(مقاله پژوهشی)

تاثیر عصاره آزاد و ریزپوشانی شده گیاه رزماری بر ویژگی های کیفی و زمان ماندگاری گوشت طی دوره نگهداری

سیده سلیمه رشیدایی آبندانسری [۱]، پیمان آریایی [۲*]، مهدی چرمچیان لنگرودی [۳]

۱- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.
۲- استادیار،گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت ا... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.
۳- استادیار،گروه ترویج و آموزش کشاورزی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۵/۱۲

چکیده

در این مطالعه تاثیر عصاره آزاد و نانوکپسوله رزماری (*Rosmarinus officinalis* L) به عنوان نگهدارنده طبیعی بر ماندگاری گوشت قرمز مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور عصاره رزماری با استفاده از روش‌های مختلف(حلال، اولتراسوند و فوق بحرانی) استخراج شد و مقادیر ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی (مهار رادیکال آزاد DPPH) سنجیده شد. بالاترین مقادیر ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی اکسیدانی در روش استخراج التراسوند مشاهده شد (P<۰/۰۵) و این عصاره با استفاده از ایزوله پروتئین سویا نانوکپسوله شد سپس عصاره آزاد و ریزپوشانی شده گیاه رزماری (۸۰۰ ppm) به منظور بهبود ویژگی‌های کیفی‌به فیله گوشت قرمز اضافه شد و در فواصل زمانی ۷ روزه و به مدت ۲۱ روز (طی دوره نگهداری در یخچال) شاخص میکروبی (باکتری کل)، شاخص شیمیایی (پراکسید، تیوباربیوتیک اسید و pH) اندازه گیری شد. نتایج نشان داد افزودن عصاره (در فرم آزاد و نانو کپسوله) تاثیر معنی داری بر شاخص های شیمیایی و میکروبی فیله گوشت داشت (P<۰/۰۵) و در بین تیمارها، تیمار حاوی عصاره نانوکپسوله رزماری، توانست به طور موثرتری اکسیداسیون لیپیدی و فساد میکروبی در فیله گوشت را به تعویق بیاندازد و تنها این تیمار از شاخص های میکروبی و شیمیایی قابل قبولی تا روز ۱۴ ام دوره نگهداری برخوردار بود. بنابراین به نظر می رسد که عصاره نانوکپسوله رزماری را به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در گوشت و فرآورده های گوشتی مورد استفاده قرار داد.

واژه های کلیدی: رزماری، اکسیداسیون لیپید، فساد میکروبی،گوشت قرمز، نانوکپسوله.

*مسئول مکاتبات: p.aryaye@yahoo.com

۱- مقدمه

گوشت به مجموعه بافتهای ماهیچه‌ای، چربی، پیوندی و استخوانی که از لاشه دامهای گوشتی به دست می آید گفته میشود که متشکل از از آب، پروتئین‌ها، چربی‌ها، مواد معدنی و مقدار کمی کربوهیدرات می باشد. گوشت و فرآورده‌های گوشتی به دلیل محتوای رطوبتی و چربی بالا و غنی بودن از پروتئین و مواد معدنی، فساد پذیر می‌باشد که مهم ترین دلیل افت کیفیت و فساد پذیری آن، تغییرات شیمیایی و میکروبی است. شایع ترین تغییرات شیمیایی، اکسیداسیون چربی‌های گوشتی است. اکسیداسیون لیپید یک فرآیند پیچیده است و بستگی به ترکیب شیمیایی گوشت، دسترسی به نور، اکسیژن و دمای نگهداری دارد که منجر به تشکیل چند ترکیب دیگر می شود که در نهایت باعث تغییر نامطلوب در ویژگی‌های حسی (رنگ، بافت و عطر و طعم) و کیفیت تغذیه‌ای کوشت می شود (۱۲ و ۴۱). استفاده از نگهدارنده‌های آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی در گوشت و فرآورده‌های گوشتی به منظور جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدی و فساد بسیار رایج است و باعث افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت آن می شود. امروزه مصرف کنندگان با توجه به اثرات مضر نگهدارنده های غذایی شیمیایی و سنتتیک خواهان استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی مشتق از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی هستند تا علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا از اثرات مضر نگهدارنده‌های غذایی شیمیایی مصون باشند (۴). گیاهان موجود در طبیعت به دلیل داشتن ترکیبات موثر مثل ترکیبات پلی فنولیکی، فلاونوئیدها، تانن ها و اسید های فنولیک به عنوان منبع آنتی اکسیدان های طبیعی مورد توجه قرار گرفته اند. این ترکیبات علاوه بر خاصیت آنتی اکسیدانی دارای فعالیت ضد میکروبی، ضد سرطانی و ضد جهش زایی نیز هستند (۱۰). یکی از عصاره‌های گیاهی که دارای ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی است، عصاره رزماری می باشد. رزماری با نام علمی *Rosmarinus officinalis* L. گیاهی متعلق به تیره نعناییان می باشد. این گیاه بوته‌ای، همیشه سبز و بسیار معطر است. منشا آن منطقه مدیترانه گزارش شده و به صورت خودرو در امتداد مناطق ساحلی مدیترانه تا آسیای صغیر میروید. پیکر رویشی این گیاه دارای مواد موثره و معطر ارزشمندی است که از مهمترین آن ها میتوان به تانن، مواد تلخ، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها اشاره نمود. رزماری مطبوع و معطر است و در حالت تازه بی رنگ و یا کمی مایل به زرد می باشد (۱۴ و ۲۴). برای استخراج عصاره های گیاهی روش های مختلفی وجود دارد که از آن جمله میتوان به روش استخراج با روش ماسراسیون، سیال فوق بحرانی، التراسوند، آب زیر بحرانی و مایکروویو اشاره نمود. روش های مدرن استخراج، ترکیبات موثره گیاه را در زمان کوتاهتر و با میزان حلال کمتری استخراج می نمایند. در روش عصاره‌گیری با استفاده از امواج التراسوند نفوذ حلال به بافت گیاهی به خوبی صورت می‌گیرد و در مقایسه با سایر روش‌ها این روش از کارآیی و سرعت بالاتری برخوردار است. بنابراین تخریب سلولی کارآمد و انتقال جرم مؤثر، دو فاکتور اصلی هستند که باعث افزایش استخراج با التراسوند می‌شوند (۷). از آن جایی که عصاره های 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 روش هایی برای محافظت از آن ها به منظور حصول بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی ضروری می‌باشد.ریزپوشانی یا کپسولاسیون یک تکنولوژی برای قرار دادن مواد مختلف مایعات، جامدات و گازها درون یک پوشش هموژن یا هتروژن یا قرار دادن در یک ماده زمینه‌ای پیوسته برای حفاظت، تثبیت می‌باشد (۳۳). برخی از مطالعات نشان داد انکپسولاسیون قادر است خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی ترکیبات را افزایش می دهد و همچنین سبب حفظ پایداری خواص آن برای مدت طولانی تر می شود (۲، ۱۹ و ۲۱). بنابراین هدف از این مطالعه بررسی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره آزاد و ریزپوشانی شده گیاه رزماری در افزایش عمر ماندگاری گوشت طی دوره نگهداری می باشد.

۲- مواد و روش ها

مواد اولیه: گیاه رزماری از رویشگاه طبیعی این گیاه در استان مازندران جمع آوری شد و بعد از تشخیص در آزمایشگاه گیاه شناسی به آزمایشگاه منتقل شد. گیاه بعد از شسته شدن در آون تحت خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردید و پس از آسیاب در بسته های نایلونی به منظور جلوگیری از نفوذ رطوبت بسته بندی و تا زمان انجام آزمایش در فریزر در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد نگه‌داری شد. گوشت ران گاو پس از ذبح تهیه شده و تا عبور از جمود نعشی در دمای محیط نگهداری، سپس به صورت قطعات با ابعاد ۴×۶×۶ سانتیمتر بریده شد. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک آلمان تهیه شد و دارای درجه تجزیه ای بود.

۲-۱- استخراج عصاره

۲-۱-۱- استخراج با امواج التراسوند

۱۰گرم نمونه رزماری با ۱۰۰ میلی لیتر از اتانول: آب (۵۰:۵۰٪) در دمای (۴۵ درجه سانتی گراد) و زمان (۲۰ دقیقه) در حمام التراسوند در KHz ۲۰ 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 (۱۵).

۲-۱-۲- استخراج عصاره با حلال

با استفاده از پودر رزماری با حلال اتانول-آب (٪۵۰:۵۰) به نسبت ۱:۱۰ وزنی/حجمی ترکیب و دور از نور به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد. بعد از صاف کردن و تبخیر حلال به وسیله روتاری اواپراتور، عصاره در ظرف شیشه ای تیره تا زمان استفاده در فریزر با دمای ۱۸- درجه سانتیگراد نگهداری شد (۱۵).

۲-۱-۳- استخراج با سیال فوق بحرانی

برای استخراج عصاره با سیال فوق بحرانی از روش Delfanian و همکاران (۱۱) استفاده شد. بدین منظور۱۰ گرم از نمونه پودر رزماری به نسبت ۱ به ۱۰ با حلال اتانول به عنوان اصلاحگر مخلوط شد. عصاره گیری توسط دستگاه دی اکسید کربن فوق بحرانی(Suprex MPS/225،آمریکا) در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد، فشار ۱۰۰بار به مدت ۳۰ دقیقه صورت گرفت. عصاره استخراجی صاف و پس از جداسازی حلال در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

۲-۲-اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل

روش فولین سیوکالتیو ازمتداول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری فنولی می‌باشد. اساس کار در این روش، احیای معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ 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 (۱۳) با استفاده از اسپکتروفتومتر بر مبنای اسیدگالیک تعیین شد.

۲-۳-اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره

این آزمون مطابق روش توضیح داده شده توسط Esmaeilzadeh و همکاران (۱۵) انجام شد. ماده DPPH ترکیبی بنفش رنگ است که به دلیل حضورگروه‌های فنیل در ساختارش به راحتی به صورت رادیکال درآمده و در واقع منبع رادیکال‌های آزاد می‌باشد. این آزمون بر اساس درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با اضافه کردن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی تعیین گردید. این ترکیب با گرفتن الکترون از آنتی‌اکسیدان‌ها از بنفش به زرد تغییر رنگ می‌دهد. رادیکال‌های آزاد موجود در DPPH در ۵۱۷ نانومتر جذب دارند.

۲-٤- تهیه مواد پوششی و ریزپوشانی عصاره

ایزوله پروتئینی سویا به عنوان مواد پوششی دیواره استفاده شد. هیدروکلوئیدها برای رسیدن به ماده جامد کل۳۰ درصد، در آب دیونیزه مخلوط شد. از همزن مغناطیسی به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط برای انحلال بهتر ترکیبات استفاده شد. محلول جهت تکمیل فرآیند جذب آب به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگه‌داری شد. عصاره در غلظت بهینه بدست آمده از آزمون های اندازه گیری فعالیت

آنتی اکسیدانی به نسبت ۵:۱ به محلول‌ها اضافه و با استفاده از همگن‌ساز اولتراتوراکس با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm در ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه هموژن شد. سپس برای کاهش بیشتر اندازه ذرات از دستگاه مولد التراسوند نوع پروپی با تعداد ۶ سیکل، زمان هر سیکل ۳۰ ثانیه و زمان استراحت ۱۵ ثانیه بین سیکل‌ها استفاده شد. برای خشک کردن نانوریزپوشانی‌ها از روش خشک کردن انجمادی درفشار ۰/۰۱۷ میلی پاسکال در دمای۵۷- درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد (۶ و ۹). متوسط قطر، توزیع اندازه ذرات و سطح مخصوص ذرات با کمک دستگاه انکسار نور لیزر (مدل Zetasizer nano zs. شرکت Malvern.کشورانگلستان) اندازه‌گیری شد (۲۳). برای اندازه‌گیری پتانسیل زتا از دستگاه زتاسایزر (مدل Zetasizer nano zs. شرکت Malvern. کشور انگلستان) استفاده شد. دستگاه حامل یک سل الکتروشیمیایی حاوی دو الکترود است. نمونه‌ها با آب دیونیزه به نسبت ۵:۱ رقیق ودر سل قرار داده شد. زمانی که ولتاژ اعمال شد، ذرات با بار منفی به سمت الکترود مثبت حرکت کرد و سرعت حرکت ذرات اندازه‌گیری شد (۲۳).

۲-۵-آزمون های گوشت

بعد از اندازه گیری خصوصیات نانوکپسول ها، عصاره آزاد و نانوکپسوله در مقدار بهینه به گوشت 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 ۲۱ روز در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار گرفت. آزمون های شیمیایی و میکروبی مختلف در فواصل زمانی ۷ روز بر روی نمونه ها انجام شد.

۲-۵-۱-عدد پراکسید

آزمون پراکسید میزان محصولات اولیه اکسیداسیون (هیدروپراکسیدها) را اندازه‌گیری می‌کند. روند تغییرات عدد پراکسید نمونه‌ها مطابق روش AOCS (۳) تعیین شد.

۲-۵-۲- عددتیوباربیتوریک اسید

آزمون تیوباربیتوریک اسید محصولات ثانویه اکسیداسیون (مالون دی آلدهید) را اندازه‌گیری می‌کند. این آزمون بر اساس روش AOCS (۳) انجام شد.

۲-۵-۳-اندازه‌گیری pH

۵ گرم از هر نمونه به ۴۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و به مدت ۳۰ ثانیه در یک مخلوط‌کن قرار داده شد سپس pH نمونه‌ها با pH متر دیجیتالی ، اندازه‌گیری شد (۳۹).

۲-۵-٤- شمارش کلی میکروب

مقدار ۲۵ گرم از نمونه گوشت چرخ شده در شرایط استریل برداشته و به مدت ۱ دقیقه در استومیکر (مدل C- ۴۰۰seward-london) با ۲۲۵ میلی لیتر آب پپتونه (۰/۱٪ پپتون و ۸۵٪ سدیم کلرید) در دمای اتاق ترکیب شد تا کاملا همگن شد. رقت های متوالی (۰/۱-۰/۰۰۱) از مایع همگن شده در محیط پلیت کانت آگار به صورت پورپلیت کشت داده شد. پلیت ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت تا باکتری ها اجازه رشد پیدا کنند. سپس کلنی ها در هر پلیت با استفاده از دستگاه کلنی کانتر شمارش و تعداد آن ها بر اساس Log CFU/gr گزارش گردید (۲۸).

٦-۲- تجزیه و تحلیل آماری

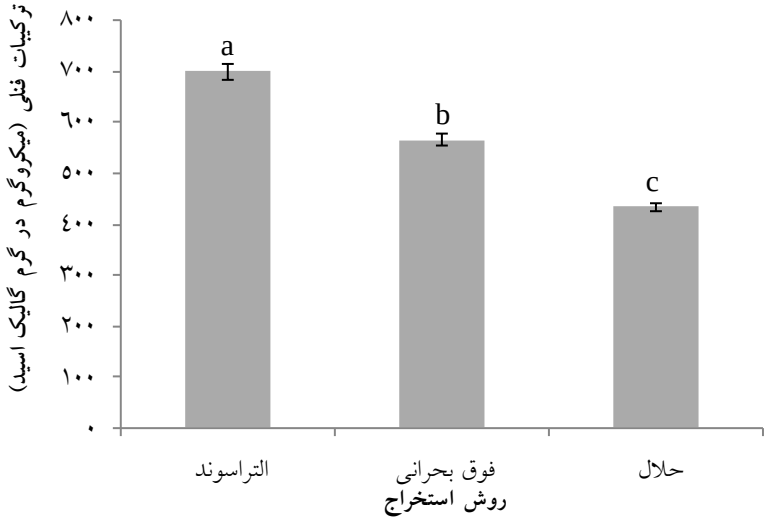
کلیه آزمایش‌ها در طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد و نتیجه به صورت میانگین با انحراف معیار گزارش شد. آنالیز آماری تیمارها توسط جدول آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده ازنرم افزار SPSS صورت گرفت. تفاوت معنی داری میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ تعیین شد و نمودارها با نرم افزار Microsoft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

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مقادیر ترکیبات فنلی

گیاهان حاوی ترکیبات متعددی هستند که ساختارهای متفاوتی دارند. استخراج این ترکیبات به عوامل متعددی بستگی دارد که مهم ترین آن ها حلال و روش استخراج

می باشند. ترکیبات فنلی در میوه ها و سبزیجات توجه بسیاری از محققین را به خود معطوف کردند که به علت پتانسیل بالای آن برای فعالیت آنتی اکسیدانی می باشد. ترکیبات فنلی با اهدای اتم هیدروژن از فعالیت رادیکال آزاد جلوگیری می کنند (۲۰). میزان ترکیبات فنلی کل عصاره رزماری (نمودار ۱) در مطالعه حاضر مابین ۴۳۴/۱۰ – ۶۹۹/۱۳ میکروگرم در گرم وزن خشک بوده است. مقادیر ترکیبات فنلی عصاره آبی رزماری در مطالعه Afsono و همکاران (۱) به میزان ۱۶۶/۷ میکروگرم در گرم و Pereira و همکاران(۳۴) به میزان ۴۰۹/۱ میکروگرم در گرم بوده است. مقادیر ترکیبات فنلی در مطالعه حاضر بالاتر از مطالعات بیان شده می باشد این تفاوت ممکن است به علت عوامل محیطی، ژنتیکی و شرایط برداشت گیاه رزماری و همچنین اختلاف در روش عصاره گیری و حلال مورد استفاده باشد (۱۱). با توجه به نتایج بدست آمده در نمودار (۱)، تیمار استخراج التراسوند به طور معنی داری بیشتر از مابقی تیمار ها بودند (۶۹۹/۱۳ میکروگرم در گرم وزن خشک) ($P<۰/۰۵$) تیمار استخراج آب- اتانول کمتر از مابقی تیمارها بود (۴۳۴/۱۰ میکروگرم در گرم وزن خشک) ($P<۰/۰۵$).



نمودار۱- اثر روش های مختلف استخراج بر میزان ترکیبات فنلی کل

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

علت بالاتر بودن ترکیبات فنلی توسط روش التراسوند نسبت به سایر روش ها مربوط به پدیده کاویتاسیون[1] ایجاد شده در فرآیند اولتراسوند است. در واقع امواج اولتراسوند، هر دو مرحله فرآیند استخراج یعنی تورم بافت و نیز خروج ترکیبات از آن را از طریق ایجاد تخلخل و منافذ در دیواره سلول ها و بهبود انتشار و انتقال جرم تسهیل می کنند که این افزایش نفوذپذیری حلال در بافت های سلول به وسیله اثرات مکانیکی اولتراسوند به وجود می آید و به این ترتیب سلول های زنده تحت تاثیر این امواج، تخریب شده و مواد درون خود را بهتر و آسان تر رها می کنند (۲۵ و ۳۷). روش کربن دی اکسید فوق بحرانی، دیگر روش استخراج مورد استفاده در این مطالعه بود که بعد از روش اولتراسوند توانست ترکیبات فنولی بیشتری را نسبت به روش حلالی استخراج کند. از معایب روش استخراج فوق بحرانی، محدودیت داشتن برای استخراج مواد با قطبیت بالا می‌باشد. علت پایین بودن ترکیبات فنلی در روش فوق بحرانی نسبت به روش التراسوند را می توان بالا بودن قطبیت ترکیبات فنلی و ضعف این روش استخراج در ترکیبات با قطبیت بالا دانست (۱۱).

1 Cavitation

۳-۲- بررسی فعالیت رادیکال آزاد DPPH

استفاده از رادیکال پایدار DPPH یکی از روش های معتبر، دقیق، آسان و مقرون به صرفه با تکرار پذیری بالا می باشد که جهت بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در شرایط آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می گیرد. آنتی اکسیدان‌ها با دادن هیدروژن و یا الکترون به رادیکال DPPH، آنرا احیا نموده و با عث کم شدن رنگ و یا حتی بی رنگ شدن آن می شوند (۳۵). نتایج مربوط به مطالعه حاضر نشان داد با افزایش غلظت عصاره، میزان مهار فعالیت رادیکال آزاد DPPH نیز به طور معنی داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). عصاره‌های گیاهی به علت دارا بودن ترکیبات فنلی دارای فعالیت آنتی اکسیدانی و ظرفیت بالایی برای اهدای اتم هیدروژن یا الکترون و الکترون آزاد می باشد (۳۲). با افزایش غلظت ترکیبات فنلی یا درجه هیدروکسیلاسیون ترکیبات فنلی، فعالیت مهار رادیکالی اسانس یا عصاره افزایش پیدا می کند (۳۵). همچنین عصاره رزماری حاصل از روش اولتراسوند، کارایی موثرتری در مهار رادیکال آزاد DPPH نسبت به سایر روش های استخراج مورد استفاده در این مطالعه نشان داد (P<۰/۰۵). این نتیجه را می توان به علت توانایی بالاتر روش اولتراسوند در استخراج مقادیر بیشتری از ترکیبات موثره دانست که دارای خاصیت ضد اکسایندگی بالا بوده اند و بدین ترتیب منجر به افزایش قدرت آنتی رادیکالی عصاره های استخراجی این روش نسبت به سایر روش های استخراج شدند که از جمله این ترکیبات، ترکیبات فنولی می باشند. نتایج مطالعه حاضر با نتایج Esmaeilzadeh و همکاران (۱۵) در ارتباط با عصاره کنجد هم خوانی داشت. این محققین نیز اعلام نمودند روش التراسوند فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری دارد.

جدول ۱- اثر روش های مختلف استخراج و غلظت عصاره بر فعالیت رادیکال آزاد DPPH

	۱۰۰ppm	۲۰۰ppm	٤۰۰ppm	۸۰۰ppm
التراسوند	٦۸/۰۲±۰/٤۹^{Ad}	۷۲/۲٥±۱/۰۲^{Ac}	۷٦/۱٤±۱/۱^{Ab}	۸۰/۲۱±۱/۷۰^{Aa}
فوق بحرانی	٥۰/۳٥±۱/۲۲^{Bc}	٥۳/۰۳±۱/۳۱^{Bb}	٥٥/۹۰±۱/٤۲^{Bb}	٥۹/۷۲±۱/٤۲^{Ba}
حلال	٤۱/۷۹±۱/٤٤^{Cc}	٤٤/۲۸±۱/۸۳^{Cb}	٤٦/۸۲±۲/۱٥^{Cb}	٤۹/٥۹±۲/۳٤^{Ca}

۱) همه اعداد بر حسب در صد بیان شده است (میانگین ± انحراف از معیار)

۲) اعداد در یک ستون با حروف متفاوت اختلاف معنی دار دارند (A, B, C)

۳) اعداد در یک ردیف با حروف متفاوت اختلاف معنی دار دارند (a, b, c,..)

۳-۳-آزمون‌های ریزپوشانی

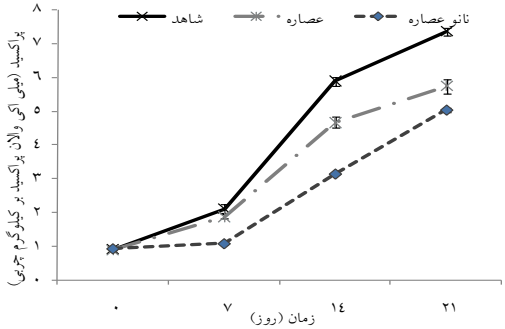
اندازه ذرات و توزیع اندازه ذرات اهمیت ویژه ای در تعیین خصوصیات سیستم های کلوئیدی دارند. مقادیر و ثبات این دو پارامتر در تعیین پایداری سیستم حامل کلوئیدی و کارایی آنکپسولاسیون آن نقش بسزایی ایفا می کنند. با توجه به نتایج اندازه ذرات در عصاره های ریزپوشانی شده توسط ایزوله پروتئین سویا برابر با ۱۲۶/۴۸ نانومتر بود. نانوعصاره‌ها با اندازه کوچکتر دارای پایداری بیشتری می باشند که به دلیل مقاومت بالاتر نسبت به نیروی ثقل به واسطه حرکت بر آونی است(۱۶). برهمکنش های الکترواستاتیک نقش مهمی را در فرایندهای بیولوژی که در سطح غشا اتفاق می افتد، ایفا می کنند. فاکتورهایی مثل پایداری، راندمان بارگذاری ماده فعال، قدرت متصل شدن ماده فعال به حامل و سرعت رهاسازی ماده فعال به مقدار

زیادی تحت تأثیر خصوصیات الکترواستاتیک حامل مورد استفاده قرار می گیرد. روش معمول برای تعیین خصوصیات الکترواستاتیک نانو عصاره‌ها، تعیین پتانسیل زتاست که بار کلی ذره در یک محیط مایع یا اختلاف پتانسیل بین لایه یونی متحرک و لایه غیر متحرک می باشد و بهترین شاخص برای تعیین وضعیت الکتریکی سطحی دیسپرسیونها است. زیرا نشان دهنده میزان تجمع بار در لایه غیر متحرک و شدت جذب یونهای مخالف به سطح ذره است. محاسبه پتانسیل زتا یک روش برای پیش بینی پایداری نانوعصاره هاست. اندازه گیری پتانسیل زتا در کنترل تودهای شدن و رسوب نانوعصاره‌ها که فاکتورهای مهم در پایداری هستند، مفید است (۱۶). به طور کلی در دسپرسیونهای کلوئیدی سیستمهای دارای پتانسیل زتا از ۳۰+ تا ۳۰- میلی ولت را ، پایدار در نظر می گیرند. با توجه به نتایج پتانسیل زتا در عصاره های ریزپوشانی شده توسط ایزوله پروتئین سویا برابر با ۲۲/۴۹ میلی ولت بود که این مقدار نشان از پایداری بالای نانوذرات ایجاد شده توسط این حامل دارد (۴۰).

۳-٤-تغییرات شیمیایی و میکروبی گوشت طی دوره نگهداری

۳-٤-۱- تغییرات عدد پراکسید

اکسیداسیون چربی یکی از دلایل اصلی فساد در طی دوره نگهداری که سبب ایجاد بو، طعم نامطلوب و کاهش ارزش غذایی می شود. عدد پراکسید جهت تعیین تشکیل هیدروپراکسیدها (مواد اولیه اکسیداسیون) به کار می رود. بنابر این تعیین میزان عدد پراکسید در نمونه‌های گوشت به منظور اکسیداسیون چربی گوشت ضروری به نظر می رسد (۲۶). نتایج بدست آمده از آزمون عدد پراکسید (نمودار ۲) در مطالعه حاضر نشان داد با افزایش زمان مقادیر عدد پراکسید در تمامی تیمارها افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). با توجه به نتایج آنالیز آماری بیشترین مقادیر عدد پراکسید در تیمار شاهد مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). کمتر بودن مقادیر عدد پراکسید در تیمارهای حاوی عصاره رزماری به علت خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره می باشد، فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره رزماری در ارتباط با ترکیبات فنلی موجود شامل رزمارینیک اسید و بعد از آن کارنوزیک اسید و کارنوزول در عصاره می باشد که توانایی چلاته کردن یونهای فلزی و خنثی کردن گونه های فعال اکسیژن را دارا می باشد (۳۱). همچنین نتایج در ارتباط با تیمارحاوی عصاره ریز پوشانی شده بهتر بود به طوری که در روز ۲۱ ام نگهداری کمترین مقادیر عدد پراکسید در تیمار عصاره نانوکپسوله (۵/۰۳ میلی اکی والان/ کیلوگرم چربی) و بیشترین مقادیر در تیمار شاهد (۷/۳۴ میلی اکی والان/ کیلوگرم چربی) مشاهده شد. که این امر نشان دهنده افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره پس از نانو کپسوله کردن آن و تاثیر پایدراتر عصاره نانوکپسوله بر فیله گوشت می باشد. همچنین مطالعات مختلفی حاکی از این می باشد که انکپسولاسیون سبب بهبود ترکیبات فعال زیستی نظیر پلی فنلها می شود (۱۷). نتایج مطالعه حاضر با نتایج Hasani و Javadian (۲۱) در ارتباط با افزودن عصاره نانوکپسوله پوست نارنج بر فیله ماهی کپور معمولی هم خوانی دارد.

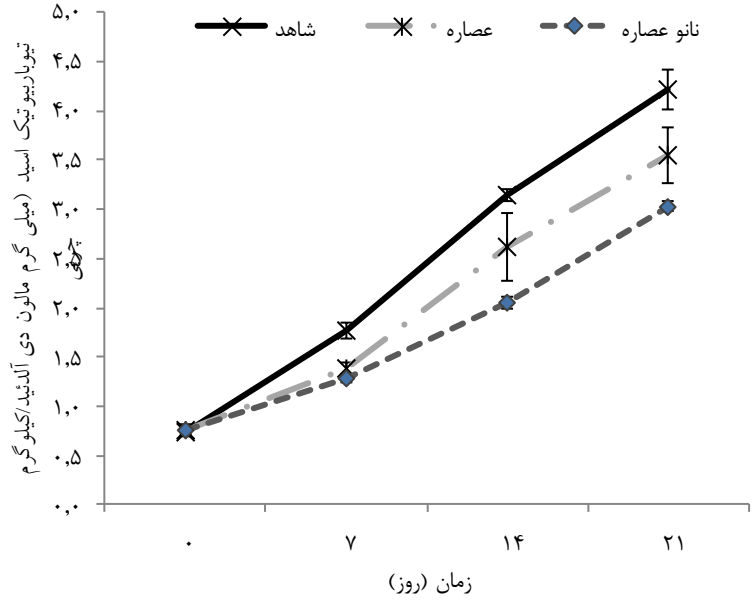


نمودار ۲- مقادیر عدد پراکسید در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

میزان مجاز پراکسید در گوشت برای مصرف انسانی ۵ است (۴۲). میزان عدد پراکسید تنها در تیمار نانو عصاره تا انتهای دوره نگهداری از محدوده مجازی برخوردار بود.

۳-٤-۲- تغییرات عدد تیوباربیوتیک اسید

به منظور ارزیابی درجه اکسیداسیون چربی در مواد غذایی به طور وسیعی از شاخص TBA استفاده می شود که میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون بویژه آلدهیدها و کتون ها را نشان می دهد. ترکیبات اکسیداسیون ثانویه موجب ایجاد بوهای ناخوشایند در گوشت می شوند (۲۹). نتایج مربوط به تغییرات تیوباربیوتیک اسید (نمودار ۳) نشان داد با افزایش زمان مقادیر تیوباربیوتیک اسید در تمامی تیمارها افزایش یافت (P<۰/۰۵). افزایش میزان TBA تیمارها در طول دوره را می‌توان به خاطر اکسیداسیون چربی و تولید ترکیبات فرار در حضور اکسیژن دانست (۸). با توجه به نتایج آنالیز آماری در اکثر روزها بیشترین مقادیر در تیمار شاهد، مشاهده شد. ترکیبات موجود در عصاره ها اهدا کننده‌ی مناسب الکترون و پروتون بوده و رادیکال های واسطه ی آن ها به دلیل پدیده‌ی حرکت الکترون در حلقه بنزن و فقدان محل حساس به حمله ی اکسیژن، بسیار پایدار می باشد. ترکیبات موجود در عصاره رزماری شامل کارنوزیک اسید، کارنوزول، رزمانون، رزماری مونینون و رزماری نول در عصاره دارای خاصیت خنثی سازی رادیکال های آزاد هستند و همچنین قادر به مهار کردن یون های فلزی مانند Fe^{2+} می باشند و به این ترتیب سرعت شکل گیری مولکول اکسیژن فعال کاهش می یابد (۳۰). همچنین نتایج در ارتباط با تیمارهای حاوی عصاره ریز پوشانی شده بهتر بود به طوری که در روز ۲۱ ام نگهداری کمترین مقادیر عدد تیوباربیوتیک اسید در تیمار عصاره نانوکپسوله و بیشترین مقادیر در تیمار شاهد مشاهده شد (P<۰/۰۵)در واقع می توان این گونه بیان نمود انکپسولاسیون عصاره رزماری سبب افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی آن و طولانی تر شدن اثر بخشی آن طی دوره نگهداری می شود. نتایج مطالعه حاضر با نتایج Alipour و همکاران (۲) در ارتباط با افزودن عصاره نانوکپسوله رازیانه بر فیله فیتوفاگ معمولی هم خوانی دارد.

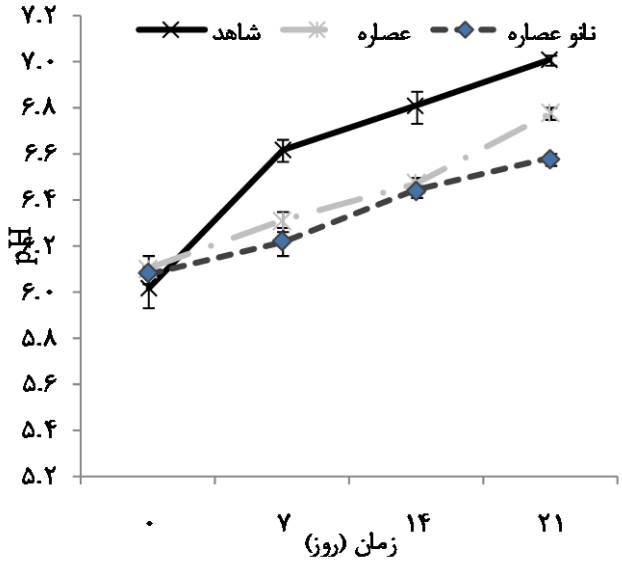


نمودار ۳- مقادیر عدد تیوباربیوتیک اسید در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

به طور کلی میزان TBA ۲ میلی گرم مالون دی آلدهید/گرم گوشت به عنوان محدودیت مصرف در نظر گرفته می شود و آن زمانی است که بوی فساد در گوشت قابل کشف خواهد بود (۵). در انتهای دوره نگهداری میزانTBA در همه نمونه‌ها بیشتر از حد قابل قبول پیشنهادی بود و تنها در تیمار نانو عصاره تا روز ۱۴ ام دوره نگهداری از محدوده مجازی برخوردار بود.

۳-٤-۲- تغییرات pH

در بسیاری از مواد غذایی با منشاء دامی مانند مرغ، گوشت، ماهی، لبنیات نزول pH در طول مدت نگهداری در اثر تغییرات شیمیایی حاصله مانند تغییرات پس از کشتار در گوشت و یا عمل آوری مشاهده می شود. در صورتی که زمان نگهداری مواد غذایی افزایش یابد و موجب تکثیر میکروارگانیسم ها گردد، میزان pH بالا رفته و مواد غذایی را در مخاطره آلودگی به میکروارگانیسم های عامل عفونت و مسمومیت غذایی قرار خواهد داد (۱۸). در مطالعه حاضر (نمودار۴) نیز میزان pH در تمامی تیمارها طی دوره نگهداری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). با افزایش مدت نگهداری و افزایش فلور میکروبی در گوشت، متابولیت های ثانویه حاصل از فعالیت میکروارگانیسم ها و دآمیناسیون پروتئین‌ها تجمع می یابند. در طول مدت نگهداری، پس از مصرف گلوکز ذخیره شده، پروتئین ها هم توسط باکتری ها تجزیه شده و اسیدهای آمینه آزاد می شوند و بعد از آن در نتیجه تجزیه اسیدهای آمینه، آمونیاک تولید شده و تجمع می یابد که باعث افزایش pH در گوشت می گردد (۱۸).



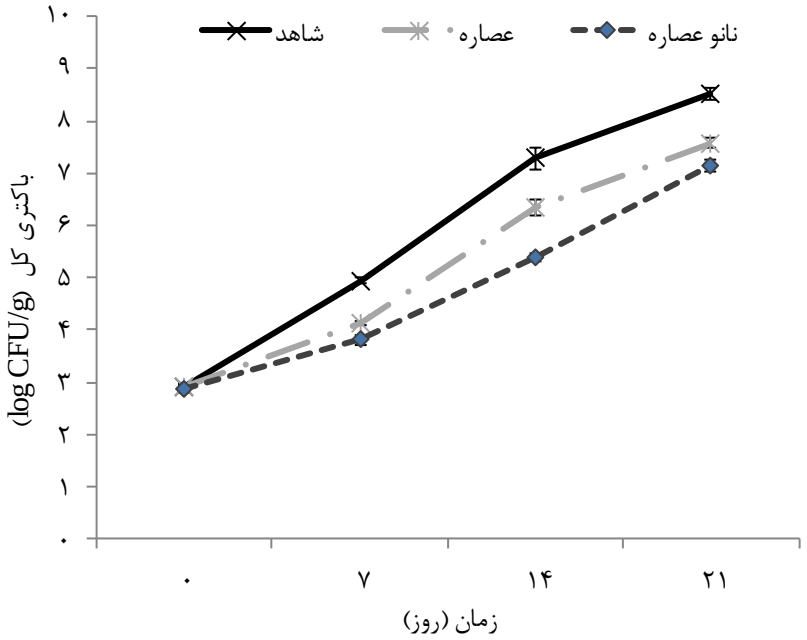
نمودار ٤ - مقادیر pH در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

با توجه به نتایج آنالیز آماری در اکثر روزها بیشترین مقادیر در تیمار شاهد، مشاهده شد. کمتر بودن pH در نمونه ی حاوی عصاره را می توان به خاصیت آنتی باکتریایی عصاره ربط داد. با کاهش فلور میکروبی میزان متابولیت های ثانویه تولید شده کاهش می یابد و روند افزایشی pH کند می شود. نتایج مشابهی توسط Vilela و همکاران (۳۶) در مورد اثر افزودن عصاره‌ی رزماری و برگ بو به گوشت چرخ شده گوساله بدست آمد. و همچنین نتایج در ارتباطا تیمارهای حاوی عصاره ریز پوشانی شده بهتر بود به طوری که در روز ۲۱ ام نگهداری کمترین مقادیر pH در تیمار عصاره نانوکپسوله و بیشترین مقادیر در تیمار شاهد مشاهده شد. علت این امر افزایش خاصیت ضد باکتریایی عصاره رزماری پس از انکپسولاسیون و یا حفظ پایداری خواص ضدباکتریایی عصاره برای مدت طولانی تر پس از انکپسولاسیون می باشد.

۳-٤-۳- تغییرات مقادیر کلی باکتری

به دلیل ترکیبات شمیایی گوشت، مکان مناسبی برای رشد، تکثیر و ازدیاد بسیاری از میکروارگانیزم ها از جمله باکتری ها می باشد. سطح گوشت معمولا با گونه های مختلفی از ارگانیزم های ساپروفیت مخصوصا کوکوباسیلوسها یا باسیلوسها و میکروکوکوسهای گرم منفی آلوده می شود (۲۷). شمارش کلی باکتری ها معیاری برای پی بردن به کیفیت بهداشتی یک محصول است که غیر قابل مصرف بودن محصول را بیان می کند.

با توجه به نتایج آنالیز آماری (نمودار ۵) در تمامی روزها بیشترین مقادیر باکتری کل در تیمار شاهد مشاهد شد کمتر بودن بار کل باکتری در تیمارهای حاوی عصاره می‌تواند ناشی از ترکیبات فنولی 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 (۴).



نمودار ۵-مقادیر TVC در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

همچنین نتایج در ارتباط با تیمارهای حاوی عصاره ریز پوشانی شده بهتر بود به طوری که در روز ۲۱ ام نگهداری کمترین مقادیر TVC در تیمار عصاره نانوکپسوله و بیشترین مقادیر در تیمار شاهد مشاهده شد. علت این امر افزایش خاصیت ضد میکروبی عصاره پس از نانوکپسولاسیون می باشد. همچنین یک توضیح احتمالی برای این امر می تواند اینگونه بیان شود، استفاده از ایزوله پروتئین سویا، سبب حفظ بهتر ترکیبات زیست فعال می شود 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 (۱۹). افزایش خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی پس از نانوکپسوله شدن توسط حامل های مختلف توسط محقیق دیگر نیز اعلام شده است (۲، ۱۹ و ۲۱). میزان مجاز شمار کل باکتری برای گوشت log CFU/g ۷ پیشنهاد شده است (۲۲). در انتهای دوره نگهداری میزان کل باکتری در همه نمونه‌ها بیشتر از حد قابل قبول پیشنهادی بود و اما تیمارهای حاوی نانو عصاره تا روز ۲۰ ام دوره نگهداری از محدوده مجازی برخوردار بود و در روز ۲۱ ام نگهداری مقادیر باکتری کل برای این تیمار برابر با log CFU/g ۷/۱۳ بوده است.

٤- نتیجه گیری

هدف از این پژوهش بررسی خواص آنتی اکسایشی و آنتی میکروبی عصاره رزماری به دو فرم آزاد و ریزپوشانی شده در افزایش عمر ماندگاری گوشت طی دوره نگهداری می باشد. در این مطالعه برای استخراج ترکیبات فنلی، عصاره رزماری از روش های مختلف استخراج عصاره شامل اولتراسوند، حلال و فوق بحرانی استفاده شود و به منظور بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نتایج در بین روش های مختلف استخراج بالاترین مقادیر ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره استخراجی به روش اولتراسوند مشاهده شد و کمترین مقادیر در عصاره استخراجی به روش حلال مشاهده شد. همچنین به منظور ریز پوشانی عصاره از حامل ایزوله پروتئین سویا استفاده شد. به منظور بررسی اثر عصاره رزماری به دو صورت آزاد و ریزپوشانی شده در افزایش عمر ماندگاری گوشت طی دوره نگهداری ۲۱ روزه، در این مطالعه ۳ تیمار شامل شاهد، عصاره با غلظت ppm ۸۰۰ و عصاره نانوکپسوله با غلظت ppm ۸۰۰ تولید و به صورت دوره ای مورد ارزیابی میکروبی و شیمیایی (مقادیر کلی باکتری(TVC) و شیمیایی (پراکسید (PV)، مقادیر تیوباربیوتیک اسید (TBA) و (pH) قرار گرفتند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره رزماری دارای ترکیبات فنلی و خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی می باشد و نانوکپسوله نمودن رزماری به وسیله ایزوله پروتئین سویا سبب افزایش خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی آن شده است به طوری که تیمارهای حاوی عصاره نانوکپسوله رزماری روند فساد میکروبی و اکسیداسیونی در فیله‌های گوشت را به طور معنی‌داری به تعویق انداخت و عمر ماندگاری فیله را تا روز ۱۴ ام افزایش داد. با اجرای این مطالعه و مطالعات مشابه در مورد کاربرد عصاره های گیاهی دارای خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی، می توان ضمن کاهش فرآورده های عامل اکسیداسیون، گامی مؤثر در جهت بهبود سلامت میکروبی، حفظ کیفیت ارگانولپتیکی گوشت در حد مطلوب و افزایش مدت ماندگاری آن برداشت و زمینه لازم را برای استفاده کاربردی از این ترکیبات در انواع گوشت ها و فرآورده های آنها فراهم کرد.

٥- منابع

1. Afonso, M. S., Silva, A. M. O., Carvalho, E. B., Rivelli, D. P., Barros, S. B., Rogero, M. M., Lottenberg, A. M., Torres, R. P. and Mancini- Filho, J. 2013. Phenolic compounds from Rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) attenuate oxidative stress and reduce blood cholesterol concentrations in diet-induced hypercholesterolemic rats. *Nutrition & Metabolism*, 10(1): 19.
2. Alipour Mazandrani, 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.
3. AOCS. 1980. Official Methods and Recommended Practices of the AOCS, 5thed., Champaign.
4. Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *Food Microbiology*, 94: 223- 253.
5. 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.
6. Carneiro, H. C., Tonon, R. V., Grosso, C. R. and Hubinger, M. D. 2013. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*, 115:443-451.
7. Chen, I. J., Liu, C. Y., Chiu, J. P and Hsu, C. H. 2016 Therapeutic effect of high-dose green tea extract on weight reduction: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Clin Nutr. Jun*, 35(3): 592-599.
8. Chidanandaiah, S. M. K., Keshri, R.C. and Sanyal, M.K. 2009. Effesct of sodium alginate coating with

preservatives on the quality of meat patties during refrigerated (41c) storage. *Journal Muscle foods*, 20: 275-292.

9. 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.
10. Dawidowiez, A.L., Wianowska, D. and Baraniak, B. 2006. The antioxidant properties of alcoholic extracts from sambucus nigra L. (antioxidant properties of extracts), *Lebensrhittel-Wissenschaft and Technologic*, 39: 308-315.
11. Delfanian, M., Esmaeilzadeh Kenari, R. and Sahari. M. A. 2015. Influence of extraction techniques on antioxidant properties and bioactive compounds of loquat fruit (*Eriobotrya japonica Lindl*.) skin and pulp extracts. *Food Sci. Nu*t, 3: 179-187.
12. Devatkal, S. K., Thorat, P. and Manjunatha, M. 2012. Effect of vacuum packaging and pomegranate peel extract on quality aspects of ground goat meat and nuggets. *Journal of Food Science and Technology*. 51(10):2685-91.
13. 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.
14. El-Rajoob, A.O., Massadeh, A.M. and Omari, M.N. 2008. Evaluation of Pb, Cu, Zn, Cd, Ni and Fe levels in *Rosmarinus officinalis* (Rosemary) medicinal plant and soils in selected zones in Jordan. *Environment Monitor Assessment*, 140: 61- 68.
15. Esmaeilzadeh Kenari, R., Mohsenzadeh, F. and Amiri. Z. R. 2014. Antioxidant activity and total phenolic compounds of Dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound-assisted extraction methods. *Food Sci. Nut*, 2: 426-435.
16. Fathi, M., Mozafari, M. R. and Mohebbi, M. 2012. Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends in food science & technology*, 23(8): 13-27.
17. Fang, Z. and Bhandari, B. 2010. Encapsulation of polyphenols – a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(10),: 510–523.
18. Gill, C. O. 1983. Meat spoilage and evaluation of the potential storage life of fresh meat. *Journal of Food Protection*, 46(5): 444-452.
19. 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.
20. Haji mahmmodi, M., Aliabadpoor, M., Moghaddam, M., Sadegi, N., Oveisi, M. and Jannat. B. 2012. Evaluation of in vitro antioxidant activity of lemon juice for safety assement. *American journal of food technology*, 7(11): 708-714.
21. Hasani, O., Javadian, S. R. 2015. Effect of Encapsulated Bitter Orange Peel Extract and BHT on the Quality of Common Carp Fillet during Refrigerated Storage. *International Journal of Food Engineering*, 12(3): 303-310.
22. Hayes, J., Stepanyan, V., Allen, P., O'Grady, M. and Kerry, J. 2010. Effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on the quality and shelf-life stability of packaged raw minced beef patties. *Meat Science*, 84: 613–620.
23. Joye, I. J., Davidov-Pardo, G. and McClements, D. J. 2015. Encapsulation of resveratrol in biopolymer particles produced using liquid antisolvent precipitation. Part 2: Stability and functionality. *Food Hydrocolloids*, 49:127-134.
24. Jiang, Y., Wu, N., Fu, Y. J., Wang, W., Luo, M., Zhao, C. J., Zu, Y. G. and Liu, X. L. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 32(1): 63-68.
25. Kadam, S. U., Tiwari, B. K., Smyth, T. J.and Donnell. C. P. O. 2015.

food applications. *Procedia Food Science*, 1: 1806-15.

34. Perira, D., Pinheiro, S., Heldet, L. and Moura. C. 2017. Rosemary as natural antioxidant to prevent oxidation in chicken burgers. *Food Sci. Technol*, 17-23.
35. Sarikurkcu, C., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Harmandar, M. 2008. Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of Marrubium globosum subsp. globosum (*lamiaceae*) by three different chemical assays. *Biores. Technol*, 99:4239-4246
36. Vilela, J., Martins, D., Monteiro-Silva, F., González-Aguilar, G., de Almeida, J. M. and Saraiva, C. 2016. Antimicrobial effect of essential oils of *Laurus nobilis* L. and *Rosmarinus officinallis* L. on shelf-life of minced "Maronesa" beef stored under different packaging conditions. *Food Packaging and Shelf Life*, 8: 71-80.
37. Vinatoru, M. 2001. An overview of the ultrasonically assisted of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8: 303-313.
38. Romano, C. S., Abadi, K., Repetto, V., Vojnov, A. A. and Moreno, S. 2009. Synergistic antioxidant and antibacterial activity of rosemary plus butylated derivatives. *Food Chemistry*, 115(2): 456–461.
39. Sallam, K. I. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of soudium acetate, soudium lactate andsoudium citrate in refrigerated slicedsalmon. *Journal of Food Control*, 18: 566-567.
40. Sebaaly, C., Greige-Gerges, H., Agusti, G., Fessi, H. and Charcosset, C. 2016. Large-scale preparation of clove essential oil and eugenol-loaded liposomes using a membrane contactor and a pilot plant. *Journal of Liposome Research*, 26(2):126-38.
41. Shah, M.A., Bosco, S.J.D. and Mir, S.A. 2014. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Science*, 98(1):21-33.
42. Yanar, Y. 2007. Quality Changes of Hot Smoked Catfish (*Clarias Gariepinus*) During Refrigerated storage. *Journal of Muscle Foods*, 18: 391-400.

Optimization of ultrasound assisted extraction of bioactive components from brown seaweed *Ascophyllum nodosum* using response surface methodology. *Ultrason. Sonochem*, 23: 308-316.

26. Khan, I., Nkufi Tango, C. and Deog-Hwa. O. 2017. Development and evaluation of chitosan and its derivative for the shelf life extension of beef meat under refrigeration storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 52: 1111–1121.
27. Kraft, A.A. 1999. Psychrotrophic bacteria in foods: Disease and spoilage, CRC Press.
28. Li, T., Li, J., Hu, W., Zhang, X., Li, X. and Zhao, J. 2012. Shelf-life extension of crucian carp (*Carassius auratus*) using natural preservatives during chilled storage. *Journal of Food Chemistry*, 135: 140–145.
29. Mexisa, S. F., Chouliara, E. and Kontominas, M. G. 2009. Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf life extension of rainbow trout fillets stored at 4 °C. *Food Microbiology*, 26: 598-605.
30. 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 and Technology*, 45(1): 79-87.
31. Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C.S. and Vonjov, A. 2006. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radical Research*, 40(2): 223-231.
32. Mohdaly, M., Sarhan, M. A., Mahmoud, A., Ramadan, M. and Smetanska, I. 2010. Antioxidant efficacy of potato peels and sugar beet pulp extracts in vegetable oils protection, *Food Chem*, 123:1019-1026.
33. Nedovic, V., Manojlovic, V., Levic, S. and Bugarskib, B. 2011. An overview of encapsulation technologies for

(Original Research Paper)

The Effect of Encapsulated and Free Rosemary Extracts (*Rosmarinus officinalis* L) on the Quality Properties and Shelf Life of Beef Meat During Refrigerated Storage (4±1 ºC)

Seyyede Salimeh Rashidaie Abandansari[1], Peiman Ariayi[2*], Mehdi Charmchian Langarudi[1]

1-Ph.D Student of Food Science and Technology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.
2-Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Agricultural Extension and Education, Sari Branch**,** Islamic Azad University, Sari, Iran.

Received: 13/03/2019 Accepted:03/08/2019

Abstract

In this study, the effect of encapsulated and free rosemary extract (*Rosmarinus officinalis* L) as a natural preservative on beef meat was investigated. For this purpose, rosemary extract was extracted by different methods (solvent, ultrasound and supercritical) and the amount of phenolic compounds and antioxidant activity were measured by free radical DPPH inhibitor. The highest levels of phenolic compounds and antioxidant properties were observed in ultrasound extraction method ($P < 0.05$), and these extract was encapsulated using soy protein isolate, then to improve the quality properties of meat, encapsulated and unencapsulated of rosemary extract (800 ppm) was added to the meat fillet, the microbial index (TVC), chemical index (PV, TBA and pH) evaluation at 7-day intervals within 21 days (during refrigerated storage). The results showed that adding extracts (in free and nano-encapsulated form) had a significant effect on the chemical and microbial parameters of meat fillet ($P < 0.05$). Encapsulated rosemary extract was more effective to delayed lipid oxidation and microbial spoilage of meat fillet, and only this treatment had acceptable microbial and chemical indices until the 14th day of the maintenance period. Therefore, it seems that encapsulated rosemary extract could use as a natural preservative in meat and meat products.

Keywords: Rosemary, Lipid Oxidation, Microbial Spoilage, Beef Meat, Encapsulated.

*Corresponding Author: p.aryaye@yahoo.com