مقاله کامل علمی-پژوهشی

نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد سیزدهم، شماره اول، ۱۴۰۰
۱۸۶-۱۶۹
http://ejfpp.gau.ac.ir

DOI: 10.22069/EJFPP.2021.17644.1602

اثر پلی فنل‌های پسآب زیتون رقم روغنی شهرستان طارم بر افزایش پایداری اکسایشی گوشت چرخ شده گوساله

شکوفه طاهری[۱]، علیرضا رحمن[۲*]، سید ابراهیم حسینی[۱]

[۱]گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی علوم و تحقیقات تهران

[۲]گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی شهر قدس

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۲۹

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به آگاهی مصرف کنندگان در خصوص مضرات آنتی اکسیدان‌های سنتزی، امروزه استفاده از پلی‌فنل‌های موجود در پسآب زیتون به‌عنوان آنتی اکسیدان طبیعی در ماده غذایی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. لذا هدف از این تحقیق، نخست شناسایی نوع و میزان پلی‌فنل‌های موجود در پسآب زیتون رقم روغنی طارم و سپس استفاده از آن به‌عنوان آنتی اکسیدان طبیعی در پایداری اکسایشی گوشت چرخ شده خام و پخته گوساله بود.

مواد و روش‌ها: میوه‌های زیتون از شهرستان طارم بصورت دستی برداشت و بعد از روغن‌کشی و تهیه پسآب، نوع و میزان پلی-فنول‌های آن به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا شناسایی شدند. پسآب بدست آمده در مقادیر ۱۰، ۲۰ و ۳۰ (درصد وزنی) به گوشت چرخ شده گوساله خام و پخته (پخته شده در آب به مدت ۳۰ دقیقه) افزوده شد. به‌منظور بررسی پایداری اکسایشی عدد پراکسید، تیوباربیتوریک اسید و دی‌ان مزدوج نمونه‌ها ارزیابی شدند. در نهایت تیمارها از نظر پذیرش کلی (بر اساس بافت، بو، مزه (فقط در تیمار پخته شده) و رنگ) مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نوع و میزان پلی فنل‌های موجود در پسآب زیتون شامل اولئوروپین (۲۰/۴۲ ug/g)، فرولیک اسید (۱۷/۹۱ ug/g)، p-کوماریک اسید (۱۱/۷۶ ug/g)، کافئیک اسید (۳/۷۵ ug/g)، آپی‌ژنین (۲/۵ ug/g) و سینامیک اسید (۱/۷۵ ug/g) بودند. نتایج عدد پراکسید در گروه خام و پخته بصورت روند افزایشی و با اختلاف معنی‌دار ($P<0/05$) همراه بود؛ هرچندتیمارهای حاوی ترکیبات فنلی در مقایسه با نمونه شاهد افزایش کمتری نشان دادند. بررسی تیوباربیتوریک اسید به‌عنوان محصول ثانویه اکسایش نیز در گوشت خام و پخته روند افزایشی را با گذشت زمان نگهداری نشان داد و در تیمارهای حاوی پسآب میزان روند افزایشی بصورت معنی‌داری کمتر بود ($P<0/05$). میزان تیوباربیتوریک اسید در نمونه پخته شده گوشت احتمالاً به‌دلیل اکسایش لیپیدها و افزایش سطح مالون آلدئید بالاتر از نمونه همتای خام خود بود ($P<0/05$). مقدار دِی‌اِن مزدوج در هر دو گروه با افزایش مدت زمان نگهداری رابطه مستقیم داشت. افزایش کمتر این شاخص در تیمارهای حاوی پسآب زیتون به نقش آنتی‌اکسیدانی این ترکیب در مقایسه با گروه کنترل مرتبط است. بر اساس نتایج ارزیابی حسی تیمارهای پخته شده در شاخص پذیرش کلی امتیاز بالاتری نسبت به همتای خام خود کسب کردند ($P<0/05$). تیمار حاوی ۳۰ درصد پسآب تا ۸ روز بیشترین امتیاز را به خود اختصاص داد ($P<0/05$).

[*]مسئول مکاتبه:a.rahman@qodsiau.ac.ir

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج پژوهش حاضر میزان اکسایش لیپیدی در گوشت پخته بیشتر از گوشت خام است زیرا فرآیند پختن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را دچار تغییر کرده، به ساختار سلول آسیب وارد می‌کند و غشاء لیپیدی را در مجاورت شرایط محیطی قرار می‌دهد. استفاده از تفاله زیتون به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی جدید در صنعت گوشت و فرآورده‌های گوشتی پخته پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: پایداری اکسایشی، پسآب زیتون، گوشت گوساله، دی‌ان مزدوج، ترکیبات فنولی

مقدمه

گوشت یک محصول پرمصرف شناخته شده است. شاخص‌هایی مانند بو و طعم، ظاهر، تازگی، ارزش تغذیه‌ای به عنوان شاخص کیفیت گوشت مصرفی توسط مصرف کننده در نظر گفته می‌شود. مصرف کنندگان همواره خواهان گوشتی با کیفیت، بو و طعم طبیعی و ظاهری مطلوب هستند. گوشت تحت شرایط اکسایش تغییر کرده و به سرعت دچار تند شدگی می‌شوند (۴۰). از آنجائیکه لیپیدها از عمده‌ترین اجزاء گوشت و محصولات گوشتی می‌باشند، اکسایش لیپیدها یکی از عمده‌ترین شاخص‌های افت کیفیت گوشت و محصولات گوشتی محسوب می‌شود که بر سایر شاخص‌های پذیرش گوشت (بو، رنگ و بافت) توسط مصرف کننده تأثیر می‌گذارد. از آنجائیکه "کیفیت" و "سلامت" مهمترین عوامل انتخاب مواد غذایی شناخته می‌شوند و ظاهر، رنگ، بافت، طعم و بو از جمله ویژگی‌های کیفی در پذیرش گوشت است، کنترل یا به حداقل رساندن روند اکسیداسیون یکی از مهمترین دغدغه‌ها در صنایع غذایی است (۲). نیتریت‌ها به دلیل ایجاد رنگ قرمز و ویژگی آنتی‌اکسیدانی در محصولات گوشتی بسیار معروف هستند. از طرفی این ترکیب بعنوان عامل بالقوه سمی و دارای پتانسیل سرطان‌زایی در گوشت نیز شناخته شده است. بعلاوه، گزارش‌های متعددی در خصوص مضرات مصرف آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی (از جمله BHA[1]، BHT[2] و ...)، علاقه به استفاده از منابع آنتی‌اکسیدانی طبیعی در محصولات گوشتی به دلیل ایمنی، پذیرش خریدار و افزایش عمر ماندگاری ماده غذایی بیشتر شده است (۳۲، ۴۰).

خروجی آسیاب زیتون اصلی‌ترین پسآب مایع حاصل از صنعت تولید روغن زیتون است. بر طبق مطالعات متعدد، فنل‌های طبیعی موجود در زیتون و فرآورده‌های فرعی آن امروزه به عنوان اهداف بالقوه صنایع غذایی، آرایشی و دارویی شناخته می‌شوند. از آنجائیکه پسآب زیتون در حجم وسیع در دسترس می‌باشد و دارای غلظت بالایی از ترکیبات فنلی است؛ بعنوان یک منبع آنتی‌اکسیدانی طبیعی ارزشمند و قدرتمند در سال‌های نه چندان دور می‌تواند مطرح باشد (۱۲). تحقیقات متعددی در خصوص شناسایی و ویژگی آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنل‌های جدا شده از پسآب زیتون در حال انجام است. مجرلو و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند افزودن عصاره اتانولی کنجاله زیتون در غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام طی ۴ هفته بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را بر پایداری اکسایشی روغن سویا نشان دادند (۳۱). دمارکو و همکاران (۲۰۰۷) طی بررسی ترکیبات جدا شده از عصاره اتیل استات خروجی زیتون اسیدی کارخانجات روغن‌کشی، هیدروکسی تیروزول را به‌عنوان فراوان‌ترین بیوفنول در این کارخانه‌ها معرفی کردند (۱۰). همچنین، آلودات و همکاران (۲۰۱۰) با اثبات همبستگی مثبت بین محتوای فنلی کل و فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از عصاره متانولی از کیک زیتون در مدت زمان‌های ۱، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ ساعت در دماهای ۲۵، ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۷۰ درجه سانتی‌گراد نشان دادند بیشترین مقدار فنل کل و

1. Butylated hydroxyanisole
2. Butylated hydroxytoluene

فعالیت آنتی اکسیدانی به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد بدست می‌آید (۱). در این راستا، رویلا و همکاران (۲۰۱۸) طی بررسی کنسانتره فنلی تفاله زیتون بعنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی بر روی گوشت مرغ در طول مدت نگهداری نشان دادند استفاده از تفاله زیتون به‌عنوان مکمل رژیم غذایی جوجه‌های ۲۲ روزه با تعویق در اکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌ها منجر به بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی در طول دوره نگهداری شد (۴۱). با توجه به مطالب عنوان شده در بالا، این پژوهش به‌منظور بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنل‌های پسآب زیتون رقم روغنی طارم طی فرآیند روغن‌کشی با هدف افزایش پایداری اکسایشی گوشت خام و پخته گوساله و مقایسه با نمونه بدون آنتی‌اکسیدان (شاهد) انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد اولیه: میوه زیتون رقم روغنی از شهرستان طارم در اوایل آذر ماه برداشت شد. گوشت ران گوساله از سوپرمارکت تهران و کلیه مواد شیمیایی مورد نیاز برای انجام آزمون‌ها از نمایندگی شرکت Merck آلمان تهیه شدند.

استخراج روغن از میوه زیتون: حدود ۳ تا ۴ کیلوگرم میوه زیتون بصورت دستی نمونه‌گیری شد و روغن‌کشی از میوه‌ها به روش هاشم‌پور و همکاران (۲۰۱۰) صورت گرفت (۱۷). بدین منظور ابتدا میوه-های زیتون توسط آسیاب چکشی (veilli – ایتالیا) کاملاً له شدند و پس از افزودن آب به میزان حدود ۲۵-۲۰ درصد وزن میوه‌های زیتون با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد ، مرحله مالش دادن[1] جهت الحاق قطرات ریز روغن و افزایش راندمان روغن کشی افزوده به مدت ۳۰ دقیقه با استفاده از همزن (مدل RW 20 IKA – Digital- آلمان) صورت پذیرفت. در مرحله بعد استحصال روغن از میوه زیتون به وسیله سانتریفیوژ (Beckman – آمریکا) انجام شد. پسآب خروجی از دکانتور برای انجام آزمون جمع‌آوری شد (۱۷).

آماده‌سازی تیمارهای تحقیق: پس از تهیه مواد اولیه، همگی به آزمایشگاه مرجع آنالیز مواد غذایی تهران برای انجام آزمایشات انتقال داده شدند. گوشت پس از شستشو به قسمت‌های ۱۰۰ گرمی تقسیم و پسآب تفاله زیتون به میزان ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد وزن گوشت خام و پخته شده در آب به مدت ۳۰ دقیقه غوطه‌ور شدند. نمونه‌ها در کیسه‌های پلاستیکی اسپتیک بسته‌بندی و تا انجام آزمون درون یخچال نگهداری شدند (جدول ۱).

اندازه‌گیری ترکیبات پلی‌فنل تام تفاله زیتون: این آزمون مطابق استاندارد اندازه‌گیری ضریب خاموشی روغن زیتون و استاندارد ویژگی‌های روغن زیتون انجام پذیرفت. در این پژوهش از محلول فولین سیوکالتو[2] به‌عنوان معرف و از گالیک اسید به‌عنوان ترکیب استاندارد فنولی جهت سنجش‌ها استفاده شد. بدین منظور محلول گالیک اسید در رقت‌های مختلف (۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰، ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با معرف فولین‌سیوکالتو رقیق شده به نسبت ۱ به ۱۰ مخلوط و در دمای اتاق (۱۸ درجه سانتی‌گراد) انکوبه شدند، سپس محلول سدیم کربنات افزوده شد. مخلوط نهایی برای مدت ۳۰ دقیقه و دور از نور در دمای اتاق نگهداری گردید. بعد از گذشت این مدت، جذب هر نمونه از گالیک اسید در طول موج ۷۶۵ نانومتر با اسپکتوفتومتر (Lambda مدل ۲۵،Perkinelmer، آمریکا) اندازه‌گیری شد (۱۹، ۲۰).

1. Malaxation

2. Folin-Ciocalteu

جدول ۱- تیمارهای تحقیق

Table 1. Research treatments

تیمارهای تحقیق Research treatments	فرمولاسیون Formulation
Control 1	Raw Beef / گوشت گوساله خام
T1	Raw Beef + 10% OMW* extract /گوشت گوساله خام + ۱۰ ٪ پسآب تفاله زیتون
T2	Raw Beef + 20% OMW* extract / گوشت گوساله خام + ۲۰ ٪ پسآب تفاله زیتون
T3	Raw Beef + 30% OMW* extract /گوشت گوساله خام + ۳۰ ٪ پسآب تفاله زیتون
Control 2	Cooked Beef /گوشت گوساله پخته
T4	Cooked Beef + 10% OMW* extract /گوشت گوساله پخته + ۱۰ ٪ پسآب تفاله زیتون
T5	Cooked Beef + 20% OMW* extract /گوشت گوساله پخته + ۲۰ ٪ پسآب تفاله زیتون
T6	Cooked Beef + 10% OMW* extract /گوشت گوساله پخته + ۳۰ ٪ پسآب تفاله زیتون

* Olive Mill Wastewater

شناسایی و اندازه‌گیری ترکیبات پلی‌فنلی تفاله زیتون: مطابق با استاندارد تعیین بیوفنل‌ها به وسیله HPLC[1] و استاندارد ویژگی‌های روغن زیتون ابتدا ۲ گرم از روغن زیتون در لوله آزمایش ۱۰ میلی‌لیتری درب‌دار به دقت با ترازو دیجیتالی (Metler Toledo-ME303 – سوئد) توزین شد. سپس ۱ میلی‌لیتر محلول استاندارد داخلی (سیرینژیک اسید رقیق شده با محلول متانول: آب ۲۰: ۸۰) به آن اضافه و حداقل ۳۰ دقیقه تکان داده شد. ۵ میلی‌لیتر محلول متانول: آب (۲۰: ۸۰) به آن اضافه و به مدت ۱ دقیقه تکان داده شد. سپس عملیات استخراج در حمام اولتراسونیک (high-tech – انگلستان) به مدت ۱۵ دقیقه انجام گرفت و نمونه سانتریفوژ (Beckman – آمریکا) شد. فاز رویی با سرنگ پلاستیکی برداشته و با فیلتر PVDF[2] صاف شد. نمونه به دستگاه HPLC (مدل ۹۱۰۰، Younglin، کره جنوبی) مجهز به ستون فاز معکوس C18 (۲۵ cm × ۴/۶ mm) با دمای ۱۹۶ درجه سانتی‌گراد همراه با گاز هلیوم با سرعت جریان ۵/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه به‌عنوان فاز متحرک و آشکارساز FID با دمای ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد تزریق شد. سیستم تزریق Split۱:۲۰ بود و کروماتوگرام در ۲۸۰ نانومتر ثبت شد (۲۰، ۲۱).

رابطه ۱. $$(\mathbf{mg/Kg}) = \frac{(\mathbf{\Sigma A})\times\mathbf{1000}\times\frac{\mathbf{RRFsyr}}{\mathbf{tyr}}\times(\mathbf{Wsyr.acid})}{(\mathbf{Wsyr.acid})\times(\mathbf{W})}$$

مقدار بیوفنول‌ها مطابق رابطه ۱ محاسبه شد که در آن ΣA=مجموع نواحی پیک بیوفنل‌ها در ۲۸۰ نانومتر، $A_{syr.acid}$=ناحیه استاندارد داخلی سیرینژیک اسید در ۲۸۰ نانومتر، W=وزن پسآب زیتون استفاده شده برحسب گرم، $RRF_{syr/tyr}$=ضریب تکثیر برای بیان نتایج نهایی برحسب تیروزول و $W_{syr.acid}$=سیرینژیک اسید استفاده شده به‌عنوان استاندارد داخلی و ۱۰۰۰ = فاکتور استفاده شده برای بیان نتایج برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد.

تعیین عدد پراکسید گوشت چرخ شده: ابتدا ۵ گرم از نمونه توزین و ۳۰ میلی‌لیتر از محلول اسید استیک + کلروفرم (نسبت ۳ به ۱) به نمونه روغن اضافه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر یدید پتاسیم اشباع افزوده و محلول به مدت ۱ ساعت در تاریکی قرار گرفت. پس از طی شدن مرحله تاریکی، ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به ظرف بالا اضافه شد. سپس چند قطره چسب نشاسته یک درصد به محلول افزوده و تا بی‌رنگ شدن با تیوسولفات سدیم ۰/۱ نرمال تیتر شد. عدد پراکسید

1. High-performance liquid chromatography
2. Polyvinylidene fluoride

(بر حسب میلی‌اکی والان اکسیژن در کیلوگرم روغن) از رابطه ۲ محاسبه و گزارش شد (۱۲) که در آن S = حجم تیوسولفات مصرف شده توسط نمونه روغن، B= حجم تیوسولفات مصرف شده توسط نمونه شاهد، W= وزن نمونه و N= نرمالیته تیوسولفات می‌باشد.

رابطه ۲.

$$\text{عدد پراکسید} = \frac{n*(S-B)*1000}{W}$$

تیوباربیتوریک اسید: ۲ گرم از نمونه گوشت چرخ شده با ۵ میلی‌لیتر محلول ۲۰ درصد تری کلرواستیک-اسید به‌مدت ۲ دقیقه در مخلوط‌کن (IKA- آلمان) مخلوط شدند. ظرف مخلوط‌کن با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر شسته و به محلول قبلی افزوده شد. محلول با کاغذ واتمن شماره ۴۱ صاف شد. سپس ۵ میلی‌لیتر از محلول صاف شده (عصاره تری‌کلرواستیکی گوشت) با ۵ میلی‌لیتر محلول تیوباربیتوریک اسید ۰/۰۱ مولار مخلوط و به مدت ۱ ساعت در آون (شیماز، SHF 55 A، ایران) با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا رنگ ایجاد شود. رنگ حاصل در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (Lambda مدل ۲۵ ، Perkinelmer، آمریکا) قرائت شد. مقادیر جذب حاصل از نمونه‌ها در مقابل منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت‌های مشخص مالون آلدئید ثبت و به صورت میلی‌گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم گوشت گوساله بیان شد (۳).

اندازه‌گیری شاخص پیوندهای دوگانه مزدوج: ابتدا ۰/۵ گرم از گوشت خرد شده با چاقو در ۵ میلی‌لیتر آب مقطر غوطه‌ور شدند. سپس مخلوط حاصل بخوبی تا همگن شدن یکنواخت همزده شد. سپس مخلوط حاصل از کاغذ صافی عبور داده و بعد از آن ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول صاف شده با ۵ میلی‌لیتر مخلوط حلال هگزان – ایزوپروپانول به نسبت ۳ : ۱ به مدت ۱ دقیقه مخلوط و به‌مدت ۵ دقیقه در سانتریفیوژ (Beckman ، آمریکا) با دور ۲۰۰۰ rpm قرار داده شد. جذب مایع رویی در طول موج ۲۳۳ نانومتر قرائت شد. برای محاسبه میزان غلظت پیوند دوگانه مزدوج از ضریب خاموشی مولی در ۲۵۰۰۰ برمول سانتی‌متر استفاده شد و نتایج بر حسب میلی-مول برکیلوگرم نمونه گوشت گزارش شد (۲۷).

ارزیابی حسی: ارزیابی حسی به روش هدونیک ۵ نقطه‌ای توسط جعفر پور و همکاران (۲۰۱۴) انجام شد (۲۳). بدین ترتیب که نمونه‌های نهایی درون بشقاب‌های یکبار مصرف بدون رنگ و بو قرار داده شدند. این بشقاب‌ها با شماره‌های سه رقمی انتخاب شده از جدول تصادفی اعداد، کد گذاری شدند و در اختیار ۸ نفر ارزیاب آموزش دیده و دارای تجربه در زمینه فرآورده گوشتی قرار داده شدند. آزمون امتیاز-دهی بر اساس علاقه با در نظر گرفتن فاکتورهای مزه و طعم (فقط در گوشت پخته)، بو، بافت و رنگ تحت پذیرش کلی هر فرمول بطور مجزا انجام شد.

آنالیز آماری: جهت تجزیه وتحلیل داده‌های حاصل از تحقیق، از آزمایش فاکتوریل (زمان نگهداری، درصد پسآب زیتون) به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام شد. پس از تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش، میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد مقایسه شدند. برای رسم منحنی در این تحقیق از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

شناسایی و تعیین مقدار پلی‌فنل‌های بدست آمده از پسآب زیتون: جدول ۲ پلی فنل‌های شناسایی شده و شکل ۱ کروماتوگرام بدست آمده از تجزیه پسآب زیتون رقم طارم را نشان می‌دهد. نوع و میزان پلی-فنل‌ها شامل اولئوروپین (۲۰/۴۲ug/g)، فلوریک اسید

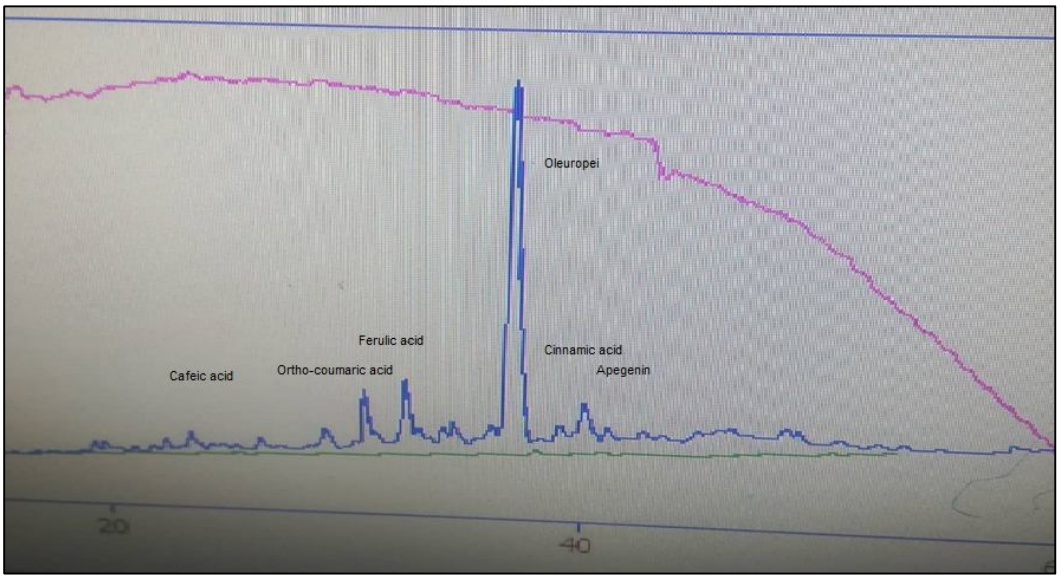
(۱۷/۹۱ ug/g)، p- کوماریک اسید (۱۱/۷۶ ug/g)، کافئیک اسید (۳/۷۵ ug/g)، آپی‌ژنین (۲/۵ ug/g) و سینامیک اسید (۱/۷۵ ug/g) بود (جدول ۲). نتایج مختلف در میزان ترکیبات فنولی نشان دهنده تأثیر شرایط آب و هوایی و جغرافیایی بر ترکیبات فنولی است. فاکتورهای موثر در جهت تعیین میزان ترکیبات فنولی در پسآب زیتون شامل رقم زیتون، ترکیب خاک، رسیدگی میوه، آب و هوا و شرایط زراعی، شرایط نگهداری قبل از استخراج و روش‌های فرآوری است (۱۱). حضور غلظت بالایی از پلی‌فنل‌ها و سایر ترکیبات آلی از جمله پکتین، فیبرهای نامحلول، پروتئین، شکر، ترکیبات نیتروژن دار میوه زیتون و فرآورده‌های جانبی حاصل از آن در حین تولید روغن زیتون بخوبی شناخته شده است. ترکیبات شیمیایی و مواد معدنی در پسآب زیتون و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن به استخراج روغن زیتون و سایر فاکتورها مثل فصل تولید وابسته است (۳۶). در میان ترکیبات فوق فنل‌های زیتون به‌دلیل ویژگی بالای آنتی‌اکسیدانی محور اصلی توجه محققان است. مقادیر بالایی از فنول‌ها طی فرآیند روغن‌کشی از طریق پسآب دفع شده و علاوه بر آن آلودگی زیست محیطی را نیز به دنبال دارد. چشم انداز بازیافت مواد اولیه پسآب‌های زیتون موضوعی است که از چند دهه پیش آغاز شده است؛ بطوریکه امروزه، بازیافت پلی‌فنل‌ها بصورت تجاری درآمده و بعنوان نگهدارنده‌های طبیعی و ترکیبات زیست فعال بفروش می‌رسند (۱۵).

در این راستا لئوفودی و همکاران (۲۰۱۴) طی استخراج ترکیبات فنولی از زیتون مراکشی، الکل‌های فنولی، فنول‌های اسیدی، فلاونوئیدها و مشتقات لیگنان‌ها را به‌عنوان فراوان‌ترین ترکیبات فنلی استخراج شده گزارش دادند (۲۸). دیجانگ و همکاران (۲۰۰۹) طی بررسی ترکیبات پلی‌فنل پسآب زیتون به روش HPLC، کوئرستین، هیدروکسی تیروزول، کافئیک اسید و اولئوروپئین و پس از آن روتین و تیروزول را به لحاظ کمی در بالاترین سطح گزارش دادند (۹). همچنین، آزایزه و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی ترکیبات فعال پنج نمونه پسآب زیتون‌های مختلف با HPLC، هیدروکسی تیروزول، تیروزول، کافئیک اسید، وانیلیک اسید، ورباسکوزید، اولئوروپین، فلوریک اسید و p- کوماریک اسید را شناسایی کردند (۴).

جدول ۲- نوع و میزان ترکیبات پلی‌فنولی در پسآب زیتون رقم روغنی

Table 2. Phenolic composition of Roghani OMW extracts analyzed by HPLC

ترکیبات Compound	ناحیه Area	غلظت Conc. ppm	ug/g
کافئیک اسید/ Caffeic acid	۰/۱۷	۰/۱۵	۳/۷۵
p-کوماریک اسید/ p-Coumaric acid	۳۳۸/۲۷	۰/۴۷	۱۱/۷۶
فلوریک اسید/ Fluoric acid	۱۲۷/۴۴	۰/۷۲	۱۷/۹۱
اولئوروپین/ Oleuropein	۱۳۷۲/۳	۱/۲۱	۲۰/۴۲
سینامیک اسید/ Cinnamic acid	۱۷۲/۳	۰/۰۷	۱/۷۵
آپی‌ژنین/ Apigenin	۹۰/۳۴	۰/۱۰	۲/۵

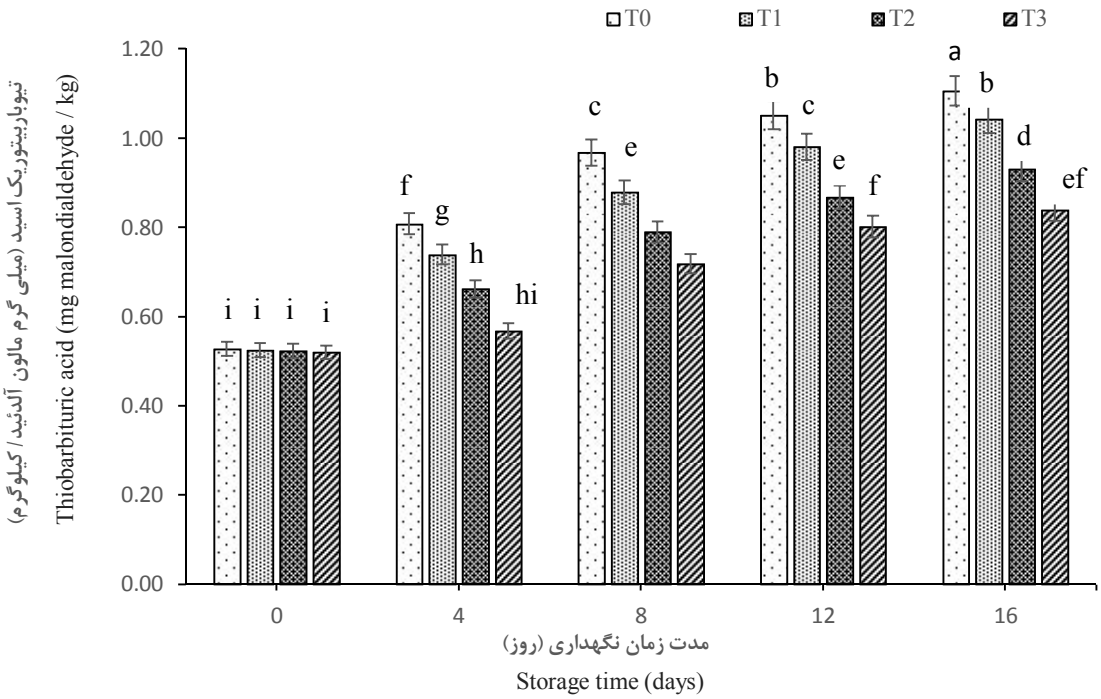


شکل ۱- کروماتوگرام بدست آمده از تجزیه پسآب زیتون

Figure 1. Representative HPLC chromatogram of OMW phenolic extracts.

بررسی شاخص تیوباربیتوریک اسید در نمونه گوشت خام و پخته: شکل‌های ۲ و ۳ میزان تیوباربیتوریک اسید را به‌ترتیب در گوشت گوساله خام و پخته نشان می‌دهد. در روز صفر به‌ترتیب در نمونه خام و پخته میزان تیوباربیتوریک اسید در تیمارها بدون تفاوت معنی‌دار مشاهده شد. میزان این شاخص در گوشت خام در نمونه‌های شاهد و T1 برابر ۰/۵۳ میلی‌گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم و در تیمار T_2 و T_3 با کاهش غیرمعنی‌دار برابر با ۰/۲ میلی‌گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم بود. در گوشت پخته شاخص تیوباربیتوریک اسید برابر با ۰/۵۸ میلی-گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم بود که در T_3 این میزان با کاهش غیرمعنی‌دار نسبت به سایر تیمارها برابر با ۰/۵۷ میلی‌گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم تعیین شد. در زمان نگهداری تیمارهای مورد آزمون در ۴ درجه سانتی‌گراد طی ۱۶ روز، افزایش معنی‌دار در میزان تیوباربیتوریک اسید در هر دو نمونه خام و پخته با گذشت مدت زمان نگهداری مشاهده شد. لازم به ذکر است تیمارهای حاوی پسآب پلی فنولی در مقایسه با نمونه شاهد افزایش کمتری نشان دادند؛ روند افزایشی این شاخص به دلیل تولید آلدئیدها از محصولات ثانویه تجزیه هیدرو پراکسیدهاست (۸). در مقایسه بین تیمارهای حاوی پسآب پلی فنولی با افزایش درصد پسآب روند افزایشی شاخص تیوباربیتوریک اسید در هر دو نمونه خام و پخته کمتر بود. این نتایج تأیید کننده عملکرد موثر پسآب زیتون (۳۰ درصد) در سرکوب اکسایش لیپیدها در فراورده‌های گوشتی است (۱۸). با مقایسه نمودارهای نمونه خام و پخته در هر تیمار مورد تحقیق میزان تیوباربیتوریک اسید در نمونه پخته شده گوشت بطور معنی‌داری بالاتر از نمونه همتای خام خود بود. این افزایش احتمالاً به دلیل تأثیرات درجه حرارات بالا بر اکسایش لیپیدها، افزایش سطح مالون آلدئید و نیز ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است (۲، ۳۸). مطابق تحقیقات جبلی جوان و همکاران (۲۰۱۴) حداکثر میزان قابل قبول تیوباربتیورک اسید در فرآورده‌های گوشتی ۲۰۰ میلی‌گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم معرفی شده است (۲۴). نتایج نشان داد در هیچکدام از گروه‌های آزمایش نگهداری شده در حالت انجماد، عدد

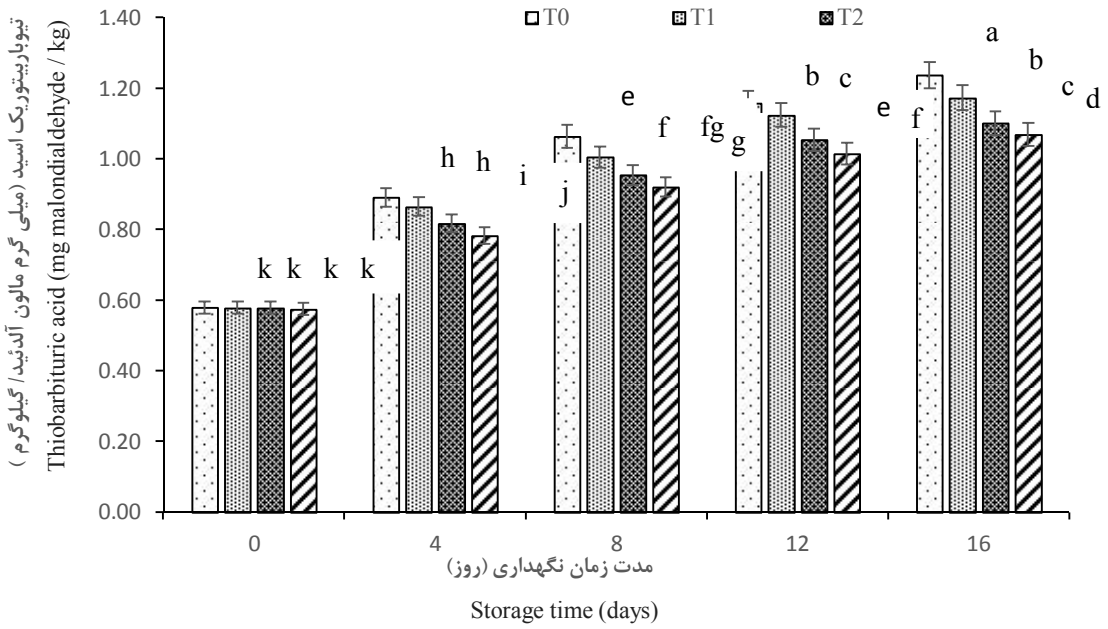
تیوباربیتوریک اسید، بیشتر از حد مجاز گفته شده توسط محققین فوق نبود. این امر می‌تواند بعلت واکنش مالون دی آلدئید تولید شده با دیگر ترکیات موجود در گوشت مانند اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، گلوکز و تولید متابولیت‌های ثانویه مانند کربوهیدرات‌ها، فورفورال‌ها، آلکنان‌ها و دیگر آلدئیدها و کتون‌ها باشد (۲۴). با توجه به مطالب ذکر شده، می‌توان گفت که در ارتباط با تعیین حد مجاز مصرف به‌خصوص در مدت نگهداری طولانی مدت، شاخص تیوباربیتوریک اسید و شاخص مالون آلدئید نمی‌تواند معیار مطمئن و مناسبی باشد (۲۶). دیجانگ و همکاران (۲۰۰۹) طی بررسی تأثیر فنل‌ها (در ۵۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم گالیک اسید بر کیلوگرم) پسآب زیتون بر روی گوشت چرخ شده خام و پخته خوک و گوساله، نشان دادند پلی‌فنل‌های استخراجی بطور قابل‌توجهی اکسایش لیپیدها را در هر دو گوشت مورد آزمایش تحت تأثیر قرار داده و با افزایش غلظت پل فنل این اثر بازدارندگی بخصوص در گوشت چرخ شده گاو بیشتر مشهود بود (۹). موبینو و همکاران (۲۰۱۷) نیز طی بررسی استفاده از تفاله روغن زیتون (در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم گالیک اسید بر کیلوگرم ماهیچه) به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی برای کاهش ضایعات پته گوشت بره نشان دادند که در روز صفر هیچ اختلاف معنی‌داری در تیمارها مشاهده نشد. استفاده از تفاله زیتون سبب تأخیر اکسایش لیپید در تمام دوره نگهداری شد و این مهار-کنندگی به میزان تفاله استفاده شده وابسته بود (۳۳).



شکل ۲- تغییرات تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های گوشت خام حاوی پلی فنل طی نگهداری در □٤

(T0: نمونه شاهد، T1 : گوشت خام + ۱۰٪ پسآب زیتون، T2 : گوشت خام + ۲۰٪ پسآب زیتون، T3: گوشت خام + ۳۰٪ پسآب زیتون)

Figure 2. Effect of polyphenols on TBARS values of raw ground beef meat stored at 4 □
T0: Control, T1: Raw Beef + 10% OMW extract, T2: Raw Beef + 20% OMW, T3: Raw Beef + 30% OMW



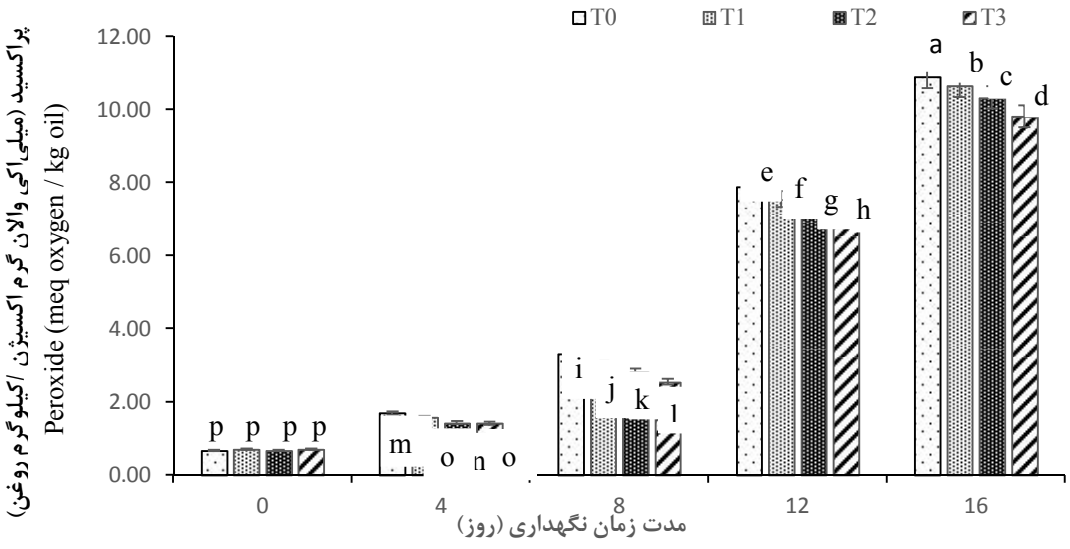
شکل ۳- تغییرات تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های گوشت پخته حاوی پلی فنل طی نگهداری در ٤

(T0: نمونه شاهد، T1 : گوشت پخته + ۱۰٪ پسآب زیتون، T2 : گوشت پخته + ۲۰٪ پسآب زیتون، T3: گوشت پخته + ۳۰٪ پسآب زیتون)

Figure 3. Effect of polyphenols on TBARS values of cooked ground beef meat stored at 4
T0: Control, T1: Raw Beef + 10% OMW extract, T2: Raw Beef + 20% OMW, T3: Raw Beef + 30% OMW

بررسی شاخص پراکسید در نمونه گوشت خام و پخته: شکل های ۴ و ۵ میزان عدد پراکسید را به‌ترتیب در گوشت گوساله خام و پخته نشان می‌دهد. در نمونه گوشت خام در روز صفر، میزان عدد پراکسید نمونه شاهد بدون تفاوت معنی‌دار از تیمارهای گوشت خام با پسآب زیتون بالاتر بود. از روز ۴ تا روز ۱۶ آزمایش (با فواصل چهار روزه) به ترتیب افزایش معنی‌داری در عدد پراکسید تمامی تیمارها (۰/۸۳، ۰/۷۷، ۰/۷۸و ۰/۷۷ میلی‌اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم) و نمونه شاهد مشاهده شد (شکل ۴). تغییرات در دوره القاء به ماهیت لیپیدها و وجود آنتی‌اکسیدان‌ها در ماهیچه گوشت گاو بستگی دارد (۳۵). همانطورکه در نتایج مشخص است با افزایش درصد پسآب زیتون میزان افزایش عدد پراکسید روند آهسته‌تری داشت. با این وجود، در روز ۱۶ آزمایش بیشترین میزان عدد پراکسید در نمونه شاهد (۱۲/۴۰ میلی‌اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم) و کمترین میزان مربوط به تیمار T_3 (۱۱/۵۰ میلی‌اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم) مشاهده شد. در نمونه گوشت پخته شده نیز در روز اول تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها مشاهده نشد (به ترتیب ۰/۶۶، ۰/۷۰، ۰/۶۶ و ۰/۶۹ میلی‌اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم). در روزهای بعد آزمایش روند افزایش معنی‌دار میزان پراکسید در نمونه‌های پخته شده نیز مشاهده شد که در حضور تفاله زیتون روند افزایش آهسته بود. همانطورکه در جدول‌های مذکور نشان داده شده است میزان پراکسید در تیمارهای پخته بطور معنی‌داری کمتر از تیمار خام مشابه بود. نهایتاً در روز ۱۶ آزمایش میزان این شاخص در تیمارها به ترتیب برابر ۱۰/۹۰، ۱۰/۶۵، ۱۰/۳۲ و ۹/۹۱ میلی‌اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم بود. علت این امر تشکیل موقت هیدروپراکسیدهای اولیه در دماهای بالا وتجزیه سریع به ترکیبات فرار و غیر فعال است (۳۸). طبق تحقیقات رحمان و همکاران (۲۰۱۵) زمانیکه میزان عدد پراکسید در

گوشت گاو و محصولات آن بیش از ۲۵ میلی‌اکی-والان اکسیژن بر کیلوگرم باشد مصرف آن‌ها با محدودیت مواجه خواهد شد. مقادیر متوسط عدد پراکسید ممکن است نتیجه کاهش پراکسیدها پس از رسیدن به غلظت‌های زیاد باشد اما سطح بالای پراکسید به‌طور قطع حاکی از چربی شدید است. مقدار پراکسید در چربی‌های بسیار اشباع، حتی پس از اکسایش گسترده، کم است زیرا در ابتدا پراکسیدهای تشکیل شده از چربی‌های اشباع نشده بسیار ناپایدار بوده و به سرعت واکنش نشان می‌دهند تا محصولات ثانویه اکسایش را تشکیل دهند (۳۵، ۱۶). در این راستا الکلوبی و همکاران (۲۰۱۵) با استفاده از عصاره پلی‌فنلی تفاله زیتون سنتی و فاز دوم و سوم تصفیه بعنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی (در غلظت ۱۰۰۰ ppm) در گوشت چرخ کرده طی ۸ روز نگهداری در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نشان دادند با افزایش مدت زمان نگهداری عدد پراکسید در تمام نمونه‌ها افزایش یافت. این افزایش در نمونه‌های تیمار شده با زیتون سنتی کمتر بود. این نتایج به مقدار گروه‌های هیدروکسیل در ساختارهای فنلی ترکیبات موجود در پسآب زیتون خام بطور عمده هیدروکسی تیروزول و اولئوروپئین نسبت داده شد زیرا با افزایش مقدار گروه‌های هیدروکسیل مهار اکسایشی لیپید و توانایی دهندگی هیدروژن افزایش می‌یابد (۱۳). برانسیاری و همکاران (۲۰۱۵) نیز طی بررسی تأثیر مکمل رژیم غذایی با تفاله کیک زیتون (در دو گروه به مدت ۶۰ و ۹۰ روز) بر پایداری اکسایشی گوشت گاو طی نگهداری، کاهش عدد پراکسید در هر دو نمونه گوشت مورد آزمون را نشان دادند (۶). لوسیانو و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی پایداری اکسایشی گوشت بره‌های تغذیه شده (بیش از ۴۰ روز) با کیک زیتون نشان دادند زمان نگهداری به شدت بر تغییرات عدد پراکسید تأثیر گذار است؛ بطوریکه عدد پراکسید تیمارها تا ۴ روز اول تفاوت معنی‌داری نداشتند و بعد از آن تا روز ۱۱ این شاخص کاهشی بود (۳۰).

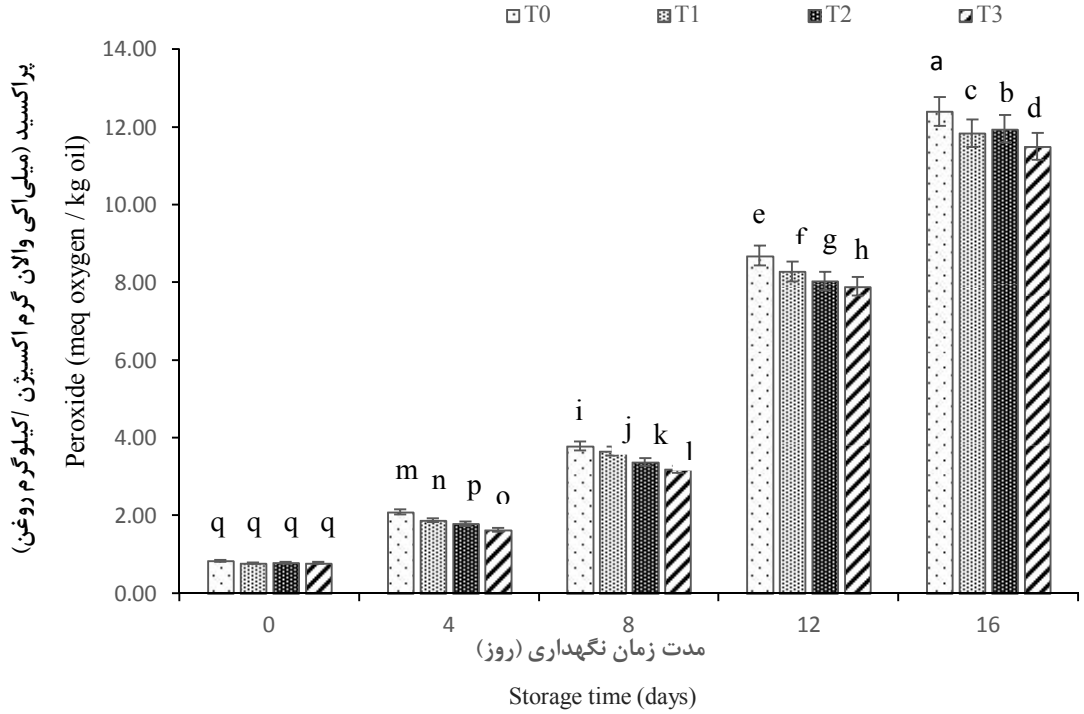


شکل ٤- تغییرات پراکسید نمونه‌های گوشت خام حاوی پلی فنل طی نگهداری در ٤

Figure 4. Changes of peroxide value in raw gro polyphenols during storage at 4

(T0: نمونه شاهد، T1 : گوشت خام + ۱۰٪ پساب زیتون، T2: گوشت خام + ۲۰٪ پسآب زیتون، T3: گوشت خام + ۳۰٪ پسآب زیتون)

T0: Control, T1: Raw Beef + 10% OMW extract, T2: Raw Beef + 20% OMW, T3: Raw Beef + 30% OMW



شکل ۵- تغییرات پراکسید نمونه‌های دوشت پخته حاوی پلی فنل طی نگهداری در □ ٤

Figure 5. Changes of peroxide value in cooked ground beef meat samples containing polyphenols during storage at 4 □

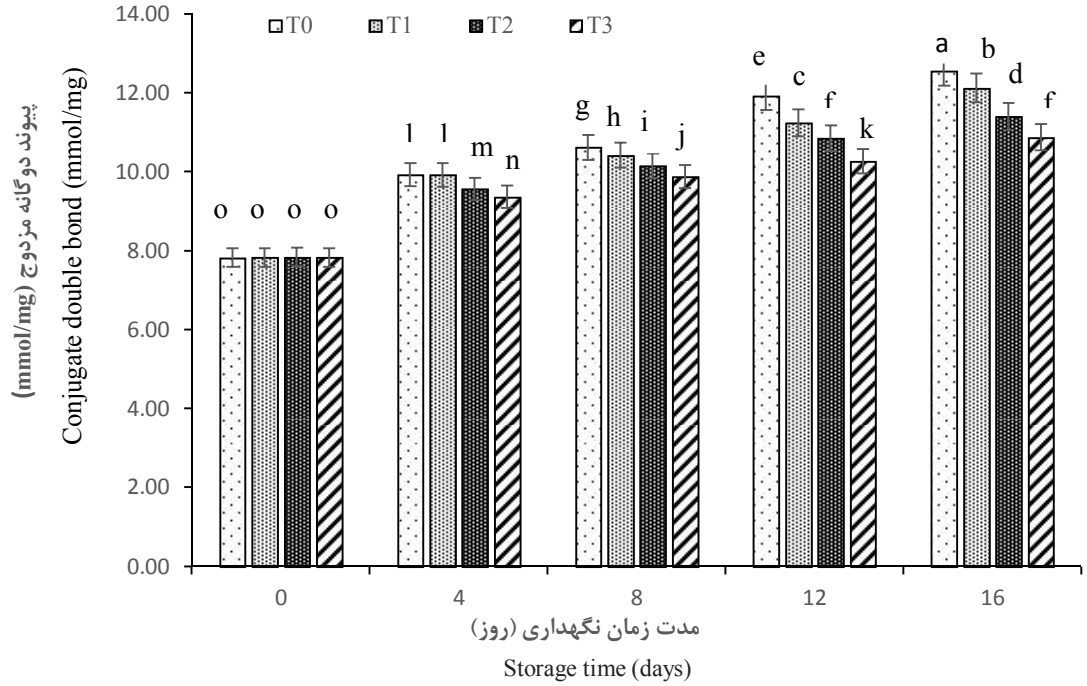
(T0: نمونه شاهد، T1 : گوشت پخته + ۱۰٪ پسآب زیتون، T2 : گوشت پخته + ۲۰٪ پسآب زیتون، T3: گوشت پخته + ۳۰٪ پسآب زیتون)

T0: Control, T1: Raw Beef + 10% OMW extract, T2: Raw Beef + 20% OMW, T3: Raw Beef + 30% OMW

بررسی پیوند دوگانه مزدوج در نمونه گوشت خام و پخته: اکسایش چربی تنها عامل طعم‌های نامطبوع در مواد غذایی نیست اما می‌تواند با تولید انواع اکسیژن فعال مضر منجر به ایجاد سرطان و پیری در انسان شود. در طی واکنش‌های اکسایش، رادیکال‌های آلکیل تشکیل شده بعلت تثبیت رزونانسی (تمایل الکترون‌ها برای قرار گرفتن در پایدارترین حالت فضایی) دچار یک تغییر در موقعیت باندهای دوگانه می‌شوند و در نتیجه هیدروپراکسیدهای مشابه (ایزومری) که اغلب حاوی پیوندهای دوگانه مزدوج هستند تشکیل می‌شود (۱۴).

شکل‌های ۶ و ۷ میزان پیوند دوگانه مزدوج را به‌ترتیب در گوشت گوساله خام و پخته نشان می‌دهد. در نمونه تیمارهای گوشت خام، در روز صفر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در ادامه روند اندازه‌گیری این شاخص در روزهای مورد بررسی افزایش این شاخص در تمامی تیمارها مشاهده شد. در روز چهارم آزمایش بین تیمار T0 و T1 تفاوت معنی‌دار مشاهده شد (۹/۹۲ میلی‌مول بر میلی‌گرم) و این شاخص در تیمار T_2 و T_3 کاهش معنی‌داری داشت (به ترتیب ۹/۵۶ و ۹/۳۶ میلی‌مول بر میلی‌گرم). در روزهای ۸، ۱۲ و ۱۶ آزمایش روند افزایشی با تفاوت معنی‌دار در تمامی تیمارها مشاهده شد و استفاده از پسآب سبب شد این شاخص به میزان کمتری نسبت به نمونه کنترل افزایش پیدا کند و وابستگی بین غلظت پسآب استفاده شده و افزایش کمتر این شاخص مشاهده شد. این موضوع نشان دهنده آن است که استفاده از پسآب زیتون بعنوان آنتی اکسیدان در مقایسه با گروه کنترل

مقاومت در برابر اکسایش را افزایش داده است (۳۷)؛ بطوریکه در روز ۱۶ بیشترین مقدار این شاخص در نمونه کنترل (۱۲/۵۵ میلی‌مول/میلی‌گرم) و کمترین آن در تیمار T_3 (۱۰/۸۷ میلی‌مول/میلی‌گرم) مشاهده شد. در تیمارهای گوشت پخته شده نیز در روز صفر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها مشاهده نشد و میزان پیوند دوگانه مزدوج در روزهای مورد آزمون روند افزایشی داشت. نتایج نشان داد میزان پیوندهای دوگانه در تمامی روزهای آزمایش در تیمارهای پخته بطور معنی‌داری بیشتر از تیمار خام مشابه بود. افزایش پیوند دوگانه مزدوج یکی از شاخص‌های افزایش اکسیداسیون محسوب می‌شود. در واقع تشکیل پیوند دوگانه مزدوج به موازات تولید هیدروپراکسیدها، در مراحل اولیه اکسایش لیپیدها اتفاق می‌افتد (۲۷). در هر صورت، با افزایش زمان نگهداری، هیدرولیز و اکسایش لیپیدها در محصولات گوشتی بیشتر شده و تشکیل هیدروپراکسیدها، دی اِن مزدوج و محصولات ثانویه اکسایش لیپیدی افزایش می‌یابد (۷). بطورکلی، تحقیقات نشان داده است که میزان اکسایش لیپیدی در گوشت پخته بیشتر از گوشت خام است زیرا فرآیند پختن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را دچار تغییر کرده، به ساختار سلول آسیب وارد می‌کند و غشاء لیپیدی را در معرض محیط قرار می‌دهد (۳۹). بر خلاف نتایج این تحقیق، پورخلیلی و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند پیوندهای دوگانه مزدوج در گوشت گوسفند آب‌پز شده نسبت به نمونه خام افزایش معنی‌داری نشان ندادند (۳۴).

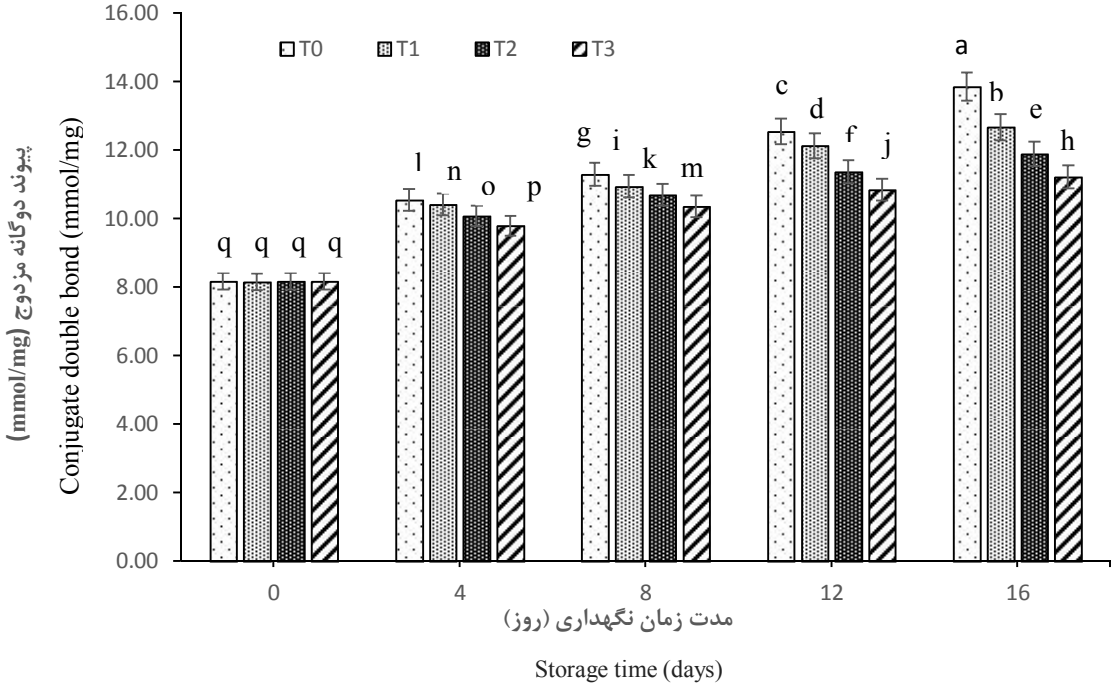


شکل ٦- تغییرات پیوندهای دوگانه مزدوج نمونه‌های گوشت خام حاوی پلی فنل طی نگهداری در □ ٤

Figure 6. Changes of conjugate double bond in raw ground meat containing polyphenols during storage at 4 □

(T0: نمونه شاهد، T1: گوشت خام + ۱۰٪ پسآب زیتون، T2: گوشت خام + ۲۰٪ پسآب زیتون، T3: گوشت خام + ۳۰٪ پسآب زیتون)

T0: Control, T1: Raw Beef + 10% OMW extract, T2: Raw Beef + 20% OMW, T3: Raw Beef + 30% OMW



شکل ۷- تغییرات پیوندهای دوگانه مزدوج نمونه‌های گوشت پخته حاوی پلی فنل طی نگهداری در ٤

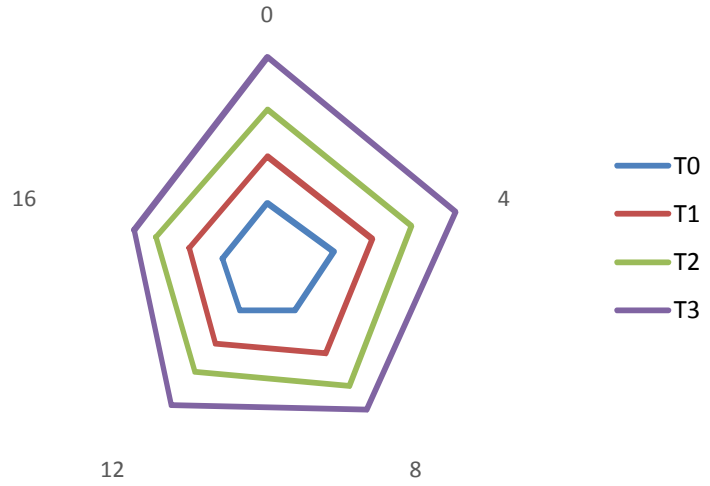
Figure 7. Changes of conjugate double bond in cooked ground beef meat containing polyphenols during storage at 4

(T0: نمونه شاهد، T1 : گوشت پخته + ۱۰٪ پسآب زیتون، T2 : گوشت پخته + ۲۰٪ پسآب زیتون، T3: گوشت پخته + ۳۰٪ پسآب زیتون)

T0: Control, T1: Raw Beef + 10% OMW extract, T2: Raw Beef + 20% OMW, T3: Raw Beef + 30% OMW

بررسی ارزیابی حسی در نمونه گوشت خام و پخته:

امتیاز پذیرش کلی تیمارهای خام و پخته در شکل‌های ۸ و ۹ نشان داده شده است. در روز صفر و ۴، نمونه خام تیمار T_2 حد مطلوب و تیمار T_3 حداکثر امتیاز را داشتند. در روز ۸ تیمارهای مذکور امتیاز مطلوب را کسب کردند و در روز ۱۲ و ۱۶، تیمار T_3 امتیاز مطلوب را با کاهش معنی‌دار طی زمان نشان دادند. در روز صفر نمونه‌های پخته تیمارهای T_4 – T_0 امتیاز مطلوب و T_6 – T_5 حداکثر امتیاز را کسب کردند. در روز ۴ تیمار T_4 حد مطلوب امتیاز و تیمارهای T_5 و T_6 همچنان حداکثر امتیاز را کسب کردند. در روز ۸ تیمار T_5 امتیاز مطلوب و T_6 مرز حداکثر امتیاز را نشان دادند. به‌دنبال آن در روز ۱۲، تنها تیمار T_6 از امتیاز مطلوب برخوردار بود و در روز ۱۶ تمامی تیمارها امتیازی کمتر از حد مطلوب داشتند. موینو و همکاران (۲۰۱۷) طی استفاده از تفاله پسآب زیتون برای کاهش ضایعات در پته‌های گوشت بره نشان دادند بعد از ۶ روز پته‌های بره از لحاظ پذیرش کلی (از نظر اکسیداسیون) قابل قبول بودند (۳۳).

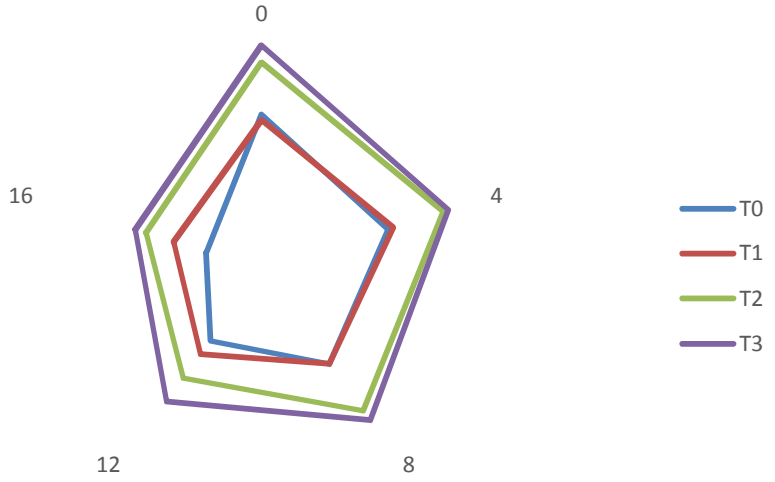


شکل ۸- روند پذیرش کلی نمونه‌های گوشت خام حاوی پلی فنل طی نگهداری در ٤ طی روز ۰، ٤، ۸، ۱۲ و ١٦ نگهداری

Figure 8. Changes of total acceptance in raw ground beef meat containing polyphenols stored at 4 during 0, 4, 8, 12 and 16 days' of storage

(T0: نمونه شاهد، T1 : گوشت خام + ۱۰٪ پسآب زیتون، T2 : گوشت خام + ۲۰٪ پسآب زیتون، T3: گوشت خام + ۳۰٪ پسآب زیتون)

T0: Control, T1: Raw Beef + 10% OMW extract, T2: Raw Beef + 20% OMW, T3: Raw Beef + 30% OMW



شکل ۹- روند پذیرش کلی نمونه‌های گوشت پخته حاوی پلی فنل طی نگهداری در ٤ روز ۰، ٤، ۸، ۱۲ و ١٦ نگهداری

Figure 9. Changes of total acceptance in cooked ground beef meat containing polyphenols stored at 4 during 0, 4, maintenance 8, 12 and 16 days' of storage

(T0: نمونه شاهد، T1 : گوشت پخته + ۱۰٪ پسآب زیتون، T2 : گوشت پخته + ۲۰٪ پسآب زیتون، T3: گوشت پخته + ۳۰٪ پسآب زیتون)

T0: Control, T1: Raw Beef + 10% OMW extract, T2: Raw Beef + 20% OMW, T3: Raw Beef + 30% OMW

نتیجه‌گیری

در این تحقیق به‌منظور افزایش پایداری اکسایشی گوشت چرخ شده گوساله از پسآب تفاله حاصل از روغن کشی زیتون رقم طارم بعنوان آنتی اکسیدان طبیعی در مقادیر ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد استفاده شد. شناسایی پلی‌فنل‌ها با دستگاه HPLC انجام شد و بیشترین ترکیب فنولی شناسایی شده اولئوروپین (۲۰/۴۲ug/g) بود. شاخص‌های عدد پراکسید،

تیوباربیتوریک اسید و عدد مزدوج به منظور بررسی روند اکسایش در تیمارهای تحقیق اندازه‌گیری شدند. بطورکلی، نتایج تحقیقات نشان داد میزان اکسایش لیپیدی در گوشت پخته بیشتر از گوشت خام است. زیرا فرآیند پختن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را دچار تغییر کرده، به ساختار سلول آسیب وارد می‌کند و غشاء لیپیدی را در معرض محیط قرار می‌دهد. با توجه به ویژگی‌های فیزیکوشیمایی و کیفیت تغذیه‌ای، نمونه گوشت پخته تیمار شده با ۳۰ درصد تفاله زیتون (تیمار T_6) را می‌توان بعنوان بهترین نمونه معرفی نمود. بطورکلی استفاده از تفاله زیتون به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی جدید در صنعت گوشت و فرآورده‌های گوشتی پیشنهاد می‌شود.

منابع

1. Alu'datt, M.H., Alli, I., Ereifej, K., Alhamad, M., Al-Tawaha, A.R. and Rababah, T. 2010. Optimizations, characterization and quantification of phenolic compounds in olive cake. Food Chemistry. 123: 1.117-122.
2. Amaral, A.B., Silva, M.V.D., and Lannes, S.C.D.S. 2018. Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors–a review. Food Science and Technology. 38: 1.1-15.
3. Association of Official Analytical Chemists, 1995. Official methods of analysis (16th Edition). Washington, DC, USA: Association of Official Analytical Chemists.
4. Azaizeh, H., Halahlih, F., Najami, N., Brunner, D., Faulstich, M., and Tafesh, A. 2012. Antioxidant activity of phenolic fractions in olive mill wastewater. Food Chemistry. 134: 4. 2226-2234.
5. Balzan, S., Taticchi, A., Cardazzo, B., Urbani, S., Servili, M., Di Lecce, G., Zabalza, I., EnricoNovelli, M.,and Fasolato, L. 2017. Effect of phenols extracted from a by-product of the oil mill on the shelf-life of raw and cooked fresh pork sausages in the absence of chemical additives. LWT-Food Science and Technology. 85: Part A.89-95.
6. Branciari, R., Ranucci, D., Miraglia, D., Urbani, S., Esposto, S. and Servili, M. 2015. Effect of dietary treatment with olive oil by-product (olive cake) on physicochemical, sensory and microbial characteristics of beef during storage. Food Safety.4: 4.5496.
7. Chaijan, M. 2008. Lipid and myoglobin oxidations in muscle foods. Songklanakarin J. of Science & Technology. 30: 1.47-53.
8. De Azevedo Gomes, H., da Silva, E.N., do Nascimento, M.R.L., and Fukuma, H. T. 2003. Evaluation of the 2-thiobarbituric acid method for the measurement of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. Food Chemistry. 80: 3.433-437.
9. DeJong, S., and Lanari, M.C. 2009. Extracts of olive polyphenols improve lipid stability in cooked beef and pork: Contribution of individual phenolics to the antioxidant activity of the extract. Food Chemistry.116: 4.892-897.
10. De Marco, E., Savarese, M., Paduano, A. and Sacchi, R. 2007. Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters. Food Chemistry. 104: 2.858-867.
11. Dermeche, S., Nadoura, M., Larroche, C., Moulti-Mati, F., and Michaud, P. 2013. Olive mill wastes: biochemical characterizations and valorization strategies. Process Biochemistry. 48: 10. 1532-1552.
12. El-Abbassi, A., Kiai, H. and Hafidi, A. 2012. Phenolic profile and antioxidant activities of olive mill wastewater. Food Chemistry. 132: 1.406-412.
13. El-Kalyoubi, M. H., Khallaf, M.M., Zahran, H.A, and Abdel-Razek, A.G. 2015. Potential application of olive mill waste extracts as natural antioxidants for improving the oxidative stability of fatty

foods. Current Science International. 3. 313-319.
14. Feiner, G. 2006. Meat products handbook: Practical science and technology. Elsevier. pp: 501-553.
15. Galanakis, C. M. 2018. Phenols recovered from olive mill wastewater as additives in meat products. Trends in food science & technology. 79. 98-105.
16. Gotoh, N., and Wada, S. 2006. The importance of peroxide value in assessing food quality and food safety. Oil Chemists' Society. 83: 5. 473-474.
17. Hashempour, A., Ghazvini, R.F., Bakhshi, D. and Sanam, S.A. 2010. Fatty acids composition and pigments changing of virgin olive oil (*Olea europea L.*) in five cultivars grown in Iran. Australian J. of Crop Science. 4: 4.258-263.
18. Hayes, J. E., Stepanyan, V., Allen, P., O'grady, M. N., and Kerry, J. P. 2011. Evaluation of the effects of selected plant-derived nutraceuticals on the quality and shelf-life stability of raw and cooked pork sausages. LWT-Food Science and Technology. 44: 1.164-172.
19. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2008. Olive oil - Ultraviolet extinction coefficient measurement- Test method. National Iranian Standard No. 10503. First revision. (In Persian).
20. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2012. Olive oil - Characteristics and test methods. National Iranian Standard No. 1446. Second revision. (In Persian).
21. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2013. Olive oil - Identification and determination of biophenols by high performance liquid chromatography (HPLC) test method. National Iranian Standard No. 16323. First Edition. (In Persian).
22. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2018. Animal and vegetable oils and fats - peroxide measurement by iodometric method - End point determination by ocular method. National Iranian Standard No. 4179. Second revision. (In Persian).
23. Jaafarpour, S.A and Shukri, M. 2014. Biochemical, tissue, and sensory evaluation of combined red and surimi meat burger of Common Carp during freezing. J. of Food Industry Research. 27: 1.37-58. (In Persian).
24. Jebeli Javan, A., Saberi, M., Javaheri, A.S. and Ghaffari, S. 2014. The Effect of adding Aloe Vera extract to broiler chicken diet based on chicken fillet peroxidation in freezing condition. J. of Veterinary Research. 68: 3. 240-233.
25. Julie, K. 2007. Factors affecting poultry meat quality". The University of Georgia. College of Agricultural and Environmental Science. Cooperative Extension Service. 14.33-60
26. Kostaki, M., Giatrakou, V., Savvaidis, I. N., and Kontominas, M. G. 2009. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. Food microbiology. 26: 5. 475-482.
27. Lee, M.A., Choi, J.H., Choi, Y.S., Han, D.J., Kim, H.Y., Shim, S.Y., Chung, H.K. and Kim, C.J., 2010. The antioxidative properties of mustard leaf (*Brassica juncea*) kimchi extracts on refrigerated raw ground pork meat against lipid oxidation. Meat Science. 84: 3.498-504.
28. Leouifoudi, I., Zyad, A., Amechrouq, A., Oukerrou, M. A., Mouse, H. A., and Mbarki, M. 2014. Identification and characterisation of phenolic compounds extracted from Moroccan olive mill wastewater. Food Science and Technology. 34: 2. 249-257.
29. Levermore, R. 2004. Rancidity in fresh and stored pork products. Meat International. 14. 16-18.
30. Luciano, G., Pauselli, M., Servili, M., Mourvaki, E., Serra, A., Monahan, F. J., and Mele, M. 2013. Dietary olive cake reduces the oxidation of lipids, including cholesterol, in lamb meat enriched in polyunsaturated fatty acids. Meat Science. 93: 3. 703-714.
31. Mojerloo, Z., Elhami Rad, H., and Najafi, A. 2016. Antioxidant effect of ethanolic extract of olive meal on

oxidative stability of soybean oil in comparison with some chemical antioxidants. J. of Innovation in Food Science and Technology. 8: 3. 15-23. (In Persian).
32. Mokhtar, S.M., Youssef, K.M. and Morsy, N.E. 2014. The effects of natural antioxidants on colour, lipid stability and sensory evaluation of fresh beef patties stored at 4 ℃. Agroalimentary Processes and Technologies. 20: 3. 282-292.
33. Muíño, I., Díaz, M.T., Apeleo, E., Pérez-Santaescolástica, C., Rivas-Cañedo, A., Pérez, C. and de la Fuente, J. 2017. Valorisation of an extract from olive oil waste as a natural antioxidant for reducing meat waste resulting from oxidative processes. J. of Cleaner Production. 140. 924-932.
34. Pourkhalili, A., Mirlohi, M., Rahimi, E. and Hojatoleslami, M. 2013. Effect of conventional cooking methods on lipid oxidation indices in lamb meat. J. of Food Hygiene. 2: 1. 19-30.
35. Rahman, M.H., Hossain, M.M., Rahman, S. M. E., Amin, M. R., and Oh, D.H. 2015. Evaluation of physicochemical deterioration and lipid oxidation of beef muscle affected by freeze-thaw cycles. Korean J. for food science of animal resources. 35: 6. 772-782.
36. Roselló-Soto, E., Barba, F.J., Parniakov, O., Galanakis, C.M., Lebovka, N., Grimi, N., and Vorobiev, E. 2015. High voltage electrical discharges, pulsed electric field, and ultrasound assisted extraction of protein and phenolic compounds from olive kernel. Food and Bioprocess Technology. 8: 4. 885-894.
37. Sampaio, G. R., Saldanha, T., Soares, R. A.M., and Torres, E.A.F.S. 2012. Effect of natural antioxidant combinations on lipid oxidation in cooked chicken meat during refrigerated storage. Food Chemistry. 135: 3.1383-1390
38. Weber, J., Bochi, V.C., Ribeiro, C.P., Victório, A.D.M., and Emanuelli, T. 2008. Effect of different cooking methods on the oxidation, proximate and fatty acid composition of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fillets. Food Chemistry. 106:1. 140-146.
39. Widayaka, K., Setyawardani, T., and Sumarmono, J. 2001. The effect of storage and cooking on lipid oxidation of raw and cooked beef and goat meat. Asia Pacific J. of Clinical Nutrition. 10: 4. 548.556.
40. Zahid, M.A., Seo, J.K., Park, J.Y., Jeong, J.Y., Jin, S.K., Park, T.S. and Yang, H.S. 2018. The effects of natural antioxidants on protein oxidation, lipid oxidation, color, and sensory attributes of beef patties during cold storage at 4℃. Korean J. for food science of animal resources. 38: 5. 1029-1042.
41. Roila, R., Valiani, A., Miraglia, D., Ranucci, D., Forte, C., Trabalza-Marinucci, M., and Branciari, R. 2018. Olive mill wastewater phenolic concentrate as natural antioxidant against lipid-protein oxidative deterioration in chicken meat during storage. Italian J. of food safety. 7: 3.148-152.

EJFPP, Vol. 13 (1): 169-186
http://ejfpp.gau.ac.ir

Effect of polyphenols from olive (Roghani cultivar of Tarom city) mill wastewater on increasing oxidative stability of ground beef meat

SH. Taheri[1], A. Rahman[2*], S.E. Hosseini[1]
[1]Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University of Science and Research of Tehran
[2]Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Shahrekord

Received: 2020/01/30; Accepted: 2020/08/19

Abstract

Background and adjective: According to consumer awareness about the disadvantages of synthetic antioxidants, the use of polyphenols from olive mill wastewater (OMW) as a natural antioxidant in food has received much attention. Therefore, this study aimed to identify and quantify the polyphenols present in olive (Roghani cultivar of Tarom city) mill wastewater and its use as a natural antioxidant for increasing oxidative stability of raw and cooked ground beef meat.

Materials and Method: Olive fruits were obtained from Tarom city and after olive oil extraction and wastewater production, the type and amount of polyphenols in OMW were determined by the HPLC. Antioxidant extract from OMW was added in raw and cooked beef using three different concentration (10, 20 and 30%). Thiobarbituric acid, peroxide value and conjugated dienes were measured for evaluation of oxidative stability. Finally, the samples were investigated for overall acceptability.

Results: The type and amount of polyphenols present in OMW were Oleuropein (20.42 ug/g), fluoric acid (17/91 ug /g), p-coumaric acid (11/76 ug /g), caffeic acid (3.75 ug/g), apigenin (2.5 ug/g), and cinnamic acid (1.75 ug /g). Analysis of peroxide as primary oxidation products showed a significant difference between the raw and cooked groups. Also, an increasing trends were observed in both groups. Treatments containing polyphenolic extract showed less increase compared to the control sample due to lower decomposition of primary hydroperoxides into volatile and inactive compounds. Evaluation of thiobarbituric acid as a secondary oxidation product in both raw and cooked ground beef meat showed an increasing trend over storage time. The amount of thiobarbituric acid in cooked ground meat samples was higher than the raw counterpart ($P<0.05$), probably due to lipid peroxidation and increased levels of malondialdehyde. The results of conjugates dienes analysis showed an increasing trend in both groups during shelf life. The lower increase of this parameter in the treatmentscontaining OMW showed that the OMW phenolic extract as an antioxidant increased oxidative resistance compared to the control group. Overall acceptance of treatments showed that all cooking treatments had higher scores than their raw counterparts ($P<0.05$), and samples contain 30% extract achieved the highest score for up to 8 days.

Conclusion: According to the results, the rate of lipid oxidation in cooked ground meat is higher than the raw counterpart. This is because cooking process changes the antioxidant compounds, damages the cell structure, and exposes the lipid membrane to the environment.

***Keywords**:* Oxidative Stability, Olive mill Wastewater, beef meet, Tarom.

*Corresponding author: a.rahman@qodsiau.ac.ir