



## بررسی تاثیر اسانس گیاه پولک (*Stachys schtschegleevii*) و زمان نگهداری بر خواص شیمیایی و میکروبی گوشت چرخ کرده گوساله با استفاده از روش سطح پاسخ

محمود حسن پور<sup>۱</sup>، احمد قره خانی<sup>۲\*</sup>، امیر توکمه چی<sup>۳</sup>

۱- کارشناسی ارشد صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ماکو، دانشگاه آزاد اسلامی، ماکو، ایران  
 ۲- دکترای تخصصی بهداشت و بیماری‌های آبزیان، استادیار، گروه دامپزشکی، واحد ماکو، دانشگاه آزاد اسلامی، ماکو، ایران  
 ۳- دکترای تخصصی میکروبیولوژی، دانشیار، گروه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	<p>جهت جلوگیری یا به تعویق انداختن فساد مواد گوشتی و فرآورده‌های آن راه کارهای متعدد شیمیایی، فیزیکی و میکروبی ارائه شده است که از آن جمله می‌توان به افزودن آنتی‌اکسیدان و استفاده از موادی مناسب با فعالیت ضد باکتریایی اشاره نمود. در این تحقیق به منظور بررسی تاثیر افزودن اسانس گیاه پولک بر گوشت چرخ کرده گوساله در دمای یخچال از سه سطح غلظت اسانس (۰/۲۵، ۱/۱۲۵ و ۲ درصد) و سه زمان نگهداری (۱، ۶ و ۱۱ روز) استفاده گردید و بعد از شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس گیاه با روش گازکروماتوگرافی مجهز به طیف‌سنج جرمی، توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، قدرت احیاکنندگی، میزان مت‌میوگلوبین، عدد پراکسید، pH و بار میکروبی نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری و بهینه‌سازی فرآیند به روش سطح پاسخ انجام شد. یافته‌های این مطالعه حاکی از آن بود که بیشترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس پولک سزکوئی ترپن (۲۴/۳۵ درصد) بود. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت احیاکنندگی افزایش ولی میزان مت‌میوگلوبین، عدد پراکسید و بار میکروبی نمونه‌ها کاهش یافت. با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها عدد پراکسید، میزان pH و بار میکروبی افزایش یافت ولی تغییر قابل توجهی در میزان مت‌میوگلوبین مشاهده نشد. با توجه به نتایج بهینه‌سازی فرآیند می‌توان بیان نمود که نمونه حاوی ۱/۲۴ درصد اسانس گیاه پولک و ۲ روز نگهداری دارای بیشترین مطلوبیت (۰/۸۲۴) بود. بر اساس یافته‌های بدست آمده از این بررسی می‌توان نتیجه گرفت که اسانس گیاه پولک می‌تواند، فساد گوشت چرخ کرده گوساله را به‌طور مطلوبی کاهش دهد.</p>
تاریخ دریافت: ۹۹/۰۸/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۰/۱۶	
کلمات کلیدی: اسانس گیاه پولک، گوشت چرخ کرده گوساله، اکسیداسیون چربی‌ها، بار میکروبی.	
DOI: 10.52547/fsct.18.03.23	
* مسئول مکاتبات: a.gharekhani@yahoo.com	

## ۱- مقدمه

فلاونوئیدی دارای فعالیت ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی خوبی می‌باشد [۷]. ابی‌چاندانی و همکاران (۲۰۱۰)، خواص ضدباکتریایی و توانایی مهار رادیکال‌های آزاد گیاه پولک را مورد بررسی قرار دادند، نتایج این محققین نشان داد، زمانی که از متانول در استخراج عصاره این گیاه استفاده می‌گردد، قدرت ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی این گیاه بیشتر می‌باشد [۸]. بیات و شاهانی‌پور (۱۳۹۴)، تأثیر آنتی‌باکتریال عصاره متانولی و آبی برگ گیاه پولک بر باکتری‌های مولد عفونت ادراری را مورد بررسی قرار دادند و بیان داشتند که عصاره آبی و متانولی گیاه پولک، تأثیر قوی آنتی باکتریال بر *انتروباکتر آئروژنز*، *کلبسیلا پنومونیه* و *استافیلوکوکوس اورئوس* (باکتری‌های مولد عفونت ادراری) دارد، ولی بر پروتئوس میرابیلیس تأثیر چندانی ندارد [۹]. ریحانی و همکاران (۲۰۱۴) شرایط نگهداری و انجماد گوشت گاو با عصاره‌های برگ گیاه گل ستاره‌ای (*Ulam raja*) را بررسی کردند و نتایج بررسی این پژوهش‌گران ثابت نمود که استفاده از مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم عصاره این گیاه و چای سبز در هر کیلوگرم گوشت گاو سبب احیاء و یا کاهش اکسیداسیون لیپیدها می‌شود [۱۰]. فهیم دژبان و همکاران (۱۳۹۲) اثر عصاره رزماری و آویشن شیرازی را بر پایداری اسیدهای چرب در گوشت منجمد چرخ شده ماهی کپور نقره‌ای را به مدت ۶ ماه پس از ذخیره‌سازی به صورت انجماد مطالعه کردند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که گوشت منجمد چرخ شده ماهی فیتوفاگ حاوی عصاره‌های آویشن و رزماری در شرایط انجماد، باعث پایداری اسیدهای چرب گردید به طوری که در هیچ کدام از اسیدهای چرب اندازه‌گیری شده روند کاهشی و یا افزایشی معنی داری مشاهده نشد [۱۱]. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر اسانس گیاه پولک بر مهار اکسیداسیون چربی‌ها و همچنین بار میکروبی گوشت چرخ شده گوساله در طی نگهداری در یخچال بود.

## ۲- مواد و روش کار

### ۲-۱- مواد

در این مطالعه بخش هوایی گیاه پولک (از عطاری شهرستان ارومیه)، هگزان، کلرید آمونوم، محیط کشت پلیت کانت

گوشت غنی‌ترین منبع پروتئین برای تغذیه انسان بوده و در عین حال از فسادپذیرترین مواد غذایی نیز محسوب می‌شود. انواع گوشت‌ها جزء دسته‌بندی غذاهای بسیار حساس هستند که برای مدتی کوتاه می‌توان آنها را تحت شرایط خاصی نگهداری کرد و باید به دقت مورد محافظت قرار گیرند [۱]. جهت جلوگیری یا به تعویق انداختن فساد مواد گوشتی و فرآورده‌های آن راه‌کارهای متعدد شیمیایی، فیزیکی و میکروبی ارائه شده است که از آن جمله می‌توان به افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها و استفاده از موادی مناسب با فعالیت ضد باکتریایی اشاره نمود [۲]. استفاده از روش انجماد یکی از بهترین روش‌های نگهداری مواد غذایی از نظر کیفیت محصول به‌خصوص در مورد گوشت است. یخچال‌های خانگی حرارت ۴ تا ۷ درجه سانتی‌گراد دارند و مواد غذایی را به مدت چند روز به صورت مطبوع حفظ می‌کنند. گوشت را در یخچال می‌توان یک هفته نگهداری کرد. در نتیجه امروزه روش‌هایی به‌منظور جلوگیری از رشد میگرورگانسیم‌های عامل فساد در مواد غذایی توسعه پیدا کرده‌اند. یکی از این روش‌ها استفاده از مواد طبیعی در جهت افزایش ماندگاری می‌باشد [۱]. اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی از جمله جهش‌زایی، ایجاد مسمومیت و سرطان‌زایی و همچنین، تأثیر یکسان با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی روی بازدارندگی اکسیداسیون بافت باعث شده است که امروزه، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی توصیه شود [۳]. اسانس‌ها و عصاره‌ها حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مختلف و فراوانی‌اند این ترکیبات موادی هستند که با کاهش سرعت اکسیداسیون، مشخصاً دوره اکسیداسیون کند را افزایش می‌دهند [۴]. یکی از گیاهان دارویی که در طب سنتی برای درمان بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد گیاه پولک با نام علمی *Stachys schtschegleevii* می‌باشد که جنس *Stachys* بیش از ۳۰۰ گونه دارد که در ایران ۳۴ گونه آن شناسایی شده است [۵]. مواد شیمیایی گیاهان این جنس بیشتر شامل ترکیبات عمدۀ اسانس‌ها هستند که از آن جمله می‌توان به تانن، آلکالوئید استاکیدرین، تبائین و کولین اشاره کرد [۶]. همچنین عصاره و اسانس این گیاه به واسطه داشتن ترکیبات فنولی و

الکترون ولت بود. شاخص بازداری<sup>۲</sup> هر پیک (ترکیب) با زمان بازداری<sup>۳</sup> هیدروکربن‌های نرمال (C<sub>۸</sub>-C<sub>۴۰</sub>) تزریق شده در شرایط یکسان با تزریق اسانس گیاه پونه ماکویی، مقایسه و محاسبه شد. در نهایت همه ترکیبات بر اساس مقایسه طیف MS و شاخص بازداری آن‌ها نسبت به مقادیری که در منابع مختلف منتشر شده است (مانند Wiley، NIST<sup>۴</sup> و طیف‌های جرمی استاندارد) شناسایی شدند [۱۲].

## ۲-۵- افزودن اسانس به گوشت چرخ شده

قبل از افزودن اسانس به نمونه‌های گوشت ابتدا اسانس از فیلتر سر سرنگی ۰/۲۲ میکرون عبور داده شد تا استریل گردد. ابتدا به کمک ترازوی دیجیتالی مقدار ۲۰ گرم گوشت چرخ شده گوساله در پلاستیک‌های پلی اتیلنی استریل قرار داده شد، در مرحله بعد ۰/۲۵، ۱/۱۲۵ و ۲ درصد از اسانس گیاه پولک برای هر نمونه به کیسه‌های زیپ پک حاوی گوشت چرخ شده اضافه شدند و در دستگاه استوماکر به خوبی مخلوط گردیدند. این نمونه‌ها به مدت ۱۱ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و نمونه برداری از گوشت چرخ شده نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در زمان‌های یک، ۶ و ۱۱ روز انجام گرفت.

## ۲-۶- توانایی مهار رادیکال‌های

### آزاد (DPPH)

۲ و ۲- دی‌فنیل ۱- پیکریل هیدرازین (DPPH)، رادیکالی چربی دوست است که دارای جذب بیشینه در طول موج ۵۱۷ نانومتر است. در آزمون DPPH، رادیکال‌های DPPH با آنتی‌اکسیدان‌ها یا دیگر گونه‌های رادیکالی واکنش می‌دهند و مقدار آن کاهش می‌یابد. در نتیجه جذب در طول موج ۵۱۷-۵۱۵ نانومتر کاهش می‌یابد. کاهش مولکول‌های DPPH با تعداد گروه‌های هیدروکسیل در دسترس نسبت مستقیم دارد. گروه‌های هیدروکسیل با دادن هیدروژن به رادیکال‌های DPPH آن‌ها را از رنگ بنفش تیره به زرد

آگار، فنل فتالین، تری کلرو استیک اسید، پتاسیم فریک سیانید و اسید گالیگ (مرک، آلمان)، فیله گوساله و DPPH<sup>۱</sup> (سیگما آلدریج، آمریکا) مورد استفاده قرار گرفت.

## ۲-۲- تهیه فیله گوشت گوساله

در این بررسی فیله گوساله به صورت تازه از فروشگاه عرضه مواد پروتئینی تهیه و بلافاصله در کنار یخ به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه منتقل شد. ابتدا چربی سطح گوشت جدا سپس توسط چرخ گوشت مولینکس (فرانسه) چرخ شد.

## ۲-۳- تهیه اسانس گیاه پولک

ابتدا گیاه تازه پولک از یکی از عطاری‌های سطح شهرستان ارومیه تهیه گردید. در مرحله بعد به کمک بخش گیاه‌شناسی گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه شناسایی شد. سپس بخش هوایی گیاه در زیر سایه و دمای اتاق به دور از هر گونه جریان باد خشک گردید. در نهایت با استفاده از دستگاه کلونجر برای مدت ۴ ساعت و با حلال نرمال هگزان اسانس‌گیری شد و تا زمان استفاده در ظرف سر بسته و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

## ۲-۴- تعیین ترکیب شیمیایی اسانس گیاه

### پولک

برای تعیین ترکیب شیمیایی اسانس گیاه پولک از کروماتوگرافی گازی (ترموفینگان، آمریکا) مجهز به طیف نگار جرمی (GC-Mass) استفاده شد. در این دستگاه ستون موئینه به‌کار رفته از جنس سیلیکای گداخته به قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و طول ۳۰ سانتی‌متر بود. برنامه حرارتی ستون شامل دمای اولیه ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، دمای نهایی ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت افزایش دما ۲۰ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه تنظیم گردید. دمای محفظه تزریق و ترانسفر لاین به ترتیب ۲۶۰ و ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود. همچنین از گاز هلیوم با سرعت یک میلی‌لیتر در دقیقه و حجم تزریق یک میلی‌لیتر به عنوان حامل استفاده شد. سیستم تله یونی مورد استفاده در طیف سنج دارای انرژی یونیزاسیون ۸۰

1. 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl

2. Retention Index

3. Retention Time

4. National Institute of Standards and Technology

محلول بافر فسفات ۱/۱ با استفاده از حمام یخ و با دستگاه هموژنیزاتور با ۱۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ ثانیه هموژن شده و به مدت ۱ ساعت در یخچال گذاشته شدند. سپس در دمای چهار درجه با دور  $3500 \times g$  به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از آن مایع رویی لوله‌ها، از فیلتر واتمن ۴۵ عبور داده شده و جذب نوری مایع حاصله در طول موج ۵۲۵ نانومتر در اسپکتروفتومتر خوانده شد. میزان جذب نوری معادل میزان مت میوگلوبین می‌باشد [۱۵].

## ۲-۹- اندازه گیری عدد پراکسید

برای تعیین عدد پراکسید (AOCS CD 8-53, 1993) به طور خلاصه، ابتدا عصاره چربی در نمونه گوشت استخراج شده با کلروفرم، مقدار مناسب متانول به نسبت ۷ به ۳ اضافه و کاملاً یکنواخت شد. سپس ۹/۸ میلی لیتر از محلول فوق را به لوله آزمایش منتقل کرده، ۵۰ میکرولیتر محلول تیوسیانات آمونیوم (۳۰ درصد وزنی/حجمی) و ۵۰ میکرولیتر محلول کلرید آهن دو ظرفیتی به آن اضافه شد. جهت تهیه محلول کلرید آمونیوم دو ظرفیتی ابتدا ۰/۴ گرم کلرید باریم بدون آب در ۵۰ میلی لیتر آب حل شده و مقدار ۰/۵ گرم سولفات آهن ۷ آبه به آن افزوده شد. سپس ۲ میلی لیتر اسید سولفوریک ۱۰ نرمال را به محلول فوق افزوده و به شدت به هم زده شد تا رسوب سفید رنگ سولفات باریم بدست آید سپس محلول با کاغذ صافی نمره یک واتمن صاف شده و محلول به دست آمده کلرید آهن دو ظرفیتی بوده که شفاف رنگ می‌باشد. ترکیب به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط بدون نور قرار داده شد و جذب آن در طول موج ۵۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد و بر اساس منحنی استاندارد تهیه شده با غلظت‌های مختلف کلرید آهن ظرفیتی محاسبه گردید [۱۶].

## ۲-۱۰- اندازه گیری pH

برای اندازه‌گیری مقدار pH ده گرم گوشت در ۸۰ میلی لیتر آب مقطر در داخل بطری‌های ۱۵۰ میلی لیتری ریخته و با دستگاه هموژنیزاتور با ۱۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ ثانیه

روشن تبدیل می‌کنند. جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر بیانگر مقدار DPPH باقی‌مانده است. در این روش به ۱ میلی لیتر از روغن استخراج شده ۱ میلی لیتر محلول متانولی ۰/۱ میلی مولار DPPH اضافه شد و مخلوط حاصل به خوبی تکان داده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در مکان تاریک در دمای اتاق قرار داده شد. سپس جذب مخلوط توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید و از رابطه ۱، توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH به دست آمد [۱۳].

رابطه (۱)

$$\text{توانایی مهار رادیکال های آزاد DPPH} = \frac{AS-AC}{AC} \times 100$$

در این رابطه AS جذب نوری نمونه و AC جذب نوری شاهد بود.

## ۲-۷- قدرت احیا کنندگی (RP<sup>1</sup>)

در این روش، قدرت احیا کنندگی هر یک از نمونه‌ها بر اساس احیا شدن پتاسیم فریک سیانید و تغییر طیف رنگی از زرد به سبز یا آبی، مورد ارزیابی قرار گرفت. برای انجام آزمایش ۰/۰۳ گرم نمونه با ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات سدیم با pH برابر با ۶/۶ و ۲/۵ میلی لیتر پتاسیم فریک سیانید ۱ درصد مخلوط شده و به مدت ۵۰ دقیقه در بنماری ۲۰ درجه نگهداری گردید. سپس ۲/۵ میلی لیتر از محلول تری کلرو استیک اسید (۱۰ درصد) به لوله‌ها اضافه شد و در دمای معمولی با دور  $3500 \times g$  به مدت ۵۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از آن ۲/۵ میلی لیتر از مایع رویی لوله‌ها با ۲/۵ میلی آب مقطر و ۰/۲ میلی لیتر فریک کلراید ۰/۱ درصد مخلوط شده و در طول موج ۷۰۰ نانومتر در اسپکتروفتومتر، خوانده شد. افزایش میزان جذب نوری نشانه افزایش قدرت احیا کنندگی نمونه می‌باشد [۱۴].

## ۲-۸- اندازه گیری مت میوگلوبین

یک گرم نمونه در لوله فالكون وزن گردیده و با ۵ میلی لیتر

1. Reducing power

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس پولک

در این بررسی جهت استخراج اسانس از گیاه پولک از کلونجر استفاده گردید. محاسبه انجام گرفته نشان داد که از هر ۱۰۰ گرم وزن خشک گیاه ۲/۸۹ میلی‌لیتر اسانس خالص استحصال می‌گردد. همچنین آنالیز شیمیایی اسانس که با روش کروماتوگرافی گازی مجهز به طیف سنج انجام گرفت به طور تقریبی ۱۷ ترکیب مختلف را در اسانس گیاه پولک نشان داد (جدول ۱). بر اساس یافته‌های به‌دست آمده از آنالیز شیمیایی اسانس، سزکوئی ترین بیشترین ماده تشکیل دهنده اسانس گیاه پولک (۲۴/۳۵ درصد) بود. همچنین هیدروکربن‌های دی ترین دومین ماده تشکیل دهنده اسانس گیاه پولک (۲۱/۱۹ درصد) بود. تجزیه شیمیایی اسانس گیاه پولک مورد مطالعه نشان داد که بیشترین ترکیبات تشکیل دهنده آن سزکوئی ترین (۲۴/۳۵ درصد) و هیدروکربن‌های دی ترین (۲۱/۱۹ درصد) می‌باشند. در مطالعه‌ای که توسط مصحفی و همکاران (۱۳۸۸) بر روی اسانس گیاه پولک انجام گرفت، ۹ ترکیب و در آنالیز اسانس بدون گل گیاه از ۳۸ ترکیب، ۳۷ ترکیب شناسایی شد [۱۹].

**Table 1** Chemical compounds of *Stachys schtschegleevii* essence

Number	Chemical composition	Percentage
1	Sesquiterpene	24.35
2	Dieterpene hydrocarbons	21.19
3	D-Germacrene	16.73
4	Beta-karyofylene	12.32
5	Alpha-Homolen	6.22
6	Alpha-Stoxy Lemol	4.55
7	Abiataterin	3.81
8	Methoxy acetophenone	2.13
9	Alpha-Pinen	2.09
10	Bicyclogramacrine	1.89
11	Beta-Philandren	1.54
12	Bicycloalmen	1.23
13	Spatolnol	0.97
14	Alpha Copaine	0.66
15	Beta-pinene	0.15
16	Colestan -3, 2 methylene	0.09
17	N-hexadenoic acid	0.08

هموژن گردید و با دستگاه pH متر، pH گوشت در دمای اتاق اندازه‌گیری شد [۱۷].

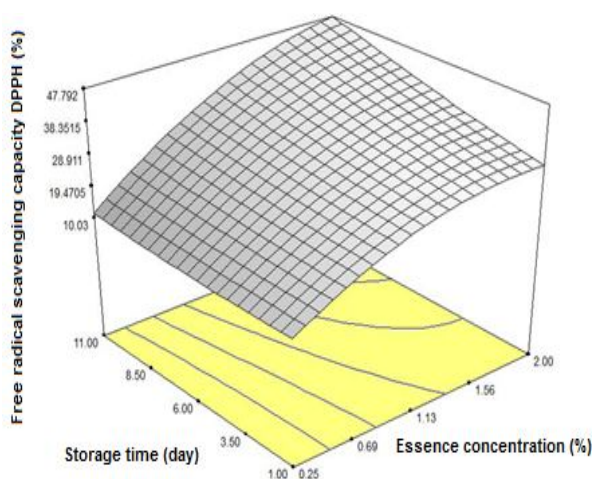
#### ۲-۱۱- تعیین بار میکروبی

تعیین بار میکروبی بر طبق روش داونس و ایتو (۱۹۹۷) صورت گرفت. بدین منظور ۱۰ گرم نمونه به طور جداگانه با ۹۰ میلی لیتر آب مقطر به کیسه استریل پالسی فایر منتقل شده و توسط دستگاه پالسی فایر (سیوارد، انگلیس) به صورت هموژن درآمده سپس نمونه تا رقت  $10^{-5}$  گرم در میلی لیتر رقیق شدند. ۱ میلی لیتر از هر رقت در پلیت قرار داده شده و ۱۵ میلی لیتر از محیط کشت PCA (پلیت کانت آگار) به آن افزوده شده و هر پلیت به منظور توزیع همگن نمونه به دقت تکان داده شد. لازم به ذکر است که از این محیط برای شمارش باکتری‌های سرمادوست هوازی در دمای ۷ درجه سانتی گراد به مدت یک هفته استفاده گردید [۱۸].

#### ۲-۱۲- طرح آزمایش و تحلیل آماری

روش‌شناسی سطح پاسخ، با استفاده از یک طرح چرخش‌پذیر مرکب مرکزی برای ارزیابی پارامترهای ثابت مطالعه، غلظت اسانس ( $X_1$ ) و زمان نگهداری ( $X_2$ ) بر میزان توانایی مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH)، قدرت احیاکنندگی آهن، میزان مت میوگلوبین، پراکسید، pH و بار میکروبی به‌عنوان پارامترهای متغیر، مورد استفاده قرار گرفت. به کمک این طرح کلیه ضرایب مدل رگرسیون درجه دوم و اثر متقابل فاکتورها قابل برآورد هستند. مهمترین مسئله در این تحقیق بررسی اثر متقابل فاکتورها و یافتن بهترین شرایط نگهداری گوشت چرخ شده گوساله بود از این رو طرح آماری سطح پاسخ انتخاب گردید. برای ارزیابی رفتار سطوح پاسخ، یک معادله چند جمله‌ای درجه دوم برای هر متغیر مستقل برازش داده شد. کیفیت و صحت مدل رگرسیونی و مناسب بودن برازش صورت گرفته به وسیله پارامترهای آنالیز مدل، عدم برازش، و ضریب تعیین مشخص می‌شود و آنالیز آماری توسط نرم افزار Design Expert نسخه 6.0.2 صورت گرفت.

همچنین اثرات پارامتر درجه دوم غلظت اسانس و اثر متقابل غلظت اسانس و زمان نگهداری نیز در سطح ۰/۰۱ بر میزان توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH معنی‌دار بودند. اندازه‌گیری میزان توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH. به‌عنوان یک آزمون معتبر و در عین حال ساده به‌طور گسترده جهت بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این آزمون، می‌توان فعالیت آنتی‌اکسیدانی تعداد زیادی نمونه را در طی مدت زمان کوتاه مورد ارزیابی قرارداد. علاوه‌بر این، حساسیت بالای رادیکال‌های DPPH امکان تعیین فعالیت ضد رادیکالی غلظت‌های پایین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را نیز فراهم می‌نماید [۲۲]. نبوی و همکاران (۲۰۱۱)، بیان داشتند که با افزایش غلظت عصاره میزان درصد رادیکال گیرندگی آن به علت افزایش در گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش که احتمال اهدا هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت رادیکال‌گیرندگی عصاره را بالا می‌برد، افزایش یافت و آنها علت بالا بودن این خاصیت در عصاره‌های گیاهی را، میزان بالای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی دانستند [۲۳].



**Fig 1** Effects of *Stachys schtschegleevii* essence concentration and storage time inhibition of free radicals scavenging DPPH

درصد عمده اسانس گل‌دار گیاه شامل: سیس کریزانتینیل استات ۳۶/۰۶ درصد، بتاکاریوفیلین ۱۰/۲۷ درصد، ال-لینالول ۷/۶۵ درصد و درصد عمده ترکیبات اسانس بدون گل گیاه عبارت بود از: ال-لینالول ۲۱/۶۱ درصد، لینالیل استات ۱۳/۴۸ درصد، کارواکرول ۱۱/۰۵ درصد، سیس-کریزانتینیل استات ۱۲/۴۳ درصد. تجلی و صادقی پور (۲۰۱۰) در مجموع ۴۱ ترکیب شیمیایی معادل ۹۸/۵ درصد کل اسانس در مرحله رویشی و ۴۶ ترکیب معادل ۹۸/۵۴ درصد کل اسانس گیاه را شناسایی کردند [۲۰]. ترکیبات شناسایی شده در این تحقیق با نتایج به‌دست آمده نوروری انصاری و همکاران (۲۰۰۴) مطابقت می‌کند، ولی میزان درصد ترکیبات آنها با یکدیگر متفاوت است [۲۱].

### ۳-۲- تاثیر پارامترهای عملیاتی بر توانایی مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH)

بررسی تغییرات توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نشان داد که غلظت اسانس مورد استفاده بیشترین اثرگذاری را بر میزان توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH داشت و اثرگذاری آن از نوع مثبت بود بدین معنی که با افزایش غلظت اسانس، توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نمونه‌ها نیز افزایش معنی‌داری داشت. افزایش زمان نگهداری نیز اثر مشابهی روی این خصوصیت داشت (شکل ۱). از طرفی جدول ۲ نشان داد که برای برازش داده‌های حاصل از توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH مدل چند جمله‌ای درجه دوم بهترین مدل در نظر گرفته شد و بر مبنای این مدل آنالیز داده‌ها صورت گرفت و معادله مربوط به این مدل برای توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در جدول ۴ آورده شده است. نتایج جدول ۳ نشان داد که اثرات خطی غلظت اسانس گیاه پولک و زمان نگهداری بر میزان توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار می‌باشد.

Table 2 Model selection for parameter measurement

Models	DPPH		RP		Met myoglobin		Peroxide number		PH		colony-forming unit	
	Sum of squares	Pb>F	Sum of squares	Pb>F	Sum of squares	Pb>F	Sum of squares	Pb>F	Sum of squares	Pb>F	Sum of squares	Pb>F
Mean	1		91.29		0.45		7.37		463.93		95118	
Linear	1323	< 0.0001	0.32	0.004	<b>0.10</b>	<b>&lt; 0.0001</b>	0.31	0.001	<b>1.07</b>	<b>0.004</b>	192400	0.0301
2FI	6561	0.067	0.002	0.62	0.001	0.09	<b>0.004</b>	<b>0.0019</b>	0.15	0.10	70756	0.04
Quadratic	<b>116.69</b>	<b>&lt; 0.0001</b>	<b>0.05</b>	<b>0.035</b>	0.0004	0.67	0.005	0.29	0.084	0.44	<b>76876</b>	<b>0.02</b>
Cubic	16.69	0.008	0.0002	0.87	0.0002	0.06	0.008	0.84	0.17	0.14	34520	0.009
Residue	2.76		0.003		0.001		0.013		0.14		6531	
Total	11712		91.70		0.56		7.73		465.54		477100	

Table 3 Analysis of variance of measured properties

Source	DPPH		RP		Met myoglobin		Peroxide number		pH		colony-forming unit	
	Sum of squares	Pb>F	Sum of squares	Pb>F	Sum of squares	Pb>F	Sum of squares	Pb>F	Sum of squares	Pb>F	Sum of squares	Pb>F
<b>Model</b>	1506	< 0.0001	0.38	0.009	1.00		0.35	< 0.0001	1.07	0.004	340000	0.003
<b>X<sub>1</sub></b>	1199	< 0.0001	0.28	< 0.0001	1.00	< 0.0001	0.06	0.0004	0.007	0.74	53770	0.002
<b>X<sub>2</sub></b>	124.49	0.0003	0.04	0.019	0.0004	< 0.0001	0.24	< 0.0001	1.06	0.0001	138600	0.002
<b>X<sub>1</sub><sup>2</sup></b>	108.55	0.0004	0.04	0.02	-	0.41	-	-	-	-	11731	0.20
<b>X<sub>2</sub><sup>2</sup></b>	77.1	0.45	0.008	0.69	-	-	-	-	-	-	37919	0.04
<b>X<sub>1</sub> X<sub>2</sub></b>	65.61	0.501	0.002	0.48	-	-	0.04	0.01	-	-	70756	0.02
<b>Residual</b>	19.45	-	0.03	-	0.005	-	0.02	-	0.55	-	41952	-
Lack of Fit	19.27	0.002	0.002	0.97	0.005	0.03	0.01	0.31	0.54	0.02	41949	0.001
Pure Error	0.18	-	0.03	-	0.003	-	0.006	-	0.01	-	2.80	-
Cor Total	1525.59	-	0.41	-	0.11	-	0.37	-	1.61	-	382000	-

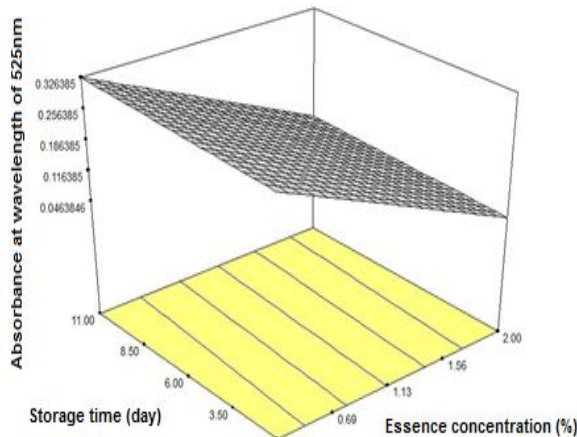
می‌کنند. این گروه‌ها خاصیت احیاکنندگی داشته و قادر به ترکیب شدن با گروه‌های آمینی، سولفیدریل پروتئین‌ها هستند. همچنین با یون‌هایی مانند آهن و مس ترکیب شده و ترکیبات رنگی جدیدی ایجاد کنند. عوامل احیاکننده به‌عنوان ضد اکسنده‌های ثانویه هستند، زیرا آنها پتانسیل احیا را کاهش داده و باعث پایداری فرم اکسید شده یون فلزی می‌شوند [۲۴]. یون‌های فلزی واسطه دو ظرفیتی یک نقش مهمی را به‌عنوان کاتالیزور فرآیندهای اکسایشی بازی می‌کنند و همین‌طور آنها منجر به تشکیل رادیکال‌های هیدروکسیل و واکنش‌های تجزیه هیدروژن پراکسید می‌شوند [۲۵].

### ۳-۳- تاثیر پارامترهای عملیاتی بر قدرت

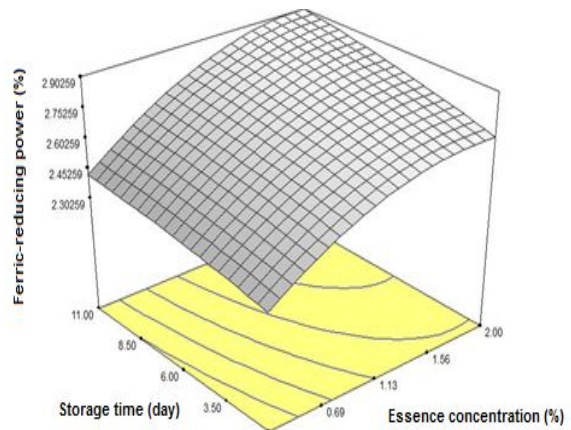
#### احیاکنندگی آهن

همان‌طور که در جدول ۳ آورده شده است، فقط پارامترهای خطی و پارامتر درجه دوم میزان اسانس اثر معنی‌داری در مدل چند جمله‌ای درجه دوم (جدول ۲)، مربوط به قدرت احیاکنندگی آهن داشتند و پارامتر خطی میزان اسانس، بیشترین اثر را بر تغییرات قدرت احیاکنندگی آهن داشت (جدول ۴). می‌توان گفت با افزایش غلظت اسانس از ۰/۲۵ به ۲ درصد و همچنین با افزایش زمان نگهداری میزان قدرت احیاکنندگی افزایش یافت. احتمالاً در طول زمان نگهداری آنزیم‌های فنل اکسیداز با تاثیر روی ترکیبات فنولی، گروه‌های کینونی ایجاد

در جدول ۴ (مدل ۳)، مدل نهایی ارائه شده برای میزان مت میوگلوبین بدست آمده حاکی از اثرگذاری بیشتر پارامتر خطی غلظت اسانس بود. مطالعات نشان داد که کاهش رادیکال‌های آزاد موجب کاهش فرم مت میوگلوبین در نمونه گوشت می‌شود. در گوشت تازه، میوگلوبین به سه شکل دئوکسی میوگلوبین، اکسی میوگلوبین و مت میوگلوبین وجود دارد. ترکیبات فنولی موجود در اسانس‌ها می‌توانند رادیکال‌های آزاد موجود در گوشت را خنثی کنند [۲۶].



**Fig 3** Effects of *Stachys schtschegleevii* essence concentration and storage time on metmyoglobin rate in meat



**Fig 2** Effects of *Stachys schtschegleevii* essence concentration and storage time on ferric-reducing power

### ۳-۴- تاثیر غلظت اسانس و زمان نگهداری بر

#### میزان مت میوگلوبین

جدول ۲ نشان داد که بهترین مدل برای تفسیر تاثیر پارامترهای عملیاتی بر میزان مت میوگلوبین، مدل خطی بود. نتایج همچنین نشان داد که فقط پارامتر خطی غلظت اسانس بر میزان مت میوگلوبین تاثیر معنی‌دار داشت. همانطور که در شکل ۳ مشخص است با افزایش غلظت اسانس مورد استفاده میزان مت میوگلوبین کاهش یافت ولی با افزایش زمان نگهداری تغییر قابل توجهی در میزان مت میوگلوبین مشاهده نشد.

**Table 4** Predictive models of dependent variables

Number	Dependent variable	Equation	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> -adj	CV
1	DPPH	$y = +30.52 + 14.14 X_1 + 4.55 X_2 - 6.27 X_1^2 + 0.80 X_2^2 + 4.05 X_1 X_2$	0.99	0.97	5.95
2	RF	$y = +2.71 + 0.22 X_1 + 0.083 X_2 - 0.12 X_1^2 - 0.017 X_2^2 + 0.025 X_1 X_2$	0.93	0.87	2.53
3	Met myoglobin	$y = +0.19 - 0.13 X_1 + 0.008 X_2$	0.95	0.94	12.81
4	Peroxide number	$y = +0.75 - 0.10 X_1 + 0.20 X_2 - 0.1 X_1 X_2$	0.95	0.93	6.15
5	pH	$y = +5.97 - 0.033 X_1 + 0.42 X_2$	0.66	0.59	3.91
6	Microbial load	$y = +1.38 - 94.67 X_1 + 152.00 X_2 + 65.17 X_1^2 + 117.17 X_2^2 - 133.00 X_1 X_2$	0.89	0.81	90.50

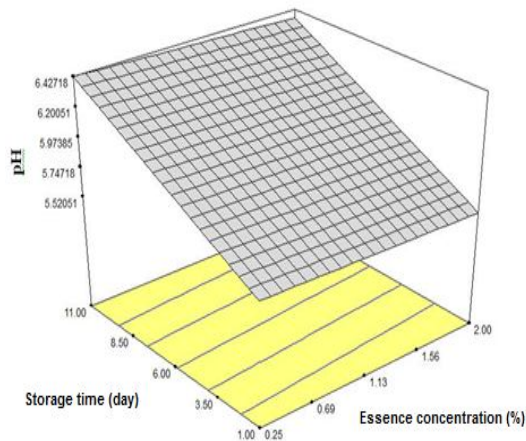
دوم متغیرها بر عدد پراکسید تاثیر معنی‌دار نداشتند به همین جهت از مدل مورد بررسی که در جدول ۴ آورده شده بود، حذف گردیدند. پراکسید محصول اولیه اکسیداسیون مواد چرب است و به‌طور کلی هر قدر که درجه غیراشباع روغن‌ها بیشتر باشد روغن و یا ماده چرب آمادگی بیشتری برای اکسیداسیون دارد. وقتی که میزان پراکسید به حد معینی برسد تغییرات مختلفی صورت گرفته و مواد فرار آلدئیدی و کتونی ایجاد شده که در ایجاد بو و طعم نامطبوع مواد چرب مؤثر می‌باشند [۲۷]. افزایش قدرت ضداکسایشی ترکیبات فنولی را

### ۳-۵- تاثیر غلظت اسانس و زمان نگهداری بر

#### عدد پراکسید

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل اطلاعات آماری بیان‌گر معنی‌دار بودن اثرات متغیرهای مورد بررسی به‌جز پارامترهای درجه دوم بر عدد پراکسید بود (جدول ۳). نتایج نشان داد که افزایش غلظت اسانس باعث کاهش عدد پراکسید نمونه‌ها شد، در حالی که با افزایش زمان نگهداری عدد پراکسید افزایش یافت (شکل ۴). همانطور که جدول ۳ نشان داد اثرات درجه

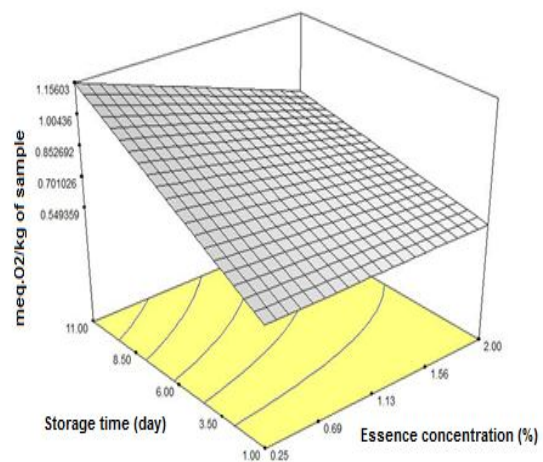




**Fig 5** Effects of *Stachys schtschegleevii* essence concentration and storage time on pH  
۳-۷- تاثیر پارامترهای عملیاتی بر بار میکروبی نمونه‌ها

جدول ۲ نشان داد که بهترین مدل برای تفسیر تأثیر پارامترهای عملیاتی بر بار میکروبی، مدل چند جمله‌ای درجه دوم بود. نتایج همچنین نشان داد که تغییرات زمان نگهداری، پارامتر درجه دوم زمان نگهداری و اثر متقابل غلظت اسانس و زمان نگهداری بر بار میکروبی نمونه‌های تولیدی تأثیر معنی‌دار در سطح ۵ درصد داشت. همانطور که در شکل ۶ آورده شده است با افزایش زمان نگهداری بار میکروبی نمونه‌ها افزایش یافت ولی با افزایش غلظت اسانس مورد استفاده میزان بار میکروبی نمونه‌ها کاهش یافت. در جدول ۴ (مدل ۶)، مدل نهایی ارائه شده برای بار میکروبی حاکی از اثرگذاری بیشتر متغیر پارامتر خطی زمان نگهداری بود. سنبل و همکاران نیز (۲۰۰۵) با بررسی ترکیبات اسانس و اثرات ضدباکتری گیاه پولک، نشان دادند، اسانس گیاه پولک بر باکتریهای *استافیلوکوکوس اپیدرمیس*، *اشرشیا کلی* و *انتروکوکوس فکالیس*، اثر بازدارندگی دارد [۳۰]. چیت‌ساز و همکاران (۱۳۸۵) نیز با بررسی اثرات ضدباکتری گیاه پولک در شرایط آزمایشگاهی بر روی چند باکتری از جمله *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشرشیا کلی* و *استرپتوکوکوس پیوژنز*، نشان دادند که گیاه پولک دارای خاصیت بازدارندگی قوی بر باکتریهای *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *استافیلوکوکوس اروئوس* می‌باشد. اغلب مطالعات انجام شده در خصوص اثر اسانس‌های گیاهان بر باکتری‌ها عامل فساد و عوامل بیماری‌زای منتقله از راه غذا نشان می‌دهند که اثر اسانس‌های گیاهی بر باکتری‌های گرم مثبت قدری بیشتر از تأثیر آن‌ها بر باکتری‌های گرم منفی است.

می‌توان به افزایش تعداد جایگاه‌های فعال این ترکیب‌ها برای واکنش با رادیکال‌های آزاد نسبت داد. در مطالعه‌ای اسماعیل‌زاده کناری و مهدی پور (۲۰۱۲) تأثیر غلظت‌های (۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر) عصاره متانولی پوست کیوی و غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ضداکساینده مصنوعی TBHQ را در به تأخیر انداختن اکسیداسیون روغن آفتابگردان طی ۶۰ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار دادند. غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر این عصاره توانست تشکیل هیدروپراکسیدها را نسبت به نمونه حاوی TBHQ به تأخیر اندازد که با نتایج این بخش مطابق بود [۲۸].



**Fig 4** Effects of *Stachys schtschegleevii* essence concentration and storage time on peroxide index

### ۳-۶- تاثیر پارامترهای عملیاتی بر pH نمونه‌ها

با توجه به جدول تجزیه واریانس، فقط پارامتر خطی زمان نگهداری اثر معنی‌داری در مدل داشت (جدول ۳). نتایج نشان داد که با افزایش زمان نگهداری pH افزایش یافت، این حالت به وضوح در شکل ۵ نشان داده شده است. همچنین با افزایش غلظت اسانس میزان به‌طور غیرمعنی‌داری افزایش یافت. علت کاهش و همچنین افزایش pH را می‌توان به کاهش یا افزایش رشد باکتری‌های پروتئولیتیک نسبت داد. در تحقیق Qin و همکاران (۲۰۰۶) با استفاده از فیلم کیتوزان حاوی پلی فنول چای در چتی‌های گوشت خوک باعث کاهش pH نهایی در زمان نگهداری نسبت به گروه کنترل شد. همچنین با تأخیر در افزایش شاخص تیوباربتوریک اسید منجر به پایداری لیپیدها و در نتیجه کاهش رشد میکروبی گردید [۲۹].

## ۳-۸- بهینه‌یابی پارامترهای عملیاتی و مقایسه

## نمونه‌های تولیدی در این شرایط با نمونه شاهد

به‌منظور یافتن بهترین شرایط نگهداری گوشت‌های تولیدی، با توجه به غلظت اسانس پولک که در دامنه ۰/۲۵ تا ۲ درصد و زمان نگهداری که بین یک تا ۱۱ روز تنظیم شده بود، فرایند نگهداری گوشت‌ها در شرایط ذکر شده به منظور رسیدن به حداکثر توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت احیاکنندگی یون آهن و حداقل پراکسید و بار میکروبی بهینه‌یابی گردید. نتایج نشان داد که به منظور رسیدن به اهداف ذکر شده، بایستی غلظت اسانس مورد استفاده ۱/۲۴ درصد و زمان نگهداری ۲ روز باشد، تحت شرایط مذکور مطلوبیت ۰/۸۲۴ حاصل گردید. جدول ۵ نشان داد که استفاده از اسانس پولک در نگهداری گوشت‌های تولیدی منجر به افزایش توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت احیاکنندگی یون آهن و کاهش pH، پراکسید، مت میوگلوبین و بار میکروبی نمونه نسبت به نمونه فاقد اسانس پولک می‌گردد.

به عبارت دیگر گرم مثبت‌ها نسبت به اثر ضد باکتریایی اسانس‌ها حساس‌تر هستند [۵]. علت حساسیت کمتر باکتری-های گرم منفی شاید به خاطر وجود پرده بیرونی در باکتری-های گرم منفی باشد که سبب محدود شدن انتشار اجزاء هیدروفوبیک اسانس به لایه لیپوبلی ساکاریدی می‌شود [۵]. (سلیمان و همکاران، ۲۰۰۲).

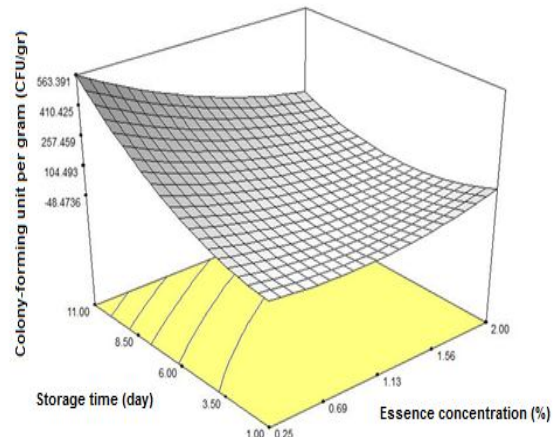


Fig 6 Effects of *Stachys schtschegleevii* essence concentration and storage time on colony-forming unit

Table 5 Comparison of the sample obtained from the optimal conditions with the control sample

Sample type	DPPH	RP	Met myoglobin	Peroxide number	pH	colony-forming unit
Optimal	58.28 <sup>a</sup>	2.65 <sup>a</sup>	0.15 <sup>b</sup>	0.57 <sup>b</sup>	5.59 <sup>b</sup>	10 <sup>b</sup> >
Control	10.12 <sup>b</sup>	2.4 <sup>b</sup>	0.35 <sup>a</sup>	0.63 <sup>a</sup>	5.89 <sup>a</sup>	10 <sup>a</sup> <

spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). Food Chemistry. 105(2): 511-520.

- [2] Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods-a review. International Journal of Food Microbiology. 94 (3): 223-253.
- [3] Sakanaka, S., Tachibana, Y. and Okada, Y. 2005. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (Kakinoha-cha). Food Chemistry. 89(4): 569-75.
- [4] Lee, S.J., Umamo, K., Shibamoto, T. and Lee, K.G. 2005. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. Journal of Food Chemistry, 91: 131 - 7.
- [5] Chitasaz, M., Mohammadi, H., Naseri, M. And Kamali Nejad, M. 2006. Investigation of antibacterial effects of *Stachys schtschegleevii* in extracorporeal conditions. Journal of Medical Science. 14 (67): 1- 7. (In Persian).

## ۴- نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد که سزکوئی‌ترین بیشترین ماده تشکیل دهنده اسانس گیاه پولک (۲۴/۳۵ درصد) بود و با افزایش غلظت اسانس گیاه پولک، توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت احیاکنندگی یون آهن نمونه‌ها افزایش یافت ولی میزان پراکسید، مت میوگلوبین و بار میکروبی گوشت چرخ شده گوساله کاهش یافت. از طرفی مشخص گردید که با افزایش زمان نگهداری میزان پراکسید، pH و بار میکروبی نمونه‌ها افزایش یافت. در پایان می‌توان گفت، استفاده از اسانس گیاه پولک در سطح ۱/۲۴ درصد می‌تواند، فساد گوشت چرخ شده گوساله را به‌طور مطلوبی کاهش دهد.

## ۵- منابع

- [1] Gomez-Estaca, J., Montero, P., Giménez, B. and Gómez-Guillén, M. 2009. Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative

- Improvement of shelf-life of buffalo meat using lactic acid, clove oil and vitamin C during retail display. *Meat Science*. 74: 409-415.
- [16] AOCS. 1993. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, AOCS Press, Champaign, IL. 762p.
- [17] Brannan, R.G. 2009. Effect of grape seed extract on descriptive sensory analysis of ground chicken during refrigerated storage. *Meat Science*. 81: 589- 595.
- [18] Downes F.P. and Ito, K. 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3rd ed. American Public Health Association, Washington, DC. pp:17-42.
- [19] Mushafi, M.H., Mofidi, A., Mehrabani, M. And Mehrabani M. 2009. Investigation of components and antibacterial effects of *S. acerosa* Boiss essential oil. *Quarterly Journal of Medicinal Plants*. 9 (1): 1-8. (In Persian).
- [20] Tajli, A.A. And Sadeghipour, A. 2010. The effect of phenological stages on the percentage and composition of essential oil of *Stachys schtschegleevii*. *Journal of Rangeland Research*. 4 (1): 137-148. . (In Persian).
- [21] Norouzi-Arasi, H., Yavari, I. and Alibabaei, M. 2004. Chemical constituents of the essential oil of *Stachys schtschegleevii* of Iran. *Journal Essential Oil Research*. 16(3): 231-32.
- [22] Bakhshabadi, H., Mirzaei, H.O., Ghodsvai, A., Jafari, S.M., Ziaifar, A.M. and Farzaneh, V. 2017. The effect of microwave pretreatment on some hysic-chemical properties and bioactivity of Black Cumin seeds' oil. *Industrial Crops and Products*. 97: 1–9.
- [23] Nabavi, S.F., Nabavi, S.M., Ebrahimzadeh, M.A. and Asgarirad, H. 2011. The antioxidant activity of wild medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit, stem bark and leaf. *African Journal of Biotechnology*. 10(2): 283-289.
- [24] Gordon, M. 1990. The mechanism of antioxidant action in vitro. in: *Food Antioxidants*, Springer, pp. 1-18.
- [25] Halliwell, B. 1996. Antioxidants: The basics-what they are and how to evaluate them. *Advances in Pharmacology*. 38: 3-20.
- [26] Behnam, B. and Aliakbarloo, J. 2013. Antioxidant effect of *Zataria multiflora* and *Origanum vulgare* essential oils on chicken meat kept at 4 ° C. *Journal of Food Industry Research*. 23 (4): 533-543.
- [6] Mushafi, M.H., Mofidi, A., Mehrabani, M. And Mehrabani M. 2009. Investigation of components and antibacterial effects of *S. acerosa* Boiss essential oil. *Quarterly Journal of Medicinal Plants*. 9 (1): 1-8. (In Persian).
- [7] Nasrollahi, S., Ghoreishi, S.M., Ebrahimabadi, A., and Khoob, A. 2019. Gas chromatography-mass spectrometry analysis and antimicrobial, antioxidant and anti-cancer activities of essential oils and extracts of *Stachys schtschegleevii* plant as biological macromolecules. *International Journal of Biological Macromolecules*. 128(1): 718-723.
- [8] Abichandani, M., Lutfun, N., Singh, P., Chitnis, R., Nazemiyeh, H., Delazar, A. and Sarker, S. 2010. Antibacterial and free-radical-scavenging properties of *Stachys schtschegleevii* (Lamiaceae). *Archives of Biological Sciences*. 62 (4): 941-945.
- [9] Bayat, A. And Shahanipour, K. 2015. Antibacterial effect of methanolic and aqueous extracts of flake leaves on bacteria causing urinary tract infections. *Journal of Qom University of Medical Sciences*. 9 (10): 33-39. (In Persian).
- [10] Reihani, S.F.S., Tan, T.C., Huda, N. and Mat Easa, A. 2014. Frozen storage stability of beef patties incorporated with extracts from Ulam raja leaves (*Cosmos caudatus*). *Journal Food Chimestry*. 155: 17-23.
- [11] Fahimdezghan, Y., Motallebi, A.A., Hosseini, H., Khanipour, A.A. Soltani, M., Zaregashti, G.H. and Khodabandeh, F. 2013. Study on effect of *Rosmarinus officinalis* and *Zataria multiflora* extracts on the stability of fatty acids in frozen silver carp minced. *Iranian Journal of Fisheries*. 22(2): 87-98. (In Persian).
- [12] Amin, G., Salehi, M.H., Zahedi, M., Khanavi, M. and Samadi, N. 2005. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Oliveria decumbens*. *Fitoterapia*. 76:704-707.
- [13] Long, J., Fu, Y., Zu, Y., Li, J., Wang, W., Gu, C. and Luo, M. 2011. Ultrasound-assisted extraction of flaxseed oil using immobilized enzymes. *Bioresource Technology*. 102: 9991–9996.
- [14] Huang, B., Jingsheng, H., Xiaoquan, B., Hong, Z., Xincheng, Y. and Youwei, W. 2011. Antioxidant activity of bovine and porcine meat treated with extracts from edible lotus (*Nelumbo nucifera*) rhizome knot and leaf. *Meat science*. 87: 46- 53.
- [15] Naveena, B., Muthukumar, M., Sen, A.R., Babji, Y. and Murthy, T.R.K. 2006.



## Scientific Research

## Effect of *Stachys schtschegleevii* essential oil and storage time on chemical and microbial properties of minced calf meat by response surface method

Hasanpour, M.<sup>1</sup>, Gharekhani, A.<sup>2\*</sup>, Tukmechi, A.<sup>3</sup>

1. MSc in Food Science, Department of Food science and technology, Maku Branch, Islamic Azad University, Maku, Iran
2. PhD in Aquatic Health and Disease, Assistant Professor, Department of Veterinary Medicine, Maku Branch, Islamic Azad University, Maku, Iran
3. DVSc in Microbiology, Associated Professor, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

## ARTICLE INFO

## ABSTRACT

**Article History:**

Received 13 November 2020  
Accepted 05 January 2021

**Keywords:**

*Stachys schtschegleevii* essence,  
Minced calf meat,  
Fats oxidation,  
Microbial load.

**DOI: 10.52547/fsct.18.03.23**

\*Corresponding Author E-Mail:  
[a.gharekhani@yahoo.com](mailto:a.gharekhani@yahoo.com)

To avoid or postpone the spoilage of meat goods and their products, various chemical, physical and microbial methods such as the incorporation of antioxidants, using suitable antibacterial substances have been suggested. In this analysis, three ranges of essential oil concentrations (0.25, 1.125, and 2 percent) and three storage courses (1, 6, and 11 days) were used to analyze the impact of applying essence *Stachys schtschegleevii* to ground Minced calf meat at refrigerated temperature. The capacity to inhibit DPPH free radicals, regenerative power, meat myoglobin amount, peroxide number, pH, and microbial load of the samples were examined by gas chromatography fitted with mass spectrometers after recognizing chemical compounds. Additionally, Statistical analysis plus process optimization were also carried out by response surface method. The findings of this analysis revealed that sesquiterpene (24.35 percent) was the highest composition of the essence. Based on the acquired results from the optimization Process it seems that the samples containing 1.24 percent of *Stachys schtschegleevii* essence with 2 days of storage were the most suitable manner (0.824). With having an insightful view of the obtained results of the experiment, it could be indicated that the nature of this plant can greatly minimize the spoilage of minced calf meat.