مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

تولید نگهدارنده طبیعی از عصاره های میخک، اکالیپتوس و رزماری جهت جایگزینی با نیتریت در سوسیس مرغ

مرتضی کریم پور[۱]، علیرضا مهرگان نیکو[۲*]، فایزه فلاح[۳]، حمیده آسایش طلب[٤]

۱- کارشناس ارشد، گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت.

۲- دکتری، استادیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه گیلان.

۳- دانشجوی دکتری، گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی.

٤- دانشجوی دکتری، گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱٤۰۰ /۰۳/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱٤۰۰/۰٦/۲۳

کلمات کلیدی:

ماده نگهدارنده طبیعی،

فرآورده های گوشتی،

عصاره های گیاهی،

سوسیس مرغ.

DOI: 10.52547/fsct.18.119.217

* مسئول مکاتبات:

a.mehregan@guilan.ac.ir

چکیده

ترکیبات نگهدارنده سنتزی نظیر نیتریت در مواد غذایی، به موجب اثر سمیتی که بر سلول ها دارند، می توانند سب بروز بیماری و آسیب های جدی در بدن انسان گردند. سرانه مصرف فرآورده های گوشتی در ایران ۲/۵ تا ۵/۵ کیلوگرم در سال است و با توجه به تغییر روز افزون سبک زندگی خانواده های ایرانی، این میزان همه ساله رو به افزایش است. نظر به ماهیت شیمیایی نیتریت در ترکیب فرآورده های گوشتی، کاهش میزان این ماده و یا جایگزینی تمامی یا بخشی از آن با ترکیبات طبیعی مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این پژوهش تولید ترکیب نگهدارنده طبیعی از عصاره سه گیاه میخک، اکالیپتوس و رزماری بوده که قابلیت جایگزینی کامل با نیتریت در فرآورده های گوشتی را داشته باشد. برای این منظور ابتدا عصاره هیدروالکلی گیاهان مورد نظر با روش ماسراسیون به طور جداگانه تهیه و با نسبت ۳:۱:۱ (میخک، اکالیپتوس و رزماری) مخلوط گردیدند.سپس ترکیب مورد نظر روی همزن مغناطیسی با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک و در انتها با آسیاب آزمایشگاهی به پودر بلوطی رنگ تبدیل گردید. اثرات ضد میکروبی، ضد قارچی، آنتی اکسیدانی و سایتوتوکسیسیتی ترکیب عصاره ها مورد ارزیابی قرار گرفت. ٦ نمونه سوسیس مرغ با نسبت های مختلفی از ترکیب عصاره ها به نیتریت شامل ۵:۰، ٤:۱، ۳:۲، ۲:۳، ۱:٤ و ۰:۵ تولید و پس از پر شدن در پوشش پلی آمیدی به اتاق پخت منتقل وجهت نگهداری به سردخانه منتقل شدند. نمونه ها از لحاظ رنگ، طعم و شاخص های میکروبی در زمان های ۱۵ و ۳۰ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که ترکیب نگهدارنده طبیعی دارای خواص ضد میکروبی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی می باشد و نمونه شماره ۵ حاوی ۱۰۰ درصد ترکیب عصاره ها و فاقد نیتریت از نظر خواص حسی و شاخص های میکروبی و ارزیابی رنگ مطلوب ترین نمونه بود. استفاده از ترکیب عصاره های این پژوهش در سوسیس مرغ و سایر فرآورده های گوشتی در صنعت به عنوان جایگزینی ایمن پیشنهاد می گردد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.21.1]

[DOI: 10.52547/fsct.18.119.217]

۱-مقدمه

استفاده از نگهدارنده ها در بسیاری از محصولات غذایی فرآوری شده اجتناب ناپذیر بوده و تولید کنندگان مواد غذایی به منظور پیشگیری از از رشد میکروب ها، کپک ها و باکتری های هوازی و بی هوازیو افزایش ماندگاری غذاها، ناگزیر به استفاده از نگهدارنده ها می باشند. نمک، شکر، الکل، سرکه، دود و ...مثال هایی از نگهدارنده های طبیعی هستند که از دیرباز مورد استفاده قرار می گرفته اند.از سوی دیگر نگهدارنده های مصنوعی مواد غذایی نظیر بنزوات ها (بنزوآت سدیم و اسید بنزوئیک)، نیترات و نیتریت سدیمو سولفیت ها (دی اکسید گوگرد، پتاسیم بی سولفیت و سدیم بی سولفیت) و ... نیز به منظور حفظ غذاها در برابر فسادهای میکروبی مورد استفاده واقع می شوند [۱و۲].

مصرف بیش از حد نگهدارنده های مصنوعی به موجب اثر سمیتی که بر سلول های انسان دارند بروز بیماری های گوناگون از جمله سرطان را در پی دارد و نیز بروز آلزایمر به سبب تجمع این ترکیبات در مغز به اثبات رسیده است [۳]. از جمله محصولاتی که استفاده از نگهدارنده های مصنوعی در آنها اجتناب ناپذیر است فرآورده های گوشتی می باشند. سرانه مصرف فرآورده های گوشتی در ایران ۲/۵ تا ۵/۵ کیلوگرم در سال بوده که نظر به تغییر روزافزون سبک زندگی خانواده های ایرانی این میزان روند رو به رشدی دارد [٤]. از سال۱۹٦۰، فرضیه هایی در ارتباط با نیتریت موجود در فرآورده های گوشتی و احتمال ایجاد برخی عوارض و سرطان ها به علت تشکیل ترکیبات نیتروزآمین مطرح گردیده است. نیتروزآمین ترکیبی سرطان زاست که از طریق مواد غذایی وارد بدن انسان می شود که برای ایجاد اثرات سرطان زایی نیاز به فعال شدن متابولیکی در بدن دارد [۵].

گیاهانِ حاوی ترکیبات موثره از دیرباز به منظور اهداف درمانی و نیز طعم دهنده ی غذاها در سرتاسر جهان مورد استفاده قرار می گرفته اند وبه سبب چنین ترکیباتی تاثیرات مثبت نگهدارندگی آنها بر غذاها نیز به صورت ناخواسته فراهم می شده است. ترکیبات موثره گیاهی که به آنها ترکیبات فعال (activecompounds) نیز گفته می شود دارای اثرات مشخصی در بدن می باشند و می توانند باعث کنترل و درمان بیماری شوند این ترکیبات عمدتاً شامل آلکالوئید ها، گلوکوزیدها، تانن ها، ساپونین ها و ... می باشند که خواص ضد میکروبی و ضد قارچی و آنتی اکسیدانی گیاه نیز به دلیل وجود چنین ترکیباتی است. در یک گیاه خاص معمولاً تجمع ترکیبات موثره در یک اندام خاص صورت می پذیرد برای مثال سینامون در پوست درخت دارچین، کورکومین در ریشه گیاه زردچوبه، اوژنول در جوانه گل میخگ و سینئول در برگ اوکالیپتوس؛ بنابراین نمی توان تمامی بخش های یک گیاه را حاوی اثرات مفید دانست [٦].

پژوهش های متنوعی به منظور استفاده از عصاره ها و اسانس های گیاهی به عنوان نگهدارنده طبیعی مواد غذایی گوناگون به ویژه فراورده های گوشتی انجام گردیده است.اثرات مثبت ضداکسایشی و ضدمیکروبی عصاره های رزماری و نعناع بر سوسیس گوشت گاو در دمای یخچال گزارش شده است. بوساتا و همکاران (۲۰۰۸) اسانس مرزنجوش را به عنوان ترکیب ضد میکروبی جهت افزایش ماندگاری سوسیس به کار بردند. در مطالعه وان (۲۰۱۳) استفاده از عصاره دانه مرکبات در کاهش اکسیداسیون چربی و افزایش ماندگاری سوسیس موثر واقع شد. شارما و همکاران (۲۰۱۷) اسانس های دارچین، ریحان، میخک و آویشن را به عنوان ترکیبی جایگزینِ نگهدارنده های سنتزی در نگهداری سوسیس مرغ منجمد بسته بندی شده تحت خلاء گزارش نمودند.همچنین در بررسی استفاده از اوژنول، تیمول همراه با اسانس مرکبات به عنوان ترکیبات ضد میکروبی در فرمولاسیون و در ادغام با اتمسفر بهبود یافته در افزایش ماندگاری سوسیس گوشت خوک کم چرب نتایج خوبی گزارش گردید.

گیاه اکالیپتوس *(Eucalyptus globulus)* سرده ای از درختان از خانواده میرتاسه *(Myrtaceae)*می باشد که بومی استرالیا است و در آن سرزمین تشکیل جنگل های انبوهی می دهد. اکالیپتوس تقریباً همیشه سبز است، اما برخی از گونه های گرمسیری در پایان فصل خشک برگ های خود را از دست می دهند. ترکیب شیمیایی اصلی ۱ و ۸– سینئول که در برگ گیاه *اکالیپتوسگلوبولوس* وجود دارد، اثر میکروب کشی داشته و نیز دارای اثرات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی است [۷]؛ با دارا بودن چنین اثراتی، این گیاه می تواند قابلیت استفاده در غذاها به عنوان جایگزین یا همراه با نگهدارنده های مصنوعی را دارا باشد. کومار و همکاران (۲۰۱٤) اثر جایگزنی اسانس برگ گیاه اکالیپتوس با مواد نگهدارنده مصنوعی در نوشیدنی ها را بررسی نموده و دریافتند که اسانس اکالیپتوس جایگزین مناسبی برای نگهدارنده مصنوعی موجود در نوشیدنی ها از

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.21.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.217]

لحاظ مهار رشد باکتری و نیز افزایش مدت نگهداری محصول می باشد [۸].

میخک با نام علمی *Syzygiumaromaticum*از خانواده میرتاسه، ترکیب شیمیایی اصلی آن اوژنول است که دارای خواص ضد باکتری، ضداستفراغ، ضداسپاسم، ضدقارچ، حشره کشی و آنتی اکسیدانی می باشد [۹]. میخک به طورسنتی بهعنوان طعم دهنده و نگهدارنده مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرد و مورد توجه محققین صنایع غذایی بوده است. نتایج پژوهش حامد و همکاران (۲۰۱۵) در اثبات خواص نگهدارندگی عصاره گل میخک بر روی توفو (پنیر سویا) نشان داد که توفوی حاوی عصاره گل میخک نسبت به توفوی فاقد آن، به مدت دو روز بیش تر در فضای اتاق قابل نگهداری بوده و رشد میکروبی در آن مشاهده نگردید [۱۰].

رزماری با نام علمی *Rosmarinusofficinalis*، گیاهی داروئی، معطر و همیشه سبز با برگ هایی سوزنی شکل و گل های سفید، صورتی، بنفش یا آبی است. ترکیب فعال موثره این گیاه ۱ و ۸ –سینئول و بورنئول می باشد. رزماری به عنوان یک عامل ضد التهابی در بدن استفاده می شود و نیز به دلیل داشتن اثرات آنتی اکسیدانی سبب افزایش قدرت سیستم ایمنی بدنمی گردد[۱۱]. الحجازین و همکاران (۲۰۱۹) اثر جایگزینی عصاره رزماری با سدیم نیتریت افزودنی به فرآورده گوشتی ران مرغ آماده را با ۵ غلظت مختلف از عصاره و نیتریت بررسی کردند و دریافتند که نمونه حاوی عصاره رزماری واجد بیشترین اثر آنتی اکسیدانی بوده و از نظر ویژگی حسی بهترین نمونه می باشد [۱۲].

باتوجه به ماهیت شیمیایی نیتریت افزودنی در ترکیب سوسیس و کالباس و پتانسیل سرطان زایی آن از یکسوورفعنیاز و تمایل مصرف کنندگان برای مصرف محصولات کاملاً طبیعی از سوی دیگر، کاهش میزان استفاده از نیتریت و یا جایگزین نمودن تمامی یا بخشی از آن در فرآورده های گوشتی با ترکیبات طبیعی مورد توجه قرار گرفته است، لذا هدف از این مطالعه تولید نگهدارنده طبیعی از سه گیاه میخک، اکالیپتوس و رزماری با داشتن خواص ضد میکروبی و ضد قارچی بالا و نیز خواص آنتی اکسیدانی قوی می باشد که قابلیت جایگزینی کامل با نیتریت در فرآورده های گوشتی را داشته باشد. گیاهان مورد مطالعه در این پژوهش علاوه بر داشتن ترکیبات موثره با اثرگذاری ویژگی های فوق الذکر به عنوان ادویه و طعم دهنده نیز در فراورده های گوشتی نیز مورد استفاده قرار می گیرند.

۲-مواد و روش ها

۲-۱-استخراج عصاره هیدروالکلی

به منظور تولید عصاره هیدروالکلی، ابتدا برگ خشک گیاهان میخک، اکالیپتوس و رزماری که از عطاری معتبر واقع در رشت تهیه شده بودند هر یکتوسط آسیاب (BEST، ساخت چین)پودر گردیده و به طور جداگانه با استفاده از روش ماسراسیون عصاره گیری شدند. برای این کار در سه بشر ۵۰۰ میلی لیتری اتوکلاو شده (اتوکلاو پویش طب، ساخت ایران)، ۱۰ گرم پودر میخک، رزماری و اکالیپتوسبه طور جداگانه توزین، و ۲۰۰ میلی لیتر محلول اتانول ۷۰ درصد حجمی–حجمی به آن اضافه گردید؛ پس از پوشاندن دهانه بشر با پارافیلم، به مدت ۲٤ ساعت روی همزن مغناطیسی (PIT300 ساخت ایران) در دمای آزمایشگاه با دور ۹۰ دور در دقیقه هم زده شدند [۱۳]. در مرحله بعد پس از عبور سوسپانسیونعصاره ها از کاغذ صافی (واتمن، شماره ٤۱، ساخت انگلستان) عصاره مناسب و یکدستی بدست آمد. پس از آماده شدن عصاره ها، آنها را با نسبت ۳:۱:۱ (میخک:اکالیپتوس:رزماری) ترکیب نموده، سپس ترکیب مورد نظر روی همزن مغناطیسی با دمای ۵۰ درجه سانتیگراد خشک و در انتها با آسیاب آزمایشگاهی (آلفا تک، ساخت چین) به پودر بلوطی رنگ تبدیل گردید.

۲-۲- بررسی اثر ضد میکروبی ترکیب عصاره ها

۲-۲-۱- روش انتشار در آگار با ایجاد چاهک

جهت بررسی اثر ضد میکروبی ترکیب عصاره ها از روش انتشار در آگار استفاده شد. برای این منظور ابتدا سوسپانسیون باکتری های هدف یعنی *Salmonella typhimuriumEscherichia coli* , *Listeriamonocytogenes,* و *Staphylococcus aureus* در غلظت معادل نیم مک فارلند تهیه گردیدند. با استفاده از پیپت پاستور یک چاهک به عمق ۵ میلی متر در محیط کشت مولر هینتون آگار ایجاد گردید وبه منظور باز نماندن بخش تحتانی محیط کشت بعد از ایجاد و عدم نفوذ عصاره به زیر محیط کشت، مقداری محیط کشت مولر هینتون آگار با استفاده از سمپلر ۱۰، کمتر از ۱۰ میکرولیتر درون چاهک ریخته تا پس از سرد شدن بخش تحتانی چاهک بسته شود. سپس ترکیب عصاره ها با غلظت ۱۰mg/mlبه هر یک

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.21.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.217]

از چاهک ها اضافه گردید. درب پلیت ها بسته و به منظور جلوگیری از آلودگی قارچی و نیزاجتناب از خشک شدن محیط کشت، دور آنها با پارافیلم به خوبیپوشش دادهشده و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ٤٨ ساعت قرار داده شدند[١٤].

۲-۲-۲- تعیین کمینه غلظت مهاری (MIC)

به منظور تعیین کمینه غلظت مهاری از روش سری های رقت استفاده شد [۱۵]. ابتدا در هر یک از پنج لوله آزمایش، ۲ میلی لیتر محیط کشت مولر هینتون براث ریخته شد. سپس به اولین لوله، ۲ میلی لیتر از مخلوط عصاره ها افزودهو توسط شیکر لوله (لابترون، ساخت ایران) کاملا با محیط کشتمخلوط شد. با کمک سمپلر، ۲ میلی لیتر از لوله اول به لوله دوم اضافه شده و پس از هم زدن، نیمی از آن به لوله بعدی انتقال یافت. به همین ترتیب تا لوله پنجم رقیق سازی ادامه یافت و از لوله پنجم ۲ میلی لیتر برداشته و دور ریخته شد. با این روش غلظت های ۱:۲ تا ۱:۳۲ تهیه گردید. سپس به همه لوله ها ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی (در حد نیم مک فارلند) اضافه شد. دهانه همه لوله ها با پنبه بسته شده و برای ٢٤ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند.در انتهالوله ها از لحاظ کدورت بررسی شدند و کمترین سری رقت فاقد کدورت به عنوان کمینه غلظت مهاری ترکیب عصاره ها گزارش گردید.

۲-۲-۳-تعیین کمینه غلظت باکتری کشی (MBC)

از آنجا که از طریق مشاهده چشمی تشخیص کدورت عصاره های رنگی به سختی قابل تمیز است، از روش کمینه غلظت باکتری کشی استفاده شد.پس از تعیین کمینه غلظت مهاری، از تمامی لوله هایی که در آنها عدم رشد باکتری مشاهده شده بود و آن لوله ها دارای کمترین کدورت بودند توسط سوآپ نمونه برداری صورت گرفت و از طریق کشت در پلیت، کمینه غلظت باکتری کشی تعیین شد. سپس پلیتها به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. کمترین غلظتی از عصاره که در آن غلظت هیچ رشدی در پلیت مربوطه صورت نگرفت به عنوان کمینه غلظت باکتری کشی تعیین گردید [١٦].

۲-۳- ارزیابی کمینه غلظت قارچ کشی(MFC)

جهت بررسی اثر ضد قارچی ترکیب عصاره ها از روش کشت پورپلیت بر روی قارچ های آلوده کننده مواد غذایی *Aspergillusniger*و*Penicilliumexpansum* استفاده شد. برای این منظور پنج رقت از ترکیب عصاره ها تهیه گردید (رقت های ۱:۲ تا ۱:۳۲). سپس توسط سمپلر به مقدار ۱ml از رقت های مختلف را در پلیت های جداگانه ریخته و پس از آن محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار (PDA) به پلیت ها اضافه شد. پس از بستن محیط کشت قطعه ای از قارچ به ابعاد۵ در ۵ میلی مترمربع بر روی محیط کشت قرار داده شده و بعد از ۷۲ ساعت نتایج بررسی گردید [۱۷].

۲-٤- بررسی اثرات آنتی اکسیدانی ترکیب عصاره ها

جهت ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها از سنجش فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH استفاده شد [۱۸]. برای این منظورابتدا یک استوک (محلول ذخیره) ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر از گیاهان مورد نظر تهیه شد، سپس اثرات مهار رادیکالی غلظت های مختلف مخلوطعصاره ها مطابق جدول ۱ مورد ارزیابی واقع شد. رقیق سازی نمونه ها با استفاده از اتانول صورت پذیرفت.

Table1 Different concentration of the test sample in the DPPH free radical activity analysis

Stock (microliter)	Ethanol (microliter)	Sample Concentration (mg/ml)
1	999	0.01
10	990	0.1
100	900	1
200	800	2
300	700	3
400	600	4
500	500	5
600	400	6
700	300	7
800	200	8
900	100	9
1000	-	10

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.21.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.217]

برای این منظور ۰/۵ میلی لیتر از نمونه با ۳ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد همراه با ۰/۳ میلی لیتر محلول ۰/۵ مولار DPPHدر حلال اتانول مخلوط گردید. برای لوله کنترل ۳/۵ میلی لیتر اتانول با ۰/۳ محلول ۰/۵ مولار DPPHمخلوط گردید. در لوله شاهد ۰/۵ میلی لیتر نمونه همراه با ۳/۳ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد مخلوط گردید. سپس لوله ها برای مدت۶۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه و در تاریکی قرار داده شدندتا شدت رنگ از بنفش پررنگ، کمتر شده و یا به زرد تبدیل شود. سپس توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (شیمادزو، ساخت ژاپن) در طول موج ۵۱۸ نانومتر جذب نمونه ها قرائت گردید.دستگاه ابتدا توسط نمونه شاهد صفر شد.در این آزمون جذب کمتر مخلوط، نشان دهنده‌ی فعالیت مهار رادیکالی بالاتر می‌باشد. فعالیت مهار رادیکال آزادDPPHبا توجه به رابطه ی زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد فعالیت آنتی اکسیدانی} = 100 - [\frac{Abs.S}{Abs.C}] \times 100$$

Abs. S: جذب نمونه

Abs. C: جذب کنترل

۲-۵- تهیه نمونه سوسیس مرغ

سوسیس های کوکتل حاوی ۵۵ درصد گوشت مرغ مطابق با فرمولاسیون استاندارد مورد استفاده در کارخانه تولید فرآورده های گوشتی چم چمال شمال واقع در شهرک صنعتی لاکان رشت، شامل ۵/۲کیلوگرم گوشت مرغ، ۲/۲۵کیلوگرم پنیر، ۰/۷کیلوگرم یخ، ۰/۳۶ لیتر روغن مایع، ۰/۳ کیلوگرم آرد، ۰/۱۸ کیلوگرم شیر خشک، ۰/۱۸ کیلوگرم سیر، ۰/۱۸ کیلوگرم ادویه،۰/۱۵ کیلوگرم نمک طعام و ۰/۰۳ کیلوگرم فسفات سدیم به ازای ۱۰ کیلوگرم خمیر تهیه شدند. به منظور تولید هر ۱۰ کیلوگرم سوسیس، ۱ گرم نیتریت معادل ۱۰۰ قسمت در میلیون افزوده شد. پس از مخلوط شدن مواد اصلی مطابق با روش های معمول در صنعت، نیتریت و ترکیب عصاره هامطابق نسبت های مندرج در جدول۲به خمیر اضافه گردید:

Table 2 Extract:nitrite ratios in chicken sausage samples

Sample	Extracts contribution in each sample	Nitrite contribution in each sample
1	1	4
2	2	3
3	3	2
4	4	1
5	5	0
6	0	5

سوسیس های تهیه شده پس از پر شدن در پوشش پلی آمیدی به اتاق پخت منتقل شدند. نمونه ها پس از طی ۳۰ روز نگهداری در سردخانه، از لحاظ رنگ، خواص ضد میکروبی و خصوصیات حسی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

۲-۵-۱- ارزیابی رنگ نمونه ها

رنگ نمونه های سوسیس با استفاده از دستگاه رنگ سنج هانترلب (کالریمیتر، ساخت ژاپن) مورد ارزیابی قرار گرفتند. دستگاه با دو کاشی سیاه و سفید رنگ، کالیبره شده و برش هایی از مقطع عرضی سوسیس ها با قطر مساوی تهیه گردید. برش های سوسیس در ظرف های مخصوص قرار داده شده و یک ظرف سیاه رنگ و مات نیز برای جلوگیری از تداخل نورهای خارجی بر روی ظرف مخصوص قرار داده شد، سپس دو فاکتورb*,L* نمونه ها که به ترتیب بیانگر روشنی و زردی نمونه ها هستند مورد ارزیابی قرار گرفت [۱۹].

۲-۵-۲- بررسی اثر سایتوتوکسیسیتی ترکیب عصاره ها با روش MTT

به منظور ارزیابی سایتوتوکسیسیتی مخلوط عصاره ها، از روش MTT assay استفاده گردید [۲۰]. ابتدا یک ویال سلول نرمال پوست برای بررسی اثرات سایتوتوکسیسیتی ترکیب عصاره ها از بانک سلولی انیستیتو پاستور تهران تهیه و پس از کشت سلول ها با استفاده از روش MTT میزان سمیت ماده بر روی سلول ها تعیین گردید. برای بررسی اثر سایتوتوکسیسیتی از پلیت ۹۶ خانه استفاده شد. در ردیف اولِ پلیت ۵۰ میکرولیتر از سلولی کشت شده را اضافه نموده به همراه ۲۵ میکرولیتر محیط کشت Minimum Essential Medium (MEM) که حاوی ۲-۱ درصد Fetal Bovine Serum (FBS) بود و برای اطمینان و از بین رفتن درصد خطا، این کار در ۱۲ خانه از پلیت تکرار شد. در ردیف دوم در هر خانه ۲۵ میکرولیتر سلول به همراه ۲۵ میکرولیتر ترکیب

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.21.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.217]

عصاره هابا غلظت ۱۲/۵ میلی گرم در میلی لیتر به همراه ۲۵ میکرولیتر محیط کشت MEM که حاوی ۲-۱ درصد FBS بود، اضافه گردید. ردیف سوم خالی گذاشته شد و در ردیف چهارم جهت نمونه شاهد در هر خانه ۵۰ میکرولیتر محیط کشت MEM اضافه گردید.سر پلیت تحت شرایط استریل بسته و در انکوباتور واجددیاکسیدکربن به مدت ۲٤ ساعت قرار داده شد. بعد از گذشت ۲٤ ساعت توسط سمپلر، مایعات موجود در بالای خانه های ردیف اول و دوم و چهارم از پلیت ۹٦ خانه برداشته شد و در هر خانه ۲۰ میکرولیتر محلول MTT حاوی نمک فسفات با خاصیت بافری با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر اضافه گردید؛ سپس به مدت ٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و در محل تاریک قرار گرفت، بعد از آن به تمامی خانه های ردیف اول و دوم و چهارم به میزان ۲۰۰ میکرولیتر از DMSO اضافه نموده سپس یک ساعت دیگر پلیت در جای تاریک و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد، سپس با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۷۰ نانومتر، قرائت صورت پذیرفت. میزان زنده مانی سلول ها با استفاده از اعداد جذب حاصل بر طبق فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد زنده ماندن سلول ها} = \frac{\text{میزان جذب در حضور عصاره}}{\text{میزان جذب سلولها به تنهایی}} \times ۱۰۰$$

۲-۵-۳- اندازه گیری شاخص های میکروبی

پس از تهیه نمونه های سوسیس، از هر ٦ نمونه تولید شده، ۱ نمونه در بازه های زمانی ۱۵ و ۳۰ روز مورد ارزیابی میکروبی قرار گرفت؛ بر این اساس شمارش کلی میکروارگانیسم ها مطابق استاندارد ملی ایران با شماره ۵۲۷۲ و از طریق کشت با محیط کشتPlate Count Agar(PCA)انجام شد. همچنین شمارشکلی فرم بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۱٦٦ و کپک و مخمر مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۸۹۹ مورد بررسی قرار گرفتند [۲۱-۲۳].

۲-۵-٤- ارزیابی ویژگی های حسی

بلافاصله پس از تولید، ویژگی‌های حسی نمونه های سوسیس شام رنگ، طعم، بو و بافت توسط ٦ ارزیاب آموزش دیده با روش آزمون هدونیک ۵ نقطه ای بر طبق روش امتیاز دهی مورد ارزیابی واقع گردید [۲٤]. ارزیاب‌ها نظرخود را در رابطه با هریک از ویژگی‌های حسی رنگ، طعم، بو و بافت براساس امتیازدهی از یک تا پنج در فرم‌های ارزیابی مطابق جدول ۳ منعکس نمودند.

Table 3 Sensory scores of chicken sausage samples

Very satisfying or very good	Satisfactory or good	Acceptable or moderate	Unacceptable or weak	Unusable or very bad	Sample quality
5	4	3	2	1	Score

۲-٦- تجزیه و تحلیل داده ها

کلیه آزمون ها در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت پذیرفت و تجزیه و تحلیل داده ها بر اساس تعیین میانگین و آنالیز واریانس یک طرفه و فاکتورهای معنی دار، با آزمون های چنددامنه ای دانکن توسط نرم افزار SPSS انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- اثرات ضد میکروبی ترکیب عصاره ها

سوسپانسیون میکروبی به کدورت نیم مک فارلند برای هر چهار باکتری جهت انجام آزمایش MIC, MBCوروش انتشار در آگار با ایجاد چاهک تهیه گردید. قطر هاله های عدم رشد در اثر ماده نگهدارنده طبیعی بر روی باکتری مورد آزمایش اندازه گیری شد و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد هر چهار باکتری *استافیلوکوکوساورئوس*، *اشرشیاکلی*، *لیستریامونوسیتوژنز* و *سالمونلاتیفیموریوم* نسبت به ترکیب عصاره ها حساس هستند. قطر هاله عدم رشد به روش چاهک برای باکتری *لیستریامونوسیتوژنز* ۲۵ میلی متر، *استافیلوکوکوساورئوس* ۲۵ میلی متر، *اشریشیاکلی* ۲۰ میلی متر و *سالمونلا تیفی موریوم* ۲۳ میلی متر اندازه گیری شد که در این روش *لیستریامونوسیتوژنز* و *استافیلوکوکوساورئوس* واجد بزرگترین هاله بودند.

بر اساس نتایج بدست آمده کمینه غلظت مهاری، ترکیب عصاره هانسبت به باکتری *اشرشیاکلی*، با رقت ۱:٤و با غلظت ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر و کمینه غلظت باکتری کشی محصول تولید شده نسبت به باکتری اشریشیا کلی، با رقت ۱:۲

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.21.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.217]

و غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر بود. کمینه غلظت مهاری نسبت به باکتری *استافیلوکوکوساورئوس* با رقت ۱:۳۲ و غلظت ۰/۳۱۲ میلی گرم بر میلی لیتر و کمینه غلظت کشندگی نسبت به باکتری *استافیلوکوکوساورئوس*، با رقت ۱:۱۶ و غلظت ۰/۶۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد. کمینه غلظت مهاری نسبت به باکتری *لیستریامونوسیتوژنز* با رقت ۱:۸ و با غلظت ۱/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر و کمینه غلظت کشندگی نسبت به باکتری *لیستریامونوسیتوژنز* با رقت ۱:٤ و غلظت ۲/۵ گرم بر میلی لیتر بود. مقدار کمینه غلظت مهاری و کمینه غلظت باکتری کشی در باکتری *سالمونلاتیفیموریوم* به ترتیب۲/۵ و ۵ میلی گرم بر میلی لیتر تعیین گردید. در تایید نتایج بدست آمده، ویراکودا و همکاران (۲۰۱۰)در تلاش برای یافتن ترکیبیجایگزینِ نگهدارنده مصنوعی در مواد غذایی، مخلوط هایی از عصاره های اکالیپتوس، رزماری و خلنجان مصری را تولید و خواص ضد میکروبی آنها را بر باکتری های آلوده کننده مواد غذایی بررسی نمودند. طبق نتایج بدست آمده ترکیب خلنجان مصری و رزماری دارای خواص ضد میکروبی بر باکتری های *استافیلوکوکوساورئوس* و *لیستریامونوسیتوژنز*بود و ترکیب خلنجان و اکالیپتوس اثر ضدمیکروبی خوبی بر *اشریشیاکلی* و *سالمونلاتیفیموریوم*از خود نشان داد[۲۵]. در پژوهش لی و همکاران (۲۰۱۹) جهت ارزیابی فعالیت ضد میکروبی ترکیب عصاره های الکلی سه گیاه *اکالیپتوس گلوبولوس*، *یوکا ریکورویفولیا* و درخت چای بر روی انواع مخمر و باکتری های موجود بر روی پوست انسان مشخص گردید ترکیب عصاره های الکلی این سه گیاه با مقدارMIC۰/۲٤ میلی گرم بر میلی لیتر دارای خاصیت ضد میکروبی بود و از آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و تریکلوسان بسیار قوی تر عمل نمود [۲٦]. تحقیقات نشان داده که مهم ترین مواد موثره ای که سبب فعالیت ضد میکروبی در گیاه اکالیپتوس می شود، شامل تانن و ساپونین، در گیاه میخک، اوژنول و اوژنیل استات و در گیاه رزماری کارنوزیک اسید و رزمارینیک اسید می باشند [۲۷-۲۹].

۳-۲- اثرضد قارچی به روش کمینه غلظت قارچ کشی(MFC)

نتایج MFC بدست آمده از دو قارچ آلوده کننده شاخص مواد غذایی یعنی*پنیسلیوم اکسپنسوم* و *آسپارژیلوسنایجر* جدا شده از مواد غذایی به ترتیب با رقت ۱:۲ و ۱:٤ در کشت پورپلیت در شکل ۱ مشخص گردیده است. نتایج حاصل از این روش بر روی دو قارچ فوق الذکر اثبات نمود که ماده نگهدارنده طبیعی دارای اثرات ضد قارچی می باشد به نحوی که طی مدت سه ماه هیچ گونه رشدی در پلیت مشاهده نگردید.تور و همکاران (۲۰۰۸) تحقیقی بر روی خواص ضد قارچی داروی ناتامایسین و عصاره گیاه رزماری بر روی دو قارچ آلوده کننده مواد غذایی*آسپارژیلوس نایجر* و *پنی سلیوم روکوفورتی* به صورت جداگانه و به صورت ترکیب دو ماده با یکدیگر انجام دادند. نتایج پژوهش آنها مشخص نمود که هر دو ترکیب *پنی سلیوم روکوفورتی* را به خوبی مهار کرده و البته به صورت جداگانه قادر به مهار *آسپارژیلوس نایجر* نبودند [۳۰]. جوزف و همکاران (۲۰۱۱) طی پژوهشی برخواص ضد قارچی عصاره گیاه میخک، به این نتیجه دست یافتند که عصاره میخک دارای خاصیت ضد قارچی موثری بر روی قارچ های آلوده کننده مواد غذایی *آسپارژیلوس نایجر* و *پنیسیلیوم اکسپنسوم*می باشد و جایگزینی ایمن برای نگهدارنده های شیمیایی ضد قارچی مواد غذایی می باشد [۳۱].

Fig 1 MFC of *Aspergillus niger*(top) and *Penicilliumexpansum*(bottom)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.21.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.217]

۳-۳- ویژگی آنتی اکسیدانی ترکیب عصاره ها

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیب عصاره ها در مهارادیکال آزادDPPH درغلظت های مختلف نشان داد بیش ترین اثر آنتی اکسیدانی مربوه به دوز ۹ میلی گرم بر میلی لیتر از ترکیب عصاره هابود که روند رو به افزایش رابطه غلظت با فعالیت آنتی اکسیدانی در نمودار ۱ نمایان می باشد. همچنین با افزایش غلظت نگهدارنده طبیعی، علاوه بر افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی، به میزان کدورت لوله ها نیز افزوده شد.کالوکا و همکاران(۲۰۰۵) با انجام آزمایش آنتی اکسیدانی DPPH، فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه رزماری و توکوفرول را بررسی نمودند. طبق نتایج بدست آمده فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه رزماری بسیار بالاتر از توکوفرول به تنهایی بوده و در ادغام این دو ترکیب با یکدیگر نیز درصد بالایی از فعالیت آنتی اکسیدانی مشاهده گردید[۳۲].

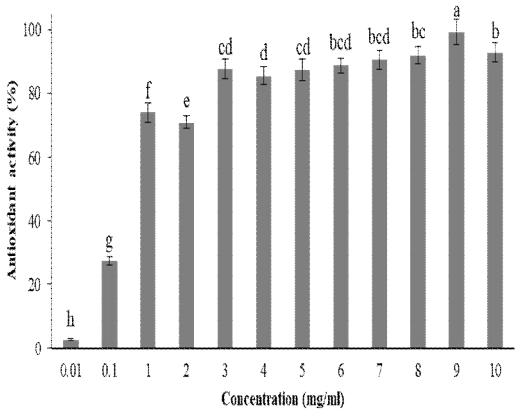

Fig 2 Diagram of antioxidant activity of the extracts mixture

در پژوهشی دیگر، لی و همکاران (۲۰۰۱) طی سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره دو گیاه میخک و اکالیپتوس نتایجی مبنی بر خواص آنتی اکسیدانی این دو گیاه ارائه نمودند که بر طبق آن عصاره گیاه میخک با داشتن ٤٨ درصد خاصیت آنتی اکسیدانی فعالیت بهتری نسبت به اکالیپتوس با ۲۳ درصد خاصیت آنتی اکسیدانی نشان داد؛ فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجه عصاره میخک به دلیل وجود مواد موثره اوژنول، تیمول و بنزیل الکل می باشد [۳۳].

۳-٤- نتایج ارزیابی رنگ نمونه ها

مقایسه میانگین های شاخص شفافیت محصول (L*) مطابق جدول ٤ نشان داد که در روز تولید، سوسیس های حاوی عصاره ها به نیتریت با نسبت های ۵:۰ و ۰:۵ تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند، همچنین میان نمونه های حاوی نسبت های ۳:۲، ۲:۳ و ۱:٤نیز با آنها تفاوت معنی داری مشاهده نگردید (P> ۰/۰۵)؛ نتایج گویای عدم اثرگذاری افزایش نسبت عصاره در شاخص شفافیت سوسیس تولید شده در روز اول بود. نتایج اندازه گیری شاخص *Lدر طول مدت نگهداری نیز حاکی از کاهش معنی دار آن بود. چنانکه در جدول ۵ مشخص شده است بیشترین و کمترین مقدار شاخص *b یا شاخص زردی محصول در روز تولید به ترتیب در سوسیس های حاوی عصاره به نیتریت با نسبت های ۵:۰ و ۰:۵ مشاهده گردید، علاوه بر اینشاخص*b در طول دوره نگهداری مورد آزمایش دچار کاهش گردید.بوزر و همکاران (۲۰۱٤) طی پژوهشیدر استفاده از عصاره رزماری به جای رنگ دهنده مصنوعی و نیز از بین بردن بوی نامطبوع در سوسیس با گوشت گوسفند مشاهده نمودند که دو شاخص زردی *L و شفافیت *b در سوسیس های حاوی عصاره رزماری نسبت به نمونه های کنترل کاهش داشت ولی این کاهش چشمگیر نبود [۳٤].

Table 4 Evaluation of the brightness (L*) of the sausage samples prepared with different Extract: nitriteratios

Extract:Nitrite (Ratio)						
5:0	**4:1**	**3:2**	**2:3**	**1:4**	**0:5**	**Day**
67.38±0.15a	66.67±0.11b	66.98±0.13ab	67.17±0.17ab	67.22±0.14ab	67.39±0.15a	**1**
65.10±0.09de	65.21±0.11de	65.89±0.13c	66.71±0.13b	66.67±0.15b	66.85±0.13ab	**10**
64.15±0.10de	64.12±0.15ef	64.42±0.17fg	64.69±0.14ef	64.99±0.08de	65.42±0.11cd	**20**
64.05±0.13def	63.62±0.13fg	63.79±0.09fg	64.24±0.12fg	64.68±0.15ef	65.29±0.12de	**30**

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.21.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.217]

Table 5 Evaluation of the yellowness (b*) of the sausage samples prepared with differentExtract:nitrite ratios

Extract:Nitrite (Ratio)						
5:0	**4:1**	**3:2**	**2:3**	**1:4**	**0:5**	**Day**
10.75±0.11f	11.40±0.09d	11.75±0.19c	12.11±0.16b	12.52±0.13a	12.81±0.17a	**1**
10.35±0.24g	10.72±0.18f	10.75±0.18f	10.99±0.20ef	11.22±0.19de	11.40±0.17d	**10**
9.79±0.17h	9.69±0.24hi	9.70±0.18hi	9.75±0.19hi	10.12±0.18g	10.37±0.22g	**20**
8.91±0.18k	8.99±0.20k	9.19±0.15jk	9.36±0.22j	9.42±0.18ij	9.48±0.16hij	**30**

۳-۵- نتایج اثر سایتوتوکسیسیتی با روش MTT

پس از انجام آزمایش و تعیین IC50 ماده در زمان های مختلف مشخص گردید که با بالا رفتن غلظت ماده، اثر سمیت آن نیز افزایش یافت. IC50 مقداری از یک ماده یا دارو می باشد که در آن غلظت نیمی از سلول ها زنده می مانند و نیمی دیگر آن ها از بین می روند. غلظت محصول تولید شده مورد استفاده (حاوی سه عصاره اکالیپتوس، میخک و رزماری) در نمونه های سوسیس مرغ، ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر بوده و این در حالی بود که تا غلظت سوم (دوز سوم) ماده در آزمایش MTT پس از ۲٤ ساعت، که ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود درصد بالایی از سلول ها زنده مانده و منطبق با استاندارد بود (استاندارد ملی ۱۸٦۹٦).

۳-٦- نتایج آزمایشات ضد میکروبی بر روی نمونه های سوسیس مرغ

نمونه شماره ۱ که حاوی ۱ قسمت ماده نگهدارنده طبیعی و ٤ قسمت نیتریت بود در روز پانزدهم با استاندارد ملی مطابقت داشته اما در روز سی ام با افزایش بار میکروبی، با استاندارد های ملی مطابقت نداشت (استاندارد ملی شماره: ۵۲۷۲). بر اساس استاندارد مقدار نرمال میکروارگانیسم ها طبق استاندارد ملی در هر گرم معادل 10^5 cfu/gمقدار نرمال کلی فرم طبق استاندارد ملی در هر گرم معادل ۱۰ cfu/gو مقدار نرمال کپک و مخمر طبق استاندارد ملی در هر گرم معادل 10^2cfu/g می باشد. نمونه شماره ۲ که حاوی ۲ قسمت ماده نگهدارنده طبیعی و ۳ قسمت نیتریت بود به دلیل بالا بودن مقادیر میکروبی هم در روز پانزدهم و نیز روز سی ام، با استاندارد های ملی مطابقت نداشت. نمونه شماره ۳ که حاوی ۳ قسمت ماده نگهدارنده طبیعی و ۲ قسمت نیتریت بود به دلیل بالا بودن مقادیر میکروبی هم در روز پانزدهم و هم روز سی ام، با استاندارد های ملی مطابقت نداشت. نمونه شماره ٤ که حاوی ٤ قسمت ماده نگهدارنده طبیعی و ۱ قسمت نیتریت بود در روز پانزدهم و سی ام از خود افزایش بار میکروبی نشان نداد. همان طور که از جداول شماره ٦ و۷ مشخص است، از نمونه شماره ۵ تنها واجد ماده نگهدارنده طبیعی بود، نتایج جالب توجهی به دست آمد.

Table 6 plate count agar, coliform count and mold and yeast count (cfu/g)in chicken sausage samples containing mixture of extracts

Mold and yeast (cfu/g)	Coliform (cfu/g)	Total count (cfu/g)	Sample number	Day
10	>10	10	1	15
>10	>10	>10	2	
>10	>10	>10	3	
10	> 10	10	4	
<10	<10	<10	5	
10	<10	<10	6	
>10	>10	>10	1	30
>10	>10	>10	2	
>10	>10	>10	3	
>10	>10	>10	4	
10	<10	<10	5	
10	10	<10	6	

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.21.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.217]

نمونه شماره ۵ در روز پانزدهم و سی ام با دارابودن کمترین میزان باکتری بیماری زا، کلی فرم و کپک و مخمر در بین تمامی نمونه ها نتایج خوبی نشان داد. نمونه شماره ٦ نیز که حاوی ۵ قسمت نیتریت و فاقد ماده نگهدارنده طبیعی بود و در واقع همان نمونه تولیدی کارخانه برای عرضه به بازار است در روز پانزدهم و سی ام با استاندارد های ملی(همان طور که قابل پیش بینی بود) مطابقت داشت. نمونه ۵ و ٦ که به ترتیب حاوی ۵ قسمت ماده نگهدارنده طبیعی و ۵ قسمت نیتریت هستند با استاندارد های ملی کاملا مطابقت داشتند. نتیجه بسیار خوبی که برای اولین بار می شود به آن دست یافت جایگزینی ۱۰۰ درصدی یک محصول گیاهی به جای سدیم نیتریت در فرآورده گوشتی سوسیس مرغ می باشد.

۳-۷-نتایج ارزیابی حسی نمونه های تولید شده

در ارزیابی حسی نمونه های سوسیس مرغ حاوی ترکیب عصاره ها (شامل عصاره میخک، اکالیپتوس و رزماری) و نمونه های کنترل فاقد عصاره توسط شش ارزیاب آموزش دیده، مشخص گردید که تیمارها از لحاظ رنگ، طعم، بو و بافت با یکدیگر تفاوت معنی داری نداشتند و امتیاز ۵، به نمونه ها داده شد که مبین عالی بودن این ویژگی ها نزد ارزیاب ها بود.

Table 7 The overall results of the sensory evaluation of the chicken sausage samples

Sensory score	Day
5	1
5	15
5	30

علت عدم تشخیص تفاوت میان نمونه کنترل و نمونه های حاوی عصاره می تواند ترکیبات گوناگون مورد استفاده در فرمولاسیون سوسیس و نیز همپوشانی عطر و طعم عصاره ها با سایر ادویه جات مصرفی و همچنین میزان مصرف کم محصول و در نتیجه عدم تغییر طعم در نمونه های تولید شده باشد. ژانگ و همکاران (۲۰۱۷) طی تحقیقی بر جایگزینی عصاره میخک با مواد نگهدارنده در سوسیس چینی، دریافتند، عصاره گیاه میخک علاوه بر خاصیت آنتی اکسیدانی بر سوسیس چینی، سبب حفظ رنگ، طعم، بو و بافت محصول طی مدت ۲۱ روز نگهداری در یخچال گردید [۳۵].

٤- نتیجه گیری

در بررسی اثرات عصاره تولید شده از سه گیاه میخک، اکالیپتوس و رزماری بر ویژگی های آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد قارچی مشخص گردید که عصاره حاصل می تواند جایگزین خوبی برای نیتریت موجود در فرآورده گوشتی سوسیس مرغ باشد. عصاره گیاهان بر روی شش نمونه از فرآورده گوشتی سوسیس مرغ با تیمار های مختلفی از ترکیب عصاره ها شامل ۰، ۲۰، ٤۰، ٦۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد نسبت به نیتریت تست شد که نتایج قابل قبولی به همراه داشت و نتایج حاکی از آن بود که نمونه ی حاوی ترکیب عصاره ها و عاری از نیتریت، واجد کم ترین مقدار بار میکروبی، کپک، مخمر و کلی فرم منطبق با استانداردهای ملی بود. ماندگاری نمونه سوسیس مرغ حاوی عصاره های تولید شده در یخچال معادل ۳۰ روز تعیین گردید. نتایج این پژوهش اثبات نمود که عصاره تولید شده از سه گیاه میخک، اکالیپتوس و رزماری می تواند به عنوان جایگزین کامل نیتریت، در فرآورده گوشتی سوسیس مرغ مورد استفاده واقع شود. ترکیب عصاره های مورد آزمایش علاوه بر دارابودن خاصیت یک ماده نگهدارنده طبیعی، فاقد اثر سایتوتوکسیسیتی بوده و به دلیل استفاده در مقادیر بسیار کم در طعم و رنگ نمونه سوسیس تغییر محسوسی ایجاد نمی نماید.با توجه به حضور انواع مختلف فرآورده های گوشتی در سبد مصرفی خانوارهای ایرانی، تحقیق روی ترکیبات نگهدارنده طبیعی مشابه بر سایر فرآورده های گوشتی از جمله کالباس و همبرگر ضروری به نظر می رسد. با توجه به خواص ضد میکروبی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی و عدم سمیت سلولی ترکیب عصاره های این پژوهش، مضاف بر حفظ طعم، بافت و بوی سوسیس مرغ، پیشنهاد می شود این ماده نگهدارنده به صورت صنعتی در سوسیس مرغ و سایر فرآورده های گوشتی به عنوان جایگزینی ایمن برای نیتریت مورد استفاده قرار گیرد.

۵- منابع

[1] Russell, N. J. and G. W. Gould (2003). Food preservatives, Springer Science & Business Media.
[2] Shahmohammadi, M., et al. (2016). "An overview on the effects of sodium benzoate as a preservative in food products." Biotechnology and Health Sciences3(3): 7-11.
[3] Miranda, M. D., et al. (2000). "Lipid peroxidation and nitrite plus nitrate levels in brain tissue from patients with Alzheimer's disease." Gerontology46(4): 179-184.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.21.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.217]

[4] Bahadoran, Z., et al. (2012). "Fast food consumption in Iranian adults; dietary intake and cardiovascular risk factors: Tehran Lipid and Glucose Study." Archives of Iranian medicine15(6): 0-0.

[5] Pobel, D., et al. (1995). "Nitrosamine, nitrate and nitrite in relation to gastric cancer: a case-control study in Marseille, France." European journal of epidemiology11(1): 67-73.

[6] Shan, B., et al. (2011). "Potential application of spice and herb extracts as natural preservatives in cheese." Journal of Medicinal Food14(3): 284-290.

[7] Ashour, H. M. (2008). "Antibacterial, antifungal, and anticanceractivities of volatile oils and extracts from stems, leaves, and flowers of Eucalyptus sideroxylon and Eucalyptus torquata." Cancer biology & therapy 7(3): 399-403.

[8] Kumar Tyagi, A., et al. (2014). "Eucalyptus essential oil as a natural food preservative: in vivo and in vitro antiyeast potential." BioMed research international2014.

[9] Elslimani, F., et l., Estimation of antioxidant activities of fixed and volatile oils extracted from syzygiumaromaticum (clove). Der chemicasinica, 2013. 4: P. 120-5.

[10] Hamad, A. and D. Hartanti (2015). "The use of essential oil of clove (Syzygiumaromaticum) as Tofu's natural preservative." Farmasains2(6): 289-294.

[11] Celiktas, O. Y., et al. (2007). "Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of Rosmarinus officinalis, depending on location and seasonal variations." Food Chemistry100(2): 553-559.

[12] Al-Hijazeen, M. and M. Al-Rawashdeh (2019). "Preservative effects of rosemary extract (Rosmarinusofficinalis L.) on quality and storage stability of chicken meat patties." Food Science and Technology39(1): 27-34.

[13] Azwanida, N. (2015). "A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation." Med Aromat Plants4(196): 2167-0412.

[14] Tajkarimi, M., et al. (2010). "Antimicrobial herb and spice compounds in food." Food control21(9): 1199-1218.

[15] Fu, Y., et al. (2007). "Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination." Phytotherapy research21(10): 989-994.

[16] Badakhshan, M. P., et al. (2009). "A comparative study: antimicrobial activity of methanol extracts of Lantana camara various parts." Pharmacognosy Research1(6): 348.

[17] Rosca-Casian, O., et al. (2007). "Antifungal activity of Aloe vera leaves." Fitoterapia78(3): 219-222.

[18] Mensor, L. L., et al. (2001). "Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method." Phytotherapy research15(2): 127-130.

[19] Yam, K. L. &Papadakis, S. E. (2004). Asimple digital imaging method for measuringand analyzing color of food surfaces. Journalof food Engineering, 61, 137-142.

[20] Marks, D. C., et al. (1992). "The MTT cell viability assay for cytotoxicity testing in multidrug-resistant human leukemic cells." Leukemia research16(12): 1165-1173.

[21] ISIRI (Institute of Standards and Industrial Research of Iran). 5272. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of microorganisms Colony count technique at 30°c

[22] ISIRI (Institute of Standards and Industrial Research of Iran). 11166. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms- most probable number technique.

[23] ISIRI (Institute of Standards and Industrial Research of Iran). 10899. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and molds.

[24]Pirouti, et al. (2014). "Effect of thyme (Thymus vulgaria) extract on chemical, microbiological and sensory properties of sausage during storage" Health food 4(3(15) autumn): 9-20.

[25] Weerakkody, N. S., et al. (2011). "Synergistic antimicrobial activity of galangal (Alpiniagalanga), rosemary (Rosmarinusofficinalis) and lemon iron bark (Eucalyptus staigerana) extracts." Journal of the Science of Food and Agriculture91(3): 461-468.

[26] Lee, D.-S., et al. (2019). "Antimicrobial activity of fraction mixture of ethanol extracts from Eucalyptus globulus, Yucca

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.21.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.217]

recurvifolia, and Melaleuca alternifolia against several human skin microbes." The Microbiological Society of Korea55(1): 46-51.

[27] Adeniyi, B. and O. Ayepola (2008). "The phytochemical screening and antimicrobial activity of leaf extracts of Eucalyptus camaldulensis and Eucalyptus torelliana (Myrtaceae)." Research journal of medicinal plant2(1): 34-38.

[28] Hemalatha, R., et al. (2016). "Phytochemical composition, GC-MS analysis, in vitro antioxidant and antibacterial potential of clove flower bud (Eugenia caryophyllus) methanolic extract." Journal of food science and technology53(2): 1189-1198.

[29] Moreno, S., et al. (2006). "Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition." Free radical research40(2): 223-231.

[30] Türe, H., et al. (2008). "Antifungal activity of biopolymers containing natamycin and rosemary extract against Aspergillus niger and Penicillium roquefortii." International journal of food science & technology43(11): 2026-2032.

[31] Joseph, B. and S. Sujatha (2011). "Bioactive compounds and its autochthonous microbial activities of extract and clove oil (Syzygium aromaticum L.) on some food borne pathogens." Asian Journal of Biological Sciences4(1): 35-43.

[32] Nogala-Kalucka, M., et al. (2005). "Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated tests." Food Chemistry93(2): 227-235.

[33] Lee, K.-G. and T. Shibamoto (2001). "Inhibition of malonaldehyde formation from blood plasma oxidation by aroma extracts and aroma components isolated from clove and eucalyptus." Food and Chemical Toxicology39(12): 1199-1204.

[34] J Bowser, T., et al. (2014). "Quality and shelf life of fermented lamb meat sausage with rosemary extract." The Open Food Science Journal8(1).

[35] Zhang, H., et al. (2017). "The application of clove extract protects Chinese-style sausages against oxidation and quality deterioration." Korean journal for food science of animal resources37(1): 114.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.21.1]

[DOI: 10.52547/fsct.18.119.217]

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Preparation of natural preservative from Clove, Eucalyptus and Rosemary extracts as the substitute of nitrite in chicken sausage

Karimpour, M. [1], Mehregan Nikoo, A. [2]*, Fallah, F. [3], Asayeshtalab, H. [4]

1. M.Sc., Department of biology, Islamic Azad University of Rasht branch.
2. Ph.D., Assistant professor, Department of Food Science and Technology, University of Guilan.
3. Ph.Ds., Department of biology, Islamic Azad University of Tehran Center branch.
4. Ph.Ds., Department of biology, Islamic Azad University of Rasht branch; Email:

ABSTRACT

Synthetic preservatives, especially nitrite in food, are considered to cause chronic diseases to the human body because of their toxic effects. The per capita consumption of meat products in Iran is 2.5 to 5.5 kg per year, and due to the lifestyle changes of the Iranian families, this consumption is ascending. Therefore, cumulative intake of this preservative could be warning. By replacing all or a part of nitrite with natural preservatives its usage could be eliminated. The aim of this study was to prepare a mixture of natural preservative from three plant extracts, i.e. clove, eucalyptus and rosemary. To this end, the hydroalcoholic extracts of the plants were obtained and then mixed in a ratio of 3:1:1 of Cloves, Eucalyptus and Rosemary, respectively. Later, Then the mixture was dried on a magnetic stirrer at 50 °C and finally turned into powder by a laboratory mill. Antimicrobial, antifungal, antioxidant properties as well as cytotoxicity effects of the mixed extract were evaluated. Six samples of the chicken sausages with different ratios of the natural preservative to nitrite including 5:0, 4:1, 3:2, 2:3, 1:4 and 0:5 After filling in the polyamide coating, they were transferredto the cooking room and then transferred to the refrigerator to storage and all the samples were evaluated in the terms of color, sensory properties and microbial indices at the periods of 15 and 30 days at 4°C. The results showed that the natural preservative had antimicrobial, antifungal and antioxidant properties and sausage sample contains 100% natural preservative in terms of sensory properties, microbial indices and color evaluation was the most desirable one. The findings of the present study suggest the application of the clove, eucalyptus and rosemary mixed extract suggested as a safe alternative in chicken sausages and other meat products in food industry.

ARTICIE INFO

Article History:

Received 2021/ 06/ 18
Accepted 2021/ 09/ 14

Keywords:

Natural preservative,
Plant extracts,
Chicken sausage,
Substitute for nitrite.

DOI: 10.52547/fsct.18.119.217

*Corresponding Author E-Mail:
a.mehregan@guilan.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.21.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.217]