



## کاربرد میکرولیپوزوم حاوی عصاره برگ فرولا بر ماندگاری همبرگر طی دوره نگهداری در یخچال

محمد سلگی<sup>۱</sup>، مریم اثنی عشری<sup>۲\*</sup>، رضا فرهمندفر<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، موسسه آموزش عالی خزر محمودآباد، ایران

۲- استادیار بخش تحقیقات فراوری تولیدات دامی، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج

کشاورزی، کرج، ایران

۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	با وجود توسعه روش های افزایش ماندگاری و ایمنی فرآورده های غذایی، همچنان زیان اقتصادی ناشی از فساد مواد غذایی از چالش های اصلی محسوب می شود. با توجه به فرهنگ سازی استفاده از مواد طبیعی و غذاهای فراسودمند، تمایل مصرف کننده به مواد غذایی طبیعی با ماندگاری بالا افزایش یافته است. ترکیبات فنلی همچون بسیاری از ترکیبات زیست فعال به تدریج غیر فعال می گردد و معمولاً پس طعم تلخی را در مواد غذایی ایجاد می کنند. میکرولیپوزوم یکی از راهکارهای موثر برای افزایش پایداری و کاهش طعم نامطلوب ترکیبات بیواکتیو محسوب می شود. در این پژوهش، عصاره برگ فرولا با اتانول استخراج شد و خصوصیات فنلی و فلاونوئیدی آن تعیین شد. سپس خصوصیات آنتی اکسیدانی عصاره به روش DPPH و بتا کاروتن-اسید لینولئیک در سطوح غلظتی مختلف (۴۰۰، ۸۰۰، ۱۶۰۰ و ۳۲۰۰ PPM) تعیین شد. به صورت لیپوزوم به همبرگر اضافه شد و خصوصیات اکسایشی، میکروبی و حسی و میزان رهایش ترکیبات فنلی در همبرگر طی دوره ۱۵ روز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که محتوی فنل و فلاونوئید کل عصاره برگ فرولا به ترتیب $270/67 \pm 5/8$ میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره و $160/81 \pm 5/65$ میلی گرم کوئرستین در هر گرم از عصاره بود. با افزایش غلظت عصاره فرولا، میزان مهار رادیکال آزاد DPPH از $33/73$ به $84/42$ درصد و بتا کاروتن- اسید لینولئیک از $32/56$ به $74/90$ درصد از غلظت ۴۰۰ تا ۳۲۰۰ PPM افزایش می یابد. نتایج بدست آمده بر روی ماندگاری همبرگر نشان داد بیشترین رشد میکروبی و اکسایش لیپیدی در نمونه شاهد مشاهده شد و کمترین مقدار رشد در تیمار حاوی عصاره ۳۲۰۰ PPM عصاره فرولا دیده شد. براساس آزمون اکسایشی و حسی، در صورت افزودن میکرولیپوزوم عصاره برگ فرولا در غلظت ۱۶۰۰ PPM می توان زمان ماندگاری همبرگر را به طور قابل توجهی در یخچال افزایش داد.
کلمات کلیدی:	
همبرگر، فرولا، آنتی اکسیدان، ترکیبات فنلی، ماندگاری	
DOI: 10.22034/FSCT.21.146.195	
* مسئول مکاتبات: <a href="mailto:m.asnaashari@yahoo.com">m.asnaashari@yahoo.com</a>	

## ۱- مقدمه

درون پوشانی تکنولوژی محصور کردن مایعات، جامدات و گازها در کپسول‌هایی است که با رهایش کنترل شده این ترکیبات آزاد گردد. یکی از انواع حامل‌های لیپیدی برای ریز پوشانی ترکیبات بیواکتیو گیاهی، لیپوزوم‌ها هستند [۹]. لیپوزوم‌ها ویزیکول‌های کلونیدی متشکل از لیپیدهای قطبی به ویژه فسفولیپیدها هستند که در حضور مولکول‌های آب ساختارهای کروی دولایه ای ایجاد می‌کنند. این کره فسفولیپیدی می‌تواند محلول‌های آبی را درون خود نگه داشته و حمل کند. لیپوزوم‌ها خاصیت آمفی پاتیک دارند و می‌توانند گستره وسیعی از ترکیبات آبدوست و چربی دوست را در خود جای دهد. کاربرد لیپوزوم‌ها جهت رهایش کنترل شده ترکیبات بیواکتیو گیاهی می‌تواند در افزایش کیفیت مواد غذایی و کاهش بار میکروبی فرآورده موثر باشد [۱۰].

پروتئین حیوانی نقش اساسی در تغذیه انسان دارد که کمبود آن باعث اختلالات رشد، متابولسم، تولیدمثل و غیره می‌گردد. می‌توان پیشرفت یک کشور را از طریق مصرف سرلنه پروتئین حیوانی محاسبه کرد. با توجه به افزایش جمعیت و نیاز مبرم به پروتئین حیوانی و فرآورده‌های آن، تولید گوشت از اهداف اصلی پرورش در واحدهای دامپروری می‌باشد [۱۱]. بخش دامپروری همواره به عنوان یکی از مهمترین بخش‌های اقتصادی کشور مطرح بوده است. این بخش رابطه تنگاتنگی با بخش کشاورزی، درآمد خانوارهای روستایی و تغذیه در مناطق شهری و روستایی دارد. گوشت قرمز به عنوان یکی از عمده ترین مواد غذایی مصرفی انسان‌ها شناخته شده که با دارا بودن منابع سرشاری از پروتئین، انرژی و ویتامین، مواد معدنی و اسیدهای آمینه جزء منابع مغذی و ارزشمند غذایی محسوب می‌گردد. علاوه بر ارزش بالای غذایی گوشت قرمز در ایران و جهان، صنایع مرتبط با تولید، نگهداری، بسته بندی، فرآوری و توزیع گوشت قرمز نقش مهمی در ایجاد ارزش افزوده، اشتغال و تجارت کشورهای درگیر با آن و در دنیا ایفا

گیاهان دارویی، بخش مهمی از گیاهان اقتصادی جهان را تشکیل می‌دهند. این گیاهان، شامل گونه‌ها و ارقام متعددی هستند که حاوی ترکیبات فعال زیستی می‌باشند. متابولیت‌های ثانویه‌ای که توسط این گیاهان تولید می‌شوند، علاوه بر صنعت داروسازی، در صنایع دیگر از جمله صنایع غذایی می‌تواند در جهت افزایش ارزش تغذیه‌ای و اثر بر ماندگاری، مورد استفاده قرار می‌گیرند. ایران از نظر موقعیت جغرافیایی در منطقه بسیار مناسبی قرار دارد. به طوری که یکی از بزرگترین منابع تنوع ژنتیکی گیاهی است. ایران با وسعت زیاد و آب و هوای متنوع جزء مراکز مهم انتشار و پراکنش بسیاری از گونه‌های گیاهی می‌باشد [۱]. بنابراین به کارگیری از این گیاهان ارزشمند در صنعت غذا در ارتقا سطح سلامت جامعه موثر است. فرولا یکی از گیاهان دارویی وحشی مهم در ایران است. به دلیل بهره برداری‌های بی رویه و نادرست، بسیاری از مراتع فرولا در کشور از بین رفته‌اند و یا تراکم آن‌ها در واحد سطح به شدت پایین آمده است [۲]. با توجه به اینکه این گیاه بومی ایران و قسمت‌هایی از افغانستان است، در مناطق دیگر دنیا به ندرت یافت می‌شود و مطالعات اندکی در مورد آن‌ها انجام گرفته است. کلیه گیاهان جنس فرولا از گروه گیاهان مونوکارپیک هستند. یعنی فقط در سال آخر عمر خود یکبار گل می‌دهند و پس از تولید بذر، گیاه برای همیشه خشک می‌شود و از بین می‌رود [۳]. ۳۲ گونه از جنس فرولا در نقاط مختلفی از ایران رویش دارند. مطالعات فارماکولوژیکی نشان می‌دهد که این گیاه یک منبع بالقوه از مشتقات ترپنی به ویژه کومارین‌های ترپنی است [۴]. در تحقیقات فیتوشیمیایی فرولا، ترکیبات مختلفی مانند کومارین‌های مونوترپن، کومارین‌های ترپنی، مشتقات فینیل پروپانوید و ترکیبات استروئیدی شناسایی شده است که خواص زیستی منحصر فردی دارند [۵]. انواعی از فعالیت‌های بیولوژیکی از عصاره مستخرج از فرولا توسط محققان زیادی گزارش شده است که شامل اثرات ضدسرطانی، آنتی-اکسیدانی، ضد التهابی و ضد میکروبی می‌باشد [۶-۸].

حسب اسید گالیک از رابطه  $y = 0.008x + 0.23$  با ضریب تبیین ۰/۹۸ تعیین شد. میزان فلاونوئیدها به روش رنگ-سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد. در این روش ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره فرولا (۰/۱ وزنی-حجمی) با ۷۵ میکرولیتر سدیم نیتريت ۵ درصد مخلوط شد. بعد از گذشت ۶ دقیقه، ۱۵۰ میکرولیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد و ۵۰۰ میکرولیتر سدیم هیدروکسید یک مولار به مخلوط اضافه شد. در پایان مخلوط حاصل با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر همگن شد. جذب محلول در طول موج ۵۱۰ نانومتر خوانده شد. منحنی استاندارد در محدوده ۱۲ تا ۳۲۰ میکروگرم کوئرستین بر میلی‌لیتر با منحنی استاندارد  $y = 0.0048x$  و ضریب تبیین ۰/۹۹ رسم شد. مقدار ترکیبات فلاونوئیدی بر حسب میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره گزارش شد [۱۵].

تعیین قدرت آنتی‌اکسیدانی با آزمون مهار رادیکال آزاد

#### DPPH

۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره فرولا در غلظت‌های مختلف به ۲ میلی‌لیتر از محلول متانولی  $10^{-5} \times 6$  مولار رادیکال آزاد DPPH اضافه شد. بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در تاریکی تحت دمای محیط، میزان جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد.

$$I(\%) = ((A_{blank} - A_{sample}) / A_{blank}) \times 100 \quad (1)$$

در این فرمول، I (%): درصد حذف‌کنندگی رادیکال،  $A_{blank}$ : میزان جذب نوری نمونه شاهد و  $A_{sample}$ : میزان جذب نوری نمونه حاوی عصاره فرولا می‌باشد [۱۶].

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ فرولا با آزمون بی‌رنگ شدن  $\beta$ -کاروتن

۵ میلی‌گرم بتاکاروتن در ۱۰ میلی‌لیتر کلروفورم حل شد. سپس، ۶۰۰ میکرولیتر از این محلول به بالن حجمی که حاوی ۴۰ میلی‌گرم اسید لینولئیک و ۴۰۰ میلی‌گرم توتین ۴۰ بود، اضافه شد. کلروفورم محلول توسط دستگاه تقطیرکننده چرخان خارج شده و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر

می‌نمایند [۱۲]. گوشت گاو و فرآورده‌های آن مانند همبرگر از جمله محصولات غذایی هستند که به دلیل شرایط فیزیکیوشیمیایی مناسب برای میکروارگانیسم‌ها که در این ارتباط می‌توان به میزان بالای مواد مغذی و فعالیت آبی بالا اشاره کرد، مستعد فساد می‌باشند. افزودن ترکیب میکرولیپوزم حاوی عصاره فرولا تاکنون برای افزایش ماندگاری محصولات پروتئینی به کار نرفته است. لذا، در این مقاله، سعی بر بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه فرولا در ساختار میکرولیپوزوم در افزایش عمر ماندگاری همبرگر و جلوگیری از فساد میکروبی و اکسایش طی دوره نگهداری می‌شود.

## ۲- مواد و روش‌ها

### تهیه عصاره اتانولی فرولا

گیاه فرولا جمع‌آوری و در سایه خشک و سپس پودر می‌گردد. پس از آسیاب شدن، عملیات عصاره‌گیری با اتانول با روش پرکولاسیون انجام می‌گیرد. پس از حذف حلال توسط روتاری اواپراتور و خشک‌کن انجمادی به ویال‌های شیشه‌ای منتقل شده و تا زمان انجام تحقیقات در فریزر در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری می‌گردد [۱۳].

### اندازه‌گیری محتوای فنلی و فلاونوئیدی

میزان کل ترکیبات فنلی با روش فولین سیوکالتیو<sup>۱</sup> اندازه‌گیری و نتایج بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم از عصاره برگ فرولا بیان شد. به طوریکه، به عصاره فرولا در ۲/۵ میلی‌لیتر و غلظت ۰/۱ حجمی-حجمی معرف سیوکالتیو و ۲ میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات ۷/۵ درصد افزوده شده و در یک بالن حجمی تا رسیدن به حجم ۵۰ میلی‌لیتر به آن آب مقطر اضافه شد. پس از گذشت ۱۲ تا ۱۵ ساعت جذب آن‌ها با دستگاه اسپکتروفوتومتری در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد [۱۴]. منحنی استاندارد بر

استفاده در بطری‌های استریل و در شرایط تاریک در دمای یخچال نگهداری شد [۱۸].

### آماده سازی تیمارها و آزمون‌های همبرگر

همبرگر حاوی گوشت، پودر سویا، پودر سوخاری، پیاز، نمک، روغن نباتی و ادویه مخصوص تهیه شد. عصاره برگ فرولا در ساختار میکرولیپوزوم در سطوح غلظتی ۴۰۰، ۸۰۰، ۱۶۰۰ و ۳۲۰۰ PPM به همبرگر اضافه شد. یک نمونه همبرگر بدون عصاره هم به عنوان شاهد استفاده شد. نمونه‌ها سپس در بسته‌های پلی اتیلنی بسته بندی و به مدت ۱۵ روز در دمای ۴ درجه سلسیوس قرار گرفت. آزمون‌های اکسایشی، میکروبی و حسی بر روی نمونه‌ها انجام شد.

### آزمون‌های میکروبی همبرگر حاوی میکرولیپوزوم عصاره فرولا

به منظور انجام این آزمایش، ۱۰ گرم همبرگر به صورت اسپتیک<sup>۲</sup> به همراه ۴۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۹ درصد آب پیتونه توسط یک مخلوط‌کن<sup>۳</sup> به مدت یک دقیقه در دمای محیط به خوبی مخلوط شد. بعد از آن رقت‌های مورد نیاز تهیه شده و یک میلی‌لیتر از هر رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پورپلیت در محیط کشت PCA قرار گرفت. شمارش کل باکتری‌های زنده<sup>۴</sup> (TVC) مطابق روش‌های استاندارد به شماره ۵۲۷۲ (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۶) و باکتری‌های سرمادوست<sup>۵</sup> (PTC) مطابق روش‌های استاندارد به شماره ۲۶۲۹ (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۲) انجام شد. به منظور افزایش دقت در این آزمون، برای هر نمونه ۳ تکرار و برای هر تکرار ۴ رقت مناسب مورد ارزیابی قرار گرفت.

### تعیین شاخص پراکسید (PV)

به منظور تعیین عدد پراکسید، ۴۰ گرم همبرگر با کلروفرم (۱۰۰ میلی‌لیتر) مخلوط و با کاغذ صافی واتمن یک صاف

اشباع از اکسیژن به بالن افزوده شد. پس از آن بالن برای تشکیل امولسیون به شدت هم زده شد. ۲/۵ میلی‌لیتر از امولسیون تهیه شده به لوله‌های آزمایشی که حاوی ۳۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره بود، اضافه شد و بلافاصله در زمان صفر جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. سپس درب لوله‌های آزمایش بسته و به مدت ۱۲۰ دقیقه در حمام آب گرم ۵۰ درجه سلسیوس قرار داده شد و بدنال آن میزان جذب آن‌ها در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. از امولسیون فوق‌الذکر بدون حضور عصاره فرولا به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با استفاده از فرمول زیر تعیین شد:

$$I(\%) = \left[ 1 - \frac{A_{\text{sample } 120} - A_{\text{sample } 0}}{A_{\text{control } 120} - A_{\text{control } 0}} \right] \times 100 \quad (2)$$

در این فرمول، I(%) : درصد بازدارندگی، A sample(120): میزان جذب نمونه حاوی عصاره فرولا بعد از ۱۲۰ دقیقه، A sample(0): میزان جذب نمونه حاوی عصاره فرولا در زمان صفر، A control (120): میزان جذب نمونه شاهد بعد از ۱۲۰ دقیقه، A control (0): میزان جذب نمونه شاهد در زمان صفر می‌باشد [۱۷].

### تهیه میکرولیپوزوم حاوی عصاره برگ فرولا

به منظور تهیه میکرولیپوزوم، ابتدا ۲ گرم لسیتین و ۲ گرم توئین ۸۰ در ۳۸ گرم آب مقطر مخلوط و برای ۵ ساعت تکان داده شدند. در مرحله بعد، ۴ گرم عصاره برگ فرولا به دیسپرسیون آبی لسیتین اضافه شده و کل مخلوط به مدت ۶۰۰ ثانیه (۱ ثانیه روشن و ۱ ثانیه خاموش) در فرکانس ۴۰ کیلو هرتز و ۴۰ درصد قدرت دستگاه اولتراسوند قرار گرفت. میکرولیپوزوم‌های تولیدی تا زمان

4 -Total Viable Count (TVC)

5- Psychrotrophic Total Count (PTC)

2 -Aseptic

3- Stomacher

### آنالیزهای آماری

داده‌های به دست آمده به کمک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار سطح غلظتی از عصاره برگ فرولا (۴۰۰، ۸۰۰، ۱۶۰۰ و ۳۲۰۰ PPM) و در طی ۱۵ روز تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین‌ها به ترتیب به کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سه تکرار توسط نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ در سطح ۵ درصد انجام شد.

### ۳- نتایج و بحث

در این پژوهش، عصاره برگ فرولا با اتانول استخراج شد و خصوصیات فنلی و فلاونوئیدی آن تعیین شد. سپس خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصاره به روش DPPH و بتا کاروتن-اسید لینولئیک در سطوح غلظتی مختلف (۴۰۰، ۸۰۰، ۱۶۰۰ و ۳۲۰۰ PPM) تعیین شد. سپس به صورت میکرولیپوزوم به همبرگر اضافه شد و خصوصیات اکسایشی، میکروبی و حسی و میزان رهایش ترکیبات فنلی در همبرگر طی دوره ۱۵ روز مورد بررسی قرار گرفت.

#### میزان ترکیبات بیواکتیو عصاره برگ فرولا

فنل‌ها و فلاونوئیدها ترکیبات بیواکتیو ارزشمند در بافت‌های گیاهی هستند. این ترکیبات فقط توسط گیاهان و دیگر موجودات فتوسنتزکننده اکسیژنی تولید می‌شوند و برای رژیم غذایی جانوران ضروری هستند [۲۲]. فلاونوئیدها با ساختار اصلی دی‌فنیل پروپان با تفاوت‌هایی در حلقه پیران مرکزی، به طور گسترده در سلسله گیاهان توزیع داشته و تقریباً نیمی از حدود ۸۰۰۰ فنل شناسایی شده را تشکیل می‌دهند که می‌تواند در درمان بیماری‌ها موثر باشد [۲۳]. میزان ترکیبات فنلی برگ فرولا  $270.67 \pm 5.8$  میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره و ترکیبات فلاونوئیدی آن  $160.81 \pm 5.65$  میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره می‌باشد (جدول ۱).

شد. محلول صاف شده (۲۵ میلی‌لیتر) جهت استخراج چربی را داخل بشر ریخته و در درون آن ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده تا کلروفورم آن به طور کامل تبخیر گردد (اختلاف وزن بشر پس از تبخیر کلروفورم را به عنوان وزن روغن در نظر می‌گیریم). سپس به محلول صاف شده (۲۵ میلی‌لیتر)، اسید استیک (۳۷ میلی‌لیتر) و یدور پتاسیم اشباع (یک میلی‌لیتر) اضافه کرده و پس از گذشت یک دقیقه آب مقطر (۳۰ میلی‌لیتر) و نشاسته (یک میلی‌لیتر) اضافه شد. محلول حاصل با سدیم تیوسولفات ۰/۱ نرمال تا تغییر رنگ از زرد به سفید-شیری تیتیر شد. میزان شاخص پراکسید برحسب میلی‌اکی والان اکسیژن در هر کیلوگرم فیله مرغ محاسبه شد [۱۹]

#### تعیین شاخص اسید تیوباربیتوریک<sup>۱</sup>

برای تعیین شاخص تیوباربیتوریک، همبرگر (۰/۲ گرم) را به یک بالن حجمی ۲۵ میلی‌لیتری منتقل و سپس توسط ۱- بوتانول به حجم رساندیم. سپس از این محلول (۵ میلی‌لیتر) را درون لوله خشک درب‌دار ریخته و به آن معرف TBA (۵ میلی‌لیتر) اضافه شد. لوله‌های درب‌دار را در حمام آب به مدت ۲ ساعت در دمای ۹۵ درجه سلسیوس قرار داده و بعد از آن در دمای محیط سرد شد. سپس جذب آن در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت و مقدار TBARS بر حسب میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهید در کیلوگرم همبرگر تعیین شد [۲۰]

#### ارزیابی حسی

برای ارزیابی حسی همبرگر پخته از نظر رنگ، بو، بافت و طعم توسط پنلیست‌ها (۱۵ نفر) مورد ارزیابی قرار گرفت. ارزیابی حسی با روش هدونیک ۵ نقطه‌ای از نظر طعم، بو، رنگ، بافت و پذیرش کلی در تیمارها بلافاصله پس از پخت به صورت (۵: عالی، ۴: بسیار خوب، ۳: خوب، ۲: قابل قبول، ۱: ضعیف) آنالیز شد [۲۱]

**Table 1-** Determination of the extraction yield, phenol and flavonoid content of the ferula leaves extract

	Yield (%)	Phenolic content (mg Gallic acid/ g extract)	Flavonoid content (mg quercetin / g extract)
<b>Ferula leaves extract</b>	9.15	270.67±5.8	160.81±5.65

6 -Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)

ایجاد می‌گردد. متعاقب آن خود بتاکاروتن نیز اکسید شده و تا حدودی تجزیه گردیده و رنگ نارنجی آن زایل می‌گردد که این رویداد توسط اسپکترومتری قابل ارزیابی می‌باشد [۲۵]. نتایج حاصل از آزمون بتاکاروتن در غلظت‌های مختلف عصاره برگ فرولا در جدول ۲ نشان می‌دهد که با افزایش غلظت عصاره، قدرت بازداری آن‌ها نیز افزایش می‌یابد. در این آزمون، غلظت ۳۲۰۰ PPM دارای بیشترین درصد بازداری ( $67.08 \pm 9.07\%$ ) بود و از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌ها کمتر نیز وجود دارد ( $P \leq 0.05$ ). پاباست و همکاران (۲۰۱۸) به اثر کیتوزان و اسانس مرزه ریزپوشانی شده در ساختار لیپوزوم بر افزایش ماندگاری گوشت بره طی ۲۰ روز در دمای یخچال پرداختند. نتایج نشان داد که تیمارهای ریزپوشانی شده به طور موثری رشد میکروبی و فساد شیمیایی را در گوشت کنترل کرد که این امر را به فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن نسبت دادند [۲۰].

**Table 2-** Antioxidant activity of Ferula leaves extract by DPPH scavenging and  $\beta$ -carotene/linoleic acid assay

Ferula extract	DPPH scavenging activity (%)	B-carotene/linoleic acid bleaching (%)
400 ppm	33.73±4.05 <sup>d</sup>	32.56±3.01 <sup>d</sup>
800 ppm	44.04±3.06 <sup>c</sup>	42.89±3.25 <sup>c</sup>
1600 ppm	74.43±2.02 <sup>b</sup>	63.62±2.07 <sup>b</sup>
3200 ppm	84.42±4.2 <sup>a</sup>	74.90±6.08 <sup>a</sup>

Different small letters in the same column represent significant difference ( $p < .05$ ).

### ارزیابی کیفی همبرگر حاوی میکرولیپوزوم عصاره فرولا شاخص‌های اکسایشی

عدد پراکسید یکی از پرکاربردترین شاخص‌های کیفی گوشت است که مقدار کل پراکسیدهای موجود در چربی گوشت را به عنوان فرآورده‌های اولیه حاصل از اکسایش نشان می‌دهد. کاهش پراکسید پس از رسیدن به حد بیشینه

### قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ فرولا

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها حاوی ترکیبات پلی فنلی، به دلیل ظرفیت آن‌ها برای اهداء اتم‌های هیدروژن یا الکترون و الکترون‌های آزاد می‌باشد. بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون در ترکیبات مختلف در این تست با میزان بی رنگ کردن محلول بنفش ۲و۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) در متانول مورد سنجش قرار می‌گیرد. در این سیستم آنتی‌اکسیدان‌ها با رادیکال آزاد DPPH واکنش نشان داده و با دادن هیدروژن یا الکترون آنرا کم رنگ یا بی رنگ می‌نمایند [۲۴]. میزان کاهش رنگ با قدرت آنتی‌اکسیدانی نمونه رابطه مستقیم دارد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH در عصاره برگ فرولا در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج حاصل نشان داد با افزایش غلظت عصاره، مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد. به طوریکه از  $41.05 \pm 33.73\%$  در  $400$  PPM به  $84.42 \pm 32.56\%$  در  $3200$  PPM می‌رسد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی عصاره فرولا با میزان بالای فنل‌ها و فلاونوئیدهای آن مرتبط هستند. در بین ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قویتری محسوب می‌شوند. فلاونوئیدها بازدارنده‌های قوی رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسید هستند.

روش بتا کاروتن-اسید لینولئیک براساس بی رنگ شدن بتاکاروتن است که ساز و کار آن، واکنش بتاکاروتن با رادیکال آزاد تولید شده در نتیجه‌ی تشکیل هیدروپراکسید از اسید لینولئیک می‌باشد. سرعت بی رنگ شدن بتاکاروتن در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها کاهش می‌یابد. در این روش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، با میزان مهار اکسایش اسید لینولئیک و جلوگیری از ایجاد ترکیبات فرار مورد سنجش قرار می‌گیرد. در سیستم مدل بتاکاروتن-اسید لینولئیک، بتاکاروتن در غیاب آنتی‌اکسیدان سریعاً بی رنگ می‌شود. دلیل این مسئله اکسایش بتاکاروتن و اسید لینولئیک و تشکیل رادیکال آزاد می‌باشد. رادیکال آزاد اسید لینولئیک پس از جدا شدن اتم هیدروژن توسط مولکول‌های فوق‌العاده غیر اشباع بتاکاروتن

که فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن، مانع از اکسایش چربی گوشت می‌شود. به طوریکه در روز پایانی دوره نگهداری، شاخص پراکسید برای نمونه‌ها حاوی ۳۲۰۰ PPM عصاره فرولا  $2.0 \pm 0.1$  میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم بود که نسبت به نمونه شاهد با  $3.9 \pm 0.4$  میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم به طور معنی داری کمتر بود. یکتا و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی همبرگر با نانولیپوزوم‌های پپتید کینوا طی ۱۲ روز نگهداری در یخچال پرداختند. در میان تیمارهای مورد ارزیابی، کمترین شاخص تیوباربتوریک اسید، پراکسید و بازهای نیتروژنی فرار و رشد میکروبی، استافیلوکوکوس و کپک و مخمر برای تیمار حاوی ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر پپتید مشاهده شد. لذا، نانولیپوزوم حاوی پپتید کینوا به خوبی توانست در افزایش ماندگاری همبرگر موثر باشد [۲۶].

آن طی مراحل ابتدایی اکسایش گزارش شده است که بیانگر ناپایدار بودن پراکسیدها و شکست آن‌ها به فرآورده‌های ثانویه طی مراحل بعدی اکسایش است [۱۴]. حساسیت گوشت نسبت به اکسایش چربی بستگی به فاکتورهای مختلفی از قبیل گونه حیوان، موقعیت تشریحی عضلات بدن، مدت زمان نگهداری، روش‌های بسته‌بندی و افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها دارد. عصاره گیاهان حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی زیادی هستند که این ترکیبات قابلیت کنترل و مهار اکسایش را دارند. تغییرات شاخص پراکسید چربی مستخرج از همبرگر طی دوره نگهداری در شکل ۱ آمده است. روند تغییرات عدد پراکسید در تمام نمونه‌های مورد بررسی افزایشی است و نمونه شاهد بالاترین عدد پراکسید را پس از مدت زمان نگهداری داشت. نمونه‌های حاوی غلظت‌های مختلف از عصاره فرولا در میکرولیپوزوم در مقایسه با نمونه شاهد به طور معنی‌داری اکسایش کمتری نشان داد که احتمالاً به دلیل رهایش آهسته عصاره فرولا از میکرولیپوزوم است

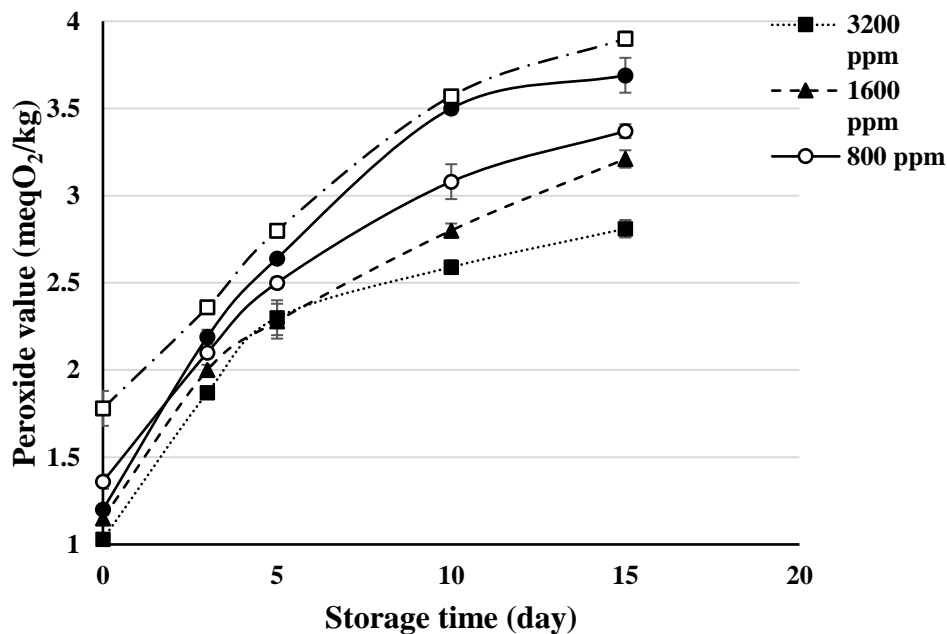


Figure 1- Changes in peroxide value of beef burger containing Ferula extract microliposome during refrigerated storage

می‌باشند که طی تجزیه به کربونیل‌ها (آلدهیدها و کتون‌ها) که از اصلی‌ترین ترکیبات ثانویه هستند، تبدیل می‌شوند. این ترکیبات نسبت به هیدروپراکسیدها (ترکیبات اولیه ناشی از اکسایش) پایدارترند [۲۷]. نتایج مربوط به تغییرات شاخص

اندازه‌گیری ترکیبات ثانویه اکسایش مسئول طعم رنسیت در گوشت است که با شاخص اسید تیوباربتوریک تعیین می‌شود. هیدروپراکسیدها از محصولات اولیه اکسایش لیپیدی

حامل روغن ماهی و روغن ماهی غیر لیپوزومه (۵ و ۱۰ درصد) در فرمولاسیون همبرگر جایگزین چربی شد. مقادیر pH، پروتئین، چربی، خاکستر نمونه خام، میزان کالری، ظرفیت نگهداری آب، رطوبت، و بازده پخت محاسبه شد. نتایج به دست آمده از تحقیق نشان داد، استفاده از نانولیپوزومها در همبرگر سبب افزایش قدرت نگهداری آب و بازده پخت و همچنین کاهش در میزان کالری کل و پیشرفت روند اکسایش پروتئین و چربی شده است. همچنین پس از فرآیند پخت باعث بهبود بافت، و رنگ گردید. ارزیابی حسی نمونه‌ها نشان داد، افزودن نانو لیپوزوم‌های حامل روغن ماهی در برگر گوشت پس از نظرسنجی داوران بالاترین امتیاز را از لحاظ بافت، طعم، بو، رنگ و پذیرش کلی کسب نمود [۲۸]. همچنین، اسلامیان امیری و همکاران (۲۰۲۱) به بررسی میکرولیپوزوم کیتوزان و صمغ دانه چیا حاوی اسانس برگ بو بر افزایش ماندگاری فیله بلدرچین پرداختند. نتایج تحقیق نشان داد که ریزپوشانی اسانس برگ بو به طور معنی داری بر ماندگاری فیله بلدرچین نسبت به نمونه شاهد طی ۱۶ روز نگهداری در یخچال اثربخش بود [۲۹].

اسید تیوباریتوریک نمونه‌های مختلف همبرگر حاوی میکرولیپوزوم عصاره فرولا در شکل ۲ نشان داده شده است. مشاهده می‌شود روند تغییرات شاخص اسید تیوباریتوریک در تمام نمونه‌های مورد بررسی، افزایشی است و با گذشت زمان، تغییرات معنی‌دار آماری ایجاد شده است. همچنین نمونه شاهد ( $1.0 \pm 0.23$  میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهید در کیلوگرم) بیشترین میزان اسید تیوباریتوریک را داشت. بعد از آن نمونه حاوی عصاره PPM ۳۲۰۰ (۰/۰۷۹±۰/۰۱ میلی‌گرم در کیلوگرم)، PPM ۱۶۰۰ (۰/۰۸۳±۰/۰۴ میلی‌گرم در کیلوگرم) و PPM ۴۰۰ (۰/۰۸۹±۰/۰۳ میلی‌گرم در کیلوگرم) قرار داشتند. کاهش شاخص اسید تیوباریتوریک در مقایسه با نمونه شاهد مرتبط با اثرات آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در عصاره فرولا است که در آزمون‌های مهار رادیکال آزاد DPPH و بتا-کاروتن اسید لینولئیک مشخص گردید. قوطوری و همکاران (۱۴۰۲) به اثر افزودن نانولیپوزوم‌های حامل روغن ماهی بر خواص تکنولوژیکی و کیفیت تغذیه‌ای همبرگر با چربی کاهش یافته طی نگهداری در یخچال (۴ درجه سلسیوس) پرداختند. بدین منظور خواص فیزیکوشیمیایی نانولیپوزوم‌ها بررسی شده و نانولیپوزوم‌های

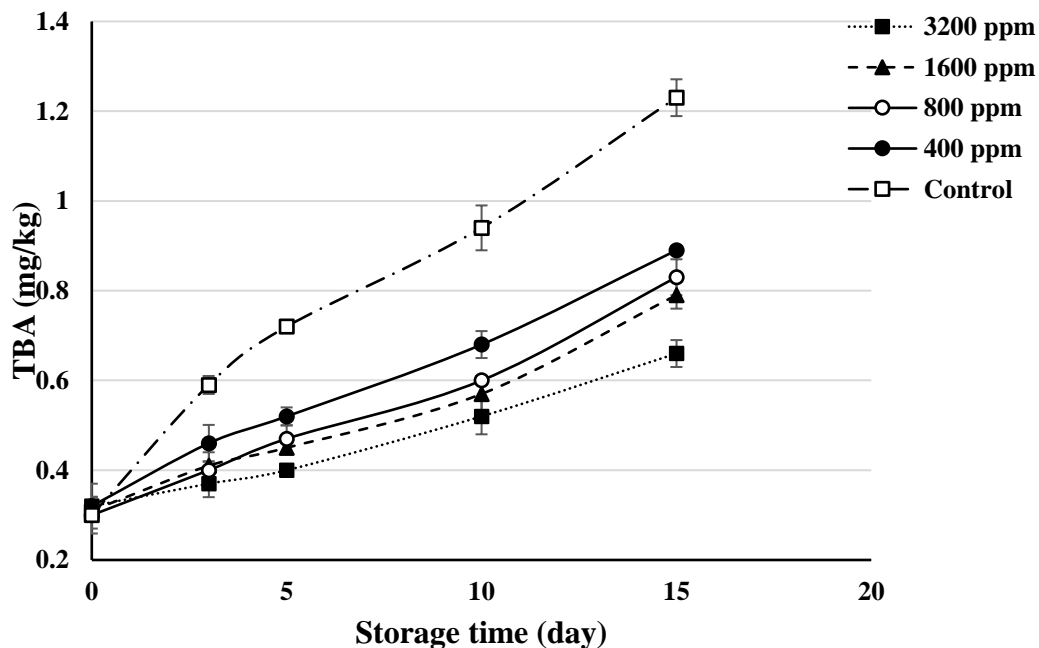




Figure 2- Changes in thiobarbituric acid value of beef burger containing ferula extract microliposome during refrigerated storage

غذایی آزاد می‌شوند [۳۳]. نتایج حاصل در شکل ۳ نشان می‌دهد که با افزایش زمان نگهداری رهایش ترکیبات فنولیک افزایش می‌یابد. میزان پایداری ترکیبات فنلی در طول زمان روند کاهشی داشته است که رهایش عصاره فرولا در طی زمان می‌تواند به دلیل تخریب دیواره میکرولیپوزوم‌ها در اثر اکسایش و تراوا بودن غشاء دیواره لیپوزوم باشد. همچنین، افزایش سیالیت غشای لیپیدی به دلیل نگهداری سبب افزایش نشت ترکیبات فنلی به بیرون از وزیکول‌ها می‌شود [۳۴]. اعلا و همکاران (۱۴۰۱) به بررسی فرم آزاد و ریزپوشانی با نانولیپوزوم عصاره گیاهان برگ بو و رزماری در ماهی کپور نقره‌ای نگهداری شده در دمای یخچال پرداختند. نتایج نشان داد که میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در عصاره رزماری مطلوب تر از برگ بو بوده است. افزودن عصاره ۱/۵ درصد برگ بو و رزماری، باعث حفظ کیفیت ماهی کپور نقره‌ای از لحاظ شاخص‌های کیفی شیمیایی می‌شود [۳۵].

### رهایش ترکیبات فنلی طی دوره نگهداری

غلظت موثر پلی فنل‌ها در حلال‌ها اغلب بیشتر از مقادیر اندازه‌گیری شده در ماتریکس غذایی است. علاوه بر این، پلی‌فنل‌ها پایداری و حلالیت محدود و طعم‌های نامطلوب نظیر طعم گس از خود نشان می‌دهند که بایستی قبل از افزودن به فراورده‌های غذایی اصلاح گردند [۳۰]. همچنین ترکیبات فنلی می‌توانند با سایر اجزای غذایی همچون پروتئین‌ها متصل شده که موجب افت در عملکرد آن شود. به عنوان مثال ترکیبات پلی فنلی چای سبز در فراورده غذایی معمولاً عملکرد آنتی‌اکسیدانی خود را حفظ نمی‌کند [۳۱]. علاوه بر این، حساسیت اغلب کاتچین‌های چای سبز در pH های مختلف در طی دوره نگهداری مواد غذایی و نیز هضم در دستگاه گوارش و دسترسی پایین، استفاده از آن را محدود کرده است [۳۲]. لذا، میکرولیپوزوم با رهایش آهسته می‌تواند نه تنها عمر ماندگاری و ارزش تغذیه‌ای مواد موثره گیاهی را زیاد کند، بلکه از بد طعمی در ماده غذایی جلوگیری کند. ترکیبات بیواکتیو گیاهی به صورت کنترل شده در ماتریکس

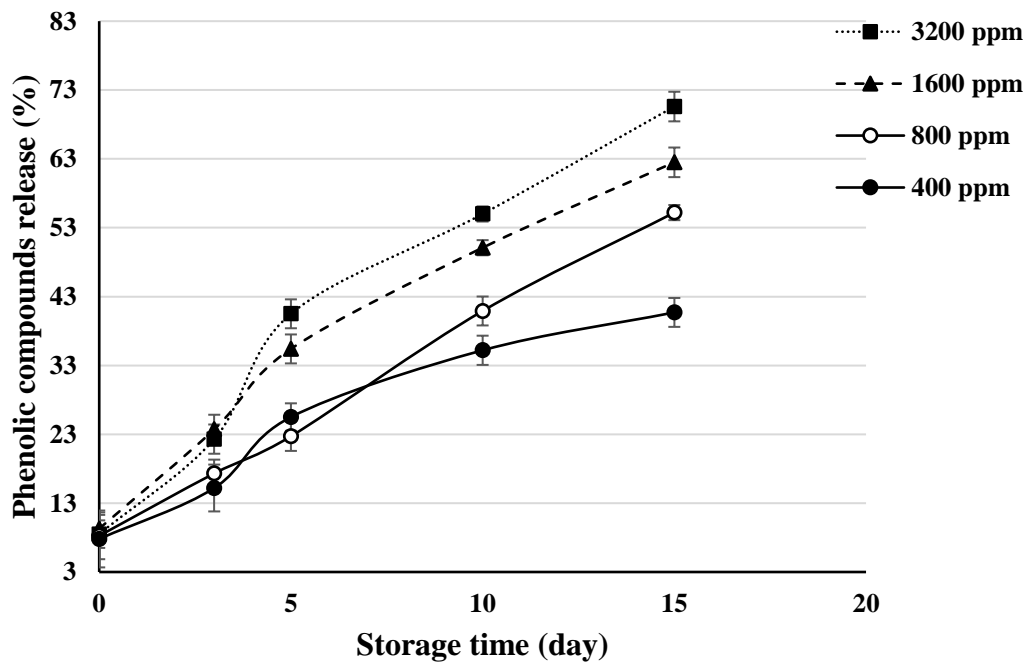


Figure 3- Phenolic compounds release from microliposomes containing Ferula extract in beef burger during refrigerated storage

## تغییرات میکروبی

فساد مواد غذایی یکی از مشکلات اصلی است که نگهداری و انتقال آن‌ها را با محدودیت مواجه می‌سازد و به طور جدی ایمنی مواد غذایی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. همبرگر به دلیل دارا بودن مقادیر بالایی از پروتئین و چربی بسیار مستعد فساد می‌باشد و عمر ماندگاری کوتاهی دارد. استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی یکی روش‌های مهم برای جلوگیری از فعالیت میکروارگانیسم‌های بیماریزا و فسادزا می‌باشد. با این وجود به دلیل اینکه این نگهدارنده‌ها دارای اثرات سرطانزایی و جهش‌زایی هستند و نیز باقیمانده آن‌ها نیز اثرات سمی دارد. لذا، استفاده از آن‌ها همراه با محدودیت است. استفاده از ترکیبات ضد میکروب طبیعی منجر به افزایش عمر ماندگاری آن می‌شود. عصاره و اسانس گیاهان دارویی به طور کلی ایمن شناخته می‌شوند و نیز دارای تاثیرات قابل توجهی روی میکروارگانیسم‌های فسادزا و بیماریزا هستند، در نتیجه عمر ماندگاری محصولات غذایی را افزایش می‌دهند [۳۶]. نتایج مربوط به تغییرات شمارش کلی باکتری‌ها طی دوره نگهداری در شکل ۴ آمده است. مشاهده می‌شود که بیشترین تعداد باکتری‌ها مربوط به نمونه شاهد است و دارای اختلاف معنی‌دار آماری با نمونه‌های حاوی عصاره فرولا است. در تمامی تیمارها، تا روز ۱۵ ام تعداد باکتری‌ها افزایش یافت و این افزایش در نمونه حاوی ۳۲۰۰ PPM عصاره فرولا ( $6/5 \pm 0/13$  log CFU/g) نسبت به نمونه شاهد ( $8/7 \pm 0/15$  log CFU/g) پس از دوره نگهداری کمتر بود.

عصاره‌های گیاهی ترکیباتی با خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی علیه طیف گسترده‌ای میکروارگانیسم‌ها می‌باشند. این ترکیبات گیاهی و طبیعی دارای مکانیسم‌های ضد میکروبی متعددی هستند. براساس مطالعات صورت گرفته مشخص شده که عصاره‌هایی که دارای فعالیت ضد میکروبی قوی علیه پاتوژن‌های غذایی دارند، حاوی مقادیر بالایی از ترکیبات فنلی می‌باشند. بنابراین مکانیسم عمل عصاره‌های گیاهی مشابه با فعالیت ضد میکروبی ترکیبات فنلی است [۳۷]. بنابراین افزایش مقدار عصاره فرولا و بکارگیری آن در مقایسه با شاهد سبب جلوگیری از فعالیت میکروارگانیسم‌ها می‌شود. نتایج و یافته‌های حاصل از این پژوهش با دستاوردهای دیگر محققین در مطالعات مختلف نیز مطابقت داشت [۳۸، ۳۹]. شهبازی و همکاران (۲۰۱۶) به مطالعه تاثیر استفاده از اسانس کاکوتی، نایسین و همچنین ترکیب آن‌ها با یکدیگر روی خصوصیات میکروبی گوشت گوساله را مورد مطالعه و پژوهش قرار دادند. براساس نتایج به دست مشخص شد که با افزایش مدت زمان نگهداری جمعیت کلی میکروارگانیسم‌ها افزایش یافت و افزایش درصد بکارگیری اسانس و نایسین سبب کاهش جمعیت میکروبی در مقایسه با نمونه شاهد شد. همچنین این محققین اظهار داشتند که استفاده از مخلوط نایسین و کاکوتی به طور موثرتری از رشد میکروارگانیسم‌ها و افزایش جمعیت آنها جلوگیری نمود. همچنین، تکنیک نانوریزپوشانی در افزایش فعالیت ضدباکتریایی ترکیبات فعال موثر است [۴۰]. در تحقیقی که فیکوسیانیین مستخرج از میکروجلبلک اسپیرولینا با پوشش مالتودکسترین کازئینات سدیم نانوریزپوشانی شد، چنین نتیجه‌ای تائید گردید [۴۱].

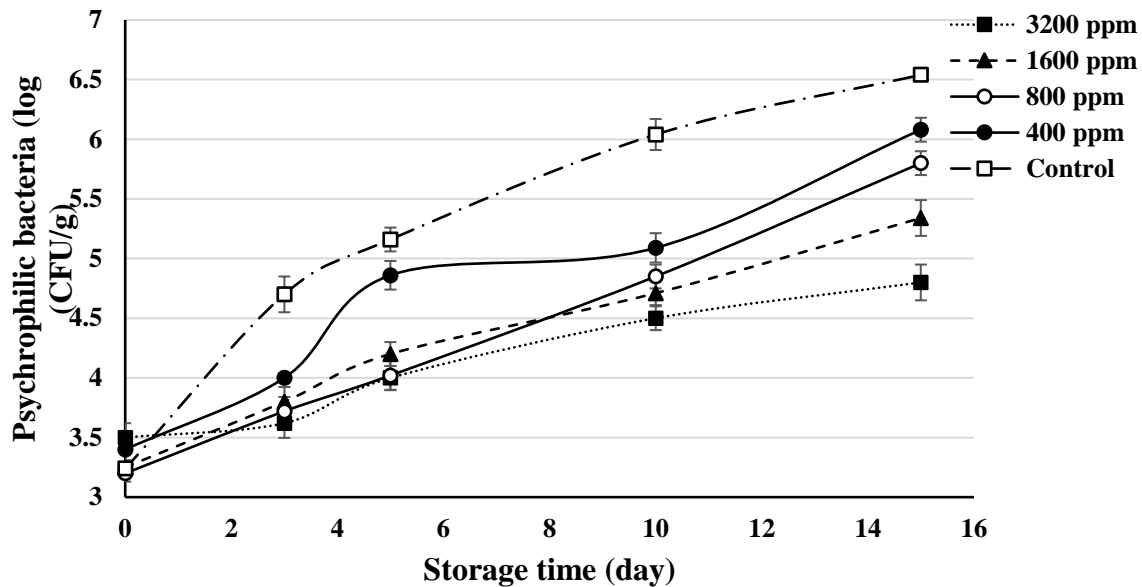


Figure 4- Total viable count of beef burger containing ferula extract microliposome during refrigerated storage

همبرگر در دمای یخچال پرداختند. نتایج ارزیابی فیزیکی، میکروبی و حسی همبرگر نشان داد که عصاره در ساختار نانولیپوزوم به خوبی توانست جمعیت میکروبی را در همبرگر حاصل دهد و موجب افزایش ماندگاری آن گردد [۲۱]. امامی و همکاران (۱۴۰۱) نیز به بررسی تأثیر عطرمایه و عصاره آزاد و ریز پوشانی شده با نانولیپوزوم دارچین بر لیستریا مونوسایتوزنز و اشرشیاکولی تلقیح شده به همبرگر پرداختند. نتایج نشان داد اگرچه فعالیت ضد باکتریایی عطرمایه و عصاره دارچین بیشتر از آنهایی بود که در نانولیپوزومها محصور شده بودند، هم عطرمایه دارچین و هم نانولیپوزومهای عصاره فعالیت ضد باکتریایی بالایی در برابر باکتریهای اشرشیا کلی و لیستریا مونوسایتوزنز نشان دادند. نتایج نشان داد که بر اساس حداقل غلظت‌های بازدارنده و باکتری‌کش نمونه‌های تهیه‌شده، لیستریا مونوسایتوزنز مقاومت بالاتری نسبت به نانولیپوزوم‌های دارچین تهیه شده داشت. در همبرگر نتایج نشان داد که عصاره دارچین نانولیپوزومی برای افزایش ماندگاری همبرگر بدون ایجاد اثر نامطلوب و از نظر پایداری اکسیداتیو و فساد میکروبی کم استفاده کرد [۳۶].

نتایج مربوط به تغییرات شمار باکتری‌های سرمادوست در نمونه‌های مورد بررسی طی دوره نگهداری در شکل ۵ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، روند کلی

تغییرات به صورت افزایشی است و میزان باکتری‌ها در ابتدا و انتهای دوره نگهداری با هم اختلاف معنی‌دار آماری دارند. دلیل کاهش در شمار باکتری‌ها طی دوره نگهداری مرتبط با اثرات ضد باکتریایی عصاره فرولا و رهایش کنترل شده آن از ساختار لیپوزوم است. تومتری و همکاران (۲۰۲۰) به استخراج و ریزپوشانی عصاره برگ بو با میکروولیپوزوم و اثر آن بر ویژگی‌های اکسایشی، میکروبی و حسی همبرگر نگهداری شده در دمای یخچال به مدت ۱۶ روز پرداختند. نتایج حاصل نشان داد که بیشترین ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی در عصاره هیدروالکلی مشاهده شد. برای ارزیابی ماندگاری همبرگر، سطوح غلظتی مختلف (۱۰۰۰ ppm عصاره، ۱۰۰۰ ppm عصاره ریزپوشانی شده در لیپوزوم و ۱۵۰۰ ppm عصاره ریزپوشانی شده با لیپوزوم) مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج حاصل نشان داد که عصاره ریزپوشانی شده با غلظت ۱۵۰۰ ppm کمترین فساد میکروبی و اکسایشی را داشت [۱۴]. همچنین، همایونفر و همکاران (۲۰۲۱) به کاربرد اسانس سیر نانوکپسوله شده برای افزایش ماندگاری

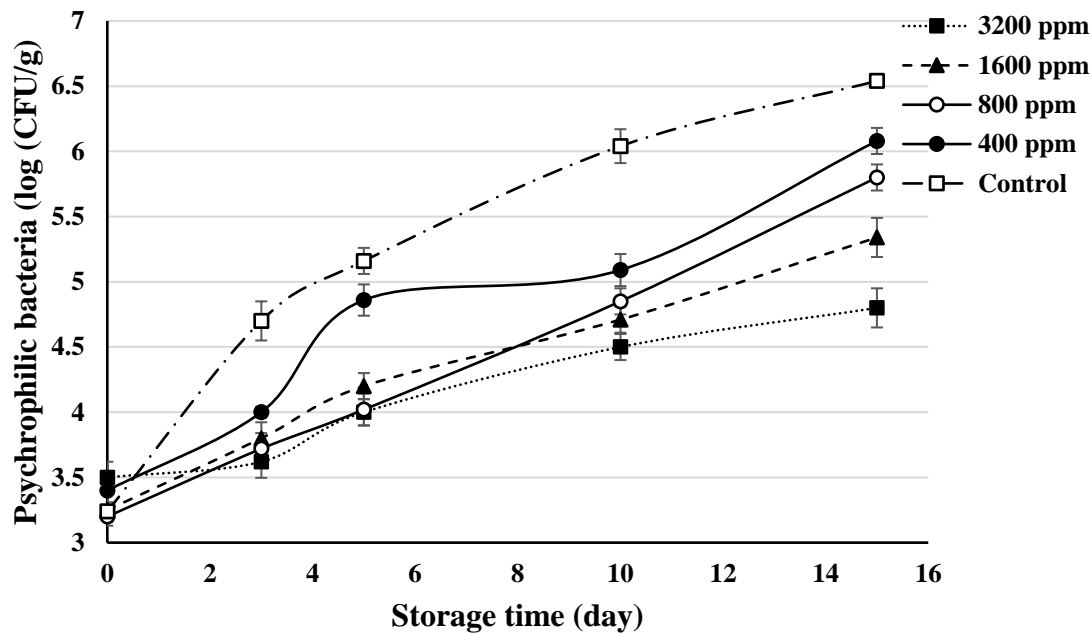


Figure 5 -psychrotrophic bacteria count of beef burger containing ferula extract microliposome during refrigerated storage

شاخص‌های بو، رنگ، بافت و طعم در نمونه‌های حاوی همکاران (۲۰۱۶) به بررسی تاثیر کاربرد صمغ گوار به عنوان جایگزینی چربی بر خصوصیات کیفی گوشتابا (نوعی محصول سستی هند) پرداختند و عنوان نمودند که نمونه‌های حاوی ۰/۵ درصد صمغ و نمونه شاهد تفاوت چشمگیری از نظر پذیرش کلی نداشتند [۴۲]. استفاده از عصاره فرولا در ساختار میکرولیپوزوم می‌تواند راهکاری مناسب برای تولید محصولی جدید، فراسودمند و مطلوب باشد که در بهبود کیفیت تغذیه‌ای مصرف کنندگان به سبب خصوصیات آنتی اکسیدانی قابل توجه و افزایش ماندگاری مؤثر است.

#### نتایج ارزیابی حسی

یکی از تغییرات حسی مهم همبرگر ایجاد تغییرات نامطبوع در رنگ، بو، بافت و طعم آن می‌باشد که به علت رشد میکروبی، تغییرات شیمیایی ناشی از اکسایش و تولید ترکیبات فرار است [۲۰]. جهت ارزیابی ارگانولپتیکی مشخصه‌های طعم، بو، بافت و پذیرش کلی در همبرگر پخته شده مورد سنجش قرار گرفت. نتایج حاصل از ارزیابی ارگانولپتیکی بلافاصله پس از پخت در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج حاصل از ارزیابی حسی نمونه‌های همبرگر حاوی عصاره فرولا ۳۲۰۰ PPM به سبب طعم تندی که ایجاد می‌کند از نظر ارزیاب‌ها امتیاز کمتری بدست آورد. اما

Table 3 - Sensory evaluation of minced beef containing ferula extract microliposome

	Control	Ferula extract (ppm) in microliposome			
		400	800	1600	3200
Color	10.0±0.0 <sup>a</sup>	10.0±0.1 <sup>a</sup>	9.5±0.3 <sup>b</sup>	9.5±0.0 <sup>b</sup>	9.0±0.0 <sup>c</sup>
Odor	10.0±0.2 <sup>a</sup>	9.9±0.2 <sup>a</sup>	9.0±0.1 <sup>b</sup>	8.8±0.3 <sup>b</sup>	8.5±0.2 <sup>c</sup>
Taste	9.7±0.3 <sup>a</sup>	9.6±0.2 <sup>a</sup>	9.7±0.2 <sup>a</sup>	9.0±0.1 <sup>b</sup>	7.8±0.2 <sup>c</sup>
Texture	9.8±0.3 <sup>a</sup>	9.9±0.1 <sup>a</sup>	9.8±0.0 <sup>a</sup>	9.7±0.1 <sup>a</sup>	9.6±0.4 <sup>a</sup>

Overall acceptance	9.7 ±0.3 <sup>a</sup>	9.7±0.2 <sup>a</sup>	9.5±0.2 <sup>a</sup>	9.3 ±0.3 <sup>a</sup>	8.6 ±0.1 <sup>b</sup>
--------------------	-----------------------	----------------------	----------------------	-----------------------	-----------------------

Different small letters in the same column represent significant difference ( $p < .05$ ).

به طور قابل توجهی بیشتر از نمونه شاهد بود که حاکی از نقش حفاظتی ساختار لیپوزوم در رهایش آهسته ترکیبات فنلی و به دنبال آن ممانعت از اکسایش دارد. خصوصیات ضد میکروبی عصاره فرولا نیز در سطوح غلظتی مختلف در ساختار میکرولیپوزوم مشهود بود. نتایج ارزیابی حسی مشخص نمود از لحاظ شاخص پذیرش کلی، میکرولیپوزوم حاوی ۸۰۰ و ۱۶۰۰ PPM عصاره فرولا با نمونه شاهد تفاوتی ندارد و ساختار میکرولیپوزوم توانسته است طعم عصاره را پوشش دهد.

#### ۴- نتیجه گیری

هدف از این تحقیق، تهیه و ارزیابی میکرولیپوزوم حاوی عصاره برگ فرولا جهت بررسی خصوصیات کیفی همبرگر در دوره ۱۵ روز نگهداری در دمای یخچال بود. یافته‌های حاصل از این بررسی نشان داد که ثبات اکسیداتیو همبرگر طی ۱۵ روز در حضور میکرولیپوزوم حاوی عصاره فرولا

#### ۵- منابع

- [1] Solouki, M., Mehdikhani, H., Zeinali, H., & Emamjomeh, A. (2008). Study of genetic diversity in Chamomile (*Matricaria chamomilla*) based on morphological traits and molecular markers. *Scientia Horticulturae*, 117(3), 281-287.
- [2] Javidnia, K., Miri, R., Kamalinejad, M., & Edraki, N. (2005). Chemical composition of *Ferula persica* Wild. essential oil from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 20(6), 605-606.
- [3] Salehi, M., Naghavi, M. R., & Bahmankar, M. (2019). A review of *Ferula* species: Biochemical characteristics, pharmaceutical and industrial applications, and suggestions for biotechnologists. *Industrial Crops and Products*, 139, 111511.
- [4] Nazari, Z. E., & Iranshahi, M. (2011). Biologically active sesquiterpene coumarins from *Ferula* species. *Phytotherapy Research*, 25(3), 315-323.
- [5] Dastan, D., Salehi, P., Aliahmadi, A., Gohari, A. R., Maroofi, H., & Ardalan, A. (2016). New coumarin derivatives from *Ferula pseudalliancea* with antibacterial activity. *Natural Product Research*, 30(24), 2747-2753.
- [6] Bagheri, S. M., Hedesh, S. T., Mirjalili, A., & Dashti-R, M. H. (2016). Evaluation of anti-inflammatory and some possible mechanisms of antinociceptive effect of *Ferula assa foetida* oleo gum resin. *Journal of Evidence-based Complementary & Alternative Medicine*, 21(4), 271-276.
- [7] Chandran, S., Sakthivel, M., Thirumavalavan, M., Thota, J. R., Mariappanadar, V., & Raman, P. (2017). A facile approach to the isolation of proteins in *Ferula asafoetida* and their enzyme stabilizing, anti-microbial and anti-oxidant activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 1211-1219.
- [8] Perveen, I., Raza, M. A., Iqbal, T., Naz, I., Sehar, S., & Ahmed, S. (2017). Isolation of anticancer and antimicrobial metabolites from *Epicoccum nigrum*; endophyte of *Ferula sumbul*. *Microbial Pathogenesis*, 110, 214-224.
- [9] Lopez-Polo, J., Monasterio, A., Cantero-López, P., & Osorio, F. A. (2021). Combining edible coatings technology and nanoencapsulation for food application: A brief review with an emphasis on nanoliposomes. *Food Research International*, 145, 110402.
- [10] Nahr, F. K., Ghanbarzadeh, B., Hamishehkar, H., Kafil, H. S., Hoseini, M., & Moghadam, B. E. (2019). Investigation of physicochemical properties of essential oil loaded nanoliposome for enrichment purposes. *LWT*, 105, 282-289.
- [11] McAfee, A. J., McSorley, E. M., Cuskelly, G. J., Moss, B. W., Wallace, J. M., Bonham, M. P., & Fearon, A. M. (2010). Red meat

- consumption: An overview of the risks and benefits. *Meat Science*, 84(1), 1-13.
- [12] Godfray, H. C. J., Aveyard, P., Garnett, T., Hall, J. W., Key, T. J., Lorimer, J., . . . Jebb, S. A. (2018). *Meat Consumption, Health, and the Environment. Science*, 361(6399), eaam5324.
- [13] Asnaashari, M., Emami, S. A., & Tayarani-Najaran, Z. (2023). The effect of Hashemi brown and white rice extracts and  $\gamma$ -oryzanol on proliferation and estrogenic activity induced by zearalenone in MCF-7 cells. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-14.
- [14] Tometri, S. S., Ahmady, M., Ariaii, P., & Soltani, M. S. (2020). Extraction and encapsulation of *Laurus nobilis* leaf extract with nano-liposome and its effect on oxidative, microbial, bacterial and sensory properties of minced beef. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14, 3333-3344.
- [15] Farahmandfar, R., Asnaashari, M., Asadi, Y., & Beyranvand, B. (2019). Comparison of bioactive compounds of *matricaria recutita* extracted by ultrasound and maceration and their effects on preventing sunflower oil during frying. *Current Nutrition & Food Science*, 15(2), 156-164.
- [16] Asnaashari, M., Emami, S. A., & Tayarani-Najaran, Z. (2023). The effect of Hashemi brown and white rice extracts and  $\gamma$ -oryzanol on proliferation and estrogenic activity induced by zearalenone in MCF-7 cells. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-14.
- [17] Nasri, R., Younes, I., Jridi, M., Trigui, M., Bougatef, A., Nedjar-Arroume, N., . . . Karra-Châabouni, M. (2013). ACE inhibitory and antioxidative activities of Goby (*Zosterisessor ophiocephalus*) fish protein hydrolysates: Effect on meat lipid oxidation. *Food Research International*, 54(1), 552-561.
- [18] Jiménez, A., Sánchez-González, L., Desobry, S., Chiralt, A., & Tehrani, E. A. (2014). Influence of nanoliposomes incorporation on properties of film forming dispersions and films based on corn starch and sodium caseinate. *Food Hydrocolloids*, 35, 159-169.
- [19] Farahmandfar, R., Amini, A., Faghieh Nasiri, S., & Asnaashari, M. (2018). Influence of *Mentha piperita* L. extract in the quality of soybean oil during microwave heating. *Iranian Journal of food science and technology*, 15(75), 201-216.
- [20] Pabast, M., Shariatifar, N., Beikzadeh, S., & Jahed, G. (2018). Effects of chitosan coatings incorporating with free or nano-encapsulated *Satureja* plant essential oil on quality characteristics of lamb meat. *Food Control*, 91, 185-192.
- [21] Homayounpour, P., Alizadeh Sani, M., & Shariatifar, N. (2021). Application of nano-encapsulated *Allium sativum* L. essential oil to increase the shelf life of hamburger at refrigerated temperature with analysis of microbial and physical properties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(11), e15907.
- [22] Cosme, P., Rodríguez, A. B., Espino, J., & Garrido, M. (2020). Plant phenolics: Bioavailability as a key determinant of their potential health-promoting applications. *Antioxidants*, 9(12), 1263.
- [23] Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G., & Zhang, Y. (2022). A brief review of phenolic compounds identified from plants: Their extraction, analysis, and biological activity. *Natural Product Communications*, 17(1), 1934578X211069721.
- [24] Asnaashari, M., Farahmandfara, R., & Karamali, F. (2023). Biodegradable packaging based on chitosan-potato starch biopolymer containing *Apium graveolens* seed extract for chicken fillets. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 20(137), 111-128.
- [25] Farahmandfar, R., Naeli, M. H., Naderi, M., & Asnaashari, M. (2019). Stabilizing corn oil using the lemon balm (*Melissa officinalis*) antioxidants extracted by subcritical water. *Journal of Food Science and Technology*, 56, 695-704.
- [26] Yekta, M. M., Rezaei, M., Nouri, L., Azizi, M. H., Jabbari, M., Eş, I., & Khaneghah, A. M. (2020). Antimicrobial and antioxidant properties of burgers with quinoa peptide-loaded nanoliposomes. *Journal of Food Safety*, 40(2), e12753.
- [27] Tekce, E., Çınar, K., Bayraktar, B., Takma, Ç., & Gül, M. (2020). Effects of an essential

- oil mixture added to drinking water for temperature-stressed broilers: performance, meat quality, and thiobarbituric acid-reactive substances. *Journal of Applied Poultry Research*, 29(1), 77-84
- [28] Ghoturi, S., Ojagh, S. M., Hasani, M., Alishahi, A., & Hasani, S. (2023). Effect of addition of fish oil nanoliposomes on the technological and nutrition quality of beef burgers over storage at 4 C. *Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12(1), 143-162.
- [29] Eslamian Amiri, M., Ahmady, M., Ariaii, P., Golestan, L., & Ghorbani-HasanSarai, A. (2021). Use composite coating of chitosan-chia seed gum enriched with microliposomes of Bay laurel essential oil to increase the shelf life of quail fillets. *Food Science & Nutrition*, 9(12), 6524-6537.
- [30] Machado, A. R., Pinheiro, A. C., Vicente, A. A., Souza-Soares, L. A., & Cerqueira, M. A. (2019). Liposomes loaded with phenolic extracts of Spirulina LEB-18: Physicochemical characterization and behavior under simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 120, 656-667.
- [31] Rashidinejad, A., Birch, E. J., Sun-Waterhouse, D., & Everett, D. W. (2014). Delivery of green tea catechin and epigallocatechin gallate in liposomes incorporated into low-fat hard cheese. *Food Chemistry*, 156, 176-183.
- [32] Friedman, M., Levin, C., Lee, S. U., & Kozukue, N. (2009). Stability of green tea catechins in commercial tea leaves during storage for 6 months. *Journal of Food Science*, 74(2), H47-H51.
- [33] Manafi, D. M., Hadad, K. M., Azadmard, D. S., Valizadeh, H., & Tabatabaei, Y. F. (2018). Preparation and some characteristics of nano liposomes containing olive leaf extract.
- [34] Salamatian, M., Zahedi, Y., & Sattel, R. (2023). Production and Evaluation of Nanoliposomes Loaded with Capparis spinosa Extract. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 19(1), 169-180.
- [35] Aala, J., Ahmadi, M., Golestan, L., & Shahidi, S. A. (2022). The effect of free form and microcoating with nanoliposomes of Laurus nobilis and Rosemary leaves extracts on the behavior of some chemical indicators of spoilage in Silver carp fish kept at refrigerator temperature. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 19(131), 275-289.
- [36] Emami, S., Ahmadi, M., Roozbeh Nasiraie, L., Shahidi, S.-A., & Jafarizadeh-Malmiri, H. (2023). The effect of free and encapsulated essential oil and extract of cinnamon with nanoliposome on Listeria monocytogenes and Escherichia coli inoculated into ground beef. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 19(133), 1-16.
- [37] Lima, M. d. C., de Sousa, C. P., Fernandez-Prada, C., Harel, J., Dubreuil, J., & De Souza, E. (2019). A review of the current evidence of fruit phenolic compounds as potential antimicrobials against pathogenic bacteria. *Microbial Pathogenesis*, 130, 259-270.
- [38] Kalogianni, A. I., Lazou, T., Bossis, I., & Gelasakis, A. I. (2020). Natural phenolic compounds for the control of oxidation, bacterial spoilage, and foodborne pathogens in meat. *Foods*, 9(6), 794.
- [39] Babuskin, S., Babu, P. A. S., Sasikala, M., Sabina, K., Archana, G., Sivarajan, M., & Sukumar, M. (2014). Antimicrobial and antioxidant effects of spice extracts on the shelf life extension of raw chicken meat. *International Journal of Food Microbiology*, 171, 32-40.
- [40] Shahbazi, Y., Shavisi, N., & Mohebi, E. (2016). Effects of Z iziphora clinopodioides Essential Oil and Nisin, Both Separately and in Combination, to Extend Shelf Life and Control E scherichia coli O 157: H 7 and S taphylococcus aureus in Raw Beef Patty during Refrigerated Storage. *Journal of Food Safety*, 36(2), 227-236.
- [41] Safari, R., Raftani Amiri, Z., & Esmaeilzadeh Kenari, R. (2018). *Optimizing the extraction of phycocyanin pigment from Spirulina platensis algae and investigating the qualitative properties of the encapsulated pigment*. PhD thesis, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
- [42] Rather, S. A., Masoodi, F., Akhter, R., Gani, A., Wani, S., & Malik, A. (2016). Effects of guar gum as fat replacer on some quality parameters of mutton goshtaba, a traditional Indian meat product. *Small Ruminant Research*, 137, 169-176.



## Scientific Research

### Application of microliposome of ferula leaves extract on shelf life of beef burger during refrigerated storage

Mohammad Solgi<sup>1</sup>, Maryam Asnaashari<sup>2\*</sup>, Reza Farahmandfar<sup>3</sup>

1-Master student, Department of Food Science and Technology, Khazar Institute of Higher Education, Mahmoudabad, Iran

2-Assistant Professor, Department of Animal Processing, Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

3-Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences & Natural Resources University (SANRU), Sari, Iran

## ARTICLE INFO

## ABSTRACT

## Article History:

Received: 2023/10/22

Accepted: 2023/12/2

## Keywords:

Beef burger,  
Ferula, Antioxidant,  
Phenolic compounds,  
Shelf life

**DOI: 10.22034/FSCT.21.146.195**

\*Corresponding Author E-Mail:  
[m.asnaashari@yahoo.com](mailto:m.asnaashari@yahoo.com)

Despite the development of methods to increase the shelf life and safety of food products, the economic loss caused by food spoilage is still considered one of the main challenges of food industry. Due to the culture of the use of natural products and functional foods, the consumer's desire for natural products with extended shelf life has increased. Phenolic compounds, like many bioactive compounds, gradually become inactive and usually cause a bitter taste in food. Microliposome is one of the effective solutions to increase the stability and reduce the unpleasant taste of bioactive compounds. In this research, the Ferula leaves was extracted with ethanol and its phenolic and flavonoid properties were determined. Then, the antioxidant properties of the extract were determined by DPPH and  $\beta$ -carotene/linoleic acid assay at different concentration (400, 800, 1600 and 3200 PPM). Then it was added to beef burger in the form of liposomes and the oxidative, microbial and sensory characteristics and the release rate of phenolic compounds in beef burger were investigated over two weeks' storage. The results showed that the total phenolic and flavonoid content of the Ferula leaves extract was  $270.67 \pm 5.8$  mgGA/ g extract and  $160.81 \pm 5.65$  mg Quercetin/g extract, respectively. With the increase in the concentration of Ferula extract, the DPPH radical inhibition increases from 33.73 to 84.42% and  $\beta$ -carotene-linoleic acid from 32.56 to 74.90% at 400 to 3200 PPM. The results obtained on the shelf life of beef burger showed that the highest microbial growth and lipid oxidation were observed in the control, and the lowest one was observed in the sample containing 3200 PPM Ferula extract. Based on the oxidation test and sensory evaluation, adding microliposome of Ferula leaves extract at 1600 PPM can significantly increase the shelf life of beef burger in the refrigerator.