

اثر افزودن اسانس مرزه خوزستانی (*Satureja khusestanica*) بر خصوصیات باکتریایی، شیمیایی و حسی سوسیس فرانکفورتر

یحیی مقصدلو^۱، اظهر اصغرپور^{۲*}، پیمان آریایی^۳

- ۱- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات آیت الله آملی
 - ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
- * نویسنده مسئول (atharasgharpoor@yahoo.com)
- ۳- مربی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات آیت الله آملی

چکیده

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۵/۰۳
تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۸/۲۹

واژه‌های کلیدی

اسانس مرزه
اکسیداسیون لیپید
سوسیس فرانکفورتر
فعالیت ضد میکروبی
ماندگاری

هدف از این پژوهش دستیابی به غلظت بهینه‌ای از نیتريت سدیم و اسانس مرزه خوزستانی است که با حفظ خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، رنگی و ضد میکروبی سوسیس فرانکفورتر (۶۰ درصد گوشت) سهم نیتريت سدیم کاهش یابد. در این پژوهش اثر افزودن نیتريت سدیم در غلظت‌های (۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام) و اسانس مرزه در غلظت‌های (۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ پی‌پی‌ام) و نیز نیتريت سدیم و اسانس مرزه به صورت توأم (هم‌افزایی) در غلظت‌های (۲۵۰:۲۰۰ و ۲۵۰:۳۰۰) روی ویژگی‌های شیمیایی، باکتریایی و حسی سوسیس فرانکفورتر در یک دوره نگهداری ۲۰ روزه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام مرزه به تنهایی از نظر قدرت جلوگیری از اکسیداسیون لیپید تاثیر مطلوبی مشابه با غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام نیتريت سدیم داشت، از نظر رنگ و روشنائی غلظت‌های مختلف مرزه در زمانی که به تنهایی استفاده شدند موفق نشدند به اندازه نیتريت در غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام بر فاکتورهای روشنائی و قرمزی تاثیر چشمگیری داشته باشند ($p < 0/05$). استفاده از تیمار توأم نیتريت و مرزه (۲۵۰:۳۰۰ پی‌پی‌ام) موجب افزایش فاکتور روشنائی و قرمزی در سوسیس گردید و نیز توانست قدرت بازدارندگی در برابر اکسیداسیون لیپید را افزایش دهد ($p < 0/05$). اندازه‌گیری شمارش میکروبی نمونه‌ها نشان داد اسانس مرزه در غلظت ۶۰۰ پی‌پی‌ام قدرت ضد میکروبی قوی‌تری در برابر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به نیتريت ۵۰۰ پی‌پی‌ام دارد.

مقدمه

اغلب فرمولاسیون فرآورده‌های گوشتی حاوی نیتريت هستند، نیتريت به عنوان یک جزء کلیدی در این محصولات شناخته می‌شود. اولین کاربرد نیتريت، ایجاد و توسعه طعم و بوی مخصوص فرآورده‌های پرورده می‌باشد و با جلوگیری از اکسیداسیون لیپید طعم و بوی مربوط به فساد چربی را به تاخیر می‌اندازد، همچنین نیتريت قادر است که از رشد

تولیدات گوشتی امروزه به دلیل داشتن ویژگی‌های حسی مطلوب و قیمت مناسب در مقایسه با گوشت تازه به صورت گسترده‌ای مورد توجه هستند و مصرف می‌شوند، سوسیس فرانکفورتر هم از جمله این فرآورده‌هاست که می‌تواند به عنوان یک منبع پروتئینی حیوانی در نظر گرفته شود (Feiner, 2006).

غذا جهت جلوگیری از اکسیداسیون لیپید استفاده می‌شوند، اما کاربردشان در صنعت غذا به خاطر احتمال به خطر افتادن سلامتی و سمیت‌شان محدود شده است. تقاضای روز افزون مصرف‌کنندگان جهت استفاده از افزودنی‌های طبیعی به عنوان یک جایگزین و نگهدارنده در غذاها به دلیل ایمنی آن‌ها نسبت افزودنی‌های سنتزی در سال‌های اخیر ایجاد شده است.

از جمله این ترکیبات اسانس‌های روغنی (EO^۴) و عصاره گیاهان هستند، به ویژه اسانس‌های روغنی که به عنوان ترکیبات ایمن (GRAS^۵) شناخته می‌شوند. به دلیل قابلیت بالای آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی این ترکیبات طبیعی کاربرد گسترده‌ای در صنایع داروسازی، پزشکی و به ویژه صنعت غذا پیدا کرده‌اند. اسانس‌ها، ترکیبات فرار طبیعی و پیچیده‌ای هستند که توسط گیاهان معطر به صورت متابولیت ثانویه تولید می‌شوند. (Burt, 2004; Gutierrez et al, 2009).

اسانس مرزه خوزستانی (*khuzistanica*) (*Satureja*)، از گیاهان بومی مناطق جنوبی ایران است که به طور وسیعی در این نواحی پراکنش دارد. آنالیز ترکیبات سازنده اسانس و مقایسه کمی و کیفی گیاه مرزه خوزستانی نشان داده است که کارواکرول به عنوان جزء اصلی اسانس محسوب می‌شود که ۹۲/۸ درصد کل ترکیبات فنولی اسانس مرزه را تشکیل می‌دهد. شواهد زیادی مبنی بر خواص ضدویروسی، ضدباکتریایی و ضدقارچی از اجزای سازنده اسانس مرزه گزارش شده و تحقیقات زیادی انجام شده است تا مشخص گردد که کدام یک از گروه‌های عاملی یا ساختارهای فضایی ترکیبات سازنده اسانس مسئول خاصیت ضد میکروبی آن‌ها هستند (مجد و همکاران، ۱۳۸۷).

هدف از این پژوهش ارزیابی تاثیر افزودن اسانس مرزه خوزستانی در غلظت‌های (۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ پی‌پی‌ام)، نیتريت در غلظت‌های (۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام) و نیز نیتريت سدیم و اسانس مرزه به صورت توأم (هم‌افزایی) در غلظت‌های (۲۰۰:۲۵۰ و

باکتری‌های پاتوژن به خصوص گونه‌های کلستری‌دیوم ممانعت به عمل آورد (Cammack 1999; Marco et al. 2006). به تاخیر انداختن اکسیداسیون لیپید و جلوگیری از رشد یافتن عوامل باکتریایی فاکتورهای هستند که به صورت قابل ملاحظه‌ای می‌توانند طولانی‌تر شدن دوره ماندگاری فرآورده‌های گوشتی را تضمین کنند (Brynstad & Granum, 2002; Cammack et al., 1999).

اما با وجود مزایای ذکر شده، مقدار بالای نیتريت در محصولات گوشتی از جنبه سلامتی مضر و زیان بخش است. در نتیجه هیدراسیون اکسید نیترو توسط احیا شدن نیتريت سدیم ممکن است اسید نیترو تولید شود و در واکنش با آمین‌های نوع دوم و اسیدهای آمینه موجود در ماهیچه‌های گوشتی به فرم ترکیبات N-نیتروز و به ویژه به شکل نیتروز آمین‌ها در آیند؛ این ترکیبات به دلیل ویژگی‌های سرطانزایی و موتانزایی قابل توجه هستند (Rywotycki, 2002; Karl-Otto, 2008). تاثیرات منفی یاد شده تمایل به جایگزینی و کاهش سهم نیتريت را در فرآورده‌های گوشتی بالا می‌برد. براساس حد مجاز استاندارد افزودنی‌های فرآورده‌های گوشتی ایران حد مجاز نیتريت برای فرآورده‌های گوشتی ۶۰ درصد نباید از ۵۰۰ پی‌پی‌ام تجاوز کند (استاندارد ملی ایران، ۱۳۸۹).

کاهش دادن نیتريت در امولسیون‌های گوشتی با وجود اینکه از بابت اثرات منفی یاد شده مطلوب است ولی سبب پیشرفت واکنش اکسیداسیون لیپید می‌شود، این واکنش یکی از مخرب‌ترین واکنش‌هایی است که عامل به وجود آمدن بو و طعم نامطبوع و در ادامه از بین رفتن رنگ پیگمان‌های مطلوب (هموگلوبین و میوگلوبین) فرآورده‌های گوشتی می‌شود. ترکیبات حاصل از واکنش اکسیداسیون به خودی خود قادر هستند با سرعت بالا با اکسیژن وارد واکنش شوند، سرعت واکنش را می‌توان با اضافه کردن آنتی‌اکسیدان‌ها به تاخیر انداخت (Hernandez- hernandez et al, 2009). انواع آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی از قبیل ^۱BHA, ^۲BHT, ^۳TBHQ در صنعت

3- Tertiary Butyl Hydroquinone

4- Essential Oil

5- Generally Recommended As Safe

1- Butylated Hydroxy Anisole

2- Butylated Hydroxy Toluene

رقت سازی متوالی در میکروپلیت ۹۶ خانه انجام شد، سوسپانسیون میکروبی به نحوی رقیق شد، که غلظت باکتریایی به 10^6 cfu/ml برسد. برای رقیق کردن اسانس از حلال دی‌متیل سولفوکساید استفاده شد که فاقد فعالیت ضد میکروبی است. پلیت‌ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد در گرمخانه قرار داده شدند و پس از ۲۴ ساعت اولین خانه‌ای که در آن رشدی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت مهار کننده (MIC^1) و اولین خانه‌ای که در آن رشدی بر محیط جامد ایجاد نکرد به عنوان حداقل غلظت کشنده (MBC^2) گزارش شد (NCCLS³, 2000).

فعالیت ضد میکروبی اسانس مرزه در نمونه‌های سوسیس

یک نمونه ۵ گرمی از هر تیمار با ۵ سی‌سی آب پپتونه استریل سرد به مدت ۵ دقیقه همگن می‌کنیم. رقت سازی متوالی در ۹ میلی‌لیتر آب پپتونه انجام می‌شود و تهیه رقت تا 10^{-5} ادامه می‌یابد، اندازه‌گیری میزان/سید لاکتیک باکتری با استفاده از محیط کشت MRS^4 آگار انجام می‌شود، مدت زمان گرمخانه‌گذاری در ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز صورت می‌گیرد، تعداد میکروارگانیسم‌های خانواده انتروباکتریاسه با روش مشابه در محیط کشت ویولت رد بایل گلوکز آگار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت مشخص می‌شود (ISO⁵, 1979). برای اندازه‌گیری شمار کپک و مخمرها از محیط پپتونه دکستروز آگار که در دمای ۲۵ درجه به مدت ۵ روز گرم‌خانه‌گذاری شده استفاده می‌شود، برای شمارش کلی از ۱ میلی‌لیتر از محیط پلیت کانت آگار که در ۳۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳ روز گرمخانه‌گذاری شده استفاده می‌شود، تمام نتایج مشاهده شده به صورت واحد لگاریتمی تعداد باکتری ($\log cfu/g$) گزارش می‌شوند (Georgantelis *et al*, 2007).

۲۵۰:۳۰۰) بر جلوگیری از اکسیداسیون لیپید، قدرت ضد میکروبی در سوسیس فرانکفورتر در طی یک دوره نگهداری ۲۰ روزه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و بررسی قابلیت کاهش مقدار نیتريت در فرمولاسیون فرآورده‌های گوشتی بود. برای تمام پارامترهای مورد آزمون، نمونه‌گیری بر روی سوسیس‌ها در روزهای ۱، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ انجام شد.

مواد و روش‌ها

اسانس روغنی مرزه خوزستانی

اسانس روغنی مرزه خوزستانی ساخت شرکت داروسازی دانش بنیان خرمان مورد استفاده قرار گرفت که توسط همین شرکت تامین گردید.

تهیه سوسیس فرانکفورتر

سوسیس فرانکفورتر جزء فرآورده‌های گوشتی ۶۰ درصد طبقه‌بندی می‌شود و فرمولاسیون این فرآورده طبق استاندارد ملی مربوط به فرآورده‌های گوشتی (۲۳۰۳) تهیه گردید.

گوشت بدون چربی (۶۰ درصد)، ایزوله سویا (۲ درصد)، یخ (۲۲ درصد)، ادویه (۰/۹۵ درصد)، روغن مایع (۵ درصد)، پیاز (۳ درصد)، نشاسته (۵ درصد)، نیتريت سدیم (۰/۰۵ درصد)، اسید اسکوربیک (۰/۰۴ درصد)، پلی‌فسفات (۰/۰۳ درصد)، نمک (۱/۷ درصد) پودر BHT، اسیدکلریدریک، اتانول، معرف اسید تیوباریتوریک و سایر مواد شیمیایی هم با همکاری شرکت فرآورده‌های گوشتی کاله و از شرکت سیگما آلدريج تهیه شدند.

آنالیزهای میکروبیولوژیکی

فعالیت ضد میکروبی اسانس مرزه

فعالیت ضد میکروبی اسانس مرزه بر باکتری گرم منفی اشريشيا کلی (ATTC1330) و باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس (ATTC1112) با روش

- 1- Minimal Inhibition Concentration
- 2- Minimal Bactericidal Concentration
- 3- National Committee For Clinical Laboratory Standards
- 4- de Man, Rogosa, Sharp
- 5- International Organization for Standardization

آزمون‌های شیمیایی

آزمون اندازه‌گیری pH

برای اندازه‌گیری pH، مقدار ۱۰ گرم نمونه در ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر توسط دستگاه هموژنیزاتور با دور ۱۰۰۰ در دقیقه هموژنیزه شد و با وارد کردن الکتروود pH متر در مخلوط، pH اندازه‌گیری شد.

ارزیابی حسی

برای ارزیابی خصوصیات حسی از پانل هشت نفری که نمونه‌ها را بر اساس بو، ظاهر و رنگ و پذیرش کلی مورد بررسی قرار دادند، استفاده گردید و جهت ارزیابی، سیستم نمره‌دهی هدونیک (نمره ۱ بسیار بد و نمره ۹ بسیار خوب) مورد استفاده قرار گرفت.

آزمون اکسیداسیون لیپید

میزان اکسیداسیون چربی در نمونه‌های سوسیس بوسیله اندازه‌گیری مقادیر تیوباربتوریک اسید انجام گرفت. مقدار ۱۰ گرم از نمونه در داخل لوله سانتریفوژ ۵۰ میلی‌لیتری وزن شد و با اضافه کردن ۳۵ میلی‌لیتر اسیدپرکلریک ۴ درصد و ۱ میلی‌لیتر محلول BHT ۰/۵ درصد در اتانول هموژن گردید. مخلوط توسط فیلتر کاغذی واتمن شماره ۴ صاف شد. ۵ میلی‌لیتر از محلول صاف شده با ۵ میلی‌لیتر از محلول ۰/۰۲ مولار تیوباربتوریک اسید در داخل لوله آزمایش دربار مخلوط گردید و به مدت ۶۰ دقیقه در بن ماری آب جوش قرار داده شد. پس از خنک شدن نمونه‌ها در مخزن آب میزان جذب نوری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر در برابر محلول شاهد (۵ میلی‌لیتر اسیدپرکلریک ۴ درصد و ۵ میلی‌لیتر از محلول ۰/۰۲ میلی‌مول تیوباربتوریک اسید) قرائت گردید و میزان تیوباربتوریک اسید نمونه بر اساس میلی‌گرم مالون دی‌آلدئید در کیلوگرم نمونه محاسبه گردید (Fasseas et al, 2007).

تحلیل آماری

آزمایشات در کلیه مراحل با ۳ تکرار انجام گرفت و آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار (SPSS 16) و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد و مقادیر ($p < 0.05$) به صورت معنی‌دار در نظر گرفته شد. ضمناً داده‌ها در جداول و اشکال به صورت میانگین \pm خطای استاندارد (SE) ارائه شده است.

نتایج و بحث

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس مرزه (تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی) در این پژوهش آزمایشگاهی، ما به بررسی اثر بازدارندگی اسانس مرزه خوزستانی بر باکتری اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس به روش رقت‌سازی متوالی پرداختیم. در اندازه‌گیری قدرت ضد میکروبی اسانس مرزه دیده شد که اولین غلظت بازدارنده از رشد میکروارگانیسم اشریشیاکلی در غلظت ۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی برابر با ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود، برای میکروارگانیسم استافیلوکوکوس اورئوس نیز به ترتیب حداقل غلظت بازدارندگی برابر با ۱/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی ۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. مقایسه نتایج گزارش شده از مطالعات مختلف تا حدی مشکل می‌باشد که احتمالاً به دلیل تفاوت در روش‌ها در خصوص بررسی خواص ضدباکتریایی اسانس‌ها، خصوصیات متفاوت سوبیه‌های مختلف باکتریایی و محیط کشت مورد استفاده می‌باشد. در مطالعه‌ی سفیدکن و همکاران (۱۳۸۶)

آزمون رنگ سنجی

شاخص‌های رنگ‌سنجی با دستگاه رنگ‌سنج (Meters CR-300, Konica Minolta Sensing Inc.) (Chroma) اندازه‌گیری شد. L^* شاخص شفافیت نمونه ($= 0$ سیاه و 100 سفید) a^* شاخص قرمزی ($60 = -$ سبز و $60 = +$ قرمز) و b^* شاخص زردی ($60 = -$ زردی و $60 = +$) می‌باشند.

ارزیابی رنگ با نمونه‌برداری از شش نقطه سوسیس انجام گردید (Oliveira et al, 2012).

مربوط به محیط کشت باکتری‌های گرم منفی بود و بیشترین تاثیر ضد میکروبی مرزه بر باکتری‌های گرم مثبت و کپک، مخمر مشاهده شد. بعد از شاهد بالاترین تعداد کلنی‌های جمعیت میکروبی مربوط به تیمار مرزه ۲۰۰ پی‌پی‌ام بود. در مقایسه بین پائین‌ترین غلظت به کار رفته از نیتريت ۲۵۰ پی‌پی‌ام و اسانس مرزه ۲۰۰ پی‌پی‌ام دیده شد قدرت ضد میکروبی نیتريت ۲۵۰ پی‌پی‌ام به صورت قابل ملاحظه‌ای از غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام اسانس مرزه بالاتر است ($p < 0.05$). در بین تیمارهای مرزه در سطوح مختلف در مورد محیط کشت توتال کانت بیشترین قدرت مهار کنندگی مربوط به بالاترین غلظت مرزه (۶۰۰ پی‌پی‌ام) در کل دوران نگهداری بود ($p < 0.05$). این نتایج با مشاهدات کار سفیدکن و همکاران هماهنگ نبود. او اثر ضد میکروبی اسانس دو گونه مرزه خوزستانی و بختیاری را بر روی پنج گونه باکتری گرم مثبت از جمله استافیلوکوکوس اورئوس و سه نوع باکتری گرم منفی از جمله سودوموناس به روش انتشار دیسک بررسی کرد، نتایج نشان دادند غلظت‌های به کار رفته از اسانس مرزه خوزستانی برای مهار باکتری‌های گرم مثبت برابر با ۰/۰۴ میکرولیتر بر میلی‌لیتر و برای باکتری‌های گرم منفی ۰/۰۲ میکرولیتر بر میلی‌لیتر بود (سفیدکن و همکاران، ۱۳۸۶). در حالی که نتایج کار مجد در مورد مرزه خوزستانی در دو مرحله رشد بر روی باکتری‌های گرم مثبت، منفی و کپک، مخمر نشان داد که کمترین غلظت بازدارندگی مربوط به باکتری‌های گرم مثبت است، ولی در هر دو پژوهش تاثیر قدرت ضد میکروبی اسانس مرزه را به دلیل وجود ترکیبات فنولی از جمله کارواکرول دانسته‌اند، کارواکرول (۹۲/۸۷ درصد) به عنوان ترکیب اصلی سازنده اسانس شناسایی شده است گاما ترپینن (۲/۶۱ درصد) و پارا سیمین (۱/۷۴ درصد) هم از دیگر ترکیبات فنولی غالب هستند. تفاوت در اثر اسانس مرزه خوزستانی روی رشد باکتری‌های گرم مثبت و منفی می‌تواند بازتابی از تفاوت در ساختار دیواره سلولی آن‌ها باشد، به طوری که تمام باکتری‌های گرم منفی دارای دیواره خارجی لیپو پلی‌ساکارییدی با ساختار آبدوستی هستند که به دلیل حضور پروتئین‌های پورین فراوان، مواد محلول

بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس دو گونه مرزه خوزستانی و بختیاری در دو مرحله برداشت بر ۵ نوع باکتری گرم مثبت و ۳ نوع باکتری گرم منفی نشان داد که اسانس مرزه خوزستانی در هر دو مرحله برداشت و اسانس مرزه بختیاری در مرحله قبل از گلدهی دارای اثرات ضد میکروبی قابل ملاحظه‌ای هستند که می‌توانند به عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی بیوتیک‌های سنتزی که مقاومت باکتری‌ها به آن‌ها روز به روز در حال افزایش است به کار روند.

بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس مرزه در نمونه‌های سوسیس

نتایج آنالیزهای میکروبی نمونه‌های سوسیس در تیمارهای مختلف طی دوره نگهداری ۲۰ روزه، در جداول ۱ تا ۴ نشان داده شده است. تمام گروه‌های میکروبی در تیمارهای شاهد سوسیس در طی دوره نگهداری افزایش پیدا کرده بودند ($p < 0.05$) که نشان می‌دهد افزودنی‌های به کار رفته از جمله نیتريت سدیم و غلظت‌های مختلفی از اسانس مرزه خوزستانی بر روی رشد جمعیت میکروبی تاثیرگذار هستند، برای روز یک در محیط‌های کشت اسید لاکتیک باکتری‌ها و انتروباکتریاسه رشدی از باکتری‌ها دیده نشد، در پلیت‌های شمارش کلی و کپک مخمر به دلیل پائین بودن کلنی‌های مشاهده شده قابل اندازه‌گیری نبود به همین دلیل از گزارش جمعیت میکروبی در روز ۱ برای تمام محیط‌های کشت صرف نظر کردیم. روند افزایشی در نمونه‌های تمام محیط‌های کشت شمارش کلی، اسید لاکتیک باکتری‌ها، و انتروباکتریاسه دیده شد اما محیط کپک و مخمر نسبت به ۳ محیط قبلی روند افزایشی کندتری داشت. به ویژه در مورد تیمارهای مرزه ۶۰۰ و نیتريت که در طی دوره نگهداری به بیش از ۳/۷۱ و ۳/۵۶ لگاریتم تعداد باکتری‌ها در گرم ($\log \text{cfu/g}$) نرسیدند، تیمار مرزه ۶۰۰ برای محیط کشت اسید لاکتیک باکتری‌ها در روز ۲۰ به $\log \text{cfu/g}$ ۵/۵۲ و در محیط توتال کانت به $\log \text{cfu/g}$ ۸/۰۶ - رسید، برای محیط کشت انتروباکتریاسه برابر با $\log \text{cfu/g}$ ۶/۲۱ بود. که این تفاوت در مقادیر میانگین رشد باکتریایی نشان دهنده این است که در غلظت‌های برابر از اسانس مرزه، بیشترین جمعیت میکروبی

هستند بنابراین به راحتی قادر به عبور از دیوار مذکور نمی‌باشند، به همین دلیل مقاومت باکتری‌های گرم منفی بیش از باکتری‌های گرم مثبت است (مجد و همکاران، ۱۳۸۷).

آبدوست و کوچک به راحتی از آن عبور می‌کنند ولی این دیواره به عنوان سدی در مقابل ترکیبات آب‌گریز و درشت‌ملکول عمل می‌کند. و از آن جایی که اکثر ترکیبات موجود در اسانس جزو ترکیبات آب‌گریز

جدول ۱- میانگین* تعداد باکتری‌های کل در تیمارهای مختلف سوسیس در طی زمان نگهداری ۴ درجه سانتی‌گراد**

تیمار	روز ۱	روز ۵	روز ۱۰	روز ۱۵	روز ۲۰
شاهد	-	۶/۰۲±۰/۳ ^c	۷/۱۶±۰/۰۲ ^f	۸/۵۲±۰/۰۳ ^d	۹/۵۳±۰/۱۵ ^e
نیتريت ۵۰۰	-	۴/۴۰±۰/۵۳ ^a	۵/۶۰±۰/۰۲ ^a	۶/۶۶±۰/۰۶ ^a	۷/۶۱±۰/۲۶ ^b
نیتريت ۲۵۰	-	۵/۳۶±۰/۰۴ ^b	۶/۷۲±۰/۰۹ ^e	۷/۴۴±۰/۰۳ ^b	۷/۸۶±۰/۱۸ ^{bc}
مرزه ۶۰۰	-	۵/۴۶±۰/۰۶ ^{bc}	۶/۵۴±۰/۰۳ ^d	۷/۷۵±۰/۰۷ ^c	۸/۰۶±۰/۱۳ ^{cd}
مرزه ۴۰۰	-	۵/۵۴±۰/۰۶ ^{cd}	۶/۰۹±۰/۰۲ ^{bc}	۷/۲۵±۰/۱۱ ^b	۸/۳۳±۰/۱۳ ^d
مرزه ۲۰۰	-	۵/۶۳±۰/۰۳ ^d	۶/۲۰±۰/۰۲ ^c	۷/۳۲±۰/۰۳ ^b	۸/۴۹±۰/۲۵ ^d
نیتريت:مرزه ۳۰:۲۵۰	-	۵/۳۴±۰/۰۱ ^b	۶/۰۳±۰/۰۲ ^b	۶/۴۶±۰/۰۹ ^a	۷/۱۸±۰/۰۲ ^a
نیتريت:مرزه ۲۰:۲۵۰	-	۵/۳۳±۰/۰۲ ^b	۵/۹۸±۰/۰۸ ^b	۶/۷۳±۰/۱۷ ^a	۷/۱۱±۰/۰۴ ^a

* میانگین شمارش باکتریایی (log cfu/g)

**حروف غیر مشابه در یک ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) است.

جدول ۲- میانگین* تعداد کپک و مخمر در تیمارهای مختلف سوسیس در طی زمان نگهداری ۴ درجه سانتی‌گراد**

تیمار	روز ۱	روز ۵	روز ۱۰	روز ۱۵	روز ۲۰
شاهد	-	۲/۹۳±۰/۰۴ ^b	۳/۰۳±۰/۰۲ ^b	۳/۸۳±۰/۳۱ ^c	۵/۰۴±۰/۲۹ ^c
نیتريت ۵۰۰	-	۲/۳۴±۰/۰۶ ^a	۲/۵۵±۰/۱۶ ^a	۳/۱۰±۰/۳۳ ^a	۳/۷۱±۰/۱۲ ^{cd}
نیتريت ۲۵۰	-	۲/۴۴±۰/۰۶ ^a	۲/۹۴±۰/۳۱ ^a	۳/۴۰±۰/۳۴ ^{ab}	۴/۱۲±۰/۱۷ ^{cd}
مرزه ۶۰۰	-	۲/۲۰±۰/۱۰ ^{ab}	۲/۷۶±۰/۰۸ ^a	۳/۱۲±۰/۱۶ ^a	۳/۵۶±۰/۱۲ ^a
مرزه ۴۰۰	-	۲/۵۴±۰/۰۶ ^a	۲/۷۲±۰/۰۸ ^{ab}	۳/۳۴±۰/۲۸ ^{ab}	۳/۵۴±۰/۴۳ ^{ab}
مرزه ۲۰۰	-	۳/۱۲±۰/۲۷ ^b	۳/۵۰±۰/۳۳ ^b	۳/۹۴±۰/۱۰ ^c	۴/۲۴±۰/۰۴ ^d
نیتريت:مرزه ۳۰:۲۵۰	-	۲/۲۰±۰/۱ ^a	۲/۴۵±۰/۰۶ ^a	۳/۲۱±۰/۳۳ ^{abc}	۳/۷۱±۰/۰۲ ^{cd}
نیتريت:مرزه ۲۰:۲۵۰	-	۲/۴۲±۰/۰۴ ^{ab}	۲/۶۸±۰/۱۵ ^a	۳/۰۵±۰/۲۰ ^{ab}	۳/۵۵±۰/۲۹ ^{bc}

* میانگین شمارش باکتریایی (log cfu/g)

**حروف غیر مشابه در یک ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) است.

جدول ۳- میانگین* تعداد انتروباکتریاسه در طی زمان نگهداری ۴ درجه سانتی‌گراد**

تیمار	روز ۱	روز ۵	روز ۱۰	روز ۱۵	روز ۲۰
شاهد	-	۰۵/۰۶±۰/۰۳ ^d	۵/۴۴±۰/۱۶ ^d	۶/۵۶±۰/۱۸ ^{bc}	۷/۲۶±۰/۰۶
نیتريت ۵۰۰	-	۴/۳۷±۱۵ ^{ab}	۵/۶۴±۰/۰۸ ^{ab}	۵/۳۵±۰/۰۸ ^a	۶/۱۵±۰/۳۵
نیتريت ۲۵۰	-	۴/۵۳±۰/۲۳ ^{bc}	۴/۸۷±۰/۱۷ ^{bc}	۵/۷۶±۰/۰۴ ^{ab}	۶/۲۲±۰/۱۶
مرزه ۶۰۰	-	۴/۲۶±۰/۱۳ ^a	۴/۴۵/۴۵±۰/۶۶ ^a	۵/۵۷±۰/۱۲ ^a	۶/۲۱±۰/۳۱
مرزه ۴۰۰	-	۴/۴۴±۰/۶ ^{abc}	۵/۴۳±۰/۱۷ ^{abc}	۵/۷۲±۰/۲۲ ^{bc}	۶/۰۸±۰/۴۰
مرزه ۲۰۰	-	۴/۶۲±۰/۳۱ ^c	۵/۴۵±۰/۲۷ ^c	۵/۳۱±۰/۱۷ ^{bc}	۶/۵۰±۰/۱۴
نیتريت:مرزه ۳۰:۲۵۰	-	۴/۲۲±۰/۱۱ ^a	۴/۷۷±۰/۲۸ ^a	۵/۶۰±۰/۰۲ ^a	۶/۲۷±۰/۰۶
نیتريت:مرزه ۲۰:۲۵۰	-	۴/۵۴±۰/۰۳ ^{bc}	۵/۴۷±۰/۱۰ ^{bc}	۵/۸۶±۰/۱۴ ^c	۶/۴۵±۰/۱۲

* میانگین شمارش باکتریایی (log cfu/g)

**حروف غیر مشابه در یک ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) است.

جدول ۴- میانگین* تعداد اسید لاکتیک باکتری در طی زمان نگهداری ۴ درجه سانتی‌گراد**

تیمار	روز ۱	روز ۵	روز ۱۰	روز ۱۵	روز ۲۰
شاهد	-	۳/۶۷±۰/۴۹ ^c	۴/۲۸±۰/۵۸ ^c	۵/۰۷±۰/۰۲ ^d	۵/۸۴±۰/۵۱ ^c
نیتريت ۵۰۰	-	۲/۲۴±۰/۱۲ ^a	۳/۳۶±۰/۰۳ ^a	۴/۸۳±۰/۰۸ ^{bc}	۵/۳۰±۰/۳۷ ^{ab}
نیتريت ۲۵۰	-	۲/۳۶±۰/۰۳ ^a	۳/۵۴±۰/۳۸ ^{bc}	۴/۸۳±۰/۰۳ ^a	۵/۳۰±۰/۰۶ ^c
مرزه ۶۰۰	-	۲/۲۱±۰/۱۰ ^a	۳/۴۰±۰/۰۴ ^{ac}	۴/۸۲±۰/۰۸ ^{bc}	۵/۵۲±۰/۱۳ ^b
مرزه ۴۰۰	-	۳/۴۵±۰/۲۱ ^{bc}	۴/۴۶±۰/۴۳ ^f	۴/۸۸±۰/۰۴ ^{cd}	۵/۳۲±۰/۱۰ ^{ab}
مرزه ۲۰۰	-	۴/۲۵±۰/۰۴ ^d	۵/۲۳±۰/۲۳ ^e	۵/۸۴±۰/۰۵ ^{bc}	۶/۰۷±۰/۰۴ ^d
نیتريت:مرزه ۳۰۰:۲۵۰	-	۲/۹۸±۰/۳۲ ^b	۳/۸۵±۰/۰۷ ^d	۴/۶۷±۰/۰۶ ^{ab}	۵/۴۰±۰/۲۷ ^{ab}
نیتريت:مرزه ۲۵۰:۲۰۰	-	۳/۲۹±۰/۴۳ ^{bc}	۳/۶۶±۰/۰۲ ^c	۴/۹۰±۰/۰۶ ^{cd}	۵/۱۹±۰/۲۱ ^a

*میانگین شمارش باکتریایی (log cfu/g)

**حروف غیر مشابه در یک ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) است.

مقادیر pH برای تمام تیمارها به طور معنی‌داری از روز ۱ تا روز ۵ کاهش پیدا کرد، اما با گذشت زمان pH به آهستگی افزایش یافت، شدت این افزایش برای نمونه‌های با اسانس مرزه و در حالت هم‌افزایی نیتريت و مرزه با شیب ملایم‌تری نسبت به تیمارهای نیتريت به تنهایی بود که حاکی از بالاتر بودن قدرت ضد میکروبی این تیمارها به خصوص تیمار ۶۰۰ پی‌پی‌ام اسانس مرزه و تیمارهای هم‌افزایی نیتريت و مرزه نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارها است، در پژوهشی مشابه در مورد سوسیس تهیه شده با اسانس رزماری و کیتوزان مشاهده شد که افزایش مقدار pH در نمونه‌های حاوی کیتوزان و رزماری به طور قابل ملاحظه‌ای پائین‌تر از نمونه‌های کنترل بود (Georgantelis et al, 2007).

نتایج ارزیابی pH تیمارهای مختلف در طی دوره نگهداری

مقادیر pH تیمارهای مختلف در طی دوره ۲۰ روزه نگهداری در جدول ۵ نمایش داده شده است، مقادیر pH در تیمارهای مختلف از حداقل ۶/۱۰ تا ۶/۶۰ متغیر بود، مقادیر pH برای سطوح مختلف اسانس مرزه تقریباً شبیه به هم بودند و به طور مشخصی از نمونه‌ی شاهد پائین‌تر بودند که این به خاطر قدرت ضد میکروبی اسانس مرزه نسبت به تیمار بدون نگهدارنده است ($p < 0.05$). میزان pH در اکثر نمونه‌ها در طول مدت نگهداری افزایش ملایمی داشت. براساس نتایج آنالیز آمار، pH نمونه‌ی شاهد علاوه بر متفاوت بودن با تیمارهای اسانس مرزه با نمونه‌های حاوی نیتريت هم تفاوت داشتند ($p < 0.05$).

جدول ۵- مقادیر pH در طی دوره نگهداری*

تیمار	روز ۱	روز ۵	روز ۱۰	روز ۱۵	روز ۲۰
شاهد	۶/۴۵±۰/۱۲ ^b	۶/۱۱±۰/۰۸ ^a	۶/۱۱±۰/۰۲ ^a	۶/۳۸±۰/۲۷ ^a	۶/۶۲±۰/۱۰ ^a
نیتريت ۵۰۰	۶/۴۸±۰/۱۰ ^{bc}	۶/۲۲±۰/۰ ^d	۶/۲۵±۰/۰۷ ^{cd}	۶/۲۸±۰/۰۸ ^{bc}	۶/۳۶±۰/۱۴ ^{de}
نیتريت ۲۵۰	۶/۴۲±۰/۰۱ ^a	۶/۲۵±۰/۰۸ ^d	۶/۲۶±۰/۱۴ ^{cd}	۶/۲۹±۰/۱۱ ^c	۶/۴۲±۰/۰۸ ^{cd}
مرزه ۶۰۰	۶/۴۹±۰/۰۹ ^c	۶/۲۰±۰/۰۶ ^{bc}	۶/۲۴±۰/۰۱ ^{bc}	۶/۲۶±۰/۱۳ ^{bc}	۶/۳۰±۰/۱۱ ^{bc}
مرزه ۴۰۰	۶/۵۰±۰/۰۵ ^c	۶/۱۹±۰/۰۵ ^b	۶/۲۱±۰/۰۱ ^b	۶/۲۴±۰/۱۰ ^b	۶/۲۶±۰/۰۵ ^b
مرزه ۲۰۰	۶/۴۹±۰/۰۶ ^c	۶/۲۳±۰/۰۴ ^{bc}	۶/۲۵±۰/۰۵ ^{cd}	۶/۲۸±۰/۰۷ ^{bc}	۶/۳۳±۰/۰۳ ^{bc}
نیتريت:مرزه ۳۰۰:۲۵۰	۶/۴۸±۰/۱۰ ^{bc}	۶/۲۴±۰/۱۲ ^f	۶/۲۶±۰/۱۱ ^d	۶/۳۱±۰/۱۰ ^d	۶/۳۹±۰/۱۶ ^f
نیتريت:مرزه ۲۵۰:۲۰۰	۶/۴۸±۰/۱۰ ^{bc}	۶/۲۴±۰/۱۰ ^{de}	۶/۲۷±۰/۱۱ ^d	۶/۳۱±۰/۱۲ ^c	۶/۴۲±۰/۱۳ ^f

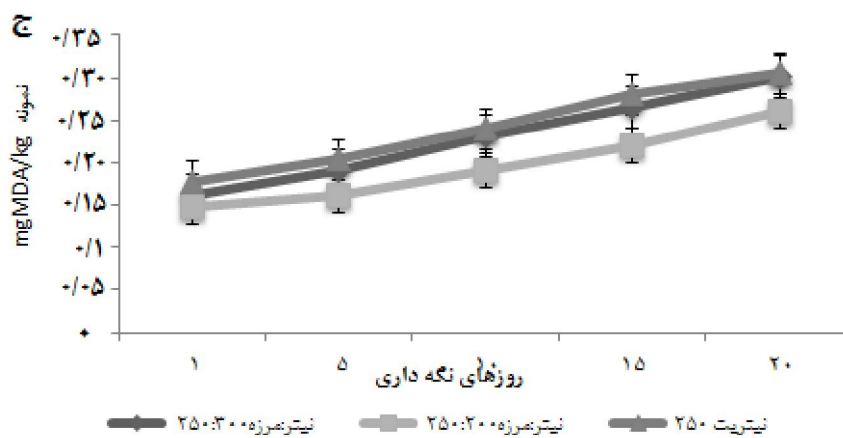
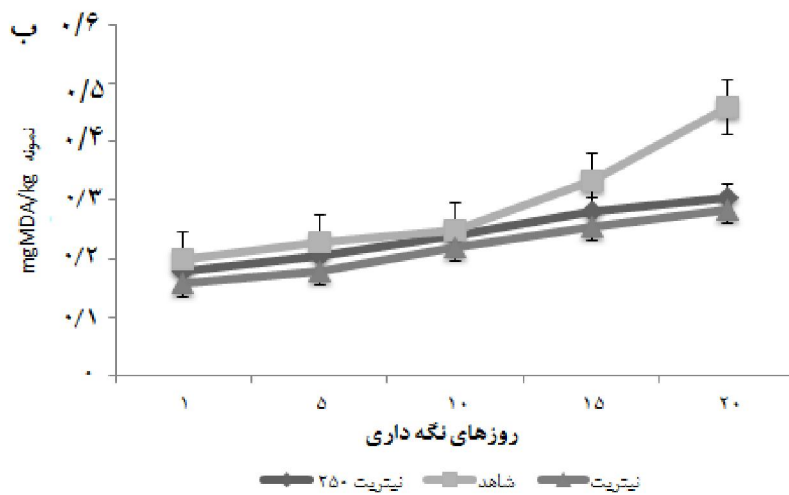
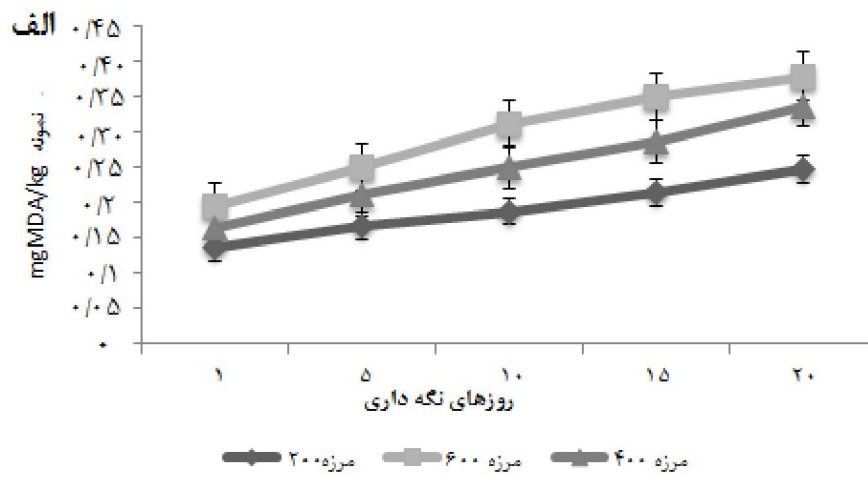
*حروف غیر مشابه در یک ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) است.

الکترون‌ها به رادیکال‌های آزاد هستند سبب پایدار شدن ترکیبات می‌شود. نتایج اندازه‌گیری اسید تیوباربیتوریک در نمونه‌های نیتريت به تنهایی به طور مشخصی در تمام دوره نگهداری پائین‌تر از نمونه‌های شاهد بود (شکل ۱). اثر آنتی‌اکسیدانی نیتريت در گوشت خالص مربوط به تشکیل شدن ترکیبات پایدار با میوگلوبین می‌باشد که در نتیجه این پیوند آهن را غیر فعال می‌سازند تا نتواند به صورت یک کاتالیزت فعال برای واکنش‌های اکسیداسیون عمل کند. Viuda-Martos و همکاران (۲۰۰۹) با افزودن مقادیر متفاوتی از عصاره پوست پرتقال به همراه دو اسانس آویشن و پونه کوهی در سوسیس بولگونا نتیجه گرفت، که این ترکیبات قادر هستند با کنترل واکنش اکسیداسیون لیپید سهم نیتريت را در فرمولاسیون اولیه سوسیس کاهش دهند (Viuda-Martos et al., 2009). در پژوهشی در زمینه بررسی تاثیر مقادیر مختلفی از نیتريت بر جلوگیری از اکسیداسیون لیپید بر سوسیس‌های گوشت خوک در طی دوره نگهداری ۱۴ هفته‌ای در دمای ۴۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد غلظت‌های ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیتريت فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری از غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم داشتند (Al-Shuibi & Al-Abdullah, 2002).

سوسیس‌های با ۵۰۰ پی‌پی‌ام نیتريت سدیم قدرت بازدارندگی بالاتری از غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام داشتند. اگر چه، تیمارهای نیتريت سدیم و اسانس همگی به طور چشمگیری ($p \leq 0.05$) از اکسیداسیون لیپید جلوگیری کرده‌اند. اما بیشترین میزان بازدارندگی در حالت هم‌افزایی (نیتريت: مرزه ۲۵۰:۲۰۰ پی‌پی‌ام) دیده شد. استفاده از غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام نیتريت و غلظت‌های ۴۰۰ و ۶۰۰ پی‌پی‌ام به صورت مجزا اثر بازدارندگی قابل ملاحظه‌ای بر کنترل اکسیداسیون لیپید نداشتند. همچنین اثر بازدارندگی تیمار مخلوط نیتريت: مرزه ۲۵۰:۳۰۰ پی‌پی‌ام کمتر از حالت مخلوط ۲۵۰:۲۰۰ پی‌پی‌ام بود. ترکیبات فنولیک ممکن است با نیتريت از طریق متصل شدن بخش‌های آروماتیک واکنش دهند و اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس مرزه را تضعیف کنند (Karl-Otto, 2008).

نتایج عدد تیوباربیتوریک اسید نمونه‌ها (TBARS)

اکسیداسیون لیپید در گوشت یکی از دلایل تخریب کیفیت گوشت در طی دوره نگهداری است. حضور رادیکال‌های آزاد در گوشت منجر به بوجود آمدن آلدئیدها می‌شود که این ترکیبات مسئول گسترش و توسعه طعم فساد چربی و تغییر در رنگ گوشت هستند (Al-Shuibi et al., 2002). اکسیداسیون لیپید در گوشت مکانیسم پیچیده‌ای دارد. در طی این فرایند علاوه بر تاثیرات نامطلوب بر طعم و رنگ، حلالیت پروتئین نیز کاهش یافته و در نهایت محصول از نظر ارزش تغذیه‌ای افت پیدا می‌کند. به این منظور ترکیباتی مانند ویتامین‌ها (آلفا-توکوفرول) اغلب به عنوان آنتی‌اکسیدانت به فرمولاسیون فرآورده‌های گوشتی اضافه می‌شوند. اکسیداسیون ویتامین‌ها اسیدهای چرب را از اکسید شدن محافظت می‌کند. همچنین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مختلفی از جمله BHT، TBHQ، BHA برای محافظت به گوشت اضافه می‌شوند اما به دلیل تمایل روز افزون صنایع غذایی و مصرف‌کنندگان به جایگزینی نگهدارنده‌های مصنوعی با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، اسانس‌های گیاهی به عنوان گزینه‌های جدید مطرح شده‌اند (Amarowicz et al., 2004). در این پژوهش واکنش بین غلظت‌های مختلف اسانس مرزه خوزستانی، نیتريت سدیم، زمان انبارمانی، بر اندازه‌گیری مقادیر اسید تیوباربیتوریک به طور مشخص در شکل ۱ نشان داده شده است. مقدار اکسیداسیون لیپید در نمونه‌های شاهد بیشتر از سایر تیمارها بودند ($p \leq 0.05$) و سرعت و مقدار اکسیداسیون در آن‌ها بیشتر از نمونه‌های حاوی مرزه خوزستانی و نیتريت سدیم بود. بعد از ۲۰ روز دوره نگهداری، سوسیس‌های تهیه شده با ۲۰۰ پی‌پی‌ام کمترین مقدار اسید تیوباربیتوریک ($p \leq 0.05$) را در میان تیمارهای اسانس مرزه به تنهایی نشان داد. این نتایج خاصیت بالقوه آنتی‌اکسیدانی اسانس مرزه را نشان می‌دهد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی مرزه به دلیل حضور ترکیبات فنولی غالب در آن به خصوص کارواکرول است (Baydar et al., 2004; Yanishlieva et al., 2006) وجود گروه‌های هیدروکسیل متصل به حلقه آروماتیک که قادر به دادن اتم‌های هیدروژن و

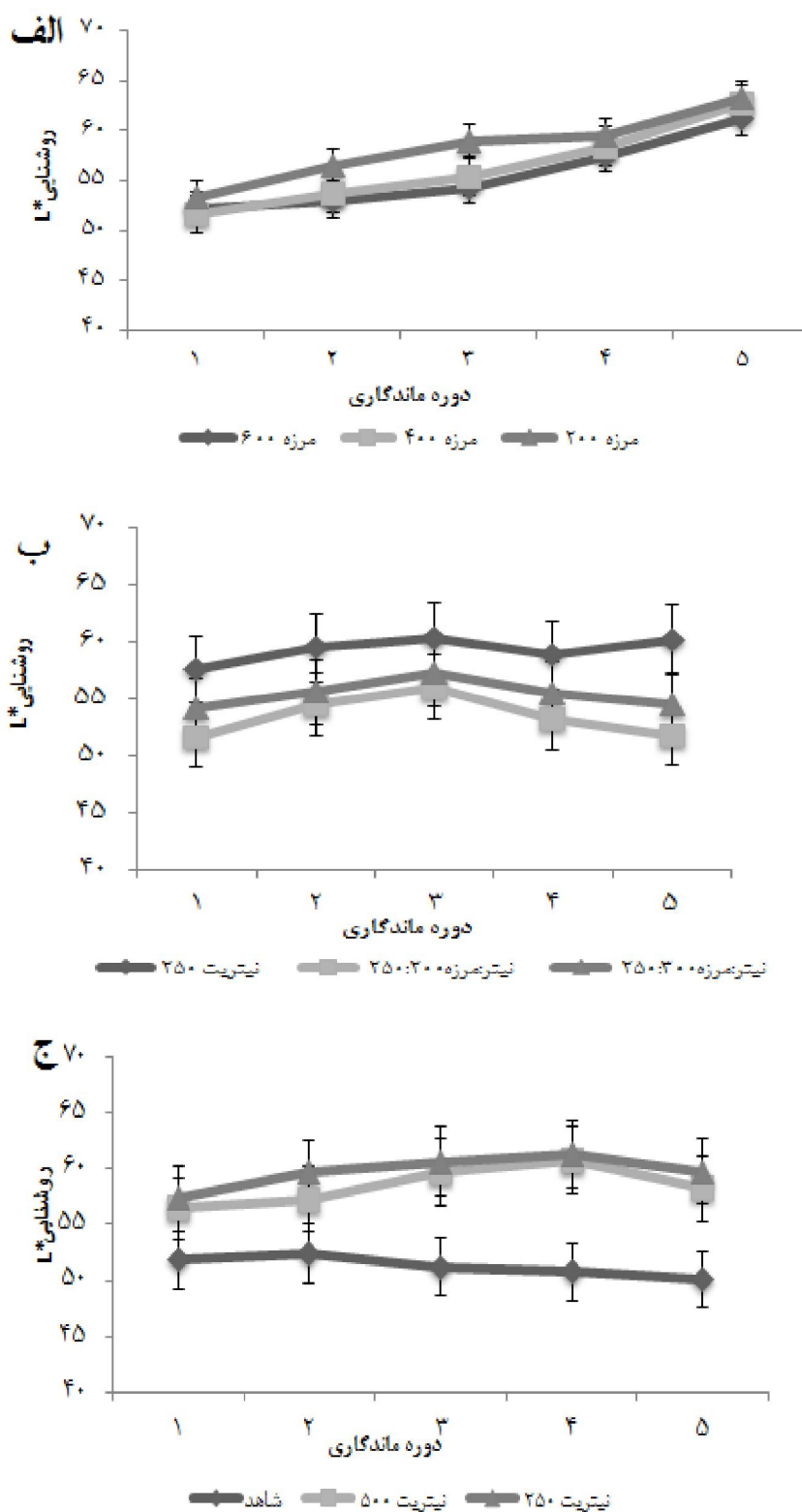


شکل ۱- الف) تاثیر غلظت‌های مختلف مرزه در طی دوره نگهداری بر مقادیر TBARS، (ب): مقایسه تیمار شاهد با تیمارهای نیتريت، (ج): مقایسه اثر هم‌افزایی نیتريت و مرزه با تیمار نیتريت

بررسی تغییرات رنگ نمونه‌ها

مقادیر روشنایی (L^*)، برای تمام تیمارها در طی دوره انبار مانی در شکل ۲ نشان داده شده است. واکنش بین غلظت‌های مختلف اسانس مرزه، نیتريت و دوره نگهداری برای هریک از معیارهای روشنایی (L^*)، قرمزی (a^*) و زردی (b^*) به طور مشخص چشمگیر بود ($p \leq 0.05$). با افزایش یافتن سطح غلظت اسانس مرزه در نمونه‌های سوسیس از ۲۰۰ تا ۶۰۰ پی‌پی‌ام میزان روشنایی سوسیس‌ها کاهش یافته بود. غلظت‌های بالای اسانس مرزه تاثیر منفی بر تشکیل رنگ داشتند. نمونه‌های با غلظت ۴۰۰ پی‌پی‌ام مقدار قرمزی کاهش یافته و بیشترین افت در غلظت ۶۰۰ پی‌پی‌ام دیده شد، استفاده از غلظت‌های بالای مرزه منجر به اتوپراکسید می‌گردد و در نهایت اکسید شدن میوگلوبین به شکل مت میوگلوبین و کاهش یافتن مقدار قرمزی را در پی دارد. در نمونه‌های حالت مخلوط نیتريت و اسانس مرزه مشاهده شده میزان روشنایی و قرمزی این تیمارها به صورت چشمگیری از تیمارهای مرزه به تنهایی بالاتر بود. در مقایسه بین دو تیمار هم‌افزایی نیتريت و اسانس مرزه، در تیماری که غلظت کمتری از اسانس مرزه استفاده شده بود فاکتور روشنایی و قرمزی نتایج بهتری داشت. تاثیر نیتريت بر روشنایی به مقدار اسانس مرزه اضافه شده بستگی

دارد. اضافه کردن غلظت بالای مرزه سبب واکنش بین نیتريت و ترکیبات شیمیایی موجود در بخش آروماتیک مرزه است به صورتی که مانع ترکیب شدن NO_2 با میوگلوبین و از تشکیل ویژگی‌های رنگی جلوگیری می‌کند. نمونه‌های با نیتريت ۲۵۰ پی‌پی‌ام در پایان دوره نگهداری نسبت به نمونه‌های ۵۰۰ پی‌پی‌ام روشنایی بالاتری را در طی دوره نگهداری داشتند این نتایج با گزارش حاصل از پژوهش Hernandez-hernandez و همکاران (۲۰۰۹) موافق نبود، او یک ارتباط متقابل بین مقادیر روشنایی و تیوباربتوریک اسید در نمونه‌های گوشت خام خوک گزارش کرده بود به صورتی که با افزایش مقادیر تیوباربتوریک اسید، روشنایی کاهش یافته و نمونه‌ها تیره شدند. در این مطالعه، هیچ ارتباطی بین مقادیر تیوباربتوریک اسید و روشنایی حتی در مورد نمونه‌های شاهد مشاهده نشد. تمام تیمارهای با نیتريت قرمزی بیشتری نسبت به سایر تیمارها داشتند ($p \leq 0.05$)، این نتایج به دلیل تاثیر داشتن نیتريت در تشکیل رنگ صورتی و قرمز در محصولات است. نتایج نشان داد که پائین‌ترین مقدار نیتريت (۲۵۰ پی‌پی‌ام) برای تشکیل رنگ صورتی کافی بود اما غلظت بالاتری از نیتريت برای پایداری میکروبیولوژی مورد نیاز است.

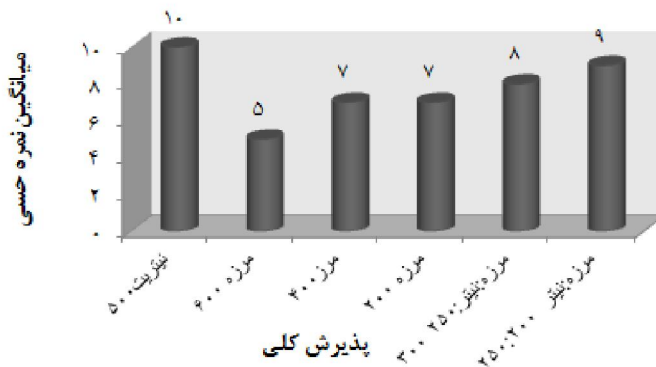


شکل ۲- (الف) مقادیر روشنایی (L*) برای تیمارهای (مرزه، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰)، (ب): شاهد، نیتريت ۵۰۰، نیتريت ۲۵۰، (ج): نیتريت:مرزه ۲۵۰:۲۰۰-۲۵۰:۳۰۰

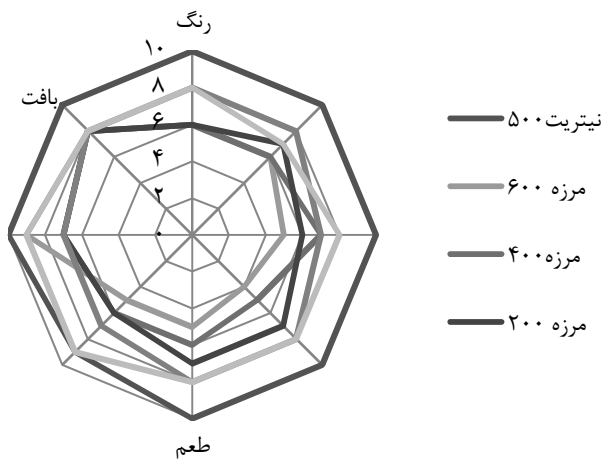
بررسی ویژگی‌های حسی (بو، رنگ و پذیرش کلی)

یکی از جنبه‌های موثر در موفق بودن و قابل اجرا بودن نوآوری‌ها و دستکاری فرمولاسیون‌های متداول محصولات غذایی، فاکتور قابلیت پذیرش این محصولات است، به صورتی که اگر تغییرات اعمال شده در فرمولاسیون‌های غذایی از جنبه نتایج آزمون‌های مختلف موفق باشند اما نتوانند در آزمون‌های حسی نمرات قابل قبولی کسب کنند، در حقیقت قابلیت اجرایی نخواهند داشت. در ارزیابی حسی انجام شده در پایان دوره نگهداری بر روی نمونه‌های سوسیس سرخ شده مشخص شد، تیمارهای که در سطوح مختلف مرزه به تنهایی (۲۰۰، ۴۰۰،

۶۰۰ پی‌پی‌ام) تهیه شده بودند علاوه بر این که از نظر رنگی و روشنایی برای ارزیاب‌ها قابل قبول نبودند. از جنبه طعم و مزه هم قابلیت پذیرش پائینی داشتند (شکل ۳)، تیمارهای تهیه شده با نیتريت، بالاترین امتیازها را از تمامی فاکتورهای مورد سوال در آزمون ارزیابی حسی کسب کردند، نمونه‌های تهیه شده از مخلوط نیتريت و مرزه از نظر ارزیاب‌ها نسبت به نمونه‌های اسانس مرزه به تنهایی به صورت قابل ملاحظه‌ای از جنبه رنگ و طعم موفق‌تر بودند و بعد از تیمار نیتريت به تنهایی بیشترین امتیازها را کسب کردند.



شکل ۳- نتیجه اندازه‌گیری پذیرش کلی نمونه‌های سوسیس تولیدی



شکل ۴- نتیجه ارزیابی حسی نمونه‌های سوسیس تولیدی

نتیجه‌گیری

فرانکفورتر، با توجه به نتایج به دست آمده از آزمون‌های شیمیایی، میکروبی و حسی به این نتیجه می‌رسیم که بهترین حالت در نظر گرفتن یک حالت هم‌افزایی از نیتريت و مرزه است. تا علاوه بر دستیابی به یک حالت بهینه از جنبه آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی، به ویژگی‌های رنگی و حسی مطلوبی هم دست پیدا کنیم. تیمار هم‌افزایی قادر است تمامی انتظارات مورد نظر ما را از جنبه قدرت ضد میکروبی، جلوگیری از اکسیداسیون لیپید تامین کند و در به وجود آوردن ویژگی‌های حسی و طعمی و رنگی مطلوب هم امتیازات قابل قبولی کسب کند.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با استفاده از بودجه پژوهشی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی انجام گرفت. از شرکت دانش بنیان خرمان که در تهیه و آنالیز اسانس مرزه خوزستانی و شرکت معظم فرآورده‌های گوشتی کاله در تهیه مواد اولیه سپاسگزاری می‌گردد.

با توجه به هدف این پژوهش در زمینه جایگزینی بخشی از سهم نیتريت با اسانس مرزه در فرمولاسیون سوسیس فرانکفورتر مشاهده شد، استفاده از بالاترین غلظت سطح اسانس مرزه خوزستانی با وجود این که قادر است در کنترل جمعیت باکتریایی در تمامی محیط‌های کشت مورد استفاده موثر باشد، اما از جنبه حسی و ارزیابی فاکتور روشنایی قابل مقایسه با تیمارهای نیتريت و مخلوط نیتريت و اسانس مرزه نبود، و توانایی جلوگیری از تشدید اکسیداسیون لیپید را به اندازه تیمار نیتريت به تنهایی نداشت. اما استفاده از اسانس مرزه در کم‌ترین غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام به تنهایی تاثیر قابل ملاحظه‌ای در کنترل اکسیداسیون لیپید داشت، با این وجود از نظر قدرت ضد میکروبی از تیمار ۶۰۰ پی‌پی‌ام ضعیف‌تر بود، همچنین تمام سطوح اسانس مرزه (۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ پی‌پی‌ام) به کار رفته از نظر مقادیر روشنایی و قرمزی در مقایسه با تیمارهای نیتريت و تیمارهای هم‌افزایی مرزه و نیتريت نتایج پایین‌تری داشتند. بنابراین با وجود تمایل به حذف نیتريت به طور کامل از فرمولاسیون سوسیس

منابع

- ۱- سفیدکن، ف.، صادق زاده، ل.، تیموری، م.، عسگری، ف. و احمدی، ش. ۱۳۸۶. بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس دو گونه مرزه خوزستانی و بختیاری در دو مرحله برداشت. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۳: ۱۸۲-۱۷۴.
- ۲- مجد، ا.، نژاد ستاری، ط.، خاوری نژاد، ر.، دوستی، ب.، ۱۳۸۷. بررسی تغییرات کمی و کیفی ترکیبات سازنده اسانس گونه دارویی مرزه خوزستانی در طول تکوین گیاه و خواص ضد میکروبی اسانس آن در شرایط *in vitro*. مجله علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، ۱۷۰: ۱۸-۲۸.
- 3- Al-Shuibi, A. M. & Al-Abdullah, B. M. 2002. Substitution of nitrite by sorbate and the effect on properties of mortadella. *Meat Science*, 62: 473-478.
- 4- Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B. & Weil, J. A. 2004. Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84: 551-562.
- 5- AOAC. 2000. Official methods of analysis (17th ed., 2nd Revision). Virginia, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- 6- Baydar, H., Sagdiç, O., Gülcan, O. & Karadogan, T. 2004. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra*, and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*, 15: 169-172.

- 7- Brynestad, S. & Granum, P.E., 2002. *Clostridium perfringens* and food borne infections. International Journal of Food Microbiology, 74: 195–202.
- 8- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. International Journal of Food Microbiology, 94: 223-253.
- 9- Cammack, R., Joannou, C. L., Cui, X. Y., Martinez, C. T., Maraj, S. R. B. & Martin, N. H. 1999. Review e nitrite and nitrosyl compounds in food preservation. Biochimica et Biophysica Acta, 1411: 475-488.
- 10- Fasseas, M. K., Mountzouris, K.C., Tarantilis, P. A., Polissiou, M., & Zervas, G. 2007. Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. Food Chemistry, 106: 1188-1194.
- 11- Feiner, G. 2006. Meat products hand book practical science and technology. CRC, Boca Raton. 627 pp.
- 12- Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G. & Georgakis, S. 2007. Effect of rosemary extract, chitosan and a-tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 C. Meat Science, 76(1): 172–181.
- 13- Gutierrez, J., Barry-Ryan, C. & Bourke, P. 2009. Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: efficacy, synergistic potential and interactions with food components. Food Microbiology, 26: 142-150.
- 14- Hernández-Hernández, E., Ponce-Alquicira, E., Jaramillo-Flores, M. E. & Guerrero Legarreta, I. 2009. Antioxidant effect rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and color of model raw pork batters. Meat Science, 81: 410-417.
- 15- Karl-Otto, H. 2008. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. Meat Science, 78: 68-76.
- 16- Lindahl, G., Lundström, K. & Tornberg, E. 2001. Contribution of pigment content, myoglobin forms and internal reflectance to the lightness of pork loin and ham from pure breed pigs. Meat Science, 59: 141-151.
- 17- Marco, A., Navarro, J. L. & Flores, M. 2006. The influence of nitrite and nitrate on microbial, chemical and sensory parameters of slow dry fermented sausage. Meat Science, 73: 660-673.
- 18- National committee for clinical laboratory standards, 2000. Methods for dilution antimicrobia susceptibility tests for bacteria that grow aerobically (5th ed). Approved standard, M7-A5.
- 19- Oliveira, T.L., Carvalho, S.M., Soares, R., Andrade, M.A, Cardoso, M.G. & Mendes Ramos, E. 2012. Antioxidant effects of Satureja Montana L.essential oil on TBRAS and color of mortadella-type sausages with different levels of sodium nitrit. LWT- Food Science and Technology, 45: 204-212.
- 20- Rywotycki, R. 2002. The effect of selected functional additives and heat treatment son nitrosamine content in pasteurized pork ham. Meat Science, 60: 335-339.
- 21- Switzerland: International Organization for Standardization. ISO (1979). ISO 5552-1979(E)-Erratum. Meat and meat products –Detection and enumeration of Enterobacteriaceae (Reference methods).
- 22- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J. & Pérez-Álvarez, J.A. 2009. Effect of adding citrus waste water, thyme and oregano essential oil on the chemical, physical and sensory characteristics of a bologna sausage. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 10: 655–660.

-
- 23- Yanishlieva, N. V., Marinova, E. & Pokorny, J. 2006. Natural antioxidants from herbs and spices. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108: 776-793.

Effect of *Satureja khosestanica* essential oil on bacterial, chemical and sensory properties of frankfurter sausages

Yahya Maghsoudlou¹, Athar Asgharpoor^{2*}, Peyman Ariaiee³

1- Associated Professor, Department Of Food Science and Technology, Islamic Azad University Ayatollah Amoli Branch, Amol, Iran

2- MSc. Student, Department Of Food Science and Technology, Natural Resource and Agriculture of Gorgan University, Gorgan, Iran

* Corresponding author (atharasgharpoor@yahoo.com)

3- Lecturer, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University Ayatollah Amoli Branch, Amol, Iran

Abstract

The aim of this study were evaluation the effects of adding *satureja khosestanica* essential oil (EO) at concentrations of 200, 400 and 600 ppm on bactericidal, chemical and sensory properties of frankfurter sausages formulated with different sodium nitrite (NaNO₂) levels (0, 250, 500) and in combination of savory essential oil and sodium nitrite (300:250, 200:250) that were stored at 4°C for 20 days. Among different concentrations of savory essential oil, 200 ppm concentration has similar effect as nitrite 500 ppm on lipid oxidation. Reduced value of Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) ($p < 0.05$) was observed in frankfurter sausages with the lowest concentration of savory without added sodium nitrite. Among savory concentration tested none of them has considerable effect on formation red color. Nevertheless sodium nitrite and savory essential oil at concentrations (300-200) ppm increased L*, a* values significantly ($p < 0.05$). The effect of savory essential oil was added individually or in combination with sodium nitrite on microbiological tests (Total Viable Counts, Lactic acid bacteria, Entrobacteriaceae, yeast and molds) were showed that savory essential oil has greater antimicrobial power against G⁺ microorganism than the other kinds of microorganism such as Entrobacteriaceae, molds and yeasts.

Keywords: Antimicrobial effect, Frankfurter sausages, Lipid oxidation, Savory essential oil, Shelf life