

تأثیر پودر والک^۱ بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبی همبرگر در شرایط یخچالی

سارامتینی^{*}

^۱. گروه علوم و صنایع غذایی، واحد خوی، دانشگاه آزاد اسلامی، خوی، ایران

چکیده

سابقه و هدف : امروزه با صنعتی شدن جوامع، نیاز مردم به غذاهایی که سریع آماده مصرف می شوند افزایش یافته است. یکی از محبوب ترین این غذاها، همبرگر است. بنابراین گسترش روش هایی که بتواند ماندگاری و کیفیت همبرگر را بالا ببرد، مورد توجه پژوهش های نوین است. در مطالعه حاضر به بررسی امکان استفاده از پودر والک به عنوان یک نگهدارنده طبیعی ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی برای همبرگر پرداخته شد.

مواد و روش ها : مقادیر مختلف پودر والک خشک (۱٪، ۱/۵٪، ۲٪) در تهیه همبرگر استفاده شد. سپس نمونه های تهیه شده در کیسه های پلی اتیلنی بسته بندی شدند و در دمای ۴ درجه نگهداری شدند. فاکتورهای کیفی نمونه ها در فواصل زمانی ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز ارزیابی شد.

یافته ها : نتایج نشان داد تیمارهای پودر والک در همبرگر به خصوص تیمار ۲٪ از پودر والک توانست رشد تعداد باکتری های سالمونلا و استافیلوکوکوس اورئوس به طور معنی داری کاهش دهد. همچنین استفاده از پودر والک در همبرگر سبب کاهش میزان شاخص پراکسید (PV) و میزان اسید تیوباربیتوریک (TBA) و شاخص نیتروژن فرار (TVB-N) در همبرگر در طی بیست و یک روز شود ($P<0.05$). میزان ترکیبات فنولی و پس از تیمار همبرگر با پودر والک به طور معنی داری به خصوص در تیمار ۲٪ پودر والک افزایش یافت ($P<0.05$).

نتیجه گیری: با توجه به نتایج ارزیابی کیفی و میکروبی، استفاده از پودر والک در فرمولاسیون همبرگر می تواند سبب افزایش ماندگاری و خواص کیفی این محصول شود.

کلمات کلیدی: همبرگر، والک، نگهدارنده طبیعی، خواص ضد میکروبی، خواص آنتی اکسیدانی

The effect of Wild Garlic powder on physicochemical and microbial properties of hamburger under refrigerated conditions

Matini, S^{1*}

1. Department of Food Science, Khoy.C., Islamic Azad University, Khoy, Iran

Abstract

Introduction: Today, by industrialization of societies, people's need for foods that are ready to be consumed quickly has increased. One of the most popular of these foods is hamburger. Therefore, the development of methods that can increase the shelf life and quality of hamburgers is of interest to modern research. In the present study, the possibility of using Wild Garlic powder as a natural antimicrobial and antioxidant preservative for hamburgers was investigated.

Materials: In this study, different amounts of dry Wild Garlic powder (1%, 1.5% and 2%) were used in the preparation of hamburgers. Then the prepared samples were packed in polyethylene bags and kept at 4 °C. The quality factors of the samples were evaluated at time intervals of 1, 7, 14 and 21 days.

Results and Discussion: The results showed that the treatments of wild garlic powder in hamburger, especially the treatment of 2% wild garlic powder, were able to significantly reduce the growth of *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* bacteria. Also, the use of wild garlic powder in hamburger caused a decrease in the peroxide value (PV), the amount of thiobarbituric acid (TBA), and the volatile nitrogen value (TVB-N) in hamburger within twenty-one days ($P<0.05$). Also, the amount of phenolic compounds and after the treatment of hamburger with wild garlic powder increased significantly, especially in the treatment of 2% wild garlic powder ($P<0.05$).

Conclusion: According to the quality and microbial evaluation results, the use of Wild Garlic powder in the hamburger formulation can increase the durability and quality properties of this product.

Keywords: hamburger, Wild Garlic, natural preservative, antimicrobial properties, antioxidant properties

مقدمه

گوشت به دلیل دارا بودن محتوای آب بالا، پروتئین‌های مرغوب، اسیدهای چرب چندغیراشباعی، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی و رنگدانه‌ها، منبع غنی از مواد مغذی محسوب می‌شود. همبرگرهای گوشت گاو به عنوان یکی از محبوب‌ترین فرآورده‌های گوشتی فرآوری شده در جهان، توسط طیف وسیعی از مصرف‌کنندگان مورد استفاده قرار می‌گیرند. این محبوبیت ناشی از ویژگی‌هایی مانند کاربردی بودن، سهولت آماده‌سازی، قیمت مناسب و خواص حسی مطلوب می‌باشد (۱). چربی‌ها به عنوان یکی از مهم‌ترین اجزای تشکیل‌دهنده محصولات گوشتی، مسئول ایجاد ویژگی‌های حسی مطلوب (عطر، رنگ و بافت) می‌باشند (۲). با این حال، ترکیبات مغذی موجود در گوشت آن را مستعد فساد می‌کند (۳). دو عامل اصلی کاهش کیفیت گوشت شامل فساد میکروبی و اکسیداسیون خودبه‌خودی هستند. این فرآیندها منجر به ایجاد بوها و طعم‌های نامطلوب و همچنین تولید مواد خطرناکی مانند گونه‌های فعال نیتروژن (RNS) و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شوند که می‌توانند باعث جهش‌زایی و تهدید سلامت انسان گردند (۴و۵). آنتی‌اکسیدان‌ها با جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد، خنثی‌سازی آنها یا تسریع تجزیه‌شان، از آسیب بافتی پیشگیری می‌کنند (۶) هنگامی که تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) از ظرفیت دفاعی آنتی‌اکسیدانی طبیعی بدن فراتر رود، می‌تواند منجر به کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی شود. این وضعیت ممکن است به اجزای سلولی آسیب رسانده، پاسخ‌های خودایمنی مضر را

تحریک نموده و استرس اکسیداتیو و/یا نیتروزاتیو ایجاد کند با این حال، آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در مقابله مؤثر با خطرات سلامتی ناشی از این استرس و حفظ کیفیت گوشت اکسید شده ناموفق بوده‌اند و این چالش همچنان برای صنعت گوشت باقی مانده است بنابراین، جستجوی منابع جدید آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌تواند گزینه‌ای پایدار برای حفظ کیفیت گوشت باشد (۷). از مهمترین میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا (پاتوژن) در فرآورده‌های گوشتی بویژه آنهایی که طی تولید مکرراً با دست تماس دارند، *استافیلوکوکوس اورئوس* (عامل مسمومیت غذایی استافیلوکوکال) و *سالمونلا* / *انتریدیس* (عامل مسمومیت غذایی سالمونلوز) می‌باشند که نگرانی عمده‌ای برای تقریباً تمامی بخش‌های صنعت غذا محسوب می‌شوند. در واقع، این میکروارگانیسم‌ها به‌عنوان عامل بیماری‌زای مهم در بسیاری از مشخصات تولید و خرید صنایع غذایی و همچنین در استانداردهای قوانین مرتبط با ایمنی مواد غذایی لحاظ شده است و در حال حاضر سلامت عمومی را در سراسر جهان به خطر انداخته است گسترش این قبیل بیماری‌های مربوط به غذا در کنار مشکلات اجتماعی و اقتصادی ناشی از آن، لزوم تولید مواد غذایی سالمتر و به تبع آن استفاده از ترکیبات ضد میکروبی جدید و تا حد امکان غیرسنتزی را مطرح نموده است (۸). در سالهای اخیر توجه به ترکیبات نگهدارنده طبیعی با منشاء مختلف بسیار افزایش پیدا کرده است، افزایش سطح آگاهی مردم نسبت به خواص سلامتی بخش این ترکیبات، آگاهی از اثرات منفی مستقیم و غیر مستقیمی که نگهدارنده‌های سنتزی یا شیمیایی در سلامت انسان ایجاد میکنند و می‌توانند عوارض جانبی متعددی داشته باشند، مصرف‌کنندگان و محققان را بر این داشته است که تلاش برای جایگزینی ترکیبات طبیعی به جای ترکیبات شیمیایی و سنتزی را افزایش دهند. بنابراین، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند والک در صنعت گوشت امکان‌پذیر و مورد پذیرش مصرف‌کنندگان شده است. بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی برای بهبود طعم و مزه استفاده شده‌اند و می‌توانند به دلیل فعالیت ضد میکروبی خود، ماندگاری محصول را افزایش دهند (۱۰). والک یکی از گونه‌های سیر و به اصطلاح نوعی سیرکوهی است با نام علمی L

نویسنده مسئول: گروه علوم و صنایع غذایی،

واحدخوی، دانشگاه آزاداسلامی، خوی، ایران

آدرس الکترونیک :

matinii.sara@gmail.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۱۲/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۲۰

والک را در محصولات معمولی مانند فرآورده های گوشتی به منظور بهبود ارزش تغذیه ای و ارتقای پیامدهای مثبت سلامتی به کار گیرند. در حالی که هیچ تحقیقی در مورد استفاده از والک در همبرگرهای گوشت گاو انجام نشده است. بنابراین، هدف از این مطالعه استفاده از پودر گیاه والک برای پیشگیری یا کاهش اکسیداسیون چربی ها در همبرگرهای گوشت گاو طی نگهداری و بررسی اثر ضد میکروبی آن بر میکروب های بیماری زای منتقله از غذا (ستافیلوکوکوس/ورئوس و سالمونلا/انتریدیس) بود.

مواد و روش ها

تجهیزات و لوازم آزمایشگاهی

محل انجام آزمایش

فراواری همبرگر با درصد های مختلف والک و همچنین آزمایش های مورد بررسی در این مطالعه در آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوی مورد ارزیابی قرار گرفت.

تهیه پودر والک

مقدار یک کیلوگرم گیاه والک پس از جمع آوری و شستشو، در دمای اتاق و دور از نور خورشید به طور کامل خشک گردید. سپس توسط آسیاب برقی پودر و از الکی با مش ۴۰ عبور داده شد و برای آزمایشات بعدی در محلی تاریک، سرد و خشک نگهداری گردید. پودر حاصل شده ۲۴ ساعت قبل از مصرف در داخل زیر نور UV و داخل هود لامینار، بر روی فویل آلومینیومی پخش شد تا در صورت وجود آلودگی استریل شود.

مخلوط اضافه شد. سپس غلظت های مختلف (شاهد، ۱٪، ۱/۵٪، ۲٪) از پودر های والک استریل شده به همبرگر اضافه شد سپس همبرگرها در بسته های پلی اتیلنی در دمای یخچال به مدت ۲۱ روز نگهداری گردید. تیمارها در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. نمونه برداری در فواصل ۷ روزه انجام شد. و بعد ۶۰ سی سی متانول به آن افزوده شد. پس از ۲۴-۱۲ ساعت، ۳۶ سی سی آب مقطر به نمونه افزوده شده به مدت ۱-۲ ساعت استراحت داده شده تا ۳ فاز تشکیل شود. با دقت، ۲۰ سی سی از فاز پایین، به ارلن مایر ۲۵۰ سی سی سر سمبادهای انتقال داده، ۲۵ سی سی اسید استیک کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۳:۲) به آن افزوده گردید.

Allium ursinum و انگلیسی Wild Garlic, Board-

Leaved Garlic و از خانواده Liliaceae می باشد (۱۱).

خواص بسیار زیاد والک آن را در آسیا و اروپا بسیار محبوب کرده است والک به دلیل فرمول ساختاری غنی به عنوان یک گیاه دارویی استفاده می شود و به دلیل داشتن ترکیبات فنولی فراوان، خواص آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریال قوی دارند. علاوه بر وجود قابل توجه ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، مقادیر کمتری از سایر ترکیبات فعال زیستی نیز شامل گلیکوزید های استروئیدی، اسید های آمینه، اسید های چرب، لسیتین و اسانس های فرار وجود دارد که این ترکیبات می توانند در کاهش استرس اکسیداتیو، محافظت از سلول ها در برابر آسیب های شیمیایی و حفظ سلامت بافت های متابولیک و توانایی مهار رشد باکتری ها نقش داشته باشند (۱۳ و ۱۲) و همچنین از ترکیبات متعدد سولفور مانند آمینواسید های گوگرد دار، آلایسین و ترکیبات آزاد دیگر مانند دی وینیل سولفور، دی متیل تیوسولفونات و همچنین سرشار از ویتامین های A, B, C و موادمعدنی متعدد مانند ژرمانیوم، منگنز، گوگرد، کلسیم، سلنیم و روی تشکیل شده است. ترکیبات حاوی سولفور و خواص ضد عفونی کنندگی، ضد باکتریایی، ضد انگلی، ضد قارچی والک از نظر مقاصد آشپزی و دارویی به کار می رود و همچنین کیفیت طعم و مزه عالی آن باعث می شود از آن به عنوان ادویه نیز در غذاها استفاده کرد (۱۵ و ۱۴). با این حال، والک به طور معمول در محصولات غذایی استفاده نمی شوند. این مطالعه می تواند به صنایع غذایی کمک کند تا

تهیه نمونه همبرگر

نمونه های همبرگر بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۲۳۰۴ در شرایط آزمایشگاهی تولید شد (۱۶). به این ترتیب که گوشت چرخ شده گوسفندی خریداری شده و در مجاورت یخ و در شرایط استریل با پیازهای رنده شده مخلوط گردید. نمک به همراه آرد با نسبت مشخصی با گوشت و پیاز به

آزمایش های شیمیایی

اندازه گیری PV

برای تعیین مقدار پراکسید ابتدا ۱۵ گرم از گوشت چرخ کرده مورد استفاده در همبرگر را که خوب میکس شده بود، در دکانتور ۵۰۰ سی سی قرار داده، سپس ۳۰ سی سی کلروفرم به آن افزوده و کمی تکان داده مجدداً، ۳۰ سی سی کلروفرم

سپس ۰/۵ سی سی محلول یدور پتاسیم اشباع (که به صورت تازه آماده شده و در تاریکی قرار گرفته) و ۳۰ سی سی آب مقطر به محتویات ارلن اضافه شد، درب آن را گذاشته، به مدت ۱ دقیقه در تاریکی استراحت داده شده و بعد مقدار ۰/۵ سی سی معرف نشاسته ۱٪ به آن افزوده می شود و درب ارلن را گذاشته، محلول به شدت تکان داده شده است. ید آزاد شده، باعث تغییر رنگ محلول شده که با محلول تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال، تا بیرنگ شدن محلول یا ظهور رنگ شیری و شفاف شدن فاز بالایی روغن تیتیر شده و در نهایت با استفاده از رابطه زیر، میزان پراکسید بر حسب میلی اکی والان پراکسید در یک کیلوگرم چربی محاسبه گردید (۱۷).

$$PV = \frac{1000 \times \text{نرمالینه} \times \text{حجم مصرفی تیوسولفات}}{\text{وزن نمونه}}$$

اندازه گیری TBA

برای اندازه گیری TBA ابتدا ۲۰۰ میلی گرم از نمونه گوشت میکس شده همبرگر را، به بالن ۲۵ سی سی انتقال داده، و با ۱- بوتانول به حجم رسانده و ۵ سی سی از این محلول را به لوله فالکون خشک دربدار انتقال داده سپس ۵ سی سی معرف TBA (که از انحلال ۲۰۰ میلی گرم پودر TBA در ۱۰۰ سی سی حلال ۱- بوتانول و صاف کردن بوسیله کاغذ صافی به دست آمده) به آن افزوده شده است. سپس لوله ها در بن ماری با دمای ۹۵°C، به مدت ۲ ساعت قرار گرفت. و در دمای محیط سرد و سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، میزان جذب آنها (As) در ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر (Ab) خوانده شد. با استفاده از رابطه زیر، میزان TBA (بر حسب میلی گرم مالون دی آلدئید در هر کیلوگرم از بافت همبرگر) مورد محاسبه قرار گرفت (۱۸).

اندازه گیری TVB-N

ابتدا ۱۰ گرم از گوشت میکس شده ی همبرگر و ۲ گرم اکسید منیزیم در یک بالن کدال توزین شد. سپس ۳۰۰ سی سی آب مقطر، ۲ قطره اکتانول (به عنوان ضد کف) و تعدادی ساچمه شیشه ای (یا سنگ جوش به منظور بهتر صورت گرفتن انتقال حرارت و به دام افتادن حباب های حاصل از عمل جوش در داخل فضای متخلخل و محبوس شده ی آن و جلوگیری از پریدن مایع) نیز به محتویات بالن افزوده شده است. سپس سیستم کدال نصب شده و در زیر لوله خروجی سیستم، ارلنی ۵۰۰ سی سی حاوی ۲۵ سی سی اسیدبوریک ۲٪ دارای ۲-۳ قطره معرف متیل رد قرار گرفته به طوریکه سر لوله خروجی کاملاً درون محلول ارلن قرار گیرد. سپس گازهایی که معرف بازهای از ته فرار پس از برقرای جریان آب سرد و روشن شدن هیتر متصاعد شده، که به صورت تغییر رنگ محلول از ارغوانی به زرد نمایان می گردد. که در نهایت این محلول با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیتیر شده تا محلول مجدداً ارغوانی شود و سپس با استفاده از رابطه زیر بر حسب میلی گرم در ۱۰۰ گرم گوشت محاسبه گردید (۱۹).

$$TVB-N = \text{حجم اسید سولفوریک مصرفی} \times ۱۴$$

اندازه گیری مقدار فنول کل

میزان ترکیبات فنولی کل در پودر والک با کمک روش فولین سیوکالتو اندازه گیری شد و نتایج به دست آمده بر حسب میلی گرم اسید گالیک در گرم ارائه گردید. ابتدا مقدار ۱ میلی لیتر از عصاره پودر والک، ۱ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتوی ۱۰ برابر رقیق شد و به آن ۱ میلی لیتر محلول سدیم کربنات (۵٪) و ۱ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. جذب مخلوط در دمای اتاق و طول موج ۷۳۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و محتوای فنول کل با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید تعیین شد (۲۰).

فعالسازی سویه های میکروبی استافیلوکوکوس و سالمونلا

آمپول لیوفیلیزه حاوی سویه استاندارد استافیلوکوکوس / اورئوس و سالمونلا را طبق دستورالعمل شرکت سازنده از محل بالای توده پنبه خراش داده شده، سپس اطراف آمپول با گاز

آزمون های میکروبی

سویه میکروبی مورد مطالعه: استافیلوکوکوس / اورئوس استاندارد ATCC-25923 و سالمونلا / انتریکا سروتیپ تیفی موریوم استاندارد ATCC-13076 مورد نیاز جهت افزودن به همبرگر، بصورت آمپول لیوفیلیزه از کلکسیون میکروبی انستیتو پاستور ایران تهیه گردید.

تهیه سوسپانسیون باکتریایی با غلظت استاندارد (۵/۰) مک فارلند

هدف آن ایجاد تراکم باکتریایی مشخص برای همسان سازی شرایط آزمون که این غلظت معادل تقریباً 1.5×10^8 CFU/ml باکتری زنده است. برای این کار از کشت ذخیره (ساب ماستر) به محیط کشت آگار شیب دار مغذی برای هر دو باکتری (به صورت جداگانه) تلقیح انجام شد. محیط های کشت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور قرار می گیرد تا کلونی های تازه رشد کنند. کلونی های رشد یافته سطح آگار با محلول نرمال سالین ۰/۹٪ شسته شدند. با این عمل، یک سوسپانسیون غلیظ از سالمونلا و استافیلوکوکوس (به صورت جداگانه) به دست آمد که حاوی میکروارگانیسم هایی در فاز رشد فعال هستند. مقدار کمی از این سوسپانسیون غلیظ با استفاده از پیت پاستور استریل داخل لوله های استریل دریچ دار ریخته شد. سپس با افزودن محلول نرمال سالین، سوسپانسیون رقیق گشت. کدورت حاصل با استاندارد ۰/۵ مک فارلند مقایسه می شود و تا رسیدن به تراکم حدود 1.5×10^8 CFU/ml باکتری تنظیم شد. این مرحله با دستگاه اسپکتروفتومتر (در طول موج مناسب، معمولاً ۶۰۰ نانومتر) یا مقایسه چشمی انجام پذیرفت (۲۳). سپس با انجام محاسبات لازم مشخص گردید که برای رسیدن غلظت نهایی /استافیلوکوکوس/ اورئوس و سالمونلا به 5×10^5 cfu/g، به ۶ میلی لیتر از سوسپانسیون فوق نیاز است. سپس بلافاصله مقدار ۱۲۰۰ گرم همبرگر با ۶ میلی لیتر سوسپانسیون حاوی استافیلوکوکوس و سالمونلا (به طور جداگانه) مخلوط گردید. در مرحله بعد تحت شرایط استریل، ۱۰ نمونه ۲۰ گرمی از مخلوط حاصل درون ظروف پلاستیکی استریل توزین شده و بعنوان شاهد انتخاب گردیدند. سپس ۲۴۰ گرم از مخلوط همبرگر آلوده توزین و به آن ۲ گرم پودر خشک والک اضافه و به طور کامل مخلوط گردید (نمونه ۱ درصد) و سایر تیمارها نیز به همین ترتیب با افزودن ۳ گرم (نمونه ۱/۵ درصد) و ۴ گرم (نمونه ۲ درصد) پودر به آنها آماده شده و پس از توزین در اندازه نمونه های ۲۰ گرمی، در ظروف پلاستیکی مورد نظر پر و در شرایط یخچالی نگه داده شدند. در دوره های زمانی روز اول، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم از هر تیمار ۲ نمونه گرفته

استریل مرطوب شده با الکل ۷۰ درجه کاملاً ضد عفونی گردید. آمپول احاطه شده توسط گاز استریل، از محل خراش شکسته شد. توده پنبه به کمک یک پنس استریل خارج شده، تحت شرایط استریل در زیر هود و به کمک پیت پاستور استریل ۵/۰ تا ۱ میلی لیتر از محیط کشت مایع استریل تریپتون سویا براث (TSB) برای استافیلوکوکوس و مایع استریل برین هرت اینفیوژن براث (BHI) برای سالمونلا (Merck) به ماده خشک موجود در آمپول اضافه و پس از یکنواخت شدن، سوسپانسیون میکروبی حاصل شد. سوسپانسیون های حاصل توسط آنس استریل مخلوط شده و مقداری از آن جهت تهیه کشت مادر روی محیط آگار مغذی (Difco, Laboratories, Detroit, MI) منتقل و کشت انجام گردید. سپس برای رشد /استافیلوکوکوس/ اورئوس و سالمونلا، محیط های کشت حاوی میکروب به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. بعد از این مدت، از کشت مادر رشد یافته، کشت دیگری روی آگار مغذی به عنوان کشت ذخیره تهیه شد و در مراحل بعدی استفاده گردید (۲۱).

تهیه محلول استاندارد ۵/۰ مک فارلند

یکی از روش های تعیین تعداد باکتریها در محیط مایع، روش شمارش غیر مستقیم است. در روش کدورت سنجی که یکی از معمولترین روش های شمارش غیر مستقیم است، کدورت محیط مایع که باکتری در آن رشد کرده است، با یک استاندارد که کدورت آن با تعداد معینی باکتری متناسب است، مقایسه میشود. کدورت استاندارد را می توان بوسیله مخلوط مقادیر مشخصی از مواد شیمیایی ایجاد نمود که یک نمونه از آن سولفات باریوم است که شدت آن توسط مک فارلند با تعداد تقریبی باکتریها ارزیابی شده است (۲۲). استانداردهای مک فارلند با افزودن حجم خاصی از محلول اسید سولفوریک ۱٪ و کلرید باریوم ۱/۷۵٪ برای بدست آوردن یک محلول سولفات باریوم با دانسیته نوری خاص تهیه می شوند و معمولاً استاندارد ۵/۰ مک فارلند که از افزودن ۹/۹۵ میلی لیتر اسید سولفوریک خالص ۱٪ حجم به حجم به ۰/۰۵ میلی لیتر کلرید باریوم حاصل می شود، بیشتر کاربرد دارد (۲۳).

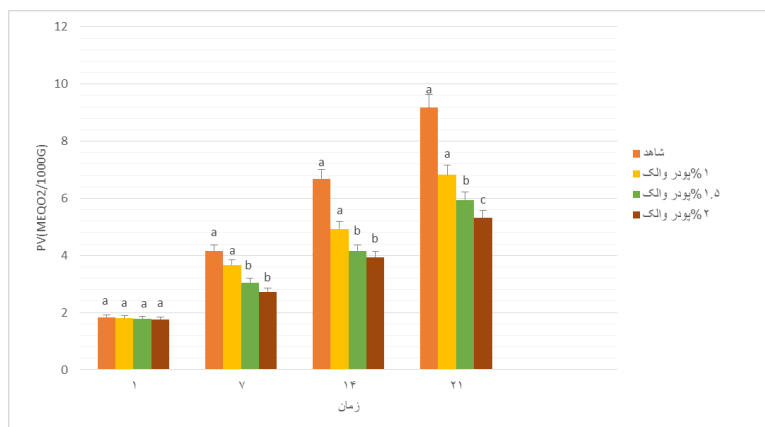
کانتر و ISO 6579 برای سالمونلا و ISO 6888 برای استافیلوکوکوس/ورئوس استفاده شد (۲۴ و ۲۵).

نتایج و بحث

آزمون های شیمیایی

PV میزان

بررسی PV در همبرگرهای تیمار شده با درصدهای مختلف پودر والک در روزهای تیمار تفاوت معنی داری را نشان داد ($P < 0.05$). بیشترین PV مشاهده شده در گروه شاهد در روز بیست و یک (9.17 ± 0.14) و کمترین میزان PV مشاهده شده در گروه همبرگرهای تیمار شده با ۲٪ پودر والک در روز اول (1.76 ± 0.14) مشاهده شد ($P < 0.05$).



شکل ۱. نمودار تغییرات میزان PV در طول زمان

بررسی میزان TBA در همبرگرهای تیمار شده با والک نشان داد که تفاوت معنی داری بین روزهای مختلف تیمار و دوزهای مختلف والک از نظر میزان TBA وجود دارد ($P < 0.05$). تیمار دوزهای ۱/۵ تا ۲٪ والک سبب کاهش معنی دار میزان TBA در همبرگر شد که کاملاً وابسته به دوز استفاده شده والک بود ($P < 0.05$) (شکل ۲). بیشترین میزان TBA در تیمار شاهد در روز بیست و یک (3.0 ± 0.12) و کمترین میزان TBA در تیمار ۲٪ والک در روز اول (0.56 ± 0.02) مشاهده شد (شکل ۲).

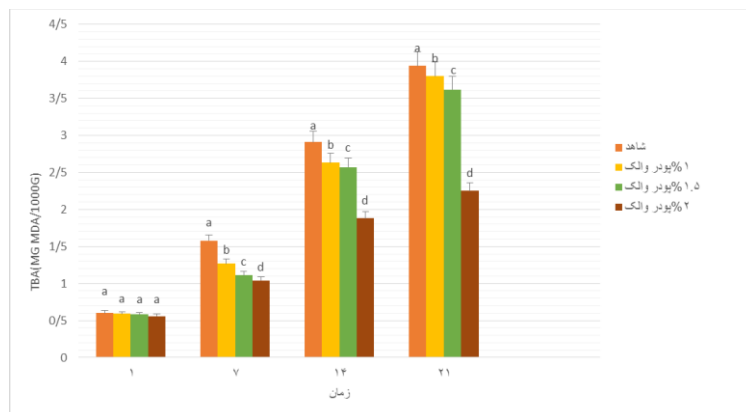
شد و به منظور اندازه گیری رشد/استافیلوکوکوس/ورئوس و سالمونلا، در محیط های برد پارکر آگار و سالمونلا-شیگلا آگار به ترتیب کشت سطحی و مخلوط انجام گردید و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند. به منظور شمارش و شناسایی میکروارگانیسمها از کلنی

آنالیز آماری

مطالعات کتابخانه ایی و آنالیزهای آماری در همه آزمایشات با سه تکرار انجام شد. از طرح آنالیز واریانس دو طرفه برای تحلیل نتایج استفاده و مقایسه میانگینها با کمک آزمون دانکن انجام می شود. سطح معنی داری ۹۵٪ در نظر گرفته خواهد شد. تجزیه و تحلیل داده در نرم افزار spss ورژن ۲۱ و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excell (۲۰۱۳) انجام شد.

گیاهان دارویی حاوی مواد زیست فعالی مانند فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، تانن ها و ترپنوئیدها هستند که دارای خواص آنتی باکتریال و آنتی اکسیدانی هستند (۲۶) وجود رابطه مثبت بین ترکیبات فنولی و خاصیت اکسیدانی و توانایی شکستن رادیکالهای آزاد، افزایش درصد پودر والک باعث کند شدن افزایش عدد پراکسید می شود (۲۷). میزان مجاز پراکسید در فراورده های گوشتی برای مصرف انسانی ۵ است (۲۸).

نتایج میزان TBA

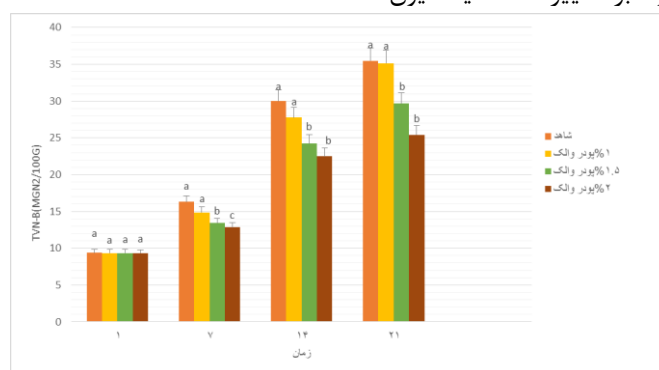


شکل ۲. نمودار تغییرات میزان TBA در طول زمان

همبرگر ماهی سبب کاهش معنی دار اکسیداسیون چربی ها شد. آنها وجود ترکیبات فنولی بالا را در این گیاهان یکی از علت های کاهش اکسیداسیون چربی ها عنوان کردند (۳۱). در مطالعه متینی و خوشبخت نژاد (۲۰۲۵) با افزایش درصد پودر دارچین در همبرگر میزان PV و TBA کاهش یافت (۳۲).

نتایج میزان TVB-N

نتایج حاصل از بررسی میزان TVB-N نشان داد که تیمار دوزهای متفاوت واک از روز ۱ تا ۲۱ سبب تغییر معنی دار میزان TVB-N در همبرگرها شد ($P < 0.05$). تیمار درصدهای ۱/۵ تا ۲٪ از واک در همبرگرها سبب کاهش معنی داری در میزان TVB-N در همبرگر گردید ($P < 0.05$) (شکل ۳).



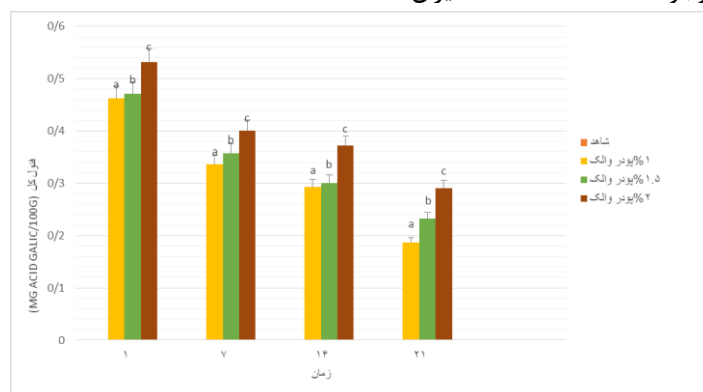
شکل ۳. نمودار تغییرات میزان TVB-N در طول زمان

آمینواسیدها و کاتابولیت های نوکلئوتیدی و دیگر ترکیبات بازی فرار نیتروژنی مرتبط با فساد غذایی است (۳۳). افزایش ترکیبات فنولی و تاثیر آنها بر مکانیسم ضد میکروبی به دلیل داشتن گروههای هیدروکسیل باعث کاهش TVB-N می شود. در مطالعه مختاریان و همکاران (۲۰۲۱) نیز درصدهای

افزایش میزان TBA تیمارها در طول دوره را می توان به اکسیداسیون چربی و تولید ترکیبات فرار در حضور اکسیژن نسبت داد (۲۹). پایداری مواد غذایی و گسترش ماندگاری همبرگر در کیفیت این فراورده غذایی بسیار اهمیت دارد. از جمله مهم ترین عوامل کنترل کننده کیفیت مواد غذایی حاوی روغن بالا نظیر همبرگر، کنترل فرآیند اکسیداسیون چربی است تا پایداری اکسیداتیو و ماندگاری قابل قبولی طی دوره زمانی مشخص داشته باشند (۳۰). با توجه به نتایج به دست آمده، کاهش میزان شاخص پراکسید PV و شاخص اسید تیوباربیتوریک (TBA) در همبرگرها پس از اضافه کردن پودر واک بیانگر پایداری بهتر این محصول است. نظیر نتایج مشاهده شده در مطالعه حاضر، در مطالعه Ozogul و Uçar (۲۰۱۳) تاثیر غلظت های ۰/۳ و ۰/۶ پودر گیاهان آویشن، چای سبز، مریم گلی و برگ بود بر تغییرات اکسیداسیون

با توجه به نتایج، در تمامی روزها بیشترین مقادیر بازهای نیتروژنی فرار در تیمار شاهد مشاهده شد و با افزایش درصد پودرها، مقادیر بازهای نیتروژنی فرار کاهش یافت. TVB-N یک اصطلاح کلی است که شامل اندازه گیری تری متیل آمین ناشی از فساد باکتریایی، دی متیل آمین تولید شده به وسیله آنزیمهای اتولیتیک طی نگهداری، آمونیاک ناشی از آمین زدایی

ترکیبات فنولی در گروه شاهد در همه روزهای تیمار صفر بود و با افزایش درصد پودر والک، میزان ترکیبات فنولی به طور معنی داری در گروه های مختلف تیمار همبرگر افزایش نشان داد ($P<0.05$) (شکل ۴). بیشترین میزان ترکیبات فنولی در همبرگرها روز اول تیمار ۲٪ پودر والک (0.532 ± 0.01) مشاهده شد.



شکل ۴. نمودار تغییرات میزان فنول کل در طول زمان

Rounds و همکاران (۲۰۱۳) اضافه کردن پودر پیاز به همبرگر گوشت گاو سبب افزایش معنی دار ترکیبات فنولی موجود در همبرگر و کاهش معنی دار شاخص های اکسیداسیون چربی شد (۳۶).

مختلف عصاره گیاه بره موم در همبرگر ماهی سبب کاهش میانگین شاخص TVB-N در همبرگرها شد (۳۴).

نتایج میزان فنول کل

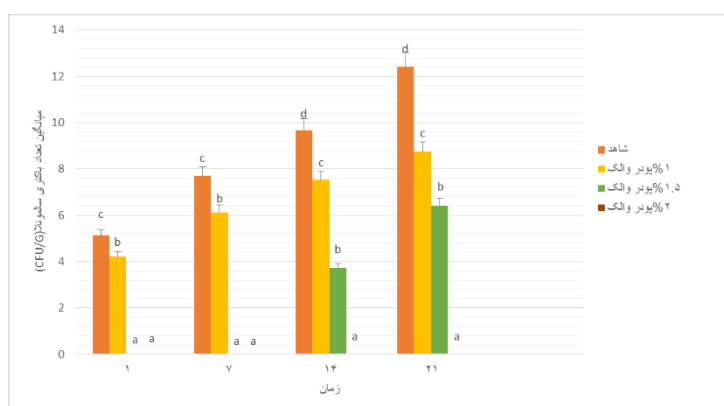
بررسی نتایج ترکیبات فنولی کل نشان داد که تفاوت معنی داری در میزان این ترکیبات در همبرگرها پس از تیمار با درصد های مختلف پودر والک وجود داشت ($P<0.05$). میزان

بالا بودن ترکیبات فنولی دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی پودر والک می باشد. ترکیبات فنولی خاصیت آنتی اکسیدانی بسیار قوی دارد و سبب جذب رادیکالهای آزاد می شوند (۳۵). در مطالعه متینی و درستی (۲۰۲۳) نیز اضافه کردن عصاره زالزالک به همبرگر گوشت گاو سبب افزایش معنی دار ترکیبات فنولی در همبرگر شد (۴). در مطالعه

شمارش تعداد باکتری سالمونلا

پروتئین ها و نیز ممانعت از سنتز لیپیدها می باشد (۳۷). در مطالعه دیگری که توسط Chen و همکاران (۲۰۲۱) انجام شده بود مشخص شد که عصاره زیتون، عصاره سیب، روغن پونه کوهی و روغن دارچین اضافه شده به گوشت خوک چرخ شده سبب کاهش معنی دار تعداد باکتری های سالمونلا به خصوص در روزهای ۳ تا ۷ شد (۳۸).

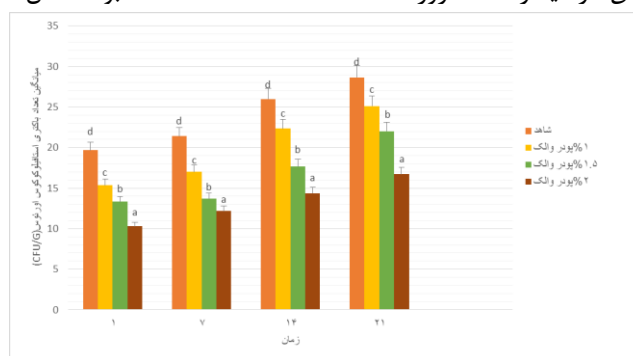
نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد پودر والک تاثیر معنی داری بر میزان رشد باکتری سالمونلا دارد ($P<0.05$) (شکل ۵). بیشترین میزان رشد باکتری سالمونلا برابر 12.0 ± 42.58 مربوط به نمونه شاهد و کمترین میزان رشد مربوط به نمونه حاوی ۲ درصد پودر والک در تمام زمان نگهداری بوده است. مکانیسم ممانعت ترکیبات فنولی از رشد سالمونلا به علت تاخیر یا ممانعت از سنتز DNA و



شکل ۵. نمودار تغییرات تعداد باکتری سالمونلا در طول زمان

شمارش باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

بر اساس نتایج اختلاف معنی داری بین تیمارها وجود دارد ($P < 0.05$) (شکل ۶). نتایج نشان داد که بیشترین مقدار باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس در تیمار شاهد روز ۲۱



شکل ۶. نمودار تغییرات تعداد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در طول زمان

ضدباکتریایی سیر را به اثرات ترکیبات گوگرددار گیاه (آلیسین) بر سنتز DNA و پروتئین پروکاریوت نسبت داد (۴۰). در مطالعات دیگر روی عصاره کلم، اثر ضدباکتریایی آن بر استافیلوکوکوس اورئوس به دلیل محتوای بالای اسید فنولیک آن گزارش و نتایج مشابهی به دست آمد (۴۱)

ترکیبات فنولی موجود در گیاهان غشای خارجی میکروارگانیسمها را تخریب کرده و سبب خروج لیپوساکاریدها و افزایش نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی به ATP می شود. خروج ATP منجر به تمام شدن ذخیره انرژی سلول و مرگ آن می شود (۳۹). درسه و همکاران در سال ۲۰۱۰ فعالیت

بحث و نتیجه گیری

طبیعی با خاصیت ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی به عنوان جایگزینی برای آنتی اکسیدان ها و آنتی باکتریال های صنعتی جهت دستیابی به محصولاتی با ارزش تغذیه ای بالا در مواد غذایی مورد بررسی بیشتری قرار داد که علاوه بر کاهش بار میکروبی، سبب افزایش پایداری اکسیداسیونی و نیز بهبود سایر ویژگی های تغذیه ای محصول می گردد. در نتیجه، توصیه می شود از پودر والک به عنوان افزودنی غذایی در غذاهای فراسودمند برای افزایش ماندگاری آنها استفاده شود.

پیشنهادهات

تحقیقات آینده می تواند بر ترکیب پودر والک با ادویه های دیگر غنی از آنتی اکسیدان ها و آنتی باکتری های طبیعی و همچنین تاثیر استفاده از پودر والک در همبرگر بر خواص حسی و کیفی آن به منظور افزایش پذیرش کلی محصولات متمرکز شود.

ایده این پژوهش بر بهره گیری از خاصیت فیزیکوشیمیایی و ضد میکروبی پودر والک (Wild Garlic) با مقادیر ۱ تا ۲ درصد برای حفظ کیفیت همبرگر گوشت گاو در شرایط نگهداری ۲۱ روزه در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی گراد) استوار بود. نتایج تجزیه و تحلیل شیمیایی همبرگرهای تیمار شده با پودر والک نشان داد که میزان شاخص های اکسیداسیون چربی (PV و TBA و TVB-N) به صورت معنی داری کاهش یافت در حالیکه میزان ترکیبات فنولی افزایش معنی داری داشت. نتایج نشان داد که پودر والک به دلیل داشتن خواص ضد میکروبی می تواند مانع از رشد باکتری های پاتوژن نظیر باکتری های سالمونلا، انتریکس و استافیلوکوکوس اورئوس در همبرگر شود. مقدار تیمار ۲٪ بیشترین تاثیر ضد میکروبی را نشان داد.

با توجه به تأکید سازمان بهداشت جهانی استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی و نتایج حاصل از این پژوهش، می توان استفاده از پودر والک بعنوان یک افزودنی

منابع

1. Alqahtan, N. K., Makki, H. M., Mohamed, H. A., Alnemr, T. M., Al-Senaien, W. A., Al-Ali, S. A., & Ahmed, A. R. (2022). The potential of using bisr date powder as a novel ingredient in beef burgers: The effect on chemical composition, cooking properties, microbial analysis, and organoleptic properties. *Sustainability*, 14(21), 14143.N.##
2. Baer, A. A., & Dilger, A. C. (2014). Effect of fat quality on sausage processing, texture, and sensory characteristics. *Meat Science*, 96(3), 1242–1249##
3. Olvera-Aguirre, G., Piñeiro-Vázquez, Á. T., Sanginés-García, J. R., Sánchez Zárate, A., Ochoa-Flores, A. A., Segura-Campos, M. R., Vargas-Bello-Pérez, E., & Chay-Canul, A. J. (2023). Using plant-based compounds as reservatives for meat products: A review. *Heliyon*, 9(6), e17071..##
4. S. Matini, V. Dorosti., Antibacterial effect of Hawthorn extract on Hamburger. *FSCT* 2023; 20 (134):193-200##
5. Estévez, M. (2021). Critical overview of the use of plant antioxidants in the meat industry: Opportunities, innovative applications and future perspectives. *Meat Science*, 181, 108610.##
6. Ribeiro, J. S., Santos, M. J. M. C., Silva, L. K. R., Pereira, L. C. L., Santos, I. A., da Silva Lannes, S. C., & da Silva, M. V. (2019). Natural antioxidants used in meat

- products: A brief review. Meat Science, 148, 181–188##
7. Falowo, A. B., Fayemi, P. O., & Muchenje, V. (2014). Natural antioxidants against lipid–protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. Food Research International (Ottawa, Ont.), 64, 171–181.##
8. Rasooli, B. 1999. Study of antimicrobial activity of tyme, mint, sumac and wild garlic by in vitro method. Msc Thesis of Urmia university.##
9. BELL, C. and KYRIAKIDES, A. 2002. Salmonella: A Practical Approach to the Organism and Its Control in Foods, Blackwell Publishing Ltd., Oxford, GB.##
10. Pires, M. A., Munekata, P. E. S., Villanueva, N. D. M., Tonin, F. G., Baldin, J. C., Rocha, Y. J. P., Carvalho, L. T., Rodrigues, I., & Trindade, M. A. (2017). The antioxidant capacity of rosemary and green tea extracts to replace the carcinogenic antioxidant (BHA) in Chicken Burgers. Journal of Food Quality, 2017(1), 1–6##
11. Jazayeri, G. A. 1932. The Language of Food, printed and bound by Sepehr Printing House, Tehran, Volume 1, page 182. ##
12. M Krivokapic, V. Jakovljevic, M. Sovrljic, J. Bradic, A. Petkovic, I. Radojevic, S. Brankovic, L. Comic, M. Andjic, A. Kocovic and M. Tomovic. 2020. BIOLOGICAL ACTIVITIES OF DIFFERENT EXTRACTS FROM ALLIUM URSINUM LEAVES. Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research, 77(1) 121-129##
13. Samiei, A. Tabatabaei-Yazdi, F. Mazaheri Tehrani, M. (2018). An investigation into the antioxidant activity, phenolic compounds, antimicrobial effect and interaction of the essential oils of Curcuma longa and Ocimum basilicum on some pathogenic bacteria. JFST No. 74, Vol. 15. 99-107##
14. Kesik, T. Blazewicz, M. Michnowski, A. Michowska, A (2011) Influence of mulching and nitrogen nutrition on bear garlic (*Allium ursinum* L.) growth. Acta sci. pol, hortorum cultus, 10(3), 221-233##
15. Benkelia, N. Dahmouni, S. Onodera, SH, SHiomi, N (2005) Antimicrobial activity of phenolic compound extracts of various onions (*Allium cepa* L.) cultivars and garlic (*Allium sativum* L.). Journal of food technology, 3(1), 30-34. ##
16. Iran Institute of Standards and Industrial Research, National Standard of Iran No. 2304, Characteristics of hamburgers and mixed burgers, test method. 2016. ##
17. H. Egan, H.E. Cox, D. Pearson, Pearson's chemical analysis of foods, Churchill livingstone 1981. ##
18. A. Natseba, I. Lwalinda, E . Kakura, C. Muyanja, J. Muyonga, Effect of pre-freezing icing duration on quality changes in frozen Nile perch (*Lates niloticus*), Food Research International 38(4) (2005) 469-474. ##
19. Y.-J. Jeon, J.Y. Kamil, F. Shahidi, Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod, Journal of agricultural and food chemistry 50(18) (2002) 5167-5178. ##
20. M. Sengul, H. Yildiz, N. Gungor, B. Cetin, Z. Eser, S. Ercisli, Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants, Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences 22(1)(2009) ##

21. Baghi, N., 1995-1996, Study of antimicrobial effect of salvia leriifolia. Phd thesis. Pharmacology faculty. Mashhad medical science university.##
22. Baron EJ. et al., 1984. Zóincer Microbiology. 18th ed. A Publishing division of Prentice-Hall Inc. London.,PP:444-445. 453-456, 605-606, 1186-1187.##
23. Mahun, C.R. , Manuselis, G. 1995. Diagnostic Microbiology. W.B. Saunders. Company, London. pp: 58-96.##
24. International Organization for Standardization. (2017). Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella - Part 1: Detection of Salmonella spp. (ISO 6579-1:2017).##
25. International Organization for Standardization. (1999). Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) - Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium (ISO 6888-1:1999).##
26. Yaghoobi, M., Sanikhani, M., Samimi, Z.,and Kheiry, A., 2022. Selection of a suitable solvent for bioactive compounds extraction of myrtle (Myrtus communis L.) leaves using ultrasonic waves. Journal of Food Processing and Preservation, e16357. ##
27. Ouerfelli, M., Villasante, J., Ben Kaâb, L.B. and Almajano, M. 2019. Effect of neem (Azadirachta indica L.) on lipid oxidation in raw chilled beef patties. Antioxidants. 8(8): 305. ##
28. Jalali, M., Ariiai, P. and Fattahi, E. 2016. Effect of alginate/carboxyl methyl cellulose composite coating incorporated with clove essential oil on the quality of silver carp fillet and Escherichia coli O157:H7 inhibition during refrigerated storage. J Food Science and Technology. 53 (7). 757-765. ##
29. Munekata, P. E. S., Rocchetti, G., Pateiro, M., Lucini, L., Domínguez, R. and Lorenzo, J. M. 2020. Addition of plant extracts to meat and meat products to extend shelf-life and health-promoting attributes: An overview. Current Opinion in Food Science. 31, 81–87. ##
30. M. Hu, C. Jacobsen, Oxidative stability and shelf life of foods containing oils and fats, Elsevier 2016. ##
31. Y. Ozogul, Y. Uçar, The effects of natural extracts on the quality changes of frozen chub mackerel (Scomber japonicus) burgers, Food and Bioprocess Technology 6(6) (2013) 1550-1560. ##
32. S. matini, F. khoshtakhtNejad. 2025. The effect of cinnamon powder on the microbial and chemical properties of hamburger under refrigerated conditions. Studies of Biological Sciences and Biotechnology 3(9). ##
33. F. Valipour Kootenaie, P. Ariiai, D. Khademi Shurmasti, and M. Nemati. 2017. Effect of chitosan edible coating enriched with eucalyptus essential oil and α -tocopherol on silver carp fillets quality during refrigerated storage, Journal of Food Safety. 37 (1): e12295. ##
34. M. Mokhtarian, M. Shabani, R. Kazempoor, Extending Oxidative Stability of Fish Burgers Using Propolis Ethanolic Extract during Storage, Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food

- Technology 16(1) (2021) 109-122. ##
35. A. S, Munoz. (2006). Inhibition of *Staphylococcus aureus* in products by enterocin AS-48 produced in situ and ex situ: Bactericidal synergism with heat. *International Dairy Journal*, 45, 281-8. ##
36. L. Rounds, C.M. Havens, Y. Feinstein, M. Friedman, S. Ravishankar, Concentration-dependent inhibition of *Escherichia coli* O157: H7 and heterocyclic amines in heated ground beef patties by apple and olive extracts, onion powder and clove bud oil, *Meat science* 94(4) (2013) 461-467. ##
37. PS. Negi.2012. Review Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *Int J Food Microbiol*. 156: 7-17##
38. C.H. Chen, J. Marchello, M. Friedman, S. Ravishankar, Plant Extracts and Essential Oils at Concentrations Acceptable to a Sensory Panel Inactivate *Salmonella Typhimurium* DT104 in Ground Pork, *Food and Nutrition Sciences* 12(02) (2021) 162##
39. S. Burt. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods-a review. *International Food Microbiology*. 94 (3): 223-253. ##
40. D. Deresse. 2010. Antibacterial effect of garlic (*Allium sativum*) on *Staphylococcus aureus*: An in vitro study. *Asian Journal of Medical Sciences* 2: 62-65. ##
41. Romano, S, C., Abadi, K., Repetto, V., Vojnov, A A., Moreno, S. 2009. Synergistic antioxidant and antibacterial activity of rosemary plus butylated derivatives. *Food Chemistry*. In press.##