(مقاله پژوهشی)

تاثیر عصاره ریز پوشانی شده با نانو لیپوزوم و عصاره آزاد برگ بو بر ماندگاری گوشت چرخ‌کرده گاو طی مدت زمان نگهداری در یخچال

سارا شکری تومتری[۱]، محمد احمدی [۲*]، پیمان آریایی[۲]، مهدی شریفی سلطانی[۳]

۱-دانشجوی دکتری، گروه علوم وصنایع غذایی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

۲-استادیار،گروه علوم وصنایع غذایی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

۳-استادیار، گروه دامپزشکی، دانشکده کشاورزی، واحد چالوس، دانشگاه آزاد اسلامی، چالوس، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۲۴ تاریخ پذیرش:۱۳۹۹/۰۳/۱۲

چکیده

در این پژوهش تاثیر عصاره ریز پوشانی شده با نانولیپوزوم و عصاره آزاد برگ بو(*Laurus nobilis*) در افزایش عمر ماندگاری گوشت چرخ شده گاو طی دوره نگهداری ۱۶روزه در یخچال مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، عصاره برگ با استفاده از روش التراسوند و حلال‌های مختلف (شامل آبی، الکلی و هیدروالکلی) استخراج و مقادیر ترکیبات فنلی و فلانوئیدی اندازه گیری شد.با توجه به نتایج در بین حلال‌های مختلف استخراج، بالاترین مقادیر ترکیبات فنلی و فلانوئیدی در عصاره استخراجی با حلال هیدروالکلی مشاهده شد (P<۰/۰۵)بنابراین عصاره به منظور آزمون‌های بعدی استفاده شد و به منظور بررسی اثر عصاره برگ بو در افزایش عمر ماندگاری گوشت چرخ شده ۵ تیمار شامل شاهد، عصاره با غلظت ۱۰۰۰ppm، عصاره با غلظت ۱۵۰۰ppm، عصاره نانوکپسوله با غلظت ۱۰۰۰ppm و عصاره نانوکپسوله با غلظت ۱۵۰۰ ppm تولید و به صورت دوره ای مورد ارزیابی شیمیایی(پراکسید (PV)، مقادیر تیوباربیوتیک اسید (TBA)) و میکروبی(مقادیر کلی باکتری (TVC) و مقادیر باکتری سرمادوست (PTC)) قرار گرفتند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره برگ بو دارای خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی می باشد و نانوکپسوله نمودن عصاره سبب افزایش خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی آن شده است به طوریکه تیمار ppm ۱۵۰۰ عصاره نانوکپسوله برگ بو روند فساد میکروبی و اکسیداسیونی در گوشت چرخ شده را به طور معنی‌داری به تعویق انداخت (P<۰/۰۵). بنابراین به نظر می‌رسدکه عصاره نانولیپوزیم برگ بو می تواند به عنوان یک نگهدارنده طبیعی درگوشت و فرآورده‌های گوشتی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی: برگ بو، هیدروالکلی، نانولیپوزیم، گوشت

* مسئول مکاتبات: drahmady@gmail.com

۱- مقدمه

گوشت قرمز به عنوان یکی از عمده‌ترین مواد غذایی مصرفی انسان‌ها شناخته شده که با دارا بودن منابع سرشاری از پروتئین، انرژی و ویتامین‌هایB، مواد معدنی و اسیدهای آمینه جزء منابع مغذی و ارزشمند غذایی محسوب می‌گردد. بزرگ‌ترین دسته بر حسب حجم مصرف، گوشت قرمز است که شامل گوشت‌گاو، گوسفند و گوساله بوده و متداول‌ترین انواع گوشت‌قرمز مصرفی هستند. 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 کل در تمام دنیا ایفا می‌نمایند (۲). گوشت گاو وفرآورده‌های آن مانندگوشت چرخ‌کرده از جمله محصولات غذایی هستندکه به‌دلیل شرایط فیزیکیوشیمیایی مناسب برای میکروارگانیسم‌هاکه در این ارتباط می‌توان به میزان بالای مواد مغذی و فعالیت آبی بالا اشاره کرد مستعد فساد می‌باشد. از طرفی دیگرگوشت محصولی است گرانقیمت که تلاش برای افزایش زمان ماندگاری آن حتی به مدت چند روز میتواند ضایعات ناشی از فساد را به میزان قابل ملاحضه ای کاهش داده و از نظراقتصادی دستآوردهای بزرگی راکسب کرد (۶ و۳۸). امروزه مصرف‌کنندگان خواهان مصرف فرآورده‌هایی با منشاء طبیعی و با حداقل فراوری هستند، لذا با توجه به مجموعه عوامل ذکر شده، استفاده از روش‌های جدید بر پایه‌ی مواد طبیعی جهت کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها و حفظ کیفیت نهایی فرآورده‌ها مورد توجه جدی قرار گرفته است (۵). برگ‌بو با نام علمی*Laurus nobilis L* درخت یا درختچه‌ای همیشه سبز به ارتفاع ۱۵-۲۰ متر و دو پایه است. کاشت و پرورش درخت برگ بو در ایران در دوره قاجاریه آغاز شد و در گذشته به عنوان درخت‌زینتی در تهران و برخی نواحی شمال ایران کاشت می‌شد (۳).از نظر ترکیبات شیمیایی طبق تحقیقات انجام شده مشخص شده است که آلفا توکوفرول ایزومر عمده در اندام‌های رویشی گیاه برگ بو می‌باشد و در برگ‌ها فلاونوئیدها و اسیدهای فنولی وجود دارد. همچنین مقدار آلفا توکوفرول در برگ‌های گیاه برگ بو به شدت بالا بوده و ریشه‌های آن حاوی مقدار بالایی فلاونوئید می‌باشد (۱۷). از آنجاییکه عصاره‌های گیاهی ترکیبات بسیار فعالی هستند ممکن است در اثر برخورد با اکسیژن یا ماده غذایی اثرات سودمند خود را از دست بدهند. لذا استفاده از روش‌هایی برای محافظت از آن‌ها به منظور حصول بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی ضروری می‌باشد. ریزپوشانی این ترکیبات قبل از به کار بردن آن‌ها در سیستم‌های غذایی و یا نوشیدنی راه کاری مناسب جهت برطرف کردن این محدودیت‌ها محسوب می شود. بعلاوه اخیرا بهبود فعالیت و اثر بخشی ترکیبات ضدمیکروب نانومقیاس در مقایسه با حالت سنتی توجه بیشتر و بیشتری را به خود جلب کرده است (۳۱ و۴۰). لیپوزوم‌ها ذرات کروی متشکل از چربی‌های قطبی (از قبیل فسفاتیدل کولین و همچنین فسفاتیدل اتانول آمین) و یا مخلوطی از چربی‌های قطبی با کلسترول و یا ارگوسترول می باشند. به دلیل خواص ساختاری ویژه، لیپوزوم‌ها می‌توانند ترکیبات هیدروفیل و هیدروفوب ریزپوشانی کنند. بعلاوه اینکه آن‌ها ترکیباتی زیست تخریب‌پذیر، غیرسمی، عاری از خطرات ایمنی شناسی، و همچنین زیست سازگارند. آن‌ها می‌توانند ترکیبات آنتی میکروب و دیگر ترکیبات کاربردی را بعنوان یک ریز محیط جداگانه ریز پرشانی کرده و فعالیت آن‌ها را با وجود تغییر در فاز آبی اطراف آن‌ها حفظ کنند (۲۵ و ۴۰). با توجه به مطالب بیان شده، این پژوهش با هدف بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره آزاد و ریزپوشانی شده گیاه برگ بو در افزایش عمر ماندگاری گوشت چرخ شده گاو طی دوره نگهداری انجام خواهد شد.

۲-مواد و روش ها

۲-۱-مواد اولیه

برگ‌های گیاه برگ بو از درختان شهرستان چابکسر ازتوابع استان گیلان تهیه و قسمت‌های زائدآن جدا و بلافاصله پس از شستشوخشک شد. سپس در آون تحت خلأ با درجه

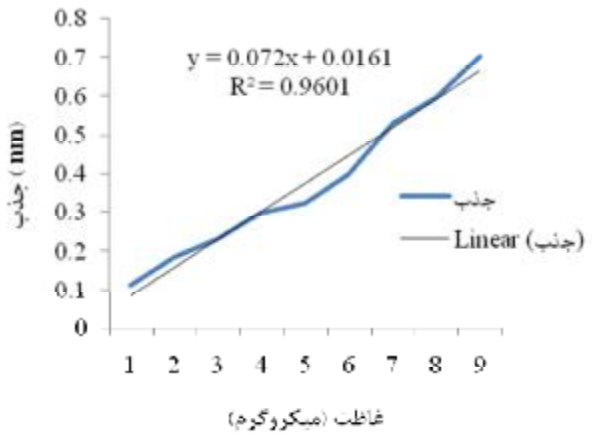
حرارت ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ دقیقه خشک شد. توسط خردکن کاملا پودر شد و تا زمان انجام آزمایش در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری گردید (۴).گوشت ران گاو پس از ذبح تهیه شده و تا عبور از جمود نعشی در دمای محیط نگهداری، سپس با استفاده از چرخ گوشت (قطر دهانه ۵ میلی متر) چرخ شد. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک آلمان تهیه شد و دارای درجه تجزیه ای بود.

۲-۲- استخراج عصاره با امواج التراسوند

۱۰ گرم نمونه گیاه برگ بو با ۱۰۰ میلی‌لیتر از حلال‌های مختلف (آبی، الکلی و هیدروالکلی (اتانول: آب (۵۰:۵۰٪)) در دمای (۴۵ درجه سانتی گراد) و زمان (۲۰ دقیقه) در حمام التراسوند در ۲۰KHz عصاره‌گیری شد. سپس محلول‌ها با کاغذ واتمن شماره ۱ صاف و حلال‌ها توسط تبخیر گردان تحت خلاء تبخیر شد. عصاره حاصله تا زمان انجام آزمایش در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۸).

۲-۳-اندازه‌گیری ترکیبات فنولی و کل فلانوئیدی

روش فولین سیوکالتیو[1] از متداول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری فنولی می‌باشد. اساس کار در این روش، احیای معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی‌رنگ است، که حداکثر جذب را در طول موج ۷۶۰ نانومتر نشان می‌دهد. ترکیبات فنولی کل بر اساس روش توضیح داده به وسیله Donald و همکاران (۱۵) با استفاده از اسپکتروفتومتر بر مبنای اسیدگالیک (نمودار ۱) تعیین شد.

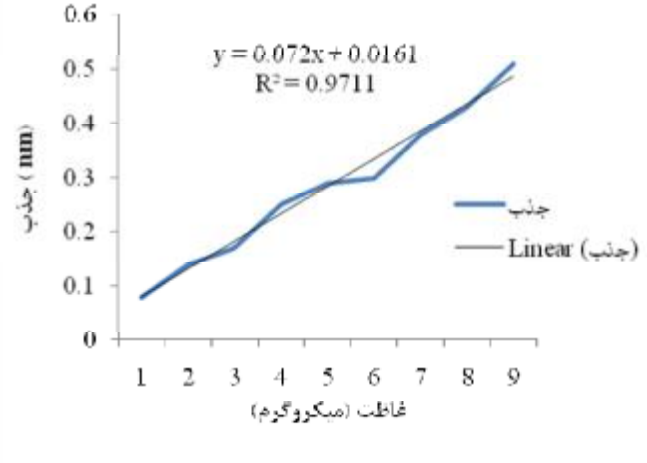


نمودار۱- منحنی استاندارد اسید گالیک (محاسبه فنل)

1-Folin–Ciocalteu

۲-٤-اندازه‌گیری ترکیبات فلانوئیدی

فلانونوئیدهای کل با روش رنگ‌سنجی کلریدآلومینیوم انجام شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره،۱۰۰ میکرولیتراستات پتاسیم۱مولار اضافه نموده، بعد از ۵دقیقه به ۱۰۰ میکرولیترکلریدآلومینیوم۱۰درصد به محلول اضافه شد. سپس ۱/۵میلی‌لیترمتانول ۸۰ درصد و ۲/۸میلی‌لیترآب دیونایزه به محلول اضافه گردید. پس از۳۰ دقیقه شدت جذب محلول درطول موج ۴۱۵ نانومترخوانده شد. برای محاسبه غلظت فلاونوئید کل با استفاده از روتین منحنی استاندارد (نمودار ۲) رسم‌گردید و غلظت فلاونوئیدها برحسب میلی‌گرم روتین درگرم وزن خشک ارائه شد (۱۴).



نمودار۲- منحنی استانداردکوئرستین(محاسبه فلاونوئید)

۲-۵- شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده عصاره

شناسایی ترکیبات با استفاده از پارامترهای مختلف از قبیل مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه این طیف ها با ترکیبات استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه دستگاه GC/MS صورت گرفت (۲۲). در صد نسبی هر کدام از ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با توجه به سطح زیر منحنی آن در کروماتوگرام GC به دست آمد.

۲-٦- تهیه عصاره نانوکپسوله

نانولیپوزم ها طبق روش Jiménezو همکاران (۲۵) با کمی تغییریا اصلاح تولید شدند. ابتدا ۲گرم لسیتین و ۲ گرم توئین ۸۰ در ۳۸گرم آب مقطر مخلوط و برای ۵ ساعت تکان داده شدند. در مرحله بعد ۴ گرم عصاره برگ گیاه بو به دیسپرسیون آبی لسیتین اضافه شده و کل مخلوط به مدت ۶۰۰ ثانیه (۱ثانیه روشن و ۱ ثانیه خاموش در فرکانس ۴۰ کیلو هرتز و ۴۰ درصد قدرت دستگاه تحت شرایط سونیکاسیون (Bandelin Sonorex Digitec, Germany) قرار گرفت. نانولیپوزوم های تولیدی تا زمان استفاده در بطری های استریل و در شرایط تاریک نگهداری شد.

۲-۷-آماده سازی تیمارها و آزمون های گوشت

بعد از اندازه‌گیری خصوصیات نانوکپسول ها، عصاره آزاد و نانوکپسوله در دو غلظت ۱۵۰۰ppm و ۱۰۰۰ به گوشت چرخ کرده اضافه شد. یک نمونه گوشت بدون عصاره هم به عنوان شاهد استفاده شد. نمونه ها سپس در بسته های پلی اتیلینی بسته بندی و به مدت ۱۶روز در دمای۴ درجه سانتیگراد قرارگرفت. آزمون‌های شیمیایی و میکروبی مختلف در فواصل زمانی ۴ روز بر روی نمونه ها انجام شد.

۲-۷-۱-عدد پراکسید

آزمون پراکسید میزان محصولات اولیه اکسیداسیون (هیدروپراکسیدها) را اندازه‌گیری می‌کند. روند تغییرات عدد پراکسید نمونه‌ها مطابق روش AOCS (۷) تعیین شد.

۲-۷-۲-عددتیوباربیتوریک اسید

آزمون تیوباربیتوریک اسید محصولات ثانویه اکسیداسیون (مالون دی آلدهید) را اندازه‌گیری می‌کند. این آزمون بر اساس روش AOCS (۷) انجام شد.

۲-۷-۳- اندازه‌گیری شاخص‌های میکروبی

برای شمارش باکتریایی نمونه‌ها،۱۰گرم از نمونه گوشت در شرایط استریل با۹۰ میلی‌لیتر محلول کلریدسدیم ۰/۸۵مخلوط و هموژن شد و متعاقب آن رقت‌های متوالی($۱۰^{-۲}$ تا $۱۰^{-۱۰}$) تهیه گردید.یک میلی‌لیتر از هر رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پورپلیت[1]مورد استفاده قرارگرفت. شمارش تعداد باکتری‌های کل و باکتری‌های سرمادوست در محیط پلیت کانت آگار[2] به ترتیب در دماهای۳۷درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ روز و ۷ درجه سانتی‌گراد به مدت۱۰روز با شمارش کلنی‌های موجود برروی پلیت انجام گرفت.تمامی شمارش‌ها به صورت log CFU/g گزارش گردید (۳۳).

۲-۷-٤- ارزیابی حسی

کیفیت حسی نمونه پخته شده درآون در حرارت۱۸۰درجه سانتی‌گراد و مدت ۴۵ دقیقه به کمک ۱۵ ارزیاب نیمه آموزش‌دیده انجام شد.به‌طور همزمان با استفاده از روش مقیاس رتبه‌بندی ترسیمی[3]مورد ارزیابی قرار گرفت (۳۴). مبنای انتخاب ارزیاب‌ها سلامت جسمی، داشتن دندان‌های طبیعی، عدم مصرف سیگار، نداشتن آلرژی و عدم تمایل شدید به مصرف ماده غذایی مورد بررسی و تشخیص درست بو، مزه و رنگ گوشت چرخ کرده بود. قبل از انجام آزمون، آموزش‌های لازم در مورد بو، رنگ و مزه به ارزیابان داده شد. آب تازه برای نوشیدن بین هر مرحله تشخیص در دسترس ارزیاب‌ها قرار گرفت.

۲-۸-تجزیه و تحلیل آماری

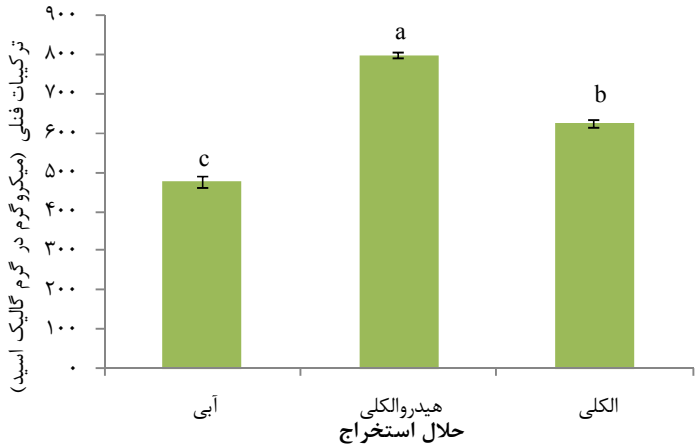
کلیه آزمایش‌ها در طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد و نتیجه به صورت میانگین با انحراف معیار گزارش شد. آنالیز آماری تیمارها توسط جدول آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده ازنرم افزار SPSS صورت گرفت. تفاوت معنی‌داری میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ تعیین شد و نمودارها با نرم‌افزار Microsoft Excel ترسیم شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مقادیر ترکیبات فنلی و فلانوئیدی

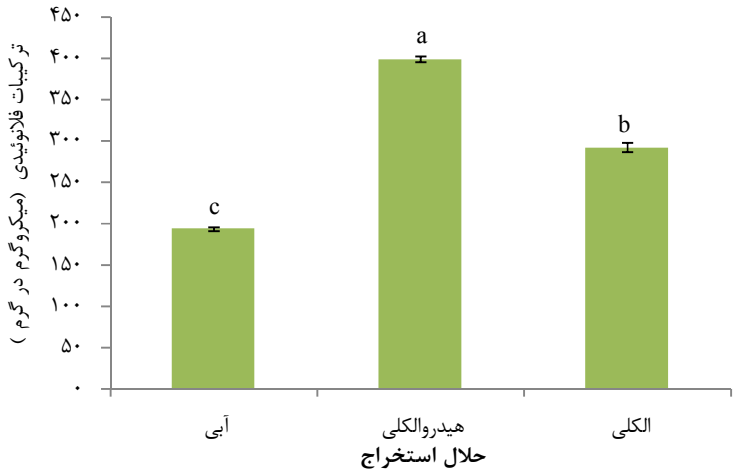
ترکیبات فنلی در میوه‌ها و سبزیجات توجه بسیاری از محققین را به خود معطوف کردند که به علت پتانسیل بالای آن برای فعالیت آنتی‌اکسیدانی می باشد. ترکیبات فنلی با اهدای اتم هیدروژن از فعالیت رادیکال آزاد جلوگیری می‌کنند (۳۵). این ترکیبات شامل موادی از قبیل فلاونوئیدها، فلاونول‌ها، آنتوسینین‌ها، آنتراکینون، استیل‌بنوئید و مشتقات آن‌ها هستند. دربین ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قویتری محسوب می‌شوند. فلاونوئیدها بازدارنده‌های قوی رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسید هستند. کوئرستین یک فلاونول است و یکی از قویترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌آید. افزایش تعدادگروه‌های هیدروکسیل با قدرت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فلاونوئیدی رابطه‌ی مستقیم دارد (۳۵). نتایج مربوط به ترکیبات فنلی (نمودار۳) مطالعه حاضر نشان داد تیمار استخراج التراسوند آب- اتانول بیشتر از مابقی تیمار ها بودند (۷۹۶/۹۴ میکروگرم در گرم وزن خشک) و تیمار استخراج التراسوند آبی (۴۷۶/۱۰ میکروگرم در گرم وزن خشک) کم‌تر از مابقی تیمارها بود($P<۰/۰۵$). همچنین نتایج مشابهی در ارتباط با ترکیبات فلانوئیدی (نمودار۴) مشاهده شد به طوری‌که، مقادیر ترکیبات فلانوئیدی در تیمار استخراج التراسوند آب- اتانول بیشتر از مابقی تیمار ها بودند (۳۹۸/۷۱ میکروگرم در گرم وزن خشک) و همچنین تیمار تیمار استخراج التراسوند آبی (۱۹۲/۸۲ میکروگرم در گرم وزن خشک) کمتر از مابقی تیمارها بود($P<۰/۰۵$).

1-Pour plat
2-Plate count agar
3-Graphic Rating Scale



نمودار ۳- اثرحلال‌های مختلف استخراج بر میزان ترکیبات فنلی کل

*ستون ها با حروف متفاوت نسبت به هم اختلاف معنی دار دارند.(a, b, c,..)



نمودار ٤- اثرحلال‌های مختلف استخراج بر میزان ترکیبات فلانوئیدی

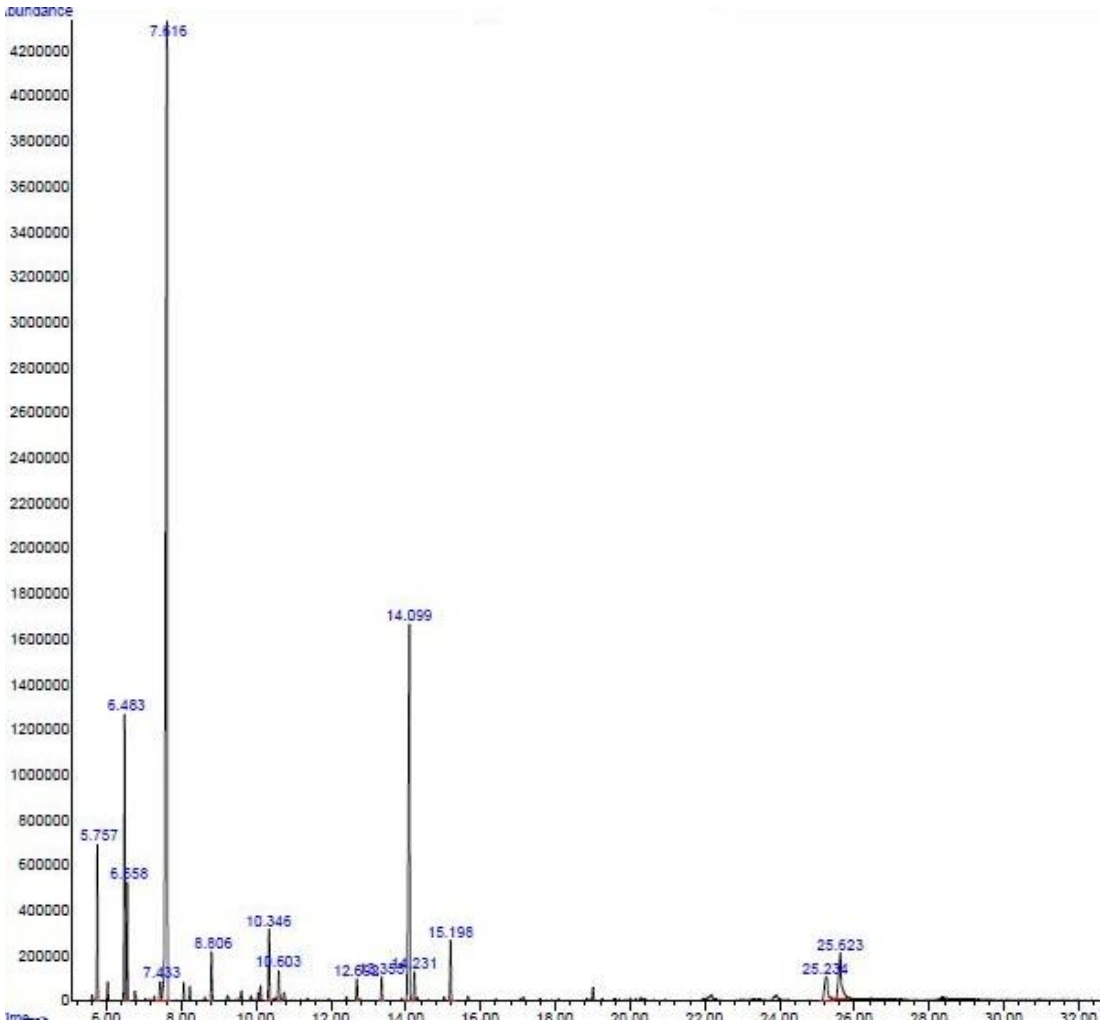
*ستون ها با حروف متفاوت نسبت به هم اختلاف معنی دار دارند.(a, b, c,..)

استفاده از آب به عنوان حلال استخراج، یک محیط کاملاً قطبی ایجاد می‌کند که درآن برخی از ترکیبات فنولی با درجه قطبیت پائین به میزان کمتری استخراج می‌شوند. افزودن آب به حلال‌های آلی با تشکیل یک محیط نسبتاً قطبی همراه بوده و بنابراین از استخراج مقادیر و انواع بیشتری از ترکیبات فنولی دراین شرایط اطمینان حاصل می‌گردد. علاوه براین عصاره‌ی آبی حاوی مقادیر زیادی از ناخالصی‌هایی نظیر اسیدهای آلی، پروتئین‌ها و قندهای محلول می‌باشد که می‌توانند در تشخیص و تعیین مقدار ترکیبات فنولی تداخل ایجاد نمایند (۱۳). نتایج مطالعه حاضر با نتایج Maleki و همکاران (۲۸) هم خوانی داشت، آن‌ها اعلام نمودند که بالاترین مقادیر ترکیبات فنلی در عصاره کرفس در روش التراسوند به همراه حلال آبی اتانولی به‌دست آمد. همچنین آن‌ها اعلام نمودند کم‌ترین

میزان ترکیبات فنلی در روش استخراج آبی بوده است. آنها علت پایین بودن ترکیبات فنلی در روش استخراج آبی را به دلیل قطبیت بالای آب اعلام نمودند. همچنین آن‌ها اعلام نمودند در ترکیبات آبی-اتانولی میزان ترکیبات فنلی افزایش یافت که می توان این افزایش را در ارتباط با قطبیت حلال و تورم بافتهای گیاهی در این روش دانست. Muñiz-Márquez و همکاران (۳۲) نیز به بررسی حلال آبی- اتانولی با غلظت‌های اتانول ۰، ۳۵ و ۷۰ درصد بر میزان ترکیبات فنلی عصاره برگ بو پرداختند آن‌ها نیز اعلام نمودند حلال آبی- اتانولی ۳۵ درصد بالاترین میزان ترکیبات فنلی را دارا بود که آنها علت این امر قطبیت حلال‌ها اعلام نمودند. با توجه به بالاتر بودن ترکیبات فنلی و فلانوئیدی در این روش هیدروالکلی، از این عصاره برای آزمون‌های بعدی استفاده شد.

۳-۲- تعیین ترکیبات تشکیل دهنده عصاره برگ بو

نتایج مربوط به ترکیبات شیمیایی عصاره برگ بو در جدول ۱ آورده شده است. در مجموع ۱۲ ترکیب با مجموع ۹۹/۲۹ درصد شناسایی شد. بیشترین ترکیبات عصاره شامل 1,8-Cineole (۴۲/۲۵)، Sabinene (۱۲/۳۹)، D-Limonene (۱۰/۲۷) و 3-Carene (۸/۷۵) بوده است.Fatimaو همکاران (۱۸) نیز اعلام نمودند اصلی ترین ترکیبات برای عصاره برگ بو شامل 1,8-cineole (به ۳۰/۹۰ درصد)، sabinene (۹/۶ درصد)، alphaterpinyl acetate (۷/۸ درصد)، linalool (۴/۹-۹/۵ درصد) بود. در مجموع در مقدار و نوع ترکیبات عصاره در مطالعات متنوع تفاوت هایی وجود دارد، به طور کلی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس های گیاهی بر حسب منطقه جغرافیایی رویش، زمان برداشت گیاه، شرایط محیطی و فصلی، روش خشک کردن و استخراج عصاره، عصاره گیری از اندام های مختلف و درنهایت تفاوت ژنتیکی گیاه می تواند تغییر کند (۱۹ و ۲۷).



شکل٤- طیف GC عصاره برگ بو

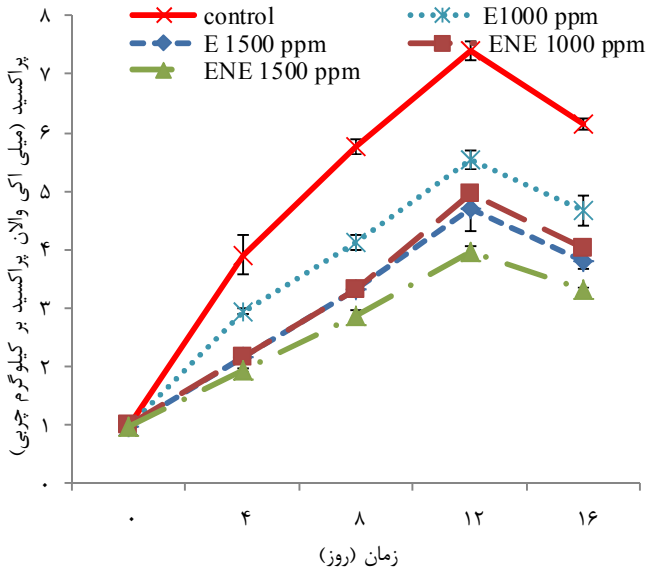
جدول ۱- ترکیبات شیمیایی عصاره برگ بو

ردیف	ترکیبات	درصد
۱	1,8-Cineole	٤٢/٢٥
۲	Sabinene	۱۲/۳۹
۳	D-Limonene	۱۰/۲۷
٤	3-Carene	۸/۷۵
۵	α-terpinyl acetate	۷/۲۸
٦	Methyleugenol	٦/٩٥
۷	α-Pinene	٤/٥٩
۸	β-Pinene	۲/۳
۹	β-Myrcene	۱/۹۹
۱۰	β-Linalool	۱/٤٥
۱۱	Myrcene	۰/٥٩
۱۲	γ-terpinene	۰/٤٨
مجموع		۹۹/۲۹

۳-۳- تغییرات عدد پراکسید طی مدت نگهداری

اکسیداسیون چربی‌ها، عامل اصلی فساد آنها ست و هیدروپراکسیدهای تشکیل شده از واکنش بین اکسیژن و اسیدهای چرب غیراشباع، محصولات اولیه این واکنش هستند. هیدروپراکسیدها بدون طعم و بو هستند اما به سرعت تجزیه شده و آلدئیدها تشکیل می‌شوندکه دارای طعم و بوی شدید و نامطبوعی هستند. غلظت پراکسید معمولا به صورت اندیس پراکسید بیان می‌شود و معیاری است از اکسیداسیون یا فساد درمراحل اولیه آن (۳۷). با افزایش زمان مقادیر عدد پراکسید (نمودار ۵) در تمامی تیمارها تا روز دوازدهم نگهداری افزایش و سپس کاهش یافت. کاهش عدد پراکسید پس از حداکثر مقدار خود ممکن است به علت بی ثباتی هیدروپراکسید و تبدیل آن به ترکیبات ثانویه اکسیداسیون می باشد (۸). با توجه به نتایج آنالیز آماری بیشترین مقادیر عدد پراکسید در تیمار شاهد مشاهده شد($P<۰/۰۵$). کمتر بودن عدد پراکسید در تیمارهای حاوی عصاره به علت ترکیبات فنلی موجود در عصاره می‌باشد. پلی فنول‌ها توانایی به دام انداختن رادیکال‌های آزاد را دارند، خصوصا رادیکال‌های پروکسی که یکی ازکلیدی‌ترین واکنش دهنده‌های زنجیره‌ی میانی‌اند، در نتیجه باعث خاتمه دادن چرخه‌ی واکنش‌های فساد اکسیداسیونی می‌شوند(۳۶ و ۳۷). برگ بو هم ازجمله گونه‌هایی است که دارای ترکیبات زیست فعال مختلف مانند ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی است بنابراین اثر تیمارهای حاوی عصاره برگ بو برکاهش میزان پراکسید نسبت به تیمار شاهد قابل توجیه است (۱۹ و ۳۰). در مطالعه حاضر مقادیر عدد پراکسید در تیمارهای حاوی نانو عصاره کمتر از مابقی تیمارها بود($P<۰/۰۵$). انکپسولاسیون سبب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می شود، نانوکپسولاسیون باعث حفاظت هیدروکلوئیدهای به کار برده از فاکتورهای محیطی نظیرpH، اکسیژن، نور و... میشود. همچنین مولکول‌های فرار با این روش پایدار مانده و باعث حفاظت آن‌ها از تغییرات اکسیداتیو، نوری و فراریت می شود. بنابراین نانوانکپسولاسیون و پتانسیل بیشتری به منظور افزایش فراهمی زیستی، بهبود کنترل انتشار، هدف قراردادن دقیق ترکیبات زیستی در نتیجه بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی

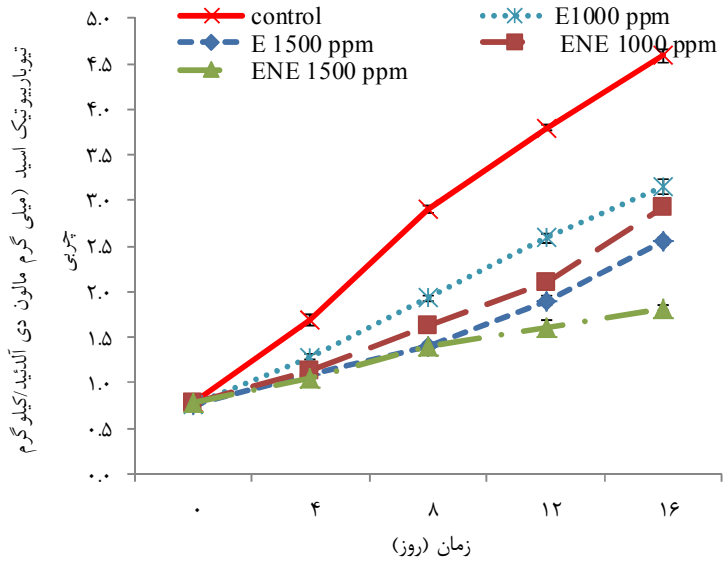
می باشد (۱۶). با افزایش درصد عصاره این خاصیت افزایش یافت. در مطالعات متعددی گزارش شده است که اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های طبیعی وابسته به میزان دوزشان است (۲۲، ۲۴ و ۳۵).نتایج مطالعه حاضر با نتایج Rashidaieو همکاران (۳۵) در ارتباط با افزودن عصاره نانوکپسوله رزماری بر گوشت گاو هم خوانی دارد. آن‌ها نیز اعلام نمودند افزایش غلظت عصاره و همچنین استفاده از عصاره نانو کپسوله سبب کند شدن تغییرات عدد پراکسید طی دوره نگهداری می‌شود. میزان مجاز پراکسید در گوشت برای مصرف انسانی ۵ است (۴۱). در روز دوازدهم دوره نگهداری میزانپراکسیددرتیمار شاهد و تیمار حاوی عصاره با غلظت ۱۰۰۰ppm بیشترازحد قابل قبول پیشنهادی بود و در سایر تیمارها تا انتهای دوره نگهداری از محدوده مجازی برخوردار بود.



نمودار ۵- مقادیر عدد پراکسید در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

۳-٤-تغییرات عدد تیوباربیوتیک اسید طی مدت نگهداری

مطالعات قبلی نشان داده که کاهش رادیکال‌های آزاد موجب کاهش فرم مت‌میوگلوبین در نمونه گوشت می‌شود. درگوشت تازه، میوگلوبین به سه شکل وجود دارد: دئوکسی میوگلوبین، اکسی‌میوگلوبین و مت‌میوگلوبین. تیوباربیتوریک اسید به طورگسترده به عنوان شاخص نشان‌دهنده میزان اکسیداسیون ثانویه چربی مورد استفاده قرار می‌گیرد و ناشی از وجود مواد واکنش دهنده حاصل از مرحله دوم اتواکسیداسیون است که طی آن، پراکسیدها به موادی مثل آلدئیدها وکتون‌ها اکسید می‌شوندکه این مواد با TBA واکنش می‌دهند. از سوی دیگر شاخص تیو باربیوتیک اسید برای بررسی پتانسیل ایجاد ترکیبات سمی و یکی از عوامل ایجاد بیماری‌های قلبی عروقی مورد استفاده قرارمی‌گیرد (۳۶). مقادیر TBA (نمودار ۶) در تمامی تیمارها طی دوره نگهداری افزایش یافت($P<۰/۰۵$). شاخص TBA میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون به ویژه آلدهیدها را نشان می‌دهد. روند افزایشی این شاخص در طول مدت نگهداری ممکن است به دلیل افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان‌ها در ماهیچه باشد. همچنین، آلدهیدها به عنوان محصول ثانویه اکسیداسیون از تجزیه هیدروپراکسیدها ایجاد می‌شوند. روند افزایشی هیدروپراکسیدها می‌تواند دلیلی براین موضوع باشد (۳۹).



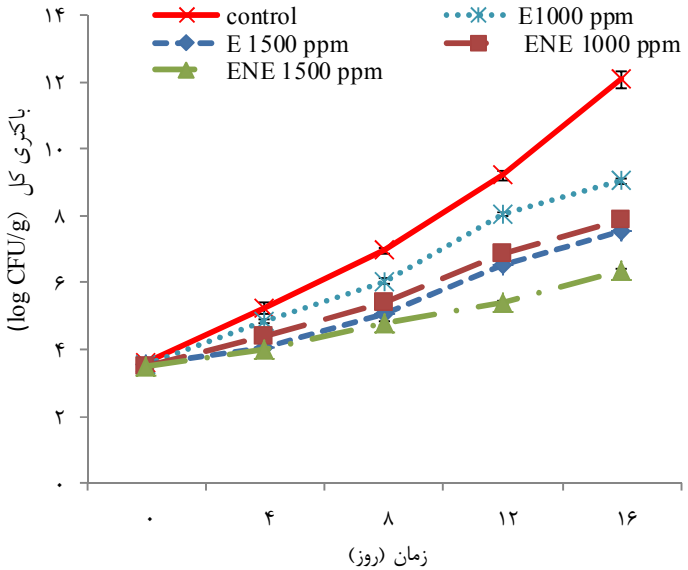
نمودار ٦-مقادیر تیوباربیوتیک اسید در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

با توجه به نتایج آنالیز آماری بیشترین مقادیر TBA در تیمار شاهد مشاهده شد($P<۰/۰۵$). ترکیبات پلی فنولیک موجود در عصاره‌ها اهدا کننده‌ی مناسب الکترون و پروتون بوده و رادیکال‌های واسطه‌ی آن‌ها به دلیل پدیده‌ی حرکت الکترون در حلقه بنزن و فقدان محل حساس به حمله یا کسیژن، بسیار پایدار می‌باشد. ترکیبات فنولیک مانند آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی دارای خاصیت خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد هستند و همچنین قادر به مهارکردن یون‌های فلزی مانند $Fe+2$ می‌باشند و به این ترتیب سرعت شکل‌گیری مولکول اکسیژن فعال کاهش می‌یابد (۲۹)و هرچه غلظت این ترکیبات بیشتر باشد، توانایی جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها نیزافزایش می‌یابد. در مطالعه حاضر نیز افزایش غلظت عصاره سبب افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره شد($P<۰/۰۵$). همچنین نتایج در ارتباط با تیمارهای حاوی عصاره ریز پوشانی شده بهتر بود به طوری که در روز ۱۶ ام نگهداری کمترین مقادیر عدد تیوباربیوتیک اسید در تیمار عصاره نانوکپسوله با غلظت ppm ۱۵۰۰و بیشترین مقادیر در تیمار شاهد مشاهده شد.در واقع می توان اینگونه بیان نمود انکپسولاسیون عصاره برگ بو سبب افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن و طولانی تر شدن اثر بخشی آن طی دوره نگهداری می شود. به طور کلی میزان TBA ۲میلی‌گرم مالون دی‌آلدهید/گرم گوشت به عنوان محدودیت مصرف در نظر گرفته می شود و آن زمانی است که بوی فساد در گوشت قابل کشف خواهد بود (۱۲). در انتهای دوره نگهداری میزان TBA درهمه نمونه‌ها به جز تیمار نانو عصاره ۱۵۰۰ppm بیشتر ازحد قابل قبول پیشنهادی بود.

۳-۵- مقادیر کلی باکتری طی دوره نگهداری

به دلیل ترکیبات شیمیایی گوشت، مکان مناسبی برای رشد، تکثیر و ازدیاد بسیاری از میکروارگانیزم‌ها از جمله باکتری‌ها می‌باشد. سطح گوشت معمولا با گونه‌های مختلفی از ارگانیزم‌های ساپروفیت مخصوصا کوکوباسیلوس‌ها یا باسیلوس‌ها و میکروکوکوس‌های گرم منفی آلوده می شود (۲۶). امکان آلودگی میکروبی حاصل از محیط اطراف (هوای اطراف یا فرآوری گوشت چرخ کرده)، زنده ماندن اسپورها یا سلول‌های مقاوم همانند شرایطی که درصنعت وجود دارد، هست. با توجه به نتایج آنالیز آماری (نمودار ۷) در تمامی روزها بیشترین مقادیر باکتری کل در تیمار شاهد مشاهد شد ($P<۰/۰۵$)با افزایش غلظت عصاره نتایج بهتری مشاهده شد. کمتر بودن بار کل باکتری در تیمارهای حاوی عصاره می‌تواند ناشی از ترکیبات فنولی نظیر سینول می باشد.ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌های گیاهی غشای خارجی میکروارگانیسم‌ها را

تخریب کرده و سبب خروج لیپوساکاریدها و افزایش نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی به ATP می‌شود. خروج ATP منجر به تمام شدن ذخیره انرژی سلول و مرگ سلول می‌شود (۱۱ و ۲۳). خاصیت ضد میکروبی نگهدارنده های طبیعی به غلظت مورد استفاده آن‌ها بستگی دارد و با افزایش غلظت، خاصیت ضد میکروبی آنها افزایش می یابد (۲۲، ۲۴ و ۳۵).Azimzadeh و Jahadi (۹) اعلام نمودند عصاره آبیبرگ بو سبب به تاخیر انداختن روند افزایشی باکتری مزوفیل در بادام زمینی طی دوره نگهداری می شود. همچنین نتایج در ارتباط با تیمارهای حاوی نانوعصاره کمتر از سایر تیمارها بود. علت این امر افزایش خاصیت ضد میکروبی پوشش‌ها پس از نانوکپسولاسیون می باشد. همچنین یک توضیح احتمالی برای این امر می‌تواند این‌گونه بیان شود، استفاده از نانوکپسولاسیون، سبب حفظ بهتر ترکیبات زیست فعال می‌شود که در نتیجه از مواد غذایی را در برابر اکسیداسیون و در برابر رشد میکروارگانیسم بیماری زا و عامل فساد به طور موثرتری محافظت می نماید (۲۰). افزایش خاصیت ضد میکروبی نگهدارنده‌های طبیعی پس از نانوکپسوله شدن توسط حامل های مختلف توسط محقیق دیگر نیز اعلام شده است (۱۰، ۲۰ و ۲۴). نتایج مطالعه حاضر با نتایج Rashidaieو همکاران (۳۵) در ارتباط با افزودن عصاره نانوکپسوله رزماری بر گوشت گاو هم خوانی دارد. آن‌ها نیز اعلام نمودند افزایش غلظت عصاره و همچنین استفاده از عصاره نانو کپسوله سبب کند شدن تغییرات باکتری کل طی دوره نگهداری می شود.



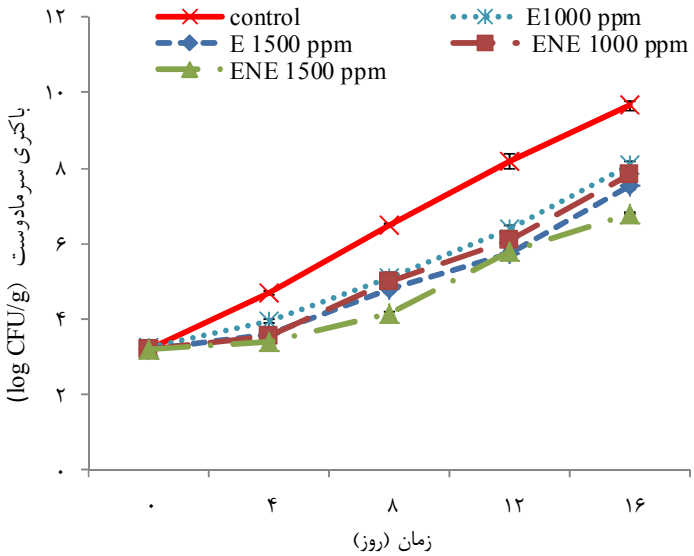
نمودار ۷- مقادیر باکتری کل در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

میزان مجاز شمار کل باکتری برای گوشت ۷ log CFU/g پیشنهاد شده است (۲۱). با توجه به نتایج تنها تیمار نانو عصاره ۱۵۰۰ ppm تا انتهای دوره نگهداری از محدوده مجازی برخوردار بود.

۳-۶- مقادیر باکتری سرمادوست طی دوره نگهداری

گوشت چرخ‌کرده گاو و همبرگر، برخلاف لاشه‌های تازه ذبح و شقه شده، معمولاً منحصرا به وسیله باکتری‌ها مورد تهاجم قرارگرفته و فاسد می‌شوند.گوشت معمولاً بلافاصله پس از تولید، در سردخانه با دمای صفر تا ۲ و یا حداکثر ۴ درجه‌سانتیگراد نگهداری‌می‌شود. از این رو مهم‌ترین مسئله از نظرمیکروبی، سرمادوست‌ها هستندکه رشد و نمویشان در این طیف حرارتی اجتناب ناپذیراست (۳۶). نتایج مربوط مقادیر باکتری سرما دوست (نمودار ۸) نشان داد به با افزایش زمان مقادیر باکتری سرما دوست در تمامی تیمارها

افزایش یافت در تمامی روزها بیشترین مقادیر باکتری سرمادوست در تیمار شاهد مشاهده شد(P<۰/۰۵). ساختار شیمیایی ترکیبات فنولی بر مکانیسم ضدمیکروبی آن‌ها اثرگذار بوده و گروه‌های هیدروکسیل موجود در ترکیبات فنولی اثر مهمی در خاصیت ضدمیکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی دارد. وجود گروه هیدروکسی فنولیک فعال باعث شده است که این ترکیبات بتواند به آسانی با جایگاه‌های فعال آنزیم‌ها، باند هیدروژنی تشکیل دهد (۳۸). این ترکیبات معمولاً موجب اختلال در غشا سیتوپلاسمی، شکستن و از هم گسیختن نیروی حرکتی پروتون، جریان الکترونی و انتقال فعال شده و سبب انعقاد وکوآگولاسیون محتویات سلولی میشود (۱۱). همچنین مقادیر باکتری سرمادوست در تیمارهای حاوی نانو عصاره کمتر از مابقی تیمارها بود(P<۰/۰۵). علت این امر افزایش خاصیت ضد باکتریایی عصاره پس از انکپسولاسیون و یا حفظ پایداری خواص ضدباکتریایی برای مدت طولانی‌تر پس از انکپسولاسیون می باشد. جوادیان و ابراهیمیان (۱) به بررسی تأثیر عصاره نانو کپسول پونه کوهی بر عمر ماندگاری فیله ماهی کپور دریایی در شرایط نگهداری در یخچال پرداختند. آن‌ها اعلام نمودند، تیمار حاوی عصاره کپسول شده پونه کوهی کم‌ترین مقادیر باکتری سرمادوست دارا بود و همچنین تنها این تیمار از مقادیر قابل قبولی تا انتهای دوره نگهداری برخوردار بود



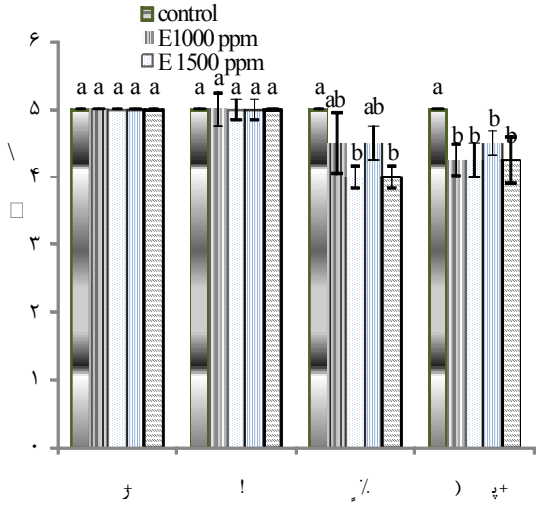
نمودار ۸- مقادیر باکتری کل در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

میزان مجاز باکتری کل برای گوشت ۷ log CFU/g پیشنهاد شده است (۲۱). با توجه به نتایج تنها تیمار نانو عصاره ۱۵۰۰ ppm تا انتهای دوره نگهداری از محدوده مجازی برخوردار بود.

۳-۷-بررسی ویژگی‌های حسی در ابتدای دوره نگهداری

بی‌شک ویژگی‌های حسی نظیر طعم و بافت ازمهم‌ترین فاکتورهای پذیرش محصول از دیدگاه مصرف‌کننده می‌باشند. لذا بررسی ویژگی‌های حسی با در نظر گرفتن بازار پسندی محصول تولیدی بسیار حائز اهمیت می باشد. با توجه به نتایج آنالیز آماری (نمودار ۹) با افزودن نگهدارنده‌ها تغییری بر بو و رنگ گوشت چرخ کرده ایجاد نکرد(P>۰/۰۵). در ارتباط با مزه و پذیرش کلی با افزودن عصاره و نانو عصاره‌ها امتیاز حسی به طور معنی داری کاهش یافت(P<۰/۰۵). اما تمامی تیمارها از امتیاز حسی مورد تایید ارزیاب‌ها برخوردار بودند.Mahdavi و همکاران (۲۷) نیز اعلام نمودند استفاده از فیلم خوراکی

کیتوزان به همراه اسانس آنیسون آنالیز حسی مرغ برگر را نسبت به تیمار شاهد کاهش می دهد. اما در مجموع تمامی تیمارها در مطالعه آن‌ها از امتیاز حسی مورد تایید ارزیاب‌ها برخوردار بودند.



نمودار ۹- ارزیابی حسی در تیمارهای مختلف در ابتدای دوره نگهداری

٤- نتیجه گیری

در این مطالعه برای استخراج ترکیبات فنلی و فلانوئیدی، عصاره برگ بو از حلال‌های مختلف استخراج عصاره شامل آب، اتانول و هیدروالکلی استفاده شود. با توجه به نتایج در بین حلال‌های مختلف استخراج بالاترین مقادیر ترکیبات فنلی و فلانوئیدی در عصاره استخراجی با حلال هیدروالکلی مشاهده شد همچنین ترکیبات شیمیایی این عصاره تعیین شد در مجموع ۱۲ ترکیب با مجموع ۹۹/۲۹ درصد شناسایی شد. بیشترین ترکیبات عصاره شامل 1,8-Cineole (۴۲/۲۵)، Sabinene (۱۲/۳۹)، D-Limonene (۱۰/۲۷) و 3-Carene(۸/۷۵) بوده است.به منظور بررسی اثر عصاره برگ بو به دو صورت آزاد و ریزپوشانی شده در افزایش عمر ماندگاری گوشت چرخ‌شده طی دوره نگهداری ۱۶روزه در این مطالعه۵ تیمار شامل شاهد، عصاره با غلظت ۱۰۰۰ppm، عصاره با غلظت ۱۵۰۰ ppm،عصاره نانوکپسوله با غلظت ۵۰۰ppm وعصاره نانوکپسوله با غلظت ۱۵۰۰ppm تولید و به صورت دوره‌ای مورد ارزیابی میکروبی و شیمیایی قرار گرفتند .نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره برگ بو دارای ترکیبات فنلی و خاصیت ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی می باشد و نانوکپسوله نمودن عصاره سبب افزایش خواص ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی آن شده است به طوریکه گوشت چرخ شده حاوی ppm ۱۵۰۰عصاره نانوکپسوله برگ بو روند فساد میکروبی و اکسیداسیونی در گوشت را به طور معنی‌داری به تعویق انداخت و عمر ماندگاری گوشت چرخ شده را افزایش داد.با توجه به نتایج بدست آمده می توان نتیجه گیری کرد که به طور کلی افزودن عصاره هیدروالکلی برگ بو با غلظت ppm۱۵۰۰ سبب حفظ کیفیت گوشت چرخ شده از لحاظ شاخص‌های کیفی شیمیایی، میکروبی و افزایش ماندگاری در یخچال نسبت به سایر نمونه ها می شود.

٥- منابع

۱. جوادیان، س. ر. و ابراهیمیان، س. ح.۱۳۹٦ . بررسی تأثیر عصاره نانو کپسول پونه کوهی بر عمر ماندگاری فیله ماهی کپوردریایی در شرایط نگهداری در یخچال. *مجله علمی- پژوهشی زیست‌شناسی دریا*، دوره۹، شماره۳٦، ٦٦-۵۳.

۲. چراغی، د . و قلیپور، س. ۱۳۸۹. مروری برعمده ترین چالش های گوشت قرمزدرایران. *بررسی های بازرگانی*.، جلد٤، ۸۹-۱۱.

۳. شریعت، ا. ، حسینی، ه. و پور احمد. ر. ۱۳۹۲. بررسی اثرضدباکتریایی عصاره آبی گزنه و مرزنگوش بر *Pseudomonas aeruginosa* و*Salmonella typhi*،*Escherichia coli*. *مجلّه ی نوآوری درعلوم وفنّاوری غذایی*، دوره۵، شماره٤، ۱۵- ۹.

٤. عیسی پور، ف.، علاءالدینی، ب. و نصیرایی. ل، ر. ۱۳۹٦. بررسی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره پوست لیمو ترش، *اولین همایش ملی تکنولوژی های نوین در علوم و صنایع غذایی و گردشگری ایران، بابلسر*.

۵. قنبرزاده، ب.، الماسی، ی. و زاهدی. ۱۳۸۸. بیوپلیمرهای زیست تخریب پذیر و خوراکی در بسته بندی مواد غذایی و دارویی. *انتشارات دانشگاه امیرکبیر*. جلد۱۳٦،٦،۳۱-۱۲۳.

6. AlipourMazandrani, H., Javadian, S. Y. and Bahram. S. 2016. The effect of encapsulated fennel extracts on the quality of silver carp fillets during refrigerated storage. *Food science and nutrition*, 4(2): 298–304.
7. AOCS. 2005. Official Methods andRecommended Practices of the AOCS, 5thed., Champaign.
8. Ariaii, P., Tavakolipour, H., Rezaei, M., Elhamirad, M. and Bahram S 2014. Effect of Methylcellulose Coating Enriched with *Pimpinella Affinis* Oil on the Quality of Silver Carp Fillet during Refrigerator Storage Condition. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39 (6): 1647-1655.
9. Azimzadeh, B. and Jahadi M. 2018. Effect of chitosan edible coating with Laurus nobilis extract on shelf life of cashew. *Food Sci Nutr*, 6:871–877.
10. Bagheri, R., Izadi Amoli, R., Tabari Shahndash, N. and Shahosseini, S. R. 2016. Comparing the effect of encapsulated and unencapsulated fennel extracts on the shelf life of minced common kilka (*Clupeonella cultriventris caspia*) and *Pseudomonas* aeruginosa inoculated in the mince. *Food science and nutrition*, 4(2): 216–222.
11. Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *Food Microbiology*, 94: 223- 253.
12. Campo, M.M., Nute, G.R., Hughes, S.I., Enser, M., Wood, J.D. and Richardson, R.I. 2006. Flavour perception of oxidation in beef. *Meat Science*, 72: 303–311.
13. Chranioti, C., Nikoloudaki, A. and Tzia, C. 2015. Saffron and beetroot extracts encapsulated in maltodextrin, gum Arabic, modified starch and chitosan: Incorporation in a chewing gum system. *Carbohydrate polymers*, 127: 252-263.
14. Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K. and Liu, R. H. 2002. Thermal processing enhances the nutritional valueof tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem*, 50: 3010-3014.
15. Donald, S., Prenzler, P. D., Autolovich, M. and Robards, K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food chemistry Journal*, 73:73-84.
16. Ezhilarasi. P., Karthik, P., Chhanwal, N. and Anandharamakrishnan. C. 2013. Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 6:628-647.
17. Farhoosh, R., Tavakkoli, J. and Hadad Khodaparast, M. H. 2008. Chemical composition and oxidative stability of kernel oils from two current subspecies of *Pistacia atlantica* in Iran. *Journal of American oil chemistry society*, 15: 379-385.
18. Fatima, Z., Bendjersi, Tazerouti, F., Belkhelfa-Slimani, R., Djerdjouri, B. and Brahim Y, Meklati. 2016. Phytochemical composition of the Algerian Laurus nobilis L. leaves extracts obtained by solvent-free microwave extraction and investigation of their antioxidant

19. Fidan, H., Stefanova, G., Kostova, L., Stankov, S., Damyanova, S., Stoyanova, A. and Zheljazkov. V. 2019. Chemical Composition and Antimicrobial Activityof Laurus nobilis L. *Essential Oils from Bulgaria*. *Molecules*, 24: 804; doi:10.3390.
20. Gortzi. O., Lalas S., Tsaknis J. and Chinou I. 2006. Reevaluation of antimicrobial and antioxidant activity of Thymus spp. extracts before and after encapsulation in liposomes. *J. Food Prot*, 69: 2998–3005.
21. ICMSF. 2005. Microorganisms in foods 6: microbial ecology of food commodities, 2nd edn (1st edn published 1998). Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
22. Jalali, M., Ariiai, P. and Fattahi, E. 2016. Effect of alginate/carboxyl methyl cellulose composite coating incorporated with clove essential oil on the quality of silver carp fillet and *Escherichia coli* O157:H7 inhibition during refrigerated storage. *J Food Sci Technol*, 53 (7): 757-765.
23. Jan Khan, N., Khan, Z. and Singh, S.2017. Stinging nettle (*Urtica dioica* L.): a reservoir of nutrition and bioactive components with great functional. *J. of Food Measurement* 11:423–433.
24. Javadian, S. R., Shahoseini, S. R. and Ariaii, P. 2017. The effects of liposomal encapsulated thyme extract on the quality of fish mince and *Escherichia coli* O157: H7 inhibition during refrigerated storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26(1): 115–123.
25. Jiménez, A., Sánchez-González, L., Desobry, S., Chiralt, A. and Tehrany, Elmira Arab. 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.
26. Kraft, A.A. 1999. Psychrotrophic bacteria in foods: Disease and spoilage, CRC Press.
27. Mahdavi, V., Hosseini, E. and Sharifian, A. 2018. Effect of edible chitosan film enriched with anise (*Pimpinella anisum* L.) essential oil on shelf life and quality of the chicken burger. *Food science and nutrition*, 6 (2): 269- 279.
28. Maleki., M., Ariaii, P. and Fallah, H. 2016, Effects of Celery Extracts on the Oxidative Stability of Canola Oil Under Thermal Condition. *Journal of food processing and preservation*, 40 (3): 531-540.
29. Mohamed, H. M. and Mansour, H. A. 2012. Incorporating essential oils of marjoram and rosemary in the formulation of beef patties manufactured with mechanically deboned poultry meat to improve the lipid stability and sensory attributes. *LWT-Food Science andTechnology*, 45(1): 79-87.
30. Moraes T.M., Kushima H., Moleiro F.C., Santos R.C., Rocha L.R., Marques M.O., Vilegas W. and Hiruma-Lima C.A. 2009. Effects of limonene and essential oil from Citrus aurantium on gastric mucosa: role of prostaglandins and gastric mucus secretion. *Chemico BiologicalInteractions*, 180: 499-505.
31. Mu, C., Guo, J., Li, X., Lin, W. and Li, D. 2012. Preparation and properties of dialdehyde carboxymethyl cellulose crosslinked gelatin edible films. *Food Hydrocolloids*, 27(1): 22-29.
32. Muñiz-Márquez, D.B., Rodríguez, R., Balagurusamy, N., Carrillo, M.L., Belmares, R., Contreras, J.C., Nevárez, G.V. and Aguilar, C.N. 2014. Phenolic content and antioxidant capacity of extracts of *Laurusnobilis* L., *Coriandrumsativum* L. and *Amaranthushybridus* L. *CyTA Journal of Food*, 12 (3): 271-276.
33. Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S. H. and S. M. H. Hosseini. 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Journal of Food Chemistry*, 120: 193-198.
34. Ozgul, Y. and Ozgul, L. 2017. E valuation of effects of nanoemulsion based on herb essential oils (rosemary, activity, *Journal of Essential Oil Research*. 28 (3):

laurel, thyme and sage) on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during ice storage. *Food science and technology*,76: 677-684.

35. Rashidaie Abandansarie, S. S., Ariaii, P. and Charmchian Langerodi. M. 2019. Effects of encapsulated rosemaryextract on oxidative and microbiological stability of beefmeat during refrigerated storage. *Food Sci Nutr*, 00:1–10.
36. Safari, R., Shahhoseini, S.R. and Javadian, S. R. 2018. Antibacterial and Antioxidant Effects of the Echinophora Cinerea Extract on Bighead Carp (*Aristichthys nobilis*) Fillet During Two Storage Conditions. *Journal of Aquatic Caspian Sea*, 3(2): 13-24.
37. Shahhoseini, S.R. Safari, R., and Javadian, S. R. 2019. Evaluation effect of Carboxymethyl cellulose coating with Anethum graveolens extract on quality of fried fillet fried fish (*Anethum graveolens*). *Journal of Aquatic Caspian Sea*, 4(2): 37-46.
38. Tajkarim, M. M., Ibrahim, S. A. and Cliver, D. O. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food.*Food Control*, 21:1199-18.
39. Valipour Kootenaie, F., Ariaii, P., Khademi Shurmasti, D. and Nemati. M. 2017. Effect of chitosan edible coating enriched with eucalyptus essential oil and α-tocopherol on silver carp fillets quality during refrigerated storage, *Journal of food safety*. 37 (1): e12295.
40. Wu, J., Ge, S., Liu, H., Wang, S., Chen, S., Wang, J and Zhang, Q. 2014. Properties and antimicrobial activity of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin-chitosan films incorporated with oregano essential oil for fish preservation. *Food Packaging and Shelf Life*, 2(1): 7-16.
41. Yanar, Y. 2007. Quality Changes of Hot Smoked Catfish (*Clarias Gariepinus*) During Refrigerated storage. *Journal of Muscle Foods,* 18: 391-400.

(Original Research Paper)

Effect of Nano-Liposome And Free Extract Of Bay Leaf On The Shelf Life Of Minced Beef During Refrigerated Storage

Sara Shakori Tometri[1], Mohammad Ahmady[2*], Peyman Ariayi[2], Mahdi Sharifi Soltani[3]

1-PhD Student, Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
2-Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
3-Assistant Professor, Department of veterinary, faculty of Agriculture, Chalous Branch, Islamic Azad University, Chalous, Iran.

Received:14/01/2020 Acepted: 01/06/2020

Abstract

In this study, the effect of nano-liposome and free extract of bay leaf(Laurus nobilis) on the shelf-life of minced beef chilled storage (4 + 1 °C) was examined over a period of 16 days. For this purpose, the leaf extract was extracted by ultrasound and various solvents (including aqueous, alcoholic and hydroalcoholic) and the amounts of phenolic and flavonoids compounds were measured. According to the results of different extraction solvents, the highest amount of phenolic and flavonoidscompounds was observed in the extract with hydroalcoholic solvent ($P < 0.05$). Therefore, this extract was used for subsequent tests and to investigate the effect of bay leaf extract on shelf life of minced meat 5 treatments including control, 1000 ppm extract, 1500 ppm extract, 1000 ppm nanoencapsule extract and 1500 ppm nanoencapsule extract and periodically evaluated by chemical (peroxide (PV), thiobarbotic acid (TBA) and microbial (total viable bacterial (TVC) and psychrotrophic counts (PTC)) values. The results of the present study showed that bay leaf extract has antimicrobial and antioxidant properties and nanocapsulation of the extract has increased its antimicrobial and antioxidant properties so that the nano-capsultion of extract with 1500 ppm significantly delayed the process of microbial spoilage and oxidative in the minced meat($P < 0.05$). So it seems that the nanoliposim extract of bay leaf can be used as a natural preservative in meat and meat products.

Keywords: Bay Leaf, Hydroalcohol, Nanoliposim, Meat.

*Corresponding Author: drahmady@gmail.com