPH ở nồng độ IC_{50}= 6,15± 0,01µg/ml. Như vậy, tinh dầu vỏ quả hồng bì có hoạt tính quét gốc tự do nhỏ hơn vitamin E được dùng để khảo sát trong thí nghiệm. Tính dầu vỏ quả hồng bì có hoạt tính quét gốc tự do bằng 68,45% so với vitamin E. Điều đó chứng tỏ hoạt tính kháng oxy hóa của tinh dầu vỏ quả hồng bì khá cao.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ tinh dầu vỏ quả hồng bì đến sự biến đổi chất lượng của thịt lợn

3.2.1. Ảnh hưởng của nồng độ tinh dầu vỏ quả hồng bì đến sự biến đổi chỉ tiêu hóa sinh của thịt lợn

Sử dụng tinh dầu vỏ quả hồng bì để bảo quản thịt lợn ở các nồng độ 0%, 1%, 2% và 3%; nhiệt độ bảo quản là 15°C. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. *Ảnh hưởng của nồng độ tinh dầu vỏ quả hồng bì đến sự biến đổi các chỉ tiêu hóa sinh của thịt lợn*

TT	Chỉ tiêu hóa sinh (%)	Công thức				
		CT-T	CT-ĐC	CT-A	CT-B	CT-C
1	Protein	19,15	17,96	18,95	19,12	19,12
2	Lipid	6,95	6,75	6,87	6,93	6,92
3	Nước	72,61	69,27	71,86	72,54	72,52
4	Vitamin	0,54	0,44	0,47	0,52	0,51
5	Chất khoáng	0,16	0,12	0,13	0,15	0,15

Ghi chú: CT-T: Thịt lợn tươi (mới giết mổ)

Kết quả nghiên cứu trong bảng 4, ở thời điểm 4 ngày bảo quản cho thấy, thịt lợn ở công thức CT-ĐC các thành phần protein, lipid, nước, vitamin và chất khoáng đều giảm so với các công thức có sử dụng tinh dầu vỏ quả hồng bì. Thịt lợn ở 3 công thức sử dụng tinh dầu vỏ quả hồng bì để bảo quản, thì công thức CT-A có sự giảm các thành phần hóa sinh lớn hơn công thức CT-B và CT-C. So với công thức CT-ĐC thì thịt lợn ở công thức CT-B và CT-C, các thành phần dinh dưỡng biến đổi chậm. So với thịt lợn tươi ở công thức CT-T, thì thịt lợn ở công thức CT-B và CT-C có sự biến đổi các thành phần hóa sinh không đáng kể, trong 4 ngày bảo quản. Nhưng đến ngày thứ 5 thì sự biến đổi các thành phần này của thịt lợn ở công thức CT-B và CT-C có sự thay đổi nhiều so với thịt lợn tươi. Qua đây cũng cho thấy tinh dầu vỏ quả hồng bì có khả năng hạn chế sự biến đổi các thành phần hóa sinh và ngăn cản sự bay hơi nước trong thịt lợn.

3.2.2. Ảnh hưởng của nồng độ tinh dầu vỏ quả hồng bì đến sự biến đổi chỉ tiêu vi sinh vật của thịt lợn

Để xác định ảnh hưởng của tinh dầu vỏ quả hồng bì tới sự biến đổi các chỉ tiêu vi sinh vật của thịt lợn, sử dụng tinh dầu với nồng độ 0%, 1%, 2% và 3%. Kết quả được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. *Ảnh hưởng của tinh dầu vỏ quả hồng bì đến sự biến đổi các chỉ tiêu vi sinh của thịt lợn*

Chỉ tiêu vi sinh	Giới hạn nhiễm	Công thức				
		CT-T	CT-ĐC	CT-A	CT-B	CT-C
Tổng số vi sinh vật hiếu khí (sl/g, ml)	3.10^5	10^2	3.10^5	2.10^5	10^5	10^5
Coliforms (chỉ số MPN/g, ml)	50	0	75	65	0	0
Escherichia coli (sl/g, ml)	3	0	15	12	0	0
Clostridium perfringers (sl/g, ml)	10	0	20	14	0	0
Staphylococcus aureus (sl/g,ml)	10	0	13	12	0	0
Salmonella typhi (sl/25g,25ml)	0	0	0	0	0	0

Thịt lợn ở công thức CT-ĐC và công thức CT-A các chỉ tiêu vi sinh vật như: Tổng vi sinh vật hiếu khí, *Coliforms, Escherichia coli, Clostridium perfringers, Staphylococcus aureus* và *Salmonella typhi* đều vượt giới hạn cho phép. Trong khi đó thịt lợn ở công thức CT-B và CT-C, sau 4 ngày bảo quản ở nhiệt độ 15^{o}C, các chỉ tiêu vi sinh vật đều thấp hơn giới hạn cho phép. So với thịt lợn tươi mới giết mổ lấy thịt từ con lợn khỏe mạnh, thì thịt lợn ở công thức CT-B và CT-C có tổng số vi sinh vật hiếu là 10^5, lớn hơn so với thịt lợn tươi, còn các chỉ tiêu vi sinh vật khác không có sự thay đổi sau 4 ngày bảo quản, nhưng đến ngày thứ 5 thì chỉ tiêu vi sinh vật có sự thay đổi rõ rệt. Điều đó kết luận rằng tinh dầu vỏ quả hồng bì ở nồng độ từ 2-3% có tác dụng ức chế sự phát triển của vi sinh vật trên thịt lợn.

Kết quả đánh giá cảm quan ở bảng 5 cho thấy, sau 4 ngày bảo quản, thịt lợn ở công thức CT-ĐC và CT-A có cấu trúc bên ngoài mềm nhũn, có nhớt ở trên bề mặt, xuất hiện mùi hôi, đặc biệt là thịt ở công thức CT-ĐC còn xuất hiện màu xám, với tổng điểm các giá trị cảm quan của công thức CT-ĐC là 10,18 và công thức CT-A là 11,12, cả hai công thức này đều xếp loại kém. Thịt lợn ở công thức CT-B có màu hồng tươi, trên bề mặt thịt không có nhớt, độ đàn hồi tốt, thịt có mùi tự nhiên xen lẫn với mùi thơm của tinh dầu. Thịt ở công thức CT-B, khi luộc thịt thì nước luộc trong, có vị ngọt và mùi thơm. Thịt ở công thức CT-C, khi luộc thịt thì nước luộc thịt có mùi thơm, thịt có vị hơi đắng của tinh dầu vỏ quả hồng bì. Trong 2 công thức này thì công thức CT-B được đánh giá cao hơn với tổng điểm là 16,75 xếp loại khá, thịt lợn ở công thức CT-C với tổng điểm là 16,13 được xếp loại khá. Đến ngày thứ 5 thịt lợn ở công thức CT-B và CT-C xuất hiện mùi ôi, vị hơi chua, màu thâm tím, độ đàn hồi giảm và có nhớt trên bề mặt. Do đó để giảm giá thành sản phẩm và hạn chế hiện tượng thịt lợn có vị đắng, chọn nồng độ tinh dầu vỏ quả hồng bì là 2% để bảo quản thịt lợn là phù hợp.

3.2.3. Ảnh hưởng của nồng độ tinh dầu vỏ quả hồng bì đến sự biến đổi chỉ tiêu cảm quan của thịt lợn

Cảm quan là một chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng của thịt lợn, chỉ tiêu cảm quan được xác định theo tiêu chuẩn TCVN 3215-79. Kết quả đánh giá chỉ tiêu cảm quan của thịt lợn sau 4 ngày bảo quản được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. *Ảnh hưởng của tinh dầu vỏ quả hồng bì đến sự biến đổi chỉ tiêu cảm quan của thịt lợn*

Chỉ tiêu cảm quan	CT-ĐC	CT-A	CT-B	CT-C
Cấu trúc	1,96	2,37	3,89	3,87
	Thịt mềm nhũn, bề mặt thịt có nhớt	Thịt mềm nhũn, bề mặt thịt có nhớt	Thịt có độ đàn hồi tốt, không có nhớt	Thịt có độ đàn hồi tốt, không có nhớt
Màu sắc	2,16	2,29	4,51	4,49
	Thịt có màu hồng nhạt xen lẫn màu xámvà nhăn	Thịt có màu hồng nhạt và nhăn	Thịt có màu hồng tươi, bề mặt bình thường	Thịt có màu hồng tươi, bề mặt bình thường
Mùi	3,04	3,27	3,72	3,59
	Thịt xuất hiện mùi hôi	Thịt xuất hiện mùi hôi	Thịt có mùi tự nhiên xen lẫn với mùi thơm đặc trưng của tinh dầu	Thịt có mùi tự nhiên xen lẫn với mùi thơm đậm của tinh dầu
Vị	3,02	3,19	4,63	4,18
	Thịt có vị chua	Thịt có vị chua	Thịt có vị ngọt đặc trưng	Thịt có vị hơi đắng của tinh dầu
Tổng điểm	10,18	11,12	16,75	16,13
Xếp loại	**Kém**	**Kém**	**Khá**	**Khá**

4. Kết luận

Kết quả khảo sát cho thấy đối với chủng *Escherichia coli* nồng độ ức chế tối thiểu của tinh dầu vỏ quả hồng bì là 128µg/ml, các chủng *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* và *Bacillus cereus* nồng độ tinh dầu vỏ quả hồng bì là 256µg/ml. Bằng phương pháp DPPH đã xác định được hoạt tính quét gốc tự do của tinh dầu vỏ quả hồng bì, với giá trị $IC_{50} = 6,15 \pm 0,01$µg/ml có hoạt tính quét gốc tự do khá cao, bằng 68,45% so với vitamin E. Đã xác định được được khả năng bảo quản thịt lợn của tinh dầu vỏ quả hồng

bì, nồng độ sử dụng là 2%, thời gian bảo quản là 4 ngày ở nhiệt độ 15ºC.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Trần Huy Thái, Nguyễn Xuân Phương, "Góp phần nghiên cứu thành phần hóa học của tinh dầu hồng bì dại Clausena excavate ở Việt Nam", *Tạp chí Dược liệu*, 7, 2002, p.41-45.

[2] Nguyễn Văn Lợi (2017), "Nghiên cứu quy trình tách chiết tinh dầu vỏ quả hồng bì Clausena Lansium (lour.) Skeels", *Tạp chí Công nghiệp hóa chất*, 2, p.15-22.

[3] Perez C, Pauli M, Bazevque P, "An antibiotic assay by the agar welldiffusionmethod", *Acta Biologiae et Medicine Experimentalis*, 15, 1990, p.113-115.

[4] Matook S.M, Fumio H, "Evaluation of the antioxidant activity of extracts from buntan (Citrus grandis Osbeck) fruit tissues", *Food Chemistry*, 94, 2006, p.529-534.

[5] Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8134, Thịt và sản phẩm thịt - Xác định hàm lượng protein (phương pháp chuẩn), 2009, p.1-5.

[6] Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8137, Thịt và sản phẩm thịt - Xác định hàm lượng chất béo tự do, 2009, p.1-6.

[7] Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 7141, Thịt và sản phẩm từ thịt - Xác định phốt pho tổng số (phương pháp quang phổ), 2002, p.1-7.

[8] Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 1537, Xác định hàm lượng Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, K, Na và Zn - Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử, 2007, p.1-7.

[9] Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 7928, Xác định lượng tổng số vi khuẩn hiếu khí bằng phương pháp gel pectin, 2008, p.1-2.

[10] Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 6848, Phương pháp định lượng Coliforms - Kỹ thuật đếm khuẩn lạc, 2007, p.1-6.

[11] Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 9976, Thịt và thủy sản - Định lượng Escherichia coli bằng phương pháp sử dụng đĩa đếm Petrifilm, 2013, p.1-5.

[12] Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4991, Phương pháp định lượng Clostridium perfringers trên đĩa thạch - Kỹ thuật đếm khuẩn lạc, 2005, p.1-7.

[13] Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4830-1, Phương pháp định lượng Staphylococcus có phản ứng dương tính với Coagulase (Staphylococcus aureus và các loài khác) trên đĩa, 2005, p.1-7.

[14] Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4829, Phương pháp phát hiện Salmonella trên đĩa thạch, 2005, p.1-10.

[15] Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3215-79, Sản phẩm thực phẩm phân tích cảm quan - Phương pháp cho điểm, 1979, p.1-13.

(BBT nhận bài: 05/01/2017, hoàn tất thủ tục phản biện: 07/3/2017)