مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال شانزدهم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۰، صفحات ۱۲۲-۱۰۹

بررسی امکان افزایش پایداری اکسایشی همبرگر ماهی با استفاده از عصارۀ اتانولی برەموم طی دورۀ انبارمانی

مرجان شعبانی[۱]، محسن مختاریان[۲]، رضا کاظم‌پور[۳]

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران

۲- نویسندۀ مسئول: گروه علوم و صنایع غذایی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران. پست الکترونیکی: mokhtarian.mo@riau.ac.ir

۳- گروه زیست‌شناسی و علوم پایه، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۵/۳ تاریخ پذیرش: ۹۹/۸/۱۱

چکیده

سابقه و هدف: غذاهای دریایی فرآیند شده و آماده مصرف، یکی از مهم‌ترین منابع پروتئینی حیوانی برای تغذیۀ انسان بشمار می‌آید که برای گسترش عمر انبارمانی آنها از ترکیبات نگه‌دارندۀ سنتزی استفاده می‌شود. در این مطالعه امکان‌سنجی به‌کارگیری یک ترکیب نگه‌دارندۀ طبیعی (عصارۀ اتانولی برەموم) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: بعد از تهیه و فرمولاسیون همبرگر ماهی، مقادیر مختلفی از پودر برەموم خشک شده به روش انجمادی [صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ (g/۱۰۰ g)] جایگزین فیلۀ ماهی خُرد شده گردید. نمونه‌های تهیه شده در کیسه‌های پلی‌اتیلنی بسته‌بندی و در دمای ۱±۱۸°C- انبارمانی شدند. سپس فاکتورهای کیفی نمونه‌ها در فواصل زمانی (صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز) ارزیابی گردید.

یافته‌ها: جایگزینی پودر برەموم (۰/۴ g/۱۰۰ g batch) توانست میزان شاخص‌های پراکسید و اسید تیوباربیتوریک نمونه‌ها را طی ۹۰ روز انبارمانی به ترتیب ۳۱/۷۷٪~ و ۲۲/۷۱٪~ کاهش دهد. بیشترین میزان شاخص نیتروژن فرار کل (متناظر با کم‌ترین pH) مربوط به نمونۀ کنترل (در روز ۹۰اُم انبارمانی) بود. همچنین نتایج نشان داد که از لحاظ تغییرات رنگ اختلاف آماری معنی‌داری بین نمونه‌ها مشاهده نشد ($p>$۰/۰۱). مشاهدۀ مقادیر شاخص‌های نیتروژن فرار کل و pH نمونه‌ها بعد از ۹۰ روز انبارمانی نشان داد که به‌کارگیری پودر برەموم (۰/۴ g/۱۰۰ g batch) به عنوان یک نگه‌دارندۀ طبیعی در فرمولاسیون توانست میزان این شاخص‌ها را به ترتیب ۲۰/۷۴٪~ کاهش و ۰/۶۴٪~ افزایش دهد.

نتیجه‌گیری: به طور کلی با توجه به نتایج ارزیابی حسی و آزمون‌های کیفی، به‌کارگیری پودر برەموم در مقادیر ۰/۲ تا (۰/۴ g batch/۱۰۰ g) می‌تواند برای تولید صنعتی این محصول پیشنهاد گردد.

واژگان کلیدی: ترکیب زیست‌فعال برەموم، همبرگر ماهی، ویژگی‌های کیفی، عمر ماندگاری، ارزیابی حسی

•مقدمه

غذاهای دریایی یکی از مهم‌ترین منابع پروتئینی حیوانی برای تغذیۀ انسان بشمار می‌آید. فرآورده‌های آبزیان نقش مهمی در رژیم غذایی مردم در بسیاری از کشورها دارند. در سال‌های اخیر، افزایش شهرنشینی و تغییر سبک زندگی خانواده‌ها، تمایل افراد را به استفاده از فرآورده‌های غذایی آماده مصرف (RTE) و یا فرآورده‌های غذایی آمادۀ پخت (RTC) افزایش داده و این امر در بخش آبزیان نیز مشاهده می‌شود. همبرگر ماهی یکی از انواع فرآورده‌های گوشتی است که براساس نوع گوشت، شکل، ارزش تغذیه‌ای و ملاحظات قیمتی به روش‌های مختلفی تولید می‌گردد. این محصول در کشورهای مختلف جهان با دستور پخت تقریباً مشابه تهیه و به بازار عرضه می‌شود (۳-۱). همبرگر پس از تولید منجمد می‌شود (۱۸°C-)، اما نگهداری آن تحت شرایط سرد (صفر تا ۴°C) نیز در برخی کشورها متداول است (۳).

غذاهای دریایی به دلیل داشتن پروتئین، ترکیبات نیتروژنی غیرپروتئینی، اسیدهای چرب غیراشباع و سایر مواد مغذی، به فسادهای آنزیمی، میکروبی و اکسیداتیو حساس هستند. طی انبارمانی، تغییرات فسادی ناشی از رشد

میکروارگانیسم‌ها، تغییر ساختار پروتئین‌ها (واسرشت شدن) و اکسیداسیون چربی‌ها، پذیرش حسی مادۀ غذایی را از دیدگاه مصرف‌کننده کاهش می‌دهد که احتمالاً این حالت به دلیل تغییر رنگ، طعم‌ومزه، رایحه و بافت است که با کاهش عمر ماندگاری فرآورده همراه است. انبارمانی به صورت سرد و منجمد جهت گسترش عمر ماندگاری بکار برده شده است. با این حال، این فناوری‌ها در به تأخیر انداختن تخریب میکروبی غذاهای دریایی به اندازۀ کافی کارآمد نیستند (۴). طی نگهداری همبرگر ماهی به صورت منجمد، کیفیت فرآورده در نتیجۀ چندین عامل، کاهش می‌یابد. رشد باکتری‌ها، عمده‌ترین حالت فساد محصول بوده که شمارش آن‌ها به عنوان یکی از شاخص‌های کیفی، مورد بحث قرار می‌گیرد. به علاوه، اکسایش چربی‌های غیراشباع موجود در ماهی (به ویژه اسیدهای چرب اُمگا-۳)، عامل دیگری است که سبب تولید طعم و رایحۀ نامطلوب در فرآورده می‌شود، که میزان پیشرفت این فساد و ارزیابی تازگی فرآورده، توسط آزمون‌های عدد پراکسید و شاخص تیوباربیتوریک اسید (TBA) قابل پایش است (۱).

نگه‌دارنده‌ها شامل ترکیباتی هستند که از منابع طبیعی یا سنتزی تولید می‌شوند. افزودن آن‌ها به فرآورده‌های غذایی جهت جلوگیری از فساد توسعه یافتۀ میکروبی یا تغییرات نامطلوب در سطح مولکولی، بکار می‌رود. یک نگه‌دارنده به منظور مناسب بودن، می‌بایست دارای ویژگی‌هایی باشد که شامل: برای سلامت مصرف‌کننده در شرایط طبیعی مضر نباشد، نباید نرخ فعالیت آنزیم‌های گوارشی را کاهش دهد، نباید بعد از مصرف متلاشی شده و به مواد سمی تبدیل شود (۵). مهم‌ترین ویژگیِ یک نگه‌دارنده این است که، جهت کنترل کیفیت مادۀ غذایی، به آسانی قابل شناسایی و اندازه‌گیری باشد.برای فرآیند نگهداری، افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند، آسیب اکسیداتیو ایجاد شده از ترکیبات واکنش‌گر را کاهش دهد. آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی (مانند BHT، BHA، TBHQ، اسید آسکوربیک و پروپیل گالات) این عمل بازداری را از طریق مکانیسم‌های «روبش رادیکال آزاد»، «گیرندگی کاتالیست‌های فلزی» و «گیرندۀ گونۀ فعال» انجام می‌دهند. با این حال، برخی از ترکیبات افزودنی‌های غذایی می‌توانند منجر به تشکیل ترکیبات سمی و نامطلوب شوند که می‌بایست در هنگام افزودن آن‌ها به مادۀ غذایی، مورد توجه تولیدکنندگان قرار گیرد (نظیر واکنش اسید بنزویک و اسید آسکوربیک که می‌تواند منجر به تولید ترکیب سرطان‌زای بنزن گردد) (۶، ۵).

همان‌طور که قبلاً اشاره شد، امروزه تمایل زیادی به تولید فرآورده‌های آمادۀ پخت و آماده مصرف وجود دارد. یکی از مشکلات عمدۀ این محصولات، عمر ماندگاری کوتاه آن‌ها است. بدین منظور در مقیاس صنعتی، این فرآورده‌ها توسط افزودن ترکیبات شیمیایی تولید می‌شود تا پایداری کیفی آن‌ها طی انبارمانی، تضمین شود. با توجه به مطالب یاد شده در فوق، به‌کارگیری افزودنی‌های طبیعی می‌تواند به عنوان یک جایگزین مطمئن برای این امر باشد. محصولات طبیعی نظیر مواد استخراج شده از گیاهان دارویی (ترکیب خالص یا عصارۀ ویژه) و نیز اسانس‌های روغنی با منشاء طبیعی، به عنوان یک گزینۀ مناسب در کنترل رشد میکروبی و سایر فسادهای فرآورده‌های غذایی پیشنهاد می‌شود (۷).

ترکیبات با خاستگاه طبیعی نظیر بره‌موم (*Apis mellifera*) به عنوان عامل ضدمیکروبی مورد تأیید قرار گرفته است. این ویژگی بره موم به ترکیبات زیست‌فعال (مانند فنولیک و فلاوونوئید) آن مربوط است. این ترکیبات از برگ‌ها، میوه، دانه و سایر بخش‌های گیاهی مشتق شده‌اند و به دلیل خاصیت ضداکسیدانی آن‌ها شناخته شده هستند. بنابراین، بره موم می‌تواند به عنوان یک نگه‌دارندۀ طبیعی ایده‌آل، جهت گسترش ماندگاری فرآورده‌های غذایی (مانند همبرگر ماهی)جایگزین شود (۸). بره‌موم ترکیبی رزینی، با رنگ‌های سبز تیره یا قهوه‌ای بوده که طعم خوشایند شکوفه‌های محبوب، عسل مومی و وانیلی دارد. این ترکیب می‌تواند مزۀ تلخ داشته باشد. بنابراین، به دلیل طعم آروماتیک قوی بره موم، این ترکیب می‌بایست در مقادیر کم به فرآوردۀ غذایی اضافه شود تا اینکه کیفیت اُرگانولپتیکی محصول را تحت تأثیر قرار ندهد. همچنین، بره‌موم شامل گسترۀ وسیعی از ترکیبات مانند پلی‌فنول‌ها، کوئین، کومارین، استروئیدها، اسیدهای آمینه و ترکیبات غیرآلی است. اکثریت ترکیبات بره‌موم ماهیت فنولیک داشته و عمدتاً فلاوونوئیدی هستند. فنول‌های ساده، اسیدهای فنولیک و پلی‌فنول‌ها، عوامل ضدمیکروبی فعال در بره‌موم هستند (۹، ۵).

مطالعات اندکی در رسانه‌های نوشتاری در رابطه با گسترش ماندگاری فرآورده‌های برپایۀ ماهی (به ویژه همبرگر ماهی) براساس نگه‌دارنده‌های طبیعی (مانند عصاره و اسانس گیاهان دارویی) چاپ شده است. Schelegueda و همکاران در مطالعه‌ای تأثیر مخلوطی از ترکیبات ضدمیکروبی (کیتوزان، نایسین و لاکتات سدیم در pH=۵/۵) و بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده (MAP) را روی کیفیت همبرگر ماهی هیک آرژانتینی در دمای یخچال (+۴°C) به مدت ۳ روز، مورد

بررسی قرار دادند. کیفیت فرآورده از طریق آزمون‌های میکروبیولوژیکی (شمارش باکتری‌های مزوفیل، اسید لاکتیک و پروتئولیتیک)، فیزیکوشیمیایی (pH، نیتروژن فرار کل و تری متیل آمین) و حسی (رایحه) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزودن ترکیبات ضدمیکروبی، ویژگی‌های شیمیایی و حسی محصول را بهبود داد (۱۰). Spinelli و همکاران در مطالعه‌ای از برەموم ریزپوشانی شده (به روش خشک کردن پاششی) جهت افزایش ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی همبرگر ماهی تازه را مورد بررسی قرار دادند. بدین منظور ۵٪ (وزنی/وزنی) برەموم خشک شده به روش پاششی به همبرگر ماهی اضافه شد. جهت بهبود ویژگی‌های حسی، ترکیب جدید فلس‌های سیب‌زمینی (در سطوح ۳ تا ۱۰٪ وزنی/وزنی) و روغن زیتون فرابکر (۹٪ وزنی/وزنی) مورد آزمون قرار گرفت و فرآوردهٔ ماهی نهایی از لحاظ پذیرش مصرف‌کننده بهینه شد. نتایج آن‌ها نشان داد که افزودن برەموم سبب افزایش قابل ملاحظهٔ ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی محصول نهایی شد (۱۱). Mahmoudzadeh و همکاران همبرگر ماهی تولید شده از سفره ماهی (*Pseudorhombus elevatus*) و مارمولک ماهی (*Saurida undosquamis*) را طی نگهداری در دمای ۱۸°C- برای مدت ۵ ماه مطالعه نمودند. نتایج نشان داد که مقادیر TVB-N در هر دو گروه همبرگر ماهی تولید شده، درپایان ماه دوم به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۰۸$ و $p<۰/۰۵$) افزایش یافت. با این حال، بعد از آن مقادیر TVB-N، با کاهش یا تغییر غیرمعنی‌دار همراه بود. مقدار TBA همبرگر ماهی تهیه شده از سفره ماهی، با افزایش زمان ماندگاری به طور قابل ملاحظه‌ای ($p<۰/۰۵$) کاهش یافت، اما مقادیر شاخص یاد شده برای همبرگر تهیه شده از مارمولک ماهی در پایان ماه دوم، به طور قابل ملاحظه‌ای ($p<۰/۰۰۶$) افزایش و سپس در پایان زمان انبارمانی کاهش یافت. همچنین مقادیر شاخص پراکسید در هر دو گروه همبرگر ماهی تهیه شده به طور قابل ملاحظه‌ای ($p<۰/۰۰۲$ و $p<۰/۰۵$) افزایش یافت. با این حال، کاهش معنی‌داری در پایان ماه‌های سوم و چهارم مشاهده شد (۱۲).

با توجه به تنوع فرآورده‌های برپایهٔ ماهی به دلیل ارزش تغذیه‌ای بالای آن و نیز فقدان مطالعات در این حوزه، هدف از این پژوهش توسعهٔ همبرگر ماهی آمادهٔ پخت و بررسی تأثیر ترکیبات زیست فعال و ضدمیکروبی عصارهٔ اتانولی برەموم روی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبیولوژیکی همبرگر ماهی طی شرایط نگهداری به صورت منجمد است.

• مواد و روش‌ها

آماده‌سازی مادهٔ اولیه: تعداد ۱۰ قطعه ماهی قزل‌آلا رنگین کمان (با وزن متوسط ۱۰۰±۸۰۰ g و طول متوسط ۲±۳۰ cm) از مرکز پرورش ماهی قزل قلعه، واقع در حومهٔ استان تهران تهیه گردید. سپس، ماهی‌های تهیه شده در جعبهٔ یونولیت به همراه یخ خُرد شده (با نسبت ماهی به یخ ۱ به ۲ وزنی/وزنی) به آزمایشگاه جهت تهیهٔ همبرگر ماهی منتقل گردید. برەموم مورد استفاده جهت انجام این پژوهش از مرکز پرورش زنبور عسل کوروش واقع در استان لرستان تهیه شد. برەموم تهیه شده در ظرف پلاستیکی درب‌دار قرار گرفت. قبل از شروع آزمایشات، به منظور کاهش واکنش‌های شیمیایی، برەموم در فریزر (Frigideire، آمریکا) با دمای ۱±۱۸°C- نگهداری شد (۱۳).

استخراج عصارهٔ برەموم و ارزیابی ویژگی‌های کیفی آن: بدین منظور ۷۵ g برەموم به مدت ۲۴ h در فریزر با دمای ۱±۱۸°C- قرار گرفت (به منظور آسیاب کردن راحت‌تر این عمل صورت گرفت). برەموم منجمد شده توسط آسیاب خانگی (Gasteroback، آلمان) به صورت پودر با اندازهٔ ذرات ۲۵۰µm تبدیل شد (این عمل به دلیل افزایش سطح تماس نمونه با حلال و بهبود کارآیی استخراج مواد مؤثره صورت گرفت). پودر برەموم تهیه شده به درون یک ظرف شیشه‌ای تیره رنگ (قهوه‌ای رنگ) منتقل و با ml ۲۵۰ اتانول ۷۰٪ مخلوط گردید. مخلوط یاد شده به مدت ۴ روز در دمای ۳۷°C قرار گرفت و به صورت دستی تکان داده شد (۳ rev/day). در مرحلهٔ بعد، عصارهٔ اتانولی از کاغذ صافی واتمن شمارهٔ ۴ عبور داده شد. اتانول موجود در عصاره توسط تبخیرکنندهٔ چرخان تحت خلاء (IK German، IK، آلمان) در دما ۳۵°C حذف گردید. برای فرآیند خشک کردن تکمیلی عصارهٔ تغلیظ شده، ابتدا عصارهٔ تغلیظ شده با ۷۵٪ مالتودکسترین مخلوط و توسط دستگاه خشک‌کن انجمادی (Sanaat Dena، ایران) به ترتیب در دما و فشار ۴۰°C و ۰/۱MPa خشک شد (۱۵، ۱۴). سپس عصارهٔ خشک شده برەموم PDE (Propolis dried extract) در یک ظرف شیشه‌ای تیره رنگ، دربندی و در دمای ۲۰°C-، تا زمان شروع آزمایش‌های بعدی نگهداری گردید (۱۶). به منظور ارزیابی کارآیی فرآیند استخراج از سه شاخص کیفی راندمان استخراج، روبش رادیکال آزاد DPPH° و میزان ترکیبات فنولیک کل استفاده شد. راندمان استخراج عصارهٔ برەموم توسط رابطهٔ (۱) تعیین گردید:

$$EY(\%) = \frac{W_f}{W_i} \times 100 \qquad (۱)$$

که در آن، EY راندمان استخراج (٪)، W_f وزن عصارهٔ برەموم خشک شده بعد از تغلیظ (g)، W_i وزن برەموم اولیه (g) می‌باشد (۱۷).

ظرفیت روبش (مهارکنندگی) رادیکال آزاد ۲ و ۲ دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل ($DPPH^{\bullet}$) به روش Burits و Bucar انجام و توسط رابطهٔ (۲) کمی‌سازی گردید.

$$RSA(\%) = (\frac{A_B - A_S}{A_B}) \times 100 \qquad (۲)$$

که در آن، RSA روبش رادیکال آزاد (٪)، A_S میزان جذب نمونه و A_B میزان جذب کنترل می‌باشد (۱۸).

ارزیابی ترکیبات فنولیک عصارهٔ اتانولی برەموم از طریق واکنشگر فولین-سیوکالتیو به روش Uribe و همکاران صورت گرفت. مقادیر کمی ترکیبات فنولیک با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک (در محدودهٔ غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ µg/ml) محاسبه شد. معادلهٔ رگرسیونی (۳) با ضریب تبیین ۰/۹۴۳۷ جهت محاسبات استفاده شد.

$$C(\mu g\ GAE/ml) = \left[(\frac{A_{\lambda=725nm}}{0.0018}) - 15.56 \right] \qquad (۳)$$

که در آن، A جذب قرائت شده در λ=۷۲۵ nm و C غلظت ترکیبات فنولیک (mg GAE/g d.m.) می‌باشند (۱۹).

تهیهٔ همبرگر ماهی و فرمولاسیون اجزاء: ابتدا ماهی‌های تهیه شده توسط آب شهری شسته شدند. سپس ماهی‌ها توسط یک چاقوی آشپزخانهٔ تیز، سرزنی، پوست‌گیری، استخوان‌گیری و امحاء و احشاء آن خارج و پس از شستشو مجدد، به فیله تبدیل شدند. در ادامه فیله‌های تهیه شده توسط دستگاه چرخ گوشت خانگی (Panasonic، ژاپن)، به صورت چرخ شده تبدیل شدند. عمل چرخ کردن فیله‌های ماهی، سه مرتبه صورت گرفت و ضمن چرخ کردن اجزاء فرمولاسیون به آن اضافه شد تا یک خمیرهٔ (فارش) کاملاً همگن و یکنواخت حاصل شود. فرمولاسیون پایهٔ همبرگر ماهی شامل (g/۱۰۰ g) ۸۵ فیلهٔ ماهی چرخ شده و (g/۱۰۰ g) ۱۵ افزودنی بود. افزودنی‌های بکار رفته در فرمولاسیون فرآورده شامل: (g/۱۰۰ g) ۲ نمک طعام تصفیه شده، (g/۱۰۰ g) ۲ ادویه (شامل ادویه‌کاری، فلفل و زردچوبه)، (g/۱۰۰ g) ۵ پودر مغز نان، (g/۱۰۰ g) ۰/۵ شکر، (g/۱۰۰ g) ۱/۵ پودر سیر و (g/۱۰۰ g) ۴ پودر پیاز بود.

برای تهیهٔ نمونه‌های آزمایشی (تیمارهای مورد مطالعه)، سطوح مختلفی از پودر برەموم (صفر ، ۰/۱ ، ۰/۲ و g/۱۰۰ g ۰/۴) جایگزین فیلهٔ ماهی خُرد شده گردید (به منظور توزیع بهتر پودر برەموم در فرمولاسیون فرآوردهٔ نهایی، پودر یاد شده در مقادیر مشخص شده توزین و با سایر افزودنی‌های فرمولاسیون مخلوط، و سپس به فیلهٔ ماهی خُرد شده اضافه شد). لازم به ذکر است که قبل از اضافه شدن افزودنی‌ها (شامل نمک طعام، ادویه مخلوط، پودر مغز نان، پودر پیاز و پودر برەموم) به فرمولاسیون فرآورده، آن‌ها به مدت ۲۰ min، در معرض پرتوی فرابنفش (هود لامینار، Jal teb، ایران) قرار گرفتند (این عمل به منظور حذف بارمیکروبی احتمالی انجام شد). همچنین فرآیند تولید همبرگر ماهی، در شرایط کاملاً سترون صورت گرفت. در ادامه خمیرهای ماهی تهیه شده، توسط ابزار قالب‌زن دستی، به صورت همبرگرهایی (g±۵ ۱۰۰) با ضخامت و قطر به ترتیب ۱ cm و ۱۰ cm، شکل‌دهی شدند. همبرگرهای ماهی تهیه شده در بسته‌هایی از جنس پلی‌اتیلن بسته‌بندی و در فریزر با دمای $-18^{o}C \pm 1$ انبارمانی شدند. همبرگرهای ماهی منجمد شده در فواصل زمانی مختلف (صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز) از یخچال خارج و برای آزمون‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفتند (۲۰، ۲۱).

آزمون‌های ارزیابی کیفی: آزمون‌های فیزیکوشیمیایی انجام شده روی همبرگر ماهی تهیه شده به شرح ذیل می‌باشند:

ارزیابی pH: اندازه‌گیری pH نمونه‌های آزمایشی با استفاده از pHمتر (Motrihm، ۸۲۷، سوئیس) در دمای $25^{o}C$ انجام شد. این آزمون سه بار تکرار و میانگین مقادیر بدست آمده گزارش شد (۲۰، ۲۲).

ارزیابی شاخص پراکسید (PV): به منظور اندازه‌گیری شاخص پراکسید نمونه‌های آزمایشی از روش یدومتری استفاده شد. بدین منظور، مقدار g ۱ از چربی استخراج شده از هر یک از نمونه‌های آزمایشی با ml ۳۰ از محلول ترکیبی اسید استیک-کلروفرم (به ترتیب با نسبت ۳ به ۲) مخلوط گردید. سپس ml ۰/۵ استاندارد KI (یدید پتاسیم اشباع) و ml ۰/۵ شناساگر نشاستهٔ ۱٪، به مخلوط یاد شده اضافه و به مدت min ۱ تکان داده شد. بعد از افزودن ml ۳۰ آب مقطر، آزمایه توسط محلول تیوسولفات سدیم (N ۰/۰۱) تیتر شد. عمل تیتراسیون تا از بین رفتن رنگ زرد ادامه یافت (نقطهٔ ختم عمل). کلیهٔ آزمون‌های فوق برای نمونهٔ شاهد (شامل کلیهٔ ترکیبات فوق به جز چربی) تکرار شد. شاخص پراکسید توسط رابطهٔ (۴) محاسبه شد.

$$PV(meq\,O_2/kg\ oil) = \frac{(V_s - V_B) \times N \times 1000}{W} \qquad (۴)$$

که در آن، PV شاخص پراکسید (meq O_2/kg oil)، V_S حجم تیوسولفات سدیم مصرفی برای نمونه‌های آزمایشی

(V_B (ml)، حجم تیوسولفات سدیم مصرفی برای نمونهٔ شاهد (ml)، N نرمالیتهٔ تیوسولفات سدیم مصرفی (۰/۰۱ N) و W وزن چربی اولیه (۱ g) می‌باشند (۲۳). همچنین لازم به ذکر است که، چربی نمونه‌ها، با استفاده از روش سوکسله (Velp Scientifica، SER ۱۴۸، اروپا) با کمک حلال دی‌اتیل‌اتر، استخراج شد (۲۴).

ارزیابی شاخص اسید تیوباربیتوریک (TBA): شاخص اسید تیوباربیتوریک به روش Tarladgis و همکاران با اندکی تغییر انجام شد (۲۵). بدین منظور ابتدا ۱ g نمونه همبرگر توزین و به لولهٔ فالکون انتقال یافت. سپس ml ۳ اسید پرکلریک ۴٪ و ml ۲ تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۱۰٪ به آن اضافه (جهت ته‌نشین نمودن پروتئین‌های معلق در محلول) و درب لوله‌های فالکون بسته شد و توسط همزن به مدت min ۳ مخلوط گردید. سپس عصاره‌های بدست آمده در یک دستگاه سانتریفوژ (Behdad، BH-۱۲۰۰، ایران) با دور rpm ۴۰۰۰ به مدت min ۱۵ قرار گرفت تا مواد معلق موجود در عصاره‌ها ته‌نشین گردد. مقدار ml ۱ از فاز فوقانی (سوپرناتانت) هر یک از عصاره‌ها، جداسازی و به لوله‌های آزمایش کاملاً تمیز منتقل گردید. سپس ml ۱ معرف اسید تیوباربیتوریک ۰/۰۲ مولار به هر یک از لوله‌های آزمایش اضافه شد. در ادامه لوله‌های آزمایش در بن‌ماری (Faterrizpardaz، ایران) با دمای $90^{o}C$ به مدت min ۶۰ قرار گرفت. عمل گرمایش تا ظهور رنگ نارنجی مایل به صورتی ادامه یافت. سپس بعد از خنک شدن نمونه‌ها، میزان چگالی نوری نمونه‌های آزمایشی در مقابل نمونهٔ کنترل (شاهد شامل تمامی مواد به جز نمونه است) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadezu، UV mini ۱۲۴۰، ژاپن) در طول موج nm ۵۳۰ اندازه‌گیری گردید. مقدار اسید تیوباربیتوریک برحسب میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در هر کیلوگرم نمونه آزمایشی (mg MDA/kg) بیان گردید. بدین منظور منحنی کالیبراسیون مالون‌دی‌آلدئید، با استفاده از رقت‌های مختلف مالون‌دی‌آلدئید ۱، ۱، ۳، ۳-تترااِتوکسی پروپان (با وزن مولکولی یکسان) در آب مقطر، بعد از افزودن محلول اسید تیوباربیتوریک تهیه شد. مقادیر کمی اسید تیوباربیتوریک نمونه‌های آزمایشی با استفاده از منحنی کالیبراسیون مالون‌دی‌آلدئید (در محدودهٔ غلظت‌های صفر، ۰/۱، ۰/۲ و mg/l ۰/۳) محاسبه شد. معادلهٔ رگرسیونی (۵) با ضریب تبیین ۰/۹۰۸۸ جهت محاسبات استفاده شد.

$$TBA\,(mg\ MDA/kg) = \left[\left(\frac{A_{\lambda=530nm}}{2.697}\right) + 0.0327\right] \qquad (۵)$$

که در آن، A جذب قرائت شده در nm ۵۳۰=λ است (۲۵).

ارزیابی نیتروژن فرار کل (TVB-N): سنجش میزان نیتروژن فرار کل نمونه‌های آزمایشی طبق استاندارد ملی ایران به شمارهٔ ۹۶۲۶، در دو مرحلهٔ (مراحل تقطیر و تیتراسیون) صورت گرفت. در مرحلهٔ اول (تقطیر)، ابتدا g ۱۰ نمونهٔ آزمایشی توسط ترازوی دیجیتال (Solmen Commitent، MH-۸۸۷، چین) با دقت g ۰/۰۱ توزین و به بالن کجلدال منتقل گردید. مقدار g ۲ اکسید منیزیم و حدود ml ۳۰۰ آب مقطر به بالن اضافه شد. در ادامه ml ۲۵ اسید بوریک ۲٪ و چند قطره معرف رنگی به یک ارلن گیرنده منتقل و کاملاً مخلوط شد. بالن کجلدال روی وسیلهٔ حرارت‌دهندهٔ دستگاه قرار گرفت. وسیلهٔ حرارت‌دهندهٔ دستگاه روشن و بالن کجلدال حرارت‌دهی شد تا محتویات آن به جوش آید. عمل تقطیر تا جمع‌آوری حداقل ml ۱۰۰ محلول تقطیر شده در ارلن گیرنده ادامه یافت. در مرحلهٔ دوم (تیتراسیون)، محلول جمع‌آوری شده در ارلن گیرنده توسط اسید سولفوریک N ۰/۱ تیتر شد. مقدار کل ازت فرار توسط رابطهٔ (۶) محاسبه شد.

$$TVN\,(mg\,N_2/100\,gr) = \frac{V \times N \times 14}{W} \times 100 \qquad (۶)$$

که در آن، TVN نیتروژن فرار کل ($mg\ N_۲/۱۰۰gr$)، V حجم اسید سولفوریک مصرفی (ml) و N نرمالیتهٔ اسید سولفوریک مصرفی (۰/۱ N) و W وزن نمونهٔ آزمایشی (g) می‌باشند (۲۶).

ارزیابی رنگ: اندازه‌گیری رنگ نمونه‌های آزمایشی به روش پردازش تصویر با استفاده از نرم‌افزار گرافیکی Image J صورت گرفت و مقادیر شاخص‌های L، a و b تعیین گردید. در این سیستم رنگ‌سنجی، شاخص L میزان روشنایی بوده که در محدودهٔ ۰ (سیاه) تا ۱۰۰ (سفید) است. نیز دو پارامتر a و b به ترتیب بیانگر سبزی (۱۲۰-) تا قرمزی (۱۲۰+) و آبی (۱۲۰-) تا زردی (۱۲۰+) است. تغییرات کلی رنگ نمونه‌های آزمایشی (ΔE) توسط رابطهٔ (۷) محاسبه شد.

$$\Delta E = \sqrt{(L-L_0)^2 + (a-a_0)^2 + (b-b_0)^2} \qquad (۷)$$

که در آن، شاخص‌های L_0، a_0 و b_0 مقادیر نمونه مرجع (نمونهٔ همبرگر ماهی در لحظهٔ تولید) هستند (۲۲، ۲۷).

ارزیابی حسی: ارزیابی حسی همبرگرهای ماهی تولید شده به وسیلهٔ یک گروه ارزیاب حسی آموزش دیده متشکل از ۱۰ نفر، در محدودهٔ سنی ۲۰ تا ۳۰ سال (مرد و زن) صورت گرفت. کلیهٔ ارزیابی‌ها به روش امتیازبندی هدونیک پنج نقطه

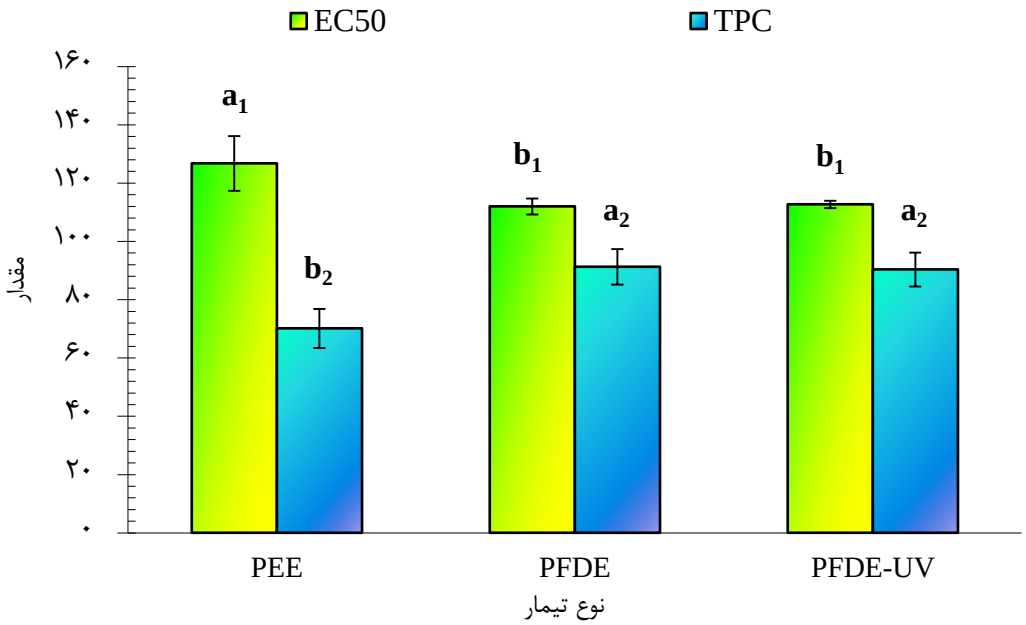
ای صورت گرفت. بدین ترتیب که پرسشنامه‌هایی تهیه و بین تیم ارزیاب توزیع شد. برای هر سؤال ۵ گزینه به عنوان پاسخ در نظر گرفته شد. جهت ارزیابی خصوصیات حسی همبرگر ماهی در پایان دورهٔ انبارمانی (۹۰ روز انبارمانی در $-18^{o}C$)، حدوداً ۲۰ g از هر نمونه (همبرگر ماهی پخته نشده) در یک ظرف جداگانه در اختیار ارزیاب‌ها قرار داده شد. سپس ویژگی‌های حسی ارزیابی شده (شامل ظاهر عمومی، رنگ، رایحه، بافت و پذیرش کلی) در پرسشنامهٔ مربوطه ثبت گردید (۱۳).

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۹ درصد انجام شد. جهت تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱/۳ استفاده گردید. کلیه آزمون‌های کیفی در ۳ تکرار صورت گرفت.

• یافته‌ها

بازده استخراج و مادهٔ خشک عصارهٔ اتانولی برمموم: فرآیند استخراج ترکیبات مؤثرهٔ (ترکیبات زیست‌فعال) برمموم خام به روش خیساندن در حلال (اتانول ۷۰٪) به مدت ۴ روز در دمای $37^{o}C$ انجام شد. نتایج حاکی از آن بود که میانگین بازدهی استخراج عصارهٔ اتانولی برمموم خام، ۰/۱۹±۴۲/۴۶٪ گزارش شد که مقدار مادهٔ خشک موجود در آن ۰/۰۵۷±۱۲/۷۴٪ بدست آمد.

ارزیابی فعالیت ضداکسیدانی و ترکیبات فنولیک کل برمموم: در این مطالعه ترکیبات زیست‌فعال برمموم (نظیر پلی‌فنل‌ها، فلاوونوئیدی و کاروتنوئیدی) به روش غوطه‌وری در حلال (اتانول ۷۰٪) استخراج شد و مقادیر آن‌ها توسط شاخص‌های سنجش فعالیت ضداکسایشی $EC_{۵۰}$ و ترکیبات فنولیک کل (TPC) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج مقایسه میانگین شاخص‌های سنجش ترکیبات زیست‌فعال موجود در عصارهٔ اتانولی برمموم (PEE)، پودر برمموم خشک شده به روش انجمادی (PFDE) و پودر برمموم خشک شده به روش انجمادی بعد از پرتودهی با لامپ فرابنفش (به مدت ۲۰ min) (PFDE-UV) در شکل ۱ ارائه شده است. نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که تأثیر نوع تیمار (PEE، PFDE و PFDE-UV) روی شاخص‌های $EC_{۵۰}$ و TPC به ترتیب در سطح احتمال خطای ۹۵٪ و ۹۹٪ معنی‌دار بود. بیشترین میزان شاخص TPC (متناظر با کم‌ترین $EC_{۵۰}$) مربوط به نمونهٔ PFDE بود که اختلاف آماری معنی‌داری با نمونهٔ PFDE-UV نداشت.



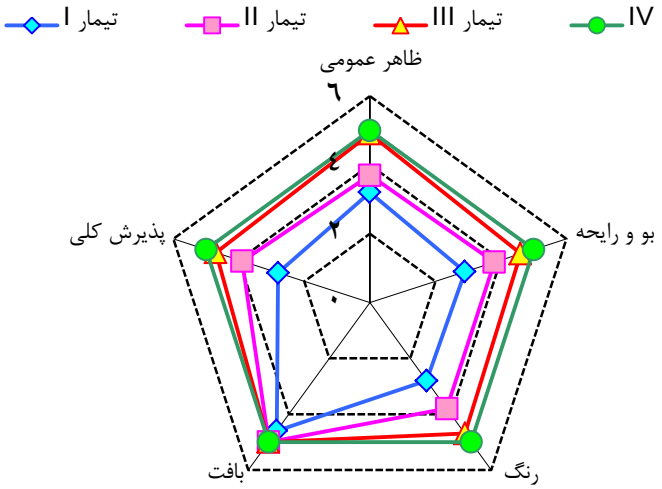
شکل ۱. مقادیر میانگین (سه تکرار) شاخص‌های سنجش ($EC_{۵۰}$ (mg/ml یا mg/g): غلظت مؤثر برای روبش ۵۰٪ رادیکال آزاد و TPC (mg GAE/ml یا mg GAE/g): ترکیبات فنولیک کل) کارآیی ترکیبات زیست‌فعال موجود در عصارهٔ اتانولی برمموم (PEE)، پودر برمموم خشک شده به روش انجمادی (PFDE) و پودر برمموم خشک شده به روش انجمادی بعد از ۲۰ min پرتودهی با لامپ فرابنفش (PFDE-UV) [نمادهای ۱ و ۲ به ترتیب بیانگر $EC_{۵۰}$ و TPC هستند. حروف مختلف روی هر شاخص نشان‌دهندهٔ اختلاف آماری معنی‌دار ($P_{EC50}<۰/۰۵$ و $P_{TPC}<۰/۰۱$) بین هر شاخص در نتیجهٔ اعمال تیمارهای مختلف است].

شاخص‌های پراکسید (PV) و اسید تیوباربیتوریک (TBA): نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تأثیر متقابل جایگزینی پودر برەموم (صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ g/۱۰۰ g batch) و زمان انبارمانی (صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز) روی شاخص‌های شیمیایی پراکسید و اسید تیوباربیتوریک همبرگر ماهی منجمد (-۱۸°C) معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) است. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، بیشترین میزان شاخص پراکسید (یا اسید تیوباربیتوریک) مربوط به تیمار I و در روز ۹۰اُم انبارمانی است. مشاهدهٔ مقادیر شاخص‌های پراکسید و اسید تیوباربیتوریک نمونه‌ها بعد از ۹۰ روز انبارمانی نشان داد که به‌کارگیری پودر برەموم (۰/۴ g/۱۰۰ g batch) به عنوان یک نگه‌دارندهٔ طبیعی در فرمولاسیون توانست میزان این شاخص‌ها را به ترتیب ۳۱/۷۷٪~ و ۲۲/۷۱٪~ کاهش دهد.

شاخص نیتروژن فرار کل (TVN-B) و غلظت یون هیدروژن (pH): نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تأثیر متقابل جایگزینی پودر برەموم و زمان انبارمانی روی شاخص نیتروژن فرار کل و pH همبرگر ماهی منجمد (-۱۸°C) معنی‌دار (به ترتیب در $p<۰/۰۱$ و $p<۰/۰۵$) است. همان‌طور که در جدول ۱مشاهده می‌شود، بیشترین میزان شاخص نیتروژن فرار کل (متناظر با کم‌ترین pH) مربوط به تیمار I و در روز ۹۰اُم انبارمانی است. مشاهدهٔ مقادیر شاخص‌های نیتروژن فرار کل و pH نمونه‌ها بعد از ۹۰ روز انبارمانی نشان داد که به‌کارگیری پودر برەموم (۰/۴ g/۱۰۰ g batch) به عنوان یک نگه‌دارندهٔ طبیعی در فرمولاسیون توانست میزان این شاخص‌ها را به ترتیب ۲۰/۷۴٪~ افزایش و ۰/۶۴٪~ کاهش دهد.

تغییرات کلی رنگ (ΔE): نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تأثیر متقابل جایگزینی پودر برەموم و زمان انبارمانی روی تغییرات کلی رنگ همبرگر ماهی منجمد (-۱۸°C) معنی‌دار ($p>۰/۰۱$) نبود. با این حال، با توجه به شکل ۱، بیشترین میزان تغییرات کلی رنگ مربوط به تیمار I و در روز ۹۰اُم انبارمانی است. مشاهدهٔ مقادیر تغییرات کلی رنگ نمونه‌ها بعد از ۹۰ روز انبارمانی نشان داد که به‌کارگیری (۰/۴ g/۱۰۰ g batch) پودر برەموم در فرمولاسیون خمیر (فارش) همبرگر ماهی توانست میزان این شاخص را ۴۴/۱۷٪~ کاهش دهد.

ارزیابی حسی: نتایج ارزیابی حسی همبرگر ماهی منجمد (-۱۸°C) تولید شده با مقادیر مختلف پودر برەموم در پایان دورهٔ انبارمانی (روز ۹۰اُم) در نمودار رادار (Radar chart) نشان داده شده است (شکل ۲). نتایج مقایسه میانگین ارائه شده در نمودار رادار نشان داد که همبرگر ماهی منجمد تولید شده با تیمار IV بیشترین امتیاز را از لحاظ تمامی شاخص‌های حسی (ظاهر عمومی، بو و رایحه، رنگ، بافت و پذیرش کلی) کسب نمود که البته با توجه به نتایج، اختلاف آماری چشمگیری بین همبرگر ماهی منجمد تولید شده با تیمار III و تیمار IV مشاهده نشد. لذا با توجه به نتایج ارزیابی حسی، به‌کارگیری پودر برەموم در مقادیر ۰/۲ تا (۰/۴ g/۱۰۰ g batch) می‌تواند برای تولید صنعتی این محصول پیشنهاد گردد.



شکل ۲. امتیازات ویژگی‌های حسی همبرگر ماهی منجمد (-۱۸°C) فرموله شده با مقادیر مختلف پودر برەموم در پایان دورهٔ انبارمانی. شاخص آماری ترسیم نمودار رادار، میانگین در سطح آماری ۹۵٪ بود (تیمار I: همبرگر ماهی فاقد افزودنی (کنترل)، تیمار II: همبرگر ماهی حاوی (۰/۱ g/۱۰۰g)٪ پودر برەموم، تیمار III: همبرگر ماهی حاوی (۰/۲ g/۱۰۰g)٪ پودر برەموم، تیمار IV: همبرگر ماهی حاوی (۰/۴ g/۱۰۰g)٪ پودر برەموم).

جدول ۱. مقادیر میانگین (سه تکرار) شاخص‌های کیفی همبرگر ماهی فرموله شده با مقادیر مختلف پودر برەموم طی انبارمانی در دمای (-۱۸°C)

نوع تیمار*	زمان انبارمانی	ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی(**) و (***)/واحد				
		PV	TBA	TVN-B	pH	ΔE
(g/۱۰۰ g batch)	(روز)	(meq O_2/kg oil)	(mg MDA/kg)	(mg N_2/۱۰۰gr)	(-)	(-)
تیمار I						
	صفر	۱۲/۷۶±۰/۳۷۶^{hi}	۰/۳۴۱±۰/۰۰۴^{i}	۱۴/۵۵±۰/۰۱^{k}	۶/۴۷±۰/۰۱^{a}	۰۰/۰۰±۰/۰۰^{f}
	۳۰	۱۵/۴۶±۰/۹۲۴^{cde}	۰/۴۶۷±۰/۰۰۰۸^{g}	۱۷/۰۰±۰/۲۰^{f}	۶/۳۰±۰/۰۱^{d}	۴/۶۰±۱/۱۲^{de}
	۶۰	۱۹/۷۹±۰/۰۱۸^{b}	۰/۶۳۹±۰/۰۰۲۵^{e}	۲۲/۶۱±۰/۲۰۵^{b}	۶/۲۶±۰/۰۰^{gh}	۱۰/۵۸±۱/۰۸^{ab}
	۹۰	۲۴/۱۴±۰/۴۶۸^{a}	۰/۹۶۹±۰/۰۱۳۷^{a}	۲۳/۷۷±۰/۲۵^{a}	۶/۲۵±۰/۰۰۶^{h}	۱۳/۱۳±۰/۵۲^{a}
تیمار II						
	صفر	۱۲/۹۱±۰/۱۵۴^{ghi}	۰/۳۳۹±۰/۰۰۶۵^{i}	۱۴/۵۵±۰/۰۰۵^{k}	۶/۴۷±۰/۰۰۶^{a}	۰/۰۰±۰/۰۰^{f}
	۳۰	۱۳/۹۶±۰/۴۴۳^{fgh}	۰/۴۶۰±۰/۰۰۱۵^{g}	۱۶/۰۳±۰/۰۷^{h}	۶/۳۳±۰/۰۱^{c}	۴/۰۶±۰/۳۴۴^{de}
	۶۰	۱۶/۳۳±۰/۷۴۴^{cd}	۰/۶۲۹±۰/۰۰۰۷^{e}	۲۱/۳۸±۰/۱۰^{c}	۶/۲۷±۰/۰۱^{fg}	۸/۰۴±۱/۵۳^{bc}
	۹۰	۲۰/۶۹±۰/۵۹۱^{b}	۰/۸۳۹±۰/۰۳۶۵^{b}	۲۲/۶۳±۰/۰۵^{b}	۶/۲۷±۰/۰۱^{fg}	۱۰/۵۴±۱/۴۸^{ab}
تیمار III						
	صفر	۱۲/۵۹±۰/۶۸۷^{hi}	۰/۳۳۶±۰/۰۰۴۳^{i}	۱۴/۲۶±۰/۰۱۵^{l}	۶/۴۷±۰/۰۱۷^{a}	۰/۰۰±۰/۰۰^{f}
	۳۰	۱۲/۹۸±۰/۳۵۵^{ghi}	۰/۴۵۱±۰/۰۰۱۱^{gh}	۱۵/۳۹±۰/۰۱^{j}	۶/۳۴±۰/۰۰۶^{bc}	۲/۹۱±۱/۴۶۷^{ef}
	۶۰	۱۵/۰۱±۱/۵۶۹^{def}	۰/۶۰۹±۰/۰۰۱۱^{f}	۱۶/۷۷±۰/۰۲۵^{g}	۶/۲۷±۰/۰۱۱^{fg}	۶/۴۶±۱/۷۰۹^{cd}
	۹۰	۱۹/۲۹±۰/۵۲۳^{b}	۰/۸۰۰±۰/۰۰۴۸^{c}	۱۹/۸۲±۰/۰۸۵^{d}	۶/۲۸±۰/۰۱^{ef}	۸/۲۱±۰/۴۷۸^{bc}
تیمار IV						
	صفر	۱۲/۴۷±۰/۵۵۱^{i}	۰/۳۳۵±۰/۰۰۳۸^{i}	۱۴/۲۵±۰/۰۳^{l}	۶/۴۸±۰/۰۰۶^{a}	۰/۰۰±۰/۰۰^{f}
	۳۰	۱۲/۴۳±۰/۱۴۱^{i}	۰/۴۴۱±۰/۰۰۲۹^{h}	۱۴/۵۱±۰/۰۵^{k}	۶/۳۴±۰/۰۰۶^{b}	۲/۸۱±۱/۶۷۰^{ef}
	۶۰	۱۴/۳۱±۲/۴۰۲^{efg}	۰/۵۹۴±۰/۰۰۰۸۵^{f}	۱۵/۷۴±۰/۰۶^{i}	۶/۲۹±۰/۰۱^{de}	۴/۹۶±۱/۷۰۰^{cde}
	۹۰	۱۶/۴۷±۰/۳۰۱^{c}	۰/۷۴۹±۰/۰۰۴۱^{d}	۱۸/۸۴±۰/۰۵۵^{e}	۶/۲۹±۰/۰۱۵^{de}	۷/۳۳±۱/۱۸۵^{bcd}

(*)تیمار I: همبرگر ماهی فاقد افزودنی (کنترل)، تیمار II: همبرگر ماهی حاوی (g/۱۰۰g) ۰/۱٪ پودر برەموم، تیمار III: همبرگر ماهی حاوی (g/۱۰۰g) ۰/۲٪ پودر برەموم، تیمار IV: همبرگر ماهی حاوی (g/۱۰۰g) ۰/۴٪ پودر برەموم.

(**)در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشابه، از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری ($p<0/05$) ندارد.

(***)نمادها: pH: غلظت یون هیدروژن، PV: شاخص پراکسید، TBA: شاخص اسید تیوباربیتوریک، TVN-B: نیتروژن فرار کل و ΔE: تغییرات کلی رنگ

• بحث

بازده استخراج و مادۀ خشک عصارۀ اتانولی برەموم: استخراج، فرآیندی است که طی آن بخش‌های فعال بافت‌های گیاهی یا حیوانی که دارای ویژگی‌های دارویی است، از بخش‌های غیرفعال یا اجزای درونی آن‌ها با استفاده از انتخاب حلال‌ها و روش‌های استخراج استاندارد، جداسازی می‌شود. محصولات بدست آمده به این شیوه حاوی مایعات ناخالص، نیمه جامد یا پودری بوده که فقط جهت مصارف خوراکی و یا استعمال خارجی استفاده می‌شود. با اعمال روش‌های استاندارد استخراج، ناخالصی‌های موجود در مواد توسط حلال حذف شده و مادۀ مؤثره گیاه دارویی یعنی بخش‌های مطلوب برای کاربردهای درمانی استخراج می‌شود. بنابراین هدف اصلی روش‌های استاندارد استخراج، دست‌یابی به کیفیت نهایی داروهای گیاهی می‌باشد (۲۸). در این پژوهش فرآیند استخراج ترکیبات مؤثرۀ (ترکیبات زیست‌فعال) برەموم خام به روش خیساندن در حلال (اتانول ۷۰٪) به مدت ۴ روز در دمای ۳۷°C جداسازی شد (۱۶). همان‌طور که پیش‌تر ذکر گردید، مقادیر متوسط بازدۀ استخراج و مادۀ خشک عصارۀ اتانولی بدست آمده از برەموم خام، به ترتیب حدوداً ۴۲/۵٪ و ۱۲/۸٪ گزارش شد. Wozniak و همکاران فرآیند استخراج برەموم لهستانی را با حلال اتانول ۷۰٪ مورد بررسی قرار دادند و مقدار آن را بین ۴۱/۷ تا ۶۶/۶٪ گزارش نمودند که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد (۲۹). Seibert و همکاران تأثیر نوع حلال (اتانول، اتیل استات و هگزان) را روی بازده استخراج برەموم مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که نوع حلال تأثیر چشمگیری روی بازده استخراج برەموم داشت. آن‌ها گزارش نمودند که مقدار بازده استخراج برەموم با حلال‌های اتانول، اتیل استات و هگزان به ترتیب ۲۳٪، ۱۵٪ و ۶٪ بود که مقادیر آن‌ها از مقادیر بدست آمده در این پژوهش کمتر است (۳۰). نتایج مشابه توسط Sherif و همکاران گزارش شد. آن‌ها گزارش نمودند که اختلاف قطبیت بین حلال‌های مورد استفاده تأثیر چشمگیری روی بازده استخراج داد. چون اکثر ترکیبات سازندۀ برەموم محلول در الکل است، بنابراین بکارگیری این حلال سبب افزایش بازده استخراج

می‌شود (۳۱). Jansen-Alves و همکاران در پژوهشی مقدار بازدۀ استخراج برەموم را بین ۱۸/۸۲ تا ۵۴٪ گزارش نمودند که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد (۳۲).

خواص ضداکسیدانی و ترکیبات فنولیک کل برەموم: ترکیبات زیست‌فعال (شامل کاروتنوئیدها، روغن‌های ضروری، ضداکسیدان‌ها یا طعم‌دهنده‌ها) گروهی از مواد شیمیایی با خواص سلامتی‌بخش، دارویی و تغذیه‌ای بوده که به طور گسترده‌ای در فرآورده‌های غذایی به منظور ارتقاء ویژگی‌های حسی یا توسعۀ خصوصیات غذادارویی (Nutraceutical) آن‌ها بکار می‌روند (۳۳). همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد، در این مطالعه ترکیبات زیست‌فعال برەموم خام به روش غوطه‌وری در حلال اتانول استخراج و کارآیی آن‌ها توسط شاخص‌های EC_{50} و TPC ارزیابی شد. شاخص EC_{50} به عنوان غلظتی از ترکیب زیست‌فعال بوده که قادر است ۵۰٪ رادیکال‌های آزاد $DPPH^o$ محیط را روبش نماید. هر اندازه این غلظت کمتر باشد، خاصیت روبش رادیکالی افزایش می‌یابد (۱۸). Wozniak و همکاران در پژوهشی تأثیر تغییرات فصلی را روی میزان روبش رادیکال آزاد $DPPH^o$ بررسی نمودند و مقدار این شاخص را برای غلظت (mg/ml) ۱۰۰ برەموم معادل ۳۱٪ گزارش نمودند (۲۹)، که نسبت به پژوهش حاضر، از قدرت مهار رادیکالی بالاتری برخوردار است (در این مطالعه مقدار روبش برای غلظت مشابه ۵۰٪ گزارش شد). در مطالعه‌ای دیگر، Seibert و همکاران تأثیر نوع حلال (اتانول، اتیل استات و هگزان) را روی روبش رادیکال آزاد $DPPH^o$ برەموم مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که نوع حلال تأثیر چشمگیری روی روبش رادیکال آزاد $DPPH^o$ برەموم داشت. آن‌ها مقدار EC_{50} را برای عصاره‌های بدست آمده با حلال‌ها هگزانی، اتیل استات و اتانولی به ترتیب تقریباً معادل ۴۱/۴۷، ۳۰/۵۷ و (mg/ml) ۲۵/۰۴ گزارش نمودند که نسبت به پژوهش حاضر از روبش رادیکالی بالاتری برخوردار است (۳۰).

یکی دیگر از ترکیبات زیست‌فعال موجود در برەموم، ترکیبات فنولیک است. این ترکیبات متابولیت‌های ثانویه بوده و براساس تعداد واحدهای فنولی موجود در مولکول، به دو گروه فنول‌های ساده و پلی‌فنول طبقه‌بندی می‌شوند (۳۳). در این مطالعه ترکیبات فنلی کل موجود در عصارۀ برەموم خام و فرآیند شده، به روش فولین-سیوکالتو مورد سنجش قرار گرفت. نتایج ارزیابی نشان داد که مقدار ترکیبات فنولیک در دامنۀ ۶/۷۳±۷۰/۱۴ تا (mg GAE/ml) ۶/۱۳±۹۱/۲۶ قرار دارد. Wozniakو همکاران در پژوهشی ترکیبات فنولیک عصارۀ اتانولی (۷۰٪) برەموم لهستانی را استخراج و شناسایی نمودند. اسیدهای فنولیک شناسایی شده شامل اسید کافئیک، اسید کوماریک، اسید فرولیک، اسید وانیلیک و اسید سیرینژیک بود. بیشترین اسید فنولیک موجود در عصارۀ اتانولی برەموم، اسید کوماریک و سپس اسید کافئیک گزارش شد. آن‌ها مقدار اسیدهای فنولیک موجود در عصارۀ اتانولی برەموم را بین ۱۶/۱۸ تا (mg GAE/g) ۱۹/۳۴ گزارش نمودند (۲۹). در پژوهشی دیگر، Andrade و همکاران ترکیبات زیست فعال موجود در سه نوع برەموم ناحیۀ شمال برزیل (قهوه‌ای، سبز و قرمز) را مطالعه نمودند. آن‌ها مقدار ترکیبات فنولیک کل را در واحد وزن برەموم برای انواع برەموم قهوه‌ای، سبز و قرمز به ترتیب ۵۵/۷۴، ۹۰/۵۵ و (mg GAE/g) ۹۱/۳۲ گزارش کردند که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد (۳۴).

شاخص‌های پراکسید (PV) و اسید تیوباربیتوریک (TBA): پایداری مواد غذایی و گسترش ماندگاری آن‌ها در توسعۀ موفق یک فرآوردۀ غذایی جدید بسیار بحرانی بوده که کیفیت مورد انتظار مصرف‌کننده نهایی را از نظر تغذیه‌ای، ظاهری، بافت، عطر و طعم تأمین می‌کند. به طور کلی، پایداری مواد غذایی ممکن است شامل پایداری شیمیایی (یعنی پایداری اکسیداتیو)، پایداری فیزیکی و پایداری میکروبی باشد. یکی از مهم‌ترین وظایف تولیدکنندگان مواد غذایی حاوی روغن بالا، کنترل فرآیند اکسیداسیون چربی برای این دسته از مواد غذایی است، تا دارای پایدرای اکسیدتیو و ماندگاری قابل قبولی طی دورۀ زمانی مشخص باشند. با توجه به مطالب یاد شده، جهت سنجش میزان پایداری اکسیداتیو و ماندگاری یک مادۀ غذایی، می‌توان از شاخص‌های کیفی مختلفی نظیر شاخص پراکسید، شاخص اسید تیوباربیتوریک، شاخص پارا-آنیزیدین و اسید چرب آزاد استفاده نمود (۳۵).

شاخص پراکسید به عنوان یکی از معیاری‌های کیفی جهت سنجش غلظت فرآورده‌های اولیۀ اکسیداسیون (تشکیل مونوهیدروپراکسیدها) چربی‌هاست (۳۵). همان‌طور که پیش‌تر نیز اشاره شد، تأثیر نوع تیمار (I، II، III و IV) و زمان انبارمانی روی شاخص پراکسید معنی‌دار ($p<0/01$) بود. طبق نتایج بدست آمده مشاهده شد که بیشترین و کم‌ترین میزان شاخص پراکسید همبرگر ماهی منجمد به ترتیب مربوط به نمونه‌های (تیمار I-روز ۹۰) و (تیمار IV-لحظۀ تولید) بود.Shavisi و همکاران تأثیر فیلم خوراکی حاوی عصارۀ اتانولی برەموم (۱ و ۲٪) را روی ویژگی‌های کیفی گوشت گاو چرخ شده بررسی نمودند. آن‌ها اذعان نمودند که شاخص پراکسید نمونه‌های آزمایشی با گذشت زمان انبارمانی افزایش

می‌یابد و میزان این کاهش در نمونه‌های فرموله شده با عصارهٔ اتانولی برەموم نسبت به نمونهٔ کنترل کمتر بود که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد (۳۶). Ozogul و Uçar تأثیر غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۶٪ عصاره‌های گیاهی (آویشن، چای سبز، مریم گلی و برگ بو) را روی تغییرات کیفی همبرگر ماهی منجمد بررسی نمودند. یافته‌های پژوهش نشان داد که میزان شاخص پراکسید در نمونه‌های حاوی عصارهٔ گیاهی نسبت به نمونه‌های کنترل کمتر است. احتمالاً این حالت به دلیل وجود ترکیبات فنولیک بالا در عصاره‌های گیاهی است که از اکسایش چربی‌های موجود در بافت همبرگر ممانعت می‌نماید (۳۷).

یکی دیگر از شاخص‌های سنجش پیشرفت واکنش اکسیداتیو در فرآورده‌های پروتئینی حاوی روغن بالا، شاخص اسید تیوباربیتوریک است. با اندازه‌گیری این شاخص، غلظت متابولیت‌های ثانویه اکسیداسیون چربی‌ها (نظیر مالون‌دی‌آلدهید، الکل، استن، اسیدها و غیره) که از تجزیهٔ مونوهیدروپراکسیدها حاصل می‌شود، قابل اندازه‌گیری است و این واکنش سبب تند شدن (رانسید شدن) چربی‌ها شده و تأثیر مستقیم روی طعم و مزه فرآورده غذایی دارد (۳۵). با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۱ مشاهده شد که، تأثیر نوع تیمار و زمان انبارمانی روی شاخص اسید تیوباربیتوریک معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) است. بیشترین و کم‌ترین میزان شاخص اسید تیوباربیتوریک نمونه‌های آزمایشی به ترتیب مربوط به (تیمار I–روز ۹۰) و (تیمارهای I، II، III وIV–لحظهٔ تولید) است. El-Lahamy و همکاران گزارش نمودند که بیشینهٔ حد رواداری شاخص اسید تیوباربیتوریک برای مواد غذایی با کیفیت‌های مرغوب و خوب به ترتیب می‌بایست معادل ۳ و ۵ (mg MDA/kg) باشد. همچنین آن‌ها مقدار این شاخص را برای محدودهٔ مصرف‌کننده بین ۷ تا ۸ (mg MDA/kg) عنوان نمودند (۳۸). Jooyandeh و Yademellat تأثیر ضداکسایشی و ضدمیکروبی عصارهٔ پوست انار را روی همبرگر گوشت گاو بررسی نمودند. نتایج آن‌ها نشان داد که میزان شاخص اسیدتیوباربیتوریک در نمونه های حاوی عصارهٔ پوست انار نسبت به نمونهٔ کنترل کمتر بود که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. آن‌ها گزارش نمودند که این حالت به دلیل ترکیبات فنولیک موجود در عصارهٔ پوست انار است که مانع ایجاد رادیکال آزاد و انتشار واکنش‌های رادیکال آزاد می‌شود و این عمل را از طریق به دام انداختن یون‌های فلزات (نظرآهن) انجام می‌دهد. ترکیبات فنولیک با داشتن گروه هیدروکسیل متصل به حلقه آروماتیک، قادر به اهدا اتم‌های هیدروژن و خنثی کردن رادیکال‌های آزاد هستند. این فرآیند از تجزیه بعدی محصولات اکسایش به شکل‌های اکسیدکننده فعال‌تر مانند مالون‌دی‌آلدهید جلوگیری می‌کند (۳۹).

شاخص‌های نیتروژن فرار کل (TVN-B) و غلظت یون هیدروژن (pH): ازت فرار کل به ازت (نیتروژن) ترکیبات پروتئینی گفته می‌شود که در نتیجهٔ فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک و تجزیهٔ ساختمان پروتئینی آزاد می‌شود. تشکیل ازت فرار، نشان‌دهندهٔ شروع فساد و افزایش مقدار آن نشان‌گر پیشرفت فساد پروتئین‌ها در خوراک و یا مادهٔ غذایی است (۲۶). همان‌طور که پیش‌تر بیان شد، نوع تیمار (I، II، III و IV) و زمان انبارمانی تأثیر معنی‌داری روی میزان نیتروژن فرار کل همبرگر ماهی منجمد ($p<۰/۰۱$) داشت (جدول ۱). طبق نتایج بدست آمده مشاهده شد که بیشترین و کم‌ترین میزان بازهای نیتروژنی فرار کل نمونه‌های آزمایشی به ترتیب مربوط به تیمارهای I و IV می‌باشد. El-Lahamy و همکاران گزارش نمودند که میزان بازهای نیتروژنی فرار کل در همبرگر ماهی خیلی خوب، خوب، بازاری و فاسد شده به ترتیب معادل ۲۵، ۳۰، حداکثر ۳۵ و (mg N_2/100 g) ۳۵< است (۳۸). Ozogul و Uçar تأثیر غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۶٪ عصاره‌های گیاهی (آویشن، چای سبز، مریم گلی و برگ بو) را روی تغییرات کیفی همبرگر ماهی منجمد بررسی نمودند. میزان بازهای نیتروژنی فرار کل نمونه‌های آزمایشی حاوی عصارهٔ گیاهی نسبت به نمونهٔ کنترل کمتر بود و این حالت طی دورهٔ انبارمانی نیز پایدار بود. این حالت احتمالاً به دلیل خاصیت ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی بکار رفته روی جمعیت میکروبی و رشد باکتری‌ها است که نتایج پژوهش حاضر را تأیید می‌نماید (۳۷).

از طرف دیگر، نتایج نشان داد که جایگزینی پودر برەموم (تیمارهای I، II، III و IV) و زمان انبارمانی تأثیر معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) روی pH همبرگر ماهی منجمد داشت (جدول ۱). طبق نتایج بدست آمده، مشاهده شد که بیشترین میزان pH مربوط به نمونه‌های آزمایشی فاقد پودر برەموم (تیمار I) و در لحظهٔ تولید می‌باشد. El-Lahamy و همکاران میزان pH همبرگر ماهی منجمد (۱۸-°C) را در دامنهٔ ۶/۴۵ تا ۷/۰۳ گزارش نمودند که نتایج پژوهش حاضر را تأیید می‌کند. همچنین آن‌ها گزارش نمودند که در برخی پژوهش‌ها مقدار pH همبرگر ماهی منجمد با گذشت زمان انبارمانی افزایش (تشکیل دی متیل آمین از تری متیل آمین اکسید) و در برخی کاهش (تخریب آنزیمی ترکیبات ماهیچهٔ ماهی) می‌یابد (۳۸). در پژوهشی دیگر Comi و همکاران گزارش نمودند که

میزان pH نمونه‌های همبرگر تجاری با گذشت زمان انبارمانی کاهش می‌یابد که با یافته‌های پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد (۲۲).

تغییرات کلی رنگ (ΔE): رنگ فرآوردهٔ تولید شده یکی از بارزترین شاخص‌های کیفی جهت بازارپسندی محصول است. نتایج مقایسه میانگین تأثیر متقابل نوع تیمار و زمان انبارمانی روی تغییرات رنگ همبرگر ماهی منجمد در جدول ۱ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده گردد، جایگزینی پودر برەموم (تیمارهای I، II، III و IV) و زمان انبارمانی تأثیر معنی‌دار (p>۰/۰۱) روی تغییرات رنگ همبرگر ماهی منجمد نداشت. با این حال، طبق نتایج بدست آمده بیشترین میزان تغییرات رنگ مربوط به نمونه‌های آزمایشی فاقد پودر برەموم (تیمار I) و در روز ۹۰اُم انبارمانی است. Jafarpour و Shekari در پژوهشی به بررسی شاخص‌های رنگی همبرگر ماهی ترکیبی گوشت قرمز و سوریمی ماهی کپور معمولی پرداختند که یافته‌های آن‌ها با پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد (۴۰). در پژوهشی دیگر Georgantelis و همکاران تأثیر عصارهٔ رزماری را روی پایداری رنگ همبرگر گوشت گاو مورد مطالعه قرار دادند. یافته‌های آن‌ها حاکی از آن بود که اُفت رنگ در نمونه‌های حاوی عصارهٔ رزماری نسبت به نمونهٔ کنترل کمتر بود و این حالت طی دورهٔ انبارمانی نیز حفظ گردید. احتمالاً این حالت به دلیل نقش محافظتی ترکیبات فنولیک عصارهٔ گیاهی در ممانعت از اکسیداسیون رنگدانه میوگلوبین و تبدیل آن به مت میوگلوبین می‌باشد (۴۱). یافته‌های Jooyandeh و Yademellat نشان داد که بدرنگی گوشت و واکنش اکسایش چربی دو پدیدهٔ مرتبط و هم‌افزا هستند. با توجه به اینکه طی دورهٔ نگهداری، محصولات اولیه (مونوهیدروپراکسیدها) و ثانویه (آلدهیدهای غیراشباع) اکسیداسیون تشکیل می‌گردند که با یون آهن موجود در رنگدانهٔ اکسی‌میوگلوبین (یون Fe^{2+}) واکنش داده و با احیاء خود، سبب اکسایش رنگدانه فوق و تشکیل رنگدانه مت‌میوگلوبین (تبدیل یون مرکز حلقهٔ پورفیرین به Fe^{3+}) می‌شود که با تیره شدن رنگ محصول همراه است. آن‌ها همچنین گزارش دادند که به‌کارگیری عصارهٔ پوست انار به دلیل تعویق در واکنش اکسیداسیون، از شدت این واکنش می‌کاهد (۳۹).

به طور کلی با توجه به یافته‌های تحقیق حاضر می‌توان نتیجه‌گیری نمود که به‌کارگیری پودر برەموم تا حداکثر مقدار (g/۱۰۰ g batch) ۰/۴ می‌تواند از فساد اکسیداتیو فرآورده‌های فرآوری شدهٔ آبزیان (به ویژه همبرگر ماهی) ممانعت نماید.

•References

1. Mahmoudzadeh M, Motallebi AA, Hosseini H, Haratian P, Ahmadi H, Mohammadi M, Khaksar R. Quality assessment of fish burgers from deep flounder (Pseudorhombus elevatus) and brushtooth lizardfish (Saurida undosquamis) during storage at -18ºC. Iranian Journal of Fisheries Sciences 2010; 9(1): 111-126.
2. Shaviklo AR, Moradinezhad N, Abolghasemi SJ, Motamedzadegan A, Kamali-Damavandi N, Rafipour F. Product Optimization of Fish Burger Containing Tuna Protein Isolates for Better Sensory Quality and Frozen Storage Stability. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 2016; 16: 923-933.
3. Hoseini S, Aliabadi M. The effect of substitution of beef by turkey meat on physicochemical and sensory properties of burger. Journal of Food Science and Technology 2017; 69(14): 215-227.
4. Licciardello F, Kharchoufi S, Muratore G, Restuccia G. Effect of edible coating combined with pomegranate peel extract on the quality maintenance of white shrimps (Parapenaeus longirostris) during refrigerated storage. Food Packaging and Shelf Life 2018; 17:114-119.
5. Tzima K, Makris D, Nikiforidis CV, Mourtzinos I. Potential use of rosemary, propolis and thyme as natural food preservatives. Journal of Nutrition and Health 2015; 1(1): 6.
6. Chang P, Ku K. Studies on benzene formation in beverages. Journal of Food and Drug Analysis 1993; 11: 385-393.
7. Negi P. Plant extracts for the control of bacterial growth: efficacy, stability and safety issues for food application. International Journal of Food Microbiology 2012; 156: 7-17.
8. Probst IS, Sforcin JM, Rall VLM, Fernandes AAH, Fernandes Junior A. Antimicrobial activity of propolis and essential oils and synergism between these natural products. Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases 2011; 17: 159-167.
9. Schelegueda LI, Delcarlo SB, Gliemmo MF, Campos CA. Effect of antimicrobial mixtures and modified atmosphere packaging on the quality of Argentine hake (*Merlucciushubbsi*) burgers. LWT-Food Science and Technology 2016; 68: 258-264.
10. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews1999; 12: 564-582.
11. Spinelli S, Conte A, Lecc L, Incoronato AL, Nobile Mad. Microencapsulated propolis to enhance the antioxidant properties of fresh fish burgers. Journal of Food Process Engineering 2014. doi:10.1111/jfpe.12183.
12. Mahmoudzadeh M, Motallebi AA, Hosseini H, Haratian P, Ahmadi H, Mohammadi M, Khaksar R. Quality assessment of fish burgers from deep flounder

(*Pseudorhombuselevatus*) and brushtooth lizardfish (*Sauridaundosquamis*) during storage at -18ºC. Iranian Journal of Fisheries Sciences 2010; 9(1) 111-126.

13. Reis ASD, Diedrich C, Moura CD, Pereira D, Almeida JDF, Silva LDD, Plata-Oviedo MSV, Tavares RAW, Carpes ST. Physico-chemical characteristics of microencapsulated propolis co-product extract and its effect on storage stability of burger meat during storage at -15^{o}C. LWT-Food Science and Technology 2016; 1-8.
14. Sayari N, Sila A, Balti R, Abid E, Hajlaoui K, Nasri M, Bougatef A. Antioxidant and antibacterial properties of Citrus paradisi barks extracts during turkey sausage formulation and storage. Journal of Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 2015; 4(4): 616-623.
15. Jin S, Ha S, Choi J. Effect of Caesalpinia sappan L. extract on physico-chemical properties of emulsion-type pork sausage during cold storage. Meat Science 2015; 110: 245-252.
16. INSO. Iranian national standardization organization. honey bee propolis-specifications (No. 19136). Iran 1393. p. 21 [in Persian].
17. Mokhtarian M, Shojaee A. Optimization of the clarification process of celery juice by response surface methodology (RSM) and investigation of the quality properties of produced product. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology 2018; 13(3): 47-58 [in Persian].
18. Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of nigella sativa essential oil. Journal of Phytotheraphy Research 2000; 14: 323-28.
19. Uribe E, Marín D, Vega-Gálvez A, Quispe-Fuentes I, Rodríguez A. Assessment of vacuum-dried peppermint (*Menthapiperita* L.) as a source of natural antioxidants. Journal of Food Chemistry 2015; 190(1): 559-565.
20. Singh S, Lee M, Gaikwad KK, Lee YS. Antibacterial and amine scavenging properties of silver-silica composite for post-harvest storage of fresh fish. Journal of Food and Bioproducts Processing 2018; 107: 61-69.
21. Fernandes RPP, Trindade MA, Tonin FG, Pugine SMP, Lima CG, Lorenzo JM, de Melo MP. Evaluation of oxidative stability of lamb burger with Origanum vulgare extract. Journal of Food Chemistry 2017; 233: 101-109.
22. Comi G, Tirloni E, Andyanto D, Manzano M, Iacumin L. Use of bio-protective cultures to improve the shelf-life and the sensorial characteristics of commercial hamburgers. LWT-Food Science and Technology 2015; 62: 1198-1202.
23. Akcan T, Estévez M, Serdaroğlu M. Antioxidant protection of cooked meatballs during frozen storage by whey protein edible films with phytochemicals from Laurus nobilis L. and Salvia officinalis. LWT-Food Science and Technology 2017; 77: 323-331.
24. Ali HA, Mansour EH, E-lBedawey AEA, Osheba A. Evaluation of tilapia fish burgers as affected by different replacement levels of mashed pumpkin or mashed potato. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences (2017); Inpress.
25. Tarladgis BG, Watts BM, Younathan MT, Dugan L. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. Journal of the American Oil Chemist's Society 1960; 37: 44-48.
26. INSO. Iranian national standardization organization. Animal feeding stuffs-determination of total volatile nitrogen content-test method (No. 9626). Iran 1386. p. 15 [in Persian].
27. Mokhtarian M, Tavakolipour H, Kalbasi Ashtari A. Effects of solar drying along with air recycling system on physicochemical and sensory properties of dehydrated pistachio nuts. Journal of LWT-Food Science and Technology 2017; 75: 202-209.
28. Mokhtarian M. Design and conestruction of a solar dryer equieped with duble-pass collector to herbal plant drying and investigation of its quality properties in plant model (mint). Research Project, Medical Science universtity of Baghiyatallah 1395.
29. Wozniak M, Mrówczynska L, Waskiewicz A, Rogozinski T, Ratajczak I. The role of seasonalityon the chemical composition, antioxidant activity and cytotoxicity of Polish propolis in human erythrocytes. Revista Brasileira de Farmacognosia 2019; 29(3): 301-308.
30. Seibert JB, Bautista-Silva JP, Amparo TR, Petit A, Pervier P, Almeida JCDS, Azevedo MC, Silveira BM, BrandãoGC, Souza GHBD, Teixeira LFDM, Santos ODHD. Development of propolis nanoemulsion with antioxidant and antimicrobial activity for use as a potential natural preservative. Food Chemistry 2019; 287: 61-67.
31. Sherif MS, Rehab TA, Hamdia ZA, Torchilin VP. Cytotoxicity of propolis nanopreparations in cancer cell monolayers: Multimode of action including apoptosis and nitric oxide production. Genreal Physiology and Biophysics 2018; 37: 101-110.
32. Jansen-Alves C, Maia DSV, Krumreich FD, Crizel-Cardoso MM, Fioravante JB, Silva WPD, Borges CD, Zambiazi RC. Propolis microparticles produced with pea protein: Characterization and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities. Food Hydrocolloids 2018; 87: 703-711.
33. Angiolillo L, Del Nobile MA, Conte A. The extraction of bioactive compounds from food residues using microwaves. Current Opinion in Food Science 2015; 5: 93-98.
34. Andrade JKS, Denadai M, Oliveira CSD, Nunes ML, Narain N. Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. Food Research International 2017; 101: 129-138.
35. Hu M, Jacobsen C. Oxidative stability and shelf life of foods containing oils and fats. AOCS Press, 2016; pp 561.
36. Shavisi N, Khanjari A, Basti A, Misaghi A, Shahbazi Y. Effect of PLA films containing propolis ethanolic extract, cellulose nanoparticle and Ziziphora clinopodioides essential oil on chemical, microbial and sensory properties of minced beef. Meat Science 2017; doi:10.1016/j.meatsci.2016.10.015.

37. Ozogul Y, Uçar Y. The Effects of natural extracts on the quality changes of frozen chub mackerel (*Scomberjaponicus*) burgers. Food Bioprocess and Technology 2013; 6: 1550-1560.

38. El-Lahamy AA, Khalil KI, El-Sherif SA, Mahmud AA. Changes in quality attributes of sand smelt (*Atherinahepsetus*) fish burger and finger during frozen storage. Fisheries Research 2018;2(2): 6-11.

39. Jooyandeh H, Yademellat M. Antioxidant and antimicrobial effects of pomegranate peel extract on beef burger during chilled storage. Journal of Food Research 2017; 28(1): 135-144 [In Persian].

40. Jafarpour SA, Shokri M. Biochemical, textural properties and sensory evaluation of incorporated red meat and common crap surimi burger during frozen storage at -18^{o}C. Journal of Food Research 2016; 27(1): 37-58 [In Persian].

41. Georgantelis D, Blekas G, Katikou P, Ambrosiadis I, Fletouris DJ. Effect of rosemary extract, chitosan and a-tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. Meat Science 2007; 75: 256-264.

Extending Oxidative Stability of Fish Burgers Using Propolis Ethanolic Extract during Storage

Shabani M[1], Mokhtarian M[2], Kazempoor R[3]*

1- Department of Food Science and Technology, Roudehen Branch, Islamic Azad University, Roudehen, Iran

2-Corresponding author: Department of Food Science and Technology, Roudehen Branch, Islamic Azad University, Roudehen, Iran. Email:mokhtarian.mo@riau.ac.ir

3- Department of Biology, Roudehen Branch, Islamic Azad University, Roudehen, Iran

Received 24 Jul, 2020 **Accepted 1 Nov, 2020**

Background and Objectives: Processed ready-to-eat seafood is one of the most important sources of animal proteins for humans, which synthetic preservatives are used to extend their shelf-life. In the current study, possibleuse of a natural preservative compound (propolis ethanolic extract) was investigated.

Materials & Methods: After formulating and preparing fish burgers, various freeze-dried propolis powder concentrations (0, 0.1, 0.2 and 0.4 g/100 g) were added to the grounded fish fillets. Prepared samples were packed in polyethylene bags and stored at -18^{o}C ±1. Then, relevant qualitative factors of the samples were assessed at various time intervals (0, 30, 60 and 90 days).

Results: Replacement of propolis powder (0.4 g/100 g) was able to decrease peroxide and TBA values to nearly 31.77 and 22.71% during 90 days of storage. The highest amount of total volatile nitrogen index(corresponding to the lowest pH) was related to the control sample (on the 90th day of storage). Also, the result show that, there was no statistically significant difference ($p>0.01$) between the samples in terms of color changes.

Conclusion: Based on the results of sensory evaluation and quality assessment, using 0.2–0.4 (g/100 g) of propolis powder can be recommended for the industrial production of fish burgers.

Keywords: Propolis bio-active compounds, Fish burger, Quality properties, Shelf-life, Sensory evaluation