

بررسی اثر جایگزینی نیتريت با استفاده از روغن سیاه‌دانه بر پایداری اکسیداتیو و ویژگی‌های میکروبی و حسی سوسیس کوکتل

امین ابوالحسن‌زاده^۱، محمدرضا خانی^{۲*}، مریم فهیم‌دانش^۲

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد شهرقدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد شهرقدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: m.khani@qodsiau.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۶/۶/۲۹ پذیرش نهایی: ۹۷/۲/۱)

چکیده

یکی از نگرانی‌های عمده در جوامع امروزی، به‌کارگیری افزودنی‌های شیمیایی در محصولات غذایی و احتمال ابتلا به برخی از بیماری‌هایی نظیر سرطان است. هدف از این تحقیق بررسی امکان جایگزینی نیتريت در فرمولاسیون سوسیس کوکتل با استفاده از روغن سیاه‌دانه بود. به این منظور نیتريت در سطوح مختلف ۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ ppm با روغن سیاه‌دانه در غلظت‌های ۲ و ۳ درصد جایگزین گردید و اثر آن بر میزان پایداری اکسیداتیو (شاخص‌های پراکسید و تیوباریتوریک اسید) و ویژگی‌های میکروبی (شمارش‌های کلی باکتریایی و کپک و مخمر) و حسی در طی مدت یک ماه نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس در طی روزهای ۱، ۱۱، ۲۱ و ۳۱ مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد جایگزینی روغن سیاه‌دانه در دو غلظت مورد استفاده موجب کاهش مقادیر شاخص‌های پراکسید و تیوباریتوریک اسید در تیمارهای با نیتريت کاهش یافته نسبت به شاهد شد ($P < 0/05$). همچنین افزایش روغن سیاه‌دانه از ۲ به ۳ درصد موجب کاهش بار میکروبی در غلظت‌های ثابت نیتريت شد. تیمارهای حاوی ۲ و ۳ درصد روغن سیاه‌دانه با مقادیر ۹۰ ppm و ۶۰ ppm نیتريت عمده‌تاً در طی مدت نگهداری دارای نتایج شمارش‌های کلی باکتریایی و کپک و مخمری مشابه با نمونه شاهد بودند ($P < 0/05$). نتایج به‌دست آمده از ارزیابی حسی نیز نشان داد که کاهش میزان نیتريت و جایگزینی آن با روغن سیاه‌دانه موجب کاهش امتیاز رنگ و طعم نمونه‌های سوسیس می‌شود اما تأثیر منفی بر بافت و بوی آن‌ها ندارد.

واژه‌های کلیدی: جایگزینی نیتريت، روغن سیاه‌دانه، سوسیس، پایداری اکسیداتیو، ویژگی‌های میکروبی

مقدمه

سوسیس به‌عنوان یک وعده غذایی سریع، راحت و متنوع بوده و یک منبع خوب پروتئینی با کیفیت بالا است که حاوی همه آمینواسیدها در مقدار مناسب و لازم برای رشد، نگهداری و ترمیم بافت‌های بدن می‌باشد. هم‌چنین مقدار قابل‌توجهی از نیاز بدن به ویتامین‌ها و مواد معدنی را فراهم می‌کند (Marchello and Robinson, 2012). نیتريت در بسیاری از فرآورده‌های گوشتی با هدف بازدارندگی از رشد میکروارگانیزم‌ها (به‌ویژه کلستریدیوم بوتولینوم) و هم‌چنین برای تثبیت رنگ و کنترل اکسیداسیون چربی‌ها استفاده می‌شود. با این حال، پس از طی فرآیند حرارت‌دهی، مقداری از نیتريت تجزیه و تبدیل به سایر ترکیبات حاوی نیتروژن شده و با اتصال نیتريت به میوگلوبین، ترکیبات آلی موجود و میکروب‌ها، مقدار نیتريت باقی‌مانده در محصول تولیدی نسبت به مقدار اولیه کاهش می‌یابد و بنابراین به‌طور کامل قابل اطمینان نبوده و باید شرایط خوب تولید و نگهداری پس از آن مورد توجه ویژه قرار گیرد (Honikel, 2008). از طرف دیگر، نیتريت می‌تواند در برخی شرایط با آمین‌های نوع دوم واکنش دهد و نیتروزآمین‌ها را تولید کند که ترکیباتی با فعالیت سرطان‌زایی قدرتمند هستند (Belitz et al., 2009). به‌طور معمول ایجاد نیتروزآمین‌ها تحت فرآیندهای حرارتی با دمای بالا و شرایط اسیدی اتفاق می‌افتد. برای مثال سرخ کردن فرآورده‌های حاوی نیتريت (اگر محتوای نیتريت باقی‌مانده بالا باشد) از عوامل تشکیل نیتروزآمین شناخته شده است. این شکل‌گیری را می‌توان از طریق استفاده از مقادیر کم‌تر نیتريت و هم‌چنین توسط عوامل احیاکننده که به از بین

رفتن باقی‌مانده نیتريت پیش از سرخ کردن کمک می‌کنند، به حداقل رساند (Jensen, 2004). یکی از راه‌های جایگزینی یا کاهش میزان نیتريت، استفاده از ادویه‌ها و گیاهان حاوی مواد آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی است (Zahedi, 2011). از جمله تحقیقاتی که به این منظور در داخل و خارج از کشور انجام پذیرفته می‌توان به بررسی فعالیت و اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس رزماری در سوسیس تخمیری گوشت بز و سوسیس خوک (Tieko Nassu et al., 2003; Sebranek et al., 2005)، جایگزینی بخشی از نیتريت با استفاده از اسانس روغنی دارچین در سوسیس (Moarefian et al., 2011)، بررسی اثر عصاره زرشک سیاه به‌همراه نیتريت سدیم بر میزان اکسیداسیون چربی و تغییرات رنگ سوسیس (Khaleghi et al., 2016) و برخی تحقیقات مشابه دیگر اشاره کرد که در تمامی این مطالعات نتایج امیدوارکننده‌ای به‌دست آمده است. اما با توجه به نقش چندگانه‌ای که نیتريت در انواع فرآورده‌های گوشتی ایفا می‌کند جایگزینی کامل یا کاهش میزان آن بدون تغییر در ویژگی‌های محصول کار دشواری بوده است.

سیاه‌دانه با نام علمی *نایجلا ساتیوا* (*Nigella sativa*) گیاهی یک‌ساله از خانواده *رانوکولاسه‌آ* (*Ranunculaceae*) می‌باشد. دانه‌های این گیاه حاوی ترکیبات ضدباکتریایی، آنتی‌اکسیدانی و هم‌چنین ترکیبات سودمند متنوع مثل تیموکینون، اسیدهای چرب چند غیراشباع، فیتواسترول‌ها، توکوفرول‌ها و غیره می‌باشد که همگی محلول در چربی‌اند و وارد روغن می‌شوند و در نتیجه روغن سیاه‌دانه در مقایسه با دانه آن به‌علت خلوط بالاتر حاوی ترکیبات مذکور در غلظت

روغن‌گیری شد (Lutterodt et al., 2010). روغن حاصله به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق بی‌حرکت گذاشته شد تا فاز روغنی جدا شود و سپس فاز روغنی از طریق سرریز کردن یا دکانته کردن (جداسازی دو فاز بر اساس اختلاف چگالی) جدا گردید و در ظرف در بسته تا روز تحقیق در دمای یخچال (۴ درجه سلسیوس) نگهداری شد.

- روش تولید نمونه‌های سوسیس کوکتل

در فرمولاسیون نمونه‌های سوسیس از گوشت (۵۰٪)، روغن ذرت (۱۶٪)، نشاسته (۲/۴٪)، ایزوله سویا (۲٪)، گلوتن (۱/۳٪)، شیر خشک (۰/۹٪)، آب و یخ (۲۵٪)، پلی‌فسفات سدیم (۰/۵٪)، نمک (۱/۲٪) و مخلوط ادویه‌جات شامل سیر، جوز هندی، زنجبیل، فلفل سیاه و قرمز (۰/۶٪)، اسید آسکوربیک (۰/۰۵٪)، نیتريت سدیم و روغن سیاه‌دانه (جدول ۱) استفاده شد. لازم به ذکر است پروفایل اسیدچرب روغن ذرت استفاده شده بسیار شبیه به روغن سیاه‌دانه است و بنابراین در عمل، درصد چربی و پروفایل اسیدچرب نمونه‌های سوسیس ثابت بوده است.

میزان نیتريت مورد استفاده در نمونه شاهد ۱۲۰ ppm بود که این میزان در تیمارها با استفاده از غلظت‌های ۲ و ۳ درصد روغن سیاه‌دانه در فرمولاسیون به سطوح ۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ ppm کاهش داده شد. در این مطالعه، حذف کامل نیتريت با توجه به تأثیرات منفی آن بر رنگ محصول و هم‌چنین مشکل ساز شدن احتمالی کلاستریدیوم بوتولینوم مورد هدف نبوده و تیمارهای فاقد نیتريت صرفاً به منظور مشاهده اثر روغن سیاه‌دانه به‌تنهایی و مقایسه آن با تیمارهایی که روغن سیاه‌دانه در ترکیب با نیتريت به‌کار رفته‌اند، طراحی شد. برای تهیه

بالاتر می‌باشد (Sultan et al., 2012). به‌علاوه گزارش شده است روغن سیاه‌دانه دارای خواص ضدسرطان، ضددیابت، تعدیل‌کننده سیستم ایمنی، ضد درد، ضدالتهاب، گشادکننده برونش، محافظت‌کننده کبد و کلیه و ضدپرفشاری خون است (Ramadan, 2006). هم‌چنین روغن سیاه‌دانه می‌تواند اثرات سوء نیتريت را کاهش داده و اثر بازدارندگی بر سرطان کبد ناشی از نیتروزآمین ایجاد کند (Helal et al., 2003; Waer et al., 2005). لازم به ذکر است که روغن سیاه‌دانه از سوی سازمان غذا و داروی آمریکا به عنوان GRAS (Generally Regarded As Safe) در نظر گرفته شده است (Kaskoos, 2011).

به‌رغم خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی سیاه‌دانه، تاکنون این خواص با هدف جایگزینی نیتريت در ترکیب فرآورده‌های گوشتی مورد توجه قرار نگرفته است. لذا در این مطالعه امکان جایگزینی نیتريت موجود در فرمولاسیون سوسیس کوکتل در طی مدت یک ماه نگهداری در شرایط یخچالی با بررسی اثرات روغن سیاه‌دانه بر پایداری اکسیداتیو و ویژگی‌های میکروبی و حسی آن مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

- روش تهیه و استخراج روغن سیاه‌دانه

در این مطالعه دانه‌های تأیید شده سیاه‌دانه از نظر جنس و گونه از شرکت پاکان بذر اصفهان (تولیدکننده بذر گیاهان دارویی) تهیه شد. دانه‌ها تمیز و شسته شد و با جریان هوا خشک گردید و با دستگاه پرس حلزونی (Kern Kraft-KK20, Germany)، به‌طور مکانیکی و بدون اعمال گرما در دمای اتاق (۲۵ درجه سلسیوس)

شدند. سپس ویژگی‌های شیمیایی، میکروبی و حسی مورد نظر در فواصل زمانی ده روزه و در طی روزهای ۱، ۱۱، ۲۱ و ۳۱ نگره‌داری بررسی شد.

نمونه‌های سوسیس از یک روش قبلی استفاده گردید (Tahmouzi, 2015) و در نهایت نمونه‌های تولیدی به مدت یک ماه در دمای ۴ درجه سلسیوس نگره‌داری

جدول (۱) - نمونه‌های سوسیس کوکتل تهیه شده با درصد مختلف روغن سیاه‌دانه و روغن نباتی

نمونه	نیتريت (ppm)	درصد روغن سیاه‌دانه	درصد روغن نباتی
C	۱۲۰	۰	۱۶
T1	۹۰	۲	۱۴
T2	۹۰	۳	۱۳
T3	۶۰	۲	۱۴
T4	۶۰	۳	۱۳
T5	۳۰	۲	۱۴
T6	۳۰	۳	۱۳
T7	۰	۲	۱۴
T8	۰	۳	۱۳

رنگ زرد کم‌رنگ تبدیل شود و بعد با اضافه کردن ۰/۵ میلی لیتر محلول نشاسته رنگ بنفش ایجاد شد که با ادامه دادن تیتراسیون بی‌رنگ گردید و مقدار پراکسید بر حسب میلی‌اکی‌والان اکسیژن فعال در هر کیلوگرم محاسبه و گزارش شد (ISIRI, 19197/2013).

- اندازه‌گیری عدد تیوباربتوریک اسید (TBA):

(Thiobarbituric acid)

با توجه به این که هیدروپراکسیدها ناپایدار بوده و به ترکیبات ثانویه اکسیداسیون تجزیه می‌شوند، این آزمون برای اندازه‌گیری اکسیداسیون ثانویه چربی‌ها انجام پذیرفت. به این منظور ابتدا چربی سوسیس با حلال نرمال هگزان استخراج گردید. سپس ۲۰۰ میلی گرم از چربی استخراج شده در مقدار کمی از ۱- بوتانل حل شده و با همین حلال به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد.

- روش انجام آزمون‌های شیمیایی

- اندازه‌گیری عدد پراکسید (PV: Peroxide value)

این آزمون جهت اندازه‌گیری ترکیبات اولیه اکسیداسیون (هیدروپراکسیدها) انجام پذیرفت. به این منظور ابتدا چربی سوسیس با حلال نرمال هگزان استخراج گردید. سپس ۱۰ گرم از چربی استخراج شده در ۵۰ میلی لیتر از محلول اسید استیک گلاسیال و ایزواکتان (شامل ۲۰ میلی لیتر ایزواکتان و ۳۰ میلی لیتر اسید استیک) حل شد. به میزان ۰/۵ میلی لیتر از محلول یدوریتاسیم اشباع شده به آن اضافه شد و برای مدت ۶۰ ثانیه مخلوط گردید. سپس بلافاصله ۱۰۰ میلی لیتر از آب مقطر تازه جوشیده به آن اضافه شد و يد آزاد شده با چند میلی لیتر از محلول استاندارد تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیترا شد تا رنگ محلول از زرد پرتغالی به

- ارزیابی حسی

ویژگی‌های حسی نمونه‌های سوسیس شامل رنگ، طعم، بو و بافت به‌روشن هدونیک پنج نقطه‌ای توسط ۸ نفر ارزیاب آموزش دیده انجام شد. به این منظور نمونه‌ها به‌صورت گرم شده از طریق سرخ کردن سطحی در اختیار ارزیابان قرار گرفت و امتیازدهی به ویژگی‌های هر نمونه از ۱ تا ۵ انجام گرفت. بدین صورت که امتیاز ۱: غیر قابل مصرف یا خیلی ضعیف، ۲: غیرقابل قبول یا ضعیف، ۳: قابل قبول یا متوسط، ۴: رضایت‌بخش یا خوب و ۵: بسیار رضایت‌بخش یا خیلی خوب در نظر گرفته شود.

- روش تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش براساس طرح کاملاً تصادفی و کلیه آزمون‌ها در ۳ تکرار انجام شد. نتایج به‌دست آمده با استفاده از آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته‌ها

نتایج تجزیه واریانس آزمون‌های شیمیایی عدد پراکسید و عدد تیوباریتوریک اسید و آزمون‌های میکروبی شمارش کلی باکتریایی و شمارش کپک و مخمر، همگی حاکی از معنی‌دار بودن اثر تیمار، زمان و اثر متقابل این دو بر نتایج بدست آمده در هر آزمون بود ($P < 0/05$). نتایج به‌دست آمده از آزمون عدد پراکسید (نمودار ۱) نشان داد که جایگزینی نیتريت با روغن سیاه‌دانه در تمامی سطوح جایگزینی در طی مدت ۳۱ روز نگهداری سبب کاهش معنی‌دار عدد پراکسید همه تیمارها - غیر از تیمار T7 حاوی ۲ درصد روغن

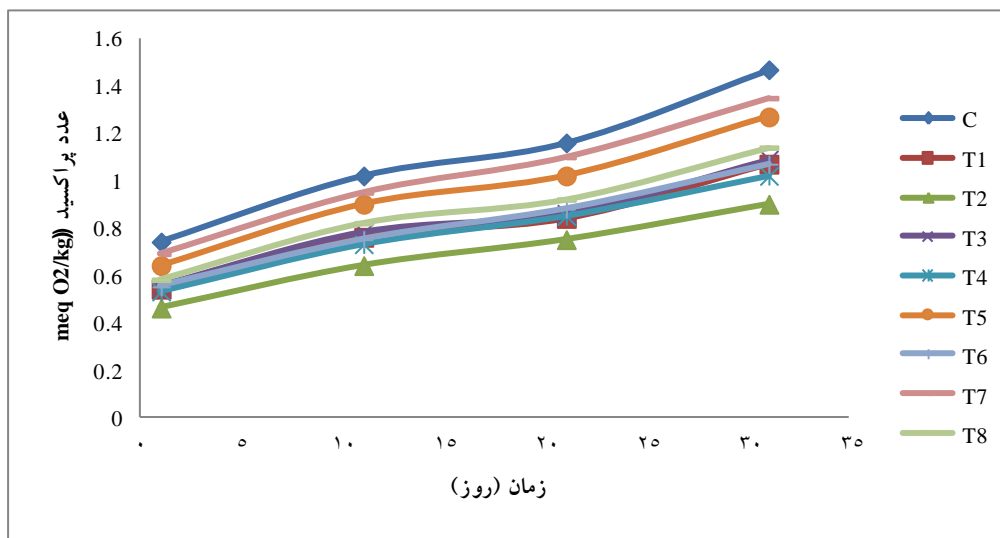
نمونه به یک لوله آزمایش خشک انتقال داده شد و سپس ۵ میلی‌لیتر از محلول واکنش‌گر تیوباریتوریک اسید به آن اضافه شد و کاملاً مخلوط گردید. لوله آزمایش در داخل یک حمام آب در دمای ۹۵ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از ۱۲۰ دقیقه لوله آزمایش از حمام آب خارج گردید و به‌مدت ۱۰ دقیقه زیر جریان شیر آب قرارداده شد، تا به دمای محیط برسد. سپس میزان جذب محلول در یک سل ۱۰ میلی‌متری توسط اسپکتروفتومتر (Apel/PD-3000UV, Japan) در طول موج ۵۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (ISIRI, 10494/2013).

- روش انجام آزمون‌های میکروبی

به‌منظور ارزیابی ویژگی‌های میکروبی نمونه‌ها، ابتدا ۱۰ گرم از هر نمونه توزین و با ۹۰ گرم آب‌پیتونه بافره همگن شد و سوسپانسیون اولیه تهیه گردید و رقت‌سازی نیز با آب‌پیتونه بافره تا رسیدن به رقت‌های مورد نظر صورت پذیرفت. شمارش کلی باکتریایی با روش کشت مخلوط و با استفاده از محیط کشت پلیت کانت آگار انجام شد و پلیت‌ها در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید (ISIRI, 5272/2007). شمارش کپک‌ها و مخمرها با روش کشت سطحی و با استفاده از محیط کشت (Dichloran- rose bengal chloramphenicol agar) DRBC انجام شد و پلیت‌ها در دمای ۲۵ سلسیوس به‌مدت ۵ روز گرمخانه‌گذاری گردید (ISIRI, 10899-1/2008).

همان‌طور كه ملاحظه مي‌شود ميزان پراكسيد تمامي نمونه‌ها در طول دوره نگهداري داراي روند صعودي بوده و با کاهش غلظت نيتريت در تيمارهاي حاوي مقادير ثابت روغن سياهدانه، عدد پراكسيد افزايش يافته است.

سياهدانه بدون نيتريت - نسبت به شاهد گرديد و تيمار T7 اگرچه ميانگين پايين‌تري نسبت به شاهد داشت اما اين اختلاف به لحاظ آماري معني‌دار نبود. هم‌چنين در اكثر تيمارها و روزهاي مورد بررسي، تيمارهاي حاوي ۳٪ روغن سياهدانه نسبت به تيمارهاي حاوي ۲٪ روغن سياهدانه به‌طور معني‌دار ميانگين كم‌تري داشتند.



نمودار (۱) - روند تغييرات ميزان پراكسيد نمونه‌هاي سوسيس در طي ۳۱ روز نگهداري در ۴°C

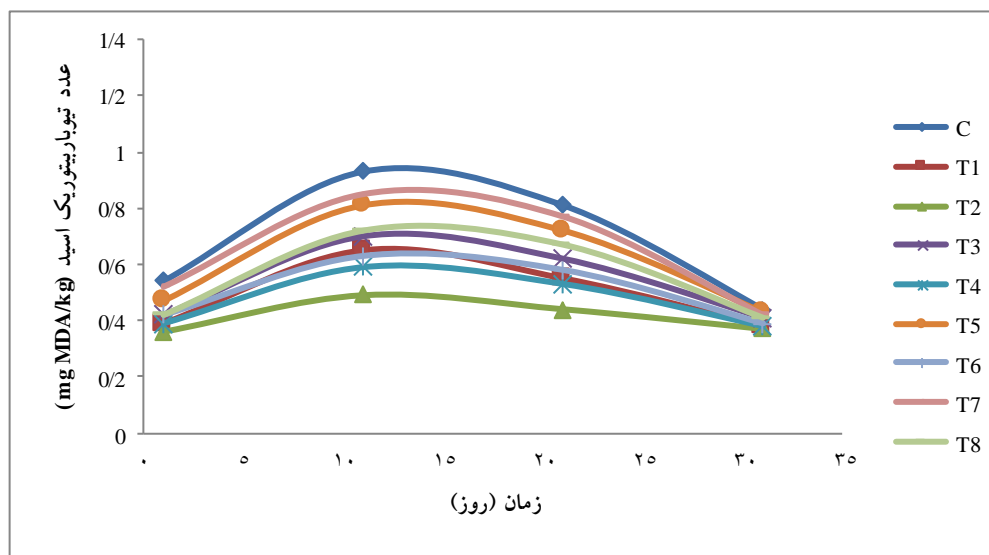
(C: نمونه شاهد حاوي ۱۲۰ ppm نيتريت، T1: تيمار حاوي ۹۰ ppm نيتريت و ۲٪ روغن سياهدانه، T2: تيمار حاوي ۹۰ ppm نيتريت و ۳٪ روغن سياهدانه، T3: تيمار حاوي ۶۰ ppm نيتريت و ۲٪ روغن سياهدانه، T4: تيمار حاوي ۶۰ ppm نيتريت و ۳٪ روغن سياهدانه، T5: تيمار حاوي ۳۰ ppm نيتريت و ۲٪ روغن سياهدانه، T6: تيمار حاوي ۳۰ ppm نيتريت و ۳٪ روغن سياهدانه، T7: تيمار حاوي ۲٪ روغن سياهدانه و بدون نيتريت و T8: تيمار حاوي ۳٪ روغن سياهدانه و بدون نيتريت).

و كم‌ترين ميانگين در تيمارهاي T2 و T4 به‌دست آمد. اما در پايان زمان نگهداري (روز ۳۱)، ميان هيچ‌يك از تيمارها با شاهد و با يكدیگر اختلاف معني‌داري مشاهده نشد ($P < 0.05$). به‌طور كلي با کاهش غلظت نيتريت در تيمارهاي حاوي مقادير ثابت روغن سياهدانه ميزان TBA افزايش يافت. هم‌چنين با افزايش غلظت روغن سياهدانه در مقادير ثابت نيتريت، ميزان TBA

نتايج به‌دست آمده از آزمون عدد تيوباربیتوریک اسيد (نمودار ۲) نشان داد كه ميانگين TBA تمامي نمونه‌ها در ۱۰ روز ابتدایي افزايش يافت، در حالی‌كه از روز ۱۱ تا پايان دوره نگهداري، کاهش در ميزان TBA نمونه‌ها مشاهده شد. در روزهاي ۱۱ و ۲۱ نگهداري تمامي تيمارها - غير از تيمار T7 - با شاهد اختلاف معني‌دار ($P < 0.05$) داشتند و ميزان TBA آنها كم‌تر از شاهد بود

به تنهایی بیشترین میانگین TBA را به خود اختصاص دادند.

کاهش یافت. همانطور که ملاحظه می‌شود تیمار حاوی ۹۰ ppm نیتريت و ۳ درصد روغن سیاه‌دانه و نیز تیمار حاوی ۶۰ ppm نیتريت و ۳ درصد روغن سیاه‌دانه در روزهای ۱ تا ۲۱ نگه‌داری از کم‌ترین میانگین TBA برخوردار بودند و نمونه شاهد (حاوی ۱۲۰ ppm نیتريت) و تیمار حاوی ۲ درصد روغن سیاه‌دانه



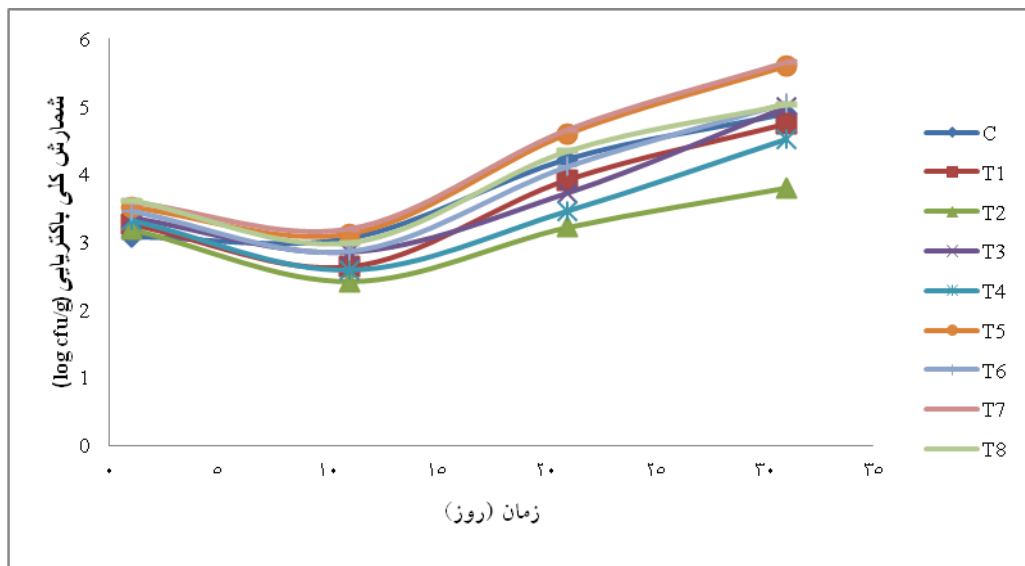
نمودار (۲) - روند تغییرات میزان تیوباریتوریک اسید نمونه‌های سوسیس در طی ۳۱ روز نگهداری در ۴°C (C: نمونه شاهد حاوی ۱۲۰ ppm نیتريت، T1: تیمار حاوی ۹۰ ppm نیتريت و ۲٪ روغن سیاه‌دانه، T2: تیمار حاوی ۹۰ ppm نیتريت و ۳٪ روغن سیاه‌دانه، T3: تیمار حاوی ۶۰ ppm نیتريت و ۲٪ روغن سیاه‌دانه، T4: تیمار حاوی ۶۰ ppm نیتريت و ۳٪ روغن سیاه‌دانه، T5: تیمار حاوی ۳۰ ppm نیتريت و ۲٪ روغن سیاه‌دانه، T6: تیمار حاوی ۳۰ ppm نیتريت و بدون روغن سیاه‌دانه، T7: تیمار حاوی ۲٪ روغن سیاه‌دانه و بدون نیتريت، T8: تیمار حاوی ۳٪ روغن سیاه‌دانه و بدون نیتريت).

تیمارهای حاوی روغن سیاه‌دانه نسبت به روز اول کاهش معنی‌داری یافت ($P < 0.05$)، اما نمونه شاهد که فاقد روغن سیاه‌دانه بود کاهش معنی‌داری نسبت به روز اول نداشت. در روز ۱۱، بیشتر تیمارها (به غیر از T5 و T7) به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد دارای میانگین

نتایج به‌دست آمده از شمارش کلی باکتریایی (در نمودار ۳) نشان داد که کاهش نیتريت در کنار افزودن روغن سیاه‌دانه، موجب افزایش معنی‌دار میانگین شمارش کلی همه تیمارها نسبت به شاهد در روز اول شد. در روز یازدهم نگه‌داری، شمارش کلی باکتریایی تمامی

در روزهای ۱۱، ۲۱ و ۳۱ نگه‌داری (بر خلاف روز اول) در غلظت‌های ثابت نیتريت، تیمارهای حاوی ۳ درصد روغن سیاه‌دانه نسبت به تیمارهای حاوی ۲ درصد روغن سیاه‌دانه به‌طور معنی‌دار میانگین شمارش کلی میکروبی کمتری داشتند ($P < 0/05$).

کم‌تری بودند. در روزهای ۲۱ و ۳۱ نگه‌داری، شمارش کلی میکروبی نسبت به دوره قبل افزایش یافت. با این حال، تیمارهای T1 تا T4 در روز ۲۱ و تیمارهای T1، T2 و T4 در روز ۳۱ دارای شمارش کلی میکروبی کم‌تری نسبت به نمونه شاهد بودند ($P < 0/05$). به‌علاوه

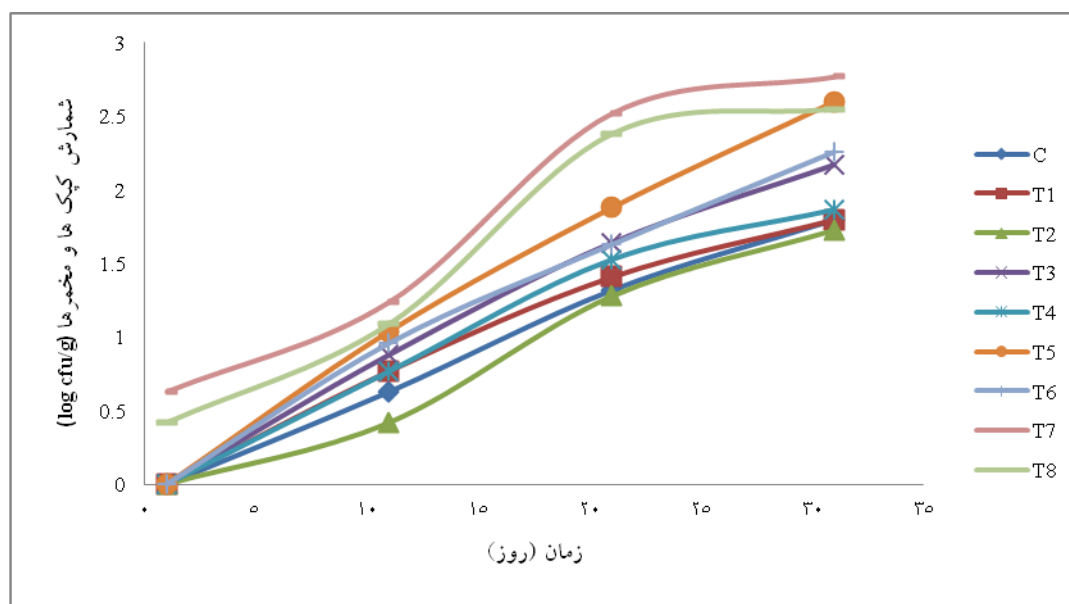


نمودار (۳) - روند تغییرات شمارش کلی باکتریایی نمونه‌های سوسیس در طی ۳۱ روز نگهداری در ۴°C

(C: نمونه شاهد حاوی ۱۲۰ ppm نیتريت، T1: تیمار حاوی ۹۰ ppm نیتريت و ۲٪ روغن سیاه‌دانه، T2: تیمار حاوی ۹۰ ppm نیتريت و ۳٪ روغن سیاه‌دانه، T3: تیمار حاوی ۶۰ ppm نیتريت و ۲٪ روغن سیاه‌دانه، T4: تیمار حاوی ۶۰ ppm نیتريت و ۳٪ روغن سیاه‌دانه، T5: تیمار حاوی ۳۰ ppm نیتريت و ۲٪ روغن سیاه‌دانه، T6: تیمار حاوی ۳۰ ppm نیتريت و ۳٪ روغن سیاه‌دانه، T7: تیمار حاوی ۲٪ روغن سیاه‌دانه و بدون نیتريت و T8: تیمار حاوی ۳٪ روغن سیاه‌دانه و بدون نیتريت)

کپک‌ها و مخمرها در غالب موارد به‌طور معنی‌دار افزایش یافت ($P < 0/05$). به‌علاوه با افزایش روغن سیاه‌دانه از ۲٪ به ۳٪ در غلظت‌های ثابت نیتريت، شمارش کپک‌ها و مخمرها در اکثر موارد به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. هم‌چنین شمارش کپک‌ها و مخمرها در بیشتر تیمارها، در هر دوره زمانی نسبت به دوره قبل افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/05$).

نتایج به‌دست آمده از شمارش کپک‌ها و مخمرها (در نمودار ۴) نشان داد در ابتدای زمان نگه‌داری بیش‌ترین میانگین‌ها مربوط به تیمارهای بدون نیتريت حاوی ۲٪ و ۳٪ روغن سیاه‌دانه (T8 و T7) بوده و در سایر نمونه‌ها جداسازی صورت نگرفت. طی روزهای ۱۱، ۲۱ و ۳۱ نگه‌داری، با کاهش نیتريت در غلظت‌های ۲٪ و هم‌چنین با کاهش نیتريت در غلظت‌های ۳٪، شمارش



نمودار (۴) - روند تغییرات شمارش کپک و مخمر نمونه‌های سوسیس در طی ۳۱ روز نگهداری در ۴°C
 (C: نمونه شاهد حاوی ۱۲۰ ppm نیتريت، T1: تیمار حاوی ۹۰ ppm نیتريت و ۲٪ روغن سیاه‌دانه، T2: تیمار حاوی ۹۰ ppm نیتريت و ۳٪ روغن سیاه‌دانه، T3: تیمار حاوی ۶۰ ppm نیتريت و ۲٪ روغن سیاه‌دانه، T4: تیمار حاوی ۶۰ ppm نیتريت و ۳٪ روغن سیاه‌دانه، T5: تیمار حاوی ۳۰ ppm نیتريت و ۲٪ روغن سیاه‌دانه، T6: تیمار حاوی ۳۰ ppm نیتريت و ۳٪ روغن سیاه‌دانه، T7: تیمار حاوی ۲٪ روغن سیاه‌دانه و بدون نیتريت و T8: تیمار حاوی ۳٪ روغن سیاه‌دانه و بدون نیتريت)

۳۱ کم‌ترین امتیازات طعم به تیمار حاوی ۶۰ ppm نیتريت و ۳ درصد روغن سیاه‌دانه، تیمار حاوی ۳۰ ppm نیتريت و ۳ درصد روغن سیاه‌دانه و تیمارهای فاقد نیتريت که ۲ و ۳ درصد روغن سیاه‌دانه داشتند اختصاص یافته است. ارزیابی بوی نمونه‌های سوسیس نیز نشان داد در طول مدت زمان نگهداری، تیمارهای حاوی ۳ درصد روغن سیاه‌دانه به همراه ۹۰ ppm و ۶۰ ppm نیتريت بالاترین امتیاز بو و تیمار فاقد نیتريت حاوی ۲ درصد روغن سیاه‌دانه پایین‌ترین امتیاز بو را دارا بوده‌اند. نتایج ارزیابی بافت برخلاف سایر ویژگی‌های حسی نشان داد که اثر جایگزینی نیتريت با روغن سیاه‌دانه و هم‌چنین اثر زمان بر بافت نمونه‌های سوسیس معنی‌دار نبود.

نتایج ارزیابی ویژگی‌های حسی نمونه‌های سوسیس در جدول (۲) ارائه گردیده است. نتایج ارزیابی رنگ حاکی از اثرگذاری جایگزینی نیتريت با روغن سیاه‌دانه بر رنگ نمونه‌های سوسیس است و در تمام دوره‌های زمانی نمونه شاهد و نمونه حاوی ۳ درصد روغن سیاه‌دانه دارای بیش‌ترین امتیاز رنگ و نمونه‌های فاقد نیتريت که ۲ و ۳ درصد روغن سیاه‌دانه داشتند دارای کم‌ترین امتیاز بودند ($P < 0.05$).

ارزیابی طعم نمونه‌های سوسیس نشان داد در تمام دوره‌های زمانی نمونه شاهد بالاترین امتیاز طعم را به خود اختصاص داد و کم‌ترین امتیاز طعم تا روز ۲۱ مربوط به تیمارهای حاوی ۳ درصد روغن سیاه‌دانه در ترکیب با غلظت‌های مختلف نیتريت بوده اما در روز

جدول (۲) - نتایج حاصل از ارزیابی حسی نمونه‌های سوسیس در طول ۳۱ روز نگهداری در ۴°C (میانگین ± انحراف معیار)

ویژگی حسی	تیمار	زمان (روز)			
		۱	۱۱	۲۱	۳۱
رنگ	C	۴/۷۵±۰/۴۶ ^{Aa}	۴/۶۲±۰/۵۲ ^{Aa}	۴/۶۲±۰/۵۲ ^{Aa}	۴/۶۲±۰/۵۲ ^{Aa}
	T1	۴/۱۲±۰/۳۵ ^{Bca}	۴/۰۰±۰/۰۰ ^{Bca}	۴/۰۰±۰/۰۰ ^{Bca}	۳/۸۷±۰/۳۵ ^{Bca}
	T2	۴/۵۰±۰/۵۳ ^{ABa}	۴/۳۷±۰/۵۲ ^{ABa}	۴/۳۷±۰/۵۲ ^{ABa}	۴/۲۵±۰/۴۶ ^{ABa}
	T3	۳/۶۲±۰/۵۲ ^{DEa}	۳/۵۰±۰/۵۳ ^{CDa}	۳/۳۷±۰/۵۲ ^{Da}	۳/۲۵±۰/۴۶ ^{Da}
	T4	۴/۰۰±۰/۵۳ ^{CDa}	۳/۸۷±۰/۳۵ ^{Bca}	۳/۸۷±۰/۳۵ ^{Bca}	۳/۷۵±۰/۴۶ ^{Ca}
	T5	۳/۰۰±۰/۵۳ ^{Fa}	۲/۸۷±۰/۳۵ ^{Ea}	۲/۶۲±۰/۵۲ ^{Ea}	۲/۵۰±۰/۵۳ ^{Ea}
	T6	۳/۲۵±۰/۴۶ ^{Efa}	۳/۱۲±۰/۳۵ ^{DEa}	۳/۰۰±۰/۵۳ ^{DEa}	۲/۷۵±۰/۴۶ ^{Ea}
	T8	۱/۷۵±۰/۴۶ ^{Ga}	۱/۵۰±۰/۵۳ ^{Fab}	۱/۲۵±۰/۴۶ ^{Fb}	۱/۱۲±۰/۳۵ ^{Fb}
طعم	C	۴/۵۰±۰/۵۳ ^{Aa}	۴/۲۵±۰/۴۶ ^{Aa}	۴/۲۵±۰/۴۶ ^{Aa}	۴/۱۲±۰/۳۵ ^{Aa}
	T1	۳/۳۷±۰/۵۲ ^{Ba}	۳/۲۵±۰/۴۶ ^{Ba}	۳/۲۵±۰/۴۶ ^{Ba}	۳/۱۲±۰/۳۵ ^{Ba}
	T2	۲/۳۷±۰/۵۲ ^{DEfa}	۲/۲۵±۰/۴۶ ^{DEfa}	۲/۲۵±۰/۴۶ ^{DEfa}	۲/۲۵±۰/۴۶ ^{CDa}
	T3	۳/۰۰±۰/۵۳ ^{Bca}	۲/۸۷±۰/۳۵ ^{Bca}	۲/۶۲±۰/۵۲ ^{Ca}	۲/۶۲±۰/۵۲ ^{Ca}
	T4	۲/۰۰±۰/۵۳ ^{Fa}	۲/۰۰±۰/۵۳ ^{Efa}	۱/۷۵±۰/۴۶ ^{Ea}	۱/۷۵±۰/۴۶ ^{Ea}
	T5	۲/۶۲±۰/۵۲ ^{CDa}	۲/۵۰±۰/۵۳ ^{CDa}	۲/۳۷±۰/۵۲ ^{CDa}	۲/۲۵±۰/۴۶ ^{CDa}
	T6	۲/۱۲±۰/۳۵ ^{Efa}	۲/۰۰±۰/۵۳ ^{Efa}	۲/۰۰±۰/۵۳ ^{Efa}	۱/۸۷±۰/۳۵ ^{DEa}
	T8	۲/۱۲±۰/۳۵ ^{Efa}	۱/۸۷±۰/۳۵ ^{DEa}	۱/۸۷±۰/۳۵ ^{DEa}	۱/۷۵±۰/۴۶ ^{Ea}
بو	C	۴/۱۲±۰/۳۵ ^{Ba}	۴/۰۰±۰/۵۳ ^{ABa}	۳/۸۷±۰/۳۵ ^{BCa}	۳/۸۷±۰/۳۵ ^{BCa}
	T1	۴/۶۲±۰/۵۲ ^{ABa}	۴/۶۲±۰/۵۲ ^{Aa}	۴/۳۷±۰/۵۲ ^{ABa}	۴/۳۷±۰/۵۲ ^{ABa}
	T2	۴/۸۷±۰/۳۵ ^{Aa}	۴/۶۲±۰/۵۲ ^{Aa}	۴/۶۲±۰/۵۲ ^{Aa}	۴/۶۲±۰/۵۲ ^{Aa}
	T3	۴/۶۲±۰/۵۲ ^{ABa}	۴/۳۷±۰/۵۲ ^{ABab}	۴/۱۲±۰/۳۵ ^{ABCab}	۳/۸۷±۰/۳۵ ^{BCb}
	T4	۴/۸۷±۰/۳۵ ^{Aa}	۴/۶۲±۰/۵۲ ^{Aa}	۴/۶۲±۰/۵۲ ^{Aa}	۴/۶۲±۰/۵۲ ^{Aa}
	T5	۴/۳۷±۰/۵۲ ^{ABa}	۴/۱۲±۰/۳۵ ^{ABab}	۳/۸۷±۰/۳۵ ^{BCab}	۳/۶۲±۰/۵۲ ^{CDb}
	T6	۴/۶۲±۰/۵۲ ^{ABa}	۴/۳۷±۰/۵۲ ^{ABa}	۴/۳۷±۰/۵۲ ^{ABa}	۴/۱۲±۰/۳۵ ^{ABCa}
	T8	۴/۶۲±۰/۵۲ ^{ABa}	۴/۳۷±۰/۵۲ ^{ABab}	۴/۳۷±۰/۵۲ ^{ABab}	۳/۸۷±۰/۳۵ ^{BCb}
بافت	C	۴/۱۲±۰/۳۵	۴/۱۲±۰/۳۵	۴/۱۲±۰/۳۵	۴/۰۰±۰/۵۳
	T1	۴/۲۵±۰/۴۶	۴/۱۲±۰/۳۵	۴/۱۲±۰/۳۵	۴/۱۲±۰/۳۵
	T2	۴/۲۵±۰/۴۶	۴/۲۵±۰/۴۶	۴/۲۵±۰/۴۶	۴/۱۲±۰/۳۵
	T3	۴/۱۲±۰/۳۵	۴/۰۰±۰/۵۳	۴/۰۰±۰/۵۳	۳/۸۷±۰/۳۵
	T4	۴/۳۷±۰/۵۲	۴/۲۵±۰/۴۶	۴/۲۵±۰/۴۶	۴/۰۰±۰/۵۳
	T5	۴/۱۲±۰/۳۵	۴/۰۰±۰/۵۳	۴/۰۰±۰/۵۳	۳/۸۷±۰/۳۵
	T6	۴/۲۵±۰/۴۶	۴/۱۲±۰/۳۵	۴/۱۲±۰/۳۵	۴/۰۰±۰/۵۳
	T8	۴/۳۷±۰/۵۲	۴/۲۵±۰/۴۶	۴/۲۵±۰/۴۶	۴/۰۰±۰/۵۳

A-G حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار میان تیمارها در سطح $p < 0.05$ است.a-b حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین روزها در سطح $p < 0.05$ است.

C: نمونه شاهد حاوی ۱۲۰ ppm نیتريت، T1: تیمار حاوی ۹۰ ppm نیتريت و ۲٪ روغن سیاه‌دانه، T2: تیمار حاوی ۹۰ ppm نیتريت و ۳٪ روغن سیاه‌دانه، T3: تیمار حاوی ۶۰ ppm نیتريت و ۲٪ روغن سیاه‌دانه، T4: تیمار حاوی ۶۰ ppm نیتريت و ۳٪ روغن سیاه‌دانه، T5: تیمار حاوی ۳۰ ppm نیتريت و ۲٪ روغن سیاه‌دانه، T6: تیمار حاوی ۳۰ ppm نیتريت و ۳٪ روغن سیاه‌دانه، T7: تیمار حاوی ۲٪ روغن سیاه‌دانه و بدون نیتريت، T8: تیمار حاوی ۳٪ روغن سیاه‌دانه و بدون نیتريت.

بحث و نتیجه‌گیری

کاهش عدد پراکسید در سوسیس‌های تیمار شده با روغن سیاه‌دانه و هم‌چنین پایین‌تر بودن میانگین عدد پراکسید تیمارهای حاوی ۳ درصد روغن سیاه‌دانه نسبت به تیمارهای حاوی ۲ درصد روغن سیاه‌دانه نشان‌دهنده خواص آنتی‌اکسیدانی قابل توجه روغن سیاه‌دانه می‌باشد که با داشتن مقادیر بالای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله ترکیبات فنولی و توکوفرول‌ها موجب افزایش پایداری اکسیداتیو چربی نمونه‌های سوسیس تیمار شده نسبت به شاهد شده است. این ترکیبات با دادن الکترون به رادیکال‌های آزاد تشکیل شده، منجر به کند شدن مرحله آغاز و پیشرفت اکسیداسیون گشته و از گسترش زنجیره‌ای آن جلوگیری می‌کنند و در نهایت سبب ایجاد محصولاتی با پایداری کاهش عدد تیوباریتوریک اسید همه نمونه‌های سوسیس از روز ۱۱ تا پایان زمان نگهداری احتمالاً به دلیل تخریب مالون‌آلدئید توسط برخی از میکروارگانیزم‌ها و نیز اکسیداسیون مالون‌آلدئید به دیگر ترکیبات از قبیل الکل‌ها و اسیدهایی که نمی‌توانند با تیوباریتوریک اسید واکنش دهند، می‌باشد (Khaleghi *et al*, 2016). در تحقیقی اثر روغن اسانسی دارچین بر میزان تیوباریتوریک اسید سوسیس پخته مورد بررسی قرارگرفت و گزارش شد که عدد تیوباریتوریک اسید نمونه‌های سوسیس بین روزهای ۹ تا ۲۳ کاهش یافت (Moarefian *et al*, 2011). کاهش عدد تیوباریتوریک اسید نمونه‌های تیمار شده با روغن سیاه‌دانه و هم‌چنین کاهش عدد تیوباریتوریک اسید در اثر افزایش غلظت روغن سیاه‌دانه در غلظت‌های ثابت نیتريت، نشان‌دهنده اثرگذاری روغن سیاه‌دانه در به تعویق انداختن

بیشتر می‌گردند (Alizadeh *et al*, 2014). در مطالعه‌ای روغن آفتابگردان با لینولئیک بالا، با روغن سیاه‌دانه مخلوط شد و پایداری اکسیداتیو آن از طریق اندازه‌گیری عدد پراکسید بررسی گردید و گزارش شد که اختلاط روغن سیاه‌دانه در سطح ۱۰ و ۲۰ درصد موجب کاهش عدد پراکسید نسبت به شاهد شده و هم‌چنین مخلوط حاوی ۲۰٪ روغن سیاه‌دانه عدد پراکسید کم‌تری نسبت به مخلوط حاوی ۱۰ درصد روغن سیاه‌دانه داشت (Ramadan, 2013). حد قابل قبول عدد پراکسید در فرآورده‌های گوشتی کمتر از ۲۵ meqO₂/kg گزارش شده است (Moarefian *et al*, 2011). نتایج حاصل از آزمون عدد پراکسید نمونه‌های سوسیس نشان داد همه تیمارها از نظر این پارامتر در محدوده قابل قبول قرار داشتند.

اکسیداسیون چربی‌ها است. در پژوهشی فعالیت آنتی‌اکسیدانی برخی گیاهان و ادویه‌ها از جمله سیاه‌دانه در برگر منجمد مرغ، از طریق اندازه‌گیری عدد تیوباریتوریک اسید بررسی گردید و گزارش شد تیمارهای حاوی گیاهان و ادویه‌ها در سطح ۱ درصد، عدد تیوباریتوریک اسید پایین‌تری نسبت به تیمارهای حاوی ۰/۵ درصد و تیمار شاهد داشتند (Darwish *et al*, 2012). میزان مجاز عدد TBA برای محصولات گوشتی کم‌تر از ۱ mg MDA/kg می‌باشد (Moarefian *et al*, 2011). نتایج حاصل از آزمون عدد تیوباریتوریک اسید نمونه‌های سوسیس نشان داد، همه تیمارهای مورد بررسی از نظر این پارامتر در محدوده قابل قبول قرار داشتند.

کاهش شمارش کلی میکروبی در تیمارهای حاوی روغن سیاه‌دانه به‌خصوص در روز ۱۱ نگهداری مشاهده

به‌همراه نیتريت دارای پایین‌ترین میانگین شمارش کلی و تیمار فاقد هرگونه افزودنی بیشترین میانگین شمارش کلی را دارد (Khaleghi *et al.*, 2016). مطابق استاندارد ملی موجود، شمارش کلی میکروبی باید کمتر از \log 5 CFU/g باشد که نتایج حاصل از شمارش کلی میکروبی تحقیق حاضر نشان داد صرفاً نمونه شاهد (حاوی 120 ppm نیتريت) و تیمارهای حاوی 90 ppm و 60 ppm نیتريت همراه با 2 و 3 درصد روغن سیاه‌دانه در محدوده استاندارد تعیین شده برای سوسیس قرار دارند (ISIRI, 2303/2005).

افزایش معنی‌دار شمارش کپک‌ها و مخمرها با کاهش نیتريت در غلظت‌های 2 درصد و هم‌چنین با کاهش نیتريت در غلظت‌های 3 درصد نشان‌دهنده اثر بازدارندگی بهتر تیمارهای حاوی مقادیر بیشتر نیتريت بر شمارش کپک‌ها و مخمرها در نمونه‌های سوسیس می‌باشد. با این حال، در روزهای 21 و 31 نگره‌داری، تفاوت معنی‌داری بین نمونه شاهد و تیمارهای حاوی 90 ppm نیتريت با 2 و 3 درصد روغن سیاه‌دانه مشاهده نگردید. کاهش معنی‌دار شمارش کپک‌ها و مخمرها با افزایش غلظت روغن سیاه‌دانه از 2 درصد به 3 درصد در غلظت‌های ثابت نیتريت مشاهده شد که این کاهش در تیمارهای حاوی 60 ppm و 30 ppm نیتريت در روز 31 تا حدود 0/3 سیکل لگاریتمی رسید که حاکی از اثرات ضدقارچی روغن سیاه‌دانه است. اثر ضدقارچی روغن سیاه‌دانه با محتوای کینون‌ها (تیموکینون و تیمویدروکینون) مرتبط دانسته می‌شود. این ترکیبات با ایجاد کمپلکس برگشت‌ناپذیر با پروتئین‌های هسته باعث غیرفعال شدن پروتئین می‌شوند. هم‌چنین تیموکینون به پلی‌پپتیدهای دیواره سلولی و آنزیم‌ها و

گردید که این کاهش در تیمار حاوی 90 ppm نیتريت و 3 درصد روغن سیاه‌دانه به 0/8 سیکل لگاریتمی رسید. میانگین شمارش پایین‌تر در تیمارهای حاوی 3 درصد روغن سیاه‌دانه نسبت به تیمارهای حاوی 2 درصد آن، مربوط به اثرات ضدباکتریایی روغن سیاه‌دانه می‌باشد که با حضور تیموکینون و آلفاپینن که از ترکیبات عمده روغن سیاه‌دانه می‌باشند، در ارتباط است. مکانیسم اثر این ترکیبات ضدباکتریایی، بازدارندگی آن‌ها از سنتز RNA و پروتئین در باکتری است (Kahsai, 2002). در یک مطالعه با افزودن غلظت‌های متفاوت روغن سیاه‌دانه به فیله مرغ در طول زمان نگره‌داری در سرما، مشاهده شد که افزودن روغن سیاه‌دانه موجب کاهش شمارش کلی باکتریایی در 7 روز ابتدایی و سپس افزایش آن در ادامه زمان نگره‌داری می‌شود و هم‌چنین با افزایش غلظت روغن سیاه‌دانه، شمارش کلی باکتریایی در 7 روز ابتدایی کاهش بیش‌تری یافت (Rabie and Marzouk, 2010). این روند و کاهش شمارش میکروبی در روزهای ابتدایی نگره‌داری در تحقیق حاضر نیز مشاهده گردید که می‌تواند به علت اثر متقابل سرما و اثر ضد میکروبی روغن سیاه‌دانه بر باکتری‌های ترموفیل و مزوفیل باشد. اما از روز یازدهم با تغییر فلور میکروبی، باکتری‌هایی که تحمل سرمایی بیش‌تری داشته و توانایی رشد در سرما را داشتند شروع به رشد نموده و بار میکروبی افزایش یافت. نکته حائز اهمیت شیب رشد این باکتری‌ها می‌باشد که در تیمارهای حاوی مقادیر بالاتر روغن سیاه‌دانه و نیتريت دارای شیب کندتری است. هم‌چنین در تحقیق دیگری عصاره زرشک سیاه جایگزین نیتريت در تولید سوسیس گردید و گزارش شد که تیمار حاوی بالاترین غلظت عصاره

غلظت‌های متفاوت نیتريت و روغن سیاه‌دانه در طول مدت نگه‌داری امتیاز قابل‌قبولی نداشتند. به‌علاوه گذشت زمان نیز موجب افت امتیاز طعم همه تیمارها شد که احتمالاً به‌دلیل فعالیت میکروبی و اکسیداسیون چربی می‌باشد. در مطالعه‌ای مزایا و مخاطرات استفاده از سدیم نیتريت در فرآورده‌های گوشتی عمل‌آوری شده بررسی گردید و گزارش شد که در فرانکفورترهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف نیتريت شامل (۰، ۲۶، ۵۲ و ۱۵۶ ppm نیتريت)، فرانکفورتر حاوی ۱۵۶ ppm نیتريت به‌لحاظ رنگ و طعم پذیرش بیش‌تری داشت (Sindelar and Milkowski, 2011). از طرف دیگر، افزودن روغن سیاه‌دانه موجب افزایش امتیاز بو نسبت به شاهد در همه تیمارهای حاوی ۹۰ ppm و ۶۰ ppm نیتريت در سطح جایگزینی با ۳ درصد روغن سیاه‌دانه گردید. در پژوهشی اثر ضدباکتریایی عصاره سیاه‌دانه علیه سه گونه سالمونلا در قطعات گوشتی و گوشت چرخ‌کرده مورد بررسی قرار گرفت و گزارش شد افزودن عصاره سیاه‌دانه موجب بهبود ویژگی حسی بوی نمونه‌های گوشت چرخ‌کرده می‌شود (Tayel and El-Tras, 2011). هم‌چنین با کاهش یا حذف نیتريت، در غلظت‌های ثابت سیاه‌دانه، به‌خصوص تیمارهای حاوی ۲ درصد روغن سیاه‌دانه امتیاز بو به‌طور معنی‌داری کاهش یافت که احتمالاً به‌دلیل افزایش فعالیت میکروبی و اکسیداسیون چربی در اثر کاهش نیتريت است. همان‌طور که قبلاً ذکر شد اثر غلظت‌های متفاوت نیتريت و جایگزینی آن با روغن سیاه‌دانه بر بافت نمونه‌های سوسیس معنی‌دار نبوده است.

ارزیابی خطرات همراه با نیتريت موجود در رژیم غذایی و نیتروزآمین‌ها برای سلامتی انسان مشکل است

پروتئین‌های محدود شده در غشای پلاسمایی متصل شده و باعث از دست رفتن عملکرد آن‌ها و بازدارندگی از رشد قارچ‌ها می‌شود. به‌علاوه سیاه‌دانه حاوی دو پپتید ضدقارچی به نام‌های Ns-D1 و Ns-D2 می‌باشد که از اثرات ضدقارچی قدرتمندی برخوردارند (Taha *et al.*, 2010; Rogozhin *et al.*, 2011). مطابق استاندارد ملی موجود، بیشینه شمارش کپک‌ها و مخمرها می‌بایست $2 \log \text{CFU/g}$ باشد. نتایج حاصل از شمارش کپک‌ها و مخمرها در این تحقیق نشان داد همه تیمارها غیر از تیمارهای T7 و T8 (فاقد نیتريت) در روز ۲۱ و تیمارهای T3 و T5 تا T8 در روز ۳۱ در محدوده استاندارد تعیین شده برای سوسیس قرار داشتند و صرفاً پنج تیمار یاد شده در روزهای مذکور خارج از این محدوده بودند (ISIRI, 2303/2005).

کاهش امتیاز رنگ نمونه‌های سوسیس با کاهش نیتريت به‌علت کاهش تشکیل نیتروزومیوگلوبین از میوگلوبین، در حضور نیتريك‌اکساید ناشی از نیتريت می‌باشد. به‌علاوه گذشت زمان نیز موجب افت امتیاز رنگ همه تیمارها شد که احتمالاً با تشکیل مت‌میوگلوبین و هم‌چنین اکسیداسیون رنگدانه‌های گوشت عمل‌آوری شده در ارتباط باشد (Khaleghi *et al.*, 2016). امتیاز طعم نمونه شاهد در محدوده بسیار رضایت‌بخش قرار داشت اما افزودن روغن سیاه‌دانه موجب کاهش امتیاز طعم همه نمونه‌ها نسبت به شاهد شد. پس از شاهد امتیاز طعم تیمار حاوی ۹۰ ppm نیتريت و ۲ درصد روغن سیاه‌دانه بالاتر و قابل‌قبول بوده است و تیمار حاوی ۶۰ ppm نیتريت و ۲ درصد روغن سیاه‌دانه نیز در طول دوره نگه‌داری تقریباً در محدوده قابل‌قبول قرار داشت اما سایر تیمارها با

محدوده قابل قبول استاندارد قرار داشته است و حتی در برخی از ویژگی‌های مورد مطالعه نسبت به شاهد بهتر بوده است، می‌توان آن را به‌عنوان بهترین تیمار معرفی نمود.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

اما با این حال، به حداقل رساندن میزان مواجهه با نیتريت در مواردی که قابل کنترل است، امری معقول و محتاطانه می‌باشد. با مقایسه نتایج آزمون‌های شیمیایی، میکروبی و حسی با حدود قابل قبول مشخص گردید که کاهش نیتريت به ۹۰ ppm و جایگزینی آن با ۲ درصد روغن سیاه‌دانه امکان‌پذیر است که البته بایستی به این منظور اثر روغن سیاه‌دانه بر کلستریدییوم بوتولینوم مورد بررسی بیشتر قرار گیرد. با توجه به اینکه در این تیمار، میزان ۳۰ ppm از نیتريت نسبت به شاهد کاسته شده و هم‌چنان ویژگی‌های شیمیایی، میکروبی و حسی آن در

منابع

- Alizadeh, L., Nayebezhadeh, K. and Shahin, R. (2014). Antioxidant effect of rosemary and ferulago extracts and synthetic TBHQ on oil oxidation during deep-frying. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 8(4): 135–143.
- Belitz, H., Grosch, W. and Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry*. 4th edition, Leipzig: Springer, p. 1070.
- Darwish, S., El-Geddawy, M., Khalifa, R. and Mohamed, R. (2012). Antioxidant activities of some spices and herbs added to frozen chicken burger. *Frontiers in Science*, 2: 144–152.
- Helal, E., Zaahkouk, S. and Rashed, S. (2003). Progressive effects of *Nigella sativa* against the interaction of sodium nitrite and sun - set yellow in albino rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 10: 109–129.
- Honikel, K.O. (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, 78: 68–76.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2013). Animal and vegetable fats and oils. Determination of peroxide value Iodometric (visual) endpoint determination. 1st Revision, ISIRI No. 19197. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2013). Animal and vegetable fats and oils. Determination of 2-Thiobarbituric acid value direct-method. 1st Revision, ISIRI No. 10494. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2005). Sausages-specification and test methods. 3rd Revision, ISIRI No. 2303. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2015). Microbiology of the food chain Horizontal method for the enumeration of microorganisms -Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique. 1st Revision, ISIRI No. 5272-1. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2008). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds -Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95. 1st Revision, ISIRI No. 10899-1. [In Persian]

- Jensen, W. (2004). Encyclopedia of Meat Sciences. 1st edition, Wellington: Elsevier Publishing, p. 1405.
- Kahsai, A.W. (2002). Isolation and characterization of active ingredients from *Nigella sativa* for antibacterial screening. MSc (Chemistry). East Tennessee State University, USA. 12:287-296.
- Kaskoos, R. (2011). Fatty acid composition of black cumin oil from Iraq. Research Journal of Medicinal Plant, 5: 85–89.
- Khaleghi, A., Kasaai, R., Khosravi-Darani, K. and Rezaei, K. (2016). Combined use of black barberry (*Berberis crataegina L.*) extract and nitrite in cooked beef sausages during the refrigerated storage. Journal of Agriculture Science and Technology, 18: 601–614.
- Lutterodt, H., Luther, M., Slavin, M., Yin, J., Parry, J., Gao, J. and Yu, L. (2010). Fatty acid profile, thymoquinone content, oxidative stability, and antioxidant properties of cold-pressed black cumin seed oil. LWT - Food Science and Technology, 43: 1409–1413.
- Marchello, M. and Robinson, J. (2012). The Art and Parctice of Sausage Making. 1st edition, Fargo: NSDU Extention Service, p. 120.
- Moarefian, M., Barzegar, M. and Sattari, M. (2011). *Cinnamomum zeylanicum* essential oil as a natural antioxidant and antibacterial in cooked sausage. Journal of Food Biochemistry, 600: 62–69.
- Rabie, A. and Marzouk, N. (2010). Effect of *Nigella sativa* oil on the microbial quality of chilled chicken fillets. Alexandria Journal of Veterinary Sciences, 1: 51–59.
- Ramadan M. 2006. Nutritional value, functional properties and nutraceutical applications of black cumin (*Nigella sativa L.*): an overview. International Journal of Food Science and Technology, 42: 1208–1218.
- Ramadan, M. (2013). Healthy blends of high linoleic sunflower oil with selected cold pressed oils: Functionality, stability and antioxidative characteristics. Industrial Crops and Products, 43: 65–72.
- Rogozhin, E.A., Oshchepkova, Y.I., Odintsova, T.I., Khadeeva, N.V., Veshkurova, O.N. and Egorov, T.A. (2011). Novel antifungal defensins from *Nigella sativa L.* seeds. Plant Physiology and Biochemistry, 49(2): 131–137.
- Sebranek, J., Sewalt, V., Robbins, K. and Houser, T. (2005) Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. Meat Science, 69(2): 289–296.
- Sindelar, J. and Milkowski, A. (2011). Sodium nitrite in processed meat and poultry meats: A review of curing and examining the risk/benefit of its use. American Meat Science Association, 96: 100–115.
- Sultan, M., Butt, M., Ahmad, A., Ahmad, N., Amanullah, M. and Batool, R. (2012). Utilization of *Nigella sativa L.* essential oil to improve the nutritive quality and thymoquinone contents of baked products. Pakistan Journal of Nutrition, 11: 812–817.
- Taha, M., Abdelazeiz, A. and Saudi, W. (2010). Antifungal effect of thymol, thymoquinone and thymohydroquinone against yeasts, dermatophytes and non-dermatophyte molds isolated from skin and nails fungal infections. Egyptian Journal Biochemistry and Molecular Biology, 23: 109–126.
- Tahmouzi, S. (2015). Optimization of oxidative stability, color and sensory properties of uncured (nitrite-free) Asian hot dogs (Jigo) using response surface methodology (RSM). Journal Food Science and Technology, 53(1): 381–390.
- Tayel, A. and El-Tras, W. (2011). Plant extracts as potent biopreservatives for *Salmonella typhimurium* control and quality enhancement in ground beef. Journal of Food Safety, 32: 115–121.

-
- Tiekou Nassu, R., Goncalves, L., Pereira da Silva, M. and Jose Beserra, F. (2003). Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat Science*, 63(1): 43–49.
 - Waer, H., El Asser, A., Ibrahim, H., Khalifa, M., Elgendy, S. and Magrabi, K. (2005). Modifying effects of soybean and *Nigella sativa* against experimental hepato-carcinogenesis induced by nitrosamine precursor in rats: Histopathological and electron microscopically study. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 18: 88–115.
 - Zahedi, Y. (2011). Nitrite and nitrate reduction or replacement methods in meat products. 20th national congress on food science & technology, Sharif University of Technology, Tehran, 22-25 November, Page: 1-11. [In Persian]

Study the effect of nitrite substitution by using black cumin (*Nigella sativa*) oil on oxidative stability, microbial and sensory properties of cocktail sausage

Abolhasanzadeh, A.¹, Khani, M.R.^{2*}, Fahimdanesh, M.²

1. M.Sc Graduate of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Assistant Professor of Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

*Corresponding author's E.mail: m.khani@qodsiau.ac.ir

(Received: 2017/9/20 Accepted: 2018/4/21)

Abstract

One of the major concerns in modern societies is applying the chemical additives in food products and the risk of catching some types of diseases such as cancer. The aim of this research was investigating the possibility of nitrite substitution in cocktail sausage formulation by using black cumin oil. For this purpose different levels of nitrate in 0, 30, 60 and 90 ppm was replaced with black cumin oil at concentrations of 2 and 3 percent and its effects were evaluated on oxidative stability (peroxide and thiobarbituric acid indices), microbial properties (total bacterial count and yeasts and molds count), and sensory characteristics during one month of storage at 4 °C at 1, 11, 21, and 31 days. The results showed that replacement of nitrite with black cumin oil in two used concentrations led to a reduction of the peroxide and TBA values in nitrite reduced sausages compared to control ($P < 0.05$). Also, microbial load decreased by increasing the concentration of black cumin oil from 2 to 3 percent in equal concentrations of nitrite. Treatments containing 2 and 3% of black cumin oil with 90 ppm and 60 ppm nitrites had mainly similar total bacterial counts and yeasts and molds counts compared to the control during the storage period ($P < 0.05$). Sensory evaluation results indicated that reduction of nitrite and its substitution with black cumin oil led to significant decrease of color and flavor scores, but had no negative effect on texture and odor properties of sausage samples.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Nitrite substitution, Black cumin oil, Sausage, Oxidative stability, Microbial properties