تأثیر عصاره اتانولی صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان در کاهش میزان اکسیداسیون و محتوای آکریل‌آمید همبرگر گوشت گوساله تحت شرایط سرخ کردن سطحی

سحر یزدان‌مهر[1]، تکتم مستقیم[2]*

۱-کارشناس ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

* نویسنده مسئول: toktammostaghim@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۷/۲۷، پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۱۰/۳

چکیده

هدف از این تحقیق، بررسی کاربرد عصاره‌های الکلی صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بر کاهش تشکیل آکریل‌آمید و اکسیداسیون چربی‌ها در همبرگر گوشت گوساله‌ی سرخ شده به روش سطحی بود. عصاره‌های صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان به‌طور جداگانه در سطوح ۱، ۱/۵ و ۲٪ وزنی/وزنی به فرمولاسیون همبرگر اضافه شدند و نمونه حاوی ترکیب این دو عصاره (با نسبت ۱:۱) نیز آماده‌سازی شد. سپس، نمونه‌های تهیه شده در دمای ۱۷۰ °C به مدت ۸ دقیقه سرخ گردیدند. نتایج به‌دست‌آمده بیان کرد که عصاره‌های الکلی صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان اثر معنی‌داری بر pH همبرگر نداشتند. افزودن عصاره‌های صمغ کندر و شیرین‌بیان (در سطح ۲٪)، موجب کاهش معنی‌دار تشکیل آکریل‌آمید نسبت به نمونه شاهد، به ترتیب تا ۳۲/۹۵٪ و ۴۹/۸۷٪ گردید ($p<۰/۰۵$). با افزایش غلظت عصاره‌های صمغ کندر و شیرین‌بیان، فرآیند اکسیداسیون کاهش یافت، به‌طوری‌که اندیس‌های پراکسید، آنیزیدین، اندیس تیوباربیتوریک اسید (TBA) و توتوکس نمونه‌های تیمار شده به‌طور معنی‌داری کمتر از نمونه شاهد بود ($p<۰/۰۵$). عصاره ریشه شیرین‌بیان در سطح ۲٪، بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نسبت به سایر نمونه‌ها داشت و نمونه ترکیبی و نمونه حاوی ۱/۵٪ عصاره ریشه شیرین‌بیان در رتبه بعدی قرار گرفتند. ارزیابی حسی نشان داد که عصاره‌های صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان بر بافت و رنگ همبرگر تأثیری نداشتند، درحالی‌که با افزایش غلظت عصاره شیرین‌بیان در فرمولاسیون، امتیازات عطر و طعم و پذیرش کلی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$).

واژه‌های کلیدی: همبرگر، آکریل‌آمید، اکسیداسیون، صمغ کندر، ریشه شیرین‌بیان

مقدمه

همبرگر یکی از فرآورده‌های گوشتی است که به دلایل گوناگون ازجمله سهولت مصرف، استفاده از گوشت در ترکیب و طعم مطلوب مصرف بالایی دارد. ازآنجایی‌که همبرگر به دلیل دارا بودن مقدار بالای گوشت در فرمولاسیون خود، حاوی مقادیر بالای پروتئین و همچنین چربی است، درنتیجه، در طی فرآیند آماده‌سازی آن برای مصرف (سرخ کردن)، ممکن است ترکیبات نامطلوبی (آکریل‌آمید و هیدروکسی متیل فورفورال[1] و...) تشکیل شود (۱) که مطالعات در مورد این ترکیبات و ارائه راهکارهای مناسب جهت کاهش مقادیر ترکیبات نامطلوب بسیار مورد توجه می‌باشد. سرخ کردن یکی از متداول‌ترین روش‌های مورد استفاده برای تهیه و تولید موادغذایی می‌باشد. با این وجود سرخ کردن موجب ترکیبات طعمی مطلوب (محصولات اولیه واکنش میلارد[2] و کاراملیزاسیون) و نامطلوب (مونو و دی گلیسریدها، الکل‌ها و ترکیبات پلیمری) در موادغذایی می‌شود، این فرآیند می‌تواند پایداری و کیفیت ترکیبات طعمی، رنگ و بافت و کیفیت تغذیه‌ای موادغذایی سرخ شده را تغییر دهد. هیدرولیز، اکسیداسیون و پلیمریزاسیون واکنش‌های شیمیایی متداول در طول فرآیند سرخ کردن موادغذایی است که منجر به تولید ترکیبات فرار و غیر فرار می‌شود (۲و۳). برخی از این ترکیبات پتانسیل سمی بودن را دارا می‌باشند. ترکیبات فرار درنتیجه داغ شدن روغن سرخ‌کردنی از محیط خارج می‌شوند درحالی‌که ترکیبات غیرفرار اغلب وزن مولکولی بالا و یا قطبیت بالایی دارند و حضور آن‌ها

[1] Hydroxymethylfurfural

[2] Maillard Reaction

معمولاً به‌عنوان شاخص کیفیت در نظر گرفته می‌شود. از دیدگاه تغذیه‌ای، محصولات تجزیه ترکیبات غیرفرار روغن‌های سرخ‌کردنی مورد استفاده از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند، زیرا می‌توانند در روغن باقی بمانند و وارد محصول غذایی شوند و متعاقباً مصرف گردند (۲و ۴). چنین محصولات غیرفرار شامل تری‌گلیسیریدهای پلیمری و تری‌گلیسیریدهای مونومر هستند که حاوی آسیل‌های چرب حلقوی و محصولات تجزیه مختلف هستند. بیشترین نگرانی در مورد اثرات تغذیه‌ای روغن‌های سرخ‌کردنی مورد استفاده مربوط به سرخ کردن متناوب یا غیرپیوسته است، زیرا نشان داده شده که بالاترین سطوح تخریب در این شرایط حاصل می‌شود. به‌طور گسترده پذیرفته شده است که آکریل‌آمید عمدتاً از طریق واکنش میلارد از آسپاراژین آزاد و منبع کربونیل تشکیل می‌شود (۵). در بیشتر غذاها، قندهای احیاکننده اصلی‌ترین ترکیبات کربونیل هستند که با آسپاراژین آزاد واکنش می‌دهند، زیرا سطح آن‌ها معمولاً بسیار بالا است. با این وجود، ترکیبات کربونیل موجود در غذاها نیز می‌توانند از اکسیداسیون لیپیدها و به ویژه در حین گرم کردن ایجاد شوند (۶).اکسیداسیون لیپیدها به‌عنوان یک مسیر برای تشکیل آکریل‌آمید مورد توجه قرار گرفته است. در این مسیر، اسید آکریلیک به‌عنوان یک پیش‌ماده عمل کرده و توسط روش آکرولین به وسیله تخریب اکسیداتیو لیپیدها تشکیل گردد. پیشنهادات برای کاهش سطوح آکریل‌آمید شامل کاهش زمان گرمایش و دما، کاهش pH و استفاده از مواد خام با محتوای قند یا آسپاراژین کم است (۷). در مورد افزودنی‌ها، بسیاری از مواد گزارش شده است که برای کاهش آکریل‌آمید مؤثر هستند، ازجمله برخی اسیدهای آلی (مانند اسید سیتریک)، برخی اسیدهای آمینه (مانند، گلیسین) و برخی کاتیون‌های تک ظرفیتی و دو ظرفیتی (مثل سدیم یا کلسیم). استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی روش مهم دیگری برای کاهش محتوای آکریل‌آمید در غذاها هستند (۸). آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی ارزان‌قیمت اغلب برای کاهش سرعت اکسیداسیون چربی‌ها استفاده می‌شوند. ازجمله این آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توان هیدروکسی تولوئن بوتیله (BHT[1])، هیدروکسی آنیزول بوتیله (BHA[2]) و بوتیل هیدروکینون نوع سوم (TBHQ[3]) اشاره نمود. با این وجود گزارش شده است که BHT و BHA دارای اثرات سمی و سرطان‌زا هستند ولی به‌عنوان افزودنی در صنایع غذایی فقط در حدود قانونی مجاز می‌باشند. این آنتی‌اکسیدان‌ها در هنگام نگهداری و حمل و نقل روغن‌ها و چربی‌ها بسیار مؤثر هستند، اما در دمای سرخ کردن به دلیل فرار بودن آن‌ها تأثیر کمتری دارند (۹). با نگرانی فزاینده در مورد خطرات بالقوه آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی و گرایش جهانی به اجتناب یا به حداقل رساندن استفاده از افزودنی‌های غذایی مصنوعی، علاقه مجدد به استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی وجود دارد. ازآنجایی‌که آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی مشتق می‌شوند لذا اعتقاد بر این است که این نوع آنتی‌اکسیدان‌ها بی‌خطر می‌باشند. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌طورکلی به ایمن شناخته می‌شوند (GRAS[4])، استفاده از غلظت‌های بالای آن‌ها مجاز است، در همه جای دنیا مورد پذیرش قرار گرفته‌اند و در غذاهایی که تحت فرآیند حرارتی قرار می‌گیرند از فراریت کمتری برخوردار می‌باشند (۱۰).کندر از تنه درختان *Boswellia* که در هندوستان، شمال آفریقا و خاورمیانه می‌رویند، به دست می‌آید. ازنظر ترکیبات شیمیایی، کندر دارای حدود ۲۵٪ صمغ غیرمحلول در الکل و یک رزین و مقداری اسانس است. قسمت نامحلول آن در الکل دارای مواد آرابین[5] و باسورین[6] است و قسمت محلول آن در الکل دارای رزینی به نام اولیبانورزن[7]، یک اسید آزاد به نام اسید بوسولیک[8]، یک ماده تلخ و اسانس

[1] Butylated Hydroxytoluene
[2] Butylated Hydroxyanisole
[3] Tertiary Butylhydroquinone
[4] Generally Recognized as Safe
[5] Arabian
[6] Basorin
[7] Olibanolresin
[8] Boswellic acid

می‌باشد. همچنین در اسانس کندر علاوه بر پینن[1]، دیپانتن[2] و فلاندرن[3]، مقداری از یک نوع الکل به نام اولیبانول[4] وجود دارد. پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره کندر نیز ارزیابی شده است که بیانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی این عصاره می‌باشد (۱۱).گیاه شیرین‌بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra* L.، از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی با اثر ضدالتهابی قوی است. شیرین‌بیان دارای عمده‌ترین ساپونین‌های تری‌ترپن ۵ حلقه‌ای به نام گلیسریزیک اسید[5] یا گلیسریزین[6] به فرمول $C_{42}H_{62}O_{16}$ می‌باشد، که از دو واحد اسید گلوکورونیک[7] و یک مولکول اسید گلیسرتنیک[8] (آگلیکون) تشکیل شده است. ترکیبات فنولی موجود در شیرین‌بیان، به‌عنوان مهارکننده رادیکال‌های آزاد عمل نموده، بنابراین، به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان مؤثر عمل می‌کنند (۱۲). مطالعه نشان داده که در ناگت مرغ سرخ شده میزان ng/g ۴۴/۷ ± ۸۵۳ آکریل‌آمید تشکیل می‌شود (۱۳). همچنین Basaran و Faiz (۲۰۲۲)، با ارزیابی محتوای آکریل‌آمید در محصولات گوشتی سرخ شده مشخص نمودند که محتوای آکریل‌آمید در این محصولات µg/g ۲۹۹ می‌باشد (۱۴). بنابراین با توجه به اینکه در طی سرخ کردن همبرگر (به دلیل وجود مقادیر بالای پروتئین)، آکریل‌آمید که یک ترکیب سمی است، تشکیل می‌گردد، در این پژوهش سعی بر آن بود که اثر عصاره‌های الکلی صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان، به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، بر میزان تشکیل اکریل‌آمید پس از فرآیند سرخ کردن همبرگر گوشت گوساله مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

گوشت گوساله، پیاز، نمک، فلفل قرمز، آرد سوخاری، آرد گندم، پودر سیر، زردچوبه، ریشه شیرین‌بیان و صمغ کندر از بازار محلی، تهران خریداری شدند. اتانول ۷۰٪، اسید استیک گلاسیال، کلروفرم، یدید پتاسیم، تیوسولفات سدیم، پودر TBA، پارا آنیزیدین، ۱-بوتانول، ایزواکتان و اسید فرمیک از شرکت مرک (آلمان) خریداری شدند. استاندارد آکریل‌آمید نیز از شرکت سیگما (آمریکال) تهیه شد.

تهیه عصاره‌های الکلی صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان

به منظور تهیه عصاره، ابتدا ریشه شیرین‌بیان شسته شد و در دمای اتاق خشک گردید. سپس با آسیاب‌برقی به‌خوبی پودر و از الک شماره ۱۸ گذرانده شد. صمغ کندر نیز به‌طور مشابه با ریشه شیرین‌بیان آسیاب گردید. مقدار ۱۰۰ گرم از پودر شیرین‌بیان/کندر به ارلن ۱۰۰۰ mL انتقال یافت و با اتانول ۷۰٪ کاملاً پوشانده شد. محتویات فوق به مدت ۲۴ ساعت در شیکر قرار داده شد. عصاره‌های اتانولی حاوی نمونه‌ها با استفاده از کاغذ صافی صاف شده و سپس در دستگاه روتاری (Hei Dolph MR Hei-standard, Germany) با دمای ۴۰ °C به مدت ۲ ساعت قرار گرفت، تا حلال خارج شود. عصاره‌های الکلی ریشه شیرین‌بیان (بازده استخراج: ۱۳/۰۵٪) و صمغ کندر (بازده استخراج: ۱۲/۶۵٪) تهیه شده، جهت آماده‌سازی تیمارها در یخچال نگهداری شدند (۱۵).

فرمولاسیون و آماده‌سازی تیمارهای همبرگر

ابتدا، گوشت تازه گوساله، توسط چرخ‌گوشت (پارس خزر، بوفالو، ایران) چرخ گردید. فرمولاسیون همبرگر شاهد به‌صورت: ۶۱/۵٪ گوشت، ۲۴٪ پیاز، ۱/۱٪ نمک، ۰/۱٪ فلفل قرمز، ۸٪ آرد سوخاری، ۵٪ آرد گندم، ۰/۱۶٪ پودر سیر، ۰/۰۷٪ زردچوبه و ۰/۰۷٪

[1] Pinene
[2] Dipentene
[3] Phellandrene
[4] Olibanol
[5] Glycyrrhizic acid
[6] Glycyrrhizin
[7] Glocoronic acid
[8] Glycyrrhetinic acid

جوز بویا بود. در این تحقیق، سطوح مختلف عصاره‌های اتانولی ریشه شیرین‌بیان و صمغ کندر (طبق جدول ۱) جایگزینی بخشی از پیاز مولاسیون شد. پس از مخلوط کردن مواد فرمولاسیون، برگرها توسط قالب به قطر ۱۰ cm و ارتفاع تقریبی ۱ cm شکل‌دهی شدند. نمونه‌های همبرگر تولیدی دارای وزن تقریبی ۸۰ گرم بودند (اکبرمیوه ای و بقایی، ۲۰۱۶). جهت انجام آزمون‌های موردنظر، نمونه‌های همبرگر در یک سرخ‌کن در دمای ۱۷۰ °C به مدت ۸ دقیقه سرخ شدند.

جدول ۱ - تیمارهای مورد بررسی در این تحقیق

کد تیمارها	تیمارها
T0	نمونه شاهد (فاقد افزودنی)
T1	نمونه حاوی ۱ درصد عصاره الکلی صمغ کندر
T2	نمونه حاوی ۱/۵ درصد عصاره الکلی صمغ کندر
T3	نمونه حاوی ۲ درصد عصاره الکلی صمغ کندر
T4	نمونه حاوی ۱ درصد عصاره الکلی ریشه شیرین‌بیان
T5	نمونه حاوی ۱/۵ درصد عصاره الکلی ریشه شیرین‌بیان
T6	نمونه حاوی ۲ درصد عصاره الکلی ریشه شیرین‌بیان
T7	نمونه حاوی ۱ درصد از عصاره صمغ کندر+ ۱ درصد از عصاره ریشه شیرین‌بیان

محتوای فنول کل

به‌طورکلی ۰/۵ mL از هرکدام از عصاره‌ها با ۲/۵ mL محلول فولین-سیوکالتیو[1] و ۲ mL کربنات سدیم ۷٪ مخلوط شد. در ادامه بعد از یک ساعت (زمان لازم برای انجام واکنش) جذب هر نمونه در ۷۶۵ نانومتر با استفاده اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-1800, Kyoto, Japan) سنجیده شد. برای رسم نمودار استاندارد از اسید گالیک (۰-۱۰۰ ppm) استفاده شد. درنهایت نتایج به‌صورت معادل اسید گالیک برای هر گرم ماده خشک (mg GA/g dw) بیان شد (۱۶).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مقدار ۲ mL محلول DPPH[2] (۰/۱ mM در اتانول) با ۲ mL از هر نمونه عصاره مخلوط شد. مخلوط واکنش کاملاً همزده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی نگه داشته شد. سپس جذب هر نمونه در ۵۱۷ نانومتر در مقابل جذب نمونه بلانک با استفاده از اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-1800, Kyoto, Japan) اندازه‌گیری شد. نمودار کالیبراسیون با استفاده از ترولوکس (۰-۱۰۰ ppm) حاصل شد. در نهایت نتایج به صورت معادل ترولوکس برای هرگرم ماده خشک (TE/g dw) بیان شد (۱۶).

تعیین pH

تعیین میزان pH با استفاده از pH متر (Hanna pH 211, Hanna Instruments, Padova, Italy) مجهز به الکترود شیشه‌ای (Hanna FC 200B؛ مناسب برای نفوذ در گوشت) و کنترل دمای اتوماتیک صورت گرفت (۱۷).

اندازه‌گیری میزان آکریل‌آمید

۱ گرم از نمونه با استفاده از ۲۰ mL اسید فرمیک ۱۰ mM در سه مرحله (۱۰، ۵ و ۵ mL) استخراج شد (باید مجموع ۲۰ mL در سه مرحله استفاده شود که سه بار استخراج صورت گیرد و بیشتر ناخالصی‌هایی نظیر چربی‌ها، ترکیبات مشابه آکریل‌آمید و غیره حذف شوند). از سانتریفوژ سرد برای جداسازی چربی از نمونه در ۵۰۰۰ rpm (۲۳۷۰×g) به مدت ۱۰ دقیقه استفاده گردید. کلوئیدهای استخراج شده، توسط محلول کارز ته‌نشین شده و عصاره حاصله توسط کارتریج Oasis MCX از این ترکیبات جدا شد. هشت قطره اول عصاره دور ریخته شد تا از هر گونه رقیق شدن جلوگیری شود و مابقی به داخل ویال اتومایزر منتقل گردید. محلول کارز یک توسط حل کردن

[1] Folin–Ciocalteu

[2] 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical

۱۵ گرم پتاسیم هگزاسیانوفرات در ۱۰۰ mL آب و محلول کارز دو توسط حل کردن ۳۰ گرم سولفات‌روی در ۱۰۰ mL آب آماده گردید. نمونه‌ها با استفاده از سیستم HPLC (Agilent Model 1100; USA) مجهز به آشکارساز TQ[1] آنالیز شدند. جداسازی کروماتوگرافی در ستون UPLC HSS T3 (۱۰۰، ۲/۱ میلی‌متر i.d.، ۱/۸μm) با استفاده از ۱۰ mM اسید فرمیک به همراه ۰/۵٪ متانول به‌عنوان فاز متحرک در سرعت جریان یکنواخت ۰/۳ mL/min انجام گرفت. دمای ستون در ۴۰ °C تنظیم شده و دمای اتومایزر طی آنالیز، در ۱۰ °C نگه‌داشته شد. سرعت جریان گاز (نیتروژن) L/h ۹۰۰ بود. آکریل‌آمید از طریق نظارت بر واکنش چندگانه (MRM[2]) تعیین شد. برای همه انتقالات MRM، زمان ماندن ۰/۲ s بود. منحنی کالیبراسیون خارجی در محدوده بین ۱-۱۰۰ ng/mL (۱، ۲، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۱۰۰ ng/mL) رسم شده و میزان آکریل‌آمید از طریق این منحنی محاسبه شد و به‌صورت ppb بیان گردید (۱۸).

اندازه‌گیری اندیس پراکسید

ابتدا نمونه‌ها با حلال کلروفرم-متانول و آب (نسبت ۲:۱:۱) مخلوط شدند. به منظور افزایش تماس نمونه و حلال، به مدت یک دقیقه از همزن مغناطیسی استفاده شد. در ادامه لایه کلروفرمی به وسیله دکانتور شیشه‌ای جدا گردید. باقیمانده حلال موجود در روغن توسط اواپراتور روتاری تحت خلاء و در دمای ۴۰°C تبخیر و جداسازی شد. ۵ گرم نمونه روغن در یک ارلن مایر ۲۵۰ mL توزین شد. سپس، ۳۰ mL مخلوط اسید استیک گلاسیال و کلروفرم (به نسبت ۳ به ۲) به آن اضافه شده و کاملاً در آن حل گردید. در مرحله بعد، ۰/۵ mL محلول اشباع یدور پتاسیم به آن اضافه شده و به مدت یک دقیقه در تاریکی قرار گرفت. پس از طی این زمان، ۳۰ mL آب مقطر به آن اضافه شده و با استفاده از محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ N تا زمان زایل شدن رنگ زرد تیتر گردید. سپس، مقدار ۰/۵ mL معرف نشاسته اضافه شده و تا زمان زایل شدن رنگ آبی، توسط محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ N تیتر شد. در آزمون شاهد، تمامی مراحل ذکر شده بدون حضور نمونه انجام پذیرفت. درنهایت، اندیس پراکسید نمونه‌ها با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شده و بر حسب میلی‌اکی‌والان پراکسید در کیلوگرم روغن (meq/kg) گزارش گردید (۱۹).

$$\mathrm{PV} = \frac{(S-B)\times N \times 1000}{W} \qquad \text{رابطه (۱)}$$

که در این رابطه PV، اندیس پراکسید (بر حسب meq/kg)؛ S، حجم تیوسولفات مصرفی برای تیتر نمونه (بر حسب mL)؛ B، حجم تیوسولفات مصرفی برای تیتر شاهد (بر حسب mL)؛ N، نرمالیته تیترازول تیوسولفات سدیم (بر حسب eq/mL) و W: وزن نمونه (بر حسب گرم) است.

اندازه‌گیری میزان اندیس آنیزیدین

در ابتدا ۰/۵ گرم نمونه در یک بالن حجمی ۲۵ mL به دقت توزن شد. سپس، نمونه در ایزواکتان حل شده و به حجم رسانده شد و مخلوط گردید. جذب محلول چربی در مقابل ایزواکتان خالص توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Visible Jenway 6305, UK) در طول‌موج ۳۵۰ نانومتر در یک سل شیشه‌ای قرائت شد (a). با استفاده از پی‌پت، ۵ mL از محلول به داخل لوله آزمایش A و ۵ mL ایزواکتان به داخل لوله آزمایش B ریخته شد. به هرکدام از دو لوله، یک میلی‌لیتر آنیزیدین اضافه گردید. لوله‌ها به شدت تکان داده شدند و به مدت ۱۰ دقیقه در یک مکان تاریک قرار گرفتند. جذب محتوای لوله A در مقابل لوله B در طول‌موج ۳۵۰ نانومتر در یک سل شیشه‌ای یک سانتی‌متری اندازه‌گیری شد (b). اندیس آنیزیدین از طریق رابطه (۲) محاسبه گردید (۲۰):

$$\text{اندیس آنیزیدین} = \frac{25 \times (1.2\,A1 - A2)}{m} \qquad \text{رابطه (۲)}$$

[1] Triple quadruple
[2] Multiple Reaction Monitoring

کـه در آن؛ A_1، جـذب محلـول آزمـایش (b) در ۳۵۰ نـانومتر؛ A_2: جـذب محلـول آزمـایش (a) در ۳۵۰ nm و m، جرم مـاده مـورد آزمـون در محلـول آزمایش (a)، بر حسب گرم هستند.

اندیس تیوباربیتوریک اسید (TBA)

انـدازه‌گیری انـدیس TBA بـا اسـتفاده از بوتـانول به‌عنوان حلال و در حضور معرف TBA در طول‌موج ۵۳۰ نانومتر انجام پذیرفت. در ابتدا، ۲۰۰ میلی‌گرم از روغن استخراج شده‌ی نمونـه در بـالن ۲۵ mL وزن گردید. سپس، بـا بوتـانول بـه حجـم رسـانده شـد و بـه‌طور کامـل توسـط همـزن مغناطیسـی مخلـوط گردیـد. ۵ mL از محلـول نمونـه بـا ۵ mL محلـول واکنشگر تیوباربیتوریک (حل کـردن ۲۰۰ میلی‌گـرم از پودر TBA در ۱۰۰ mL حلال ۱-بوتانول و سپس صاف کردن آن) مخلوط شده و بـه مـدت دو سـاعت در یک حمام بخار بـا دمـای ۹۵ °C قـرار داده شـد. پس از اتمام این مدت، لولـه آزمـایش بـا اسـتفاده از جریان آب به مدت ۱۰ دقیقـه سـرد گردیـد. میـزان جذب محلـول در طول‌مـوج ۵۳۰ نـانومتر در مقابـل شاهد توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (شامل حـلال و محلـول واکنش‌گـر) انـدازه‌گیری شـد (۲۱). نتـایج به‌دست‌آمده، با استفاده از رابطه (۳) محاسبه گردید:

$$\text{اندیس اسید تیوباربیتوریک} = \frac{50 \times (A - B)}{m}$$ رابطه (۳)

کـه در آن؛ A؛ میـزان جـذب محلـول آزمـایش در ۵۳۰ نانومتر، B؛ میزان جذب شاهد در ۵۳۰ نـانومتر و m؛ وزن نمونه بر حسب میلی گرم است.

اندیس توتوکس

اندیس توتوکس طبـق رابطـه ۴ و بـا اسـتفاده از دو اندیس پراکسید و آنیزیدین محاسبه گردید (۱۳):

رابطه (۴) اندیس توتوکس= (اندیس پراکسید)۲ + اندیس آنیزیدین

ارزیابی حسی

ارزیابی حسی همبرگر (از لحـاظ ویژگی‌هـای بافـت، عطر و طعم، رنگ و پذیرش کلی) به روش هـدونیک پنج نقطه‌ای و با تکمیل پرسشـنامه ارزیـابی، توسـط ۱۰ نفر ارزیاب آموزش دیده انجام شد. به این صورت که نمونه‌ها فرموله شده و سـپس جهـت هـر تیمـار، نمونه‌ای در اختیار ارزیاب قرار داده شد. هـر ارزیـاب برای هر تیمار رتبه ۱ تا ۵ را در نظر گرفت که عـدد ۱ بـرای نمونـه‌های خیلـی ضـعیف، عـدد ۲ بـرای نمونه‌های ضعیف، عدد ۳ بـرای نمونـه‌های متوسـط، عـدد ۴ بـرای نمونـه‌های خـوب و عـدد ۵ بـرای نمونه‌های خیلی خوب بود (۱۳).

تجزیه‌وتحلیل آماری

میـانگین هـر پـارامتر، توسـط آنـالیز واریـانس (ANOVA) در طـرح کـاملاً تصـادفی بـا آرایـش فاکتوریل و با اسـتفاده از نرم‌افـزار IBM SPSS 22.0 (IBM Corp., USA) آنالیز شـدند. تفاوت‌هـای بـین تیمارها، در آزمون دانکـن، در سـطح اطمینـان ۹۵٪ (p<۰/۰۵) بیان شد و نمودارهای مربوطه بـا Excel 2013 رسم گردیدند.

نتایج و بحث

محتوای فنول کل عصاره‌ها

نتایج حاصل از آنالیز محتوای فنـول کـل عصـاره‌هـای الکلی صمغ کندر و عصاره الکلی ریشه شـیرین‌بیان بـا درصدهای مختلف و عصاره ترکیبـی آن‌هـا و مقایسـه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چند دامنـه‌ای دانکـن در جدول ۲ نشان داده شـده اسـت. بـر اسـاس نتـایج تحلیل واریانس داده‌ها مشخص شد که محتوای فنـول کل به‌طور معنی‌داری (p<۰/۰۵) وابسته به نوع عصاره و غلظـت عصـاره بکـار گرفتـه شـده بـود؛ بنـابراین همـان‌طـور کـه در جـدول ۲ نشـان داده شـده اسـت بالاترین محتوای فنـولی کـل (۰/۰۲ ± ۷۴/۲۵ mg GA/g dw) مربوط به نمونه ۲ درصد عصاره الکلـی ریشـه شیرین‌بیان می‌باشد و سپس بیشترین محتـوای فنـول کل مربوط به نمونـه عصـاره ترکیبـی (mg GA/g dw

۰/۰۸ ± ۶۷/۱۲) است. همچنین در غلظت‌های برابر محتوای فنول کل نمونه‌های عصاره ریشه شیرین‌بیان بیشتر از محتوای فنول کل عصاره صمغ کند بود.

جدول ۲ - محتوای فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های موردمطالعه

تیمارها	محتوی فنول کل (mg GA/g dw)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (µg TE/g dw)
T1	۳۹/۱۲ ± ۰/۰۵^{g}	۱۳/۲۷ ± ۰/۰۲^{g}
T2	۵۰/۱۴ ± ۰/۰۷^{f}	۱۸/۱۵ ± ۰/۰۲^{f}
T3	۶۳/۲۵ ± ۰/۰۲^{c}	۲۴/۶۷ ± ۰/۰۲^{c}
T4	۶۱/۸۷ ± ۰/۰۷^{e}	۲۱/۳۷ ± ۰/۰۲^{e}
T5	۶۲/۳۳ ± ۰/۰۵^{d}	۲۳/۶۲ ± ۰/۰۲^{d}
T6	۷۴/۲۵ ± ۰/۰۲^{a}	۳۳/۴۷ ± ۰/۰۲^{a}
T7	۶۷/۱۲ ± ۰/۰۸^{b}	۲۸/۱۴ ± ۰/۰۲^{b}

*حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد در هر ستون می‌باشند (p<۰/۰۵).

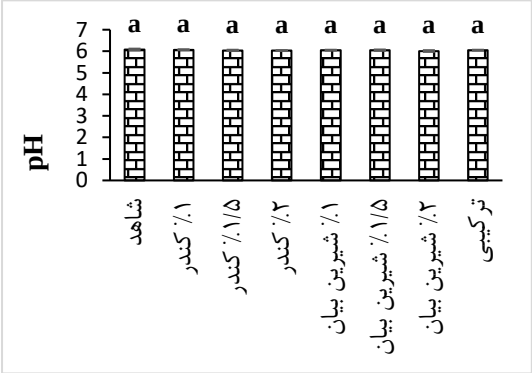
فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها

جدول ۲ نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ریشه شیرین‌بیان و صمغ دانه کندر با غلظت‌های مختلف و مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن را نشان می‌دهد. نتایج تحلیل واریانس داده‌ها نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های ریشه شیرین‌بیان و صمغ دانه کندر به طور معنی‌داری (p<۰/۰۵) وابسته به نوع عصاره و درصد بکارگیری آن‌ها می‌باشد. بر این اساس همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره الکی ۲٪ ریشه شیرین‌بیان (µg TE/g dw ۰/۰۲ ± ۳۳/۴۷) و سپس بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره ترکیبی (µg TE/g dw ۰/۰۲ ± ۲۸/۱۴) بود. همچنین با مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ریشه شیرین‌بیان با صمغ دانه کندر در غلظت یکسان مشاهده شد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ریشه شیرین‌بیان بیشتر از عصاره صمغ دانه کندر می‌باشد. همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است روند تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشابه روند تغییرات محتوای فنول کل می‌باشد. مطالعات نشان داده که محتوای ترکیبات فنولی همبستگی مثبتی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد. مشاهده شده که عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهانی که محتوای فنولی آن‌ها بالاتر است از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نیز برخوردار می‌باشند (۲۲)؛ بنابراین همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده عصاره الکلی ۲٪ ریشه شیرین‌بیان از بالاترین محتوای فنول برخوردار می‌باشد و احتمالاً همین امر سبب شده که این عصاره از بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز برخوردار باشد. ترکیبات فنولی به دلیل وجود گروه‌های هیدروکسیل بالایی که در ساختار خود هستند به‌عنوان دهنده هیدروژن و عامل احیاکننده رادیکال‌های آزاد عمل می‌نمایند (۲۲). پس بنابراین می‌توان انتظار داشت که عصاره‌های که دارای محتوای فنول بیشتری هستند از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نیز برخوردار می‌باشند.

pH همبرگرهای سرخ‌شده

نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که تیمارهای مورد بررسی از لحاظ آماری اثر معنی‌داری بر pH همبرگر گوشت گوساله سرخ‌شده نداشتند (p>۰/۰۵). در شکل ۱، میانگین مقادیر pH نمونه شاهد (فاقد عصاره) و همبرگرهای سرخ‌شده‌ی حاوی سطوح مختلف عصاره‌های الکلی صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان با یکدیگر مقایسه شده و نشان می‌دهد که افزودن سطوح مختلف عصاره‌های صمغ کندر و شیرین‌بیان به فرمولاسیون همبرگر، تأثیر معنی‌داری بر pH همبرگرهای تولیدی نداشت (p>۰/۰۵) که این موضوع احتمالاً در ارتباط با pH نزدیک عصاره‌ها (۰/۰۱ ± ۶/۰۱) با pH همبرگرهای تولیدی می‌باشد. pH ممکن است روی میزان افت رطوبت و نیز ماندگاری محصول در طی دوره نگهداری مؤثر باشد. افزایش pH ممکن است شرایط را برای رشد میکروارگانیسم‌ها را فراهم نماید و از این طریق موجب کاهش زمان ماندگاری محصول شود. همچنین تغییرات pH ممکن است روی قابلیت اتصال به آب پروتئین‌های گوشت مؤثر باشد و از این طریق سبب افزایش آب‌اندازی برگر شود (۱۷و۲۳). بنابراین عدم‌تغییر معنی‌دار pH نسبت به نمونه شاهد می‌تواند به حفظ کیفیت محصول در طی دوره نگهداری و در

طی سرخ کردن کمک نماید. Selani و همکاران (۲۰۱۱)، به طور موافق با نتایج پژوهش حاضر مشاهده نمودند که تلفیق عصاره انگور و پوست آن به گوشت مرغ خام و پخته، تأثیر قابل‌توجهی بر pH نمونه‌ها نداشت (۲۴). Akbarmivehie و Baghaei (۲۰۱۶)، بیان کردند که افزودن عصاره‌های آبی و الکلی شقاقل به فرمولاسیون همبرگر، میزان pH نمونه‌های تولیدی را به طور معنی‌داری افزایش داد (۲۵). این تفاوت در تغییر pH احتمالاً ناشی نوع عصاره، روش استخراج، فرمولاسیون محصول و ... باشد.

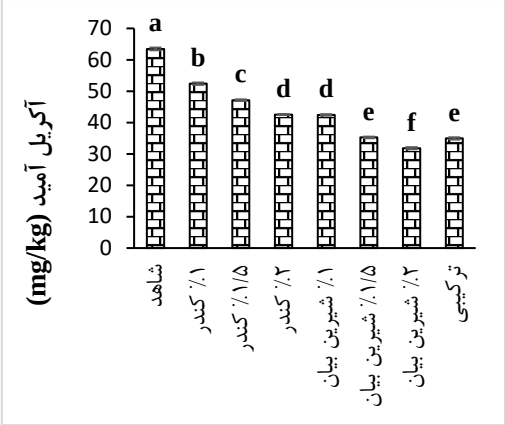


شکل ۱ - مقایسه مقادیر pH تیمارهای مختلف همبرگر پس از سرخ کردن

محتوای آکریل‌آمید

نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که تیمارهای مورد بررسی از لحاظ آماری اثر معنی‌داری بر محتوای آکریل‌آمید همبرگر گوشت گوساله سرخ‌شده داشتند ($p<۰/۰۵$). در شکل ۲، میانگین مقادیر آکریل‌آمید نمونه شاهد (فاقد عصاره) و همبرگرهای سرخ‌شده‌ی حاوی سطوح مختلف عصاره‌های الکلی صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان با یکدیگر مقایسه شده و نشان می‌دهد که افزودن سطوح مختلف عصاره‌های صمغ کندر و شیرین‌بیان به فرمولاسیون همبرگر، منجر به کاهش معنی‌دار محتوای آکریل‌آمید نمونه‌های تولیدی گردید ($p<۰/۰۵$)، به‌طوری‌که بیشترین میزان آکریل‌آمید در نمونه فاقد عصاره به دست آمد (۰/۴۳ ± ۶۳/۴۷ ppb) و با افزایش غلظت عصاره‌های صمغ کندر و شیرین‌بیان در فرمولاسیون، میزان آکریل‌آمید کاهش معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$). تأثیر عصاره ریشه شیرین‌بیان در کاهش محتوای آکریل‌آمید همبرگرها به طور قابل‌توجهی بیشتر از عصاره صمغ کندر بود، چرا که محتوای آکریل‌آمید در نمونه حاوی ۲٪ عصاره الکلی صمغ کندر به ۰/۱۶ ppb ± ۴۲/۵۶ کاهش یافت، درحالی‌که در نمونه حاوی ۲٪ عصاره شیرین‌بیان، محتوای آکریل‌آمید به ۰/۳۴ ppb ± ۳۱/۸۲ رسید. محتوای آکریل‌آمید نمونه حاوی ترکیب عصاره‌ها مشابه با نمونه حاوی ۱/۵٪ عصاره شیرین‌بیان بود. کاهش بیشتر محتوای آکریل‌آمید همبرگرهای سرخ‌شده توسط عصاره شیرین‌بیان بیشتر از عصاره صمغ کندر بود که احتمالاً در ارتباط با بالاتر بودن محتوای ترکیبات فنولی شیرین‌بیان نسبت به صمغ کندر می‌باشد. ترکیبات فنولی به دلیل نقش مهارکنندگی که روی رادیکال‌های آزاد دارند منجر به خنثی نمودن آن‌ها و جلوگیری از تشکیل هیدروپراکسیدها و محصولات ثانویه حاصل از تجزیه آن‌ها خواهند شد. مطالعات نشان داده که ترکیبات فنولی آنتی‌اکسیدان‌های مناسبی جهت جلوگیری از اکسیداسیون ترکیبات مختلف و چربی‌ها می‌باشند. این ترکیبات خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود را به دلیل قابلیت هیدروژن‌دهی و مهار رادیکال‌های آزاد اعمال می‌نمایند (۱۰)؛ بنابراین کاهش تشکیل آکریل‌آمید توسط افزودن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی احتمالاً بدین دلیل است که این آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند در دو واکنش مهم میلارد و اکسیداسیون که منجر به تشکیل آکریل‌آمید می‌شوند، با پیش‌سازهای تشکیل آکریل‌آمید وارد فعل‌وانفعال شوند و مانع از پیشرفت واکنش به سمت مراحل پیشرفته و تشکیل محصولات نهایی می‌شوند (۲۶و۲۷). در واکنش میلارد، بخش قند احیاکننده، با سیستم کنژوگه پلی‌فنول‌های دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی واکنش داده و از این طریق، مانع واکنش قند با آسپاراژین می‌گردد (۲۷و ۲۸). در واکنش اکسیداسیون لیپیدها، طی تخریب این ماکرومولکول‌ها، آکرولئین تشکیل می‌شود که طی واکنش اکسیداسیون، به اسید آکریلیک یا رادیکال آکریلیک تبدیل می‌گردد (۲۹). هر دو این واسطه‌ها درنهایت از طریق واکنش با منابع نیتروژنی،

آکریل‌آمید را تشکیل می‌دهند. آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند سبب بلوکه کردن اکسیداسیون آکرولئین شده و از این طریق، تشکیل آکریل‌آمید را کاهش دهند (۲۷و ۳۰). به طور مشابه Soncu و همکاران (۲۰۱۴)، دریافتند که افزودن سطوح مختلف عصاره چای‌سبز به ناگت مرغ و همبرگر مرغ منجر به کاهش معنی‌دار تشکیل آکریل‌آمید نسبت به نمونه شاهد گردید. افزایش سطح این عصاره از ۰/۵ تا ۱/۵٪ نیز میزان آکریل‌آمید در نمونه‌های تولیدی را کاهش داد، ولی افزایش سطح عصاره از ۱/۵ تا ۳٪، تأثیر قابل‌توجهی بر میزان آکریل‌آمید نشان نداد (۳۱). کاهش آکریل‌آمید توسط افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها، توسط سایر محققین نیز نشان داده شده است. Peng و همکاران (۲۰۱۰)، عصاره هسته انگور را به نان افزوده و دریافتند که کاتچین‌ها[1] و پروآنتوسیانیدین‌های[2] موجود در عصاره هسته انگور قادر به مهار واسطه‌های دی‌کربونیلی (نظیر متیل‌گلیوکسال[3] و گلیوکسال) بوده و از این طریق، به طور غیرمستقیم سبب کاهش تشکیل آکریل‌آمید شدند (۳۲). Fu و همکاران (۲۰۱۷)، نیز کاهش سرعت تشکیل آکریل‌آمید در نان توسط افزودن سطح مختلف اپی‌گالوکاتچین گالات‌های[4] استخراج شده از چای سبز را گزارش نمودند (۳۳). Mahfouz و همکاران (۲۰۱۹) ، تأثیر استفاده از پودر و عصاره چغندر روی کاهش میزان تشکیل آکریل‌آمید در برخی از محصولات گوشتی (ناگت و پتی) را مورد ارزیابی قرار دادند. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده توسط این محققین مشخص شد که استفاده از عصاره شلغم به دلیل وجود ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش تشکیل آکریل‌آمید در محصولات نهایی می‌شود (۳۴).



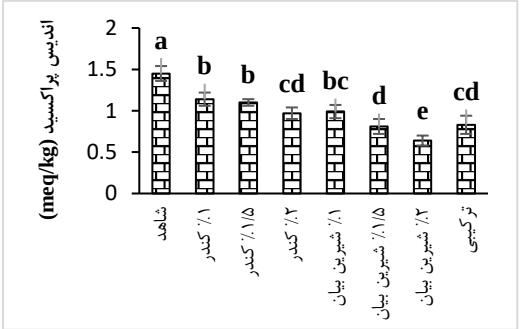
شکل ۲ - مقایسه مقادیر آکریل‌آمید (µg/kg) تیمارهای مختلف همبرگر پس از سرخ کردن

اندیس پراکسید

اندازه‌گیری اندیس پراکسید در موادغذایی و بالأخص فرآورده‌های گوشتی، از اهمیت خاصی برخوردار است (۳۵). اندیس پراکسید به منظور اندازه‌گیری هیدروپراکسیدها که محصولات اولیه اکسیداسیون چربی‌ها و اسیدهای چرب چندغیراشباعی هستند، مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳۶). نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر نشان داد که افزودن عصاره‌های صمغ کندر و شیرین‌بیان به فرمولاسیون همبرگر منجر به کاهش معنی‌دار اندیس پراکسید نمونه‌های تولیدی گردید ($p<0/05$)، به‌طوری‌که بیشترین میزان این اندیس اکسایشی در نمونه شاهد به دست آمد و کمترین میزان آن مربوط به تیمار حاوی ۲٪ شیرین‌بیان بود (شکل ۳). عصاره‌های گیاهی منبع ترکیبات زیست‌فعال و آنتی‌اکسیدان هستند که به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در بسیاری از مطالعات و فرمولاسیون‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند. ترکیب فنولی غالب در عصاره صمغ کندر آلفا-پینن می‌باشد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکالی این عصاره احتمالاً در ارتباط با این ترکیب زیست‌فعال می‌باشد (۳۶). از طرف دیگر ترکیب فنولی غالب در عصاره ریشه شیرین‌بیان پارا-کوماریک اسید می‌باشد. مطالعات نشان داده این ترکیبات فنولی زیست‌فعال عامل اصلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مهارکنندگی رادیکالی این عصاره‌ها می‌باشد (۳۷). همان‌طور که بیان شد این عصاره‌ها دارای ترکیبات زیست‌فعالی

[1] Catechin
[2] Proanthocyanidin
[3] Methylglyoxal
[4] Epigallocatechin gallate

هستند که بسیاری از خصوصیات بیولوژیکی آن‌ها را به دنبال دارند. این ترکیبات به دلیل قابلیت هیدروژن دهندگی که دارند از تشکیل ترکیبات اولیه اکسیداسیون جلوگیری می‌کنند. این یافته‌ها با نتایج دیگر محققین مطابقت داشت. Kochhar (۲۰۰۰)، نشان داد که آنتی‌اکسیدان‌ها از طریق اهداء اتم‌های هیدروژن، واکنش‌های اکسیداسیون را به تأخیر انداخته و مانع تشکیل رادیکال‌های آزاد می‌گردند. در واقع، پلی‌فنول‌ها توانایی به دام انداختن رادیکال‌های آزاد را دارند، خصوصاً رادیکال‌های پروکسی که یکی از کلیدی‌ترین واکنش‌دهنده‌های زنجیره‌ی میانی‌اند، درنتیجه باعث خاتمه دادن چرخه واکنش‌های فساد اکسایشی و کاهش سرعت تشکیل هیدروپراکسیدها می‌شوند (۳۸). همچنین Babu و همکاران (۲۰۱۷)، در بررسی تأثیر عصاره *Caralluma Fimbriata* بر تشکیل آکریل‌آمید و واکنش اکسیداسیون در سیب‌زمینی سرخ شده نشان دادند که افزودن این عصاره، علاوه بر کاهش میزان آکریل‌آمید در نمونه‌ها، سرعت تشکیل محصولات اولیه حاصل از اکسیداسیون را به طور قابل‌توجهی کاهش داده و ازاین‌رو، موجب کاهش اندیس پراکسید گردید (۳۹). همچنین Manzoor و همکاران (۲۰۲۲)، تأثیر استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی استخراج شده از تفاله پوست سیب روی تشکیل محصولات اکسیداسیون در طی سرخ کردن را مورد ارزیابی قرار دادند. آن‌ها اظهار نمودند که استفاده از غلظت‌های بالای این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش تشکیل محصولات اولیه اکسیداسیون و درنتیجه کاهش شاخص‌های اکسیداسیون نظیر اندیس پارکسید می‌شوند (۴۰).

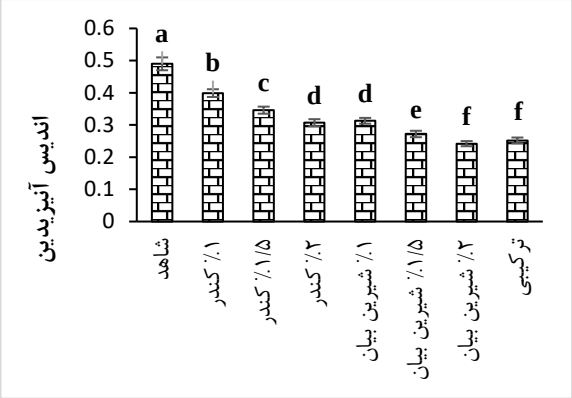


شکل ۳ - مقایسه مقادیر اندیس پراکسید (meq/kg) تیمارهای مختلف همبرگر پس از سرخ کردن

اندیس آنیزیدین

به دلیل تجزیه هیدروپراکسیدها در دمای بالا و تشکیل ترکیبات ثانویه نظیر آلدئیدها و کتون‌ها، وجود آزمونی نظیر تعیین اندیس آنیزیدین که شاخصی از توسعه اکسیداسیون می‌باشد، ضروری به نظر می‌رسد (۴۱). نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که تیمارهای مورد بررسی از لحاظ آماری اثر معنی‌داری بر اندیس آنیزیدین همبرگر گوشت گوساله سرخ‌شده داشتند ($p<۰/۰۵$). در شکل ۴، میانگین مقادیر اندیس آنیزیدین نمونه شاهد (فاقد عصاره) و همبرگرهای سرخ‌شده‌ی حاوی سطوح مختلف عصاره‌های الکلی صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان با یکدیگر مقایسه شده و نشان می‌دهد که افزودن غلظت‌های مختلف عصاره‌های الکلی صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان به فرمولاسیون همبرگر، موجب کاهش معنی‌دار اندیس آنیزیدین در نمونه‌های سرخ‌شده گردید ($p<۰/۰۵$)، به‌طوری‌که بیشترین میزان اندیس آنیزیدین در نمونه شاهد به دست آمد (۰/۰۲۰ ± ۰/۴۹۰) و با افزایش غلظت عصاره‌های صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان در نمونه‌ها، میزان اندیس آنیزیدین به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). عصاره ریشه شیرین‌بیان نسبت به عصاره صمغ کندر، قابلیت بالاتری در کاهش محصولات ثانویه حاصل از اکسیداسیون چربی‌ها در همبرگرهای سرخ‌شده از خود نشان داد، به‌طوری‌که در نمونه‌های حاوی ۲٪ از عصاره‌های صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان، اندیس آنیزیدین به ترتیب به ۰/۰۱۱ ± ۰/۳۰۷ و ۰/۰۰۸ ± ۰/۲۴۲ کاهش پیدا کرد. همان‌طور که نتایج تعیین محتوای فنولی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد این رفتار احتمالاً ناشی از وجود ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی بیشتر در عصاره شیرین‌بیان باشد. بین مقادیر اندیس آنیزیدین نمونه‌های حاوی ۲٪ عصاره صمغ کندر و ۱٪ عصاره شیرین‌بیان و همچنین نمونه‌های حاوی ۲٪ عصاره شیرین‌بیان و نمونه ترکیبی، از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). دلیل این رفتارها احتمالاً ناشی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنولی تقریباً مشابه این تیمارها می‌باشد.

اندیس پراکسید به‌تنهایی مشخص‌کننده اکسیداسیون چربی‌ها نمی‌باشد، زیرا این عدد شاخصی از وجود محصولات اولیه اکسیداسیون است و تولید محصولات ثانویه را نشان نمی‌دهد. اندیس آنیزیدین برای اندازه‌گیری مقدار ترکیبات ثانویه اکسیداسیون کربونیلی اشباع و غیراشباع با وزن مولکولی بالا شامل آلفا و بتا-آلکنال‌ها (به‌طورکلی ۲-آلکنال‌ها و ۴،۲-آلکادی‌ان‌ها) در چربی‌ها و روغن‌ها به کار می‌رود؛ به‌طوری‌که این ترکیبات کربونیلی در چربی‌ها با معرف پارا-آنیزیدین تحت شرایط اسیدی واکنش می‌دهند (۴۱). فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزودنی‌های گیاهی نظیر عصاره‌ها و اسانس‌ها، به دلیل حضور ترکیبات زیست‌فعال، مخصوصاً فلاوونوئیدها و ترکیبات فنولی در آن‌ها می‌باشد. فلاوونوئیدها به دلیل ساختاری که دارند، به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کرده و از طریق اهداء هیدروژن، سبب مهار رادیکال‌های پراکسی لیپید می‌گردند و این رادیکال‌ها را پایدارتر می‌نمایند (۴۲). ترکیبات گیاهی که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند، اثر خود را از طریق روش‌های مختلف نظیر تداخل با واکنش‌های مرحله انتشار اکسیداسیون، ممانعت از سیستم‌های آنزیمی شرکت‌کننده در واکنش‌های مرحله آغاز اکسیداسیون اعمال می‌کنند. همچنین آن‌ها می‌توانند به‌عنوان دهنده هیدروژن، مهارکننده رادیکال‌های آزاد و شلاته‌کننده یون‌های فلزی عمل نمایند (۴۳). بر طبق یافته‌های Babu و همکاران (۲۰۱۷)، عصاره *Caralluma Fimbriata* قادر به کاهش میزان آکریل‌آمید و کاهش تشکیل محصولات ثانویه حاصل از اکسیداسیون چربی‌ها در نمونه‌های سیب‌زمینی سرخ شده بود و اندیس آنیزیدین را نسبت به نمونه شاهد و نمونه حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA به طور معنی‌داری کاهش داد. آن‌ها دلیل این رفتار را به قابلیت مهار رادیکال‌های آزاد درنتیجه مراحل اولیه اکسیداسیون نسبت دادند. این محققین اظهار نمودند که ترکیبات فنولی موجود در عصاره اتم هیدروژن خود را به محصولات اولیه اکسیداسیون می‌دهند و مانع از تشکیل ترکیبات حدواسط می‌شوند که به‌عنوان پیش‌ساز مراحل پیشرفته اکسیداسیون عمل می‌کنند(۳۹).

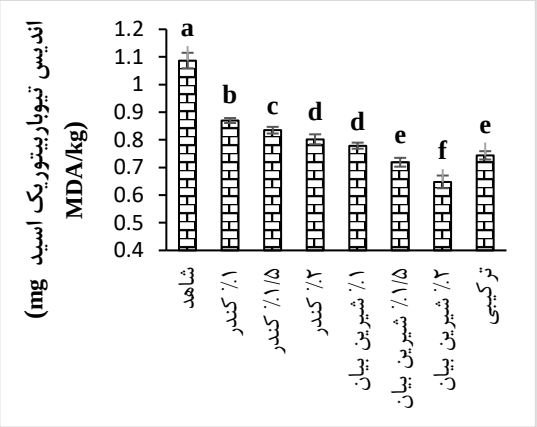


شکل ۴- مقایسه مقادیر اندیس آنیزیدین تیمارهای مختلف همبرگر پس از سرخ کردن

اندیس TBA

به‌طورکلی، ترکیبات فنولی جزو عوامل مهم در مهار رادیکال‌های آزاد هستند، ولی در برخی از گونه‌های گیاهی، اثرات آنتی‌اکسیدانی ترکیبات زیست‌فعالی نظیر کاروتنوئیدها، پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، پپتیدها و رنگدانه‌ها نیز ممکن است در مهار این رادیکال‌های آزاد دخالت داشته باشند (۴۴). نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که تیمارهای مورد بررسی از لحاظ آماری اثر معنی‌داری بر اندیس TBA همبرگر گوشت گوساله سرخ‌شده داشتند (p<۰/۰۵). در شکل ۵، میانگین مقادیر اندیس TBA نمونه شاهد (فاقد عصاره) و همبرگرهای سرخ‌شده‌ی حاوی سطوح مختلف عصاره‌های الکلی صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان با یکدیگر مقایسه شده و نشان می‌دهد که افزودن عصاره‌های صمغ کندر و شیرین‌بیان به فرمولاسیون همبرگر و افزایش غلظت آن‌ها، منجر به کاهش معنی‌دار اندیس TBA نمونه‌های همبرگر گردید (p<۰/۰۵)، به‌طوری‌که بیشترین میزان این اندیس اکسایشی مربوط به نمونه شاهد بود (mg MDA/kg ۰/۰۲۸ ± ۱/۰۸۷) و با افزایش غلظت عصاره‌های صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان در فرمولاسیون، میزان اندیس TBA به طور معنی‌داری کاهش یافت (p<۰/۰۵). عصاره ریشه شیرین‌بیان نسبت به عصاره صمغ کندر، کاهش بیشتری در میزان اندیس TBA همبرگرهای سرخ‌شده ایجاد نمود، به‌طوری‌که در نمونه‌های حاوی ۲٪ از عصاره‌های صمغ

کندر و ریشه شیرین‌بیان، اندیس TBA به ترتیب به ۰/۰۱۸ ± ۰/۸۰۲ و ۰/۰۲۳ ± ۰/۶۴۸ mg MDA/kg کاهش یافت. بین میانگین مقادیر اندیس TBA نمونه‌های حاوی ۲٪ عصاره صمغ کندر و ۱٪ عصاره شیرین‌بیان و همچنین نمونه‌های حاوی ۱/۵٪ عصاره شیرین‌بیان و نمونه ترکیبی، از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p>0/05$). این رفتار احتمالاً ناشی از محتوای فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی تقریباً مشابه این تیمارها باشد که در بخش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنولی کل نشان داده شده است. به منظور ارزیابی درجه اکسیداسیون چربی‌ها در محصولات گوشتی، به طور متداول از شاخص TBA استفاده می‌شود که نشان‌دهنده میزان محصولات ثانویه حاصل از اکسیداسیون، به ویژه مالون‌آلدئید، می‌باشد (۴۵). این اندیس اکسیداسیون، ناشی از واکنش ترکیبات حدواسط اکسیداسیون مراحل اولیه با TBA حاصل از مرحله دوم اتواکسیداسیون چربی‌ها است که طی آن پراکسیدها به موادی نظیر آلدئیدها و کتون‌ها اکسید می‌شوند به طور مشابه Soncu و همکاران (۲۰۱۴)، تأثیر عصاره چای‌سبز بر شاخص اکسایش همبرگر مرغ سرخ‌شده به روش عمیق را مورد بررسی قرار داده و گزارش نمودند که بیشترین میزان اندیس TBA در نمونه شاهد به دست آمد و افزودن ۰/۵٪ عصاره چای سبز به نمونه‌ها، میزان اندیس TBA را به طور معنی‌داری کاهش داد، بااین‌حال، افزودن ۱/۵ و ۳٪ عصاره سبب افزایش میزان این اندیس اکسایشی نسبت به نمونه حاوی ۰/۵٪ عصاره شد، ولی میزان آن‌ها همواره کمتر از نمونه شاهد بود (۳۱). علاوه بر این Abdel-Hamied و همکاران (۲۰۰۹)، به طور موافق با نتایج پژوهش حاضر بیان کردند که افزودن عصاره‌های رزماری و ساج به نمونه‌های گوشت چرخ کرده سبب کاهش معنی‌دار میزان TBA گردید و سرعت افزایش میزان این اندیس در طی زمان نگهداری را نسبت به نمونه شاهد کاهش داد. آن‌ها بیان کردند که ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌های رزماری و ساج به دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی آن‌ها موجب جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد در مراحل اولیه و تأخیر در مرحله مقدمه و انتشار اکسیداسیون باعث تأخیر و جلوگیری از اکسیداسیون پیشرفته می‌شوند (۴۶).



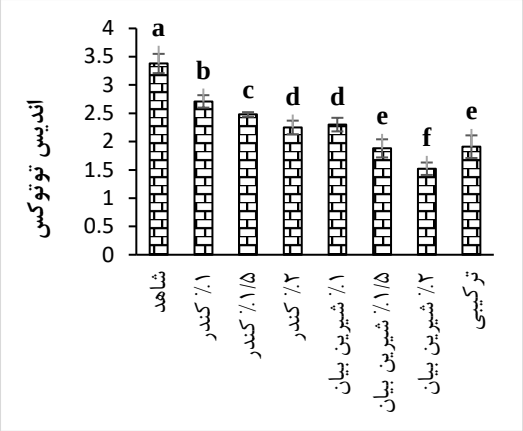
شکل ۵ - مقایسه مقادیر اندیس TBA (mg MDA/kg) تیمارهای مختلف همبرگر پس از سرخ کردن

اندیس توتوکس

استفاده از اندیس پراکسید و اندیس آنیزیدین توأم با هم سبب فراهم‌سازی دید جامعی در مورد فرآیند اکسیداسیون در روغن‌ها و چربی‌ها می‌گردد که به‌عنوان اندیس توتوکس محاسبه می‌شود و برای پیش‌بینی ریاضی ثبات اکسیداتیو به کار می‌رود. از اندیس توتوکس به‌عنوان یک شناساگر برای ارزیابی ثبات کلی اکسیداتیو استفاده می‌شود و در ارتباط با توسعه تجزیه روغن‌ها و چربی‌ها می‌باشد (۴۷). نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که تیمارهای مورد بررسی از لحاظ آماری اثر معنی‌داری بر اندیس توتوکس همبرگر گوشت گوساله سرخ‌شده داشتند ($p<0/05$). در شکل ۶، میانگین مقادیر اندیس توتوکس نمونه شاهد (فاقد عصاره) و همبرگرهای سرخ‌شده‌ی حاوی سطوح مختلف عصاره‌های الکلی صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان با یکدیگر مقایسه شده و نشان می‌دهد که افزودن غلظت‌های مختلف عصاره‌های الکلی صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان به فرمولاسیون همبرگر، موجب کاهش معنی‌دار اندیس توتوکس در نمونه‌های سرخ‌شده گردید ($p<0/05$)، به‌طوری‌که بیشترین میزان اندیس توتوکس در نمونه شاهد به دست آمد (۰/۱۷ ± ۳/۳۸) و با افزایش غلظت عصاره‌های الکلی

صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان در نمونه‌ها، میزان اندیس توتوکس به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). همان‌طوری که انتظار می‌رفت، عصاره ریشه شیرین‌بیان نسبت به عصاره صمغ کندر، قابلیت بالاتری در کاهش محصولات اولیه و ثانویه حاصل از اکسیداسیون چربی‌ها در همبرگرهای سرخ‌شده از خود نشان داد، به‌طوری‌که در نمونه‌های حاوی ۲٪ از عصاره‌های صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان، اندیس توتوکس به ترتیب به ۰/۱۲ ± ۲/۲۵ و ۰/۱۱ ± ۱/۵۲ کاهش یافت. بین مقادیر اندیس توتوکس نمونه‌های حاوی ۲٪ عصاره صمغ کندر و ۱٪ عصاره شیرین‌بیان و همچنین نمونه‌های حاوی ۱/۵٪ عصاره شیرین‌بیان و نمونه ترکیبی، از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). محققین اظهار داشتند که ترکیبات فنولی موجود در شیرین‌بیان به‌عنوان حذف‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد و دهنده هیدروژن عمل نموده، لذا به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان مؤثر عمل می‌کنند (۴۸). برخی از مهم‌ترین ترکیبات ثانویه و دارویی ریشه شیرین‌بیان شامل لیکوریتیجنین[1]، لیکوریتین[2]، ایزولیکوریتیجنین[3] و ایزولیکوریتین[4] گزارش شده‌اند که در تحقیقات مختلف به‌عنوان آنتی‌اکسیدان معرفی شده‌اند (۴۹). در تحقیقات مشخص شده است که ریشه شیرین‌بیان به دلیل سنتز بسیاری از متابولیت‌های ثانویه مفید از قبیل ساپونین، فلاوونوئیدها و فنول‌ها، دارای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی می‌باشند، چرا که تاکنون بیش از ۳۰۰ نوع فلاوونوئید از گونه‌های مختلف شیرین‌بیان جداسازی شده‌اند (۵۰). Sharma و Agrawal (۲۰۱۳)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی شیرین‌بیان را به وجود ترکیبات مهمی نظیر گلیسیریزین، گلیسیریزیک‌اسید، گلابرین A و B، تری‌ترپن‌های استرولی، ساپونین و ایزوفلاوون‌ها نسبت دادند (۵۱). مطالعه نشان داده که عصاره صمغ کندر ترکیبات ترپنی و پلی‌فنولی توانایی خوبی در اهداء الکترون و واکنش با رادیکال‌های آزاد دارد، به‌نحوی‌که می‌تواند این رادیکال‌ها را به محصولات باثبات‌تر تبدیل نموده و مانع واکنش‌های زنجیری اکسایشی شوند (۵۲). وجود ترکیبات زیست‌فعالی نظیر فلاوونوئیدها، ترپنوئیدها، استروئیدها، تانن‌ها، ساپونین‌ها و کومارین‌ها در صمغ کندر گزارش شده است که در ایجاد فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجه این رزین نقش دارند. در کل، ترکیبات فنولی از طریق مکانیسم‌های مختلفی نظیر جذب رادیکال‌های آزاد، مهار انواع اکسیژن یگانه، بازدارندگی آنزیم‌های اکسیدکننده و شلاته کردن فلزات، می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کنند. محققین اظهار داشتند که ترکیبات فنولی می‌توانند به راحتی یک اتم هیدروژن را به رادیکال‌های پروکسید چربی انتقال دهند و رادیکال‌های پایدار فنوکسیل و هیدروپراکسیدهای سیس و ترانس چربی را که کم اثرترند را تولید نمایند. همچنین مشخص شده است که ترکیبات فنولی می‌توانند رادیکال‌های پروکسی چربی را با انتقال الکترون منفرد خنثی کنند (۵۳). همچنین در پژوهش صورت گرفته توسط Viuda-Martos و همکاران (۲۰۰۹)، به طور موافق با نتایج پژوهش حاضر گزارش شد که با افزودن اسانس مرزنجوش وحشی و اسانس آویشن به سوسیس بلوگنا، میزان اکسیداسیون چربی‌ها در نمونه‌های تیمار شده با اسانس‌ها نسبت به نمونه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت (۵۴). اکبرمیوه‌ای و بقایی (۲۰۱۶)، نیز کاهش اندیس توتوکس همبرگر در اثر افزودن عصاره آبی شقاقل را مشاهده نمودند. آن‌ها دلیل این رفتار را به قابلیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد توسط ترکیبات فنولی نسبت دادند که منجر به کاهش اندیس پراکسید و اندیس آنیزیدین شدند. با کاهش اندیس‌های پراکسید و آنیزیدین به دنبال آن اندیس توتوکس نیز کاهش می‌یابد (۲۵).

[1] Liquiritigenin
[2] Liquiritin
[3] Isoliquiritigenin
[4] Isoliquiritin



شکل ۶ - مقایسه مقادیر اندیس توتوکس تیمارهای مختلف همبرگر پس از سرخ کردن

ارزیابی حسی

نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که تیمارهای مورد بررسی از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری از لحاظ بافت و رنگ همبرگر گوشت گوساله سرخ‌شده نداشتند ($p>0/05$). در جدول ۳، میانگین امتیازات بافت و رنگ نمونه شاهد (فاقد عصاره) و همبرگرهای سرخ‌شده‌ی حاوی سطوح مختلف عصاره‌های الکلی صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان با یکدیگر مقایسه شده و نشان می‌دهد که افزودن سطوح مختلف عصاره‌های صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان به فرمولاسیون همبرگر، تأثیر معنی‌داری بر بافت همبرگرهای تولیدی نداشت ($p>0/05$). نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که تیمارهای مورد بررسی از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری از لحاظ عطروطعم همبرگر گوشت گوساله سرخ‌شده داشتند ($p<0/05$). در جدول ۳، میانگین امتیازات عطروطعم نمونه شاهد (فاقد عصاره) و همبرگرهای سرخ‌شده‌ی حاوی سطوح مختلف عصاره‌های الکلی صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان با یکدیگر مقایسه شده و نشان می‌دهد که افزودن سطوح مختلف عصاره صمغ کندر به فرمولاسیون همبرگر، تأثیر معنی‌داری بر عطروطعم همبرگرهای تولیدی نداشت ($p>0/05$)، درحالی‌که با افزایش غلظت عصاره الکلی ریشه شیرین‌بیان در نمونه‌ها، امتیاز پذیرش کلی همبرگرها به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<0/05$) و کمترین امتیاز را نمونه حاوی ۲٪ عصاره ریشه شیرین‌بیان کسب نمود (۰/۴۸ ± ۲/۳۰). نمونه حاوی ترکیب دو عصاره نیز اختلاف معنی‌داری با نمونه شاهد نشان نداد ($p>0/05$). نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که تیمارهای مورد بررسی از لحاظ آماری اثر معنی‌داری بر پذیرش کلی همبرگر گوشت گوساله سرخ‌شده داشتند ($p<0/05$). در جدول ۳، میانگین امتیازات پذیرش کلی نمونه شاهد (فاقد عصاره) و همبرگرهای سرخ‌شده‌ی حاوی سطوح مختلف عصاره‌های الکلی صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان با یکدیگر مقایسه شده و نشان می‌دهد که افزودن سطوح مختلف عصاره صمغ کندر به فرمولاسیون همبرگر، تأثیر معنی‌داری بر پذیرش کلی همبرگرهای تولیدی نداشت ($p>0/05$)، درحالی‌که با افزایش غلظت عصاره الکلی ریشه شیرین‌بیان در نمونه‌ها، امتیاز پذیرش کلی همبرگرها به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<0/05$) و کمترین امتیاز را نمونه حاوی ۲٪ عصاره ریشه شیرین‌بیان کسب نمود (۰/۲۱ ± ۲/۵۰). نمونه حاوی ترکیب دو عصاره نیز اختلاف معنی‌داری با نمونه شاهد نشان نداد ($p>0/05$). تأثیر عصاره صمغ کندر بر عطروطعم و پذیرش کلی همبرگرها نیز از لحاظ آماری معنی‌دار نبود، ولی به دلیل وجود ترکیبات دارای طعم شیرین نظیر گلیسیریزین در ریشه شیرین‌بیان، افزودن سطح بالای عصاره‌ی این گیاه به نمونه‌ها منجر به کاهش معنی‌دار امتیاز عطروطعم و درنتیجه کاهش پذیرش حسی همبرگرهای تولیدی گردید ($p<0/05$). Babu و همکاران (۲۰۱۷)، مشاهده کردند که افزودن عصاره *Caralluma Fimbriata* میزان آکریل‌آمید در سیب‌زمینی‌های سرخ شده را کاهش داده و پذیرش حسی نمونه‌های تولیدی را افزایش داد (۳۹).

جدول ۳ - نتایج ارزیابی خصوصیات حسی همبرگر گوشت گوساله‌ی سرخ‌شده حاوی عصاره‌های اتانولی صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان

تیمارها	بافت	عطروطعم	رنگ	پذیرش کلی
T0	۴/۸۰ ± ۰/۴۲ ^{a}	۵/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{a}	۴/۹۰ ± ۰/۳۲ ^{a}	۴/۹۰ ± ۰/۳۲ ^{ab}
T1	۴/۹۰ ± ۰/۳۲ ^{a}	۴/۹۰ ± ۰/۳۲ ^{a}	۵/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{a}	۵/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{a}
T2	۴/۹۰ ± ۰/۳۲ ^{a}	۴/۹۰ ± ۰/۳۲ ^{a}	۴/۹۰ ± ۰/۳۲ ^{a}	۴/۹۰ ± ۰/۳۲ ^{ab}
T3	۴/۸۰ ± ۰/۴۲ ^{a}	۴/۹۰ ± ۰/۳۲ ^{a}	۴/۹۰ ± ۰/۳۲ ^{a}	۴/۸۰ ± ۰/۴۲ ^{ab}
T4	۴/۹۰ ± ۰/۳۲ ^{a}	۴/۶۰ ± ۰/۵۲ ^{a}	۵/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{a}	۴/۶۰ ± ۰/۲۱ ^{b}
T5	۴/۹۰ ± ۰/۳۲ ^{a}	۳/۳۰ ± ۰/۴۸ ^{b}	۴/۹۰ ± ۰/۳۲ ^{a}	۳/۳۰ ± ۰/۴۸ ^{c}
T6	۴/۹۰ ± ۰/۳۲ ^{a}	۲/۳۰ ± ۰/۴۸ ^{c}	۴/۹۰ ± ۰/۳۲ ^{a}	۲/۵۰ ± ۰/۲۱ ^{d}
T7	۴/۹۰ ± ۰/۳۲ ^{a}	۴/۶۰ ± ۰/۵۲ ^{a}	۴/۸۰ ± ۰/۴۲ ^{a}	۴/۵۰ ± ۰/۲۱ ^{b}

*حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در هر ستون می‌باشند ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری

در این تحقیق، تأثیر عصاره‌های اتانولی صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان به‌تنهایی و به طور ترکیبی بر محتوای آکریل‌آمید، اندیس‌های اکسایشی و ویژگی‌های حسی همبرگر گوشت گوساله‌ی سرخ‌شده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزودن عصاره‌های صمغ کندر و شیرین‌بیان به فرمولاسیون همبرگر اثر معنی‌داری بر pH نمونه‌های تولیدی نداشت ($p>۰/۰۵$). با افزودن عصاره‌های مذکور به همبرگرها، محتوای آکریل‌آمید در نمونه‌های تولیدی نسبت به نمونه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت و با افزایش غلظت این عصاره‌ها نیز کاهش معنی‌داری در میزان آکریل‌آمید همبرگرهای سرخ‌شده مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$). نتایج حاصل از بررسی اندیس‌های اکسایشی نیز تائیدکننده نتایج محتوای آکریل‌آمید بود، به‌نحوی‌که با افزایش غلظت عصاره‌های صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان در نمونه‌ها، به دلیل افزایش غلظت ترکیبات زیست‌فعال، فعالیت آنتی‌اکسیدانی تشدید یافته و ازاین‌رو، اندیس‌های پراکسید، آنیزیدین، TBA و توتوکس کاهش قابل‌توجهی نشان دادند ($p<۰/۰۵$). ازآنجایی‌که عصاره شیرین‌بیان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به عصاره صمغ کندر از خود نشان داد، محتوای آکریل‌آمید همبرگرهای سرخ‌شده را نیز نسبت به عصاره صمغ کندر بیشتر کاهش داد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی و قدرت کاهندگی آکریل‌آمید در نمونه حاوی ترکیب ۱ درصد عصاره صمغ کندر و ۱٪ عصاره ریشه شیرین‌بیان مشابه با نمونه حاوی غلظت ۱/۵٪ شیرین‌بیان به‌تنهایی بود. نتایج حاصل از ارزیابی حسی نمونه‌ها بیان کرد که افزودن عصاره‌های صمغ کندر و شیرین‌بیان به فرمولاسیون همبرگر، تأثیر قابل‌توجهی بر ویژگی‌های حسی بافت و رنگ نداشت. تأثیر عصاره صمغ کندر بر عطروطعم و پذیرش کلی همبرگرهای سرخ‌شده نیز بی‌معنی بود، ولی با افزایش غلظت عصاره شیرین‌بیان در نمونه‌ها، امتیاز عطروطعم و به دنبال آن امتیاز پذیرش کلی به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). نتایج این تحقیق در کل نشان داد که هر دو عصاره الکلی صمغ کندر و ریشه شیرین‌بیان توانستند به طور قابل‌توجهی سرعت اکسیداسیون و میزان تشکیل آکریل‌آمید در همبرگرهای سرخ شده را کاهش دهند، ولی تأثیر عصاره شیرین‌بیان بالاتر از عصاره صمغ کندر بود. مطلوب‌ترین فعالیت زیست‌فعالی در نمونه حاوی ۲٪ عصاره شیرین‌بیان به دست آمد و نمونه‌های حاوی ۱٪/۵ عصاره شیرین‌بیان و نمونه ترکیبی در رتبه دوم قرار داشتند. بااین‌حال، به دلیل پذیرش حسی پایین نمونه‌های حاوی ۱/۵ و ۲٪ عصاره شیرین‌بیان، نمونه ترکیبی به‌عنوان تیمار برتر معرفی گردید.

References

1. Berger LM, Witte F, Terjung N, Weiss J, Gibis M. Influence of Processing Steps on Structural, Functional, and Quality Properties of Beef Hamburgers. Appl Sci. 2022;12(15):7377.
2. Asokapandian S, Swamy GJ, Hajjul H. Deep fat frying of foods: A critical review on process and product parameters. Crit Rev Food Sci Nutr. 2020;60(20):3400–13.
3. Gholami F, Rahman A, Mostaghim T. Effects of rosemary and thyme extracts on acrylamide formation in fried beef. International Journal of Scientific Research in Science and Technology. 2017;3(4):352-60.
4. Abasian Rad AH, Salehifar M, Mostaghim T. The effect of using the bamboo leaf and Oregano (Mentha logifolia L.) essential oil on acrylamide content qualitative characteristics in Zwieback. J Food Technol Nutr. 2021; 18:61–74.
5. Dourado C, Pinto C, Barba FJ, Lorenzo JM, Delgadillo I, Saraiva JA. Innovative non-thermal technologies affecting potato tuber and fried potato quality. Trends Food Sci Technol. 2019; 88:274–89.
6. Rifai L, Saleh FA. A review on acrylamide in food: occurrence, toxicity, and mitigation strategies. Int J Toxicol. 2020;39(2):93–102.
7. Kuek SL, Tarmizi AHA, Abd Razak RA, Jinap S, Norliza S, Sanny M. Contribution of lipid towards acrylamide formation during intermittent frying of French fries. Food Control. 2020; 118:107430.
8. Mesias M, Delgado-Andrade C, Morales FJ. An updated view of acrylamide in cereal products. Curr Opin Food Sci. 2022; 46:100847.
9. Schouten MA, Tappi S, Angeloni S, Cortese M, Caprioli G, Vittori S, et al. Acrylamide formation and antioxidant activity in coffee during roasting–A systematic study. Food Chem. 2021; 343:128514.
10. Bachir N, Haddarah A, Sepulcre F, Pujola M. Formation, mitigation, and detection of acrylamide in foods. Food Anal Methods. 2022;15(6):1736–47.
11. Gomaa AA, Farghaly HA, Abdel-Wadood YA, Gomaa GA. Potential therapeutic effects of boswellic acids/Boswellia serrata extract in the prevention and therapy of type 2 diabetes and Alzheimer's disease. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2021;1–19.
12. Noreen S, Mubarik F, Farooq F, Khan M, Khan AU, Pane YS. Medicinal Uses of Licorice (Glycyrrhiza glabra L.): A Comprehensive Review. Open Access Maced J Med Sci. 2021;9(F):668–75.
13. Ahmad SNS, Tarmizi AHA, Razak RAA, Jinap S, Norliza S, Sulaiman R, et al. Selection of vegetable oils and frying cycles influencing acrylamide formation in the intermittently fried beef nuggets. Foods. 2021;10(2):257.
14. Basaran B, Faiz O. Determining the levels of acrylamide in some traditional foods unique to Turkey and risk assessment. Iran J Pharm Res IJPR. 2022;21(1).
15. Hasan MK, Ara I, Mondal MSA, Kabir Y. Phytochemistry, pharmacological activity, and potential health benefits of Glycyrrhiza glabra. Heliyon. 2021;7(6):e07240.
16. Kazlauskaite JA, Matulyte I, Marksa M, Lelesius R, Pavilonis A, Bernatoniene J. Application of Antiviral, Antioxidant and Antibacterial Glycyrrhiza glabra L., Trifolium pratense L. Extracts and Myristica fragrans Houtt. Essential Oil in Microcapsules. Pharmaceutics. 2023;15(2):464.
17. Mancini S, Preziuso G, Dal Bosco A, Roscini V, Szendrő Z, Fratini F, et al. Effect of turmeric powder (Curcuma longa L.) and ascorbic acid on physical characteristics and oxidative status of

fresh and stored rabbit burgers. Meat Sci. 2015; 110:93–100.
18. Mekawi EM, Sharoba AM, Ramadan MF. Reduction of acrylamide formation in potato chips during deep-frying in sunflower oil using pomegranate peel nanoparticles extract. J food Meas Charact. 2019; 13:3298–306.
19. Heydari Ashkezari M, Salehifar M. Inhibitory effects of pomegranate flower extract and vitamin B3 on the formation of acrylamide during the donut making process. J Food Meas Charact. 2019; 13:735–44.
20. Nagpal T, Alam S, Khare SK, Satya S, Chaturvedi S, Sahu JK. Effect of Psidium guajava leaves extracts on thermo-lipid oxidation and Maillard pathway born food toxicant acrylamide in Indian staple food. J Food Sci Technol. 2021;1–9.
21. Trujillo-Mayol I, Sobral MMC, Viegas O, Cunha SC, Alarcón-Enos J, Pinho O, et al. Incorporation of avocado peel extract to reduce cooking-induced hazards in beef and soy burgers: A clean label ingredient. Food Res Int. 2021; 147:110434.
22. Ahmed AF, Attia FAK, Liu Z, Li C, Wei J, Kang W. Antioxidant activity and total phenolic content of essential oils and extracts of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) plants. Food Sci Hum Wellness. 2019;8(3):299–305.
23. Vergara H, Cózar A, Rubio N. Lamb meat burgers shelf life: Effect of the addition of different forms of rosemary (Rosmarinus Officinalis L.). CyTA-Journal Food. 2021;19(1):606–13.
24. Selani MM, Contreras-Castillo CJ, Shirahigue LD, Gallo CR, Plata-Oviedo M, Montes-Villanueva ND. Wine industry residues extract as natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage. Meat Sci. 2011;88(3):397–403.
25. Akbarmivehie M, Baghaei H. The Effect of Addition Parsnip Herb and its Extract on Momtaze Hamburger Shelf Life. Eur Online J, Nat Soc Sci 5 132. 2016;146.
26. Taeymans D, Wood J, Ashby P, Blank I, Studer A, Stadler RH, et al. A review of acrylamide: an industry perspective on research, analysis, formation, and control. Crit Rev Food Sci Nutr. 2004;44(5):323–47.
27. Ciesarová Z, Suhaj M, Horváthová J. Correlation between acrylamide contents and antioxidant capacities of spice extracts in a model potato matrix. J Food Nutr Res. 2008;47(1). 1-5.
28. Schieberle P, Köhler P, Granvogl M. New aspects on the formation and analysis of acrylamide. In: Chemistry and safety of acrylamide in food. Springer; 2005. p. 205–22.
29. Becalski A, Lau BP-Y, Lewis D, Seaman SW. Acrylamide in foods: occurrence, sources, and modeling. J Agric Food Chem. 2003;51(3):802–8.
30. Zhang Y, Xu W, Wu X, Zhang X, Zhang Y. Addition of antioxidant from bamboo leaves as an effective way to reduce the formation of acrylamide in fried chicken wings. Food Addit Contam. 2007;24(3):242–51.
31. Soncu ED, Kolsarıcı N, Akoğlu İT, Bektaş G. The effects of vacuum tumbling combined with sodium tripolyphosphate on lipolytic and oxidative changes in beef döner. GIDA. 2014; 39 (5): 259-266.
32. Peng X, Ma J, Cheng K-W, Jiang Y, Chen F, Wang M. The effects of grape seed extract fortification on the antioxidant activity and quality attributes of bread. Food Chem. 2010;119(1):49–53.
33. Fu Z, Yoo MJY, Zhou W, Zhang L, Chen Y, Lu J. Effect of (−)-epigallocatechin gallate (EGCG) extracted from green tea in reducing the formation of acrylamide during the bread baking process. Food Chem. 2018; 242:162–8.
34. Mahfouz M, Abd-Elnoor A V, El-Razek A, Ragwa I. The influence of

adding turnip roots (Brassica rapa var. rapa L.) powder on the antioxidant activity and acrylamide content in some fried foods. Alexandria Sci Exch J. 2019; 40:717–30.
35. Grzesik M, Bartosz G, Stefaniuk I, Pichla M, Namieśnik J, Sadowska-Bartosz I. Dietary antioxidants as a source of hydrogen peroxide. Food Chem. 2019; 278:692–9.
36. Petrovic S, Arsic A, Ristic-Medic D, Cvetkovic Z, Vucic V. Lipid peroxidation and antioxidant supplementation in neurodegenerative diseases: a review of human studies. Antioxidants. 2020;9(11):1128.
37. Nassan MA, Soliman MM, Aldhahrani A, Althobaiti F, Alkhedaide AQ. Ameliorative impacts of Glycyrrhiza glabra root extract against nephrotoxicity induced by gentamicin in mice. Food Sci Nutr. 2021;9(7):3405–13.
38. Kochhar SP. Stabilisation of frying oils with natural antioxidative components. Eur J Lipid Sci Technol. 2000;102(8-9):552–9.
39. Babu PAS, Aafrin BV, Archana G, Sabina K, Sudharsan K, Sivarajan M, et al. Effects of polyphenols from Caralluma fimbriata on acrylamide formation and lipid oxidation—An integrated approach of nutritional quality and degradation of fried food. Int J Food Prop. 2017;20(6):1378–90.
40. Manzoor S, Masoodi FA, Rashid R, Dar MM. Effect of apple pomace-based antioxidants on the stability of mustard oil during deep frying of French fries. LWT. 2022; 163:113576.
41. Erickson MD, Yevtushenko DP, Lu Z-X. Oxidation and thermal degradation of oil during frying: a review of natural antioxidant use. Food Rev Int. 2022;1–32.
42. Hrebień-Filisińska A. Application of natural antioxidants in the oxidative stabilization of fish oils: A mini-review. J Food Process Preserv. 2021;45(4): e15342.
43. Gutiérrez-del-Río I, López-Ibáñez S, Magadán-Corpas P, Fernández-Calleja L, Pérez-Valero Á, Tuñón-Granda M, et al. Terpenoids and polyphenols as natural antioxidant agents in food preservation. Antioxidants. 2021;10(8):1264.
44. Manessis G, Kalogianni AI, Lazou T, Moschovas M, Bossis I, Gelasakis AI. Plant-derived natural antioxidants in meat and meat products. Antioxidants. 2020;9(12):1215.
45. Blasi F, Cossignani L. An overview of natural extracts with antioxidant activity for the improvement of the oxidative stability and shelf life of edible oils. Processes. 2020;8(8):956.
46. Abdel-Hamied AA, Nassar AG, El-Badry N. Investigations on antioxidant and antibacterial activities of some natural extracts. World J Dairy Food Sci. 2009;4(1):1–7.
47. De Abreu DAP, Losada PP, Maroto J, Cruz JM. Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants (from barley husks) that retard lipid damage in frozen Atlantic salmon (Salmo salar L.). Food Res Int. 2010;43(5):1277–82.
48. Viana da Silva M, Santos MRC, Alves Silva IR, Macedo Viana EB, Dos Anjos DA, Santos IA, et al. Synthetic and natural antioxidants used in the oxidative stability of edible oils: An overview. Food Rev Int. 2022;38(sup1):349–72.
49. Mishra SK, Belur PD, Iyyaswami R. Comparison of efficacy of various natural and synthetic antioxidants in stabilizing the fish oil. J Food Process Preserv. 2022; e16970.
50. Mansour HMM, El-Sohaimy SA, Zeitoun AM, Abdo EM. Effect of natural antioxidants from fruit leaves on the oxidative stability of soybean oil during accelerated storage. Antioxidants. 2022;11(9):1691.
51. Sharma V, Agrawal RC. Glycyrrhiza glabra-a plant for the

future. Mintage J Pharm Med Sci. 2013;2(3):15–20.
52. Al-Harrasi A, Al-Saidi S. Phytochemical analysis of the essential oil from botanically certified oleogum resin of Boswellia sacra (Omani Luban). Molecules. 2008;13(9):2181–9.
53. Ribeiro JS, Santos MJMC, Silva LKR, Pereira LCL, Santos IA, da Silva Lannes SC, et al. Natural antioxidants used in meat products: A brief review. Meat Sci. 2019; 148:181–8.
54. Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernández-López J, Pérez-Álvarez JA. Effect of adding citrus waste water, thyme and oregano essential oil on the chemical, physical and sensory characteristics of a bologna sausage. Innov Food Sci Emerg Technol. 2009;10(4):655–60.

The effect of ethanolic extracts of *Boswellia Serrata* gum and *Glycyrrhiza Glabra* root in reducing the oxidation rate and acrylamide content of beef burger under shallow frying conditions

Sahar Yazdanmehr[1], Toktam Mostaghim[2*]
1- M.Sc. Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2*- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
* Corresponding author : toktammostaghim@yahoo.com
Received: 19/10/2023, Accepted: 24/12/2023

Abstract
The objective of this study was to investigate the utilization of *Boswellia serrata gum* (BSG) and *Glycyrrhiza glabra root* (GGR) alcohol extracts as natural antioxidants for retarding acrylamide formation and lipid oxidation in shallow fried beef hamburger. BSG and GGR extracts separately were added to hamburger formulation at 1.0, 1.5 and 2.0% (w/w) levels and the sample with combination of these extracts (1.0% BSG and 1.0% GGR) also was prepared. Then, the prepared samples were fried at 170°C for 8 min. The obtained results revealed that BSG and GGR alcohol extracts hadn't significant effect on pH of hamburger. BSG and GGR extracts addition (at 2.0% level) respectively reduced the acrylamide formation by 32.95% and 49.87% compared to the control, significantly (p<0.05). By increasing the concentration of BSG and GGR extracts, the oxidation process decreased, so that the peroxide, anisidine, TBA and Totox values of treated samples significantly were lower than control (p<0.05). GGR extract at 2.0% level had the highest antioxidant activity than other samples, and the combined sample and sample with 1.5% GGR extract were at the second place. The sensory evaluation showed that BSG and GGR extracts didn't affect the hamburger's texture and color, while, by increasing the GGR extract concentration in formulation, the flavor and overall acceptability scores significantly were decreased (p<0.05).

Keywords: Hamburger, Acrylamide, Oxidation, *Boswellia serrata* gum, *Glycyrrhiza glabra* root