

## بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زرشک سیاه بر میزان اکسیداسیون چربی سوسیس نگهداری شده در یخچال

البرز خالقی<sup>۱</sup>، کرامت الله رضایی<sup>۲</sup>، محمدرضا کسایی<sup>۳</sup>، کیانوش خسروی دارانی<sup>۴</sup>، مریم سلیمانی<sup>۵</sup>

- ۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، مازندران
- ۲- استاد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
- ۳- استادیار گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، مازندران
- ۴- نویسنده مسئول: دانشیار گروه تحقیقات صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. پست الکترونیکی: kiankh@yahoo.com
- ۵- کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

### چکیده

**سابقه و هدف:** امروزه با توجه به خطرات موجود در استفاده از نگهدارنده‌های مصنوعی از جمله در محصولات گوشتی، کاربرد نگهدارنده‌های طبیعی افزایش یافته است. زرشک سیاه با دارا بودن میزان بالای مواد آنتی‌اکسیدانی مانند آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها، می‌تواند به عنوان نگهدارنده طبیعی در محصولات گوشتی فرآوری شده مورد استفاده قرار گیرد.

**مواد و روش‌ها:** در تحقیق پیش رو تأثیر عصاره زرشک سیاه (۳۰، ۶۰، ۹۰ mg/kg) به همراه نیتريت سدیم (۳۰، ۶۰، ۹۰ mg/kg) بر میزان اکسیداسیون چربی (TBARS)، تغییرات رنگ و آنالیز حسی سوسیس برای ۳۰ روز نگهداری در ۴ °C مورد بررسی قرار گرفت. **یافته‌ها:** نتایج نشان داد که عصاره‌ی زرشک قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتری از BHT دارد. کمترین میزان عدد تیوباربیوتیک اسید در نمونه‌ی حاوی ۹۰ mg/kg عصاره به همراه ۳۰ mg/kg نیتريت مشاهده شد. در تمامی روزهای نگهداری به لحاظ ظاهری نمونه‌های حاوی عصاره زرشک به صورت معنی داری تیره‌تر از نمونه‌ی کنترل (۱۲۰ mg/kg) است. نتایج به دست آمده از ارزیابی طعم برای نمونه‌ی حاوی ۳۰ mg/kg نیتريت بهتر از نمونه‌ی کنترل بود.

**نتیجه‌گیری:** میزان پایین نیتريت در کنار بالاترین میزان عصاره زرشک سیاه مورد استفاده در این تحقیق توانسته است کمترین میزان اکسیداسیون چربی را ثبت نماید که نشان دهنده‌ی توانایی عصاره زرشک در به تعویق انداختن اکسیداسیون چربی در سوسیس است. هم‌چنین جایگزینی نیتريت با عصاره‌ی زرشک سیاه، تأثیر منفی بر روی خصوصیات رنگی و حسی نگذاشته است.

**واژگان کلیدی:** سوسیس، عصاره زرشک سیاه، اکسیداسیون چربی، تغییرات رنگ، ارزیابی حسی

### مقدمه

در چربی و اسید چرب غیر اشباع می‌باشد (۱). در گوشت‌های فرآوری شده از جمله سوسیس به صورت گسترده از سدیم و یا پتاسیم نیتريت به عنوان نگهدارنده استفاده می‌شود که موجب جلوگیری از رشد و تولید نوروتوکسین توسط کلستریدیوم بوتولونیوم، جلوگیری از گسترش و تولید میکروارگانیسم‌های عامل فساد و به تعویق انداختن گسترش فساد اکسیداتیو می‌شود و هم‌چنین بر روی طعم و رنگ محصول به وسیله‌ی واکنش با میوگلوبین شده و رنگ قرمز گوشت را تثبیت می‌کند (۲). با همه این

محصولات گوشتی فرآوری شده امروزه سهم بزرگی از سبد غذایی خانواده را به خود اختصاص داده است. یکی از این محصولات گوشتی، سوسیس است که به دلیل قیمت پایین‌تر و طعم مطلوب‌تر آن نسبت به گوشت ساده و هم‌چنین آماده سازی آسان و سریع آن، موجب شده است که این محصول به صورت گسترده مورد استفاده قرار گیرد. یکی از عواملی که موجب تولید طعم نامطلوب و کاهش کیفیت محصولات گوشتی می‌شود، اکسیداسیون چربی است. این اکسیداسیون ناشی از تخریب ویتامین‌های محلول

که میزان نیتريت را در محصول را کاسته و آن را با عصاره زرشک سیاه جایگزین نماید.

### مواد و روش‌ها

**تهیه گیاه و استخراج عصاره:** میوه زرشک سیاه از ارتفاعات چالوس جمع‌آوری شد و در دمای اتاق، به مدت دو هفته خشک شد. نمونه‌های خشک شده در بسته‌های چند لایه برای جلوگیری از نفوذ رطوبت بسته بندی شده و تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. برای استخراج نمونه‌ها، ابتدا همه‌ی آن‌ها به وسیله‌ی آسیاب برقی خرد شده و سپس توسط الک شماره ۲۰، الک شد. در مرحله بعد بر روی پودر به دست آمده مقدار کافی از اتر دو پترول ۶۰-۴۰ اضافه شد، به صورتی تمامی سطح پودر را بپوشاند. نمونه‌ها به مدت ۱۲ ساعت در بالن بسته شده بر روی همزن قرار داده شد. بعد از این مدت محلول از پودر گیاه جدا شده و در زیر هود خشک شد. سپس پودر به نسبت ۱: ۱۰ با اتانول مخلوط شد. به مدت ۲۴ ساعت بر روی همزن برقی در دمای اتاق و در شرایط تاریکی قرار داده شد و سپس عصاره‌ی حاصله به وسیله‌ی کاغذ واتمن ۱ صاف شد. عصاره‌ی صاف شده در دستگاه تبخیر کننده‌ی چرخان تحت خلا در دمای ۴۰ درجه سلسیوس خشک شد و حلال آن جدا شد (۱۱).

**تولید سوسیس:** یازده نمونه سوسیس با میزان هایی که در جدول ۱ آمده است، تولید شد. فرمولاسیون شامل ۶۰٪ گوشت (سر و گردن گوساله) و سایر مواد تشکیل دهنده شامل ۱۸/۵۱٪ آب و یخ، ۱۴٪ روغن سویا، ۱/۵٪ نمک، ۲/۸٪ نشاسته، ۱/۸٪ ایزوله سویا، ۰/۴٪ فسفات سدیم، ۰/۰۵٪ آسکوربیک اسید و ۰/۹٪ ادویه، می‌باشد. تمامی مواد با یکدیگر در کاتر (سیدلمن آلن (Seydelmann, Aalen) - آلمان) مخلوط شده و خمیر حاصله در بچ‌های جداگانه در کاتر به همراه نیتريت و عصاره و نیمی از آب و یخ باقی مانده مخلوط شد. تمامی بچ‌ها در بسته‌های پلی آمید به صورت جداگانه بسته بندی شده و به مدت ۱ ساعت در ۷۵ درجه سلسیوس پخته شد. سپس محصول تحت دوش آب سرد خنک شده و به سردخانه با حرارت ۴ درجه سلسیوس انتقال داده شده و به مدت ۳۰ روز نگهداری شد. تمامی نمونه‌ها در کارخانه‌ی فرآورده‌های گوشتی سولیکو (تهران، ایران) تهیه شد.

وجود، مصرف زیاد نیتريت برای سلامت انسان از طریق اثرات حساسیتی، گشادی رگ و تولید مت میوگلوبین در بافت، مضر می‌باشد. علاوه بر آن می‌توان گفت که نیتروس اسید ممکن است با آمین‌های نوع دوم و آمینو اسید هایی که به طور طبیعی در مواد غذایی گوشتی وجود دارد وارد اکنش شده و ترکیبات N- نیترووزو به خصوص نیتروزامین‌ها را به وجود آورد. این ترکیبات بسیار فعال و سمی بوده و دارای اثرات سرطان زایی و عصبی می‌باشند (۳، ۴). بر اساس استاندارد ملی ایران حد مجاز برای مصرف سدیم و یا پتاسیم نیتريت میزان ۱۲۰ mg/kg در محصول نهایی می‌باشد.

با توجه به خطرات بالقوه موجود در به کارگیری نگهدارنده‌های سنتزی از جمله نیتريت و علاقه‌ی مصرف کننده‌ها به استفاده از محصولات سالم و طبیعی، موجب حرکت علم و صنعت غذا به سوی استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در محصولات غذایی شده است. استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی برای افزایش زمان نگهداری محصولات گوشتی نوید بخش تکنولوژی جدیدی است که در آن می‌توان از گیاهان به صورت عصاره، پودر و اسانس به دلیل خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آنها، استفاده نمود. از نگهدارنده‌های طبیعی که پیش از این در محصولات گوشتی مورد استفاده قرار گرفته‌اند می‌توان به عصاره مرکبات، چای سبز، دانه‌ی انگور، رزماری و پونه کوهی اشاره کرد (۵-۸).

زرشک سیاه با نام علمی *Berberis crataegina*، متعلق به خانواده‌ی بریداسه و در محدوده‌ی اروپا و آسیا به صورت وحشی رشد می‌نماید. این گیاه به خوبی در ایران و ترکیه شناخته می‌شود (۹). میوه زرشک خوراکی بوده و سرشار از ویتامین C و حاوی مقدار زیادی آنتوسیانین، فلاونوئید بوده و هم‌چنین دارای مقادیر اندکی آلکالوئید می‌باشد (۱۰). عصاره‌ی میوه زرشک سیاه دارای خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشد (۱۱، ۱۲). آنتوسیانین‌ها و سایر ترکیبات فنولیک دارای توانایی خارج نمودن رادیکال‌های آزاد هستند (۱۳).

این تحقیق سعی بر این دارد که اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره زرشک سیاه (۳۰ mg/kg، ۶۰ و ۹۰) به همراه نیتريت سدیم (۳۰ mg/kg، ۶۰ و ۹۰) را بر میزان اکسیداسیون چربی، تغییرات رنگ و آنالیز حسی سوسیس پخته شده و نگهداری شده در دمای ۴ °C برای ۳۰ روز مورد بررسی قرار داده و با توجه به اطلاعات به دست آمده، سعی بر آن است

**جدول ۱.** میزان نیتريت و عصاره در نمونه‌های مورد استفاده در این تحقیق

نمونه	نیتريت سدیم mg/kg	عصاره زرشک سیاه mg/kg
شاهد	-	-
کنترل	۱۲۰	-
S1	۳۰	۳۰
S2	۳۰	۶۰
S3	۳۰	۹۰
S4	۶۰	۳۰
S5	۶۰	۶۰
S6	۶۰	۹۰
S7	۹۰	۳۰
S8	۹۰	۶۰
S9	۹۰	۹۰

زردی ( $b^*$ ) نمایش داده می‌شود. میزان تغییرات کلی رنگ ( $\Delta E$ ) بر اساس فرمول زیر محاسبه شد.

$$\Delta E_{(2-30)} = [(L_{30} - L_2)^2 + (a_{30} - a_2)^2 + (b_{30} - b_2)^2]^{0.5}$$

**ارزیابی حسی:** برای آنالیز حسی بعد از آزمایشات میکروبی و شیمیایی، بهترین نمونه‌ها انتخاب شده و از نظر طعم، بو، رنگ و پذیرش کلی، مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمونه‌ها در سرخ کن سرخ شده و در دمای اتاق خنک شد. نمونه‌های سرخ شده به قطعات با ضخامت ۴ cm برش داده شد و در ظروف یکبار مصرف قرار داده شد. آنالیز حسی توسط روش هدونیک ۹ نقطه‌ای (۹= بسیار مناسب، ۸= تا حدود زیادی مناسب، ۷= مناسب، ۶= نسبتاً مناسب، ۵= نه مناسب و نه نامناسب، ۴= نسبتاً نامناسب، ۳= نامناسب، ۲= تا حدود زیادی نامناسب، ۱= بسیار نامناسب) توسط ۱۵ ارزیاب آموزش دیده و همگی عضو دانشکده صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی ساری، انجام گرفت.

**تجزیه و تحلیل آماری:** تمامی آزمایشات در ۳ تکرار در قالب طرح فاکتوریل با دو متغیر در ۳ سطح و فاکتور زمان در ۵ سطح در طرح پایه کاملاً تصادفی انجام شده و به صورت میانگین به همراه انحراف معیار نمایش داده می‌شود. داده‌ها توسط نرم افزار SPSS 18 مورد بررسی قرار گرفته و معنی دار بودن نمونه‌ها ارزیابی می‌شود. در صورت معنی دار بودن اثر فاکتورها ( $p < 0.05$ )، بررسی چگونگی تغییر میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن<sup>۱</sup> انجام شد.

#### یافته‌ها

در این مطالعه امکان جایگزینی بخشی از نیتريت سدیم در سوسیس با عصاره زرشک سیاه نگهداری شده در شرایط یخچال مورد بررسی قرار گرفت. پروفایل فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) برای عصاره زرشک سیاه و معمولی و BHT در شکل ۱ آمده است. تغییرات TBARS برای نمونه‌های سوسیس پخته، نگهداری شده در ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ روز در شکل ۲ آمده است. شکل‌های ۳ و ۴ به ترتیب تأثیر عصاره زرشک و نیتريت سدیم بر دو شاخصه قرمزی ( $a^*$ ) و روشنایی ( $L^*$ ) و تغییرات کلی رنگ ( $\Delta E$ ) در نمونه‌های سوسیس بین روزهای ۲ و ۳۰ نگهداری، در سوسیس پخته، نگهداری شده در ۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ روز را نشان می‌دهد.

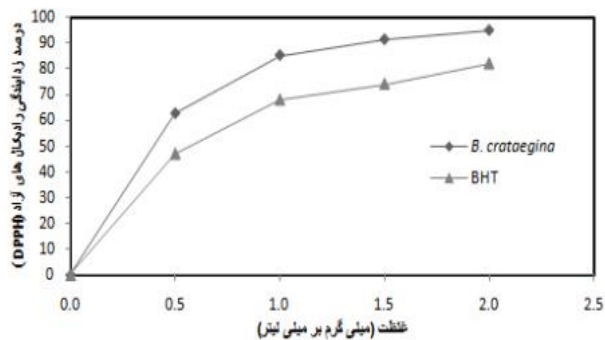
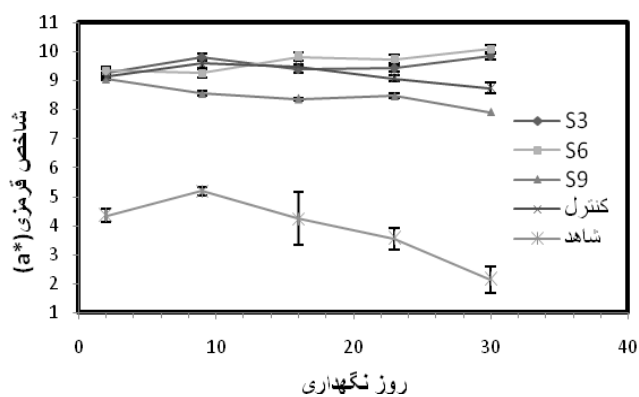
**اندازه گیری فعالیت بازدارندگی عصاره توسط DPPH:** فعالیت آنتی‌اکسیدانی توسط DPPH بر اساس روش ین و همکاران (۱۹۹۵) اندازه‌گیری شد. بنیان آزاد DPPH رنگ بنفش و جذب قوی در ۵۱۷ نانومتر دارد و می‌تواند با ترکیبات ضد اکسیدکننده بدون اکسیژن واکنش کرده با جذب یک اتم هیدروژن مولکول DPPH-H زرد پایدار تولید کند که به سادگی با اسپکتروفوتومتر UV قابل بررسی است. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس درصد زداینده توسط فرمول زیر محاسبه می‌شود که در آن  $A_0$  جذب شاهد و  $A_1$  جذب نمونه و BHT ترکیب مرجع است (۱۴).

$$\text{درصد اثر زداینده} = \left[ \frac{A_0 - A_1}{A_0} \right] \times 100$$

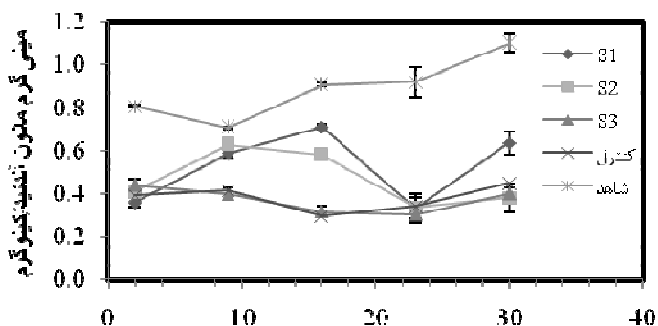
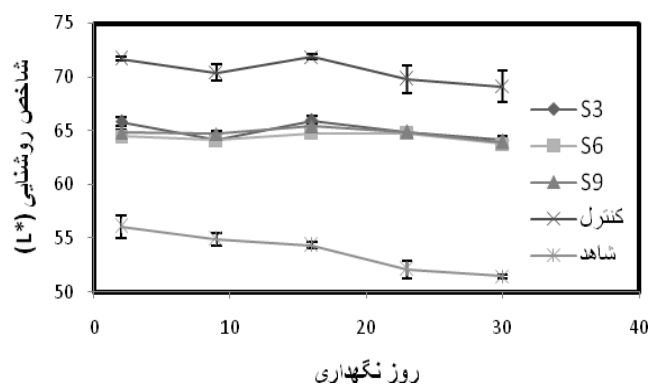
**اندازه گیری اکسیداسیون چربی توسط روش TBARS:** در این مورد میزان TBARS بر اساس روشی که توسط Pfallzgraf و همکاران شرح داده شده است، اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد بر اساس تترا متوکسی پروپان (TMP) (1,1,3,3-Tetramethoxypropane) رسم شده و میزان TBARS بر اساس میلی گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم نمونه گزارش شد (۱۵).

**اندازه گیری تغییرات رنگ:** بهترین نمونه‌ها بعد از آزمایشات شیمیایی و میکروبی انتخاب شده و از لحاظ رنگ توسط دستگاه هانتربل کالر فلکس کالریمتر (Lab Colourflex Colorimeter) مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. شاهد در این آزمایش رنگ سفید استاندارد می‌باشد و مختصات CIE Lab به صورت روشنایی ( $L^*$ )، قرمزی ( $a^*$ ) و

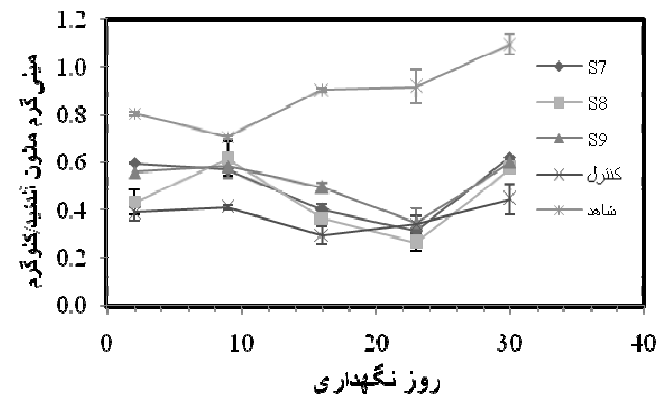
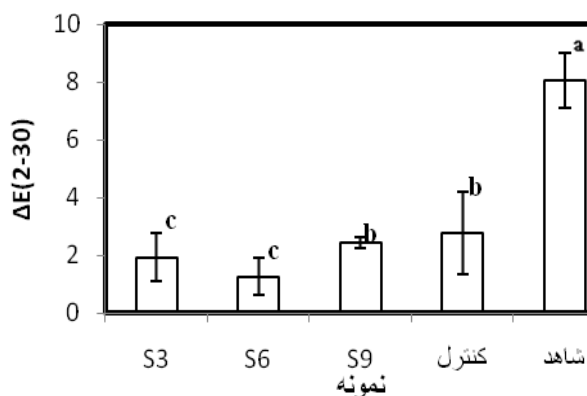
<sup>1</sup> Duncan's multiple range test



شکل ۱. پروفایل فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) برای عصاره زرشک سیاه و معمولی و BHT



شکل ۳. تاثیر عصاره زرشک و نیتريت سدیم بر دو شاخصه قرمزی (a\*) و روشنایی (L\*) در سوسیس پخته، نگهداری شده در ۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ روز \* مشخصات نمونه ها، شاهد و کنترل در جدول ۱ آمده است.



شکل ۴. تغییرات کلی رنگ (ΔE) در نمونه‌های سوسیس بین روزهای ۲ و ۳۰ نگهداری \* مشخصات نمونه ها، شاهد و کنترل در جدول ۱ آمده است.

شکل ۲. تغییرات TBARS برای نمونه های سوسیس پخته، نگهداری شده در ۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ روز (روزهای ۲، ۹، ۱۶، ۲۳ و ۳۰ نگهداری). \* مشخصات نمونه ها، شاهد و کنترل در جدول ۱ آمده است.

تمامی روزهای نگهداری باقی مانده است (شکل ۲). در طول مدت نگهداری تفاوتی در میزان  $L^*$  برای تمامی نمونه‌ها به غیر از نمونه شاهد دیده نمی‌شود و روندی ثابت را طی می‌کنند. میزان  $L^*$  برای نمونه‌ی شاهد در طی نگهداری کاهش پیدا می‌کند.

بین تمامی نمونه‌ها به غیر از نمونه‌ی شاهد، تفاوت معنی داری ( $p < 0.05$ ) از نظر میزان  $a^*$  (شاخص قرمزی) در روز دوم نگهداری وجود ندارند. اما این روند در طی روزهای نگهداری ادامه پیدا نمی‌کند به صورتی که میزان  $a^*$  به صورت معنی‌داری برای نمونه‌ی S9 و کنترل کاهش پیدا می‌کند. میزان  $a^*$  برای نمونه‌ی شاهد نیز تغییر کرده و روند کاهشی را طی می‌کند. با توجه به شکل ۲ می‌توان دید که میزان  $a^*$  در نمونه‌ی S6 طی نگهداری به آرامی افزایش یافته است. میزان رنگ قرمز برای نمونه S1 در طی نگهداری ثابت مانده است.

نتایج حاصل از تغییرات کلی رنگ ( $\Delta E$ ) نشان می‌دهد (شکل ۳) که اختلاف معنی داری بین نمونه‌های S1 و S2 و نمونه‌ی کنترل وجود دارد و عصاره در کنار مقادیر کم نیتريت توانسته است نتیجه‌ای بهتر از نمونه‌ی کنترل کسب کند.

**نتایج حاصل از ارزیابی حسی:** نتایج حاصل از ارزیابی رنگ نشان می‌دهد که هیچ اختلاف معنی داری بین نمونه‌های S3، S6 و کنترل وجود ندارد (جدول ۲). با وجود آن که نتایج حاصل از روشنایی ( $L^*$  values) نشان داد که دو نمونه‌ی S3 و S6 تیره‌تر از نمونه‌ی کنترل است اما از نظر ارزیابان هیچ گونه تفاوتی بین آن‌ها دیده نمی‌شود. نمونه‌ی S9 امتیاز کمتری را نسبت به نمونه‌ی کنترل از لحاظ رنگ کسب نموده است اما تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های حاوی عصاره و درصد‌های مختلف نیتريت از این حیث وجود ندارد. از لحاظ پذیرش کلی بین نمونه‌های S3 و S6 و نمونه‌های کنترل و S9 تفاوت معنی دار وجود دارد.

نمونه‌ی S3 به صورت کاملاً معنی داری طعم بهتری نسبت به نمونه‌ی کنترل دارد ( $p < 0.05$ )، اما تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های S6، S9 و کنترل وجود ندارد. بین نمونه‌های حاوی عصاره + نیتريت و کنترل هیچ گونه تفاوت معنی‌داری به لحاظ بو وجود ندارد. نمونه‌ی S3 و S6 به صورت کاملاً معنی‌داری از لحاظ پذیرش کلی با نمونه‌ی S9 تفاوت دارد.

تأثیر عصاره زرشک و نیتريت سدیم بر آنالیز حسی سوسیس پخته شده نگهداری شده در ۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ روز در جدول ۲ نمایش داده شده است.

**جدول ۲.** تأثیر عصاره زرشک و نیتريت سدیم بر آنالیز حسی سوسیس پخته شده نگهداری شده در ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ روز

نمونه*	رنگ	بو	طعم	پذیرش کلی
S3	۶/۵±۰/۷ <sup>ab</sup>	۸/۲±۰/۷ <sup>a</sup>	۶/۴±۰/۷ <sup>a</sup>	۷/۳±۱/۰ <sup>a</sup>
S6	۶/۶±۰/۶ <sup>ab</sup>	۸/۲±۰/۶ <sup>a</sup>	۶/۳±۰/۸ <sup>ab</sup>	۷/۲±۰/۷ <sup>a</sup>
S9	۶/۲±۰/۸ <sup>b</sup>	۸/۳±۰/۷ <sup>a</sup>	۵/۹±۰/۸ <sup>b</sup>	۶/۵±۱/۱ <sup>b</sup>
کنترل	۶/۶±۰/۷ <sup>a</sup>	۸/۱±۰/۹ <sup>a</sup>	۵/۸±۰/۸ <sup>b</sup>	۷/۱±۱/۳ <sup>b</sup>
شاهد	۳/۸±۰/۷ <sup>c</sup>	۷/۵±۰/۳ <sup>b</sup>	±۰/۹ ۴/۳ <sup>c</sup>	۵/۳±۰/۹ <sup>c</sup>

در هر ستون حروف متفاوت نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) است.

\* مشخصات نمونه‌ها، شاهد و کنترل در جدول ۱ آمده است.

#### اندازه گیری فعالیت بازدارندگی عصاره توسط DPPH:

نتایج نشان دهنده‌ی آن است که، خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها وابسته به غلظت آن می‌باشد و این وابستگی در غلظت‌های خاصی مشاهده می‌شود به طوری که بیشترین میزان افزایش در غلظت ۱ mg/ml دیده می‌شود، اما در غلظت‌های بعدی این روند کاهش یافته به صورتی که در غلظت ۲ mg/ml افزایشی دیده نمی‌شود و نمودار مسطح می‌شود (شکل ۱). عصاره زرشک سیاه نسبت به BHT خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نشان می‌دهد.

**اکسیداسیون چربی:** نمونه‌های مورد آزمایش به صورت معنی داری عدد TBARS کمتری نسبت به نمونه‌ی شاهد دارند. در نگاه کلی می‌توان تشخیص داد که نمونه‌های S3 و S6 به صورت معنی داری عدد TBARS کمتری نسبت به سایر نمونه‌ها دارد. با افزایش میزان عصاره، میزان اکسیداسیون چربی‌ها کاهش می‌یابد. اما یک استثنا در نمونه‌ی S9 دیده می‌شود. با این که میزان عصاره و نیتريت همان ۹۰ mg/kg است، میزان اکسیداسیون چربی بالاست. همان طور که دیده می‌شود در تمامی نمونه‌ها به غیر از نمونه‌ی ۱) شاهد، کاهشی تدریجی بین روزهای ۹ تا ۲۳ مشاهده شد.

**تغییرات رنگ:** در روز دوم نگهداری میزان  $L^*$  (روشنایی) نمونه‌های حاوی عصاره به صورت کاملاً معنی داری ( $p < 0.05$ ) پایین‌تر از نمونه‌ی کنترل می‌باشد و این روند در

## بحث

ترکیب بالاترین سطوح عصاره و نیتريت منجر به افزایش اکسیداسیون چربی شده است، این اثر احتمالاً به دلیل واکنش بین نیتريت و ترکیبات شیمیایی عصاره‌ی زرشک می‌باشد. کونتینودالیوریا و همکاران نشان دادند که اسانس ساچورجا مونتانا<sup>۱</sup> در غلظت بالا در کنار غلظت بالای نیتريت سدیم منجر به افزایش اکسیداسیون چربی شده است (۱۹).

کاهش تدریجی TBARS بین روزهای ۹ تا ۲۳ می‌تواند به دلیل تخریب MDA (که توسط برخی از میکروارگانیسیم‌ها انجام می‌گیرد (۲۰)) و هم‌چنین اکسیداسیون MDA به سایر محصولات نظیر الکل و اسید یوده که در نتیجه آن MDA لازم برای واکنش با تیوباریوتریک اسید را کاهش می‌دهد (۵). در ادامه باید افزود که مقداری از MDA با قند و پروتئین موجود در سوسیس واکنش می‌دهد. جنورگانتلیس و همکاران (۲۱) مشخص نمودند که در ۱۵ روز اول نگهداری در ۴ درجه سلسیوس، TBARS کاهش یافته است. نتیجه‌ای مشابه توسط قیرتی و همکاران (۲۲) گزارش شده است. ملتون (۲۳) گزارش داده است، از آن‌جا که مالون آلدئید محصول دوم اکسیداسیون بوده و قابل تجزیه است، نمی‌تواند دلیل مناسب برای اتمام دوره نگهداری آن باشد. میزان مجاز عدد TBARS کمتر از ۱ mg MDA/kg برای محصولات گوشتی می‌باشد (۲۴).

استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی مدتی است مورد توجه قرار گرفته است و بعضی از محققین اثرات آنتی‌اکسیدانی برابر و یا بهتر ترکیبات طبیعی را نسبت به ترکیبات شیمیایی گزارش نموده‌اند. سبرانک و همکاران (۲۵) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری را با آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی BHA/BHT در سوسیس را توسط روش TBARS مقایسه کردند و گزارش نمودند که هر دو محصول طبیعی و مصنوعی، نتایج مشابهی را ثبت نمودند.

با توجه به شکل ۳ مشاهده می‌شود که نمونه‌های حاوی عصاره، تیره‌تر از نمونه‌ی کنترل می‌باشد. دلیل پایین بودن L\* در نمونه‌های حاوی عصاره را می‌توان به رنگ قرمز تیره عصاره زرشک نسبت داد. برانان و همکاران (۲۶) نیز در مطالعه‌ی خود بر روی اثر روغن هسته انگور در گوشت مرغ، کاهش شاخصه L\* مشاهده نمودند.

میزان a\* برای نمونه‌های S9، کنترل و شاهد در طی نگهداری کاهش یافته است. فرناندز گینز و همکاران (۲۷) و

مطالعات پیشین خاصیت آنتی‌اکسیدانی زرشک سیاه را به خوبی نشان می‌دهد (۱۶، ۱۲). سوری و همکاران خاصیت آنتی‌اکسیدانی ۶۰ گیاه بومی ایران را مورد بررسی قرار دادند، نتایج آن‌ها نشان داد که زرشک سیاه دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشد به صورتی که در ۰/۴ μg خاصیت آنتی‌اکسیدانی برابر با ۴۹/۹۵٪ را ثبت کرده است (۱۶). نتایج حاصل از مطالعه‌ی پیش رو نیز خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زرشک سیاه را نشان می‌دهد. دلیل عدم افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت‌های بالا را می‌توان به از بین رفتن میزان مشخص رادیکال‌های آزاد توسط میزان معینی عصاره دانست و پس از اتمام رادیکال‌های آزاد، افزایش میزان عصاره اثری بر روی درصد زداپندگی ندارد. پریچهر و همکاران در مطالعه خود روی عصاره‌ی زرشک قرمز نیز با این روند روبرو شدند (۱۰).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زرشک سیاه در مقایسه با BHT در غلظت‌های اولیه بیشتر می‌باشد که می‌تواند نشان دهنده‌ی وجود میزان بالای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از قبیل ترکیبات فنولی، اسیدهای آلی و آلکالوئیدها، در عصاره زرشک سیاه باشد (۱۲). قدرت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک به دلیل نقش مهم آن‌ها در جذب سطحی و خنثی نمودن رادیکال‌های آزاد و خارج کردن اکسیژن یگانه از واکنش می‌باشد (۱۵).

بالاترین میزان اکسیداسیون چربی در نمونه‌ی شاهد که هیچ نگهدارنده‌ای در آن به کار نرفته است، دیده می‌شود. ترکیب عصاره زرشک سیاه در کنار نیتريت سدیم توانسته است اکسیداسیون چربی را به تعویق اندازد. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی علاوه بر خارج نمودن رادیکال‌های آزاد، در واکنش‌های آنزیمی شرکت کرده و از این واکنش‌ها در مراحل اولیه جلوگیری می‌کنند. دواتکال و همکاران (۱۷) مشخص نمودند که رابطه معنی داری بین میزان ترکیبات فنولی و کاهش عدد TBARS وجود دارد. خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیتريت در گوشت‌های فرآوری شده وابسته به تشکیل ترکیبات پایدار با میوگلوبین می‌باشد که آهنی را که به عنوان کاتالیزور واکنش اکسیداسیونی است از دسترس خارج می‌کند (۳). لوک (۱۸) غلظت لازم برای خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیتريت را بین ۲۰ و ۵۰ mg/kg بیان کرده است و مقدار آن را وابسته به محصول گوشتی دانسته است.

<sup>1</sup> Satureja montana

نیتريت و جایگزینی آن با عصاره اثر نامطلوبی بر رنگ نگذاشته است.

نتایج حاصل از ارزیابی حسی به خوبی نشان می‌دهد ترکیب عصاره و نیتريت در میزان پایین نیتريت (۳۰ mg/kg) و (۶۰) تأثیر منفی بر فاکتورهای حسی نگذاشته است و حتی در مورد طعم توانسته است، نتیجه‌ی بهتری را کسب کند. ویدا-مارتوس و همکاران (۳۲) نشان دادند که افزودن پساب مرکبات، عصاره‌ی آویشن و پونه کوهی به همین صورت منجر به نتایج منفی در آنالیز حسی سوسیس پخته شده نداشته است. نمونه‌ی S9 از لحاظ پذیرش کلی امتیاز کمتری را کسب نموده است، که این نتیجه در آزمایشات پیشین نیز دیده شده است و نشان دهنده‌ی آن است که ترکیب میزان بالای عصاره و نیتريت اثر مناسبی بر کیفیت سوسیس نگذاشته است و منجر به کاهش پذیرش آن شده است.

نتایج به دست آمده امکان جایگزینی بخشی از نیتريت سدیم با عصاره زرشک سیاه را نشان می‌دهد. در انتها باید افزود که از لحاظ تغذیه‌ای افزودن مواد نگهدارنده‌ی طبیعی که حاوی موادی از قبیل آنتی‌اکسیدان‌های پلی فنولی هستند، می‌تواند خطر ابتلا به سرطان‌های روده‌ای را کاهش دهد.

ترنس و همکاران (۲۸) نیز کاهش میزان  $a^*$  را در طی نگهداری مشاهده نموده‌اند. کاهش میزان رنگ قرمز را در طی نگهداری می‌توان با توجه به وابستگی موجود بین اکسیداسیون چربی‌ها و اکسیداسیون رنگ در گوشت نسبت داد (۲۹). اکسیداسیون رنگدانه‌ها ممکن است توسط اکسیداسیون چربی‌ها سریع‌تر شود و رادیکال‌های آزاد تولید شده در طی اکسیداسیون ممکن است اتم‌های آهن را اکسیده کرده و یا منجر به دناتوره شدن مولکول میوگلوبین شوند که تمامی این‌ها می‌تواند نقش منفی در رنگ محصول داشته باشد. افزایش رنگ قرمز نیز می‌تواند نشان دهنده‌ی تغییر رنگ قرمز به قهوه‌ای به دلیل تغییر ساختار مت میوگلوبین باشد. در طی نگهداری و ثابت شدن شرایط، رنگ به قرمز تیره نیتريك اکسید میو گلوبین تبدیل می‌شود (۳۰).

میزان تغییرات کلی رنگ بالاتر از ۲ نشان دهنده‌ی تغییرات رنگ قابل مشاهده در حین اندازه‌گیری با دستگاه است (۳۱). همان‌طور که در شکل ۲ مشخص است نمونه‌ی S3 و S6 عددی کمتر از ۲ را نشان می‌دهد که نشان دهنده‌ی توانایی عصاره در جلوگیری از تغییرات رنگ در طی ۳۰ روز نگهداری است. همان‌طور که دیده می‌شود کاهش

## References

- Gray JI, Gomma EA, Buckley DL. Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Sci* 1996; 43: 111-23.
- Cammack R, Joannou CL, Cui, XY, Martinez CT, Maraj SRB, Martin NH, Review — nitrite and nitrosyl compounds in food preservation. *Biochimica et Biophysica Acta* 1999; 1411: 475–88.
- Karl-Otto H. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Sci* 2008; 78: 68–76.
- Rywotycki R. The effect of selected functional additives and heat treatment on nitrosamine content in pasteurized pork ham. *Meat Sci* 2002; 60: 335–39
- Fernández-López JA. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chem* 1997; 59: 345–353.
- Bozkurt, H. Utilization of natural antioxidants: Green tea extract and *Thymbra spicata* oil in Turkish dry-fermented sausage. *Meat Sci* 2006; 73: 2–450.
- Lau DW, King AJ. Pre-and post-mortem use of grape seed extract in dark poultry meat to inhibit development of thiobarbituric acid reactive substances. *J. Agri. Food Chem* 2003; 51(6): 1602–1607.
- Hernández-Hernández E, Ponce-Alquicira E, Jaramillo-Flores ME, Legarreta G. Antioxidant effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and color of model raw pork batters. *Meat Sci* 2009; 81: 410–417.
- Develi Isikh N, Yilmaz I. Some physical properties of sun-dried *Berberis* fruit (*Berberis crataegina*). *J. Food Sci. Tech* 2011; 10.1007/s13197-011-0469-y.
- Parichehr H, Golkho SH. Using HPLC to determination the composition and antioxidant activity of *Berberis vulgaris*. *Euro.J. Sci. Res.* 2009; 29: 47–54.
- Mollaei A, Rezaei K, Khodayian F, Razavi H. extraction and identification functional compound from barberry's fruit extracts. *Iranian national*

- functional food conference 2010; 3: 341-350 [in Persian]
12. Gulsoy S, Ozkan K. Mineral elements, phenolic and organic acids of leaves and fruits from *Berberis crataegina* DC. *Asia J. Chem* 2011; 23: 3071–3074.
  13. Konczak I, Zhang W. Anthocyanins-more than nature's colors. *J Biomed Biotechnol* 2004; 5: 239–240.
  14. Yen GC, Chen HY. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem* 1995; 43: 27–37.
  15. Pfalzgraf A, Frigg M, Stinhart H. a-tocopherol contents and lipid oxidation in pork muscle and adipose tissue during storage. *J. Agric. Food Chem* 1995; 43: 1339-1342.
  16. Souri E, Amin GH, Dehmobed-Sharifabadi A, Nazifi A, Farsam H. Antioxidant activity of sixty plants from Iran. *Iranian J Pharm Res* 2004; 3:55-59.
  17. Devatkal SK, Narsaiah K, Borah A. Antioxidant effect of extracts of kinnow rind, pomegranate rind and seed powders in cooked goat meat patties. *Meat Sci* 2010; 85:155–59.
  18. Lücke FK. Use of nitrite and nitrate in the manufacture of meat products. *Fleischwirtschaft Inter* 2000; 4 : 38-41 .
  19. Coutinho de Oliveira TL, de Carvalho SM, de Araújo Soares R, Andrade MA, das Graças Cardoso M, Ramos ME, et al. Antioxidant effects of Satureja montana essential oil on TBARS and color of mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. *LWT* 2012; 45: 204–212.
  20. Moerck KE, Ball HR. Lipid autoxidation in mechanically deboned chicken meat. *J. Food Sci* 1997; 39: 876–79.
  21. Georgantelis D, Ambrosiadis I, Katikou P, Blekas G, Georgakis SA. Effect of rosemary extract, chitosan and a-tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4°C. *Meat Sci* 2007; 76: 172-181.
  22. Ghiretti GP, Zanardi E, Novelli E, Campanini G, Dazzi G, Madarena G, et al. Comparative evaluation of some antioxidants in salame Milano and mortadella production. *Meat sci* 1997; 47: 167-176.
  23. Melton SL. Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. *Food Tech* 1983; 38: 105–111.
  24. Moarefian M, Barzegar M, Sattari M. Cinnamomum zeylanicum essential oil as a natural antioxidant and antibacterial in cooked sasusage. *J. Food Biochem* 2011; doi: 10.1111/j. 1745-4514.2011.00600.x
  25. Sebranek JG, Sewalt VJH, Robbins KL, Houser TA. Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Sci* 2005; 69: 289-96
  26. Brannan RG. Effect of grape seed extract on descriptive sensory analysis of ground chicken during refrigerated storage. *Meat Sci* 2009; 81(4): 589–95.
  27. Fernández-Gines JM, Fernández-López J, Sayas-Barbera E, Sendra E, Perez-Alvarez JA. Effect of storage conditions on quality characteristics of bologna sausages made with citrus fiber. *J. Food Sci* 2003; 68(2): 710–15.
  28. Terns MJ, Milkowski AL, Rankin SA, Sindelar JJ. Determining the impact of varying levels of cherry powder and starter culture on quality and sensory attributes of indirectly cured, emulsified cooked sausages. *Meat Sci* 2011; 88: 311–18.
  29. Lynch MP, Faustman C. Effect of aldehyde lipid oxidation products on myoglobin. *J. Agri. Food Chem* 2000; 48(3): 600–604.
  30. Deman, JM, Principles of Food Chemistry: Third edition. An Aspen publication, Gaithersburg, Maryland 1999.
  31. Francies FJ, CLydesdale FM. Food Colorimetry: Theory and Applications, the AVI Publishing Co., Westport, CT. 1975. p. 292–308.
  32. Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernández-López J, Pérez-Alvarez JA. Effect of adding citrus fibre washing water and rosemary essential oil on the quality characteristics of a bologna sausage. *LWT* 2010; 43: 958–63

## Evaluation of antioxidant properties of *Berberis crataegina* extract on fat oxidation of beef sausages during refrigerated storage

Khaleghi A<sup>1</sup>, Rezaei K<sup>2</sup>, Kasaei MR<sup>3</sup>, Khosravi-Darani K<sup>4\*</sup>, Soleymani M<sup>5</sup>

1- Graduated MS.C. Student, Food Science and Technology Dept., Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, I. R. Iran.

2- Prof, Dept. of Food Science Technology and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering, Tehran University, Karaj, Iran.

3- Assistant Prof. Dept. of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, Iran.

4- \*Corresponding author: Associate prof (in Research), Dept. of Food Technology Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: kiankh@yahoo.com

5- Students' Research Committee, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

### Abstract

**Background and Objective:** Milk and dairy products are generally recognized as healthful foodstuffs. Their negligible content of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) has prompted investigators to consider fortifying them with long chain PUFAs, but the main challenge is the high susceptibility of PUFAs to oxidation and rancidity. Therefore, in the present study the possibility of using long chain PUFAs to fortify Doogh (a traditional Iranian yoghurt-based beverage), as a functional dairy product, as well as the effect of different factors on the physical stability and peroxide value of the fortified Doogh during storage, were determined.

**Materials and Methods:**  $\omega$ -3-Fatty acid-fortified Doogh was prepared using yogurt, water, salt, the soluble phase of gum tragacanth, and crude rapeseed, soy bean, and fish oil. The fortified Dooghs (a mixture of oil and yoghurt or of Doogh and oil) were homogenised using ultrasound at different amplitudes and durations in order to find the optimum processing conditions (amplitudes and duration). Moreover, effects of several factors (heat treatment, storage temperature, intensity and duration of sonication, and oil content) on the physical stability and peroxide value of the fortified Dooghs during storage (35 days) at 2 temperatures (5 and 22°C) were determined.

**Results:** The findings showed that the preparation method of fortified Doogh had significant effects on its homogenization extent and physical stability. Furthermore, during storage the peroxide value of the samples increased, particularly at the higher temperatures, while they were quite stable physically.

**Conclusion:** It may be concluded that ultrasound treatment can homogenize and stabilize  $\omega$ -3-fatty acid-fortified Doogh, with no undesirable effect on peroxide value during storage at refrigeration temperatures.

**Keywords:** Fortification,  $\omega$ -3 fatty acids, Ultrasound, Doogh, Stability