

## اثر عصاره علف لیمو بر زمان ماندگاری و ویژگی‌های کیفی گوشت گوساله چرخ کرده طی نکه داری

### در دمای ۴ درجه سلسیوس

مهرداد کریمی مجد<sup>۱</sup>، مهناز هاشمی روان<sup>۱\*</sup>، علیرضا شهاب لواسانی<sup>۱</sup>

۱. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

\*نویسنده مسئول: [m\\_hashemiravan@yahoo.com](mailto:m_hashemiravan@yahoo.com)

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۸/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۶/۱۶

### چکیده

امروزه با مشخص شدن مضرات استفاده از نکه‌دارنده‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، استفاده از عصاره‌های گیاهی برای افزایش ماندگاری مواد غذایی به‌خصوص فرآورده‌های گوشت اهمیت بسزایی دارد. همچنین به کار بردن عصاره‌های طبیعی، به منزله یکی از منابع مناسب آنتی‌اکسیدانی، برای بهبود کیفیت انواع گوشت در حال افزایش است. در این بررسی عصاره علف لیمو تهیه شد و جهت ارزیابی حداقل غلظت کشندگی و مهارکنندگی در گوشت گوساله با غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام و غلظت‌های معادل غلظت حداقل مهارکنندگی (MIC) و غلظت حداقل میزان کشندگی (MBC) علیه باکتری *اشریشیاکلی* ۲۵۹۲۲ و جمعیت کلی میکروارگانیسم‌ها انجام شد. کلیه آزمایش‌ها در طی روزهای صفر و دوازدهم نکه داری در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی در سطح معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) با ۵ تیمار در سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. خصوصیات مورد بررسی شامل شمارش کلی میکروارگانیسم، شمارش جمعیت *اشریشیاکلی*، pH، ارزیابی حسی (طعم و مزه، بو و رنگ) با روش هدونیک پنج نقطه‌ای و ده ارزیاب تعلیم دیده، رنگ سنجی (شاخص‌های روشنایی، قرمزی، زردی)، میزان ازت فرار تام و درصد رطوبت بودند. نتایج به دست آمده با روش مقایسه میانگین و آزمون دانکن و آنالیز واریانس دو طرفه در سطح معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) آنالیز شدند. با توجه به نتایج مقادیر MIC برای *اشریشیاکلی* و جمعیت کلی میکروارگانیسم‌ها به ترتیب برابر ۲/۴۴ و ۱/۵۶ و مقادیر MBC برای *اشریشیاکلی* و جمعیت کلی میکروارگانیسم‌ها به ترتیب برابر ۱۵/۵ و ۱۲/۵ به دست آمد. نتایج نشان داد که با افزایش درصد عصاره علف لیمو شاخص‌های میکروبی و ازت فرار تام به‌طور معنی‌داری در طی دوره نکه داری کاهش می‌یابد ( $p < 0/05$ ). شاخص‌های روشنایی و قرمزی و زردی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ( $p < 0/05$ )؛ اما درصد رطوبت و همچنین خصوصیات طعم و مزه و قابلیت جویدن و همچنین ویژگی‌های بافتی در مقادیر ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). در نهایت با در نظر گرفتن مجموع نتایج تغییرات فیزیکیوشیمیایی، میکروبی و کیفی گوشت گوساله در طی دوره نکه داری و همچنین نظرات ارزیاب‌ها تیمار حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو در هر کیلوگرم گوشت چرخ کرده گوساله به‌عنوان تیمار برتر جهت استفاده در گوشت گوساله انتخاب گردید.

واژگان کلیدی: گوشت گوساله، عصاره علف لیمو، MIC، MBC

### مقدمه

نشان می‌دهد که این مشکل همچنان ادامه دارد. علاوه بر خطرات بیولوژیکی، شیمیایی و فیزیکی موجود، خطرات جدیدی مانند عامل بیماری جنون‌گاو نیز ظهور یافته‌اند. امروزه مصرف‌کنندگان انتظارات خاصی را در مورد مناسب بودن و کیفیت ظاهری گوشت دارند (Fan et al., 2012).

اقداماتی در بهداشت گوشت می‌تواند به‌عنوان یک رویکرد نوین بر پایه بررسی احتمال خطر بهداشتی در نقاطی از زنجیره‌ی غذایی به کار گرفته شوند، که آن

گوشت همواره به‌عنوان یکی از عوامل مهم انتقال بیماری‌های ناشی از غذا گستره بیماری‌های ناشی از مصرف انواع گوشت که در بهداشت عمومی اهمیت دارند، به علت تغییرات صورت گرفته در سیستم‌های تولید و فرآوری آن متحول شده است، ولی مطالعات همه‌گیرشناسی و برنامه پایش بیماری‌های انسانی که بر روی عوامل بیماری‌زای ناشی از غذا از جمله، *اشریشیاکلی* <sup>۱</sup> O157:H7، باکتری‌های گونه کمپیلوباکتر *سالمونلا* <sup>۲</sup> و *یرسینیا انتروکولیتیکا* <sup>۳</sup> صورت گرفته است،

3 *Yersinia enterocolitica*

1 *Escherichia coli*

2 *Campylobacter Salmonella*

نگهدارنده‌های طبیعی مختلفی حاوی ترکیبات فنلی و با خواص آنتی‌اکسیدانی وجود دارد که می‌تواند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و به‌منظور جایگزینی آن‌ها با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند عصاره گیاهان، اسانس‌ها و ترکیبات فنلی مورد استفاده قرار گیرد. ضرورت انجام این تحقیق از کاربرد گسترده و روزمره گوشت چرخ‌کرده گوساله و اجتناب ناپذیری استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی ناشی می‌شود تا بتوان با پیشنهاد‌های صحیح و مقرون به‌صرفه بخشی از سلامت جامعه را تأمین نموده و ضرر و زیان‌های ناشی از هزینه‌ی درمان و همچنین ضررهای اقتصادی ناشی از فساد محصولات پروتئینی به‌ویژه گوشت چرخ‌کرده را کاهش داد (Vasta and Luciano, 1981).

یکی از گیاهان بومی ایران که پتانسیل بالایی برای استفاده به‌عنوان ترکیب آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی دارد، علف لیمو است. علف لیمو<sup>۲</sup> با نام علمی سیمبوپگون سیتراوس<sup>۳</sup> و متعلق به خانواده پواسه<sup>۴</sup> بوده به‌طور گسترده‌ای در مناطق حاره‌ای دنیا به‌خصوص هند و سریلانکا پراکنده است. این گیاه نوعی از علف‌های استوایی است که بوی لیمو می‌دهد (Chisowa et al., 1998).

علف لیمو، چمن معطر، پوتار، ناگرد، کاه‌مکی با نام علمی سیمبوپگون<sup>۵</sup> نوعی از علف‌های استوایی است که بوی لیمو می‌دهد. اسانس این گیاه دارای خواصی مانند آنتی‌باکتریایی قوی، اشتهاآور، ضدکرم و ضد نفخ است. مصرف موضعی این اسانس سبب کاهش دردهای روماتیسمی و عصبی می‌گردد. اسانس این گیاه دارای کاربرد بسیار وسیع در صنایع آرایشی و بهداشتی، صنایع غذایی، کنسروسازی و همچنین صنایع داروسازی است و سالانه ۶۰۰۰ تن از اسانس علف لیمو در جهان تولید می‌گردد. گیاه علف لیمو خاصیت ضد

نقاط بیشترین ارزش را در کاهش احتمال خطر ناشی از غذا برای مصرف‌کنندگان داشته باشد. همچنین دستیابی به این رویکرد مستلزم این است که با تأکید بر پیشگیری و کنترل آلودگی در تمام جنبه‌های تولید و فرآوری‌های بعدی گوشت، اقدامات ویژه‌ای مبتنی بر علم مدنظر قرار گیرد و کاربرد اصول HACCP یک فاکتور مهم و اساسی است (Wazawa et al., 1992). اکسیداسیون چربی‌ها عامل عمده‌ی فساد کیفیت گوشت است و به علت سرعت بالای ناشی از واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد و عامل اصلی تغییرات رنگ، افت طعم و ارزش تغذیه‌ای آن است که در نهایت زمان نگه‌داری گوشت را محدود می‌نماید (Kanner, 1994).

به‌علاوه آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی سال‌هاست که برای تأخیر در فساد اکسیداتیو گوشت استفاده می‌شوند اما مصرف آن‌ها برای مصرف‌کنندگان قابل‌پذیرش نیست. نگه‌داری مواد غذایی در شرایط نزدیک به طبیعی همواره از اهداف بشر بوده است. امروزه مصرف‌کننده‌ها از معایب نگه‌دارنده‌های مصنوعی تا حد زیادی آگاه بوده و تنها سلامتی ظاهری مواد غذایی برای آن‌ها مدنظر نیست، بلکه به روند نگه‌داری مواد غذایی و ترکیبات و نگه‌دارنده‌های به کار رفته نیز توجه زیادی معطوف است (Camo et al., 2008).

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مواد گوناگونی با خواص شیمیایی متفاوت هستند که به‌طور وسیعی در گیاهان وجود دارند. آن‌ها اکسیداسیون را مهار کرده یا به تأخیر می‌اندازند و یا جلوی تشکیل و گسترش رادیکال‌های آزاد را می‌گیرند (Whang et al., 1988).

برگ بسیاری از گیاهان برای بهبود خواص حسی و افزایش طول عمر به مواد غذایی افزوده می‌شود مانند برگ خانواده لگومیناسه<sup>۱</sup>. برگ‌های رزماری منبع ترکیبات فنلی هست که به‌طور وسیعی به‌عنوان مواد با ترکیبات آنتی‌اکسیدانی شناخته شده است (Schimmer et al., 2008).

2 Lemon grass  
3 Cymbopogon citratus  
4 Poaceae  
5 Cymbopogon

1 Leguminosae

## روش کار

تهیه عصاره علف لیمو  
 عصاره علف لیمو به صورت آماده و در بسته بندی‌های شیشه‌ای از شرکت زربند تهیه و خریداری گردید. نمونه‌گیری و آماده‌سازی  
 در این مطالعه ابتدا گوشت تازه گوساله و کشتار روز از شرکت مهیا پروتئین تهیه شد و جهت انجام آزمون‌ها به آزمایشگاه دامپزشکی واقع در تهران انتقال یافت. نمونه‌های گوشت گوساله در کیسه‌های استوماکر بسته‌بندی و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد به مدت یک شبانه‌روز نگهداری شد به منظور انجام آزمایش، پس از دیفراست نمونه‌ها، مقدار ۱۲۰۰ گرم گوشت گوساله چرخ‌کرده با غلظت‌های مختلف (صفر، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ ppm) عصاره علف لیمو حاصل از شرکت زرد بند به روش غوطه‌وری آغشته گردید، اشرشیاکلی سویه O157:H7 از کلکسیون باکتری‌ها و قارچ‌های ایران<sup>۲</sup> تهیه شد و به صورت هموزن شده  $10^5$  cfu/ml به ۹۰ میلی‌لیتر محیط کشت تربیتون سوی‌براث<sup>۳</sup> ساخت شرکت مرک آلمان حاوی مکمل نووبیوسین (۲۰ mg/l) اضافه شد و برای ۱۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد و در ادامه ۱۰۰ میکرو لیتر از نمونه غنی‌شده مورد نظر در محیط آنوزین متیلن بلو<sup>۴</sup> و مک‌کانکی سوربیتول‌دار<sup>۵</sup> ساخت شرکت مرک آلمان حاوی مکمل سفکسیم و تلوریت پتاسیم کشت و به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه و پس از آن در کیسه‌های مخصوص زیپ‌دار در دمای یخچال نگه داری شد لازم به ذکر است که نمونه‌برداری در شرایط استریل و در مجاورت شعله بر روی گوشت گوساله چرخ‌کرده تیمار و شاهد در روزهای صفر و به عمل آمد (Rounds et al., 2013).

باکتریایی و ضد قارچی دارد. به هنگام مخلوط شدن با فلفل سیاه برای رفع درد قاعدگی و حالت تهوع مفید است (امید بیگی، ۱۳۹۰).  
 اسانس این گیاهان حاوی ترکیبات فنلی، ترپنی و غیرترپنی است، گونه‌های مختلف علف لیمو گیاهانی هستند چندساله (۵ تا ۶ سال عمر می‌کنند) که در مناطق گرمسیر در سطوح وسیعی می‌رویند. مهم‌ترین گونه‌های این گیاه از نظر مواد مؤثره عبارت‌اند از ناردوس، یاوارنکوسا دیستنز، سیتراوس، استراکیک، مارتینی، وینتریانوس، پندولوس، فلاکسوسوس و کیسیانوس. ریشه این گیاه کوتاه و کم و بیش افشان است و دارای انشعاب‌های فراوانی است. ارتفاع گونه‌های مختلف علف لیمو متفاوت است و بسته به شرایط اقلیمی محل رویش گیاه بین ۹۰ تا ۲۴۰ سانتی‌متر است (امید بیگی، ۱۳۹۰).  
 برگ‌ها به رنگ سبز روشن معمولاً تسمه‌ای شکل و طویل می‌باشند. پیکر رویشی (برگ‌ها و ساقه‌های جوان) اکثر این گیاهان دارای اسانس است که این اسانس بویی شبیه به بوی لیمو دارد. مقدار اسانس و نیز ترکیبات تشکیل‌دهنده آن بستگی به گونه گیاه و شرایط اقلیمی محل رویش مانند بافت خاک، حاصلخیزی خاک، زمان و روش برداشت گیاه دارد و بین ۱ تا ۳ درصد است  
 همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه علف لیمو به اثبات رسیده به طوری که اسانس آن در مقایسه با آلفا توکوفرول، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری داشته و معادل بوتیل‌هیدروکسی‌تولون<sup>۱</sup> عمل می‌کند. بر این اساس هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر عصاره علف لیمو بر روی گوشت گوساله چرخ‌کرده و به منظور بررسی اثرات استفاده از این نگه‌دارنده طبیعی بر روی بعضی تغییرات رشد میکروبی و پارامترهای شیمیایی است (امید بیگی، ۱۳۹۰).

2 Persian Type Culture Collection (PTCC)

3 Tryptic Soy Broth (TSB)

4 Eosin Methylene Blue (EMB)

5 Standard Methods Agar (SMA)

1 Butylated Hydroxy Toluene (BHT)

کدبندی تیمارهای تحقیق مطابق با جدول ۱ است.

جدول ۱- تیمارهای مورد ارزیابی در تحقیق

ردیف	غلظت عصاره علف لیمو (ppm)	کد تیمار
۱	۲۰۰ گرم گوشت گوساله چرخ کرده بدون عصاره علف لیمو	C0
۲	۲۵۰ عصاره علف لیمو ppm ۲۰۰ گرم گوشت گوساله چرخ کرده حاوی	C1
۳	۵۰۰ عصاره علف لیمو ppm ۲۰۰ گرم گوشت گوساله چرخ کرده حاوی	C2
۴	۱۰۰۰ عصاره علف لیمو ppm ۲۰۰ گرم گوشت گوساله چرخ کرده حاوی	C3
۵	۲۰۰ گرم گوشت گوساله چرخ کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت حداقل بازدارندگی رشد	C4
۶	۲۰۰ گرم گوشت گوساله چرخ کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت حداقل مهارکنندگی رشد	C5

### آزمون‌های گوشت

اشریشیاکلی است با آنس استریل برداشته شد و روی محیط مک کانکی براث در ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه گذاری و جهت آزمون تأییدی و تکمیلی آن را در لوله حاوی بریلیانت گرین با یک لاکتوزبراث و آب پیتونه، کشت داده، در دمای ۴۴ درجه سلسیوس انکوبه نموده سپس بعد از ۲۴ ساعت با معرف کواکس حلقه بنفش ایجاد شد که نشان‌دهنده وجود اندول در آزمون تکمیلی است (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۶ a).

میزان پلی فنل کل

محتوای فنل عصاره لیمو از طریق آزمون کالیمتریک تخمین زده شد. ۰/۵ میلی لیتر از عصاره با ۰/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین سیوکالتیو ۰/۲ مولار مخلوط گردید. پس از ۳ دقیقه ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول سدیم کربناته آبی یک درصد افزوده شد و با آب مقطر به حجم نهایی ۵ میلی لیتر رسید. این مخلوط در دمای اتاق و در شرایط تاریکی به مدت ۹۰ دقیقه نگه‌داری شد و سپس جذب آن در ۷۲۵ نانومتر در مقابل آب مقطر به‌عنوان شاهد سنجیده شد. نتایج برحسب میکروگرم اکی‌والان‌های اسیدگالیک بر ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره از طریق منحنی کالیبراسیون اسیدگالیک بیان شد (Rantsiou, 2012).

مقدار ازت تام فرار

مقدار ۱۰ گرم از نمونه گوشت به همراه ۲ گرم اکسید منیزیم به‌عنوان کاتالیزور و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و چند عدد پرل شیشه‌ای در داخل بالن هضم کج‌دال

شمارش کلی میکروارگانیزم‌ها ۱۵ میلی‌لیتر از محیط آماده پلیت‌کانت‌آگار در مجاورت شعله در یک پلیت خالی استریل ریخته شد و پس از سرد شدن برای انجام آزمون شمارش کلی میکروارگانیزم‌ها، در یخچال نگه‌داری شد. سپس ۱۰۰ گرم از نمونه گوشت گوساله (کلیه تیمارها) با استفاده از میکسر آزمایشگاهی کاملاً همگن گردید و ۱۰ گرم از نمونه به دست آمده به ۹۰ سی‌سی محلول رینگر استریل اضافه شد و رقت‌های ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ تهیه گردید و ۱ سی‌سی از رقت‌های مورد نظر بر روی محیط کشت پلیت‌کانت‌آگار موجود در پلیت ریخته شد و در انکوباتور ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شد و در نهایت میزان رشد باکتری‌ها در پلیت‌های آخرین رقت شمارش شد و تعداد کلنی‌ها بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید (تعداد کلنی در هر گرم از نمونه = عکس حجم استفاده‌شده × عکس رقت × تعداد کلنی) (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۶).

شمارش اشریشیاکلی

سویه باکتری به شماره ۲۵۹۲۲ از کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های ایران تهیه و پس از خروج از فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد و ذوب شدن، بر روی محیط مک‌کانگی‌آگار کشت خطی داده شد و ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه گذاری شد. از کلنی‌های رشد کرده که دارای خصوصیات ظاهری

متوسط با قطر ۱۵۰ میلی‌متر عبور داده شد. در نهایت با استفاده از pH متر دیجیتالی کشور ایران ساخت شرکت شیماز در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد با سه بار تکرار اندازه‌گیری صورت گرفت (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۶b).

#### ارزیابی خواص حسی

نمونه‌های گوشت گوساله برای ارزیابی حسی دارای غلظت‌های عصاره علف لیمو مطابق تیمارهای تحقیق و فاقد تلقیح میکروبی بودند به‌منظور ارزیابی حسی از آزمون هدونیک ۵ نقطه‌ای استفاده شد. (بافت، طعم و رنگ) (امینی و همکاران، ۱۳۹۱).

#### نتایج

ترکیبات پلی فنولی گیاه علف لیمو

بررسی نتایج نشان داد که ترکیبات تشکیل‌دهنده علف لیمو شامل سیترال، سیترونال و ژرانیل استات می‌باشند که بالاترین میزان ترکیبات پلی فنولی متعلق به سیترال و کمترین آن نیز به ترکیب نریل استات تعلق داشت و مقادیر سیترونال و د- لیمونن نیز بین این دو ترکیب گزارش گردید.

انتقال داده شد. در ارلن گیرنده که در زیر مبرد قرار دارد (به‌نحوی که انتهای مبرد داخل محلول باشد) مقدار ۲۵ میلی‌لیتر اسید بوریک ۲ درصد و چند قطره معرف متیل اورانژ ۰/۱ درصد الکلی ریخته شد که در این حالت به رنگ قرمز تبدیل شد. سپس بالن هضم را حرارت داده و به‌نحوی که محتویات آن در مدت ۱۰ دقیقه به جوش آید، از زمان جوش ۲۵ دقیقه عمل تقطیر ادامه یافت که در این حالت بازهای فرار در گوشت تقطیر و جذب محتویات ارلن گیرنده شد، در این حالت به دلیل قلیایی شدن محیط، رنگ محلول به آبی تبدیل شد. سپس حرارت قطع و محلول تقطیرشده به‌وسیله اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال تا ظهور رنگ قرمز تیترا شد. با توجه به این که هر میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال معادل ۰/۰۱۴ گرم و یا ۱/۴ میلی‌گرم ازت است مقدار بازهای فرار برحسب میلی‌گرم درصد از رابطه زیر محاسبه گردید.

$100 \times 4/1 \times \text{مقدار مصرفی اسید } 0/1 \text{ برای نمونه} =$   
میلی‌گرم بازهای فرار TVN

#### اندازه‌گیری pH

۱۰ گرم از نمونه گوشت در ۴۰ گرم آب دیونیزه مخلوط نموده، سپس مخلوط آماده شده از کاغذ صافی واتمن

جدول ۲- درصد ترکیبات پلی فنولی تشکیل‌دهنده

ترکیبات تشکیل‌دهنده	سیترال	سیترونال	ژرانیل استات
درصد ترکیبات تشکیل‌دهنده	۴۹/۴۳ درصد	۳۰/۲۵ درصد	۶/۴۱ درصد
ترکیبات تشکیل‌دهنده	کامفن	بتا میرسن	د-لیمونن
درصد ترکیبات تشکیل‌دهنده	۶/۵	۳/۵	۳۰/۳
ترکیبات تشکیل‌دهنده	نونان	نرول	بتاسیترال
درصد ترکیبات تشکیل‌دهنده	۴/۱	۰/۹	۱۱/۳
ترکیبات تشکیل‌دهنده	آلفا سیترال	مونودی ترپن اکسیژنه شده	نریل استات
درصد ترکیبات تشکیل‌دهنده	۱۷/۶	۴۵/۳	۰/۸
ترکیبات تشکیل‌دهنده	وربونن	۶- متیل هپتن-۲-وان	سایر ترکیبات شناسایی نشده
درصد ترکیبات تشکیل‌دهنده	۰/۸	۱۴/۶	۹۳/۸

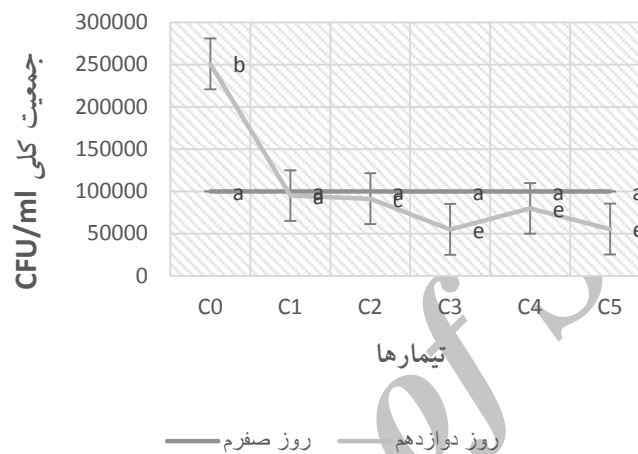
#### ارزیابی میکروبی

نتایج نشان داد که زمان اثر معنی‌داری بر روی میزان جمعیت میکروبی کل نشان داد ( $p < 0/05$ ). به‌طوری که با افزایش مدت زمان نگه داری به ۱۲ روز یک

افزایش معنی‌داری در جمعیت میکروبی کل‌ها ملاحظه شد؛ اما در تیمارهای با مقادیر بالاتر عصاره علف لیمو، میزان افزایش جمعیت میکروبی کل با کاهش معنی‌داری مواجه بود ( $p < 0/05$ ). همچنین اختلاف

روند کاهشی در جمعیت میکروبی تیمارهای گوشت وجود داشت. بالاترین میزان عصاره به میزان ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام (C3) دارای حداقل میزان جمعیت میکروبی کل در بین تیمارهای گوشت بود. بررسی نتایج ارزیابی نسبت‌های مختلف عصاره نشان داد که میزان ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره به میزان بالاتری موجب مهار و مرگ میکروارگانیسیم‌ها گردید

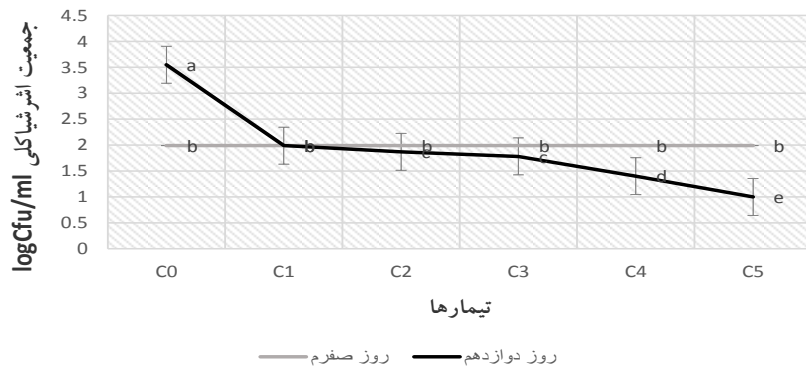
معنی‌داری با توجه به نوع تیمار و زمان نگهداری بر میزان جمعیت میکروبی کل وجود داشت. بالاترین میزان جمعیت میکروبی کل مربوط به تیمار شاهد (C0) و کمترین میزان جمعیت میکروبی کل مربوط به تیمار با حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (C4) در انتهای روز دوازدهم نگهداری بود ( $p < 0/05$ ). به‌طور کلی با افزایش میزان غلظت عصاره علف لیمو



نمودار ۱- مقایسه میانگین شمارش کل میکروب‌های هوازی بر اساس اثرات متقابل غلظت‌های مختلف عصاره علف لیمو در گوشت گوساله چرخ‌کرده  
 C0 = گوشت گوساله چرخ‌کرده بدون عصاره علف لیمو، C1 = گوشت گوساله چرخ‌کرده با ۲۵۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو  
 C2 = گوشت گوساله چرخ‌کرده با ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو، C3 = گوشت گوساله چرخ‌کرده با ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو  
 C4 = گوشت گوساله چرخ‌کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت بازدارندگی رشد  
 C5 = گوشت گوساله چرخ‌کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت مهارکنندگی رشد

با حداقل میزان کشندگی دارای کمترین میزان جمعیت اشیریشیالکی در طی دوره نگهداری مشاهده شد ( $p < 0/05$ ). اثرات متقابل تیمار و زمان نشان داد که با افزایش مدت زمان نگهداری، افزایش معنی‌داری در جمعیت اشیریشیالکی به وجود می‌آید اما در تیمار با غلظت‌های بالاتر عصاره (غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو (C3)، میزان جمعیت اشیریشیالکی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. کمترین میزان جمعیت اشیریشیالکی تیمار گوشت گوساله چرخ‌کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت مهارکنندگی رشد (C4) بود ( $p < 0/05$ ).

همچنین تأثیر تیمار بر روی میزان جمعیت اشیریشیالکی معنی‌دار بود ( $p < 0/05$ ). به‌طوری‌که بالاترین میزان جمعیت اشیریشیالکی مربوط به تیمار شاهد (C0) و کمترین میزان اشیریشیالکی نیز متعلق به تیمار گوشت گوساله چرخ‌کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت مهارکنندگی رشد (C5) تعلق داشت. روند کاهشی با افزایش میزان عصاره علف لیمو وجود داشت ( $p < 0/05$ ). با افزایش مدت زمان نگهداری، جمعیت اشیریشیالکی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بالاترین میزان جمعیت اشیریشیالکی به تیمار شاهد (C0) در انتهای روز دوازدهم نگهداری بود و در همان روز تیمار

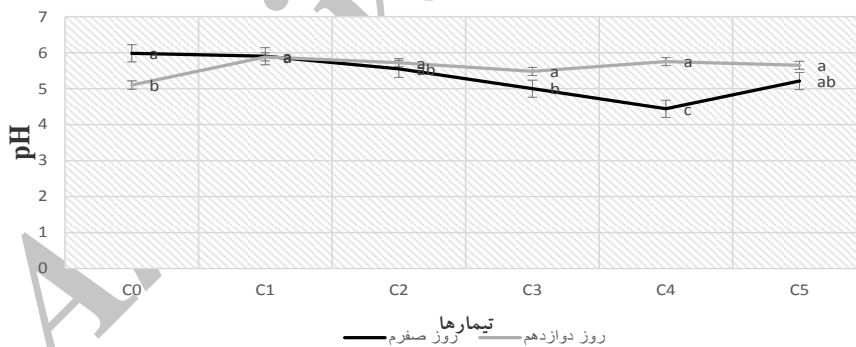


نمودار ۲- مقایسه میانگین جمعیت اشیریشیاکلی بر اساس اثرات متقابل غلظت‌های مختلف عصاره علف لیمو در گوشت گوساله چرخ کرده  
 C0 = گوشت گوساله چرخ کرده بدون عصاره علف لیمو، C1 = گوشت گوساله چرخ کرده با ۲۵۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو  
 C2 = گوشت گوساله چرخ کرده با ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو، C3 = گوشت گوساله چرخ کرده با ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو  
 C4 = گوشت گوساله چرخ کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت بازدارندگی رشد  
 C5 = گوشت گوساله چرخ کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت مهارکنندگی رشد

نگهداری آب میزان رطوبت به طور معنی داری کاهش یافت که باعث افزایش نسبی pH می‌گردد ( $p < 0.05$ )؛ اما در طی دوره نگهداری به جهت فعالیت فلور میکروبی و افزایش ترشیدگی و همچنین اتواکسیداسیون لیپیدی گوشت، میزان pH به طور معنی داری کاهش می‌یابد ( $p < 0.05$ )

ارزیابی شیمیایی  
 میزان pH

بررسی نتایج نشان داد که اختلافات معنی داری بین میزان pH تیمارهای گوشت وجود داشت. بالاترین میزان pH گوشت به تیمار شاهد بوده و بعداز آن با افزایش درصد عصاره و رقیق شدن آن و افزایش قابلیت



نمودار ۳- مقایسه میانگین pH بر اساس اثرات متقابل غلظت‌های مختلف عصاره علف لیمو در گوشت گوساله چرخ کرده  
 C0 = گوشت گوساله چرخ کرده بدون عصاره علف لیمو، C1 = گوشت گوساله چرخ کرده با ۲۵۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو  
 C2 = گوشت گوساله چرخ کرده با ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو، C3 = گوشت گوساله چرخ کرده با ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو  
 C4 = گوشت گوساله چرخ کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت بازدارندگی رشد  
 C5 = گوشت گوساله چرخ کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت مهارکنندگی رشد

میزان ازت فرار ازت فرار تام مربوط به تیمار شاهد (C0) و کمترین میزان آن نیز به تیمار با ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام (C3) و نیز غلظت MBC (C5) بود. یک روند افزایشی در میزان ازت فرار تام در طی زمان نگهداری وجود داشت که تیمار شاهد (C0) دارای بالاترین میزان عصاره علف

میزان ازت فرار

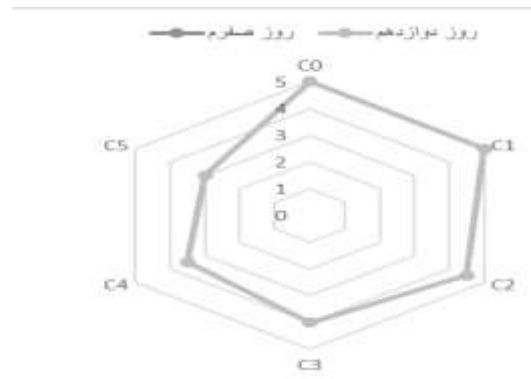
بررسی نتایج نشان داد که اختلافات معنی داری بین ازت فرار تیمار شاهد و هر یک از تیمارها وجود داشته و با افزایش درصد عصاره علف لیمو میزان ازت فرار تام به طور معنی داری کاهش یافت ( $p < 0.05$ ). بالاترین

داد که اختلافات معنی‌داری از نظر زمان نگهداری وجود داشت و در انتهای روز دوازدهم نگهداری کاهش کلی در امتیاز ارزیاب‌ها مشاهده گردید. بر اساس نتایج حداقل امتیازات بافت تیمارها به تیمار گوشت گوساله چرخ‌کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت مهارکنندگی رشد (C5) و بالاترین آن نیز به تیمار شاهد (C0) اختصاص یافت.

لیمو و کمترین آن نیز مربوط به مقادیر تیمار گوشت گوساله چرخ‌کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت مهارکنندگی رشد (C5) بود.

نتایج ارزیابی حسی  
ارزیابی بافت

بررسی‌ها نشان داد که اختلافات معنی‌داری از نظر بافت بین تیمارها وجود داشت ( $p < 0.05$ ). همین نتایج نشان



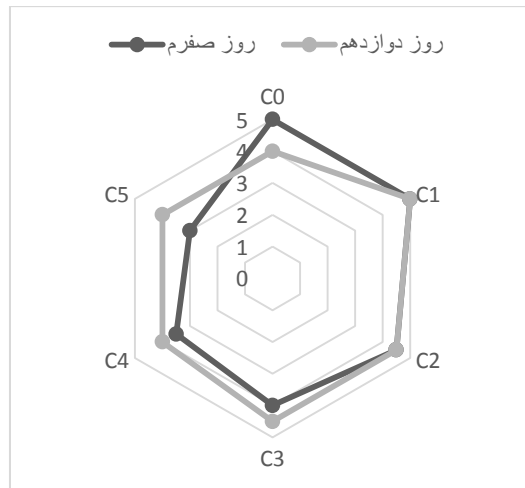
نمودار ۴- مقایسه میانگین امتیازات ارزیابی حسی بافت

C0 = گوشت گوساله چرخ‌کرده بدون عصاره علف لیمو، C1 = گوشت گوساله چرخ‌کرده با ۲۵۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو  
C2 = گوشت گوساله چرخ‌کرده با ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو، C3 = گوشت گوساله چرخ‌کرده با ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو  
C4 = گوشت گوساله چرخ‌کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت بازدارندگی رشد  
C5 = گوشت گوساله چرخ‌کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت مهارکنندگی رشد

داری، خصوصیات طعم و مزه تیمارها از نظر ارزیاب‌ها کاهش معنی‌داری نشان داد ( $p < 0.05$ ) و میزان این کاهش امتیاز در تیمار با ۲۵۰ (C1) و ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو (C2) مشاهده گردید. تیمار حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو (C3) و همچنین تیمار گوشت گوساله چرخ‌کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت مهارکنندگی رشد (C5) امتیازات کمتری نسبت به تیمار گوشت گوساله چرخ‌کرده دارای عصاره علف لیمو با ۲۵۰ پی‌پی‌ام (C1) کسب نمودند.

ارزیابی طعم و مزه  
با توجه نتایج مشاهده گردید که اختلافات معنی‌داری بین خصوصیات طعم و مزه تیمارها در روز صفر نگهداری وجود داشت ( $p < 0.05$ ). بالاترین امتیازات طعم و مزه در تیمار شاهد (C0) و تیمار با ۲۵۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو (C1) مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ). همچنین با افزایش میزان عصاره علف لیمو اختلافات معنی‌داری در امتیازات طعم و مزه تیمارها وجود داشت ( $p < 0.05$ ). زمان نگهداری نیز اثر معنی‌داری بر روی خصوصیات طعم و مزه تیمارها نشان داد ( $p < 0.05$ ). با افزایش مدت زمان نگهداری





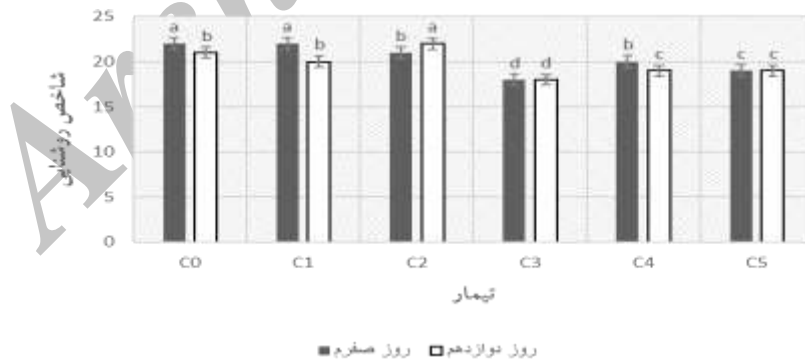
نمودار ۵- مقایسه میانگین امتیازات ارزیابی حسی طعم و مزه

C0 = گوشت گوساله چرخ‌کرده بدون عصاره علف لیمو، C1 = گوشت گوساله چرخ‌کرده با ۲۵۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو  
 C2 = گوشت گوساله چرخ‌کرده با ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو، C3 = گوشت گوساله چرخ‌کرده با ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو  
 C4 = گوشت گوساله چرخ‌کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت بازدارندگی رشد  
 C5 = گوشت گوساله چرخ‌کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت مهارکنندگی رشد

روشنایی در تیمار با ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو (C3) حتی از تیمار گوشت گوساله با مقادیر حداقل میزان بازدارندگی رشد (C4) و تیمار گوشت گوساله با حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (C5) پایین‌تر بود ( $p < 0.05$ ). زمان نیز اثر معنی‌داری بر روی شاخص روشنایی تیمارها به میزان ۱۲ روز، میزان شاخص روشنایی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ( $p < 0.05$ ).

ارزیابی رنگ سنجی  
 شاخص روشنایی

بررسی‌ها نشان داد که اختلافات معنی‌داری بین شاخص روشنایی تیمار شاهد (C0) و تیمار با غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام (C1) وجود نداشت اما با افزایش میزان غلظت عصاره علف لیمو در تیمارهای گوشت گوساله در روز صفرم اختلافات معنی‌داری بین شاخص روشنایی تیمارها وجود داشت ( $p < 0.05$ ). میزان شاخص



نمودار ۶- مقایسه میانگین امتیازات ارزیابی شاخص روشنایی

C0 = گوشت گوساله چرخ‌کرده بدون عصاره علف لیمو، C1 = گوشت گوساله چرخ‌کرده با ۲۵۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو  
 C2 = گوشت گوساله چرخ‌کرده با ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو، C3 = گوشت گوساله چرخ‌کرده با ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو  
 C4 = گوشت گوساله چرخ‌کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت بازدارندگی رشد  
 C5 = گوشت گوساله چرخ‌کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت مهارکنندگی رشد

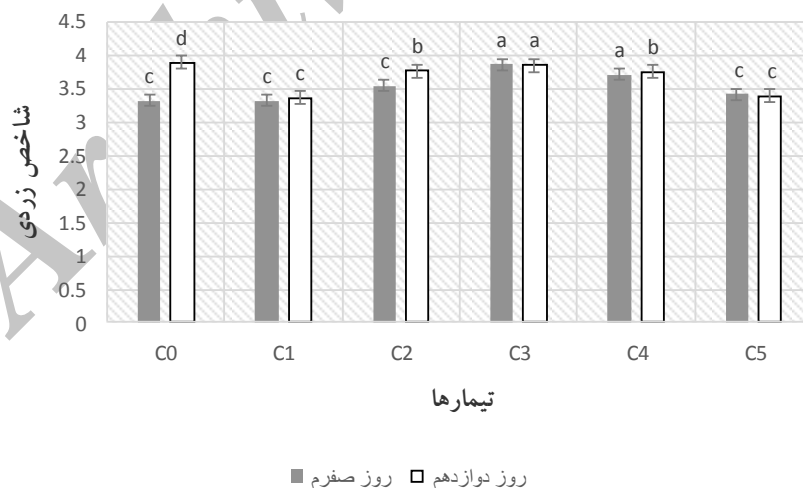
جدول ۳- تجزیه واریانس شاخص روشنایی

P	F	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	منبع تغییرات
۰/۰۰۰	۲۰۲/۶۳	۵۶/۵۶۸۱**	۵۶/۵۶۸۱	۵	تیمار
۰/۰۰۰	۵۰/۷۵	۲/۸۳۳۶**	۲/۸۳۳۶	۱	زمان
۰/۰۰۰	۴۱/۸۰	۱۱/۶۶۸۱**	۱۱/۶۶۸۱	۵	تیمار*زمان
		۱/۳۴۰۰	۱/۳۴۰۰	۲۴	خطا
		۷۲/۴۰۹۷	۷۲/۴۰۷۹	۳۵	کل
				۰/۲۳۶۳	ضریب تغییرات %

## شاخص زردی

با توجه به جدول ۳ تجزیه واریانس شاخص زردی تأثیر تیمار، زمان و اثرات متقابل تیمار در زمان بر روی شاخص زردی معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). بررسی نتایج اختلافات معنی‌داری بین شاخص زردی تیمار شاهد با هر یک از تیمارها وجود داشت ( $p < 0.05$ ). با افزایش میزان استفاده از عصاره علف لیمو در فرمولاسیون تیمارهای گوشت گوساله، شاخص زردی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). بالاترین میزان شاخص زردی در تیمار حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره

علف لیمو (C3) مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ). همچنین زمان نیز اثر معنی‌داری بر میزان شاخص زردی تیمارهای گوشت گوساله داشت و با افزایش زمان نگه‌داری افزایش معنی‌داری در شاخص زردی تیمارهای گوشت گوساله مشاهده شد ( $p < 0.05$ ) و با افزایش مدت زمان نگه‌داری میزان شاخص زردی در تیمارهای گوشت گوساله با افزایش کمتری نشان داد؛ اما در تیمار شاهد (C0) و سپس تیمارهای با مقادیر ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام (C1 و C2) با افزایش بیشتری نشان داد.



نمودار ۷- مقایسه میانگین امتیازات ارزیابی شاخص زردی

C0 = گوشت گوساله چرخ‌کرده بدون عصاره علف لیمو، C1 = گوشت گوساله چرخ‌کرده با ۲۵۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو  
 C2 = گوشت گوساله چرخ‌کرده با ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو، C3 = گوشت گوساله چرخ‌کرده با ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو  
 C4 = گوشت گوساله چرخ‌کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت بازدارندگی رشد  
 C5 = گوشت گوساله چرخ‌کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت مهارکنندگی رشد

جدول ۴- تجزیه واریانس شاخص زردی

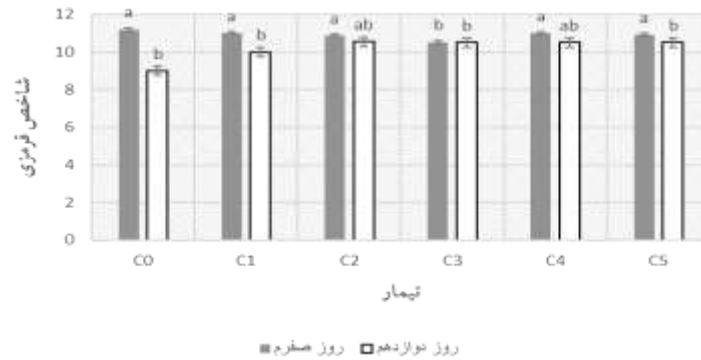
منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
تیمار	۵	۱/۳۰۲۶۸ **	۰/۲۶۰۵۳۶	۷۰/۸۴	۰/۰۰۰
زمان	۱	۰/۰۵۶۸۰ *	۰/۰۵۶۸۰۳	۱۵/۴۴	۰/۰۰۱
تیمار*زمان	۵	۰/۰۵۳۸۱ **	۰/۰۱۰۷۶۳	۲/۹۳	۰/۰۰۰
خطا	۲۴	۰/۰۸۸۲۷	۰/۰۰۳۶۷۸		
کل	۳۵	۱/۵۰۱۵۶			
ضریب تغییرات %	۰/۰۶۰۶۴				

\*\* معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد \* معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ درصد  
NS عدم معنی‌داری در سطح ۰/۰۵

#### شاخص قرمزی

با توجه به جدول ۴ تجزیه واریانس شاخص قرمزی تأثیر تیمار، زمان و اثرات متقابل تیمار در زمان بر روی شاخص قرمزی معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). بررسی‌ها نشان داد که اختلافات معنی‌داری بین میزان شاخص قرمزی تیمارها وجود داشت ( $p < 0.05$ ). با افزایش میزان غلظت عصاره علف لیمو، شاخص زردی تیمارها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ( $p < 0.05$ ). در تیمارهای با غلظت ۲۵۰ (C1) و ۵۰۰ پی‌پی‌ام (C2) شدت این کاهش به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام (C3) و همچنین تیمارهای گوشت گوساله حاوی عصاره علف لیمو با مقادیر غلظت‌های مهارکنندگی رشد (C5) و بازدارندگی رشد (C4) بود. همچنین زمان نگهداری دارای اثر معنی‌داری بر روی میزان شاخص قرمزی تیمارها داشت؛ و با افزایش زمان نگهداری روند کاهش کلی در میزان شاخص قرمزی تیمارها وجود داشت ( $p < 0.05$ ). همچنین با افزایش

نگهداری تیمارهای گوشت گوساله، روند کاهش معنی‌داری در شاخص قرمزی تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها وجود داشت ( $p < 0.05$ ). بین تیمار با مقادیر ۲۵۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو (C1) و تیمار شاهد (C0) نیز اختلافات معنی‌داری گزارش گردید ( $p < 0.05$ )؛ اما بین تیمارهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام (C2 و C3) و همچنین تیمارهای با مقادیر غلظت‌های مهارکنندگی رشد (C5) و بازدارندگی رشد (C4) با روز صفرم نیز اختلافات معنی‌داری گزارش گردید ( $p < 0.05$ ). به‌عبارت‌دیگر استفاده از عصاره علف لیمو در مقادیر بالای ۲۵۰ پی‌پی‌ام (C1) از کاهش شاخص قرمزی در طی ۱۲ روز نگهداری جلوگیری نمود اما در روز صفرم نگهداری اختلافات معنی‌داری بین تیمارهای شاهد (C0) از نظر اختلاف در میزان شاخص قرمزی تیمارها وجود داشت و افزایش میزان عصاره علف لیمو شاخص قرمزی را به‌طور معنی‌داری کاهش داد ( $p < 0.05$ ).



نمودار ۸- مقایسه میانگین امتیازات ارزیابی شاخص قرمزی

C0 = گوشت گوساله چرخ کرده بدون عصاره علف لیمو، C1 = گوشت گوساله چرخ کرده با ۲۵۰ پی پی ام عصاره علف لیمو  
 C2 = گوشت گوساله چرخ کرده با ۵۰۰ پی پی ام عصاره علف لیمو، C3 = گوشت گوساله چرخ کرده با ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره علف لیمو  
 C4 = گوشت گوساله چرخ کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت بازدارندگی رشد  
 C5 = گوشت گوساله چرخ کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت مهارکنندگی رشد

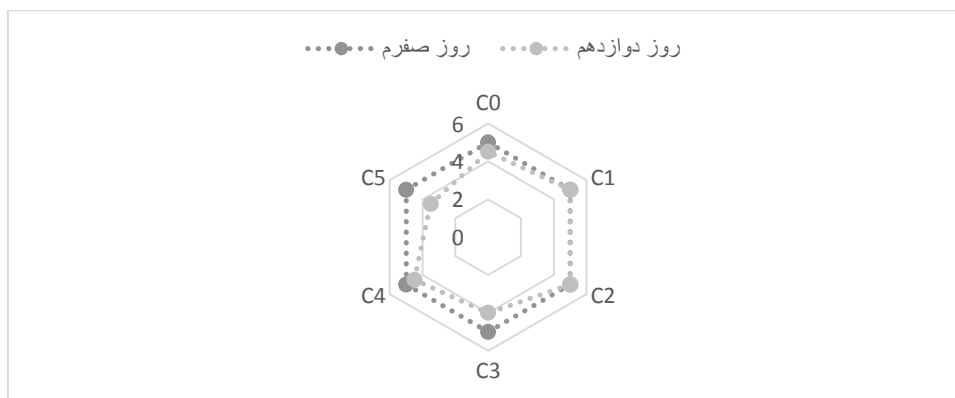
جدول ۵- تجزیه واریانس شاخص قرمزی

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P
تیمار	۵	۴/۱۷۲۱	۰/۸۳۴۴۳**	۱۱۷/۴۸	۰/۰۰۰
زمان	۱	۱/۱۶۶۴	۱/۱۶۶۴۰**	۱۶۴/۲۲	۰/۰۰۰
تیمار*زمان	۵	۵/۷۰۳۶	۱/۱۴۰۷۲**	۱۶۰/۶۰	۰/۰۰۰
خطا	۲۴	۰/۱۷۰۵	۰/۰۰۷۱۰		
کل	۳۵	۱۱/۲۱۲۶			
ضریب تغییرات %	۰/۰۸۴۲۸				

\*\* معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد \* معنی داری در سطح ۰/۰۵ درصد ns عدم معنی داری در سطح ۰/۰۵

گوشت گوساله چرخ کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت مهارکنندگی رشد تعلق داشت و بیشترین آن نیز در تیمار شاهد (C0) مشاهده گردید، اما با افزایش مدت زمان نگهداری امتیازات پذیرش نهایی تیمارهای دارای مقادیر ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره علف لیمو (C2 و C3) با کاهش معنی داری مواجه بود ( $p < 0.05$ )؛ اما امتیازات تیمار شاهد (C0) و تیمار با ۲۵۰ پی پی ام غلظت عصاره علف لیمو (C1) از مطلوبیت کمتری از نظر شاخص پذیرش نهایی نشان داد.

ارزیابی پذیرش نهایی بررسی نتایج نشان داد که اختلافات معنی داری از نظر خصوصیات پذیرش نهایی تیمارها وجود داشت ( $p < 0.05$ ). همچنین بررسی نتایج نشان داد که اختلافات معنی داری بر روی خصوصیات پذیرش نهایی تیمارها از نظر زمان نگهداری وجود داشت ( $p < 0.05$ ) و امتیازات پذیرش نهایی ارزیابها در انتهای روز دوازدهم نگهداری کاهش یافت. بر اساس نمودار ۷ حداقل امتیازات پذیرش نهایی تیمارها متعلق به تیمار (C5)



نمودار ۹- مقایسه میانگین امتیازات ارزیابی حسی پذیرش نهایی

C0 = گوشت گوساله چرخ‌کرده بدون عصاره علف لیمو، C1 = گوشت گوساله چرخ‌کرده با ۲۵۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو  
 C2 = گوشت گوساله چرخ‌کرده با ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو، C3 = گوشت گوساله چرخ‌کرده با ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو  
 C4 = گوشت گوساله چرخ‌کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت بازدارندگی رشد  
 C5 = گوشت گوساله چرخ‌کرده حاوی عصاره علف لیمو در غلظت مهارکنندگی رشد

### بحث

موجب تغییر و تخریب ساختمان و نفوذپذیری بیشتر آن‌ها گردد. به دنبال آن بخش زیادی از یون‌ها و دیگر محتویات حیاتی سلول به بیرون تراوش می‌نماید که در نهایت به مرگ باکتری منجر می‌شود (Brusa et al., 2012).

همچنین این ترکیبات قادر به ایجاد اختلال در عملکرد آنزیم‌های متصل به غشاء سلولی بوده که نهایتاً منجر به ایجاد نقص در سنتز بسیاری از ترکیبات پلی‌ساکاریدی دیواره سلولی و ممانعت از رشد سلول و مورفوزن آن خواهد شد (Quirós et al., 2015).

مطالعه شهنیا و خاکسار (۱۳۹۱) در بررسی اثرات ضد میکروبی و روش‌های تعیین حداقل غلظت بازدارندگی اسانس‌های گیاهی بر باکتری‌های پاتوژن نشان داد که اسانس علف لیمو بر روی رشد باکتری اشیریشیاکلی تأثیر منفی داشته و سبب شد تا تعداد باکتری به‌طور معنی‌داری کمتر از نمونه کنترل گردد و با افزایش غلظت اسانس، تعداد باکتری اشیریشیاکلی در مقایسه با نمونه کنترل کاهش بیشتری را نشان داد و بیشترین میزان کاهش مربوط به تیمار حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام بود. با افزایش میزان غلظت عصاره علف لیمو، میزان جمعیت اشیریشیاکلی به‌طور معنی‌داری با کاهش

به نظر می‌رسد که به جهت بالاتر بودن میزان غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام (C3) از غلظت معادل MIC (C4) و کاهش بیشتری در میزان جمعیت MBC (C5)، کاهش میکروبی کل مشاهده شد. اغلب تحقیقات در زمینه اثرات ضد میکروبی اسانس‌ها ابتدا در محیط آزمایشگاهی انجام‌گرفته و سپس خصوصیات کاربردی آن‌ها در مدل‌های غذایی ارزیابی شده است. لزوم به‌کارگیری غلظت‌های بالاتر اسانس در غذا در مقایسه با شرایط آزمایشگاهی نشان‌دهنده پیچیده بودن شرایط رشد در غذا است که می‌تواند اثرات محافظتی روی سلول‌های میکروبی در مقابل ترکیب‌های ضد میکروبی داشته باشد. بدیهی است که ممکن است مقادیر بالاتر از مقادیر محاسبه‌شده در شرایط MIC و MBC موجب مهار رشد میکروارگانیسم‌ها گردد به همین دلیل است که مقادیر ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره علف لیمو مؤثرتر از مقادیر محاسبه‌شده در MIC و MBC عمل می‌کند. در مورد نحوه عمل اسانس‌ها در مرگ باکتری‌های بیماری‌زا چنین اظهارنظر شده است که یکی از ویژگی‌های مهم این مواد و ترکیب‌های آن خاصیت آب‌گریزی است که سبب می‌شود در بخش‌های لیپیدی دیواره سلولی و میتوکندریایی باکتری توزیع‌شده و

محصولات گوشتی به نتایج مشابهی دست یافتند. آن‌ها دریافتند که استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در محصولات گوشتی به دلیل دارا بودن محصولات پلی فنولی به کاهش فلور میکروبی و حفظ pH و همچنین ممانعت از ترشیدگی گوشت طی دوره نگه داری فرآورده گوشتی کمک می‌نماید که با نتایج تحقیق حاضر نیز مطابقت داشت (Nowak et al., 2016).

در مطالعه‌ای اثر ضد میکروبی پودر عصاره برگ نوروزک بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در همبرگر بررسی شد که استفاده از ترکیبات ضد میکروبی در فرآورده‌های گوشتی از افت pH فرآورده در طی نگه‌داری به طور مؤثری جلوگیری نمود (یوسفلی و همکاران ۱۳۹۰) که با نتایج تحقیق حاضر نیز مطابقت دارد. به‌طور کلی مواد از ته فرار در اثر تجزیه مولکول‌های پروتئینی به وجود می‌آیند که باعث افزایش میزان ازت فرار تام می‌شود. از جمله ترکیباتی که در ماهی تازه به میزان اندک وجود دارد و با افزایش زمان بر مقدار آنان افزوده می‌شود می‌توان بازهای فرار (T.V.N) نام برد. بازهای فرار به مجموعه‌ای از ترکیبات مثل آمونیاک، تری‌متیل‌آمین (TMA)، دی‌متیل‌آمین (DMA) و غیره گفته می‌شود. با افزایش ترکیبات پلی فنولی عصاره علف لیمو از رشد و توسعه ترکیبات پلی فنولی به طور معنی‌داری کاسته شده و نهایتاً ترکیبات بازهای فرار به میزان کمتری در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار با مقادیر ۲۵۰ پی پی‌ام (C2) تولید می‌گردد. تحقیقات مشابهی برای تأیید نتایج حاصل وجود دارد.

از جمله در بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی دانه انار ایرانی بر کیفیت چربی فیله ماهی قزل‌آلا و تعیین میزان فسادپذیری آن در دمای ۲ تا ۴ درجه سلسیوس نشان داده شد که عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی دانه انار به طرز مؤثری میزان ازت فرار تام را در ماهی قزل‌آلا کاهش می‌دهد (جاهدی خانیکی و همکاران ۱۳۹۴) که با نتایج تحقیق حاضر نیز مطابقت داشت.

مواجه بود. یکی از دلایل تأثیرات اسانس بر روی جمعیت میکروبی اشیریشیاکلی مربوط به تغییرات غشاء سلولی در اثر نفوذ ترکیبات سیترال، سیترونال و ژرانیل استات و عدم تعادل الکتریکی غشاء سلولی و نشت ترکیبات درون سلولی به خارج سلول و نهایتاً مرگ سلولی است و با افزایش میزان غلظت عصاره علف لیمو، میزان ترکیبات سیترال، سیترونال و ژرانیل استات به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد که باعث کاهش معنی‌داری در میزان جمعیت میکروبی اشیریشیاکلی می‌گردد. در این راستا تحقیقات مشابهی نیز وجود دارد.

یعقوب زاده و صفری (۱۳۹۳) نیز در بررسی‌های خود با عنوان تأثیر عصاره آویشن شیرازی بر اشیریشیاکلی و لیستریا منوسایتوزنز تلقیح شده به گوشت چرخ شده ماهی فیتوفاک به نتایج مشابهی دست یافتند. آن‌ها دریافتند که استفاده از مقادیر بالاتر عصاره آویشن در طی مدت زمان نگه‌داری به طور معنی‌داری باعث کاهش جمعیت میکروبی اشیریشیاکلی طی مدت زمان نگه‌داری می‌گردد که به جهت افزایش غلظت ترکیبات ضد میکروبی مؤثره موجود در اسانس علف لیمو است که با نتایج تحقیق حاضر نیز مطابقت داشت. تیمارهای با مقادیر بالاتر عصاره علف لیمو طی دوره نگهداری به جهت دارا بودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی از توسعه فساد اکسیداتیو و میکروبی به نحو مؤثری جلوگیری نموده و نهایتاً با افت pH کمتری مواجه است. همچنین همبستگی منفی معنی‌داری بین میزان جمعیت اشیریشیاکلی و همچنین جمعیت کلی میکروارگانیزم با تغییرات pH وجود داشت که به جهت تولید ترکیبات دی‌سولفیدی و متابولیت‌های ثانویه ناشی از فعالیت میکروارگانیزم‌های موجود در گوشت است. در این راستا نیز تحقیقات مشابهی نیز وجود دارد. نوواک و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی اثرات عصاره پلی فنولی برگ‌های گیلاس و انگورفرنگی سیاه به‌عنوان نگه دارنده طبیعی در

۱۳۹۴). بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی دانه انار ایرانی بر کیفیت چربی فیله ماهی قزل‌آلا و تعیین میزان فسادپذیری آن در دمای ۲ تا ۴ درجه سلسیوس. مجله علوم پزشکی نیشابور دوره ۲، شماره ۳، صفحه ۱۰-۱۷.

۷. رضازاده، شمس‌علی، یزدانی داراب، شهبابی نورعلی. (۱۳۸۲). شناسایی و معرفی اجزای روغن فرار گیاه علف لیمو (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) کاشته شده در شمال ایران. فصلنامه گیاهان دارویی دوره ۱، شماره ۹، صفحه ۶۹-۷۴.

۸. شهنیا، مریم، خاکسار، رامین. (۱۳۹۱). بررسی اثرات ضد میکروبی و روش‌های تعیین حداقل غلظت بازدارندگی اسانس‌های گیاهی بر باکتری‌های پاتوژن، فصلنامه علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران دوره ۷، شماره ۵، صفحه ۹۴۹-۹۵۵.

۹. یعقوب زاده، زهرا، صفری، رضا. (۱۳۹۳). تأثیر اسانس آویشن شیرازی بر *اشرشیاکلی* و *لیستریا منوسایتوزنز* تلقیح شده به گوشت چرخ شده ماهی فیتوفاک، مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران، مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران دوره بیست و چهارم، شماره ۱۲۰، صفحه ۱۰۶-۱۰۰.

۱۰. یوسفلی، مزگان، آذرنیوند، حسین، حسینی، زهره، حداد خداپرست، محمد حسین، پزشکی، پرنیان. (۱۳۹۰). مطالعه اثر ضد میکروبی پودر عصاره برگ نوروژک بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در همبرگر، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، دوره ۸، شماره ۲۹، صفحه ۱۳۶-۱۲۶.

11. Basile, A., Sorbo, S., Giordano, S., Ricciardi, L., Ferrara, S., Montesano, D., Castaldo Cobianchi, R., Vuotto, ML., Ferrara, L. 2000. Antibacterial and allelopathic activity of extract from *Castanea sativa* leaves. *Fitoterapia* 71: S110-S116.

12. Brusa, Victoria, Aliverti, V., Aliverti, F., Ortega, EE., de la Torre, JH., Linares, LH., Sanz, ME., Etcheverría, AI., Padola, NL., Galli, L., Peral García, P., Copes, J., Leotta GA. 2013. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef

همچنین در بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست پرتقال بر کیفیت فیله‌ی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) هنگام ننگه داری در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نیز نشان داده شد که عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی پرتقال به طرز مؤثری میزان ازت فرار تام را در ماهی کپور کاهش می‌دهد (علی بیگی و همکاران ۱۳۹۲) که با نتایج تحقیق حاضر نیز مطابقت داشت. لذا پیشنهاد می‌شود که از سایر غلظت‌های عصاره علف لیمو و همچنین از سایر عصاره‌های گیاهی در ترکیب با عصاره علف لیمو جهت ننگه‌داری گوشت گوساله و نیز از عصاره علف لیمو بر روی سایر انواع گوشت و فرآورده‌های گوشتی استفاده گردد.

#### فهرست منابع

۱. استاندارد ملی ایران. (۱۳۸۶ a). میکروبیولوژی گوشت قرمز-لاشه، لاشه قطعه‌بندی شده و گوشت چرخ‌کرده -ویژگی‌ها و روش‌های آزمون. استاندارد ملی ایران به شماره ۲۳۹۴.

۲. استاندارد ملی ایران. (۱۳۸۶b). گوشت و فرآورده‌های آن-تعیین pH روش آزمون مرجع. استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۲۸.

۳. امید بیگی، رضا. (۱۳۹۰). ره یافت‌های تولید و فراوری گیاهان دارویی. چاپ اول، انتشارات فکر روز. صفحه ۲۸۳.

۴. امینی، م.، رحیمی پردنجانی، مهدی، رئیسی، مهدی، علیشاهی، مجتبی. (۱۳۹۱). مطالعه اثرات ضد باکتریایی برخی اسانس‌های گیاهی علیه باکتری‌های *Lactococcus garvieae*، مجله علوم و صنایع غذایی، دوره ۷، شماره ۳، صفحه ۲۳۳-۲۴۹.

۵. بیگی، علی، ذوالفقاری، بهزاد، یكدانه، افسانه. (۱۳۹۲). پیشرفت‌های اخیر در زمینه روش‌های استخراج ترکیب‌های گیاهی، فصلنامه داروهای گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، صفحه ۵۱-۵۵.

۶. جاهدخانیکی، غلامرضا، صالحی، علی، شریعتی فر، نبی، علی محمدی، محمود، صدیق آرا، پریسا.

21. Quirós, P., A. Martínez-Castillo, and M. Muniesa. 2015. Improving detection of.
22. Rantsiou, Kalliopi, Valentina Alessandria, and Luca Coccolin. 2012. Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in food products of animal origin as determined by molecular methods. *Inter J food micro.* 154. 1: 37-43.
23. Rounds L, Havens CM, Feinstein Y, Friedman M, Ravishankar S. 2013. 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 sci.* 94.4: 461-467.
24. Schimmer B, Nygard K, Eriksen HM, Lassen J, Lindstedt BA, Brandal LT, Kapperud G, Aavitsland P. 2008. Outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Norway caused by stx 2-positive *Escherichia coli* O103: H25 traced to cured mutton sausages. *BMC Infectious Diseases* 8.1: 41.
25. Vasta and Luciano. 1981. Effect of phospholipid hydrolysis on lipid oxidation in flounder muscle microsomes. *J. Food Sci.* 46: 1297-1301.
26. Wazawa, Tetsu-ichi, *et al.* 1992. Hydrogen peroxide plays a key role in the oxidation reaction of myoglobin by molecular oxygen. A computer simulation. *Bio J.* 63(2): 544-550.
27. Whang, K., and I. C. Peng. 1988. "Electron paramagnetic resonance studies of the effectiveness of myoglobin and its derivatives as photosensitizers in singlet oxygen generation. *J Food Sci* 53: 61863-1865.
- retail markets from Argentina. *Frontiers cell infec microbial.* 18(2): 171.
13. Camo, D.P., Egbert, W.R. 2008. Effects of rotenone and pH on the color of pre-rigor muscle. *J. Food Sci.* 50: 34-35.
14. Chisowa, E.H., Hall, D.R., Farman, D.I. 1998. Volatile constituents of the essential oil of *Cymbopogon citratus* Stapf grown in Zambia. *Flavour Fragrance J.* 13: 29-30.
15. Cimanga K, Kambu K, Tona L, Apers S, De Bruyne T, Hermans N, Totté J, Pieters L, Vlietinck AJ. 2002. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *J. of ethnopharmacology* 79(2): 213-220.
16. de Billerbeck VG, Roques CG, Bessière JM, Fonvieille JL, Dargent R. 2001. Effects of *Cymbopogon nardus* (L.) W. Watson essential oil on the growth and morphogenesis of *Aspergillus niger*. *Canadian J Microl.* 47(1): 9-17.
17. Fan, P.M., Fratamico, N.W. Gunther. 2012. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* Adv. *Appl Microbiol.*, 86; pp. 145-197.
18. Kanner, J. 1994. Oxidative processes in meat and meat products: Quality implications. *Meat Sci.* 36: 169-189.
19. Nowak, A., 2016. Polyphenolic extracts of cherry (*Prunus cerasus* L.) and blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) leaves as natural preservatives in meat products. *Food Microbiol.* 59: 142-149.
20. Onawunmi, Grace O., Wolde-Ab Yisak, and E. O. Ogunlana. 1984. Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *J Ethnopharm* 12(3): 279-286.



## Effect of lemon grass extract on shelf life and quality properties of minced beef during stored at 4°C

Karimi Majd M<sup>1</sup>, Hashemiravan M<sup>1\*</sup>, Shahab Lavasani A<sup>1</sup>

1. Masters student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin – Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

\*Corresponding author: m\_hashemiravan@yahoo.com

Received: 7 September 2017

Accepted: 7 November 2017

### Abstract

Today, with the discovery of the disadvantages of the use of synthetic preservatives and antioxidants, the use of herbal extracts is important for increasing the shelf-life of foods, especially meat products. Also, the use of natural extracts, as one of the most antioxidant sources, is increasing to improve the quality of all kinds of meat. In this study, the extract of peppermint was prepared and evaluated for the minimum inhibitory concentration of venison in 250, 500 and 1000 ppm concentrations and the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum concentration of MBC (MBC) against *E. coli* 25922 and the total population of microorganisms. Became all experiments were carried out during the days 0 and 12 in a completely randomized design with a significant level ( $p < 0.05$ ) with 5 treatments in three replications. Characteristics of the study included the total microorganism count, the population count of the *E. coli*, pH, sensory evaluation (taste, odor, and color) by the Hedonic method and the ten trained evaluators, colorimetric (brightness, redness, jaundice indexes), the percentage of the fermentam and the percentage of moisture. The results were analyzed by means of mean comparison, Duncan test and two way ANOVA at a significant level ( $p < 0.05$ ). According to the results, the MIC values for *E. coli* and the total population of microorganisms were 2.24 and 1.66, respectively, and MBC values for *E. coli* and the total population of microorganisms were 15.5 and 12.5, respectively. The results showed that with increase in the amount of peppermint extract, the microbial and Azartaract indices decreased significantly during the maintenance period ( $p < 0.05$ ). The brightness and redness index and jaundice decreased significantly ( $p < 0.05$ ). However, moisture percentage, taste and chewing properties as well as tissue properties increased significantly in peppermint extract (ppm05). Finally, taking into account the total results of physicochemical, microbial and qualitative changes of calf meat during the maintenance period, as well as the opinions of the evaluators, the treatment containing 500 ppm of peppermint extract per kilogram of fleshy calves was selected as the superior treatment for beef.

**Keywords:** beef ground meat, lemon grass extract, MIC, MBC.