بررسی اثر عصاره رزماری بر ممانعت از اکسیداسیون چربی‌ها و رشد باکتری *استافیلوکوس اورئوس* در گوشت چرخ کرده گاو

ژیلا قاسمی [١]، پیمان مهستی [٢]، سکینه نوری سعیدلو [*٣]، آوات قاسمی [٤]، سیده لیلا نصیری [٥]، پروین آیرملو [٣]

١- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران

٢- دانشیار گروه علوم وصنایع غذایی، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران

٣- مرکز تحقیقات سلامت مواد غذایی و آشامیدنی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

٤- باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران-شمال، ایران

٥- کارشناس ارشد علوم و صنایع غذای، سازمان ملی ساتاندارد، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ٩٤/٠٦/٠٩ تاریخ پذیرش: ٩٥/٠٢/٠٤)

چکیده

باتوجه به اثرات جانبی نگهدارنده‌های شیمیایی و توجه تولیدکنندگان موادغذایی به نگهداندهای طبیعی، ارزیابی اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی نگهدارنده‌های طبیعی در مدل‌های آزمایشگاهی و غذایی ضروری به‌نظر می‌رسد. رزماری از جمله گیاهان دارویی و منابع طبیعی آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی است که در این تحقیق با هدف جلوگیری از فساد اکسیداتیو و فساد میکروبی ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* در گوشت چرخ کرده گاو انتخاب شده است. ساقه و برگهای گیاه رزماری پس از خشک کردن در سایه، با روش خیساندن در الکل عصاره‌گیری شدند و سپس محتوای فنلی و حداقل غلظت ممانعت‌کننده عصاره بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌روش رقیق‌سازی بر آگار تعیین گردید. عصاره مورد نظر در دو غلظت ٣ و ٤ mg/ml به نمونه‌های گوشت چرخ‌کرده افزوده‌شد و سپس تیمارها به‌مدت ١٤ روز در دمای یخچال نگهداری گردیدند. اندازه‌گیری شاخص تیوباربیتوریک اسید، شمارش کل باکتری‌ها و استافیلوکوکوس اورئوس در فواصل زمانی ٠، ١، ٣، ٧ و ١٤ روز انجام گرفت. محتوای فنلی و حداقل غلظت ممانعت کنندگی عصاره به‌ترتیب برابر ٤/٥٤ (گرم معادل گالیک‌اسید در ١٠٠ گرم عصاره خشک) و ٣ mg/ml تعیین شد. عصاره رزماری در هر دو غلظت خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی بالایی از خود نشان‌داد و این خاصیت با افزایش غلظت، افزایش یافت و تاثیر مقادیر مختلف عصاره از لحاظ آماری معنی‌دار بود(P <٠/٠٥). نتایج نشان داد می‌توان از رزماری به‌عنوان نگهدارنده در گوشت و محصولات گوشتی استفاده کرد.

کلید واژگان: عصاره رزماری، اکسیداسیون، *استافیلوکوکوس اورئوس*، گوشت چرخ کرده

[*] مسئول مکاتبات: Saeedlou2003@yahoo.com

۱- مقدمه

امروزه استفاده از روش‌های نوین نگهداری نظیر استفاده از ترکیبات دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی جایگاه ویژه‌ای در صنایع غذایی پیدا کرده است[۱]. در سال‌های اخیر باتوجه به نگرانی‌های موجود در مورد استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی و اثرات مضر احتمالی آن‌ها، همانند آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بوتیل هیدروکسی انیزول[1] و بوتیل هیدروکسی تولوئن[2]، گرایش به‌استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی افزایش یافته‌است[۳، ۲]. تحقیقات نشان داده‌است که استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی در طولانی مدت دارای عوارض متعددی از جمله سرطان بوده، به‌طوریکه امروزه مصرف برخی از نگهدارنده‌های شیمیایی منسوخ گشته و یا به‌مقدار بسیار پایین مورد استفاده قرارمی‌گیرند. یکی از راه‌های رفع این نقیصه استفاده از نگهدارنده‌های با منشاء طبیعی بوده که نه‌تنها دارای عوارض جانبی نیستند بلکه باعث بهبود بو، طعم و مزه ماده غذایی شده و زمان ماندگاری محصول را نیز افزایش می‌دهند [۱].

تخمین زده می‌شود که ۳۰ درصد مردم در کشورهای صنعتی، حداقل یک‌بار در سال از بیماری‌های ناشی از مواد غذایی رنج می‌برند. بنابراین نیاز به کاهش فساد موادغذایی و حذف پاتوژن‌های غذایی با استفاده از روش‌های مختلف احساس می‌شود. درمیان محصولات غذایی، گوشت یکی از پر مصرف‌ترین و فسادپذیرترین مواد غذایی به‌شمار می‌آید [٤]. فرآورده‌های گوشتی به‌طور معمول در طول نگهداری در یخچال به دو دلیل عمده فعالیت میکروبی و اکسیداسیون چربی‌ها فاسد می‌شوند. در طول نگهداری گوشت، اکسیداسیون لیپیدها و رشد میکروبی را می‌توان به‌وسیله کاربرد آنتی‌اکسیدان‌ها و ضد میکروب‌ها به‌عقب انداخت و موجب افزایش مدت نگهداری و حفظ کیفیت آن شد [۵].

فساد اکسیداتیو باعث ایجاد بوی نامطبوع، تغییرات نامطلوب در طعم، تغییر در ساختمان مواد مغذی و کاهش ارزش غذایی محصول می‌شود و فساد و آلودگی میکروبی نیز منجر به ایجاد خطرات جدی در سلامت غذایی مصرف کننده می‌شود [٦]. باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زای غذایی می‌باشد. این باکتری یکی از شایع‌ترین عوامل ایجاد عفونت‌های غذایی و از جمله مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های مورد بررسی در کیفیت میکروبی مواد غذایی در بسیاری از کشورهای جهان می‌باشد. این باکتری از اکثر فرآورده‌های گوشتی ایزوله شده است، لذا محققان درصدد یافتن راهکارهایی جهت بهبود کیفیت و کنترل رشد میکروبی در این فرآورده‌ها برآمدند [۷، ۸].

عصاره‌های گیاهی به‌عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی طبیعی شناخته‌شده می‌باشند. از این منابع عمده طبیعی می‌توان به عصاره‌های گیاهانی مانند رزماری، موسیر و زردچوبه، چای سبز و غیره اشاره نمود. استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با منشا گیاهی در بخش‌های مختلف صنایع غذایی، به‌عنوان یک عامل موثر در به‌تعویق‌انداختن تغییرات شیمیایی، اکسایشی، میکروبی و افزایش عمر ماندگاری محصولات اثبات شده است[۹، ۲].

رزماری با نام علمی ***Rosmarinus officinalis*** از خانواده نعناعیان[3] گیاهی است بوته‌ای، چندساله و همیشه سبز که در ابتدا در اروپای جنوبی رشد کرده است [۱۰] و اکنون در سراسر ایران به‌صورت پرورشی وجود دارد و در بسیاری از مناطق سراسر دنیا رشد می‌کند [۱۱].

تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که عصاره رزماری دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی بوده و این خصوصیات رزماری وابسته به محتوای اسیدهای فنولیک و دی‌ترپن‌های آن است [۱۲]. اخیرا محققان آشکار ساخته‌اند که ترکیبات حاصل از عصاره رزماری می‌تواند در درمان بسیاری از بیماری‌های مختلف همانند آلزایمر و بیماری‌های مشابه، که اکثرا توسط رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌شوند موثر باشد [۱۳]. با توجه به‌خصوصیات شناسایی شده رزماری، عصاره این گیاه می‌تواند نقش معنی‌داری در جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها و فساد میکروبی، در گوشت ایفا کند و زمان ماندگاری آن را افزایش دهد.

1. Butylated hydroxyanisole
2. Butylated hydroxytoluene
3. Lamiaceae

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه نمونه‌های گیاه رزماری و استخراج عصاره

نمونه‌های خشک شده گیاه رزماری با نام علمی *Rosmarinus officinalis* از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تهیه گردید. جهت استخراج عصاره، نمونه‌های خشک شده در آسیاب برقی تبدیل به پودر نرم شد و موادی که از الک با مش ۸۰ گذشتند جمع‌آوری شد. حدود ۷ تا ۱۰ گرم از گیاه تبدیل شده به پودر با ۱۰۰ میلی‌لیتر از اتانول ۹۶٪، در دمای اتاق و در مکان نسبتا تاریک در حالی‌که مدام همزده شد، به‌مدت ۴۸ ساعت در تماس قرار داده‌شد و عصاره‌گیری شد. عصاره به‌دست آمده توسط کاغذ صافی فیلتر شده و دوباره به‌وسیله صافی‌های ۰/۴۵ میکرونی جهت عاری شدن از میکروارگانیسم‌ها صاف شد. به‌منظور جداسازی حلال، ماده صاف‌شده در اواپراتور چرخان تحت خلا در دمای ۴۵°C تغلیظ شد. جهت اطمینان از جدا شدن الکل، عصاره در آون تحت خلا (۳۰ درجه سانتی‌گراد) به‌مدت ۱/۵ ساعت قرار داده‌شد و سپس توزین گردید. عصاره‌ای که بعد از تبخیر محلول آلی به‌دست آمد به‌عنوان عصاره الکلی در دمای یخچال و در ظروف شیشه‌ای استریل، تمیز و تیره با درب مناسب تا زمان مصرف نگهداری و در موقع لزوم استفاده شد [۳، ۱۱، ۱۴].

۲-۲- اندازه‌گیری محتوای فنل کل

برای اندازه‌گیری محتوای فنل کل به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاه ۲ میلی‌لیتر کربنات‌سدیم (۲ درصد)، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالچو[1] ۵۰ درصد اضافه شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه جذب آنها در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به شاهد ثبت شد. گالیک‌اسید به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد. محتوای فنل کل عصاره بر اساس گرم معادل گالیک‌اسید در ۱۰۰ گرم عصاره خشک گزارش شد. [۱۵، ۱۶، ۱۷].

1. Folin-Ciocalteu's

۲-۳- تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده عصاره بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 6538)

تعیین MIC[2] عصاره با روش رقیق‌سازی بر روی محیط آگار[3] به‌منظور بررسی اثر ضد میکروبی عصاره استخراج شده بر سویه استاندارد میکروبی *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 6538) انجام شد. بدین ترتیب که وزن‌های مورد نظر (۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵، ۳، ۳/۵، ۴، ۴/۵ و ۵ گرم) از عصاره تغلیظ‌شده با استفاده از ترازوی دیجیتالی حساس توزین شد. به‌منظور افزایش حلالیت، عصاره‌های توزین شده با ۵ میلی‌لیتر از محلول دی‌متیل‌سولفوکساید[4] ۱۰٪ در داخل لوله‌های آزمایش استریل مخلوط شد. با استفاده از فیلترهای سرنگی ۰/۴۵ میکرون ۱ میلی‌لیتر از این مخلوط به ۱۹ میلی‌لیتر محیط کشت استریل مولرهینتون آگار[5] با دمای حداکثر ۴۵ °C اضافه و خوب مخلوط شد. پس از انتقال مواد به درون پلیت و بسته‌شدن محیط کشت پلیت‌ها در انکوباتور با دمای ۳۵°C به‌مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند. سپس از میکروارگانیسم‌های مورد نظر کشت‌های تازه تهیه و سوسپانسیونی با غلظت نیم مک‌فارلند (1.5×10^8 cfu/ml) تهیه شد و از آن ۳ میکرولیتر به مرکز پلیت‌های مذکور تلقیح شد. از پلیت‌های حاوی محیط کشت و دی‌متیل‌سولفوکساید بدون عصاره به‌عنوان کنترل منفی و پلیت‌های حاوی فقط محیط کشت و میکروارگانیسم به‌عنوان شاهد مثبت استفاده شد. سپس پلیت‌ها در دمای ۳۷ °C به‌مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شدند. پلیت‌های که در آنها رشد میکروارگانیسم‌ها به‌شدت کاهش پیدا کرده‌بود به‌عنوان MIC عصاره برای میکروارگانیسم مربوطه در نظر گرفته شد [۱۸، ۱۹].

۲-۴- آماده سازی گوشت

بعد از کشتار و در طی زمان جمود نعشی[6]، گوشت ماهیچه ران گاو تحت شرایط یخچال به آزمایشگاه منتقل شد. سطح بیرونی ماهیچه با غوطه‌ور کردن در اتانول ۹۶٪ (حجمی/حجمی) استریل شد و سپس اتانول باقی‌مانده در سطح گوشت را

2. Minimum inhibitory concentration
3. Agar dilution method
4. Dimethyl sulphoxide
5. Muller hinton agar MHA
6. Rigor mortis

مشتعل کرده و بعد از جداسازی سطح خارجی گوشت در شرایط اسپتیک، قسمت داخلی گوشت به‌وسیله چرخ گوشت استریل چرخ شد [۲۰].

۲-۵- سنجش ترکیبات اولیه گوشت

سنجش ترکیبات اولیه گوشت شامل سنجش رطوبت، چربی و پروتئین طبق روش AOAC انجام شد [۲۱]. اندازه‌گیری pH گوشت به‌وسیله pH متر دیجیتالی (مدل Multiline P4WTW) انجام شد.

۲-٦- آماده‌سازی نمونه‌ها

گوشت‌های چرخ شده پس از افزودن غلظت‌های مختلف عصاره (٤ mg/ml و۳) و تلقیح باکتری از سوسپانسیون نیم مک فارلند به‌صورت بسته‌های ۱۰۰ گرمی‌در داخل پلاستیک‌های پلی‌اتیلنی که قبلا استریل شده‌بودند، بسته‌بندی شد و سپس کیسه‌ها در دمای یخچال به‌مدت ١٤ روز نگهداری شدند.

۲-۷- اندازه گیری اکسیداسیون چربی‌ها به‌وسیله سنجش عدد تیوباربیتوریک اسید[1] (TBA)

میزان TBA با دستگاه اسپکتروفتومتر به‌روش Natseba و همکاران (۲۰۰۵) تعیین و به‌صورت میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهید در هر کیلوگرم بافت بیان شد.اندازه‌گیری TBA به‌وسیله رنگ‌سنجی صورت گرفت. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه چرخ شده به یک بالن ۲۵ میلی‌لیتری انتقال یافت و سپس با ۱- بوتانل به‌حجم رسانده‌شد. ۵ میلی‌لیتر از مخلوط فوق به لوله‌های خشک درب‌دار وارد شده و به آن ۵ میلی‌لیتر از معرف TBA افزوده شد. لوله‌های دربدار در حمام آب با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲ ساعت قرارگرفته و پس از آن در دمای محیط سرد شدند. سپس مقدار جذب (A_s) در 532نانومتر در مقابل نمونه شاهد (۱- بوتانل) (A_b) خوانده‌شد. این روش براساس مقادیر اسپکتروفتومتری کمپلکس صورتی حاصل از واکنش یک مولکول مالون‌دی‌آلدهید (MDA[2]) حاصل از تقطیر، با دو مولکول تیوباربیتوریک اسید (TBA) اضافه شده به محلول حاصل از تقطیر، صورت پذیرفت. مقدار عددی تیوباربیتوریک‌اسید از طریق فرمول زیر محاسبه گردید [۲۲].

$$TBA = \frac{50 \times (As - Ab)}{200}$$

۲-۸- آزمون های میکروبی

آزمایشات میکروبی شامل شمارش کل باکتری‌ها و *استافیلوکوکوس اورئوس*، در بازه‌های زمانی صفر، ٢٤ ساعت،۷۲ ساعت، یک هفته و دو هفته بعد از آماده سازی نمونه‌ها انجام گرفت.

جهت شمارش‌های میکروبی تهیه رقت‌های اعشاری ضروری است. برای شمارش کل باکتری‌ها به‌روش کشت آمیختنی و به‌صورت دوتایی اقدام به کشت شد. سپس بعد از گرمخانه گذاری در دمای ۳۳ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت، اقدام به انتخاب پلیت‌های مناسب نموده و میزان بار میکروبی در یک گرم گوشت چرخ شده بیان شد [۲۳].

برای شمارش باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* پس از تهیه رقت‌های متوالی، کشت به‌روش سطحی در روی محیط BPA[3] انجام پذیرفت. آنگاه پلیت‌ها در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤٨ ساعت قرار داده شدند [٢٤].

۲-۹- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصله با نرم افزار SPSS 16 انجام پذیرفت. به‌منظور تجزیه و تحلیل مقادیر کمی به‌دست آمده از آزمایش‌های شیمیایی میکروبی پس از کنترل نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف-اسمیرنوف[4] از تجزیه واریانس دو طرفه در قالب طرح آماری فاکتوریل کاملا تصادفی استفاده شد. همچنین برای تعیین تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها در تیمارهای مختلف از آزمون حداقل (LSD) و برای بررسی تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها در زمان‌های مختلف برای یک تیمار از آزمون دانکن (Duncan) استفاده

1. Thiobarbituric acid

2. Malonaldehyde
3. Baird parker agar
4. Kolomogorav - Smirnov

گردید. لازم به ذکر است که در تمام مراحل تجزیه و تحلیل، خطای مجاز برای رد H_0، ۵ درصد درنظر گرفته‌شد.

۳- نتایج

۳-۱- محتوای فنل کل و حداقل غلظت ممانعت کننده عصاره

اندازه‌گیری محتوای فنل کل عصاره که به‌روش استاندارد فولین سیوکالچو انجام شد، نشان داد عصاره الکلی رزماری دارای محتوای فنل کل برابر ۰/۰۴۳ ± ۴/۵۴ (گرم معادل گالیک‌اسید در ۱۰۰ گرم عصاره) است. و نتایج آزمون حداقل غلظت ممانعت کننده عصاره رزماری بر گونه باکتریایی *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 6538) که با روش رقت‌سازی در محیط کشت جامد انجام شد، برابر ۳ mg/ml بود.

۳-۲- pH و ترکیبات اولیه گوشت

درصد ترکیبات گوشت شاهد ماهیچه گاو در روز صفر در جدول (۱) نشان داده شده است. تغییرات مقادیر عددی pH در طول دوره نگهداری نمونه‌های گوشت چرخ‌کرده به‌صورت افزایشی بود، اما بین مقادیر pH در تیمارهای حاوی عصاره رزماری در هیچکدام از زمان‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اما مقدار pH در نمونه شاهد از (۵/۸۴) به (۶/۵) تا پایان روز چهاردهم رسید.

Table 1 Chemical analysis of beef tested

Factors	pH	Moisture (%)	Fat (%)	Protein (%)
Amount	5.8	72.1	5.68	18.61

۳-۳- سنجش تیوباربیتوریک اسید (TBA):

نتایج حاصل از سنجش عدد تیوباربیتوریک اسید در گوشت چرخ کرده گاو در طول دوره نگداری در نمودار (۱) و جدول (۲) نشان داده‌شده است. همانطورکه دیده می‌شود مقدار TBA در تیمارهای مختلف متفاوت و بین تمامی تیمارها در لحظات مختلف اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. ($p < ۰/۰۵$) مقدار TBA همواره در تیمار شاهد بالاتر از بقیه تیمارها بود. تغییرات در تیمار شاهد از (۰/۳۸۰) در روز صفر به (۱/۴۹۶) تا پایان دوره نگهداری رسید. برای تیمارهای حاوی ۳ و ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره، تغییرات از روز صفر تا پایان روز ۱۴، به‌ترتیب برابر با (۰/۳۵۹) ، (۰/۳۱۰) به (۱/۰۲۱) ، (۰/۸۳۵) بود. روند تغییرات TBA در تیمار شاهد و تیمار حاوی ۳ mg/ml عصاره همواره بصورت افزایشی بود، اما در تیمار شماره ۳ تا پایان روز اول تقریبا ثابت باقی ماند، بطوریکه مقدار TBA برای این تیمار در پایان روز اول برابر(۰/۳۱۱) بود.

Table 2 Mean scores of TBA (mg MDA/kg) during refrigeration storage of beef samples

Treatment	Storage time (day)				
	0	1	3	7	14
Control	0.380 ± 0.001* a E	0.421 ± 0.001 a D	0.534 ± 0.001 a C	0.772 ± 0.001 a B	1.496 ± 0.005 a A
3 mg/ml RE	0.359 ± 0.002 f D	0.399 ± 0.001 d D	0.480 ± 0.001 d C	0.741 ± 0.001 c B	1.021 ± 0.002 d A
4 mg/ml RE	0.310 ± 0.001 h D	0.311 ± 0.001 i D	0.349 ± 0.001 h C	0.612 ± 0.001 g B	0.835 ± 0.001 h A

RE= rosemary extract

* Mean (log cfu/g) ± standard error.

Means in same row with different capital letters are significantly differently ($p < 0.05$) and means in same column with different small letters are significantly differently ($p < 0.05$).

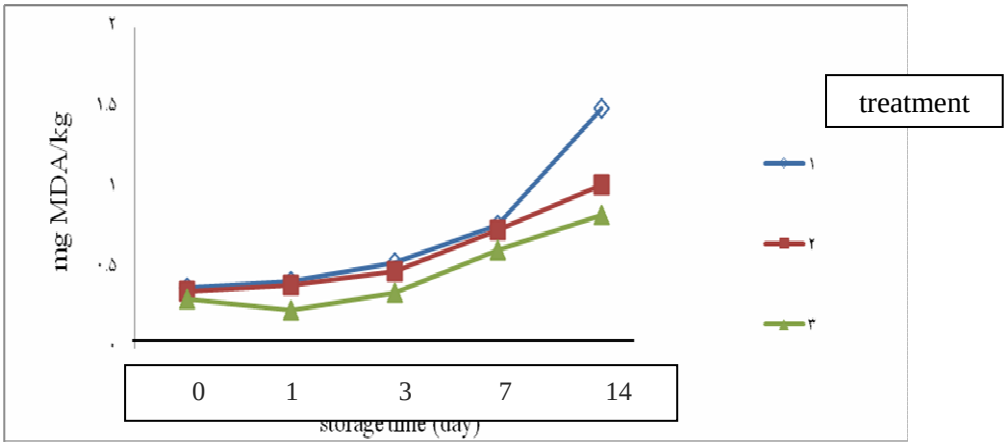

Fig 1 mean scores of TBA (mg MDA/kg) during refrigeration storage of beef samples [1: control, 2: 3 mg rosemary extract, 3: 4 mg rosemary extract]

۳-٤- نتایج آزمون‌های میکروبی

نتایج حاصل از آزمون‌های میکروبی در دو جدول (۳) و (٤) نشان داده شده‌اند. روند تغییرات باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در همه تیمارها بصورت افزایشی بود. مقادیر شمارش کل باکتری در دو تیمار حاوی عصاره رزماری بعد از ۲٤ ساعت کاهش اندکی داشت، اما بعد تا پایان دوره نگهداری روندی افزایشی داشت

Table 3 Effect of rosemary extract on *S. aureus* in mined beef at 4˚C for 14 days.

Treatment	Storage time (day)				
	0	1	3	7	14
Control	1.132 ± 0.015* a E	1.98 ± 0.017 a D	2.563 ± 0.025 a C	3.59 ± 0.01 a B	4.623 ± 0.03 a A
3 mg/ml RE	1.09 ± 0.01 ab E	1.41 ± 0.02 b D	1.566 ± 0.005 b C	1.996 ± 0.005 b B	2.463 ± 0.005 b A
4 mg/ml RE	1.06 ± 0.02 b E	1.186 ± 0.015 ef D	1.493 ± 0.015 c C	1.953 ± 0.011 c B	2.173 ± 0.005 c A

RE= rosemary extract
* Mean (log cfu/g) ± standard error.
Means in same row with different capital letters are significantly differently ($p < 0.05$) and means in same column with different small letters are significantly differently ($p < 0.05$).

Table 4: Effect of rosemary extract on total plate count in minced beef at 4˚C for 14 days

Treatment	Storage time (day)				
	0	1	3	7	14
Control	3.93 ± 0.01* a E	4.171 ± 0.007 a D	5.422 ± 0.002 a C	7.200 ± 0.01 a B	9.871 ± 0.01 a A
3 mg/ml RE	3.91 ± 0.01 b D	3.896 ± 0.005 b D	4.393 ± 0.005 b C	4.908 ± 0.007 b B	5.500 ± 0.01 b A
4 mg/ml RE	3.903 ± 0.005 b D	3.745 ± 0.005 c E	4.106 ± 0.02 c C	4.450 ± 0.04 c B	4.610 ± 0.01 c A

RE= rosemary extract
* Mean (log cfu/g) ± standard error.
Means in same row with different capital letters are significantly differently ($p < 0.05$) and means in same column with different small letters are significantly differently ($p < 0.05$).

٤- بحث

در سال‌های اخیر به تاثیر عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی یا مواد موثره این ترکیبات بر فساد اکسیداتیو و میکروبی موادغذایی توجه ویژه‌ای شده‌است.

٤-١- محتوای فنلی عصاره و خاصیت آنتی‌اکسیدانی رزماری

اکسیداسیون در گوشت به‌دلیل دارا بودن اسیدهای چرب مختلف، دارای اهمیت فراوان می‌باشد و از عوامل اساسی نامطلوب شدن طعم و مزه در آنها محسوب می‌شود [١٤]. به‌منظور ارزیابی درجه اکسیداسیون از شاخص TBA نیز استفاده می‌شود که میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون بویژه آلدهیدها (مالون‌آلدهید) را نشان می‌دهد [٢٥]. طبق نتایج این مطالعه هر دو غلظت عصاره رزماری اثر مهارکنندگی بالایی بر کنترل اکسیداسیون چربی‌ها در گوشت چرخ‌کرده گاو داشتند. همانطور که در مطالعات انجام شده توسط Bnerjee و همکاران در سال ٢٠١٢ و Tavassoli و Emamjomeh در سال ٢٠١١ نشان داده شده است عصاره‌های گیاهی خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی داشته‌اند [٩، ١١].

تحقیقات مختلف نشان داده‌اند فعالیت آنتی‌اکسیدانی رزماری وابسته به محتوای فنلی آن بوده است[١٥]. پژوهش‌های زیادی بیان کرده‌اند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای رزماری به‌طور عمده مربوط به حضور رزمارینیک‌اسید و بعد از آن کارنوزیک‌اسید و کارنوزول در عصاره آن است [١١]. نقش کلیدی ترکیبات فنلی به‌عنوان حذف کننده‌های رادیکال‌های آزاد در چندین مقاله گزارش شده است [٢٦]. ترکیبات فنلی عصاره و اسانس‌های گیاهی با ممانعت از تشکیل رادیکال‌های آزاد یا محدود کردن چرخه تولیدی آنها، قادردر به‌تاخیرانداختن اکسیداسیون می‌باشند [٢٧]. Smeti و همکاران این گفته را نیز افزودند که ترکیبات موثره گیاهان بر اکسیداسیون چربی‌ها، علاوه بر اثر روی رادیکال‌های آزاد، به‌واسطه واکنش با فلزات و دیگر ترکیبات که باعث راه‌اندازی فرآیند اکسیداسیون می‌شوند و همچنین فرونشاندن ترکیبات فعال اکسیژن دار، باعث به‌تاخیرانداختن یا ممانعت از اکسیداسیون می‌گردند [٢٦].

Ahn و همکارانش طی تحقیقی اثر افزودن عصاره رزماری در غلظت ٢٠٠ قسمت در میلیون و آلفاتوکوفرول در غلظت ٢٠٠ قسمت در میلیون را در جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها در گوشت چرخ‌کرده پخته گاو که مدت ٣ روز در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده‌بود، بررسی کردند. نتایج حاصله نشان داده‌بود که ٢ تیمار شامل عصاره رزماری و آلفاتوکوفرول اعداد TBA کمتری نسبت به شاهد داشته‌اند و تفاوت‌ها در سطح احتمال ٥ درصد معنی‌دار بوده‌است. عمل ضداکسیدانی عصاره رزماری به‌علت وجود ترکیبات فنلی می‌باشد که این ترکیبات با جلوگیری از مکانیزم‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد، اکسیداسیون چربی را به‌تاخیر می‌اندازد[٢٨]. در تحقیقی دیگر نشان داده‌شد که عصاره محلول در آب رزماری از اکسیداسیون چربی و تغییر رنگ در فرآورده‌های بوقلمون پخته شده در طی نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد جلوگیری می‌کند، بنابراین باعث بهبود کیفیت محصول و افزایش عمر انبارداری آن می‌شود [٢٩]. در تحقیق حاضر با افزایش غلظت عصاره اثر مهارکنندگی عصاره بر اکسیداسیون چربی‌ها افزایش یافت. روند تغییرات TBA در تیمار حاوی ٣ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره همواره به‌صورت افزایشی بود و در پایان دوره مقدار عددی به بالاتر از ١ (میلی گرم مالون‌دی‌آلدهید در هر کیلوگرم گوشت) رسید. درحالی‌که تیمار حاوی (٤ mg/ml) عصاره، روند تغییرات همواره به‌صورت افزایشی نبود و در پایان دوره نیز توانست مقدار TBA را پایین‌تر از ١ میلی گرم مالون‌دی‌آلدهید در هر کیلوگرم گوشت نگه دارد. که این نتایج همانند نتایج تحقیق‌های مختلف بیان شده، نشان داد که عصاره رزماری تهیه شده دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی بوده‌است.

نتایج Smeti و همکاران در سال ٢٠١٣ کاملا موید روند افزایشی TBA در طول دوره نگهداری گوشت بود. آنها اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس رزماری را به‌روش سنجش TBA بر گوشت بره مورد آزمایش قرار دادند و نتایج کار نشان داد که نمونه‌های حاوی اسانس رزماری مقادیر TBA پایین‌تری نسبت به نمونه کنترل داشتند، اما مقدار TBA در پایان دوره نگهداری در هر دو نمونه شاهد و حاوی اسانس رزماری به بالاتر از ١ رسید (به ترتیب برابر ١/٣٥ و ١/٥ میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهید در هر کیلوگرم گوشت)، در حالی‌که حد پذیرفته شده برای TBA در گوشت برابر ١ میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهید در هر کلیوگرم گوشت است [٢٦]. روند افزایش TBA در طول مدت نگهداری در تحقیق حاضر

ممکن است به‌دلیل افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان‌ها در ماهیچه باشد و همچنین افزایش آلدهیدها که به‌عنوان محصول ثانویه اکسیداسیون حاصل از شکسته شدن هیدروپراکسیدها ایجاد می‌شوند [٦].

محتوای فنل کل عصاره در تحقیق حاضر برابر ٠/٠٤٣ ± ٤/٥٤ (گرم معادل گالیک‌اسید در ١٠٠ گرم عصاره) محاسبه گردید. در رابطه با محتوای فنلی عصاره رزماری نتایج مختلفی ثبت شده است. Emam jomeh و Tavassoli برای عصاره متانولی رزماری محتوای فنلی برابر ٤/٩٩ محاسبه کردند، که تقریبا با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشت [١١]. در تحقیقی دیگر که در سال ٢٠٠٦ توسط Moreno و همکاران انجام شد، محتوای فنلی عصاره‌های آبی، استونی و متانولی رزماری بترتیب برابر ٣، ١٩ و ١٢ (گرم معادل گالیک‌اسید در ١٠٠ گرم عصاره) به‌دست آمد [١٥]. ترکیبات تشکیل دهنده عصاره رزماری تحت شرایط مختلف متفاوت است [١٣، ١٢]. تفاوت در ترکیبات شیمیایی می‌تواند مربوط به شرایط اقلیمی‌و ژنتیکی گیاه یا شرایط آماده سازی و استخراج ترکیبات موثره باشد[٢٦، ١٣]. قسمت‌های مختلف گیاه رزماری از جمله برگ، گل و ساقه دارای درصدهای متفاوت از ترکیبات فعال گیاه می‌باشد و مقدار این ترکیبات نیز تحت تاثیر تغییر فصول و آب و هوا است. در رابطه با شرایط استخراج ترکیبات فعال گیاه رزماری، حتی نوع ترکیبات نیز متغییر است. برای مثال نوع و مقدار مواد موثره در عصاره‌های استخراج شده با حلال‌های مختلف بسیار متفاوت است [٣٠، ١٥، ١٣]. نوع حلال مورد استفاده بر مقدار و نوع ترکیبات استخراجی گیاه موثر است[١٥]. Peshev و همکاران نشان دادند که عصاره اتانولی رزماری دارای محتوای رزمارینیک اسید بالاتری از عصاره کلروفرمی‌رزماری است [١٣]. Rojo و همکاران نیز در سال ٢٠١٢ متفاوت بودن اثر حلال‌های مختلف در استخراج ترکیبات موثره گیاه رزماری را نشان دادند [٣١]. پس با تکیه بر نتایج به‌دست آمده از تحقیقات مختلف انجام شده در رابطه با ارتباط محتوای فنلی و همین‌طور مقادیر ترکیبات تشکیل دهنده آن با خاصیت آنتی‌اکسیدانی، می‌توان گفت که نتایج در شرایط و پژوهش‌های مختلف می‌تواند بسیار متغییر باشد، پس توانایی عصاره‌ها بر ممانعت از اکسیداسیون چربی‌ها نیز متفاوت می‌باشد [٣١، ١٥، ١٣].

٤-٢- اثر عصاره رزماری بر تغییرات pH

در مطالعه حاضر تغییرات pH در تیمارهای مختلف حاوی عصاره طوری بود که اختلاف معنی‌دار بین آنها مشاهده نشد و روند در همه آنها افزایشی بود. مقدار pH گوشت دام‌های مختلف پس از کشتار متفاوت و تحت تاثیر عوامل مختلفی است [٣٢]. در طول دوره نگهداری گوشت مقدار pH تحت تاثیر تغییرات ترکیبات نیتروژن‌دار و فعالیت باکتری‌های مختلف قرار می‌گیرد [٣٣]. تجزیه ترکیبات ازت‌دار در طول دوره نگهداری منجر به افزایش pH گوشت می‌شود، که بخشی از این افزایش ممکن است مرتبط با رشد باکتری‌های پرولیتیک باشد [٣٤]. همچنین باکتری‌ها پس از مصرف گلوکز ذخیره شده، اسیدهای آمینه حاصل از تجریه پروتئین‌ها را مورد استفاده قرار می‌دهند و منجر به تولید آمونیاک و متعاقبا افزایش pH می‌گردند [٣٥].

Michalczyk و همکاران در سال ٢٠١٢ نشان دادند که فعالیت باکتری‌های تولید کننده اسیدلاکتیک بر pH گوشت موثر است. آنها اثر اسانس‌های گشنیز و زوفا[1] را بر افزایش مدت‌زمان ماندگاری گوشت چرخ کرده گاو بررسی کردند و نتایج کار آنها نشان‌داد که روند تغییرات pH به‌صورت بسیار آرامی‌کاهشی بوده است. اما pH در نمونه‌های حاوی اسانس‌های گیاهی، کمی‌بالاتر از pH نمونه کنترل بود که دلیل آن توانایی اسانس‌ها در کنترل باکتری‌هایی همانند *Lactobacillus*، *Entrobacter* و *B.thermosphacta* بوده است، که همگی جزو باکتری‌های مولد فساد گوشت تحت شرایط بی‌هوازی بوده و تولید کننده اسیدلاکتیک‌اند. دلیل روند کاهشی بودن pH نیز فعالیت باکتری‌های نام برده بیان گردیده بود [٣٣].در حالی‌که روند تغییرات pH در تحقیق حاضر به‌صورت افزایشی بود، اما غیر از نمونه شاهد در بقیه تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج کار Hulankova و همکاران موید نتایج تحقیق حاضر بود، که در آن به بررسی اثر پونه کوهی در گوشت چرخ کرده گاو به‌مدت ١٠ روز پرداخته بودند و نتایج کارشان نشان داد که روند تغییرات pH به‌صورت افزایشی بوده است [٣٤]. در تحقیقی دیگر که در سال ٢٠١٢ انجام شد و در آن به بررسی اثر اسانس گیاه اسطوقدوس[2] بر گوشت چرخ کرده گاو تلقیح شده با

1. Hyssop
2. Lavandula

باکتری *E.coli O157:H7* و *S.aureus* در طول نگهداری در یخچال پرداخته شد، تغییرات pH به صورت افزایشی بود، اما باز بین pH تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت [٣٦].

٤-٢- خاصیت ضد میکروبی رزماری

بر اساس نتایج حاصل از بررسی‌های میکروب‌شناسی، تاثیر مقادیر متفاوت عصاره رزماری بر روند رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و کل باکتری‌ها از لحاظ آماری در سطح معنی‌داری متفاوت می‌باشد و این به‌این معنی است که با افزایش غلظت عصاره میزان رشد باکتری کاهش می‌یابد، که مشابه نتایج Lee و همکاران در سال ٢٠٠٢ بود [٣٧]. اعتمادی و همکاران در سال ١٣٨٧ ظرفیت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری را در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی کردند و آنالیزهای میکروبی در طول ١٨ روز در دمای یخچال انجام شد. شمارش کل باکتری‌ها در نمونه شاهد پس از ١٧-١٦ روز به log cfu/gr ٧ رسید، درحالی‌که در نمونه‌های تیمار شده با عصاره رزماری در پایان دوره log cfu/gr ٥ گزارش شد. شمارش‌کل باکتری‌های نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر از نمونه رزماری بود، که نشان دهنده اثرات بازدارندگی عصاره رزماری بر کل باکتری‌ها می‌باشد [٦]. این نتایج با تحقیقات Djenane و همکاران و همینطور Sallam و همکاران در بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره رزماری در گوشت مطابقت داشت [٣٨، ٣٦]. البته تحقیقاتی که توسط Angioni و همکارانش بر روی یک نمونه رزماری (*Sardinian rosemary*) انجام شد نشان‌داد که این نمونه از رزماری اثرات بازدارندگی قابل توجهی بر روی باکتری‌های بیماریزا مانند *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *اشرشیا کلی* نداشته است [٣٩]. در صورتی‌که محققین دیگری اثرات بازدارندگی نمونه دیگری از رزماری (*Argentian rosemary*) را بر قارچ‌ها گزارش نمودند. همچنین Okoh و همکاران بر روی اثرات ضد باکتریایی گیاه رزماری مطالعاتی را انجام دادند و نتایج نشان‌داد که اسانس روغنی گیاه رزماری اثرات ضدمیکروبی قابل ملاحظه‌ای بر روی باکتری‌های مورد آزمایش داشته است [٤٠]. moreno و همکاران در تحقیقی تحت عنوان وابستگی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی رزماری به محتوای فنلی آن، نشان دادند که بین خواص ضدباکتریایی رزماری و محتوای فنلی آن رابطه مستقیم وجود دارد. نتایج مختلف نشان می‌دهد که خاصیت ضد میکروبی عصاره رزماری بسته به نمونه رزماری، روش استخراج عصاره و درصد ترکیبات فنلی آن، گونه میکروبی مورد آزمایش و غیره متفاوت است [١٥].

به هر حال پیش از این ویژگی‌های ضدمیکروبی عصاره رزماری در تحقیق‌های گوناگون در محیط‌های کشت به‌اثبات رسیده بود، اما در مواد غذایی نه‌تنها عوامل داخلی نظیر مقادیر چربی، پروتئین، آب، pH، نمک و غیره می‌توانند بر روی حساسیت باکتری‌ها تاثیر بگذارند، بلکه عوامل خارجی مانند درجه حرارت، نوع بسته‌بندی، خصوصیات ریززنده و ... نیز می‌توانند فعالیت باکتری‌ها را تحت تاثیر قرار دهند[٣٠].

٥- نتیجه‌گیری

افزودن عصاره رزماری به نمونه‌های گوشت چرخ‌کرده به‌طور معنی‌داری توانست اکسیداسیون لیپیدها و رشد میکروبی را به‌تاخیر اندازد و باعث افزایش عمر ماندگاری محصول گردد و با افزایش غلظت عصاره این توانایی افزایش یافت. این نتایج می‌تواند کاربرد تجاری این عصاره در گوشت و فرآورده‌های گوشتی را توجیه پذیر کند. از آنجا که کاربرد روش‌هایی به‌منظور به‌حداقل رساندن فساد اکسیداتیو و میکروبی در محصولات گوشتی از نظر اقتصادی و بهداشتی دارای اهمیت می‌باشد، انجام مطالعات بیشتر در زمینه ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره گیاهان طبیعی در گوشت و محصولات گوشتی ضروری و مفید می‌باشد.

٦- تشکر و قدردانی

در پایان لازم است از زحمات کلیه مسئولان آزمایشگاه مشترک مرکز تحقیقات و سلامت موادغذایی و معاونت غذا و داروی ارومیه تشکر و قدردانی شود.

٧- منابع

[1] Zhou, G.H., Xu, X.L and Liu, L. 2010. Preservation technologies for fresh meat. *Meat science*. 87: 119-128.

[2] Safari, A., Izadpanahi. A., and Mazlom, S. 2012. Study the use of plant antioxidant in fisheries product to improve the quality of them, (In Persian). *National congress on aquatic animals*. 9: 644-648.

[3] Huang, B., He, J., Ban, X., Zeng, H., Yao, X., and Wang, Y. 2011. Antioxidant activity of bovine and porcine meat treated with extracts from edible lotus rhizome knot and leaf. *Meat science*. 87: 46-53.

[4] Feiner, G. 2006. Meat products handbook: practical science and technology. First ed. CRC Press LLC. USA. 2007, pp: 256-7.

[5] Kim, H., Candwallader, K.R., and Watanabe, Y. 2012. Effect of addition of commercial rosemary extract on potent odorants in cooked beef. *Meat science*. 94: 170-176.

[6] Etemadi, H., Rezaei, M., and Abedian Kenary, A.M. 2008. Antibacterial and antioxidant potential of rosemary extract on shelf life extension of rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*). *Iranian journal of food science and technology*. 4: 67-77.

[7] Pinto, MS., Carvalho, A.F.D., Pires, A.C.D., Souza, A.A.C., Sorbal, D., Paula, J.C., and Santos, A.L. 2011. The effect of nisin on *staphylococcus aureus* count and the physiochemical properties of traditional minas serro cheese. *International dairy journal*. 21: 90-96.

[8] Lowy, F. 1998. *Staphylococcus aureus* infections. *England Journal of Medicine*. 339: 520-532.

[9] Banerjee, A.R., Verma, A.V., Das, A.K., Rajkumar, V., and Narkhede, H.P. 2012. Antioxidant effect of broccoli powder extract in goat meat nuggets. *Meat science*. 91: 179-184.

[10] Rozman, T., and Jersek, B. 2009. Antimicrobial activity of rosemary extract against different species of *listeria*. *Acta agriculturae slovenica*. 93: 51-58.

Tavassoli, S., and Emamjomeh, Z. 2012. Total phenols antioxidant potential and antimicrobial activity of methanol extract of rosemary. *Global veterinaria*. 7(4): 337-341.

[12] Visentin, A., Rojo, S., Navarrete, A., aestri, D.M., and Cocero, M.J. 2011. Precipitation and encapsulation of rosemary antioxidants by supercritical antisolvent process. *Journal of Food Engineering*. 109: 9-15.

[13] Peshev, D., Peeva, L.G., Peev, G., Baptista, I.I.R., and Boam, A.T. 2011. Application of organic solvent nanofiltration for concentration antioxidant extract of rosemary. *Chemical engineering research and design*. 89: 318-327.

[14] Kim, S.J., Cho, A.R., and Han, J. 2013. Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their application to meat product preservation. *Food control*. 29: 112-120.

[15] Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C.S., and Vonjov, A. 2006. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radical Research*. 40(2): 223-231.

[16] Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., Polissiou, M. 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of salvia tomentosa miller (*Lamiaceae*). *Food chemistry*. 90: 333-340.

[17] Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J., and Nacoulma, O.G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and pralin contents in Burkina Fasan honey, as well as their scavenging activity. *Food Chemistry*. 91: 571-577.

[18] Griffin, S.G., and Markham, J.L. 2011. An agar delution method for determination of the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of essential oil research*. 12: 249- 255.

[19] Sanaa, O., Safi, Y.S.E.H.A., Ahmed, B., El Magbol, A.Z. 2005. Antimicrobial activity of some medicinal plants against some Gram positive, Gram negative and fungi. *Food science*. 18:151-159.

[20] Solomakos, N., Govaris, A., Koidis, P., and Botsoglou, N. 2008. The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage. *Food microbiology*. 25: 120-127.

[21] AOAC. Official methods of analysis of association of official analytical chemists.17th ed. 2005. Arlington, VA; AOAC Inc.

[22] Natseba, A., Lwalinda, I., Kakura, E., Muyanja, C.K., and Muyonga, J.H. 2005. Effect of pre-freezing icing duration on quality changes in frozen Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Research International*. 38: 469-474.

[23] Zakipour Rahimabadi, E., Rigi, M., and Rahnama, M. 2013. Combined effects of *zataria multiflora boiss* essential oil and nisin on the shelf-life of refrigerated rainbow trout (*onchorynchus mykiss*) fillets. *Iranian journal of fisheries sciences*. 12(1): 115-126.

[24] Akhondzadeh Basti, A., Misaghi, A., and Khaschabi, D. 2007. Growth response and modelling of the effects of *zataria multifiora boiss* Essential oil, pH and temperature on *salmonella typhimurium* and *staphylococcus aureus*. *LWT-food science and technology*. 40(6): 973-981.

[25] Nishimoto, J., Suwetja, I.K., and Miki, H. 1985. Estimation of keeping freshness period and practical storage life of mackerel muscle during storage at low temperatures. *Memoirs of the Faculty of fisheries Kagoshima University*. 34(1): 89–96.

[26] Smeti, S., Atti, N., Mahouachi, M., and Munoz, F. 2013. Use of dietary rosemary essential oils to increase the shelf life of barbarine light lamb meat. *Small ruminant research*. 113: 340- 345.

[27] Abramovic, H., Terpinc, P., Generalic, I., Skroza, D., Klancnik, A., and Mozina, S. 2012. Antioxidant and antimicrobial activity of extracts obtained from rosemary. *Food science and technology*. 4(1): 1-8.

[28] Ahn, J., Gron, I.U., and Fernando, L.N. 2002. Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolic compounds in cooked ground beef. *Food science*. 67(4): 1364-1368.

[29] Scanlin, L., Wilson, J., and Schmidt, G. 2002. Rosemary extracts as inhibitors of lipid oxidation and color change in cooked turkey products during refrigerated storage. *Food science*. 67(2): 582-585.

[30] Jafarzadeh Khaledi, K., Aghazadeh Meshgi, M., Sharifan, A., and Larijani, K. 2010. Investigation of effect of the rosemary essential oil on growth of *staphylococcus aureus* in commercial instant soup. *Jouranl of comparative pathobiology*. 2: 255-264.

[31] Rojo, S., Visentin, A., Mastri, D., and Cocero, M.J. 2012. Assisted extraction of rosemary antioxidants with green solvents. *Journal of food engineering*. 109: 98-103.

[32] Emadzadeh, B., Varidi, M.J., and Mahallati, M. 2011. The physic-chemical characteristics of sheep meat post mortem. *Iranian food science and technology*. 7: 164-171.

[33] Michalcyzk, M., Macura, R., Tesarowicz, I., and Banas, J. 2012. Effect of adding essential oil of coriander and hyssop on the shelf life of ground beef. *Meat science*. 90: 842-850.

[34] Hulankova, R., Borilova, G., and steihauserova, I. 2013. Combined antimicrobial effect of oregano essential oil and caprylic acid in minced beef. *Meat science*. 95: 190-194.

[35] Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A., and Cliver, D.O. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food control*. 21:1199-1218.

[36] Djenane, D., Aider, M., Yanguela, J., Idir, L., Gomez, D., and Roncales, P. 2012. Antioxidant and antibacterial effect of lavandula and menthe essential oils in minced beef inoculated with *E. coli* O157:H7 and *S. aureus* during storage at abuse refrigeration temperature. *Meat science*. 92: 667-674.

[37] Lee, Y.L., Cesario, T., Owens, J., Shanbrom, E., and Thrupp, L.D. 2002. Antibacterial activity of citrate and acetate. *Nutrition*. 18: 665–666.

[38] Sallam, Kh. I., Ishioroshi, M., & Samejima, K. 2004. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. *Food Science and Technology*. 37: 849-559.

[39] Angioni, A., Barra, A., Cereti, E., and Arlorio, M. 2004. Chemical composition plant gentic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of rosemary. *Agriculture food and chemistry*. 52(11): 35-41.

[40] Okoh, O.O., Sadimenko, A.P., and Afolayan, A.J. 2010. Comparative evaluation of the antimicrobial activities of the essential oils of rosemary. *Food chemistry*. 120: 308-312.

Study the effect of rosemary extract on lipid oxidation and growth of *staphylococcus aureus* in minced beef

Ghasemi, Zh. [1], Mahasti, P. [2], Nouri Saeedlou, S. [3*], Ghasemi, A. [4], Nasiri, S. L. [5], Ayremlou, P. 3

1. MSc. Student on food science and technology, science and research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Food and Beverages safety Research Center, Urmia University of Medical Science, Urmia, Iran
4. Young Researcher and Elites Club, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
5. MSc. on food science and technology, National Standard Organization, Tehran, Iran

(Received: 2015/08/31 Accepted: 2016/04/23)

Considering the side effects of chemical preservative and attention of food producers to natural preservatives, evaluation of antioxidant and antimicrobial effect of them in the laboratory and food models seems to be necessary. The aim of the present study was to determine the effect of rosemary extract (RE) on lipid oxidation and inoculated *staphylococcus aureus* in minced beef. Leaves and stems of rosemary after drying in the shade were soaking in pure ethanol and alcoholic extract was obtained. Then total phenolics content and minimum inhibitory concentration (MIC) is determined against *S. aureus* using the agar dilution method. Two concentration of RE (3 and 4 mg/ml) was added to the treatments. Assessment of chemical spoilage index (Thiobarbituric acid) and microbial parameters (total plate count and *S. aureus* count) is carried out in 0, 1, 3, 7 and 14 days of storage at 4±1˚C. The MIC value and total phenolic content of rosemary was 3 mg/ml and 4.54 (g gallic acid equivalents/100g extract) respectively. The result reveals that treatment with both concentration of RE shows significantly lower chemical and microbial indexes in comparison with controls and results were statistically significant ($P<0.05$). As a consequence, rosemary extract may be considered as effective tools in preventing the lipid oxidation and microbial spoilage in minced beef.

Key words: Rosemary extract, Oxidation, *Staphylococcus aureus*, Minced beef

* Corresponding Author E-Mail Address: Saeedlou2003@yahoo.com