بررسی تاثیر عصاره آبی مرمکی بر ویژگی‌های گوشت چرخ کرده گوساله نگهداری شده در دمای یخچال

یاسمن محمد نامدار[a]، شاهرخ شعبانی[b]*، حسین باخدا[c]

[a] دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

[b] مربی گروه صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

[c] استادیار گروه مکانیزاسیون کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱۰/۱۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۰۶/۳۰

https://dorl.net/dor/20.1001.1.20080123.1402.20.2.3.3 DOI:10.30495/JFTN.2022.65032.11171

چکیده

مقدمه: گیاه مرمکی با نام علمی *Commiphora myrrha* بطور سنتی برای درمان بیمارهای مزمن، ضدالتهاب، تسکین دهنده و ضدمیکروب مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف از تحقیق حاضر بررسی تاثیر آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره آبی مرمکی بر ویژگی‌های گوشت چرخ کرده گوساله نگهداری شده در دمای یخچال می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از عصاره آبی (۰/۵، ۲ و ۳ درصد) گیاه مرمکی به عنوان نگهدارنده طبیعی گوشت گوساله چرخ کرده در طی ۱۴ روز در دمای ۴ درجه سلسیوس استفاده شد. طی این پژوهش خصوصیات شیمیایی (pH، اندیس پراکسید، اندیس تیوباربیتوریک اسید و مواد نیتروژن‌دار فرار کل)، خصوصیات میکروبی(شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها، *استافیلوکوکوس اورئوس* و باکتری‌های سایکروفیل) و خصوصیات حسی نمونه‌های گوشت چرخ کرده مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: بررسی روند تغییرات pH نشان داد که با افزایش زمان نگهداری تا ۷ روز به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) کاهش یافت و سپس از ۷ تا ۱۴ روز میزان pH نمونه‌ها به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) افزایش یافت. تغییرات شاخص‌های اکسیداتیو یعنی اندیس پراکسید و اندیس تیوباربیتوریک اسید نشان داد که افزایش زمان نگهداری منجر به افزایش این شاخص‌ها شد اما بکارگیری عصاره مرمکی و افزایش سطح آن از تغییرات شدید شاخص‌های اکسیداتیو به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) جلوگیری نمود. اندازه‌گیری شاخص TVB-N نشان داد که با افزایش زمان نگهداری این شاخص افزایش می‌یابد اما افزایش سطح نگهدارنده‌های طبیعی به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) منجر به کاهش تغییرات TVB-N می‌شود. بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره مرمکی در گوشت چرخ کرده نشان داد که افزایش زمان نگهداری به طور معنی‌داری منجر به افزایش تعداد کل میکروارگانیسم‌ها، *استافیلوکوکوس اورئوس* و باکتری‌های سایکروفیل در نمونه‌های مورد آزمون می‌گردد. با این وجود بکارگیری عصاره مرمکی و افزایش سطح استفاده از آن‌ها به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) جمعیت میکروبی را کاهش داد و تغییرات آن‌ها را به حداقل رساند. همچنین ارزیابی حسی نمونه‌های گوشت چرخ کرده نشان داد که نمونه تیمار شده با ۳ درصد عصاره مرمکی دارای بالاترین امتیاز خصوصیات حسی در مقایسه با سایر نمونه‌ها بود.

نتیجه‌گیری: به طورکلی می‌توان گفت استفاده از ۳ درصد عصاره مرمکی به عنوان نگهدارنده طبیعی جهت افزایش ماندگاری مواد غذایی روشی امکان پذیر برای کاهش نگهدارنده‌های شیمیایی در این محصولات است.

واژه‌های کلیدی: *ترکیبات زیست فعال، عصاره، گوشت چرخ کرده، مرمکی، نگهدارنده طبیعی*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: shahrokhshabani2013@yahoo.com

مقدمه

گیاهان مخازن غنی از متابولیت‌های ثانویه و در واقع منابع موثره اساسی بسیاری از مواد دارویی می‌باشند، که یک یا برخی از اندام‌های آن‌ها حاوی ماده مؤثره است. این ماده که کمتر از یک درصد وزن خشک گیاه را تشکیل می‌دهد، دارای خواص دارویی مؤثر بر موجودات زنده است. (Krishnaiah *et al.*, 2011) این ترکیبات فرار دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی ذاتی بوده و نقش مهمی در سیستم دفاعی گیاهان در مقابل بیماری‌های ناشی از میکروارگانیسم‌ها ایفا می‌کنند (Farzaneh & Carvalho, 2015).

گیاه مرمکی یکی از گیاهان بومی شمال شرقی آفریقا و بخصوص سومالی است. این گیاه یکی از گیاهان دارویی است که به طور گسترده توسط مصریان باستان مورد استفاده قرار گرفته است. مرمکی معمولا در زبان عربی به عنوان صمغ تلخ شناخته می‌شود. مرمکی به طور سنتی در شرق آفریقا و هند برای درمان بیمارهای مزمن، ضدالتهاب، تسکین دهنده، ضدمیکروب و درمان بیمارهای دهان و دندان مورد استفاده قرار می‌گیرد. علاوه بر این مرمکی یکی از مهمترین محصولاتی است که در صنایع داروسازی، بهداشتی و عطرسازی و همچنین طب سنتی استفاده می‌شود. مهمترین بخش‌های تشکیل دهنده این گیاه صمغ، رزین و ترکیبات فرار می‌باشند که شامل ۶۰-۳۰ درصد صمغ (پلی ساکاریدهای اسیدی)، ۴۰-۲۵ درصد رزین و ۸-۳ درصد ترکیبات فرار (هرابولن[1]، اوژنول و فوران سسکویترپن‌های[2] مختلف) می‌باشد. برخی از ترکیبات زیست فعال موجود در مرمکی شامل سسکویترپن فورانودی ان-۶-۱[3] و متوکسی فورانوگوایا-۹-ان-۸-۱[4] که دارای فعالیت‌های ضدباکتریایی، ضد قارچی و بی حس کنندگی و فورانوائودزما-۱،۳-دی ان[5] و کورزارن[6] می‌باشند که پتانسیل تسکین دهندگی دارند. فورانوزیس-کویتر-پنوئیدسلیند-استرن[7] و آنالوگ‌های آن‌ها ۱۹ درصد اسانس گیاه مرمکی را تشکیل می‌دهند و عامل اصلی رایحه این گیاه می‌باشند. دیگر ترکیبات مهم این گیاه شامل ترپنوئیدها، استروئیدها، فلاونوئیدها، لیگنان‌ها، کربوهیدرات‌ها و مشتقات الکل‌های آلیفاتیک بلند زنجیر هستند و این ترکیبات به گیاه مرمکی فعالیت بیولوژیکی قابل توجهی می‌دهند (Mohamed *et al.*, 2016).

گوشت حاوی اسیدهای‌آمینه ضروری (نظیر هیستیدین، ایزولوسین، لوسین، متیونین، تریپتوفان)، چربی‌ها (به عنوان منبع انرژی برای بدن و حاوی اسیدهای چرب نظیر اسید لینولئیک، لینولنیک و آراشیدونیک) و مواد معدنی نظیر فسفات‌ها و سولفات‌ها، ویتامین‌ها بخصوص ویتامین‌های گروه B و کربوهیدرات‌ها (گلیکوژن) است که نشان دهنده ارزش و اهمیت این محصول مهم در تغذیه انسان می‌باشد. با توجه به غنی بودن گوشت از اسیدهای آمینه ضروری و همچنین ویتامین‌ها و اسیدهای چرب خاص لذا گوشت یکی از منابع پروتئینی اساسی برای رشد و نمو انسان بخصوص کودکان و نوجوانان می‌باشد. بنابراین حفظ خصوصیات تغذیه‌ای آن یکی از اهداف مهم نگهداری گوشت است. سازمان جهانی خواربار و کشاورزی (فائو) سرانه مصرف گوشت (قرمز و سفید) در جهان را ۴۱ کیلوگرم اعلام کرد. این در حالی است که ایرانی‌ها سالانه حدود ۳۶ کیلوگرم گوشت مصرف می‌کنند. این میزان از آمار جهانی کمتر و از میانگین آسیا بالاتر است. همچنین ایران از لحاظ مصرف گوشت بین ۱۹۶ کشور جهان در رتبه ۹۸ قرار دارد (FAO, 2017). براساس اطلاعات مرکز آمار و معاونت امور دامی جهاد کشاورزی تولید سالیانه گوشت در ایران ۷۵۵ هزار تن می‌باشد که در سال‌های اخیر به دلیل گرانی و مشکلات موجود موجب کاهش مصرف گوشت در ایران شده است. بنابراین نگهداری گوشت با استفاده از روش‌های ایمن و کم هزینه می‌تواند یکی از راه‌های موثر در جلوگیری از فساد و افزایش مصرف گوشت در طول سال شود (Rahman, 2007). به دنبال اثبات عوارض نامطلوب ناشی از ترکیبات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی شیمیایی بر سلامت، جایگزینی آن‌ها با ترکیبات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، خصوصا عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی مورد توجه قرار گرفته است (Chan *et al.*, 2000). تحقیقات متعددی در زمینه غذایی و دارویی بر روی عصاره‌های گیاهی به دست آمده گیاهان با

[1] Herabolene [2] Furansesquiterpene
[3] Sesquiterpenes furanodiene-6-one
[4] Methoxyfuranoguaia-9-ene-8-one
[5] Furanoeudesma-1,3-diene [6] Curzarene
[7] Furanoses-quiter-penoidslind-estrene

عوامل زیست فعال انجام شده است (Mohamed *et al.*, 2014; Mohamed *et al.*, 2016; Khaleque *et al.*, 2016; Abdel-Naeem *et al.*, 2016). تحقیقاتی در زمینه خواص عصاره مرمکی و ترکیب آن با سایر گیاهان دارویی برای اهداف پزشکی و داروسازی صورت گرفته‌است (Sotoudeh *et al.*, 2019).

با توجه به نقش بالای فساد میکروبی در محصولات گوشتی و رواج مسمومیت ناشی از آن و تاثیر مطلوب گیاه مرمکی در زمینه فساد اکسیداتیو و میکروبی و همچنین جدید بودن استفاده از چنین عصاره‌ای در صنعت غذایی هدف از این مقاله استفاده از عصاره آبی مرمکی برای حفاظت از گوشت گوساله چرخ شده از فساد اکسیداتیو و میکروبی در طی دوره نگهداری در یخچال می‌باشد.

مواد و روش‌ها

- تهیه و استخراج عصاره گیاه مرمکی

گیاه مرمکی از پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی تهران خریداری شد و سپس توسط کارشناسان هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران نوع گیاه و شماره هرباریوم آن (PMP-854) تایید شد. گیاه به مدت ۷۲ ساعت در سایه و به دور از نور آفتاب خشک گردید. گیاه مرمکی خشک شده با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی (Magic Bullet ساخت کره جنوبی) آسیاب و با الک با مش ۸۰ میکرومتر الک شد (Mohamed *et al.*, 2014). به منظور استخراج عصاره آبی، پودر مرمکی با نسبت ۱ به ۵۰ با حلال (آب مقطر) مخلوط گردید. سپس مخلوط حاصل تحت شرایط همزنی ثابت به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط همزده شد. در ادامه قسمت ترسیب شده و محلول رویی (سوپرناتانت) با استفاده از پمپ خلاء از یکدیگر جدا شدند (این کار دوبار پشت سرهم تحت شرایط فوق صورت پذیرفت). در نهایت محلول مایع حاصل در روتاری تحت خلاء در دمای ۴۰ درجه سلسیوس تغلیظ و حلال آن تبخیر گردید. عصاره به دست آمده تا زمان آزمون‌های بعدی درون ظرفی تیره در یخچال نگهداری شد (Ghafoor *et al.*, 2009).

- آزمون های عصاره گیاه مرمکی

برای تعیین محتوی ترکیبات فنولی عصاره از روش معرف فولین سیوکالتیو[1] استفاده شد. محتوی ترکیبات فنولی عصاره به صورت معادل میلی‌گرم اسید گالیک در هر میلی‌لیتر (mg gae/mL) بیان شد (Lu *et al.*, 2011). تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره مرمکی از طریق واکنش مهار رادیکال DPPH صورت گرفت. برای این منظور مقدار مشخص از عصاره با محلول ۰/۱ میلی‌مولار DPPH مخلوط شد و بعد از گذشت زمان ۳۰ دقیقه در تاریکی جذب نمونه‌ها در ۵۱۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. از غلظت‌های مختلف DPPH (۱۰۰-۰ ppm) جهت رسم نمودار کالیبراسیون استفاده گردید و در نهایت شاخص IC_{50} برای هر عصاره تعیین شد. شاخص IC_{50} به عنوان حداقل غلظتی تعریف می‌شود که قادر است ۵۰ درصد فعالیت رادیکال DPPH را کاهش دهد. مقدار IC_{50} برای هر نمونه به صورت g/mL بیان شد (Roussos, 2011).

- تیمار کردن گوشت گوساله چرخ کرده توسط عصاره مرمکی

بعد از کشتار و در طی جمود نعشی[2]، گوشت ماهیچه گوساله تحت شرایط یخچال و در ظروف استریل به آزمایشگاه منتقل شد. سطح بیرونی در اتانول ۹۶ ٪ (حجمی/حجمی) غوطه ور و سپس اتانول باقیمانده در سطح گوشت مشتعل گردید و بعد از جداسازی سطح خارج گوشت تحت شرایط اسپتیک، قسمت داخلی گوشت به وسیله چرخ گوشت استریل چرخ شد. در این مطالعه از عصاره آبی (۰/۵، ۲ و ۳ درصد) گیاه مرمکی به عنوان نگهدارنده طبیعی گوشت گوساله چرخ کرده و نمونه شاهد فاقد عصاره در طی ۱۴ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس استفاده شد. گوشت گوساله چرخ کرده حاوی عصاره در بسته‌های پلی اتیلنی استریل به مقدار ۶۰ گرم بسته‌بندی، شماره‌گذاری و نگهداری شده و آزمون‌های شیمیایی و میکروبی لازم در طی روزهای ذکر شده در بالا بعد از تیمار نمودن با عصاره روی نمونه‌های شاهد و تیمار شده صورت گرفت (Ghasemi *et al.*, 2017).

[1] Folin Ciocalteau method
[2] Rigor mortis

- آزمون‌های شیمیایی

۳ گرم از هریک از نمونه‌های گوشت در ۲۷ میلی‌لیتر آب مقطر هموژن شد و سپس با استفاده از pH متر که توسط بافرهای استاندارد با pHهای ۴ و ۷ کالیبره شده بود، میزان pH هریک از تیمارها سنجیده شد. (Djenane *et al.*, 2012) به منظور تعیین اندیس پراکسید، ۱ گرم از چربی استخراجی با محلول اسید استیک و کلروفرم (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۲: ۳) مخلوط و سپس ۰/۵ میلی‌لیتر یدورپتاسیم (مرک آلمان) اشباع، ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته ۱ درصد به مخلوط افزوده و مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات پتاسیم ۰/۰۱ نرمال تیتر شد و میزان اندیس پراکسید محاسبه گردید. (Natseba *et al.*, 2005) میزان اندیس تیوباربیتوریک TBA با دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenway 6305 ساخت آلمان) تعیین شد. مقدار جذب هر نمونه در ۵۳۲ نانومتر خوانده شد و برحسب میلی گرم مالون دی آلدئید در یک کیلوگرم نمونه بیان گردید (Natseba *et al.*, 2005). برای تعیین میزان نیتروژن فرار (TVB-N) به روش تقطیر کلدال، نمونه‌ها مقدار ۳ گرم از نمونه گوشت چرخ شده و با ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در داخل بالن دستگاه کلدال ریخته و ۶ عدد سنگ جوش و اکتان (ضدکف) به آن اضافه و به دستگاه تقطیر وصل شد و محلول مقطر جمع آوری شده با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال (مرک آلمان) تا ظهور مجدد رنگ قرمز تیتر شد. مقدار نیتروژن فرار به صورت میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه با توجه به حجم اسید سولفوریک مصرفی و وزن نمونه محاسبه گردید. (Goulas & Kontominas, 2005) آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد.

- آزمون‌های میکروبی

۱۰ گرم از هر نمونه گوشت چرخ کرده با ۹۰ میلی‌لیتر محلول آب پپتونه رقیق کننده ۰/۱ درصد استریل به خوبی همگن شد و از آن رقت‌های مختلف (تا رقت 10^{-5}) تهیه شد. سپس از رقت‌های مورد نظر با استفاده از روش کشت آمیختی و به صورت کشت دوتایی با بکارگیری محیط کشت P.C.A[1] (مرک آلمان) کشت داده شدند و هر کدام از آن‌ها در دمای ۳۲ درجه سلسیوس به مدت ۷۲–۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری (Uniqe ساخت امریکا) شدند. بعد از گذشت مدت زمان مورد نظر پلیت‌های مناسب انتخاب، تعداد میکروارگانیسم‌های آن‌ها در روزهای یک، دو، هفت و ۱۴ شمارش و به صورت log CFU/g در یک گرم نمونه گزارش شد. (Djenane *et al.*, 2012) سپس رقت‌های مختلف برای شمارش میزان آلودگی *استافیلوکوکوس اورئوس* به صورت کشت سطحی روی محیط کشت BPA[2] (مرک آلمان) کشت داده شده و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند و در نهایت جمعیت میکروبی به صورت log CFU/g بیان شد (Djenane *et al.*, 2012). برای شمارش میزان آلودگی باکتری‌های سایکروفیل با روش کشت آمیختنی و با بکارگیری محیط‌کشت پلیت کانت آگار (مرک آلمان) کشت داده پلیت‌ها در پنج درجه سلیسوس به مدت ۴۸–۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. بعد از گرمخانه گذاری پلیت های مناسب انتخاب و اقدام به شمارش و محاسبه میزان آلودگی نموده و به صورت log CFU/g گزارش شدند (Barbosa *et al.*, 2009). آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد.

- آزمون‌های حسی

ارزیابی حسی با استفاده از گروه ارزیاب ده نفره آموزش دیده به منظور بررسی خصوصیات حسی نمونه‌های گوشت چرخ کرده تیمار شده (به صورت کوفته‌های کوچک کامل پخت شده توسط بخار) از بابت بررسی بو، طعم، رنگ در نمونه‌ها انجام شد. برای این منظور از روش هدونیک ۵ امتیازی استفاده شد (Djenane *et al.*, 2012).

- تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. نتایج حاصل از آزمایش‌ها شیمیایی، میکروبی و حسی به منظور بررسی اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها از طریق تحلیل واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) با استفاده از نرم افزار SPSS.22 آنالیز شدند و برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ($p<0/05$) استفاده شد.

[1] Plate Count Agar

[2] Baird Parker Agar

یافته‌ها

نتایج حاصل از این ارزیابی نشان داد که محتوی ترکیبات فنولی کل موجود در عصاره آبی گیاه مرمکی برابر با ۷۸/۵۴ ± ۰/۶۵ mg gea/g می‌باشد. همچنین این عصاره به منظور تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی علیه رادیکال آزاد DPPH مورد ارزیابی قرار گرفت. دیده شد که عصاره آبی استخراج شده از گیاه مرمکی دارای فعالیت مهارکنندگی علیه رادیکال آزاد DPPH بود و میزان IC_{50} آن برابر با ۰/۰۳ ± ۰/۴۸ g/mL است. میزان راندمان استحصال عصاره آبی گیاه مرمکی در این پژوهش ۲/۱±۰/۰۴ ٪ می‌باشد، یعنی به ازای هر صد گرم پودر مرمکی مقدار ۲/۱ گرم عصاره بدست آمده است.

براساس نتایج تحلیل واریانس که در جدول ۱ نشان داده شده است، مشخص شد که افزایش سطح بکارگیری عصاره گیاه مرمکی به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) تغییرات pH را کاهش دادند. بیشترین میزانpH مربوط به روز اول تیمار شاهد و کمترین pH متعلق به تیمار ۰/۵ ٪ عصاره در روز هفتم می‌باشد. همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد با افزایش مدت زمان نگهداری تا روز هفتم میزان pH نمونه‌ها به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) کاهش می‌یابد اما افزایش زمان نگهداری از روز هفتم تا پایان روز چهاردهم منجر به افزایش pH شد که این میزان افزایش pH در نمونه شاهد و نمونه‌های با میزان پایین‌تر نگهدارنده‌های طبیعی مرمکی به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) با شیب بیشتری صورت گرفته است.

نتایج مقایسه میانگین اندیس پراکسید نمونه‌های مختلف در طی ۱۴ روز نگهداری نشان می‌دهد که با افزایش مدت زمان نگهداری به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) اندیس پراکسید تمامی نمونه‌ها افزایش می‌یابد که در این میان بالاترین میزان افزایش اندیس پراکسید در تیمار شاهد مشاهده می‌شود و کمترین میزان تغییرات اندیس پراکسید در نمونه‌های گوشت چرخ کرده تیمار شده با ۳ درصد عصاره گیاه مرمکی مشاهده می‌شود (جدول ۲).

جدول ۱- تغییرات میزان pH نمونه‌های مختلف گوشت چرخ کرده حاوی عصاره مرمکی طی نگهداری در ۱۴ روز

Table 1- pH changes of minced meat containing *Commiphora Myrrha* extract during storage

Time (day) / sample	Day1	Day2	Day7	Day14
Control	6.11 ± 0.01^{aA}	5.83 ± 0.03^{gB}	5.68 ± 0.02^{gD}	5.72 ± 0.01^{gC}
Aqueous extract 0.5%	6.10 ± 0.02^{aA}	5.95 ± 0.02^{eB}	5.77 ± 0.02^{eD}	5.81 ± 0.02^{eC}
Aqueous extract 2%	6.10 ± 0.02^{aA}	6.04 ± 0.01^{cB}	5.87 ± 0.01^{cD}	5.92 ± 0.02^{cC}
Aqueous extract 3%	$6.11 \pm 0/01^{aA}$	6.08 ± 0.01^{aB}	6.03 ± 0.01^{aC}	6.05 ± 0.02^{aC}

*حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p<۰/۰۵$) در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p<۰/۰۵$) در هر ردیف می‌باشند.

جدول ۲- تغییرات اندیس پراکسید (meq/kg) نمونه‌های مختلف گوشت چرخ کرده حاوی عصاره مرمکی در طی دوره نگهداری

Table 2- Changes in the peroxide index (meq/kg) of different samples of minced meat containing apricot extract during the storage period

Time (day) / sample	Day1	Day2	Day7	Day14
Control	0.081 ± 0.001^{aD}	0.155 ± 0.001^{aC}	0.392 ± 0.001^{aB}	0.702 ± 0.001^{aA}
Aqueous extract 0.5%	0.080 ± 0.001^{aD}	0.128 ± 0.001^{cC}	0.336 ± 0.000^{cB}	0.614 ± 0.001^{cA}
Aqueous extract 2%	0.081 ± 0.001^{aD}	0.101 ± 0.001^{fC}	0.256 ± 0.001^{fB}	0.473 ± 0.001^{fA}
Aqueous extract 3%	0.081 ± 0.001^{aD}	0.094 ± 0.000^{gC}	0.203 ± 0.001^{gB}	0.419 ± 0.000^{gA}

*حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p<۰/۰۵$) در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p<۰/۰۵$) در هر ردیف می‌باشند.

همان‌طور که روند تغییرات اندیس تیوباربیتوریک اسید نشان می‌دهد با افزایش مدت زمان نگهداری در تمامی تیمارها شاخص تیوباربیتوریک اسید به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) افزایش می‌یابد که مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد تیمار شاهد به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) دارای بالاترین شاخص تیوباربیتوریک اسید در طی دوره نگهداری ۱۴ روزه در دمای ۴ درجه سلسیوس است و تیمارهای گوشت چرخ کرده حاوی غلظت‌های بالاتر عصاره گیاه مرمکی به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) دارای کمترین شاخص تیوباربیتوریک اسید در طی دوره نگهداری نسبت به سایر تیمارها می‌باشند (جدول ۳).

نتایج مقایسه میانگین اندیس TVB-N نمونه‌های مختلف در طی ۱۴ روز نگهداری نشان می‌دهد که با افزایش مدت زمان نگهداری به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) اندیس TVB-N تمامی نمونه‌ها افزایش می‌یابد که در این میان بالاترین میزان افزایش اندیس TVB-N در تیمار شاهد مشاهده می‌شود و کمترین میزان تغییرات اندیس TVB-N در تیمارهای حاوی سطوح بالای عصاره (۳ درصد) مشاهده می‌شود (جدول ۴).

با افزایش درصد بکارگیری عصاره و پودر گیاه مرمکی به عنوان نگهدارنده طبیعی تعداد میکروارگانیسم‌ها به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) کاهش یافت. از طرف دیگر افزایش مدت زمان نگهداری نیز در تیمار شاهد و تیمارهای با مقدار پایین عصاره (۰/۵ درصد) گیاه مرمکی منجر به افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) تعداد کل میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های گوشت چرخ کرده شد با این وجود بکارگیری مقادیر بالاتر عصاره (۲ و ۳ درصد) گیاه مرمکی به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) جمعیت کل میکروارگانیسم‌ها را کاهش داد (جدول ۵).

همان‌طور که در جدول ۶ نشان داده شده با افزایش مدت زمان نگهداری تعداد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در نمونه شاهد و نمونه‌های گوشت چرخ کرده حاوی غلظت‌های پایین‌تر عصاره (۰/۵ درصد) افزایش یافت اما با افزایش درصد بکارگیری عصاره از ۰/۵ تا ۳ درصد در تهیه گوشت‌های چرخ کرده تعداد باکتری‌ها به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) کاهش یافت.

جدول ۳- تغییرات اندیس تیوباربیتوریک اسید (میلی گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم) نمونه‌های مختلف گوشت چرخ کرده حاوی عصاره مرمکی در طی دوره نگهداری

Table 3- Changes in the index of thiobarbituric acid (mg malonaldehyde/kg) of different samples of minced

Time (day) / sample	Day1	Day2	Day7	Day14
Control	0.266±0.002 ^{aD}	0.412±0.002 ^{aC}	0.752±0.002 ^{aB}	0.979±0.001 ^{aA}
Aqueous extract 0.5%	0.266±0.003 ^{aD}	0.376±0.001 ^{cC}	0.648±0.000 ^{cB}	0.864±0.001 ^{cA}
Aqueous extract 2%	0.267±0.002 ^{aD}	0.321±0.001 ^{fC}	0.574±0.000 ^{fB}	0.762±0.000 ^{fA}
Aqueous extract 3%	0.265±0.001 ^{aD}	0.308±0.001 ^{gC}	0.515±0.001 ^{gB}	0.720±0.000 ^{gA}

* حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p<۰/۰۵$) در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p<۰/۰۵$) در هر ردیف می‌باشند.

جدول ٤- تغییرات TVB-N (mg/100g) نمونه‌های مختلف گوشت چرخ کرده حاوی عصاره مرمکی در طی دوره نگهداری

Table 4- Changes in TVB-N (mg/100g) of different samples of minced meat containing marigold extract during the storage period

Time (day) / sample	Day1	Day2	Day7	Day14
Control	7.51±0.09 ^{aD}	31.88±0.31 ^{aC}	78.73±0.45 ^{aB}	145.56±0.45 ^{aA}
Aqueous extract 0.5%	7.50±0.05 ^{aD}	21.68±0.42 ^{cC}	42.44±1.22 ^{cB}	67.47±0.15 ^{cA}
Aqueous extract 2%	7.56±0.08 ^{aD}	13.92±0.38 ^{fC}	20.44±1.22 ^{fB}	24.52±0.15 ^{fA}
Aqueous extract 3%	9.52± 0.13 ^{aD}	31.88±0.31 ^{aC}	16.01±0.44 ^{gB}	145.56±0.45 ^{aA}

* حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p<۰/۰۵$) در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p<۰/۰۵$) در هر ردیف می‌باشند.

جدول ۵- تغییرات شمارش کلی میکروارگانیسم‌های (log CFU/g) نمونه‌های مختلف گوشت چرخ کرده حاوی عصاره مرمکی در طی دوره نگهداری

Table 5- Changes in the total number containing *Commiphora myrrha* extract during storage of Micro organisms (log CFU/g) of various minced meat samples

Time (day) / sample	Day1	Day2	Day7	Day14
Control	5.28 ±0.04 ^{aD}	5.78 ±0.08 ^{aC}	6.23±0.04 ^{aB}	7.56±0.06 ^{aA}
Aqueous extract 0.5%	4.59±0.04 ^{cD}	4.99±0.06 ^{cC}	5.28±0.05 ^{cB}	5.98±0.03 ^{cA}
Aqueous extract 2%	3.86±0.09 ^{fD}	3.98±0.05 ^{fC}	4.06±0.04 ^{fB}	4.18±0.06 ^{fA}
Aqueous extract 3%	3.70±0.06 ^{gD}	3.81±0.04 ^{gC}	3.90±0.03 ^{gB}	3.97±0.02 ^{gA}

* حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p<۰/۰۵$) در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p<۰/۰۵$) در هر ردیف می‌باشند.

جدول ٦- تغییرات شمارش باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (log CFU/g) نمونه‌های مختلف گوشت چرخ کرده حاوی عصاره مرمکی در طی دوره نگهداری

Table 6- *Staphylococcus aureus* count changes (log CFU/g) of different minced meat samples Containing *Commiphora Myrrha* extract during storage

Time (day) / sample	Day1	Day2	Day7	Day14
Control	2.21 ±0.02 ^{aD}	3.35± 0.04 ^{aC}	4.23±0.03^{aB}	4.23±0.03^{aB}
Aqueous extract 0.5%	1.54±0.03 ^{cD}	1.86± 0.05 ^{cC}	2.27±0.06 ^{cB}	2.27±0.06 ^{cB}
Aqueous extract 2%	0.68±0.02 ^{fD}	0.84±0.06 ^{fC}	1.02±0.04 ^{fB}	1.02±0.04 ^{fB}
Aqueous extract 3%	0.52±0.03 ^{gD}	0.66± 0.02 ^{gC}	0.81±0.01 ^{gB}	0.81±0.01 ^{gB}

* حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p<۰/۰۵$) در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p<۰/۰۵$) در هر ردیف می‌باشند.

در جدول ۷ نشان داده شده است با افزایش درصد بکارگیری عصاره گیاه مرمکی به عنوان نگهدارنده طبیعی تعداد کل باکتری‌های سایکروفیل به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) کاهش یافت. از طرف دیگر افزایش مدت زمان نگهداری نیز در تیمار شاهد و تیمارهای با مقدار پایین عصاره (۰/۵ درصد) گیاه مرمکی منجر به افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) تعداد کل باکتری‌های سایکروفیل در نمونه‌های گوشت چرخ کرده شد با این وجود بکارگیری مقادیر بالاتر عصاره (۲ و ۳ درصد) گیاه مرمکی به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) جمعیت کل باکتری‌های سایکروفیل را کاهش داد.

در جدول ۸ نشان داده شده از لحاظ تمامی خصوصیات حسی (طعم، بوی بد و پذیرش کلی) به استثنای رنگ، تیمار تهیه شده با ۳ درصد عصاره مرمکی از بالاترین امتیاز حسی برخوردار بود. بنابراین همان‌طور که در جدول ۸ نشان داده شده است تیمار شاهد و تیمار حاوی ۰/۵ درصد عصاره مرمکی در پایان دوره نگهداری به طور معنی‌داری از بالاترین امتیاز مربوط به رنگ برخوردار هستند. همچنین میزان پذیرش کلی نمونه‌های گوشت چرخ کرده حاوی ۳ درصد عصاره مرمکی به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بیشتر از سایر تیمارها بود.

بحث

- بررسی قابلیت استفاده از مرمکی به عنوان نگهدارنده طبیعی

محتوی ترکیبات فنولی کل موجود در عصاره آبی گیاه مرمکی بر اساس نتایج برابر با ۰/۶۵ ± ۷۸/۵۴ mg gae/g مشاهده شد. همچنین به منظور تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی این عصاره علیه رادیکال آزاد DPPH مشخص شد عصاره آبی استخراج شده از گیاه مرمکی دارای فعالیت مهارکنندگی علیه رادیکال آزاد DPPH بود و میزان IC_{50} آن برابر با ۰/۰۳ g/mL ± ۰/۴۸ است. Mohamed و همکاران (۲۰۱۴)، به مطالعه فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه مرمکی پراختنه و دریافتند که عصاره ۰/۵ درصد این گیاه قادر به حدود ۷۰ درصد بازدارندگی رادیکال DPPH می‌باشد. این محققین اظهار نمودند که عصاره مرمکی

جدول ۷- تغییرات شمارش باکتری سایکروفیل (log CFU/g) نمونه‌های مختلف گوشت چرخ کرده حاوی عصاره مرمکی در طی دوره نگهداری

Table 7. Changes in the count of psychrophilic bacteria (log CFU/g) of different samples of minced meat Containing *Commiphora Myrrha* extract during storage

Time (day) / sample	Day1	Day2	Day7	Day14
Control	1.75±0.03 ^{aD}	2.94 ±0.07 ^{aC}	3.57±0.04 ^{aB}	4.22±0.05 ^{aA}
Aqueous extract 0.5%	1.25±0.02 ^{cD}	1.62±0.03 ^{cC}	2.01±0.05 ^{cB}	2.44±0.02 ^{cA}
Aqueous extract 2%	0.43±0.01 ^{fD}	0.66±0.04 ^{fC}	0.97±0.03 ^{fB}	1.13±0.05 ^{fA}
Aqueous extract 3%	0.24±0.02 ^{gD}	0.38±0.03 ^{gC}	0.76±0.02 ^{gB}	0.88±0.04 ^{gA}

* حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد (p<۰/۰۵) در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد (p<۰/۰۵) در هر ردیف می‌باشند.

جدول ۸- تغییرات امتیاز پارامترهای حسی نمونه‌های مختلف گوشت چرخ کرده حاوی عصاره و پودر مرمکی

Table 8- Changes in the score of sensory parameters of different samples of minced meat containing *Commiphora Myrrha* extract and lard powder

Sensory index / sample	color	taste	odur
Control	5.00 ± 0.00 ^{a}	2.00 ± 0.00 ^{g}	2.00 ± 0.00 ^{g}
Aqueous extract 0.5%	5.00 ± 0.00 ^{a}	2.50 ± 0.33 ^{e}	2.50 ± 0.33 ^{e}
Aqueous extract 2%	4.00 ± 0.00 ^{b}	4.00 ± 0.00 ^{b}	4.00 ± 0.00 ^{b}
Aqueous extract 3%	4.00 ± 0.00 ^{b}	5.00 ± 0.00 ^{a}	5.00 ± 0.00 ^{a}

*حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد (p<۰/۰۵) در هر ستون می‌باشند.

دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی می‌باشد که این فعالیت آنتی اکسیدانی به دلیل ترکیبات فنولی آن می‌باشد که قادر به مهار رادیکال‌های آزاد هستند. همچنین AL-Samarrai (۲۰۱۸)، به ارزیابی محتوی ترکیبات فنولی و محتوی ترکیبات زیست فعال عصاره گیاه مرمکی پرداخت. نتایج این تحقیقات نشان داد که محتوی ترکیبات فنولی عصاره مرمکی ۳۰/۶۴ mg/100g می‌باشد. علاوه بر این‌ها Danial و Majrashi (۲۰۱۶)، در زمینه فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوی فنولی عصاره گیاه مرمکی مطالعاتی انجام داد براساس نتایج این محققین مشخص شد که عصاره این گیاه قادر به مهار حدود ۲۵ درصد فعالیت رادیکال DPPH می‌باشد و محتوی ترکیبات فنولی آن نیز حدود ۵۵ mg gae/g بود. همه این نتایج بیانگر فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوی ترکیبات فنولی قابل قبول عصاره گیاه مرمکی می‌باشد که قابلیت استفاده از آن به عنوان نگهدارنده طبیعی در محصولات غذایی را تایید می‌نماید.

- بررسی آزمون‌های مرتبط با pH

بیشترین میزان pH مربوط به روز اول تیمار شاهد و کمترین pH متعلق به تیمار ۰/۵ ٪ عصاره در روز هفتم می‌باشد. بر اساس دستور العمل نظارت بر گوشت قرمز سازمان دامپزشکی و همچنین اداره استاندارد محدوه pH بایستی بین ۵/۴–۵/۸ باشد که نمونه‌ها در روز اول خارج از محدوده بوده ولی در روزهای بعد در محدوده می‌باشند. احتمالا با افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌ها بخصوص باکتری‌های اسید لاکتیک کربوهیدرات‌ها و گلیکوژن موجود در گوشت تجزیه و منجربه تولید اسیدهای آلی به ویژه اسید لاکتیک می‌شوند. تولید این اسیدهای آلی سبب افزایش محتوی اسید (اسیدیته قابل تیتر) و در نتیجه کاهش pH نمونه‌ها می‌شود (Emiroğlu *et al.*, 2010). از طرف دیگر افزایش زمان نگهداری از ۷ تا ۱۴ روز سبب افزایش pH شد. با افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های گوشت چرخ کرده به دلیل تولید آنزیم‌های پروتئولیتیک و تجزیه پروتئین‌ها موجود در گوشت ترکیبات آمینی، آمونیاک و اسیدهای آمینه آزاد میزان pH نمونه‌ها افزایش می‌یابد (Hyytiä *et al.*, 1999). همچنین با توجه به این‌که عصاره و پودر گیاه مرمکی تاثیر بازدارنده روی فعالیت و رشد میکروارگانیسم‌ها دارند لذا احتمالا عصاره و پودر گیاه در غلظت بالا سبب کاهش فعالیت‌های آنزیمی میکروارگانیسم‌ها می‌شوند و در نتیجه کاهش pH با شیب کمتری انجام می‌شود (Tongnuanchan & Benjakul, 2014). نتایج این پژوهش با یافته‌های دیگر محققین نیز

مطابقت داشت. Cantú-Valdéz و همکاران در سال ۲۰۲۰، به مطالعه تاثیر استفاده از اسانس مرزنگوش مکزیکی (*Mexican oregano*) به عنوان عامل نگهدارنده طبیعی جهت جایگزینی BHT در فرمولاسیون گوشت چرخ کرده برای افزایش ماندگاری آن در طی ۷ روز نگهداری در دمای یخچال پراختند. براساس نتایج به دست آمده توسط این محققین مشخص شد که استفاده از این اسانس و افزایش درصد بکارگیری آن جهت تیمار نمودن گوشت چرخ کرده به طور معنی‌داری از تغییرات pH جلوگیری می‌نماید. آن‌ها اظهار نمودند که تغییرات pH به دلیل فعالیت میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های گوشت چرخ کرده می‌باشد که با بکارگیری اسانس مرزنگوش مکزیکی بخاطر فعالیت ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی آن از تغییرات شیمیایی و نیز فعالیت میکروارگانیسم‌ها جلوگیری می‌شود

- بررسی قابلیت استفاده از مرمکی به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی

بالاترین میزان افزایش اندیس پراکسید در تیمار شاهد مشاهده شد و کمترین میزان تغییرات اندیس پراکسید در نمونه‌های گوشت چرخ کرده تیمار شده با ۳ درصد عصاره گیاه مرمکی مشاهده گردید. وجود ترکیبات زیست فعال موجود در گیاه مرمکی نظیر هرابولن، اوژنول و فوران سسکویترپن‌ها[1] و نیز سسکویترپن فورانودی ان-۶-۱[2] و متوکسی فورانوگوایا-۹-ان-۸-۱[3] ترپنوئیدها، استروئیدها و الکل‌های آلیفاتیک بلند زنجیر به دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی و مهار رادیکال‌ها و شلاته کردن فلزات سبب جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها و روغن‌ها می‌شوند که این امر احتمالا باعث جلوگیری از افزایش اندیس پراکسید خواهد شد (Mohamed *et al.*, 2016). نتایج حاصل از این مطالعه از لحاظ تغییرات اندیس پراکسید با نتایج دیگر محققین نیز مطابقت داشت. به طور مشابه Amiri و همکاران (۲۰۲۰)، تاثیر استفاده از اثر آنتی اکسیدانی فیلم نشاسته‌ای حاوی نانوامولسیون‌های بارگذاری شده با اسانس آویشن شیرازی و سینامالدئید روی اندیس پراکسید و اندیس تیوباربیتوریک اسید گوشت گوساله چرخ کرده را در طی ۲۰ روز نگهداری در دمای یخچال مورد مطالعه قرار دادند. براساس نتایج به دست آمده توسط این محققین مشخص شد که در طی دوره نگهداری شاخص‌های اکسیداسیون (اندیس پراکسید و اندیس تیوباربیتوریک اسید) برای تمامی نمونه‌ها به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد که در این میان اکسیداسیون تیمار شاهد با شیب بیشتری نسبت به سایر تیمارها افزایش یافت. این محققین دلیل این رفتار را به فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی و پلی فنولی زیست فعال موجود در اسانس آویشن شیرازی و نیز فعالیت آنتی اکسیدانی سینامالدئید نسبت دادند. آن‌ها بیان کردند که این ترکیبات به دلیل خاصیت احیا کنندگی که دارند قادر به جلوگیری از شکستن ترکیبات هیدروپراکسیدی و نیز احیای آن‌ها هستند که از شروع واکنش‌های زنجیری اکسیداسیون جلوگیری و یا شروع آن‌ها را به تاخیر می‌اندازند.

همچنین مشخص شد که نمونه‌های گوشت چرخ کرده تیمار شده با ۳ درصد عصاره گیاه مرمکی در طی دوره نگهداری دارای کمترین تغییرات شاخص تیوباربیتوریک اسید در مقایسه با سایر تیمارها می‌باشد. به دلیل ناپایداری پراکسیدهای تولید شده ناشی از اکسیداسیون چربی‌ها لذا استفاده از اندیس پراکسید به تنهایی جهت پیش بینی اکسیداسیون ممکن است مناسب نباشد. با شکستن هیدروپراکسیدهای تشکیل شده از اکسیداسیون چربی‌ها و اسیدهای چرب در مراحل اولیه اکسیداسیون ترکیبات کربونیلی و الکی با وزن مولکولی کم تولید می‌شوند که به عنوان محصولات ثانویه اکسیداسیون شناخته می‌شوند که می‌توانند عامل بدطعمی و بوی بد در مواد غذایی حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع در طی دوره نگهداری شوند. به همین خاطر مراحل سنجش شرایط پیشرفته اکسیداسیون با شاخص تیوباربیتوریک اسید مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. با این وجود با افزایش غلظت عصاره گیاه مرمکی جهت تیمار گوشت چرخ کرده به دلیل افزایش محتوی ترکیبات فنولی و به دنبال آن افزایش ترکیبات و ظرفیت آنتی اکسیدانی در نمونه‌ها، تشکیل هیدروپراکسیدها کاهش یافته و واکنش‌های اکسیداسیونی به تاخیر می‌افتند که در نهایت این امر باعث کاهش تشکیل محصولات ثانویه اکسیداسیون و اندیس تیوباربیتوریک اسید خواهد شد. کاهش شاخص‌های اکسیداسیون در نتیجه افزایش ترکیبات فنولی ممکن است به دلیل عواملی نظیر اختلال در

[1] Furansesquiterpene [2] Sesquiterpenes furanodiene-6-one [3] Methoxyfuranoguaia-9-ene-8-one

واکنش‌های زنجیری اکسیداسیون، از بین بردن هیدروپراکسیدها و شلاته کردن یون‌های فلزی باشد. بنابراین این ترکیبات فنولی ممکن است، محصولات اولیه و ثانویه اکسیداسیون را به تاخیر و یا از تشکیل آن‌ها جلوگیری نمایند .نتایج حاصل از این پژوهش با یافته‌های دیگر محققین نیز مطابقت داشت. Mehdizadeh و همکاران (۲۰۲۰)، تاثیر استفاده عصاره پوست انار و اسانس آویشن را روی اندیس تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های گوشت گوساله در طی ۲۱ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس را مورد ارزیابی و مطالعه قرار دادند. براساس نتایج به دست آمده توسط این محققین مشخص شد که استفاده از عصاره پوست انار و اسانس آویشن به طور موثری از اکسیداسیون چربی‌های گوشت و افزایش اندیس تیوباربیتوریک اسید جلوگیری می‌نماید. این محققین این رفتارها را به فعالیت آنتی اکسیدانی و مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد ناشی از اکسیداسیون چربی‌ها توسط ترکیبات زیست فعال موجود در عصاره پوست انار و نیز اسانس آویشن نسبت دادند.

- بررسی اثر ضد میکروبی مرمکی

در این میان بالاترین میزان افزایش اندیس TVB-N در تیمار شاهد مشاهده شد و کمترین میزان تغییرات اندیس TVB-N در تیمارهای حاوی سطوح بالای عصاره (۳ درصد) مشاهده گردید. با بکارگیری عصاره گیاه مرمکی و افزایش غلظت آن‌ها، فعالیت باکتریایی و آنزیمی در نمونه‌های تیمار شده کاهش می‌یابد که این امر منجر به کاهش تشکیل مواد نیتروژن‌دار فرار می‌گردد و از طرف دیگر با توجه به افزایش جمعیت میکروبی در طول دوره نگهداری، میزان مواد نیتروژن‌دار فرار با افزایش زمان نگهداری به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) افزایش می‌یابد. این نتایج با یافته‌های سایر محققین نیز مطابقت داشت. Majdinasab و همکاران (۲۰۲۰)، تاثیر استفاده از اسانس آویشن شیرازی و مرزه[1] روی افزایش ماندگاری فیله مرغ تحت شرایط یخچال به مدت ۱۲ روز را مورد ارزیابی قرار دادند. براساس نتایج به دست آمده توسط این محققین مشخص شد که بکارگیری اسانس و افزایش غلظت آن به طور موثری سبب کاهش شاخص TVB-N در نمونه‌های فیله مرغ شد. با این وجود افزایش زمان نگهداری به طور قابل توجهی منجر به افزایش شاخص TVB-N در فیله‌های مرغ گردید. این محققین دلیل این رفتار را ناشی از فعالیت ضدمیکروبی اسانس‌ها دانستند. آن‌ها اظهار نمودند که اسانس‌های آویشن شیرازی و مرزه به دلیل وجود ترکیبات فنولی قادر به سرکوب کردن رشد میکروارگانیسم‌ها در فیله‌های مرغ در طی دوره نگهداری می‌باشند که این امر همراه با کاهش تجزیه ترکیبات پروتئینی در فیله‌ها مرغ خواهد بود. با کاهش تجزیه پروتئین‌ها شاخص TVB-N نیز به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد.

بکارگیری مقادیر بالاتر عصاره (۲ و ۳ درصد) گیاه مرمکی به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) جمعیت کل میکروارگانیسم‌ها را کاهش داد. همان‌طور که نشان داده شد، با افزایش مدت زمان نگهداری تعداد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در نمونه شاهد و نمونه‌های گوشت چرخ کرده حاوی غلظت‌های پایین‌تر عصاره (۰/۵ درصد) افزایش یافت اما با افزایش درصد بکارگیری عصاره از ۰/۵ تا ۳ درصد در تهیه گوشت‌های چرخ کرده تعداد باکتری‌ها به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) کاهش یافت. Djenane و همکاران (۲۰۱۲)، تاثیر استفاده از اسانس نعناع و اسطوخودوس به منظور جلوگیری از فعالیت باکتری‌های *E. coli* و *استافیلوکوکوس اورئوس* تلقیح یافته در گوشت چرخ شده را مورد مطالعه قرار دادند. براساس نتایج به دست آمده مشخص شد که استفاده از اسانس‌ها در مقایسه با تیمار شاهد سبب کاهش جمعیت میکروبی شد. نتایج آن‌ها نشان داد که استفاده از اسانس اسطوخودوس در گوشت چرخ کرده در جلوگیری از هر دو باکتری موثر بود اما استفاده از اسانس نعناع تنها تاثیر قابل توجهی روی باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* داشت.

نتایج نشان داد با افزایش درصد بکارگیری عصاره گیاه مرمکی به عنوان نگهدارنده طبیعی تعداد کل باکتری‌های سایکروفیل به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) کاهش یافت. براساس مطالعات صورت گرفته مشخص شده که اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی که دارای فعالیت ضدمیکروبی قوی علیه پاتوژن‌های غذایی دارند حاوی مقادیر بالایی از

[1] Summer savory

ترکیبات فنولی می‌باشند. بنابراین مکانیسم عمل اسانس‌ها مشابه با فعالیت ضدمیکروبی ترکیبات فنولی است. یکی از خصوصیات ویژه اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی قابلیت عبور آن‌ها از دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها است که سبب ایجاد واکنش آن‌ها با ترکیبات ساختاری موجود در غشای سلولی می‌شود. این حالت سبب قابلیت نفوذپذیری غشاء، اختلال در ساختار اصلی سلول‌ها و از بین بردن هموستازی سلولی (حفظ تعادل سلولی) می‌شود. هنگامی‌که تحت تاثیر این عوامل بخشی از محتوی سلولی باکتری به محیط اطراف نشت می‌کند این سلول‌ها نسبت به مرگ حساس‌تر می‌شوند (Seow *et al.*, 2014). بنابراین استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در مواد غذایی از این طریق سبب واکنش با سلول‌های باکتریایی و در نتیجه مرگ آن‌ها می‌شود. نتایج حاصل از این پژوهش با یافته‌های دیگر محققین در مطالعات مختلف نیز مطابقت داشت. Krichen و همکاران (۲۰۲۰)، پتاسیل فعالیت ضدمیکروبی اسانس استخراج شده از ضایعات پسته در نمونه‌های گوشت چرخ کرده در طی ۹ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس را مورد مطالعه قرار دادند. آن‌ها تاثیر استفاده از غلظت‌های مختلف این اسانس را روی شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها، باکتری‌های سایکروفیل، مخمرها و کپک‌ها و نیز باکتری‌های کلی فرم را در طی ۹ روز در مقایسه با BHT مورد ارزیابی قرار دادند. این محققین گزارش دادند که با افزایش زمان نگهداری از روز اول تا پایان روز نهم تعداد همه میکروارگانیسم‌ها و شاخص‌های میکروبی مورد آزمون افزایش یافتند. افزایش شاخص‌های میکروبی در تیمار شاهد در کل دوره نگهداری بالاتر از سایر تیمارها بود و علاوه بر این اسانس ضایعات پسته در مقایسه با BHT به طور قابل توجهی توانست رشد میکروارگانیسم‌ها را به تاخیر بیاندازد. همه این محققین دلیل این رفتارها را به فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی نسبت دادند. آن‌ها اشاره نمودند که وجود ترکیبات فنولی در عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی عامل مهم و تعیین کننده جهت استفاده از این ترکیبات به عنوان نگهدارنده طبیعی برای افزایش ماندگاری محصولات غذایی فسادپذیر می‌باشد.

- **آزمون‌های حسی**

همان‌طور که نشان داده شد از لحاظ تمامی خصوصیات حسی (طعم، بوی بد) به استثنای رنگ، تیمار تهیه شده با ۳ درصد عصاره مرمکی از بالاترین امتیاز حسی برخوردار بود. همچنین مشخص گردید که تیمار شاهد و تیمار حاوی ۰/۵ درصد عصاره مرمکی به طور معنی‌داری از بالاترین امتیاز مربوط به رنگ برخوردار هستند. بنابراین به طورکلی نشان داده شد که میزان پذیرش کلی نمونه‌های گوشت چرخ کرده حاوی ۳ درصد عصاره مرمکی به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بیشتر از سایر تیمارها بود. احتمالا استفاده از سطوح پایین عصاره به دلیل عدم توانایی مقابله با رشد میکروارگانیسم‌های موجود در گوشت چرخ کرده سبب ایجاد طعم و بوی نامطلوب در نمونه‌های می‌شود که سبب شده که ارزیاب‌ها امتیاز پایین‌تری از این لحاظ به نمونه‌های حاوی عصاره و پودر گیاه مرمکی با سطوح پایین بدهند. بنابراین سطوح بالای پودر گیاه مرمکی و عصاره آن (بخصوص نمونه‌های حاوی ۳ درصد عصاره) به دلیل تاثیر مطلوبی که روی سرکوب فعالیت میکروارگانیسم‌ها و نیز تغییرات شیمیایی نمونه‌ها (شاخص‌های اکسیداتیو و TVB-N) داشتند منجر به جلوگیری از تشکیل متابولیت‌های میکروبی و نیز محصولات اکسیداسیون می‌گردند (Mohamed & Mansour, 2012). با این وجود سطوح بالای عصاره گیاه مرمکی به دلیل رنگ تیره‌ای که داشتند احتمالا سبب شدند که داورهای چشایی امتیاز رنگ تیمار شاهد و تیمار حاوی ۰/۵ درصد عصاره را بالاتر از سایر تیمارها ارزیابی نمایند. براین اساس تیمار گوشت چرخ کرده حاوی ۳ درصد عصاره مرمکی تاثیر منفی روی خصوصیات حسی اندازه‌گیری شده نداشت (با استثنای رنگ) و نیز به طور موثری از رشد میکروارگانیسم‌ها در گوشت چرخ جلوگیری نمود که این امر احتمالا سبب شده ارزیاب‌های حسی امتیاز بالاتری از لحاظ پذیرش کلی به این تیمار بدهند. Amiri و همکاران (۲۰۲۰)، تاثیر استفاده از اسانس آویشن و سینامالدئید روی خصوصیات حسی نمونه‌های گوشت چرخ کرده را مورد ارزیابی قرار دادند. براساس نتایج به دست آمده توسط این محققین مشخص شد که استفاده از اسانس آویشن و سینامالدئید به دلیل فعالیت ضدمیکروبی و نیز فعالیت آنتی اکسیدانی که دارند منجر به بهبود خصوصیات حسی و پذیرش کلی نمونه‌های گوشت چرخ کرده خواهند شد.

نتیجه‌گیری

امروزه به دلیل مشکلات ناشی از مصرف نگهدارنده‌های شیمیایی توجه به سمت نگهدارنده‌های طبیعی و با پایه گیاهان معطوف شده است. از این‌رو هدف از این مطالعه بکارگیری عصاره گیاه مرمکی جهت افزایش ماندگاری گوشت چرخ کرده تحت دمای یخچال بود. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره گیاه مرمکی دارای فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوی ترکیبات فنولی قابل قبولی بود. با افزایش زمان نگهداری تا ۷ روز pH کاهش و سپس روند آن صعودی شد. شاخص‌های اکسیداتیو (اندیس پراکسید و اندیس تیوباربیتوریک اسید) در طی دوره ماندگاری افزایش یافتند اما استفاده از عصاره گیاه مرمکی موجب پایداری بیشتر نمونه‌های گوشت چرخ کرده شد. شاخص TVB-N با افزایش زمان نگهداری افزایش یافت اما استفاده از عصاره و افزایش درصد بکارگیری آن‌ها به طور معنی‌داری تغییرات این شاخص را کاهش دادند. نتایج ارزیابی خصوصیات میکروبی (شمارش کلی، شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس*، باکتری‌های سایکروفیل) نشان داد که در طی دوره نگهداری تعداد میکروارگانیسم‌ها افزایش می‌یابد اما بکارگیری عصاره گیاه مرمکی و افزایش سطح آن‌ها به طور معنی‌داری از رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری کرد. با بررسی خصوصیات حسی نمونه‌های گوشت چرخ کرده مشخص شد که نمونه‌های تیمار شده با ۳ درصد عصاره گیاه مرمکی از بالاترین امتیاز شاخص‌های حسی و پذیرش کلی برخوردار بود. به طورکلی نمونه گوشت چرخ کرده تیمار شده با ۳ درصد عصاره مرمکی به عنوان بهترین نمونه انتخاب شد.

پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آینده استفاده از عصاره گیاه مرمکی در ساختار فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی جهت افزایش نگهداری محصولات غذایی مختلف در نظر گرفته شود. استفاده از نانومولسیون عصاره گیاه مرمکی جهت افزایش ماندگاری محصولات غذایی، استفاده از عصاره گیاه مرمکی در ترکیب با سایر عصاره‌های گیاهی جهت استفاده از اثر سینرژیستی آن‌ها برای افزایش ماندگاری مواد غذایی هم از جمله مواردی است که می‌تواند مورد بررسی بیشتر قرار گیرد.

منابع

Abdel-Naeem, H. H. S. & Mohamed, H. M. H. (2016). Improving the Physico-chemical and sensory characteristics of camel meat burger patties using ginger extract and papain. Meat Science, 118, 52–60. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.03.021.

AL-Samarrai, O. R. (2018). Studying of Phytochemical, Nutritive values and Antioxidant ability of Commiphora myrrha. *Al-Mustansiriyah Journal of Pharmaceutical Sciences (AJPS)*, *17*(1), 12-12.

Amiri, E., Aminzare, M., Azar, H. H. & Mehrasbi, M. R. (2019). Combined antioxidant and sensory effects of corn starch films with nanoemulsion of Zataria multiflora essential oil fortified with cinnamaldehyde on fresh ground beef patties. *Meat Science*, *153*, 66-74.

Barbosa, L. N., Rall, V. L. M., Fernandes, A. A. H., Ushimaru, P. I., da Silva Probst, I. & Fernandes Jr, A. (2009). Essential oils against foodborne pathogens and spoilage bacteria in minced meat. *Foodborne pathogens and disease*, *6*(6), 725-728.

Chan, K., Islam, M. W., Kamil, M., Radhakrishnan, R., Zakaria, M. N. M., Habibullah, M. & Attas, A. (2000). The analgesic and anti-inflammatory effects of Portulaca oleracea L. subsp. sativa (Haw.) Celak. *Journal of ethnopharmacology*, *73*(3), 445-451.

Djenane, D., Aïder, M., Yangüela, J., Idir, L., Gómez, D. & Roncalés, P. (2012). Antioxidant and antibacterial effects of Lavandula and Mentha essential oils in minced beef inoculated with E. coli O157: H7 and S. aureus during storage at abuse refrigeration temperature. *Meat science*, *92*(4), 667-674.

Emiroğlu, Z. K., Yemiş, G. P., Coşkun, B. K. & Candoğan, K. (2010). Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. *Meat science*, *86*(2), 283-288.

Farzaneh, V., & Carvalho, I. S. (2015). A review of the health benefit potentials of herbal plant infusions and their mechanism of actions. *Industrial Crops and Products*, *65*, 247-258.

Ghafoor, K., Choi, Y. H., Jeon, J. Y. & Jo, I. H. (2009). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from grape (Vitis vinifera) seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(11), 4988-4994.

Ghasemi, J., Mehsti, P., Nouri Saeedlou, S., Ghasemi, A., Nasiri Seideh, L. &Ayrmelo, P. (2017) Investigating the effect of rosemary extract on inhibiting the oxidation of fats and the growth of Staphylococcus aureus bacteria in ground beef. Iran Food Science and Industry, 14 (63), 325-336. [In Persian]

Goulas, A. E. & Kontominas, M. G. (2005). Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (Scomber japonicus): biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, *93*(3), 511-520.

Hyytiä, E., Hielm, S., Mokkila, M., Kinnunen, A. & Korkeala, H. (1999). Predicted and observed growth and toxigenesis by Clostridium botulinum type E in vacuum-packaged fishery product challenge tests. *International Journal of Food Microbiology*, *47*(3), 161-169.

Khaleque, M. A., Keya, C. A., Hasan, K. N., Hoque, M. M., Inatsu, Y. & Bari, M. L. (2016). Use of cloves and cinnamon essential oil to inactivate Listeria monocytogenes in ground beef at freezing and refrigeration temperatures. *LWT-Food Science and Technology*, *74*, 219-223.

Krichen, F., Hamed, M., Karoud, W., Bougatef, H., Sila, A. & Bougatef, A. (2020). Essential oil from pistachio by-product: potential biological properties and natural preservative effect in ground beef meat storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-11.

Krishnaiah, D., Sarbatly, R. & Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing*, *89*(3), 217-233.

Mohamed, A. A., Ali, S. I., EL-Baz, F. K., Hegazy, A. K. & Kord, M. A. (2014). Chemical composition of essential oil and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts of Commiphora myrrha resin. *Industrial Crops and Products*, *57*, 10-16.

Mohamed, A. G., Abbas, H. M., Kassem, J. M., Gafour, W. A. & Attalah, A. G. (2016). Impact of myrrh essential oil as a highly effective antimicrobial agent in processed cheese spreads. *International Journal of Dairy Science*, *11*, 41-51.

Mohamed, H. M. & Mansour, H. A. (2012). Incorporating essential oils of marjoram and rosemary in the formulation of beef patties manufactured with mechanically deboned poultry meat to improve the lipid stability and sensory attributes. *LWT-Food Science and Technology*, *45*(1), 79-87.

Natseba, A., Lwalinda, I., Kakura, E., Muyanja, C. K. & Muyonga, J. H. (2005). Effect of pre-freezing icing duration on quality changes in frozen Nile perch (Lates niloticus). *Food Research International*, *38*(4), 469-474.

Rahman, M. S. (Ed.). (2007). *Handbook of food preservation*. CRC press.

Roussos, P. A. (2011). Phytochemicals and antioxidant capacity of orange (Citrus sinensis) juice produced under organic and integrated farming system in Greece. *Scientia Horticulturae*, *129*(2), 253-258.

Seow, Y. X., Yeo, C. R., Chung, H. L. & Yuk, H. G. (2014). Plant essential oils as active antimicrobial agents. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *54*(5), 625-644.

Sotoudeh, R., Gholamnezhad, Z. & Aghaee, A. (2019). The anti-diabetic and antioxidant effects of a combination of Commiphora mukul, Commiphora myrrha and Terminalia chebula in diabetic rats. Avicenna Journal of Phytomedicine. 1-11.

Tongnuanchan, P. & Benjakul, S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of Food Science*, *79*(7).

Evaluating the Effect of *Commiphora Myrrha* Aqueous Extract on the Chemical and Microbial Properties of Ground Beef at Refrigerator Temperature

Y. Mohammad Namdar[a], Sh. Shabani [b*], H. Bakhoda [c]

[a] M. Sc. Student of the Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[b*] Academic Member of the Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[c] Assistant Professor of the Department of Agricultural Mechanization, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 3 January 2022 Accepted: 25 August 2022

Abstract

Introduction: The myrrh herb by the scientific name of *Commiphora myrrha* is traditionally used for chronic diseases treatment, anti-inflammatory, painkiller, and an antimicrobial agent. The aim of the present study was to investigate the effect of aqueous extract on properties of ground beef stored at refrigerator temperature.

Materials and Methods: In this study, aqueous extract (0.5, 2, and 3%) of *Commiphora myrrha* (Myrrh) was used as a Bio Preservative to extend the shelf life of the ground beef during 14 days of storage at 4 °C. In this study, chemical properties (peroxide value, Thiobarbituric acid value, and total volatile basic nitrogen), microbial properties (total count of microorganisms, *Staphylococcus aureus*, and psychrophilic and mesophilic bacteria), and sensory properties of ground beef samples were evaluated.

Results: Examination of pH changes showed that by increasing the storage time up to 7 days, the pH of all samples decreased (p<0.05), and then from 7 to 14 days, the pH of the samples increased significantly (p<0.05). Changes in oxidative indices, i.e. peroxide index and Thiobarbituric acid index, showed that increasing the storage time led to an increase in these indices, but the use of Myrrh extract prevented significant changes in oxidative indices (p<0.05). Measurement of the TVB-N index showed that by increasing storage time, this index increases, by increasing the level of bio preservatives significantly (p<0.05) led to a decrease in TVB-N changes. Examination of the antimicrobial activity of Myrrh extract in ground beef showed an increase in the total count, *S. aureus*, and psychrophilic and mesophilic bacteria in the tested samples. However, by increasing the concentration of Myrrh extract (p<0.05) significantly reduced the microbial population and minimized their changes. The sensory evaluation of ground beef samples showed that the treated sample with 3% Myrrh extract had the highest score and also the highest acceptability as compared to other samples.

Conclusion: It might be concluded that the application of 3% Myrrh extract as a bio preservative to extend the shelf life of perishable products is a promising way to reduce the use of chemical preservatives in these products.

Keywords: Bio Preservative, Bioactive Compounds, *Commiphora myrrha* (Myrrh), Extract, Ground Meat.

* Corresponding Author: shahrokhshabani2013@yahoo.com