

## تأثیر ضد اکسایشی و ضد میکروبی عصاره پوست انار بر بیف برگر طی دوره نگهداری یخچالی

حسین جوینده<sup>۱\*</sup> و مریم یدملت<sup>۲</sup>

تاریخ پذیرش: ۹۶/۵/۲۹

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۱۹

<sup>۱</sup> دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ملاثانی

<sup>۲</sup> کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ملاثانی

\*مسئول مکاتبه: Email: hosjooy@yahoo.com

### چکیده

تأثیر عصاره آبی پوست انار بر ویژگی‌های میکروبی و اکسایش چربی همبرگر طی ۶ روز نگهداری در دمای ۴°C بررسی شد. نمونه‌های همبرگر با ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی گرم پودر عصاره پوست انار بر کیلوگرم گوشت، تهیه شدند و نتایج با همبرگر بدون هیچ افزودنی (کنترل منفی) و همبرگر با ۲۰۰ میلی گرم BHT بر کیلوگرم مقایسه گردیدند. ویژگی‌های رنگ ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ )، شمارش کلی باکتری‌های هوازی و شاخص اسید تیوباربتوریک با فواصل ۳ روزه در طی ۶ روز نگهداری بررسی شد. نتایج نشان داد عصاره پوست انار به طور معنی‌داری مانع کاهش میزان قرمزی و افزایش روشنی طی دوره نگهداری گردید، درحالی‌که موجب افزایش زردی در مقایسه با نمونه کنترل منفی شد ( $P < 0/05$ ). همچنین شاخص اسید تیوباربتوریک و شمارش کلی باکتری‌های هوازی در نمونه‌های حاوی ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی گرم عصاره بر کیلوگرم گوشت، در مقایسه با کنترل منفی به صورت معنی‌داری کاهش یافت. نتایج ارزیابی حسی نیز نشان داد که عصاره پوست انار هیچ اثر معنی‌داری بر پذیرش کلی نمونه‌ها نداشت. نتایج حاضر نشان داد که می‌توان از عصاره پوست انار به عنوان ماده ضد اکسایش و ضد میکروب طبیعی در تولید همبرگر استفاده نمود.

واژگان کلیدی: عصاره پوست انار، همبرگر، ضد اکسایش، ضد میکروب

### مقدمه

(Ayyappan, ۲۰۱۵). این درحالیست که ایران با رتبه اول و بیش از یک میلیون تن در سال ۲۰۱۵، به‌تنهایی حدود یک‌سوم تولید جهانی را از آن خود کرده است (حسن-پور، ۱۳۹۵). بخش خوراکی میوه انار، تقریباً ۵۰ درصد وزن میوه را تشکیل می‌دهد که شامل ۷۶-۸۵ درصد آب میوه و ۱۵-۲۴ درصد دانه می‌باشد، در حالی که سهم بخش غیر خوراکی یا پوست انار، بسته به رقم، بین ۶۰-

انار با نام علمی *Punica granatum* میوه‌ای پرترفدار و بومی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری است که در کشورهای مختلف از جمله ایران، هند، ترکیه، آمریکا و چین کشت می‌شود. اگرچه در حال حاضر آمار دقیقی در مورد تولید جهانی انار ارائه نشده است، اما بر اساس گزارش مرکز تحقیقاتی کشاورزی هند، تولید سالیانه انار در دنیا در سال ۲۰۱۲ بیش از ۲/۵ میلیون تن می‌باشد

مورد بررسی و تایید قرار گرفته‌است (شاه و همکاران ۲۰۱۵). جورجانتلیس و همکاران (۲۰۰۷) اثر عصاره رزماری، کیتوزان و  $\alpha$ -توکوفرول (به ترتیب در غلظت‌های ۲۰۰ ppm، ۱۰۰ و ۶۰) به صورت تکی و ترکیب با هم، بر اکسایش چربی و پایداری رنگ در برگر گوشت گاو منجمد ( $18^{\circ}\text{C}$ ) طی ۱۸۰ روز بررسی کردند. نتایج نشان دادند که همه عصاره‌ها (تک و ترکیبی) به صورت معناداری عدد پراکسید، دی‌ان‌های مزدوج و TBARS را نسبت به نمونه کنترل (بدون ضد اکساینده) کاهش دادند. کیتوزان و ترکیب عصاره رزماری و کیتوزان بهترین نتایج را در نگهداری برگر داشتند. رودریگوئز-کارپنتا و همکاران (۲۰۱۰)، اثر عصاره پوست و دانه دو گونه آووکادو را بر نگهداری در محصولات گوشتی در طول ۱۵ روز نگهداری در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  بررسی کردند. این محققین چنین نتیجه گرفتند که عصاره گونه *Fuerte*، در کاهش بد رنگی، اثر بهتری نسبت به گونه *Hass* داشته، و هر دو در افزایش پایداری قرمزی و روشنی، تأثیر معنی‌دار نسبت به نمونه‌های کنترل داشته‌اند. هم‌چنین در نمونه‌های عصاره، مقادیر TBARS به صورت معنی‌داری در طول دوره نگهداری کاهش یافت. نتایج این تحقیق حاکی از پتانسیل بالای محصولات جانبی آووکادو به عنوان ترکیبات ضد اکسیدان در محصولات گوشتی بود.

همچنین پژوهش‌های فراوانی در ارتباط با خواص ضد اکسایشی عصاره پوست انار انجام شده است. یعثوبی و همکاران (۲۰۱۰) به بررسی استخراج عصاره پوست انار با حلال‌ها و روش‌های مختلف، ترکیبات فنلی و خواص ضد اکسایشی عصاره پوست انار در روغن سویا پرداختند و تأثیر ضد اکسایشی آن را مشخص نمودند. در پژوهش دیگر اثر ضد اکسایشی و ضد میکروبی آب انار و عصاره پوست انار بر نگهداری پاته مرغ پخته بررسی شد و نتایج نشان داد ترکیبات فنلی این عصاره‌ها موجب کاهش معنی‌دار شاخص TBAR نسبت به نمونه کنترل می‌شود (ناوینا و همکاران ۲۰۰۸).

۳۰ درصد متغیر بوده و بخش بزرگی از ضایعات کارخانه‌های فرآوری این میوه را تشکیل می‌دهد (وارسته و همکاران ۲۰۱۲ و زارع زاده مهریزی و همکاران ۲۰۱۵). از قرن‌ها پیش، پزشکان از این میوه، برای درمان بیماری‌های التهابی و اختلالات دستگاه گوارش استفاده می‌کرده‌اند. آب انار، منبع مهمی از آنتوسیانین‌ها محسوب می‌شود و نیز حاوی ۱ گرم بر لیتر اسید سیتریک، ۷ میلی‌گرم بر لیتر اسید آسکوربیک و سایر ویتامین‌هاست (گیل و همکاران ۲۰۰۰). پوست انار نیز حاوی منابع غنی ضد اکساینده‌های پلی‌فنلی می‌باشد. مهم‌ترین ترکیبات فنلی موجود در پوست انار شامل: اسید گالیک، اسید الاجیک، پونی کالین، پونی کالاجین، آنتوسیانیدین و فلاوانول می‌باشند (سنتینی و همکاران ۲۰۱۱). این ترکیبات فنلی می‌توانند اثرات مفیدی از طریق توانایی مهار رادیکال آزاد و ظرفیت ضد اکسایشی خود در شرایط درون‌تنی و برون‌تنی اعمال کنند. امروزه به علت شناسایی ضد اکساینده‌های سنتزی به عنوان عوامل سمی و سرطان‌زا، صنعت غذا در پی جایگزینی ضد اکساینده‌های طبیعی به جای ضد اکساینده‌های سنتزی می‌باشد (کومار و همکاران ۲۰۱۵). یکی از محصولات غذایی مهم، گوشت و فرآورده‌های آن است که به دو علت عمده فساد شیمیایی و رشد میکروبی، از چرخه مصرف خارج می‌گردد. رایج‌ترین شکل فساد شیمیایی، تند شدن اکسایشی چربی است (سبرانک و همکاران ۲۰۰۵). فساد میکروبی، عامل مهم دیگر در کاهش کیفیت گوشت بوده که به علت آلودگی لاشه سترون با منابع آلودگی در کشتارگاه، هوا، آب، تجهیزات مورد استفاده و کارگران اتفاق می‌افتد (هلزایفل ۱۹۹۸).

به منظور گسترش زمان نگهداری گوشت، تأثیر ضد اکسایشی و ضد میکروبی عصاره‌های حاصل از منابع گیاهی متعددی شامل میوه‌ها (انگور، خرما و مرکبات)، سبزیجات (بروکلی، سیب‌زمینی، کدو حلوايي، گزنه و ...)، علف‌ها و ادویه‌ها (چای، رزماری، دارچین و نعناع)

گردید. همچنین جهت انجام آزمون‌های شیمیایی در این تحقیق از مواد شیمیایی با درجه خلوص بالا (شرکت Merck، آلمان) و برای شمارش کلی باکتری‌های هوایی از محیط کشت Plate count Agar (شرکت Liofilchem، ایتالیا) استفاده گردید.

#### آماده سازی عصاره پوست انار

در ابتدا پوست خشک انار آسیاب گردید و سپس از الک با مش ۴۰ عبور داده شد. به منظور استخراج عصاره، پوست آسیاب شده به نسبت ۱:۱۰ با آب مقطر مخلوط شد و به مدت یک ساعت در دمای محیط بر روی همزن با استفاده از مگنت، هم زده شد. پس از آن از کاغذ واتمن شماره ۴۲ عبور داده شد و مجدداً باقی مانده به مدت ۱ ساعت با آب استخراج و صاف گردید. تمامی عصاره حاصل سانتریفیوژ در ۱۲۰۰۰ g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سوپرناتانت حاصل، با استفاده از آون تحت خلا به مدت ۸ ساعت تغلیظ شد و سپس به کمک خشک کن انجمادی، به پودر تبدیل گردید. پودر خشک حاصل تا زمان آزمون در فریزر  $18^{\circ}\text{C}$  - نگهداری گردید (کنات و همکاران ۲۰۱۰).

#### ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی عصاره پوست انار

اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلی کل عصاره، با روش فولین سیوکالته انجام شد (وسکو و همکران ۲۰۰۸). میزان ترکیبات فنلی بر اساس معادله حاصل از منحنی استاندارد اسید تانیک محاسبه گردید.

میزان مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره مطابق روش رجایی و همکاران ارزیابی شد. در نهایت  $EC_{50}$  عصاره، که برابر غلظتی از عصاره است که قادر به مهار ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد DPPH می‌باشد، گزارش گردید (رجایی و همکاران ۲۰۱۰).

#### تهیه همبرگر

به‌منظور تهیه همبرگر، قسمت قلوه‌گاه گوساله و چربی اضافی به صورت جداگانه چرخ شدند. چربی اضافی، آب و نمک به گوشت چرخ شده افزوده شد، به طوری که مخلوط نهایی حاوی ۸۴ درصد گوشت، ۵ درصد چربی

همچنین اثر پودر محصولات جانبی انار و نمک به صورت همزمان بر گوشت بز چرخ شده مورد بررسی قرار گرفت و نتایج بیانگر کاهش معنی‌دار شاخص TBARS و بهبود پایداری رنگ قرمز در نمونه‌های تیمار شده نسبت به نمونه شاهد بود (دواتکل و ناوینا ۲۰۱۰). کنات و همکاران (۲۰۱۰)، اثر عصاره پوست انار را بر پایداری اکسایشی و میکروبی محصولات مرغ بررسی نمودند و آن را موثر اعلام نمودند. کین و همکاران (۲۰۱۳)، اثر عصاره پودر پوست انار، آب انار و پودر دانه انار را در طی نگهداری ۱۲ روزه در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  گوشت چرخ شده تازه مورد بررسی قرار دارند. پودر پوست انار و BHT در مقایسه با نمونه‌های حاوی آب و پودر دانه انار اکسایش چربی را به صورت معنی‌داری کاهش دادند. نتایج نشان داد میزان کارایی عصاره به ترتیب در پوست، آب و دانه انار کاهش می‌یابد.

با توجه به مقام اول ایران در تولید و صادرات انار در جهان و حجم وسیع ضایعات پوسته انار از کارخانه‌های فرآوری آن، همچنین پتانسیل بالا و اثبات شده ضد اکسایشی و ضد میکروبی عصاره پوست انار و از سوی دیگر، ارزش اقتصادی و تغذیه‌ای گوشت و فرآورده‌های آن، این مطالعه با هدف بررسی اثر ضد اکسایشی و ضد میکروبی عصاره آبی پوست انار، بر نگهداری همبرگر طی دوره نگهداری یخچالی انجام گردید.

#### مواد و روش‌ها

##### مواد مورد استفاده

۵ کیلوگرم انار رقم پوست سیاه اردستان سالم و تازه خریداری، شسته و پوست‌گیری شد و پوست‌ها به مدت یک هفته در دمای اتاق و در سایه نگهداری و خشک شدند به طوری‌که پس از این مدت به وزن ثابت رسیده بودند، سپس پوست‌های خشک تا زمان آزمون در فریزر  $20^{\circ}\text{C}$  - نگهداری گردید. گوشت گوساله تازه از فروشگاه محلی در شیراز از قسمت قلوه گاه به همراه چربی اضافی خریداری شد و در ظرف حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل

### آزمون حسی

۲۰ ارزیاب آموزش دیده در مقیاس هدونیک ۵ نقطه‌ای، از نظر شاخص‌های بو، طعم و پذیرش کلی نمونه‌های پخته شده را در روز ۰، ارزیابی نمودند. ارزیابی ویژگی بو، بر اساس معیارهای ۱-بوی شدید ۲-بوی تندشدگی اکسایشی ۳-بوی کم ۴-بوی جزئی ۵-فاقد بو صورت پذیرفت. ارزیابی ویژگی طعم و پذیرش کلی نیز با امتیازهای ۵-خیلی خوب ۴-خوب ۳-متوسط ۲-بد ۱-خیلی بد مورد ارزیابی قرار گرفت (گنها و همکاران ۲۰۱۰).

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با روش تجزیه واریانس (ANOVA) به کمک نرم افزار آماری SPSS 21.0 و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. جهت بررسی اختلاف بین میانگین‌ها در صورت معنی‌دار بودن اثر فاکتورها ( $P < 0.05$ )، از آزمون Tukey استفاده شد. تمامی نتایج به صورت میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار بیان شده است.

### نتایج و بحث

#### فعالیت ضد اکسایشی عصاره پوست انار

میزان کل ترکیبات فنلی عصاره آبی پوست انار، برابر  $6/23 \pm 267/82$  میلی گرم اسید تانیک بر گرم پودر خشک عصاره تعیین گردید. همچنین برای این عصاره برابر  $3/41 \pm 97/42$  میلی گرم اسید تانیک بر گرم پودر خشک عصاره بود.

#### بررسی اکسایش چربی همبرگر

اندازه‌گیری محصولات ثانویه اکسایش چربی از طریق ارزیابی شاخص تیوباربتوریک انجام می‌گیرد که روشی بسیار رایج در ارزیابی اکسایش چربی می‌باشد. شکل ۱ بیانگر میزان TBARS نمونه‌های همبرگر طی دوره نگهداری می‌باشد. میزان این شاخص در تمام روزهای نگهداری در نمونه‌های حاوی عصاره و BHT در مقایسه با نمونه کنترل منفی به صورت معنی‌داری کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). در روز ۰، نمونه‌های حاوی سطوح مختلف

اضافی، ۱۰ درصد آب و ۱ درصد نمک بود، سپس مواد به مدت ۱۰ دقیقه کاملاً مخلوط شدند. پس از آن، مواد به ۵ بخش کنترل منفی (بدون هیچ ضد اکساینده)، کنترل مثبت (حاوی ۲۰۰ میلی گرم BHT بر کیلوگرم همبرگر) و ۳ بخش دیگر که شامل سه سطح از پودر عصاره (۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم پودر خشک عصاره بر کیلوگرم همبرگر) بود، تقسیم شد. این نمونه‌ها به ترتیب Control<sub>N</sub>، Control<sub>P</sub>، PPE<sub>500</sub>، PPE<sub>1000</sub> و PPE<sub>1500</sub> نام‌گذاری شدند. پس همبرگرهایی به وزن ۱۰۰ گرم و به قطر تقریبی ۱۰ سانتی متر تولید و در بسته‌های پلی اتیلنی قرار گرفتند. سپس به مدت ۶ روز در یخچال در دمای ۴°C نگهداری و بررسی شدند. آزمون‌ها در سه تکرار و در روزهای ۰، ۳ و ۶ انجام شد (گنها و همکاران ۲۰۱۰).

#### ارزیابی رنگ همبرگر

سنجش رنگ همبرگر با استفاده از دستگاه رنگ سنج هانتربل (A60-1005-654 45/0°) با قرائت فاکتورهای L\* (روشنی)، a\* (قرمزی) و b\* (زردی) انجام شد.

#### ارزیابی اکسایش چربی

جهت ارزیابی اکسایش چربی همبرگر، شاخص اسید تیوباربتوریک به روش جیا و همکاران (۲۰۱۲) اندازه‌گیری شد. میزان ترکیبات ثانویه اکسایش با استفاده از منحنی استاندارد مالون دی آلدهید محاسبه و گزارش گردید.

#### بررسی میکروبی همبرگر

زیپ کیپ‌های حاوی نمونه‌های همبرگر در شرایط اسپتیک، باز شد و پس از توزین ۱۰ گرم از نمونه، در کیسه‌های استومیکر، ۹۰ گرم سرم فیزیولوژی (محلول ۰/۱ درصد سدیم کلراید) سترون به آن افزوده شد. سپس سوسپانسیون به مدت ۲ دقیقه توسط دستگاه استومیکر، هموژن گردیده و از سوسپانسیون حاصل، سری رقت‌های ۱۰<sup>-۱</sup> تا ۱۰<sup>-۶</sup> تهیه گردید. به‌منظور شمارش کلی باکتری‌های هوازی در محیط کشت PCA، کشت به صورت سطحی انجام شد و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۰°C گرم‌خانه گذاری گردید (میکالزیک و همکاران ۲۰۱۲).

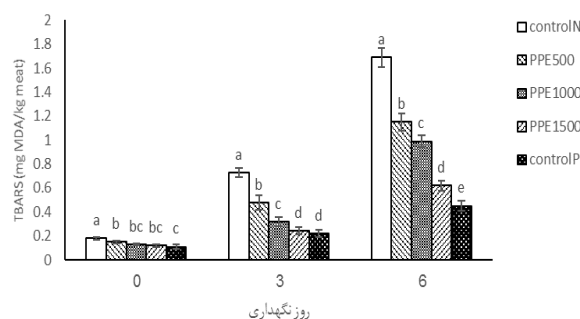
### بررسی میکروبی همبرگر

در شکل ۲ شمارش کلی باکتری‌های هوازی در طی دوره نگهداری ارائه شده است. آن‌چنان که از جدول قابل برداشت است، در ابتدای دوره نگهداری، بالاترین شمارش کلی باکتری‌ها، در نمونه کنترل منفی با  $4/39$  و پایین‌ترین شمارش در نمونه  $PPE_{1500}$  با  $2/32$  ( $\log cfu/g$ ) بود که با یکدیگر تفاوت معنی‌دار داشتند. در روز ۶، نیز شمارش کلی باکتری‌های  $PPE_{1500}$  و  $PPE_{1000}$  به صورت معنی‌داری از کنترل منفی پایین‌تر بود ( $P < 0/05$ ). در حالی که تفاوت معنی‌داری در روز ۳ مشاهده نشد. همچنین به نظر می‌رسد BHT، تأثیری بر رشد باکتری‌ها در همبرگر نداشت. افزایش شمارش کلی باکتری‌ها در تمامی تیمارها طی دوره نگهداری معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ).

ترکیبات فنولی، مسئول فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها نیز به شمار می‌آیند. سازوکار این ترکیبات، تعلیق فعالیت غشاهای سلولی باکتری‌هاست. گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات فنلی، با واکنش با مولکول‌های زیستی، منجر به تغییر شکل این ترکیبات و در نتیجه منجر به تأخیر در رشد باکتریایی می‌گردد. ترکیبات فنلی همچنین در پیوند به پروتئین و دیواره سلولی، غیر فعال‌سازی آنزیم‌ها و درج در DNA باکتری در حین تکثیر نقش دارند (بروکس و همکاران ۱۹۹۸). بنابراین منطقی به نظر می‌رسد، کاهش شمار باکتریایی در نمونه‌های حاوی عصاره را ناشی از وجود ترکیبات فنلی عصاره پوست انار بدانیم. نتایج مشابهی از تأثیر ضد میکروبی عصاره پوست انار در پاته گوشت علیه لیستریا مونوسایتوژنز، باسیلوس سابتیلیس، باسیلوس سرئوس، اشرشیا کلای، استقیلوکوکوس اورئوس در دماهای مختلف گزارش شده است (هایراپتیان و همکاران ۲۰۱۲). نتایج این پژوهش نیز تأثیر ضد میکروبی عصاره پوست انار را در کاهش شمار باکتری‌ها تأیید می‌کند.

عصاره با یکدیگر و با نمونه کنترل مثبت تفاوت معنی‌داری نداشتند، اما در روزهای ۳ و ۶، افزایش سطح عصاره منجر به کاهش معنی‌دار TBARS در نمونه‌های همبرگر شد ( $P < 0/05$ )، به طوری که در میان نمونه‌های حاوی عصاره،  $PPE_{1500}$  پایین‌ترین میزان اکسایش چربی را داشت و تا روز ۳، با نمونه کنترل مثبت تفاوت معنی‌دار نشان نداد. همچنین میزان TBARS در تمام نمونه‌ها طی دوره نگهداری به صورت معنی‌دار افزایش یافت ( $P < 0/05$ ).

عصاره‌های حاوی ترکیبات فنولی، قادر به ممانعت از ایجاد رادیکال آزاد و انتشار واکنش‌های رادیکال آزاد از طریق به-دام انداختن یون‌های فلزات واسطه، مانند آهن می‌باشند. ترکیبات فنولی با داشتن گروه هیدروکسیل متصل به حلقه آروماتیک، قادر به اهدای اتم‌های هیدروژن و خنثی کردن رادیکال‌های آزاد هستند. این فرآیند از تجزیه بعدی محصولات اکسایش به شکل‌های اکسید کننده فعال‌تر مانند مالون دی آلدهید جلوگیری می‌کند (میکالزیک و همکاران ۲۰۱۲؛ سبرانک و همکاران ۲۰۰۵). پژوهش‌های مشابه نیز کاهش قابل توجه اکسایش چربی در اثر افزودن عصاره توت فرنگی، شاه‌توت و زالزالک به پاته خوک نگهداری شده (گنجا و همکاران ۲۰۱۰) و ممانعت از افزایش شاخص TBARS در پاته گوشت در اثر افزودن عصاره انگور سفید را گزارش نموده‌اند (جانگبرگ و همکاران ۲۰۱۱).

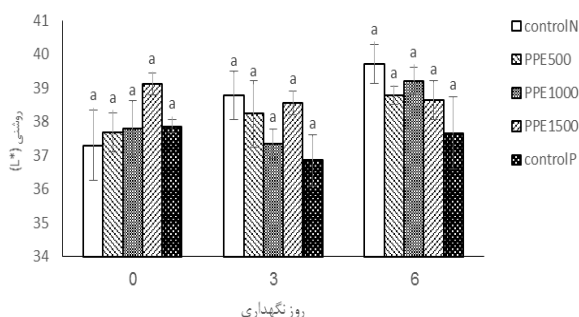


شکل ۱- شاخص TBARS نمونه‌های همبرگر طی دوره نگهداری

(حروف متفاوت در هر روز نشان دهنده تفاوت معنی‌دار است)

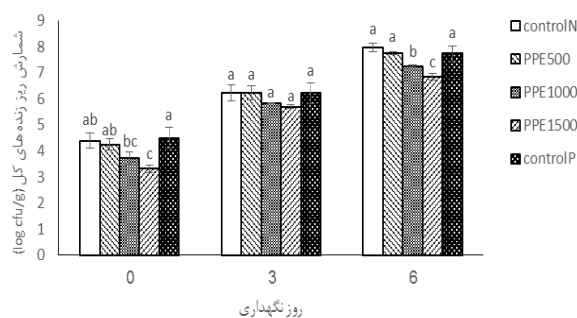
به جز کنترل منفی به صورت معنی‌دار کاهش یافت ( $P < 0.05$ ).

کاهش قرمزی در طی دوره نگهداری می‌تواند به علت اکسایش اکسی‌میوگلوبین و تجمع مت‌میوگلوبین باشد. آن‌جا که این فرایند وابسته به حضور سیستم احیاکننده در گوشت بوده (استوز و همکاران ۲۰۰۳)، همچنین محصولات اولیه اکسایش چربی، مانند هیدروپراکسیدها و محصولات ثانویه آن مانند آلدئیدهای غیر اشباع در اکسایش یون آهن (II) موجود در اکسی‌میوگلوبین و تبدیل آن به یون آهن (III) موجود در مت‌میوگلوبین نقش دارند، می‌توان وقوع اکسایش چربی و بدرنگی گوشت را دو پدیده مرتبط و هم‌افزا در گوشت دانست (فوستمن و همکاران ۲۰۱۰). نتایج مطالعه حاضر نیز این موضوع را تایید کرد. به طوری‌که در نمونه‌های حاوی عصاره، به صورت همزمان به تاخیر افتادن کاهش قرمزی و اکسایش چربی در مقایسه با نمونه کنترل منفی قابل مشاهده است. توانایی ترکیبات فنلی در به تاخیر انداختن اکسایش میوگلوبین و بدرنگی پذیرفته شده است. نتایج مشابه از افزایش  $a^*$  و کاهش میزان TBARS در پاته خوک حاوی عصاره کشمش سیاه (جورجانتلیس و همکاران ۲۰۰۷)، سینه مرغ حاوی ترکیبات فنلی آب انار (وایتیانان و همکاران ۲۰۱۱) و پاته گوشت حاوی عصاره انگور سفید (جانگبرگ و همکاران ۲۰۱۱) گزارش شده است.



شکل ۳- شاخص روشنی  $L^*$  نمونه‌های همبرگر طی دوره نگهداری

(حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است)



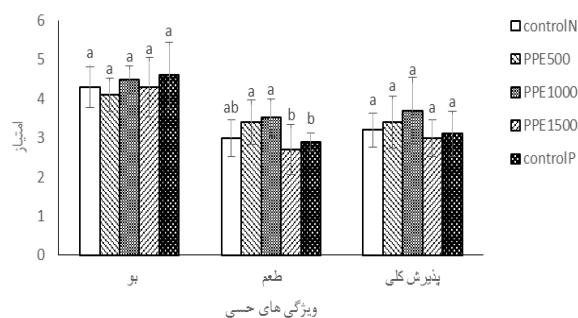
شکل ۲- شمارش کلی باکتری‌ها ( $\log \text{cfu/g}$ ) نمونه‌های

همبرگر طی دوره نگهداری

(حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است)

### بررسی رنگ همبرگر

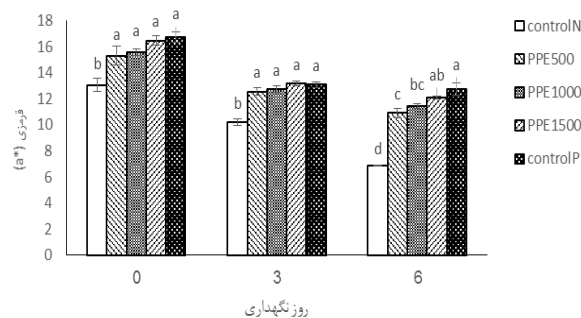
نتایج مربوط به ارزیابی شاخص‌های  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  نمونه‌های همبرگر به ترتیب در شکل‌های ۳، ۴ و ۵ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، شاخص روشنی ( $L^*$ ) نمونه‌های حاوی عصاره با نمونه کنترل منفی و مثبت در هیچ یک از روزها تفاوت معنی‌داری نداشتند و عصاره موجب ایجاد کدورت در نمونه‌ها نشد. همچنین این شاخص طی دوره نگهداری تغییر معنی‌داری نشان نداد ( $p > 0.05$ ). شاخص قرمزی ( $a^*$ ) که مهم‌ترین معیار در ارزیابی رنگ از نظر کیفی و جذب مشتری است. عصاره به صورت معنی‌دار از کاهش قرمزی در نمونه‌های همبرگر نسبت به کنترل منفی ممانعت کرد. اگرچه در روزهای آغازین، تفاوت معنی‌داری میان سطوح مختلف عصاره و همچنین کنترل مثبت مشاهده نشد، اما در روز ۶م، میزان قرمزی کنترل مثبت به صورت معنی‌داری بالاتر از PPE500 و PPE1000 بود. این شاخص به صورت معنی‌داری طی دوره نگهداری کاهش یافت ( $p < 0.05$ ). شاخص زردی ( $b^*$ ) از ابتدا در نمونه‌های حاوی عصاره، بالاتر از کنترل بود اگرچه این تفاوت در بسیاری موارد معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ). این تفاوت می‌تواند به علت رنگدانه‌های موجود در عصاره باشد، همچنین در طول نگهداری، زردی در تمام نمونه‌ها



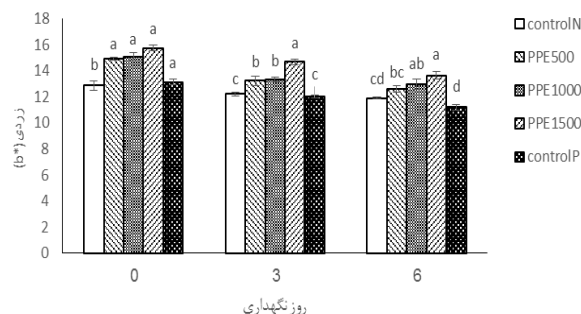
شکل ۶- ارزیابی حسی نمونه‌های همبرگر (بو، طعم و پذیرش کلی) نمونه‌های همبرگر طی دوره نگهداری (حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است)

### نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر، پتانسیل عصاره پوست انار را در افزایش دوره نگهداری یخچالی همبرگر تأیید نمود. این عصاره در سطوح بیش از ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم گوشت، قادر به کاهش اکسایش چربی و ممانعت از بدرنگی بود و با افزایش غلظت عصاره، این تأثیر افزایش یافت. در حالی که سطوح بیش از ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم گوشت، قادر به کاهش تعداد کل باکتری‌ها در نمونه‌های همبرگر بود. همچنین با توجه به عدم تأثیر عصاره بر ویژگی‌های حسی نمونه‌ها، می‌توان کاربرد این عصاره را به عنوان ضد اکسایش و نگهدارنده طبیعی جهت افزایش کیفیت نگهداری یخچالی همبرگر پیشنهاد نمود. همچنین بررسی تأثیر ضد اکسایشی و ضد میکروبی عصاره پوست انار در دوره نگهداری انجمادی محصولات مختلف غذایی و ارزیابی تأثیر این عصاره بر انواع میکروب‌ها از پیشنهادهایی است که می‌توان به منظور پژوهش‌های بعدی ارائه نمود.



شکل ۴- شاخص رنگ \*a نمونه‌های همبرگر طی دوره نگهداری (حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است)



شکل ۵- شاخص رنگ \*b نمونه‌های همبرگر طی دوره نگهداری (حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است)

### بررسی ویژگی‌های حسی

شکل ۶ نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های همبرگر را نشان می‌دهد. این نتایج حاکی از آنند که نمونه‌ها از نظر شاخص بو تفاوتی ندارند ( $p > 0.05$ )، درحالی که بررسی شاخص طعم نشان می‌دهد طعم در نمونه‌های کنترل منفی، PPE500 و PPE1000 به طور معنی‌داری امتیاز بالاتری کسب نموده و از نظر ارزیاب‌ها مطلوب‌تر بوده‌اند ( $P < 0.05$ ). از نظر پذیرش کلی، اگرچه نمونه‌های کنترل منفی، PPE500 و PPE1000 امتیاز بالاتری دارند، اما این تفاوت معنی‌دار نیست.

## منابع مورد استفاده

- حسن‌پور الف، ۱۳۹۵، تلاش وزارت کشاورزی برای گران شدن انار و از سرگیری صادرات به کره جنوبی، ماهنامه خشکبار ایران، ۶ (۵۳)، ۳۹.
- Ayyappan S, 2015. Vision 2050. National Research Centre on Pomegranate, Indian Council of Agricultural Research, Kegaon, Solapur-413 255, Maharashtra, available at <http://www.icar.org.in/Vision%202050%20NRC,%20Sholapur.pdf>.
- Brooks GF, Butel JS and Morse SA, 1998. Medical microbiology. 25<sup>th</sup> edn, United States, pp 45-47.
- Devatkal SK and Naveena BM, 2010. Effect of salt, Kinnow and pomegranate fruit by-product powdres on color and oxidative stability of raw ground goat meat during refrigerated storage. Meat Science 85: 306-311.
- Faustman C, Sun Q, Mancini R and Suman SP, 2010. Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. Meat Science 86: 86-94.
- Estévez M, Morcuende D and Cava R, 2003. Oxidative and colour changes in meat from three lines of free-range reared Iberian pigs slaughtered at 90 kg live weight and from industrial pig during refrigerated storage. Meat Science 65: 1139-1146.
- Fischer UA, Carle R and Kammerer DR, 2011. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD-ESI/MS. Food chemistry 127: 807-821.
- Ganhão R, Morcuende D and Estévez M, 2010. Protein oxidation in emulsified cooked burger patties added fruit extracts: Influence on colour and texture deterioration during chill storage. Meat Science 85: 402-409.
- Georgantelis D, Ambrosiadis I, Katikou P, Blekas G and Georgakis SA, 2007. Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4C. Meat Science 76: 172-181.
- Gil MI, Tomas-Barberan FA, Hess-Pierce B, Holcroft DM and Kader A, 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. Journal of Agricultural and Food chemistry 48: 4581-4589.
- Hayrapetyan H, Hazeleger WC and Beumer, RR, 2012. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by pomegranate (*Punica granatum*) peel extract in meat paté at different temperatures. Food Control 23: 66-72.
- Holzapfel WH, 1998. The Gram-positive bacteria associated with meat and meat products. The Microbiology of Meat and Poultry 25: 35-84.
- Jia N, Kong B, Liu Q, Diao X and Xia X, 2012. Antioxidant activity of black currant (*Ribes nigrum* L.) extract and its inhibitory effect on lipid and protein oxidation of pork patties during chilled storage. Meat Science 91: 533-539.
- Jongberg S, Skov SH, Tørngren MA, Skibsted LH and Lund MN, 2011. Effect of white grape extract and modified atmosphere packaging on lipid and protein oxidation in beef patties. Food Chemistry 128: 276-283.
- Kanatt SR, Chander R and Sharma A, 2010. Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. International journal of food science & technology 45: 216-222.
- Kumar Y, Yadav DN, Ahmad T and Narsaiah K, 2015. Recent trends in the use of natural antioxidants for meat and meat products. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 14: 786-812.
- Michalczyk M, Macura R, Tesarowicz I and Banaś J, 2012. Effect of adding essential oils of coriander (*Coriandrum sativum* L.) and hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) on the shelf life of ground beef. Meat Science 90: 842-850.



- Naveena BM, Sen AR, Vaithyanathan S and Babji Yand Kondaiah N, 2008. Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder extract and BHT as antioxidants in cooked chicken patties. *Meat science* 80: 1304-1308.
- Qin, YY, Zhang ZH, Li L, Xiong W, Shi JY, Zhao TR and Fan J, 2013. Antioxidant effect of pomegranate rind powder extract, pomegranate juice and pomegranate seed powder extract as antioxidants in raw ground pork meat. *Food Science and Biotechnology* 22: 1063-1069.
- Rajaei A, Barzegar M, Mobarez AM, Sahari MA and Esfahani ZH, 2010. Antioxidant, anti-microbial and antimutagenicity activities of pistachio (*Pistachia vera*) green hull extract. *Food and chemical toxicology* 48: 107-112.
- Rodríguez-Carpena JG, Morcuende D, Andrade MJ, Kylli P and Estévez M, 2011. Avocado (*Persea americana* Mill.) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 5625-5635.
- Rodríguez-Carpena J, Morcuende D. and Estévez M, 2011. Avocado by-products as inhibitors of color deterioration and lipid and protein oxidation in raw porcine patties subjected to chilled storage. *Meat Science* 89: 166-173.
- Santhini E, Ramji B and Viswanadha Vijaya P, 2011. Gallic acid isolated from pomegranate peel extract induces reactive oxygen species mediated apoptosis in A549 cell line. *Journal of Cancer Therapy* 20: 241-246.
- Sebranek J, Sewalt V, Robbins K and Houser T, 2005. comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Science* 69: 289-296.
- Shah MA, Bosco SJD and Mir SA, 2014. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Science* 98: 21-33.
- Vaithyanathan S, Naveena B, Muthukumar M, Girish P and Kondaiah N, 2011. Effect of dipping in pomegranate (*Punica granatum*) fruit juice phenolic solution on the shelf life of chicken meat under refrigerated storage (4 C). *Meat Science* 88: 409-414.
- Varasteh F, Arzani K, Barzegar M and Zamani Z, 2012. Changes in anthocyanins in arils of chitosan-coated pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Rabbab-e-Neyriz) fruit during cold storage. *Food chemistry* 130: 267-272.
- Vasco C, Ruales J and Kamal-Eldin A, 2008. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food chemistry* 111: 816-823.
- Yasoubi P, Barzegar M, Sahari M and Azizi M, 2010. Total phenolic contents and antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extracts. *Journal of Agriculture Science and Technology* 9: 35-42.
- Zarezadeh Mehrizi R, Emam-Djomeh Z, Khandan B, Shahedi M, Loni E, Akhavan H, and Biabani J, 2015. Identification and quantification of anthocyanins in pomegranate peel extracts extract. *Journal of Food Science & Technology* 12: 2008-8787.

## Antioxidant and antimicrobial effects of pomegranate peel extract on beef burger during chilled storage

H Jooyandeh<sup>1\*</sup> and M Yademellat<sup>2</sup>

Received: December 9, 2016

Accepted: August 20, 2017

<sup>1</sup>Associate professor, Department of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

<sup>2</sup>MSc, Department of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

\*Corresponding Author: Email: hosjooy@yahoo.com

### Abstract

The effects of pomegranate peel extract (PPE) on microbiological parameters and lipid oxidation were investigated in beef burger stored for 6 days at 4°C. Beef burger was treated with PPE at 500, 1000 and 1500 mg/kg of extract powder and the results were compared to beef burger without any additive (Control<sub>N</sub>) and beef burger with 200 mg/kg BHT (Control<sub>P</sub>). The instrumental color (CIE L\*, a\*, b\*), total bacterial count (TBC) and 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were determined at a gap of 3 days interval for a period of 6 days. PPE significantly ( $p < 0.05$ ) reduced the loss of redness and the increase of lightness during storage of ground beef, whereas increased yellowness of ground beef compared to Control<sub>N</sub>. In addition, TBARS value and TBC significantly were decreased in samples containing 1000 and 1500 mg/kg of extract powder than the Control<sub>N</sub>. Sensory evaluation results also showed that PPE had no significant effect on overall acceptance of beef burgers. The present results highlight the potential usage of pomegranate peel extract as a natural antioxidant and antimicrobial in ground beef during chilled storage.

**Keywords:** Pomegranate peel extract, Beef burger, Antioxidant, Antimicrobial