تحقیقات مهندسی صنایع غذایی/جلد ۲۱/ شماره ۷۲/بهار و تابستان ۱۴۰۱/ص ۹۲-۷۵
سایت مجله: https://fooder.areeo.ac.ir

نوع مقاله: علمی-پژوهشی

بررسی تأثیر کیتوزان به همراه صمغ دانه ریحان و اسانس گزنه بر ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و حسی همبرگر تازه

رویا باقری[1*] و پیمان آریایی[2]

۱و۲- گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی
تاریخ دریافت:۱۴۰۰/۰۹/۲۴ ؛ تاریخ پذیرش:۱۴۰۱/۰۴/۰۶

چکیده

در این مطالعه تأثیر خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی غلظت‌های مختلف کیتوزان/ صمغ ریحان و اسانس گزنه، بر ماندگاری و کیفیت همبرگر طی دوره نگهداری ۱۲ روزه در یخچال بررسی شد. بدین منظور غلظت‌های مختلف کیتوزان در دوزهای ۱، ۱/۵ و ۲ درصد، صمغ دانه ریحان در دوزهای ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد و اسانس گزنه در دوزهای ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد به صورت ترکیبی به همبرگر افزوده شد. همبرگرهای تولیدی به همراه تیمار شاهد (همبرگر بدون نگهدارنده) به صورت دوره‌ای مورد ارزیابی میکروبی (مقادیر کلی باکتری (TVC)، مقادیر باکتری‌های سرما دوست (PTC)) و شیمیایی (پراکسید (PV)، مقادیر تیوباربیوتیک اسید (TBA)، بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)، و اسید چرب آزاد (FFA)) قرار گرفت. نتایج مطالعه حاضر نشان داد بیشترین مقادیر شاخص‌های میکروبی و شیمیایی در تیمار شاهد مشاهده شد. استفاده از کیتوزان به همراه صمغ دانه ریحان و اسانس گزنه سبب کند شدن روند فساد اکسیداسیونی و میکروبی در همبرگر شد. کمترین مقادیر پارامترهای میکروبی و شیمیایی در طول دوره نگهداری به ترتیب در تیمارهای S13 (C 2%, N 1.5%, B 1%) و S8 (C 1.5%, N 1%, B 1.5%) و S11 (C 1%, N 1.5%, B 1.5 %)مشاهده شد و این ۳ تیمار تا پایان دوره نگهداری از محدوده مجاز شاخص‌های شیمیایی و میکروبی برخوردار بودند. با توجه به نتایج، امتیازدهی حسی تیمارهای مورد تأیید توسط ارزیاب‌ها تیمار S11 به‌عنوان بهترین تیمار تشخیص داده شد.

واژه های کلیدی

محصولات گوشتی، ماندگاری، هیدروکلوئید، کیفیت.

مقدمه:

گوشت و فراورده‌های گوشتی، منابع مهمی برای تأمین پروتئین، چربی، اسیدهای آمینه ضروری، مواد معدنی و ویتامین‌ها و دیگر مواد مغذی انسان هستند. همبرگر یکی از رایج‌ترین فرآورده‌های گوشتی است، از این رو حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری آن یکی از مهمترین اهداف صنعت گوشت به شمار می‌رود. این فرآورده مستعد فساد میکروبی و شیمیایی سریع است. وجود مقدار زیاد رطوبت و پروتئین باعث فساد میکروبی گوشت می‌شود در حالی‌که شرایط هوازی باعث اکسیداسیون لیپید و پروتئین می‌شود که هر دو این پدیده سبب کاهش ایمنی مواد غذایی می‌شود (Domingues *et al.*, 2019). تاکنون تولیدکنندگان فرآورده‌های گوشتی از افزودنی‌های مختلفی با خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی استفاده نمودند. امروزه به دلیل نگرانی از عوارض نامطلوب استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی شیمیایی، جایگزین نمودن آنها با ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی، خصوصاً فرآورده‌های گیاهی مورد

* نگارنده مسئول: Email: bagheriroya@yahoo.com
http://doi: 10.22092/FOODER.2022.357112.1322
© 2022,The Author(s). Published by Agricultural Engineering Research Institute. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

توجه قرار گرفته است (Efenberger-Szmechty *et al.*, 2020).

گزنه[۱] Urtica dioica گیاهی است دوپایه، علفی، با کرک‌های گزنده متعلق به خانواده Urticaceae است. دامنهٔ انتشار گیاه گزنه در نقاط مرطوب ایران، خصوصاً در ارتفاعات نواحی شمالی است. بهترین زمان برداشت و جمع‌آوری برگ‌های این گیاه از اردیبهشت ماه تا شهریورماه است. گزنه گیاهی است که خواص ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی و درمانی نظیر کنترل فشارخون و قند خون و ضدالتهاب دارد که به ترکیبات فنولی و فلاونوئید آن نسبت داده می‌شود (Kukric *et al.*, 2012). اجزا تشکیل‌دهنده گیاه گزنه بر اساس ارتفاع، منطقه رویش و فصل برداشت تنوع دارند. گزنه دارای آگلوتینین، استوفنون، آلکالوئیدها، استیل کولین، اسید کلروژنیک، کلروفیل، کافئین اسید، کولین، هیستامین، اسید کوماریک، اسید فرمیک، کامفرول، لسیتین، سروتونین و اسید سوکسینیک است.

ریحان[۲] از خانواده Lamiaceae، جنس Ocimum شامل ۵۰-۱۵۰ گونه بوده و دارای ساختار هترو پلی ساکارید آنیونی شامل گلوکومانان، زایلان و گلوکان است. صمغ دانه ریحان[۳] یک هیدروکلوئید با وزن مولکولی بالای ۲۳۲۰ کیلو دالتون است که در ایجاد ویسکوزیته بالا و رفتار شبه پلاستیک آن نقش دارد (Hosseini-Parvar *et al.*, 2010). بر اساس نتایج ارائه شده ویژگی‌های ارگانولپتیکی صمغ دانه ریحان به دلیل رقیق‌شدن برشی بالا، بهتر از سایر هیدروکلوئیدها نظیر کربوکسی متیل سلولز، پکتین و کاراگینان است. قندهای غالب صمغ دانه ریحان شامل گلوکز، اسید گالاکتورونیک، رامنوز، مانوز، آرابینوز، اسید گلوکورونیک و گالاکتوز است (Naji-Tabasi & Razavi 2016).

کیتوزان یک پلی ساکارید خطی متشکل از پیوند (2-amino-deoxy-β-D-1-4)و مشتق دی استیله کیتین است که دومین پلی ساکارید فراوان در طبیعت پس از سلولز است یک بیوپلیمر کاتیونی طبیعی با ویژگی‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی که غیر سمی و زیست تخریب‌پذیر است که کاربردهای زیاد در صنایع غذایی دارد. بر اساس تحقیقات انجام شده کیتوزان طیف ضدمیکروبی گسترده‌ای در برابر هر دو باکتری[۴] گرم منفی و گرم مثبت و همچنین قارچ‌ها نشان داده است. (Mahdavi *et al.*, 2018) هدف از این مطالعه بررسی اثر ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی کیتوزان به همراه اسانس گزنه صمغ ریحان بر خصوصیات میکروبی و شیمیایی همبرگر طی دوره نگهداری ۱۲ روزه در دمای یخچال است.

مواد و روش‌ها:

تهیه کیتوزان:

کیتوزان با وزن مولکولی متوسط (450 KDa) از سیگما آلدریچ تهیه شد. محلول کیتوزان از طریق انحلال کیتوزان در محلول اسید آسکوربیک تحت گرمای ۸۰ درجه سلسیوس تهیه شد (Bingöl *et al*, 2015).

تهیه و تجزیه اسانس گزنه استخراج اسانس گزنه

گیاه گزنه از شهرستان نور استان مازندران در تابستان جمع‌آوری شد و برگ‌های آن در آون ۴۰ درجه سلسیوس خشک شدند و سپس با آسیاب کاملاً

۱ Stingin Nettle
۲ Ocimum basilicum
۳ BSG
۴ Total Viable Count

خرد و تبدیل به پودر شدند در این تحقیق از اتانول ۷۰ درصد استفاده شد عمل اسانس‌گیری توسط دستگاه کلونجر طرح میکوئل انجام شد. ۱۰۰ گرم برگ خشک گزنه آسیاب‌شده با حدود ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر داخل بالن ژوژه مخلوط شدند برای مدت ۴-۳ ساعت عمل اسانس‌گیری انجام شد.

پس از آبگیری از اسانس تقطیر شده به‌وسیله سولفات سدیم بدون آب، درون میکروتیوب استریل جمع‌آوری کرده، درب آن را کاملاً با پارافیلم بسته و در فویل آلومینیومی پوشانده و تا زمان مصرف در یخچال (دمای ۴ درجه سلسیوس) نگهداری گردید(Jalali *et* Kamakar & *al.*, 2015).

شناسایی ترکیبات موجود در اسانس

ابتدا ۱ میکرولیتر از نمونه آماده شده اسانس به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد و مناسب‌ترین برنامه‌ریزی دمایی ستون برای جداسازی کامل ترکیبات اسانس به دست آمد. همچنین درصد ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس و زمان بازداری هر ترکیب محاسبه گردید. سپس اسانس به دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف نگار جرمی تزریق شده و طیف جرمی ترکیبات به دست آمد. شناسایی ترکیبات اسانس با استفاده از زمان بازداری و بررسی طیف‌های جرمی هر یک از اجزا اسانس و مقایسه آنها با طیف‌های مرجع انجام شد. (Valipour *et al.*, 2016)

در این مطالعه از دستگاه کروماتوگرافی گازی نوع B۷۸۹۰AGILENT ساخت امریکا با ستون موبینه به طول ۳۱ متر، قطر داخلی ۲۵۱ میکرون و ضخامت لایه داخلی ۱/۱۵ میکرون استفاده شد. برنامه دمایی ستون در ابتدا با دمای ۵۱ درجه سلسیوس و توقف به مدت ۱/۵ دقیقه در این دما سپس افزایش دما تا ۲۵۱ درجه سلسیوس با سرعت ۵ درجه سلسیوس بر دقیقه و افزایش دمای ستون تا ۳۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۱ دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق ۳۱۱ درجه سلسیوس بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۱/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده گردید. طیف‌نگار جرمی مورد استفاده با انرژی یونیزاسیون ۷۱ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۳۱ درجه سلسیوس بود.

نحوه استخراج صمغ دانه ریحان

دانه ریحان از یک واحد عطاری در شهر آمل خریداری شد. برای استخراج صمغ، ابتدا دانه‌های ریحان تمیز شده و بر اساس روش (Razavi *et al.*,2009) از دمای ۷۰ درجه سلسیوس،۸: pH، ۲۰ دقیقه زمان خیساندن و نسبت آب به دانه، ۶۵:۱ جهت استخراج صمغ استفاده شد. در مرحله اول استخراج، دانه‌ها در نصف مقدار آب دیونیزه لازم خیسانده و به مدت ۲۰ دقیقه تا متورم‌شدن کامل در بن‌ماری ۷۰ درجه سلسیوس گذاشته شد. جداسازی صمغ از دانه‌های متورم به وسیله عبور دانه‌ها از استخراج‌کننده که موجب تراشیدن لایه صمغ سطح دانه شد. صمغ جداسازی شده در این مرحله جمع‌آوری شده و مابقی صمغ چسبیده به دانه‌ها با غوطه‌ورکردن دانه‌ها در نصف آب باقی‌مانده و عبور دادن از اکستراکتور جدا شدند. سپس با عبور از صافی ناخالصی‌ها گرفته شده و به مدت ۷۲ ساعت در آون فن‌دار با دمای ۵۵ درجه سلسیوس قرار گرفت تا کاملاً آب از دست داده و خشک شود. صمغ خشک‌شده در پایان کار جمع‌آوری و با آسیاب برقی پودر شد تا زمان مصرف در جای خشک و خنک نگهداری شد.

تهیه همبرگر

به منظور آماده‌سازی نمونه همبرگر گوشتی (۶۰ درصد) گوشت کاملاً خرد و توسط چرخ گوشت با شماره ۱۳ چرخ گردید، مواد تشکیل دهنده شامل: ۶۰ درصد گوشت, ۳۰ درصد پیاز، ۸ درصد پودر سوخاری، ۱ درصد نمک ۱ درصد ادویه، به فرمولاسیون اضافه و با هم به مدت ۱۵ دقیقه مخلوط شدند, سپس خمیر آماده شده در قالب استاندارد فلزی با قطر ۱۰ سانتی‌متر شکل گرفت. (Jafarpour & Shokri, 2016).

سایر تیمارها همانند تیمارهای شاهد تهیه شد و غلظت‌های مختلف کیتوزان، اسانس گزنه و صمغ دانه ریحان مطابق (جدول ۱) به فرمولاسیون اضافه شد و سپس تیمارهای مختلف داخل بسته‌های پلاستیکی زیپ‌دار از جنس پلی‌اتیلن بسته‌بندی در یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد و آزمون‌های شیمیایی و میکروبی در روزهای صفر،۳، ۶، ۹، و ۱۲ انجام شد.

جدول ۱- درصد ترکیب و نامگذاری تیمارهای مختلف

Table 2: Composition percentage and definition of treatments

Treatment		Chitosan	Nettel	Basil seed
شاهد	Control	-	-	-
S01	C 1.5%+N 1%+B 1%	1.5 %	1 %	1 %
S02	C 1.5%+N 0.5%+B 0.5%	1.5 %	0.5 %	0.5 %
S03	C 2%+N 1%+B 1.5%	2 %	1 %	1.5 %
S04	C 1.5%+N 0.5%+B 1.5%	1.5 %	0.5 %	1.5 %
S05	C 2%+N 1%+B 0.5%	2 %	1 %	0.5 %
S06	C 1%+N 1%+B 0.5%	1 %	1 %	0.5 %
S07	C 1%+N 0.5%+B 1%	1 %	0.5 %	1 %
S08	C 1.5%+N 1.5%+B 1.5%	1.5 %	1.5 %	1.5 %
S09	C 1%+N 1%+B 1.5%	1 %	1 %	1.5 %
S10	C 2%+N 0.5%+B 1%	2 %	0.5 %	1 %
S11	C 1%+N 1.5%+B 1%	1 %	1.5 %	1 %
S12	C 1.5%+N 1.5%+B 0.5%	1.5 %	1.5 %	0.5 %
S13	C 2%+N 1.5%+B 1%	2 %	1.5 %	1 %

اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید (TBA)[۱]

اندازه‌گیری TBA به‌وسیله روش رنگ‌سنجی صورت گرفت. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه چرخ شده همبرگر به یک بالن ۲۵ میلی‌لیتری انتقال یافته سپس با ۱- بوتانل به حجم رسانده می‌شود. ۵ میلی‌لیتر از مخلوط فوق به لوله‌های خشک درب‌دار وارد شده و به آن ۵ میلی‌لیتر از معرف TBA افزوده می‌شود (معرف TBA به‌وسیله حل شدن ۲۰۰ میلی‌گرم از TBA در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال ۱- بوتانل پس از فیلتر شدن به دست می‌آید). لوله‌های درب‌دار در حمام آب با دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۲ ساعت قرار گرفته پس از آن در دمای محیط سرد می‌شود. سپس مقدار جذب[۲] در ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر[۳] خوانده می‌شود. مقدار TBA (میلی‌گرم مالون

۱ Thiobarbituric Acid

۲ As

۳ Ab

دی‌آلدئید در کیلوگرم گوشت) بر اساس رابطه (۱) محاسبه شد.(AOAC, 2019)

$$TBA= (As-Ab) \times 50/200 \quad (۱)$$

اندازه‌گیری عدد پراکسید[۱]

ابتدا استخراج چربی همبرگر صورت گرفت به این ترتیب که ۵۰ گرم از همبرگر در ۱۵۰ میلی‌لیتر محلول کلروفرم و متانول (به نسبت ۲ به ۱) در مخلوط‌کن حل گردید. پس از فیلتراسیون مخلوط حاصل، ۵۰ میلی‌لیتر محلول کلرید پتاسیم به آن اضافه گردید. بعد از دکانتورگذاری به مدت ۲۰ دقیقه فاز آلی (فاز پایین‌تر) جمع‌آوری شد و سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول متانول/پتاسیم کلرید (به نسبت ۱ به ۱) به آن اضافه شد و برای بار دوم دکانتورگذاری کلرید (به نسبت ۱ به ۱) به آن اضافه شد و برای بار دوم دکانتورگذاری انجام و فاز پایینی جدا شد. حلال به‌وسیله بن‌ماری در دمای ۳۵ درجه سلسیوس تبخیر شد و در نهایت روغن به دست آمده برای آزمایش عدد پراکسید مورد استفاده قرار گرفت (پولاوکا و همکاران، ۲۰۰۵). برای اندازه‌گیری فساد اولیه چربی محاسبه PV از روش AOCS به شماره (Cd 8-53) استفاده شد. به این ترتیب محلول اشباع یدید پتاسیم و محلول چسب نشاسته ۱ درصد تهیه شد. ۵ گرم روغن در یک ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری وزن شد و سپس ۳۰ میلی‌لیتر محلول اسید استیک و کلروفرم (با نسبت ۳ به ۲) به آن اضافه شد و کاملاً باهم مخلوط گردیدند. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر محلول یدید پتاسیم اشباع به آن اضافه شد و ۱ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. بعد از خروج از تاریکی، ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید؛ سپس با تیترازول تیوسولفات ۰/۱ نرمال تیتر شد تا رنگ زرد ناپیدا شد. در هنگام تیتر کردن مخلوط به شدت هم زده شد تا ید از لایه کلروفرم جدا شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر معرف شناساگر نشاسته اضافه شد و تیتراسیون تا از بین رفتن رنگ آبی ادامه یافت. همراه با نمونه، تیتراسیون شاهد (مخلوط اسیداستیک و کلروفرم بدون روغن) نیز انجام شد. در نهایت عدد پراکسید با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد و بر حسب میلی اکی والان پراکسید در ۱۰۰۰ گرم روغن بیان شد(AOAC, 2019) .

$$PV = N(S - B) \times 1000/w \quad (۲)$$

اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار[۲] (TVB-N)

۱۰ گرم همبرگر را همراه با ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر داخل بالن کلدال ریخته، سپس چند عدد پرل شیشه‌ای به همراه اکتان نرمال (ضد کف) به آن اضافه می‌گردد. سپس بالن را به دستگاه وصل کرده و از زیر به آن حرارت داده می‌شود. داخل یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری نیز، ۲۵ میلی‌لیتر از محلول اسید بوریک ۲٪ (۲ گرم اسید بوریک در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به همراه چند قطره معرف متیل رد (۰/۱ گرم متیل رد در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول) قرار داده می‌شود. متیل رد در محیط اسیدی قرمز رنگ و در محیط بازی زرد رنگ است. عمل تقطیر تا گذشت ۳۰ دقیقه از زمان جوشش مواد درون بالن، یا جمع شدن حدود ۱۲۵ میلی‌لیتر مایع در ارلن مایر ادامه می‌یابد. محلول اسید بوریک به محض قلیایی شدن توسط بازهای ازته فرار تقطیر شده زرد رنگ می‌شود. عمل تیتراسیون این محلول توسط اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تا جایی ادامه می‌یابد که اسید بوریک دوباره قرمز شود. مقدار TVB-N به صورت

۱ Peroxide Value

۲ Total Volatile Basic Nitrogen

میلی‌گرم در صد گرم گوشت با توجه به رابطه ۳ به دست آمد.(AOAC, 2019)

(۳) وزن نمونه/۱۰۰ ×۱/۴× میزان اسید سولفوریک مصرفی= TVB-N

اندازه‌گیری اسیدهای چرب آزاد

۲۵ میلی‌لیتر از الکل اتیلیک خنثی شده به‌وسیله سود نرمال به ۵ میلی‌لیتر نمونه روغن اضافه گردید . سپس در مراحل بعدی با کمک ۲ تا ۳ قطره معرف فنول فتالئین با سود نرمال تا پیدایش رنگ صورتی تیتر شد و مقدار اسیدیته بر حسب درصد اسید اولئیک بر طبق رابطه ۴ مشخص گردید .(AOAC, 2019)

FFA – وزن نمونه روغن نرمالیته × 2/28 /

حجم سود مصرفی (۴)

آنالیز میکروبی نمونه‌ها

برای شمارش باکتریایی نمونه‌ها، ۱۰ گرم از نمونه همبرگر مورد استفاده در تحقیق را در شرایط استریل با ۹۰ میلی‌لیتر محلول کلرید سدیم ۰/۸۵ مخلوط و هموژن شد و متعاقب آن رقت‌های موردنیاز تهیه گردید. یک میلی‌لیتر از هر رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پور پلیت مورد استفاده قرار گرفت. شمارش تعداد باکتری‌های کل در محیط پلیت کانت آگار به ترتیب در دماهای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲ روز و ۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ روز با شمارش کلنی های موجود بر روی پلیت انجام گرفت. تمامی شمارش‌ها به صورت log CFU/g گزارش گردید (Ojagh *et al*., 2010).

ارزیابی حسی

به منظور انجام آزمون ارزیابی حسی از هر تیمار به طور یکسان با استفاده از دستگاه سرخ‌کن Beckers ایتالیا و روغن مایع مخصوص سرخ کردنی بهار ایران در دمای در دمای ۱۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه سرخ گردیدند و در اختیار گروه ارزیاب قرار گرفت. آزمون حسی با استفاده از یک گروه ارزیاب نیمه آموزش دیده متشکل از ۱۵ نفر انجام گردید. این افراد نظرات خود را پس از ارزیابی طعم، بو، بافت، رنگ و پذیرش‌کلی هر تیمار روی پرسشنامه‌هایی که از قبل بر اساس مقیاس هدونیک ۵ امتیازی تهیه شده بود، انتقال دادند. امتیاز حسی به ترتیب از امتیاز ۵ تا ۱ و به‌صورت عالی، خوب، متوسط، بد و خیلی بد بود (Jafarpour & Shokri, 2016).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه تحلیل داده‌ها، با توجه به نرمال بودن آن و همگنی واریانس، با استفاده از روش آنالیز واریانس استفاده شد. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد. تمام داده‌ها به‌صورت میانگین ±انحراف‌معیار گزارش شد و ارزیابی‌ها در ۳ تکرار صورت پذیرفت. از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ برای آنالیز داده‌ها و از نرم‌افزار Excel برای رسم نمودارها استفاده گردید.

نتایج و بحث:

مهم‌ترین ترکیبات شناسایی شده در اسانس گزنه در جدول ۲، به همراه مقدار و زمان بازداری برای هر ترکیب نشان داده شده است. اصلی‌ترین ترکیبات شناسایی شده موجود در اسانس گزنه شامل فیتول، آلفا- لیمونن، گاما- ترپینن، P- سیمن و بتا- سلینن بودند که در جلوگیری و مهار فرایندهای اکسیداسیون مؤثرند همچنین در مطالعات صورت گرفته فعالیت ضد میکروبی از خود نشان داده‌اند. (Niknejad *et al*., 2016)

جدول ۲ـ ترکیبات اصلی شناسایی شده موجود در اسانس گزنه

Table 2: Identified components in the essential oils of the *Stingin Nettle* extracted

ردیف No.	نام ترکیبات Name of component	زمان بازداری(دقیقه) Retention time (min)	مقدار ترکیبات (درصد) Component amount (%)
1	Phytol	25.73	27.34
2	- Limoneneα	13.48	19.73
3	γ- Terpinen	15.45	17.21
4	ρ- Cumene	14.35	16.41
5	β- Selinene	29.49	5.13
6	2-Propylphenol	38.16	2.6
7	β-Pinene	9.47	1.97
8	5- Hydroxyindole	36.49	1.78
9	α- Selinene	29.60	0.96
10	β-Myrcene	10.57	0.89
11	Carvacrol	25.88	0.42
12	Phenol	36.62	0.25
13	Camphene	22.23	0.13
14	Menthal-5,8 triene	22.83	0.09
15	Thymol	25.24	0.07
Total			94.98

تغییرات عدد پراکسید[1]

عدد پراکسید نشان‌دهنده میزان اکسیداسیون گوشت است و مقادیر کلی پراکسیدها را اندازه‌گیری می‌کند (Khan *et al.*, 2017). تغییرات PV در تیمارهای مختلف همبرگر طی دوره نگهداری ۱۲ روزه در یخچال، در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج به دست آمده از آزمون عدد پراکسید در مطالعه حاضر نشان داد با افزایش زمان مقادیر عدد پراکسید در تمامی تیمارها افزایش یافت ($P<0/05$). افزایش عدد پراکسید در طول زمان ناشی از شدت یافتن اکسیداسیون با افزایش مدت زمان نگهداری است. با توجه به نتایج آنالیز آماری بیشترین مقادیر PV در تیمار شاهد مشاهده شد. کاهش معنی‌دار PV در تیمارهای حاوی نگهدارنده های طبیعی به علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی کیتوزان است (Bingöl *et al.*, 2015; Khan *et al.*, 2017). همچنین اسانس گزنه به علت دارا بودن ترکیبات فنولی نظیر فیتول، آلفا- لیمونن و گاما- ترپینن (ترکیبات نامبرده در آزمون جی‌سی انجام شده در تحقیق حاضر، نیز شناسایی شدند)، در گزنه مسئول فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره بوده و با وجود رابطه مثبت بین ترکیبات فنولی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی، توانایی شکستن رادیکالهای آزاد، به وسیله دادن یک اتم هیدروژن را دارا است افزایش غلظت عصاره گزنه سبب کندتر شدن افزایش عدد پراکسید شد (Ouer *et al.*, 2019). صمغ‌های هیدروکلوییدی مانع از نفوذ اکسیژن به درون بافت می‌شود (Jiang *et al.*, 2013) و در نتیجه از سرعت اکسیداسیون اولیه چربی‌ها و متعاقب آن تشکیل هیدروپرواکسیدها کاسته می‌شود.

[1] PV

* نگارنده مسئول: Email: bagheriroya@yahoo.com

http://doi: 10.22092/FOODER.2022.357112.1322

حقوق نویسندگان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد تحت مجوز مالکیت خلاقانه منتشر شده است.
(http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0)

ترکیب این سه نگهدارنده با هم سبب افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی شده و در نهایت سبب کاهش PV می‌شود. همچنین با افزایش غلظت نتایج بهتری مشاهده شد سایر محققین نیز گزارش نمودند، با افزایش غلظت، خاصیت آنتی‌اکسیدانی آنها نیز افزایش می‌یابد (Burt *et al.*, 2004; Jalali *et al.*, 2016). در مجموع کمترین مقادیر PV در تیمار S08 پس از آن، در تیمار S13 مشاهده شد.

جدول ۳ ـ تغییرات در میزان پراکسید در مدت زمان نگهداری (meq/kg)

Table 3. Changes in peroxide value (meq/kg) during storag (C: Chitosan, N: nettle extract, B: basil seed gum)

تیمار Treatment	مدت نگهداری (روز) Storage period (days)				
	0	3	6	9	12
شاهد (Control)	1.78 ± 0.06^{Ea}	3.25 ± 0.03^{Da}	5.16 ± 0.02^{Ca}	7.04 ± 0.15^{Ba}	8.18 ± 0.41^{Aa}
S01	1.70 ± 0.04^{Ea}	2.24 ± 0.01^{Dc}	3.00 ± 0.02^{Cgh}	4.80 ± 0.31^{Bc}	5.57 ± 0.03^{Aef}
S02	1.68 ± 0.04^{Ea}	2.67 ± 0.03^{Da}	3.97 ± 0.02^{Cb}	5.40 ± 0.08^{Bb}	7.00 ± 0.02^{Ab}
S03	1.69 ± 0.03^{Ea}	2.59 ± 0.01^{Dab}	3.76 ± 0.03^{Cc}	5.00 ± 0.02^{Bc}	6.65 ± 0.03^{Ac}
S04	1.73 ± 0.06^{Ea}	2.02 ± 0.03^{De}	3.15 ± 0.01^{Ce}	4.44 ± 0.02^{Bde}	5.96 ± 0.04^{Ad}
S05	1.71 ± 0.06^{Ea}	2.03 ± 0.01^{De}	3.14 ± 0.01^{Cef}	4.34 ± 0.01^{Bb}	5.74 ± 0.03^{Ade}
S06	1.69 ± 0.04^{Ea}	2.05 ± 0.06^{De}	3.07 ± 0.05^{Cfg}	4.38 ± 0.05^{Bde}	5.89 ± 0.05^{Ad}
S07	1.69 ± 0.02^{Ea}	2.61 ± 0.04^{Dab}	4.06 ± 0.07^{Cb}	5.46 ± 0.04^{Bb}	6.82 ± 0.05^{Abc}
S08	1.70 ± 0.04^{Ea}	2.10 ± 0.02^{Dab}	2.86 ± 0.02^{Ci}	3.66 ± 0.04^{Bg}	4.49 ± 0.07^{Ah}
S09	1.70 ± 0.05^{Ea}	2.17 ± 0.08^{Dcde}	2.91 ± 0.04^{Chi}	4.57 ± 0.02^{Bd}	5.34 ± 0.01^{Af}
S10	1.69 ± 0.06^{Ea}	2.54 ± 0.01^{Db}	3.51 ± 0.08^{Cd}	5.33 ± 0.03^{Bb}	6.57 ± 0.04^{Ac}
S11	1.7 ± 0.04^{Ea}	2.1 ± 0.01^{Dcde}	2.72 ± 0.08^{Cj}	4.03 ± 0.03^{Bef}	4.93 ± 0.08^{Ag}
S12	1.72 ± 0.05^{Ea}	2.19 ± 0.11^{Dcd}	2.91 ± 0.11^{Chi}	4.22 ± 0.01^{Bb}	5.06 ± 0.07^{Ag}
S13	1.76 ± 0.04^{Ea}	2.07 ± 0.03^{Dde}	2.81 ± 0.04^{Cij}	3.95 ± 0.04^{Bf}	4.89 ± 0.03^{Ag}

میزان مجاز پراکسید در فرآورده‌های گوشتی برای مصرف انسانی ۵ است (Jalali *et al*, 2016).

تغییرات عدد تیوباربیوتیک اسید

تیوباربیوتیک اسید (TBA)، شاخص اکسیداسیون چربی است که میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون به‌ویژه آلدهیدها را بر اساس محتوی مالون‌دی‌آلدهید[۱] نشان می‌دهد. MDA توسط هیدروپراکسیدهایی تشکیل می‌شود که حاصل واکنش اولیه اسیدهای چرب با اکسیژن می‌باشند (Ouerfelli *et al.*, 2019). نتایج مربوط به تغییرات TBA (جدول ۴) نشان داد با افزایش زمان مقادیر TBA در تمامی تیمارها افزایش یافت. افزایش میزان TBA تیمارها در طول دوره را می‌توان به خاطر اکسیداسیون چربی و تولید ترکیبات فرار در حضور اکسیژن دانست (Munekata *et al.*, 2020). با توجه به نتایج آنالیز آماری در اکثر روزها بیشترین مقادیر TBA در تیمار شاهد مشاهده شد. بر اساس آزمون جی‌سی به دست آمده در تحقیق، مشخص گردید که اسانس گزنه با داشتن ترکیبات فنولی نظیر فیتول، آلفا-لیمونن، گاما-ترپینن و سیمن و ترکیبات جزئی‌تر همچون بتا- سلینن و پروپیل فنول

۱ MDA

توانسته است در کاهش و مهار اکسیداسیون چربی‌ها تأثیر مثبت داشته باشد این ترکیبات می‌تواند رادیکال آزاد را مهار نموده و یون‌های آهن را چلاته نمایند (Fernandes *et al*., 2016) این اثر در ترکیب با کیتوزان و صمغ ریحان افزایش می‌یابد. استفاده ازکیتوزان و صمغ ریحان به همراه ترکیبات دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی درفرآورده‌های گوشتی توسط سایر محققین نیز بدین صورت گزارش شده است که به‌کار بردن این دو نگهدارنده به همراه اسانس‌های گیاهی سبب کاهش مقادیر عدد TBA در فرآورده‌های گوشتی می‌شود (Kazaei & Khan, 2017; Valipour *et al*., 2016; Ojagh *et al*., 2010) تیمارهای S08، S13 و S11 تا انتهای دوره نگهداری از محدوده مجاز برخوردار بود.

به طور کلی میزان ۲ میلی‌گرم مالون دی آلدهید/گرم گوشت به عنوان محدودیت مصرف در نظر گرفته می‌شود و آن زمانی است که بوی فساد در گوشت قابل کشف خواهد بود(Jalali *et al*, 2016).

جدول ٤ ـ تغییرات در میزان تیوباربیتوریک اسید در مدت زمان نگهداری (MDA/kg)

Table 4. Changes in thiobarbituric acid (MDA/kg) of different treatment during storage (C: Chitosan, N: nettle extract, B: basil seed gum)

تیمار Treatment	مدت نگهداری (روز) Storage period (days)				
	0	3	6	9	12
شاهد (Control)	0.57 ± 0.01^{Ea}	1.58 ± 0.03^{Da}	2.90 ± 0.04^{Ca}	3.60 ± 0.06^{Ba}	4.94 ± 0.07^{Aa}
S01	0.60 ± 0.04^{Ea}	1.02 ± 0.02^{Dcd}	1.49 ± 0.06^{Cf}	1.91 ± 0.02^{Bf}	2.47 ± 0.05^{Af}
S02	0.56 ± 0.05^{Ea}	0.81 ± 0.04^{Dfg}	1.58 ± 0.03^{Ce}	2.34 ± 0.02^{Be}	3.29 ± 0.08^{Ae}
S03	0.59 ± 0.01^{Ea}	0.99 ± 0.01^{Dcd}	1.79 ± 0.04^{Cc}	2.98 ± 0.04^{Bc}	3.42 ± 0.18^{Abc}
S04	0.58 ± 0.05^{Ea}	0.97 ± 0.03^{Dd}	1.69 ± 0.02^{Cd}	2.92 ± 0.04^{Bd}	3.80 ± 0.03^{Ac}
S05	0.59 ± 0.06^{Ea}	0.94 ± 0.02^{Dde}	1.57 ± 0.04^{Cef}	2.59 ± 0.05^{Bef}	3.60 ± 0.05^{Ad}
S06	0.60 ± 0.04^{Ea}	0.97 ± 0.06^{De}	1.60 ± 0.05^{Ce}	2.63 ± 0.05^{Be}	3.67 ± 0.05^{Ad}
S07	0.57 ± 0.06^{Ea}	1.25 ± 0.05^{Db}	2.01 ± 0.03^{Cb}	3.02 ± 0.04^{Bb}	3.82 ± 0.23^{Ab}
S08	0.55 ± 0.06^{Ea}	0.75 ± 0.05^{Dg}	0.97 ± 0.02^{Ci}	1.32 ± 0.04^{Bi}	1.75 ± 0.05^{Ah}
S09	0.56 ± 0.04^{Ea}	0.89 ± 0.02^{Def}	1.27 ± 0.05^{Cg}	1.89 ± 0.02^{Bg}	2.36 ± 0.05^{Af}
S10	0.60 ± 0.01^{Ea}	1.07 ± 0.08^{Dc}	1.95 ± 0.08^{Cb}	3.01 ± 0.03^{Bb}	3.94 ± 0.06^{Ab}
S11	0.58 ± 0.05^{Ea}	0.86 ± 0.01^{Def}	1.11 ± 0.02^{Ch}	1.67 ± 0.04^{Bh}	1.98 ± 0.05^{Ag}
S12	0.59 ± 0.04^{Ea}	0.88 ± 0.04^{Def}	1.23 ± 0.03^{Cg}	1.90 ± 0.01^{Bg}	2.25 ± 0.06^{Af}
S13	0.56 ± 0.03^{Ea}	0.82 ± 0.02^{Dfg}	1.04 ± 0.04^{Chi}	1.60 ± 0.05^{Bhi}	1.94 ± 0.06^{Ag}

^{a,b,c} Different small lett ers in the same column, represents significant difference ($p < 0.05$).
$^{A, B,C}$ Different small letters in the same row, represents significant difference ($p < 0.05$).

تغییرات اسید چرب آزاد[1]

اسیدهای چرب آزاد درنتیجه فساد آنزیمی و یا میکروبی چربی ایجاد می‌شوند. اگرچه گزارش‌های موجود اسید چرب آزاد را به عنوان عامل مستقیم افت کیفیت بیان نکرده‌اند، اما افزایش مقادیر آن باعث افزایش اکسیداسیون چربی، ایجاد طعم نامطلوب[2] ایجاد تغییرات بافتی و در نهایت کاهش کیفیت محصول می‌شود (Ouerfelli *et al*., 2019).

۱ Free fatty acid

۲ Off-flavor

با افزایش زمان مقادیر اسید چرب آزاد (جدول ۵) در تمامی تیمارها افزایش یافت. این افزایش، نشان دهنده اکسیداسیون هیدرولیتیکی چربی در فرآورده‌های گوشتی هست که ناشی از عمل آنزیم‌های هیدرولیز کننده بر روی چربی‌ها است (Valipour *et al.*, 2016). با توجه به نتایج آنالیز آماری در تمامی روزها بیشترین مقادیر اسید چرب آزاد در تیمار شاهد مشاهده شد.

وجود تفاوت معنی‌دار در مقادیر اسیدهای چرب آزاد در نمونه شاهد نسبت به نمونه‌های تیمار شده بیانگر تأثیر آنتی‌اکسیدان‌ها در کاهش روند فساد هیدرولیتیکی است. کم بودن میزان اسیدهای چرب آزاد در تیمارهای حاوی نگهدارنده نسبت به شاهد را می‌توان به دلیل ممانعت از نفوذ اکسیژن دانست و همچنین ترکیبات فنولی موجود در اسانس علاوه بر مهار مستقیم رادیکال‌های آزاد می‌توانند از تجمع سوپراکسید و رادیکال آزاد هیدروکسی از طریق ممانعت از فعالیت آنزیم اکسیداز گرانتین[۱]جلوگیری کنند. این آنزیم طی فرآیند تولید اسیداوریک، بازهای آلی پورین را به سوپراکسید و رادیکال‌های آزاد هیدروکسی تغییر می‌دهد. (Munekata *et al.*, 2020)

جدول ۵ ـ تغییرات در میزان اسیدهای چرب آزاد در مدت زمان نگهداری (درصد اسید اولئیک)

Table 5. Changes in Free fatty acid (% oleic acid) of different treatment during storage (C: Chitosan, N: nettle extract, B: basil seed gum)

تیمار Treatment	مدت نگهداری (روز) Storage period (days)				
	0	3	6	9	12
شاهد (Control)	0.40 ± 0.01^{Ea}	1.05 ± 0.02^{Da}	2.11 ± 0.04^{Ca}	3.89 ± 0.08^{Ba}	4.73 ± 0.16^{Aa}
S01	0.41 ± 0.05^{Ea}	0.78 ± 0.02^{Dd}	1.24 ± 0.02^{Cf}	2.05 ± 0.06^{Be}	2.48 ± 0.04^{Af}
S02	0.40 ± 0.02^{Ea}	0.93 ± 0.01^{Db}	1.83 ± 0.07^{Cb}	2.34 ± 0.06^{Bb}	3.29 ± 0.04^{Ab}
S03	0.41 ± 0.04^{Ea}	0.83 ± 0.01^{Dc}	1.43 ± 0.04^{Cd}	2.36 ± 0.05^{Bd}	3.08 ± 0.05^{Acd}
S04	0.44 ± 0.00^{Ea}	0.82 ± 0.03^{Dc}	1.42 ± 0.02^{Cd}	2.33 ± 0.03^{Bd}	3.10 ± 0.01^{Acd}
S05	0.40 ± 0.05^{Ea}	0.77 ± 0.02^{Dd}	1.28 ± 0.01^{Cef}	2.07 ± 0.06^{Be}	2.85 ± 0.06^{Ae}
S06	0.42 ± 0.01^{Ea}	0.84 ± 0.04^{Dc}	1.36 ± 0.04^{Cde}	2.31 ± 0.04^{Bd}	2.99 ± 0.04^{Ade}
S07	0.43 ± 0.06^{Ea}	0.85 ± 0.05^{Dc}	1.53 ± 0.03^{Cc}	2.52 ± 0.04^{Bc}	3.21 ± 0.23^{Ac}
S08	0.42 ± 0.07^{Ea}	0.61 ± 0.01^{Dh}	0.93 ± 0.04^{Ci}	1.62 ± 0.05^{Bi}	1.76 ± 0.05^{Ai}
S09	0.40 ± 0.00^{Ea}	0.74 ± 0.01^{Dde}	1.15 ± 0.06^{Cg}	2.03 ± 0.04^{Bef}	2.39 ± 0.09^{Aef}
S10	0.44 ± 0.03^{Ea}	0.85 ± 0.01^{Dc}	1.52 ± 0.04^{Cc}	2.41 ± 0.05^{Bd}	3.18 ± 0.06^{Ac}
S11	0.48 ± 0.01^{Ea}	0.67 ± 0.01^{Dfg}	1.05 ± 0.04^{Ch}	1.90 ± 0.04^{Bg}	2.14 ± 0.06^{Agh}
S12	0.47 ± 0.03^{Ea}	0.71 ± 0.03^{Def}	1.07 ± 0.05^{Ch}	1.94 ± 0.01^{Bfg}	2.26 ± 0.06^{Afg}
S13	0.46 ± 0.04^{Ea}	0.66 ± 0.03^{Dg}	0.97 ± 0.02^{Chi}	1.77 ± 0.01^{Bh}	2.10 ± 0.03^{Ah}

^{a,b,c} Different small lett ers in the same column, represents significant difference ($p < 0.05$).
$^{A, B,C}$ Different small letters in the same row, represents significant difference ($p < 0.05$).

مقادیر بازهای نیتروژنی فرار[۲]طی مدت نگهداری

TVB-N عمدتاً با تجزیه باکتریایی و آنزیمی پروتئین‌ها و ترکیبات نیتروژنی غیرپروتئینی گوشت

۱ Xanthin oxidase

۲ TVB-N

تولید می‌شود .TVB-N یک اصطلاح کلی است که شامل اندازه‌گیری تری متیل آمین ناشی از فساد باکتریایی، دی متیل آمین تولیدشده به‌وسیله آنزیم‌های اتولیتیک طی نگهداری، آمونیاک ناشی از آمین‌زدایی آمینواسیدها و کاتابولیت‌های نوکلئوتیدی و دیگر ترکیبات بازی فرار نیتروژنی مرتبط با فساد غذایی است (Valipour *et al.*, 2016) با افزایش زمان، مقادیر بازهای نیتروژنی فرار (جدول ۶) در تمامی تیمارها افزایش یافت. افزایش میزان TVB-N نشان دهنده میزان فساد گوشت است که ممکن است به دلیل انباشته شدن ترکیبات غیر پروتئینی، فرایندهای آنزیمی مختلف نظیر آمین‌زدایی اسیدهای آمینه آزاد، تجزیه نوکلئوتیدها و اکسیداسیون آمین‌ها باشد (Shahbazi *et al.*, 2018) با توجه به نتایج، در تمامی روزها بیشترین مقادیر بازهای نیتروژنی فرار در تیمار شاهد مشاهده شد. با افزایش غلظت نگهدارنده، مقادیر بازهای نیتروژنی فرار کاهش یافت. کمتر بودن میزان بازهای ازته فرار در تیمارهای حاوی نگهدارنده را می‌توان به دلیل کاهش جمعیت باکتری تیمارهای مذکور و کاهش توانایی اکسایشی باکتری‌ها در جدا کردن آمین‌ها از ترکیبات نیتروژنی غیرفرار در همبرگر نسبت داد. با افزایش غلظت اسانس به دلیل افزایش ترکیبات فیتول اثر ضد باکتریایی آن نیز افزایش یافته، به همین دلیل در تیماری که حاوی غلظت بیشتر اسانس بوده میزان بازهای نیتروژنی کمتر بود Burt (Kang *et al.*, 2018 ; 2004). ساختار شیمیایی ترکیبات فنولی بر مکانیسم ضدمیکروبی آن‌ها اثرگذار بوده و گروه‌های هیدروکسیل موجود در ترکیبات فنولی اثر مهمی در خاصیت ضدمیکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی دارد. وجود گروه هیدروکسی فنولیک فعال باعث شده است که این ترکیبات بتوانند به آسانی با جایگاه‌های فعال آنزیم‌ها، باند هیدروژنی تشکیل دهند صمغ دانه ریحان باعث کاهش معنی‌دار مقدار بازهای ازته فرار در نمونه‌های همبرگر شد. تحقیقات نشان داده که ترکیبات فنولی موجود در این صمغ، بر میکروب‌ها و بخصوص باکتری‌های عامل فساد تأثیرگذار هستند. تیمارهای S13، S11 و S12 تا انتهای دوره نگهداری از محدوده مجاز برخوردار بود. محدوده مطلوب مجموع بازهای ازته فرار در گوشت و فرآورده‌های آن ۲۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم گوشت گزارش شده است(Kazaei *et al.*, 2017) .

جدول ٦ ـ تغییرات در میزان TVB-N در مدت زمان نگهداری (mg/ 100g)

Table 6. Changes in total volatile basic nitrogen (mg/ 100g) of different treatment during storage (C: Chitosan, N: nettle extract, B: basil seed gum)

تیمار Treatment	مدت نگهداری (روز) Storage period (days)				
	0	3	6	9	12
شاهد (Control)	11.20 ± 0.35^{Ea}	18.29 ± 2.28^{Da}	25.91 ± 0.13^{Ca}	35.40 ± 2.50^{Ba}	47.65 ± 2.76^{Aa}
S01	10.78 ± 0.71^{Ea}	12.93 ± 0.08^{Dd}	15.22 ± 0.33^{Cef}	22.10 ± 0.15^{Bfgh}	24.49 ± 1.04^{Afg}
S02	10.93 ± 0.90^{Ea}	16.33 ± 0.96^{Db}	22.06 ± 0.71^{Cb}	29.44 ± 1.71^{Bb}	36.77 ± 1.56^{Ab}
S03	10.54 ± 0.22^{Ea}	13.45 ± 0.01^{Dcde}	18.45 ± 1.57^{Cd}	25.16 ± 0.85^{Bde}	29.61 ± 1.35^{Ade}
S04	10.94 ± 0.82^{Ea}	13.00 ± 0.77^{Def}	15.94 ± 0.69^{Ce}	24.44 ± 0.78^{Bdef}	30.01 ± 0.94^{Ae}
S05	11.20 ± 0.06^{Ea}	13.00 ± 0.78^{Def}	15.22 ± 0.95^{Cef}	22.50 ± 0.88^{Befg}	25.48 ± 0.71^{Af}
S06	10.93 ± 0.36^{Ea}	12.84 ± 0.39^{Def}	16.28 ± 0.71^{Ce}	24.33 ± 0.93^{Bdef}	28.22 ± 2.02^{Ae}
S07	11.06 ± 0.81^{Ea}	14.89 ± 0.62^{Dc}	17.81 ± 1.61^{Cc}	27.78 ± 1.57^{Bc}	33.34 ± 1.57^{Ac}
S08	11.04 ± 0.47^{Ea}	12.21 ± 0.20^{Df}	14.34 ± 0.78^{Cg}	17.46 ± 0.95^{Bi}	19.38 ± 0.57^{Ai}

S09	11.03 ± 0.62^{Ea}	12.82 ± 0.23^{Def}	15.11 ± 0.33^{Cf}	20.49 ± 0.71^{Bgh}	24.37 ± 0.55^{Afg}
S10	11.06 ± 0.39^{Ea}	13.72 ± 0.55^{Dcd}	17.99 ± 1.25^{Ccd}	26.05 ± 1.00^{Bcd}	32.41 ± 0.76^{Ad}
S11	11.20 ± 0.01^{Ea}	12.21 ± 0.01^{Def}	14.91 ± 0.04^{Cfg}	18.27 ± 0.51^{Bh}	20.09 ± 0.34^{Agh}
S12	11.17 ± 0.28^{Ea}	11.97 ± 0.22^{Def}	14.87 ± 0.86^{Cfg}	18.88 ± 0.46^{Bgh}	20.99 ± 0.24^{Agh}
S13	10.55 ± 0.00^{Ea}	12.01 ± 0.32^{Def}	14.33 ± 0.80^{Cg}	17.93 ± 0.74^{Bi}	19.17 ± 0.81^{Ahi}

^{a,b,c} Different small letters in the same column, represents significant difference ($p < 0.05$).
$^{A, B,C}$ Different small letters in the same row, represents significant difference ($p < 0.05$).

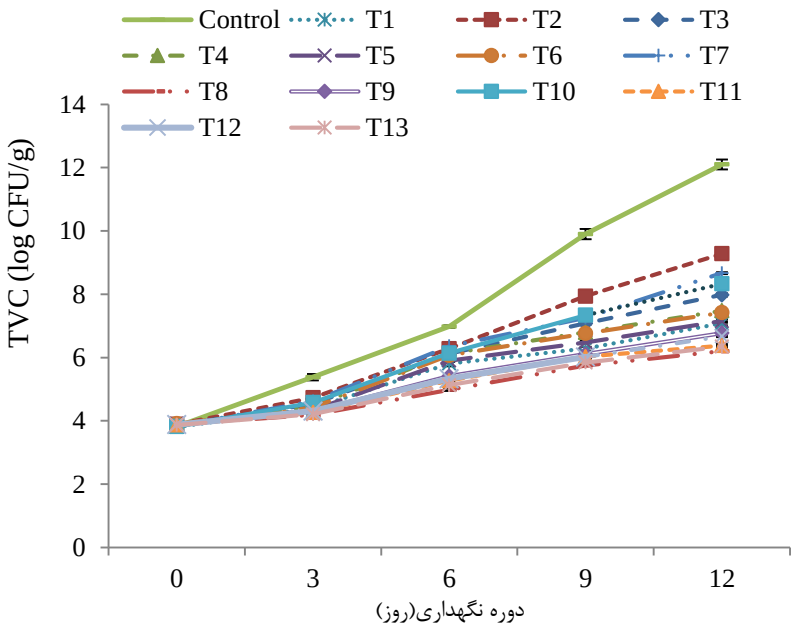
بررسی تغییرات میکروبی همبرگر

شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها معیاری برای پی بردن به کیفیت بهداشتی یک محصول است که غیر قابل مصرف بودن محصول را بیان می‌کند. با افزایش زمان مقادیر باکتری کل (نمودار 1a) در تمامی تیمارها افزایش یافت (P<۰/۰۵). با توجه به نتایج بیشترین مقادیر باکتری کل در تمامی زمان‌ها مربوط به تیمار شاهد بود در واقع افزودن کیتوزان و صمغ ریحان به همبرگر سبب کاهش باکتری‌های مزوفیل شد که این امر نشان می‌دهد کیتوزان و صمغ ریحان در کاهش بار کل باکتری نقش مؤثری دارد Chidanandaiah *et al.*, (Niknejad *et al.*, 2015; 2009). برخی از مطالعات نشان دادند افزودن کیتوزان و صمغ ریحان به فرآورده‌های گوشتی سبب کاهش مقادیر باکتری کلی می‌شود (Khazaei *et al.*, 2017; Khan *et al.*, 2017; Sayas-Barbera *et al.*, 2018).

همچنین برخی از محققین گزارش نمودند افزودن آلفا توکوفرول، ادویه، عصاره و اسانس گیاهی سبب افزایش خاصیت ضدمیکروبی کیتوزان و صمغ ریحان در فرآورده‌های گوشتی می‌شود (Khazaei & Krkic 2017; Valipour *et al.*, 2016). کمتر بودن بار کل باکتری در تیمارهای حاوی اسانس می‌تواند ناشی از ترکیبات فنولی نظیر فیتول است. ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌های گیاهی غشای خارجی میکروارگانیسم‌ها را تخریب کرده و سبب خروج لیپوساکاریدها و افزایش نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی به ATP می‌شود. خروج ATP منجر به تمام شدن ذخیره انرژی سلول و مرگ سلول می‌شود (Burt 2004; Kang *et al.*, 2013). خاصیت ضدمیکروبی نگهدارنده‌های طبیعی به غلظت مورد استفاده آنها بستگی دارد و با افزایش غلظت، خاصیت ضدمیکروبی آن‌ها افزایش می‌یابد(Jalali *et al.*, 2016; Burt *et al.*, 2004) در مجموع کمترین مقادیر باکتری کل در تیمار S08 پس از آن، در تیمار S13 مشاهده شد.

تیمارهای S08، S13، S11، S12 و S09 تا انتهای دوره نگهداری از محدوده مجاز برخوردار بود. کمتر بودن مقادیر باکتری در تیمارهای حاوی نگهدارنده به علت وجود ترکیبات فنولی موجود در اسانس است.

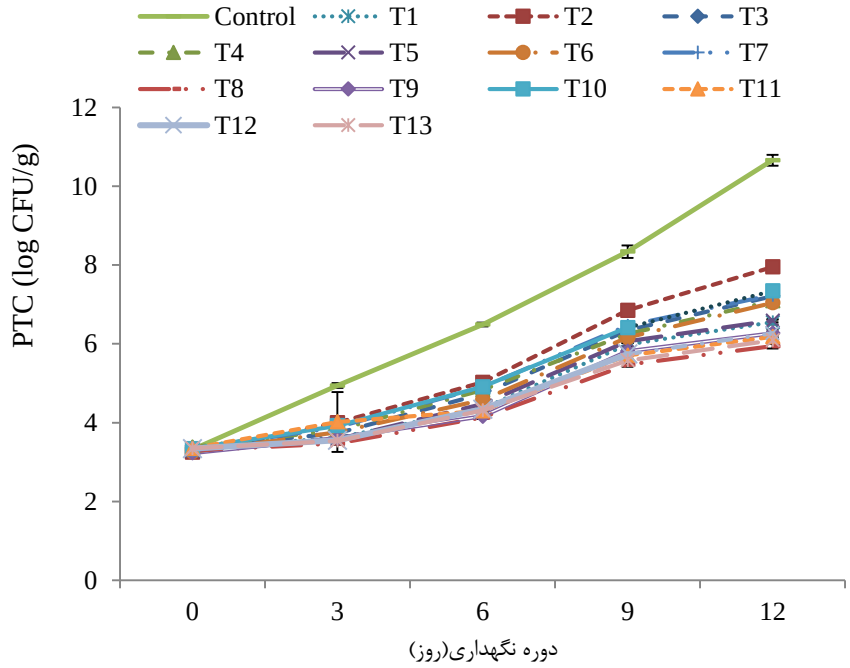
کمتر بودن مقادیر باکتری در تیمارهای حاوی نگهدارنده به علت وجود ترکیبات فنولی موجود در اسانس است ساختار شیمیایی ترکیبات فنولی بر مکانیسم ضدمیکروبی آن‌ها اثرگذار بوده و گروه‌های هیدروکسیل موجود در ترکیبات فنولی اثر مهمی در خاصیت ضدمیکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی دارد. وجود گروه هیدروکسی فنولیک فعال باعث شده است که این ترکیبات بتواند به آسانی با جایگاه‌های فعال آنزیم‌ها، باند هیدروژنی تشکیل دهد (Burt, 2004). همچنین به علت خاصیت ضد میکروبی کیتوزان نیز است.



شکل ۱ -تغییرات شمارش کل باکتری‌ها

Figure 1: Changes in total viable count of different treatment during storage (C: Chitosan, N: nettle extract, B: basil seed gum)

1 (Control), 2 (S01), 3 (S02), 4 (S03), 5 (S04), 6 (S05), 7 (S06), 8 (S07), 9 (S08), 10 (S09), 11 (S10), 12 (S11), 13 (S12), 14 (S13)



شکل ۲- تغییرات شمارش باکتری‌های سرمادوست

Figure 1: Changes total psychrotrophic count (b) of different treatment during storage (C: Chitosan, N: nettle extract, B: basil seed gum)

1 (Control), 2 (S01), 3 (S02), 4 (S03), 5 (S04), 6 (S05), 7 (S06), 8 (S07), 9 (S08), 10 (S09), 11 (S10), 12 (S11), 13 (S12), 14 (S13)

کیتوزان توانایی برقراری پیوند با گروه‌های یونی موجود در سطح سلول‌های باکتریایی و تشکیل کمپلکس‌های پلی الکترولیت با ترکیبات موجود در سطح سلول‌های باکتری را دارد که منجر به عدم انتقال مواد مغذی به سمت سلول‌ها و در نهایت جلوگیری از رشد آنها می‌گردد (Ardila *et al*., 2017; Mahdavi *et al*., 2018).

میزان مجاز شمار باکتری سرمادوست[1] برای گوشت پیشنهادشده است(AOAC, 2019) log CFU/g 7 .

بررسی امتیاز حسی همبرگر

نتایج مربوط به آنالیز حسی همبرگر در روز اول در جدول ۷ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود استفاده از صمغ موجب بهبود مقبولیت حسی نمونه‌ها نسبت به نمونه شاهد گشت. استفاده از صمغ در همبرگر تأثیر معنی‌داری بر بافت گذاشته و ارزیاب‌ها این تفاوت را در تیمارها تشخیص دادند. نتایج تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها نشان می‌دهد که اسانس گزنه به همراه صمغ موجب بهبود عطر و طعم شد و کیتوزان به همراه صمغ دانه ریحان تأثیر بهتری روی بافت داشت. کیتوزان با اسانس گزنه موجب بهبود رنگ شدند. به‌جز تیمارهای S9 و S7 سایر تیمارها از امتیاز بالا برخوردار بودند.

جدول ۷ ـ ارزیابی حسی تیمارهای مختلف

Table 7. Sensory evaluation of different treatment (C: chitosan, N: nettle extract, B: basil seed gum)

Treatment	بافت Texture	بو Odour	رنگ Colour	مزه Taste	به طور کلی Palatability
شاهد(Control)	**2.19 ± 0.78^{a}**	**3.17 ± 0.19^{b}**	**2.07 ± 0.18^{ab}**	**3.17 ± 0.01^{c}**	**2.77 ± 0.13^{a}**
S01	4.10 ± 0.18^{c}	4.07 ± 0.01^{c}	4.10 ± 0.78^{ab}	3.19 ± 0.23^{c}	4.19 ± 0.18^{ac}
S02	3.57 ± 0.23^{b}	4.19 ± 0.17^{c}	3.16 ± 0.23^{c}	4.80 ± 0.78^{ab}	4.34 ± 0.22^{ac}
S03	3.87 ± 0.65^{b}	4.77 ± 0.90^{c}	4.10 ± 0.41^{ab}	3.11 ± 0.41^{c}	3.98 ± 0.10^{c}
S04	4.18 ± 0.32^{c}	3.97 ± 0.77^{b}	3.81 ± 0.44^{c}	4.22 ± 0.19^{ab}	4.17 ± 0.68^{ac}
S05	3.34 ± 0.44^{b}	4.13 ± 0.68^{c}	4.14 ± 0.11^{ab}	3.45 ± 0.12^{c}	4.23 ± 0.41^{ac}
S06	4.18 ± 0.41^{c}	4.19 ± 0.34^{c}	4.12 ± 0.78^{ab}	4.99 ± 0.68^{ab}	4.99 ± 0.34^{ac}
S07	2.12 ± 0.11^{a}	3.97 ± 0.44^{c}	2.18 ± 1.14^{a}	3.05 ± 0.32^{c}	2.19 ± 0.12^{a}
S08	4.88± 0.33^{c}	4.10± 0.11^{c}	3.22± 0.13^{c}	4.88± 0.65^{ab}	3.18± 0.70^{c}
S09	4.34± 0.19^{c}	3.16± 0.12^{a}	3.67± 0.70^{c}	3.17± 0.68^{c}	3.10± 0.19^{c}
S10	4.19 ± 0.10^{c}	4.07 ± 0.78^{c}	4.89 ± 1.22^{ab}	4.97 ± 1.10^{ab}	4.44 ± 0.78^{ac}
S11	3.23 ± 0.22^{b}	4.11 ± 0.17^{c}	4.99 ± 0.13^{ab}	4.14 ± 0.22^{ab}	3.90 ± 0.30^{c}
S12	4.99 ± 0.78^{c}	3.90 ± 0.13^{c}	3.34 ± 0.19^{c}	3.16 ± 0.90^{c}	4.97 ± 0.12^{ac}
S13	3.10 ± 0.13^{a}	4.77 ± 0.14^{c}	3.17 ± 0.44^{c}	4.17 ± 0.78^{ab}	4.17 ± 0.78^{ac}

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر از غلظت‌های مختلف نگهدارنده‌های طبیعی شامل کیتوزان، صمغ دانه ریحان و اسانس گزنه به منظور حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری همبرگر استفاده شد. نتایج نشان داد نگهدارنده‌های طبیعی سبب افزایش ماندگاری همبرگر

۱ Psychrotrophic Counts

می‌شود و در تمامی آزمون‌ها کمترین مقادیر شاخص‌های شیمیایی و میکروبی در تیمارهای S13 و پس از آن در تیمار S08 و S11 مشاهده شد و این ۳ تیمار تا پایان دوره نگهداری از محدوده مجاز شاخص‌های شیمیایی و میکروبی برخوردار بودند. در بین این ۳ تیمار تنها تیمار S11 از امتیاز حسی مورد تأیید ارزیاب‌ها برخوردار بود. بنابراین به نظر می‌رسد تیمار S11 با حفظ کیفیت ارگانولپتیکی همبرگر در حد مطلوب موجب افزایش مدت ماندگاری آن است و می‌توان زمینه لازم را برای استفاده کاربردی از این ترکیبات در انواع گوشت‌ها و فرآورده‌های آن فراهم کرد.

تعارض منافع

نویسندگان در خصوص انتشار مقاله ارائه شده به طور کامل از سوء اخلاق نشر، از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و یا ارسال و انتشار دوگانه، پرهیز نموده‌اند و منافعی تجاری در این راستا وجود ندارد.

مراجع

AOAC. 2019. Official Method of Analysis (21th Ed). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.

Ardila, N., Daigle, F., Heuzey, M. and Ajji, A. 2017. Antibacterial Activity of Neat Chitosan Powder and Flakes. Molecules. 22(1): 100.

Bazargani-Gilani, B., Aliakbarlu, J. and Tajik, H. 2015. Effect of pomegranate juice dipping and chitosan coating enriched with Zataria multiflora Boiss essential oil on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. Innovative Food Science & Emerging Technologies. 29, 280–287.

Bingöl, B., Bostan, K., Varlık, C., Uran, H., Üçok Alakavuk, D. and Sivri, N. 2015. Effects of Chitosan Treatment on the Quality Parameters of Shrimp (*Parapenaeus longirostris*) during Chilled Storage. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 15(4): 821-831.

Burt, S. 2004. Essentialoils: their antibacterial propertied and potential application in foods-a review. International Food Mashinicrobiology. 94 (3): 223- 253.

Camila Carolina, M., Mirian Stiebbe, S. and Vanine Gome, M. 2013. Antinociceptive and antioxidant activities of phytol in vivo and in vitro models. Neuroscience Journal. 1-9. Article ID 949452, 9 pages, doi:10.1155/2013/949452.

De Carvalho, F. A. L., Munekata, P. E. S., Lopes de Oliveira, A., Pateiro, M., Domínguez, R., Trindade, M. A. and Lorenzo, J. M. 2020. Turmeric (*Curcuma longa* L.) extract on oxidative stability, physicochemical and sensory properties of fresh lamb sausage with fat replacement by tiger nut (*Cyperus esculentus* L.) oil. Food Research International. 136, 109487.

Efenberger-Szmechtyk, M., Nowak, A. and Czyzowska, A. 2020. Plant extracts rich in polyphenols: Antibacterial agents and natural preservatives for meat and meat products. Critical reviews in food science and nutrition. 61(1): 149–178.

Fernandes, R. P. P., Trindade, M. A., Lorenzo, J. M., Munekata, P. E. S. and Melo, M. P. 2016. Effects of oregano extract on oxidative, microbiological and sensory stability of sheep burgers packed in modified atmosphere. Food Control. 63, 65–75.

Hosseini-Parvar, S. H., Matia-Merino, L., Goh, K. K. T., Razavi S. M. A. and Mortazavi, S. A. 2010. Steady shear flow behavior of gum extracted from Ocimum basilicum L. seed: Effect of concentration and temperature. Journal of Food Engineering 101(3): 236-243.

Jafarpour, S. A. and Shokri, M. 2016. Biochemical, textural properties and sensory evaluation of incorporated red meat and Common carp surimi burger during frozen storage at -18ºC, Journal of Food Research. 27 (1): 37-58.

Jalali, M., Ariiai, P. and Fattahi, E. 2016. Effect of alginate/carboxyl methyl cellulose composite coating incorporated with clove essential oil on the quality of silver carp fillet and Escherichia coli O157:H7 inhibition during refrigerated storage. J Food Science and Technology. 53 (7). 757-765.

Khalafalla, F. A., Ali, F. H. and Hassan, A. R. H. 2015. Quality improvement and shelf-life extension of refrigerated Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets using natural herbs. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences. 4(1): 33–40.

Khazaei, N., Esmaiili, M. and Emam-Djomeh, Z. 2017. Application of active edible coatings made from basil seed gum and thymol for quality maintenance of shrimp during cold storage. Journal of the Science of Food and Agriculture. 97(6): 1837-1845.

Khan, I., Nkufi Tango, C. and Deog-Hwa, O. 2017. Development and evaluation of chitosan and its derivative for the shelf life extension of beef meat under refrigeration storage. International Journal of Food Science and Technology. 52(5): 1111–1121.

Mahdavi, V., Hosseini, E. and Sharifian, A. 2018. Effect of edible chitosan film enriched with anise (*Pimpinella anisum* L.) essential oil on shelf life and quality of the chicken burger. Food Science and Nutrition. 6 (2): 269- 279.

Modarresi Chahardehi, A., Ibrahim, D. and Sulaiman, S. F. 2009. Antioxidant activity and total phenolic content of some medicinal plants in Urticaceae family. Journal of Applied Biological Sciences. 3(2): 27-31.

Munekata, P. E. S., Rocchetti, G., Pateiro, M., Lucini, L., Domínguez, R. and Lorenzo, J. M. 2020. Addition of plant extracts to meat and meat products to extend shelf-life and health-promoting attributes: An overview. Current Opinion in Food Science. 31, 81–87.

Naji-Tabasi, S., Razavi, S.M.A. 2016. New studies on basil (Ocimum bacilicum L.) seed gum: Part-Emulsifying and foaming characterization. Carbohydrate Polymers. 149:140-150.

Niknejad, H., Asgharian, A. 2015. Determination of antibacterial and antioxidant activity and identifying chemical compounds of Urtica dioica L. leaf essence as a potent antibacterial agent. Pajouhandeh. 20(4): 234-239. [In Persian]

Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S. H. and S. M. H. Hosseini. 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Journal of Food Chemistry. 120, 193-198.

Ouerfelli, M., Villasante, J., Ben Kaâb, L.B. and Almajano, M. 2019. Effect of neem (Azadirachta indica L.) on lipid oxidation in raw chilled beef patties. Antioxidants. 8(8): 305.

Qi, L., Xu, Z., Jiang, X., Hu, C. and Zou, X. 2004. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. Carbohydrate Research. 339(16): 2693-2700.

Razavi, S. M. A., Mortazavi, S. A., Matia-Merino, L., Hosseini-Parvar, S. H., Motamedzadegan, A. and Khanipour, E. 2009. Optimization study of gum extraction from Basil seeds (*Ocimum basilicum* L.). International Journal of Food Science & Technology. 44(9):1755-1762.

Shabazi, Y., Karimi, N. and Shavisi, N. 2018. Effect of *Mentha spicata* essential oil on chemical, microbial, and sensory properties of minced camel meat during refrigerated storage. Journal of Food Safety. 38 (1): e12375.

Valipour Kootenaie, F., Ariaii, P., Khademi Shurmasti, D. and Nemati, M. 2017. Effect of chitosan edible coating enriched with eucalyptus essential oil and α-tocopherol on silver carp fillets quality during refrigerated storage, Journal of Food Safety. 37 (1): e12295.

Food Engineering Research/Vol.21/No.72/Spring& Summer 2021/P:75-92

Journal Home page: https://fooder.areeo.ac.ir/

Original Research

The Effect of Chitosan along with Basil Seed Gum and Nettle Essential Oil on the Microbial, Chemical, and Sensory Properties of Hamburger

Roya bagheri* and Peyman Aryaee

***Islamic Azad University, Ayatollah Amoli Branch
-Corresponding author: bagheriroya@yahoo.com
Received: 20 June 2020, Accepted: 08 August 2020
http://doi: 10.22092/FOODER.2022.357112.1322

Abstract

In this study, the effects of different concentrations of basil seed gum, nettle essential oil, and chitosan on the physiochemical, microbial, and sensory characteristics of hamburgers were examined during refrigerated (4± 1 ° C) storage. For this purpose, different concentrations of chitosan (1, 1.5, and 2% w/w), basil seed gum (0.5, 1, and 1.5% w/w), and nettle essential oil (0.5, 1, and 1.5% w/w) were added to the burgers. The produced hamburgers were analyzed by chemical and microbial parameters: Total Viable Count (TVC) and Psychrotrophic Counts (PTC), Peroxide Value (PV), Thiobarbituric Acid (TBA), Total Volatile Basic Nitrogen (TVB-N), and Free fatty acid (FFA)) evaluation at 3-day intervals within 12 days. Also, sensory evaluations were carried out. The results of this study showed that the rate of chemical and microbial spoilage of hamburger was slowed by the application of chitosan, basil seed gum, and nettle essential oil. Treatments with this combination Sample S13, S08, and S11 had the best result sensory evaluation indicated that the sample containing S11 had a favorable acceptance rate and could be used to extend the shelf life of hamburgers during refrigerated storage.

Key words: Meat products, Shelf life, Hydrocolloid, Quality.