



تأثیر عطرمایه و عصاره آزاد و ریز پوشانی شده با نانولیپوزوم دارچین بر لیستریا مونوسایتوزنز و

اشرشیاکولی تلقیح شده به گوشت چرخ شده گاو

شبنم امامی^۱، محمد احمدی^{۲*}، لیلا روزبه نصیرایی^۳، سید احمد شهیدی^۴، هدا جعفری زاده مالمری^۵

۱-دانشجوی دکترا، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

۲-دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد آیت... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

۳- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

۴- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

۵- دانشیار، گروه مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی سهند، تبریز، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۰۳

کلمات کلیدی:

دارچین،

عطرمایه،

فعالیت آنتی اکسیدانی،

فعالیت ضد باکتریایی،

نانولیپوزومها.

نانولیپوزومهای عطرمایه و عصاره دارچین با استفاده از روش هیدراتاسیون لایه نازک- فراصوت با استفاده از لسیترین و سه کوسورفکتانت مختلف به نامهای گلیسرول، تری استین و پروپیلن گلیکول و Tween 80 به عنوان سورفکتانت تهیه شدند. نتایج نشان داد که پروپیلن گلیکول منجر به تولید نانولیپوزومهایی با کوچکترین میانگین اندازه ذرات کروی شکل (۹۲/۰۳ نانومتر) و بیشترین مقدار پتانسیل خالص زتا (۲۴/۱- میلی ولت) شد و به عنوان کوسورفکتانت مناسب تر انتخاب شد. اگرچه فعالیت ضد باکتریایی عطرمایه و عصاره دارچین بیشتر از آنهایی بود که در نانولیپوزومها محصور شده بودند، هم عطرمایه دارچین و هم نانولیپوزومهای عصاره فعالیت ضد باکتریایی بالایی در برابر باکتری های اشرشیا کلی و لیستریا مونوسایتوزنز نشان دادند. نتایج نشان داد که بر اساس حداقل غلظت های بازدارنده و باکتری کش نمونه های تهیه شده، لیستریا مونوسایتوزنز مقاومت بالاتری نسبت به نانولیپوزومهای دارچین تهیه شده داشت. به منظور مطالعه اثر دارچین در افزایش عمر ماندگاری گوشت چرخ شده، اثر تیمارهای مختلف عصاره، نانو عصاره، عطرمایه، نانو عطرمایه و عصاره به همراه عطرمایه بر ویژگی های مختلف گوشت چرخ شده (pH، مقادیر تیوباریتوریک اسید و بازهای نیتروژنی فرار) و همچنین اثر این تیمارها در کنترل جمعیت میکروبی اشرشیا کلی و لیستریا مونوسایتوزنز تلقیح شده در گوشت چرخ شده بررسی شدند. نتایج نشان داد که عصاره دارچین دارای خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی بوده و نانوکپسوله کردن عصاره سبب افزایش ویژگی های ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی آن می شود. بیشترین مقدار pH (۶/۵۸)، مقادیر تیوباریتوریک اسید (۰/۰۸۱ MDA/kg) و بازهای نیتروژنی فرار (۷۲/۵ mg/100 g) در تیمار شاهد در روز ۹ مشاهده شد. در حالیکه برای نمونه حاوی عطرمایه نانوکپسوله مقدار pH (۶/۰۹)، مقادیر تیوباریتوریک اسید (۰/۰۰۲ MDA/kg) و بازهای نیتروژنی فرار (۱۱/۵ mg/100 g) با توجه به نتایج مطالعه حاضر می توان از عصاره دارچین نانولیپوزومی برای افزایش ماندگاری گوشت چرخ کرده بدون ایجاد اثر نامطلوب و از نظر پایداری اکسیداتیو و فساد میکروبی کم استفاده کرد.

DOI: 10.22034/FSCT.19.133.1
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.133.1.6

* مسئول مکاتبات:

drahmady@gmail.com

۱- مقدمه

گوشت منبع مهمی از مواد مغذی است و یکی از حساس‌ترین مواد غذایی فسادپذیر به شمار می‌آید زیرا محیطی بسیار مساعد جهت فعالیت میکروب‌ها، مخمرها و کپک‌ها است؛ بنابراین گوشت و محصولات گوشتی و شرایط مطلوب نگهداری آنها امری مهم تلقی می‌شود. فرآورده‌های گوشتی به‌طور معمول در طول نگهداری در یخچال به دلیل عمده فعالیت میکروبی فاسد می‌شوند [۱]. به همین خاطر یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های صنعت غذا کنترل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و عامل فساد می‌باشد [۲].

گوشت چرخ شده برخلاف لاشه‌ی تازه ذبح شده منحصراً به‌وسیله‌ی باکتری‌ها موردحمله قرار گرفته و فاسد می‌شود، در این رابطه جنس‌های باکتریایی چون *Pseudomonas*، *Aeromonas*، *Acinetobacter*، *Alcaligenes* و *Listeria* دارای اهمیت زیادی هستند. اعتقاد کلی بر این است که *Acinetobacter*، *Pseudomonas* و *Moraxella* از عوامل اولیه و مهم فساد این گوشت‌ها می‌باشند که شروع‌کننده‌ی فساد می‌باشند [۳]. معمولاً فساد در دمای پایین همراه با تولید بوی نامطبوع است. در این میان آلودگی‌های ثانویه‌ای که طی فرآیند چرخ کردن گوشت که از طریق دست و چرخ کردن وارد محصول می‌شوند را نباید نادید انگاشت همچنین به دلیل سطح قابل‌دسترس‌تری که گوشت چرخ‌کرده برای حمله پاتوژن‌ها در اختیار آنها می‌گذارد درصد آلودگی مضاعف و حتی چندین برابر می‌شود [۱].

از بین باکتری‌های فاسد کننده‌ی گوشت چرخ شده تعدادی علاوه بر ایجاد فساد در گوشت باعث ایجاد بیماری در انسان نیز می‌شوند. بالا بودن میزان خطرات انتقال آلودگی از راه منابع گوشتی آلوده به *Listeria monocytogenes* سبب شده است تا در اکثر کشورها ضبط کلی دام کشتار شده انجام پذیرد [۴].

پاتوژن *Escherichia coli* O157:H7 برای عملیات چرخ کردن اهمیت ویژه‌ای دارد، زیرا در گوشت چرخ‌کرده به‌عنوان عامل تقلب در نظر گرفته می‌شود. شواهد اخیری وجود دارد که نشان می‌دهد شیوع *E. coli* O157:H7 در گاو بالاتر از حد تصور قبلی است [۵]. کلی فرم‌ها به‌ویژه /شرشیا کولی یکی از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده گاستروانتریت و شاخص میکروبی آلودگی آب و مواد غذایی محسوب می‌گردند. در

نقاط مختلف جهان وقوع عفونت‌ها و مسمومیت‌های غذایی ناشی از آلودگی به /شرشیا کولی بسیار موردتوجه و مطالعه قرار گرفته است. ازجمله این مطالعات به گزارش هانلون و همکاران در سال ۲۰۱۸ در انگلستان [۶]، فرودر و همکاران در سال ۲۰۰۷ در برزیل [۷]، پارک و همکاران در سال ۲۰۱۵ در کره جنوبی [۸]، عمر و همکاران در سال ۲۰۱۷ در لیبی [۹]، نورلیس و همکاران در سال ۲۰۱۱ در مالزی [۱۰] و گورملی و همکاران در سال ۲۰۱۰ در انگلستان [۱۱] اشاره نمود.

طی نگهداری گوشت، رشد میکروبی را می‌توان به‌وسیله کاربرد ضد میکروب‌ها به عقب انداخت و موجب افزایش مدت نگهداری و حفظ کیفیت آن شد [۱]. استفاده از نگه‌دارنده‌های شیمیایی که برخی از آنها مشکوک به اثرات سوء مانند سرطان‌زایی و یا باقی‌مانده‌های سمی هستند موجب نگرانی مراجع بهداشتی شده است. لذا یکی از نیازهای جامعه بشری کاهش و یا حذف این ترکیبات سنتز شده در مواد غذایی می‌باشند و این منجر به رویکرد قابل‌توجه تولیدکنندگان مواد غذایی به جایگزینی نگه‌دارنده‌های شیمیایی با انواع طبیعی شده است. عصاره‌های گیاهی به‌عنوان یک منبع ضد میکروبی طبیعی شناخته شده می‌باشند که دارای تأثیرات مثبتی نظیر محافظت در برابر بیماری‌های مزمن، سرطان، دیابت، بیماری‌های قلبی و جهش‌زایی هستند. ترکیب، ساختار و گروه‌های عاملی عصاره‌ها نقش مهمی در فعالیت ضد میکروبی آنها ایفا می‌کنند و معمولاً ترکیباتی که دارای گروه‌های فنولی هستند دارای تأثیر بیشتری هستند [۱۲].

اکثر عطرمایه‌های گیاهی دارای اثر ضد میکروبی می‌باشند که این اثر به‌طور عمده مربوط به ترکیبات فنولی آنها است. از شناخته‌شده‌ترین این گیاهان دارچین است که بومی سریلانکا است و با نام علمی *Cinnamomum zeylancium* شناخته می‌شود. عطرمایه دارچین توسط محققین زیادی به‌عنوان منبع مناسب از ترکیبات ضد قارچی و باکتریایی شناخته شده است. عطرمایه دارچین قادر است که از رشد میکروارگانیسم‌های اصلی فاسد کننده گوشت پیش‌گیری کند. این ادویه علاوه بر خصوصیت ضد میکروبی می‌تواند به‌عنوان عامل بو و طعم در فرآورده‌های گوشتی مورد استفاده قرار گیرد [۱۳]. عطرمایه، عصاره الکلی همراه با روغن فراوان است که به‌طور عمده ترکیبات ترپنی یا مشتقات ترپنی را شامل می‌شود

شرکت مرک (Darmstadt, Germany) فراهم گردید. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (پایه آنالیزی) از سیگماآلدریج (Darmstadt, Germany) خریداری شد. آب دیونیزه شده و تمامی حلال‌ها از شرکت دکتر مجلی (تهران، ایران) خریداری شد. آگار مولر هیتتون (MHA) و آبگوشت مولر هیتتون (MHB) از بیولایف (Biolife Co., Milan, Italy) خریداری شد. *Escherichia coli* (E.coli, PTCC 1395) و *Listeria monocytogenes* (L. monocytogenes, PTCC 1340) توسط مجموعه کشت نوع پاریسی میکروبی (PTCC, Tehran, Iran) فراهم گردیدند.

۲-۲- آماده‌سازی عطرمایه دارچین

چوب دارچین به قطعات کوچک خردشده و پوست‌های خشک‌شده دارچین توسط آسیاب پودر گردید و مقدار ۷۰ گرم به دقت توزین گشته و به داخل یک ارلن ۱۰۰۰ میلی‌لیتری منتقل گشت و ۶۰۰-۷۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. جهت کاهش میزان تشکیل حباب‌های حاصل از جوشش، چند عدد پرل شیشه‌ای به داخل بالن اضافه گردید و عطرمایه دارچین توسط بخار با استفاده از روش کلونجر تقطیر و استخراج شد. نتایج نشان دادند که بازده عطرمایه از مصرف دارچین حدود ۲/۵ درصد بود [۱۷].

۲-۳- آماده‌سازی عصاره دارچین

چوب دارچین آسیاب شده و به پودر تبدیل گشت و ۶۰ گرم از آن در ۳۰۰ میلی‌لیتر محلول آبی-الکلی (۵۰ درصد حجمی حجمی) به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شده و سپس صاف شد و اتانول توسط یک بخار کننده چرخان (Heidolph, Germany) در فشار ۰/۵ atm و دمای حمام آب ۵۰ درجه سلسیوس و سرعت چرخش ۵۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه بخار شد [۱۷].

۲-۴- آماده‌سازی نانولیپوزوم‌های عصاره

دارچین

جهت آماده‌سازی نانولیپوزوم‌های عصاره دارچین از طریق هیدراسیون- سونیکاسیون لایه‌نازک، ۲ گرم لسیتین و ۲ میلی‌لیتر Tween 80 در ۳۸ میلی‌لیتر عصاره دارچین به مدت ۳۰ دقیقه در از سونیکاتور حمام‌دار قرار گرفتند تا گویچه‌ها به اندازه نانو حل‌شده و نانولیپوزوم‌ها حاصل شوند.

درحالی‌که عصاره محلولی است که حاوی تمام مواد مفید گیاه از جمله تانن‌ها، موسیلاژها، عطرمایه‌ها و ... می‌باشد.

یکی از مهم‌ترین مسائل و چالش‌ها در زمینه استفاده از عطرمایه‌ها در مواد غذایی، بهبود و افزایش پایداری آنها در مراحل فرآوری و همچنین کنترل آزاد شدن تا زمان مصرف می‌باشد؛ بنابراین بهتر است قبل از استفاده در مواد غذایی و نوشیدنی‌ها به منظور محدود کردن تجزیه یا افت آروما در طول فرآوری و نگهداری ریزپوشانی شوند [۱۴]. ریزپوشانی فرآیندی است که ذرات و قطرات مایع، جامد و گاز در غشایی از جنس مواد غذایی مجاز به دام می‌افتند و کپسول حاصل محتویات خود را تحت سرعت کنترل‌شده و با یک تحریک خاص و در یک زمان مشخص رها می‌کند. سیستم‌های حامل بر پایه لیپیدها شامل نانو امولسیون‌ها، نانولیپوزوم‌ها، نانو ذرات لیپید جامد و حامل‌های نانو ساختار لیپیدی می‌باشند. نانولیپوزوم‌ها به علت امکان تولید در مقیاس صنعتی و قابلیت رهایش ترکیبات با خصوصیات آب‌دوستی متفاوت می‌توانند سیستم مناسبی برای ریز پوشانی ترکیبات محلول در چربی از قبیل عطرمایه‌های روغنی باشند [۱۵ و ۱۶].

در این پژوهش با توجه به خواص دارچین، اثر عطرمایه و عصاره و نانولیپوزوم را که باعث رهایش کنترل‌شده خواص ضد میکروبی دارچین و افزایش حلالیت و تحویل دقیق‌تر این مواد می‌شود، بر نگهداری گوشت چرخ شده طی مدت‌زمان نگهداری آن در یخچال بررسی شده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

گوشت گوساله از کشتارگاه خریداری و در شرایط کاملاً استریل و در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل گشت و سپس در شرایط استریل قطعه‌قطعه شد و قطعات به‌دست‌آمده با آب ۶۰ درجه سلسیوس کاملاً شسته شد و با پارچه استریل خشک گردید و توسط دستگاه چرخ‌گوشت چرخ گردید. این گوشت چرخ شده جهت تلقیح باکتری‌ها، عصاره‌ها، عطرمایه‌ها و نانولیپوزوم هر کدام طبق تیمار بندی‌های مشخص در یخچال نگهداری شد.

چوب دارچین از بازار محلی خریداری گردید. فسفولیپید (لسیتین از تخم‌مرغ)، تری استین، 1,2,3-triacetoxypropene، پرو پیلن گلیکول و گلیسرول توسط

(فرمولاسیون A, B & C در جدول ۱). سپس مخلوط حاصله به فلاسک ته گرد منتقل شد و حلال‌ها با استفاده از تبخیر چرخان (Heidolph, Germany) کاملاً خارج گردیدند که در ۰/۵ atm، دمای حمام آب ۴۵ درجه سلسیوس، سرعت چرخش ۵۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه تا تشکیل لایه نازک روی دیواره فلاسک انجام گردید. این لایه نازک در ۵۰ میلی لیتر از آب مقطر که به طور مغناطیسی به مدت ۶۰ دقیقه در ۱۰۰ دور در دقیقه هم زده می‌شد، هیدراته شده و سپس در سونیکاتور حمام به مدت ۵ دقیقه در دو سیکل سونیکه شد (تحت تأثیر امواج صوتی قرار گرفت). نانولیپوزوم‌های سنتز شده در دمای ۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

نانولیپوزوم‌های حاصله قبل از بررسی‌های تشخیصی، در ۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند [۱۷].

۲-۵- آماده‌سازی نانو لیپوزوم‌های عطرمايه

دارچین

نانو لیپوزوم‌های عطرمايه دارچین با استفاده از تکنیک هیدراسیون-سونیکاسیون لایه نازک طبق جبرائیلی و همکاران [۱۸] با کمی تغییرات آماده‌سازی شد. ۰/۵ میلی لیتر عطرمايه دارچین، ۱ گرم لسیتین و ۱ میلی لیتر از یکی از CO-surfactants منتخب به نام‌های glycerol, triacetin یا propylene glycol مخلوط شده و به طور کامل در ۱۰ میلی لیتر از محلول 50:50 V/V dichloromethane – methanol حل گردید و به مدت ۵ دقیقه در سونیکاتور حمام سونیکه شد (تحت تأثیر امواج صوتی قرار گرفت)

Table 1 The formulation of prepared cinnamon essential oil and extract nanoliposomes

Sample	Amounts of essential oil (mL)	Lecithin (g)	Co-emulsifier and its amount	Solvent (1:1 v/v)	
				dichloromethane/methanol, mL)	Water (mL)
A	0.5	1	Glycerol (1 mL)	10	50
B	0.5	1	Triacetin(1 mL)	10	50
C	0.5	1	Propylene glycol (1 mL)	10	50
D	0.25	1	Propylene glycol (1 mL)	10	50
E	0.125	1	Propylene glycol (1 mL)	10	50
F	38 mL aqueous extract of cinnamon	2	Tween 80 (2 mL)	-	-

A, B, C, D and E: Cinnamon essential oil nanoliposomes
F: Cinnamon extract nanoliposome

۲-۶- آزمون‌ها

۲-۶-۱- کروماتوگرافی گازی-اسپکترومتری توده‌ای (GC-MS)

کروماتوگرافی گازی (Agilent 6890N, US) با اسپکترومتر توده‌ای (HP 5989, US) جهت توصیف ترکیب شیمیایی عصاره و عطرمايه دارچین مورد استفاده قرار گرفت. گاز حامل نیتروژن بود که منجر به انتقال عطرمايه تبخیر شده به داخل ستون (طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و اندازه ۰/۲۵ میکرومتر) گردید (SMS-HP Agilent, US). دمای آون با نرخ ۵ درجه سلسیوس در هر دقیقه از ۴۵ درجه سلسیوس به ۲۵۰ درجه سلسیوس افزایش داده شد.

نرم افزار Chem Station (G1701DA MSO Chem Station, Agilent, US) جهت آنالیز داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت [۱۸].

۲-۶-۲- اندازه ذره، اندیس پراکندگی چندگانه

[Polydispersity index (PDI)] و پتانسیل زتا

اندازه ذرات میانگین Z پراکندگی اندازه یا اندیس پراکندگی چندگانه و مقادیر پتانسیل زتای نانولیپوزوم‌های تولید شده با استفاده از آنالیز کننده اندازه ذرات (Zetasizer Nano ZS, Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK) آنالیز شد [۱۹].

۲-۶-۳- فعالیت آنتی باکتریال

فعالیت ضد باکتریایی نانولیپوزوم های تهیه شده با به دست آوردن MIC (حداقل غلظت بازدارنده) نمونه‌ها در برابر رشد باکتری‌های *E. coli* و *L. monocytogenes*، به‌عنوان باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت منتخب، با استفاده از روش رقت میکرو برات ارزیابی شد [۱۸].

۲-۶-۴- شکل شناسی

ریزساختار نانولیپوزوم‌های عطرمايه دارچين انتخاب شده توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM, Hitachi H7500, Japan) آشکار گردید. یک قطره از نمونه روی شبکه (grid) فیلم قرار داده شد و توسط محلول اسید فسفوتنگستیک آبی ۱ درصد رنگ‌آمیزی شد و پس از خشک شدن مشاهده گردید [۱۹].

۲-۶-۵- تلقیح میکروارگانسیم‌ها به گوشت

به‌منظور آغشته کردن نمونه به باکتری نمونه‌های گوشت چرخ شده با *اشرشیا کلی* (حدوداً 10^6) و *لیستریا مونوسیتوژنز* (حدوداً 10^8) تلقیح شدند. نمونه‌های تلقیح شده کاملاً هموژن شدند. تیمارهای مختلف به گوشت چرخ شده اضافه شد و پس از مخلوط نمودن و همگن کردن مجدد، در کیسه‌های نایلونی زیپ‌دار بسته‌بندی و در دمای یخچال (1 ± 4 درجه سلسیوس) نگهداری شد. در روزهای آزمایش طی دوره نگهداری، سه نمونه از هر بخش به‌طور تصادفی انتخاب شد و مورد آزمایش قرار گرفت [۲۰].

۲-۶-۶- ازت فرار تام (TVN)

۱۰ گرم نمونه گوشت چرخ شده را در ست تقطیر پروتین ریخته و ۲ گرم کاتالیزور اکسید منیزیم اضافه کردیم. لوله را در دستگاه تقطیر قرار داده و طبق برنامه حداقل ۹۰ سی‌سی آب مقطر به نمونه اضافه شد و به مدت ۴ دقیقه جوشانده شد. در اثر حرارت ازت آزاد نمونه تقطیر شده و در بشری که محتوی ۶۰ سی‌سی اسید بوریک ۰.۴٪ بود وارد شد و به مدت ۴ دقیقه این عمل ادامه یافت. در اثر تشکیل بورات آمونیوم رنگ سبز حاصل شد. نهایتاً پس از اتمام جوشش نمونه محصول تقطیر با اسیدسولفوریک ۰/۲ نرمال تیترا شد. رنگ سبز بورات آمونیوم زایل شده و رنگ بنفش حاصل گردید. در این مرحله تیتراسیون متوقف می‌شد. مقدار TVN برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ماده غذایی طبق فرمول زیر محاسبه شد [۲۱].

$$\text{TVN (mg/100 g sample)} = (1)$$

$1000 \times 0.14 \times \text{نرمالیتة اسید} \times \text{مقدار اسیدسولفوریک مصرفی}$

۲-۶-۷- اندیس تیوباریتوریک اسید (TBA)

مقدار ۵ گرم از گوشت به همراه ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد در یک بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری توسط همزن برقی به‌طور کامل یکنواخت شده و از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ عبور داده شد. محلول صاف شده دوباره به کمک محلول تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. ۳ میلی‌لیتر از محلول صاف شده به همراه ۳ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۰/۰۲ مولار در یک لوله آزمایش درب دار مخلوط شده و به مدت ۴۵ دقیقه در آون با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از خنک شدن نمونه‌ها، میزان جذب نوری در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد [۲۱].

۲-۶-۸- شمارش کلی باکتری‌ها

برای شمارش باکتری گرم منفی *ای کلای* محیط کشت ائوزین متیلن بلو (Eosin methylene-blue (EMB)) انتخاب گردید. ۳۷ گرم از محیط کشت در یک لیتر آب مقطر حل و جوشانده شد. پس از استریل شدن در اتوکلاو، در دمای ۵۰ تا ۵۵ درجه سلسیوس در پلیت‌ها تقسیم شد. به ازای هر رقت یک پلیت انتخاب شد [۲۲].

۲-۷- تجزیه و تحلیل آماری

در مرحله بررسی ویژگی‌های فرمولاسیون نانولیپوزوم‌های عطرمايه و عصاره دارچین، داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) آنالیز شدند و تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بین میانگین‌ها با استفاده از آزمایش مقایسه‌ای محدود چندگانه Tukey تعیین شدند. در مرحله بررسی اثر افزودن نانولیپوزوم‌ها به گوشت، آزمایش‌ها در قالب آرایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شدند. فاکتورهای آزمایش شامل شش سطح تیمار (تیمارهای A, B, C, D, E و F) و چهار سطح زمان نگهداری (روزهای ۱، ۳، ۶ و ۹) بودند. این رهیافت برای تعیین میزان اثرات فاکتورهای مختلف به کار رفت. جهت مقایسه میانگین‌ها و بررسی اثرات ساده و متقابل فاکتورها از آزمون توکی استفاده شد. نرم‌افزار Minitab V.17 برای تمامی آنالیزهای آماری مورد استفاده قرار گرفت. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ترکیبات اصلی زیست فعال دارچین

قبلی که سینامالدئید را به عنوان ماده اصلی تشکیل دهنده دارچین گزارش کرده بودند، مطابقت خوبی دارد [۱ و ۲۳]. سینامالدئید، یک فنیل پروپانوئید (آلدئید ترپنوئید معطر) با فرمول $C_6H_5CH = CHCHO$ است که مسئول طعم و بوی دارچین است. وانیلین، اتیل وانیلین، α -موورولن، δ -کادینن، ϵ - δ -هیدروکسی فنیل)-۲-بوتانول ترکیبات دیگری بودند که هم در عصاره دارچین و هم در عطرمايه دارچین بیش از ۱ درصد وجود داشت.

ترکیبات زیست فعال اصلی عطرمايه و عصاره دارچین که بیش از ۱ درصد بودند در جدول ۲ فهرست شده است. همانطور که در جدول ۲ مشاهده می شود، در حالی که سینامالدئید ترکیب اصلی عصاره دارچین و عطرمايه است، محتوای آن در عطرمايه حدود ۱/۵ برابر بیشتر از عصاره است. این با مطالعات

Table 2 The main bioactive components of the cinnamon extract and essential oil

Chemical constituents	Retention time (min)	Cinnamon extract (%)	Cinnamon essential oil (%)
2-Ethyl-3-hydroxy-4H-pyran-4-one (Ethyl maltol)	11.21	<1	1.0
Cinnamaldehyde	13.28	33.74	50.95
2-Propenal, 3-phenyl-	15.50	<1	12.15
2H-1-Benzopyran-2-ol	15.59	1.10	<1
2H-1-Benzopyran-2-one	16.73	1.05	<1
Vanillin	16.93	2.80	1.71
Ethyl vanillin	17.08	1.64	1.61
α -Muuroleone	17.9	1.33	1.93
δ -Cadinene (18.47 min, 1.69%)	18.47	1.69	2.11
Para Methoxy Cinnamic aldehyde	19.5	<1	1.36
4-(4-Hydroxyphenyl)-2-butanone	19.82	15.16	3.91
2-Propenal, 3-phenyl-	20.1	<1	1.06
2(3H)-Furanone	22.34	1.55	<1
2H-Pyran-2-one	22.99	4.17	<1
Phenol, 2-pentyl-	25.88	1.05	<1
Benzenamine, 2,6-dimethyl-	26.61	2.04	<1
Heptanone, 6-(dimethylamino)-4,4-diphenyl-	30.76	1.36	<1
Methoxyacetic acid benzyl ester	32.28	1.08	<1
1,3-Diphenyl-1H-pyrazole-4-carboxaldehyde	39.63	1.14	<1
Total		70.9	77.79

Only the compounds with > 1% were reported here in this format: detected chemical constitute (retention time, percentage)

۳-۲- اندازه ذرات، PDI و پتانسیل زتای

اندازه ذرات، PDI و مقادیر پتانسیل زتا نانولیپوزوم های عطرمايه دارچین تهیه شده بر اساس کوسورفکتانت های گلیسرول، تری استین و پروپیلن گلیکول و نانولیپوزوم عصاره دارچین در جدول ۳ ارائه شده است.

نانولیپوزوم تهیه شده

Table 3 Physico-chemical characteristics of the prepared cinnamon essential oil and extract nanoliposomes

Sample	Co-surfactant / surfactant	Z-average (nm)	Mean particle size (nm)	PDI	zeta-potential (mV)
A	Glycerol	523.2	104.6	1.000	-15.8
B	Triacetin	243.0	102.9	0.283	-15.8
C	Propylene glycol	243.7	92.03	0.338	-24.1
F	Tween 80	379.3	167.2	0.540	-7.73

A, B and C: Cinnamon essential oil nanoliposomes

F: Cinnamon extract nanoliposome

باشد که بیشتر از مخلوط کردن ایده آل باعث کاهش سطح هر لیپید می‌شود. همچنین می‌تواند پایداری نانولیپوزوم‌ها را با کاهش نفوذپذیری و ضخیم‌تر کردن غشای محصورکننده آنها افزایش دهد [۱۸ و ۲۷].

گلیسرول و پروپیلن گلیکول ترکیبات مولکولی نسبتاً کوچکی هستند که به ترتیب دارای ۳ و ۲ عدد OH هستند. آنها می‌توانند به داخل وزیکول‌ها نفوذ کنند و بر موقعیت یا جهت زنجیره‌های آسیل لیپیدی دو لایه تأثیر بگذارند. با این حال، تری استین دارای مولکول‌های بزرگ‌تر با ۳ عدد OH است که بیشتر روی سطوح وزیکول باند می‌شوند و بنابراین، برهم‌کنش نانو ذرات (نانوزیکول‌ها) با یکدیگر تأثیر می‌گذارند. به‌عنوان مثال، می‌تواند دافعه فضایی آنها را افزایش دهد و در نتیجه ثبات فیزیکی آنها را افزایش دهد؛ بنابراین، PDI کوچک‌تر نانولیپوزوم‌های تهیه‌شده با استفاده از آن می‌تواند به اثر تثبیت فضایی تری استین مرتبط باشد [۲۸]. از طرف دیگر Tween 80 با تمایل هم چربی‌دوستی و هم آب‌دوستی، ساختار مولکولی نسبی و سه گروه OH و زنجیر آسیل بلند را می‌توان یا در داخل یا مابین لایه‌ها و یا روی سطح گویچه‌ها مکان‌یابی کرد و با اجزای تشکیل‌دهنده لیپوزوم‌ها در راه‌های گوناگون بر همدیگر اثر گذاشته و لیپوزوم‌های هتروژن تولید کند؛ بنابراین، PDI لیپوزوم‌های تهیه‌شده با استفاده از Tween 80 نسبتاً بالا است. ناهمگونی زیاد نمونه‌های آماده‌شده با گلیسرول پیش‌بینی نشده بود. با فرض وقوع خطا در این آزمایش، اندازه‌گیری تکرار شد و دوباره همان نتیجه به دست آمد؛ بنابراین، به نظر می‌رسد که یک برهم‌کنش ناشناخته بین گلیسرول و اجزای لیپوزوم منجر به تولید سیستم‌های لیپوزومی یا میسلی با اندازه‌های مختلف شده است. از آنجایی‌که نمونه‌های با PDI کوچک‌تر در برابر پدیده بی‌ثباتی فیزیکی پایدارتر هستند، می‌توان نتیجه گرفت که تری استین به دلیل ارزش PDI کمتری که دارد می‌تواند نانولیپوزوم‌های پایدارتری تولید کند [۲۸].

مقادیر پتانسیل زتا نانولیپوزوم‌ها نیز با دافعه الکترواستاتیکی بین آنها و در نتیجه پایداری فیزیکی آنها مرتبط است. در نتیجه، نانولیپوزوم‌های با پتانسیل زتای بیشتر به دلیل پایداری فیزیکی بهتر ترجیح داده می‌شوند [۲۸ و ۲۹]؛ بنابراین، همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، نانولیپوزوم‌های فرموله شده پروپیلن گلیکول دارای مقادیر پتانسیل زتا بالاتر و در نتیجه پایدارتر در مقایسه با دیگر نمونه‌ها هستند.

نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهد که نانولیپوزوم عطرمایه دارچین فرموله شده توسط پروپیلن گلیکول به‌عنوان کوسورفکتانت بهترین ویژگی‌ها را از نظر اندازه متوسط ذرات و مقادیر پتانسیل زتا دارد. با این حال، نانولیپوزوم عصاره دارچین حداکثر میانگین اندازه ذرات را داشت. لسیتین با ساختار فسفولیپیدی یک ترکیب آمفی پاتیک است که دارای دو بخش آب‌دوست و آب‌گریز است. در نتیجه، می‌توان آن را به‌عنوان ساختارهای لایه‌ای در سیستم‌های آبی استفاده کرد. بر این اساس، زمانی که دولایه‌های چربی‌دوست هیدراته، مایع و متورم شوند، لیپوزوم‌ها ایجاد می‌شوند. سپس، فرایند هم زدن می‌تواند این لایه‌های هیدراته را تقسیم کند. لایه‌های تقسیم‌شده با یکدیگر جمع می‌شوند و وزیکول‌های دولایه صاف را تشکیل می‌دهند که در مناطق آب‌گریز آنها از تماس با آب جلوگیری می‌کند [۱۸ و ۲۴]. سورفکتانت‌های پلی‌ال هیدروفیل مانند گلیسرول، تری استین و پروپیلن گلیکول، به‌عنوان عوامل هیدروتروپ، می‌توانند راندمان هیدراتاسیون لسیتین و عطرمایه را افزایش دهند. در نتیجه، به‌ویژه اگر لیپوزوم‌ها با روش هیدراتاسیون با لایه‌نازک ساخته شوند، این پلی‌ال‌ها می‌توانند پایداری و راندمان کپسوله‌سازی محصول را بهبود بخشند. علاوه بر این، فرض بر این است که این سورفکتانت‌ها می‌توانند پایداری لیپوزوم‌ها را با بهبود آرایش مولکولی آنها در لایه‌های دوگانه با ایجاد پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های انتهایی قطبی مولکول‌های لسیتین و ایجاد پیوند متقابل آنها افزایش دهند. با این حال، تشکیل مولکول‌های متورم کننده متوالی و همچنین افزایش توانایی تورم لایه‌ها، ذرات بزرگ‌تری را ایجاد می‌کند که در برخی تحقیقات، مانند مطالعه حاضر، اندازه ذرات سیستم با افزایش قطبیت کوسورفکتانت یا محتوای آن افزایش می‌یابد [۱۸ و ۲۵]؛ بنابراین، افزایش میانگین اندازه ذرات سیستم با افزایش قطبیت کوسورفکتانت را می‌توان با عملکرد ذکرشده آنها در دو لایه لسیتین مرتبط دانست. اندازه ذرات کوچک‌تر نانولیپوزوم‌های تهیه‌شده با استفاده از پروپیلن گلیکول به‌عنوان سورفکتانت، به تشکیل پیوندهای آب‌گریز احتمالی بین گروه‌های عاملی چربی‌دوست اجزای عطرمایه، زنجیره‌های آسیل چربی یک فسفولیپید و بخش غیر قطبی پروپیلن گلیکول مربوط می‌شود که می‌تواند باعث کاهش اندازه نانولیپوزوم‌ها شود [۲۶]. علاوه بر این، بخش چربی‌دوست پروپیلن گلیکول می‌تواند اثر تراکمی داشته

۳-۳- شکل شناسی نانولیپوزوم‌های عطرمايه

دارچین

ریزساختار (micro structure) نانولیپوزوم‌های عطرمايه دارچین انتخاب شده توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری آشکار گردید. مورفولوژی نانولیپوزوم‌های عطرمايه دارچین تهیه شده با استفاده از ۰/۵ درصد عطرمايه و پروپیلن گلیکول، به عنوان سورفکتانت، در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که در این شکل به وضوح مشاهده می‌شود، نانولیپوزوم‌های تشکیل شده دارای اندازه‌ای کمتر از ۱۰۰ نانومتر با شکل کروی بودند. نتایج به دست آمده نشان داد که میانگین اندازه‌های ذرات با نتایج تحلیل اندازه ذرات بر اساس DLS مطابقت دارد.

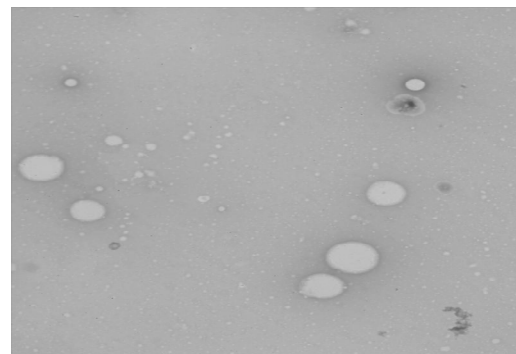


Fig 1 TEM image of the prepared cinnamon essential oil nanoliposomes using propylene glycol as co-surfactant

۳-۴- فعالیت ضد باکتریایی نانولیپوزوم‌های

عطرمايه دارچین منتخب

فعالیت ضد باکتریایی عطرمايه‌ها به ترکیبات فنلی، الکلی، ترپنوئیدی و آلدئیدی فعال آنها مربوط می‌شود. از آنجایی که ترکیب اصلی دارچین سینامالدهید با ساختار آلدئید، فنیل و ترپنوئیدی است، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی از عصاره یا عطرمايه آن پیش‌بینی می‌شود، به ویژه اکثر تحقیقات قبلی تأثیر

بالایی را بین فعالیت ضد باکتریایی مشتقات گیاهی و ترکیبات آلدئیدها و ترپن‌های آنها گزارش کرده‌اند. نتایج پژوهش‌ها نشانگر یک همبستگی مثبت بین ترکیبات فنلی عصاره‌های گیاهی و توانایی‌های باکتری کشی آنها شدند [۳۰].

با توجه به اندازه‌گیری فعالیت ضد باکتریایی نمونه‌ها (جدول ۴)، می‌توان نتیجه گرفت که باکتری *E. coli* نسبت به *L. monocytogenes* به نانولیپوزوم‌های عطرمايه دارچین بسیار حساس‌تر است. طبق پژوهش گوئرا-روزاس و همکاران [۳۱]، عطرمايه‌ها می‌توانند به شدت به غشای سیتوپلاسمی و سیتوپلاسم سلول‌های *E. coli* آسیب رسانده و باعث مرگ سلولی شوند. با این حال، نانولیپوزوم‌های عصاره دارچین می‌توانند رشد *L. monocytogenes* را در مقایسه با *E. coli* به طور مؤثرتری مهار کنند. این مشاهدات را می‌توان با برهمکنش احتمالی ترکیبات فعال چربی‌دوست عطرمايه دارچین مانند ترپنوئیدها و آلدئیدها با لایه لیپیدی غشای سلولی سویه‌های گرم منفی و برهم زدن عملکرد منظم آن توضیح داد. با این حال، اثر ضد باکتریایی کمتر عصاره دارچین در برابر *اشریشیا کلی* می‌تواند مربوط به ترکیبات زیست فعال آب‌دوست آن باشد که میل ترکیبی کمتری برای اتصال به لایه لیپیدی به منظور تداخل در عملکرد طبیعی آن دارند [۳۲]. با کمال تعجب، نانولیپوزوم‌های عطرمايه دارچین با محتویات عطرمايه کمتری نسبت به آنهایی که محتویات عطرمايه بالاتری داشتند، در برابر باکتری *E. coli* MIC کمتری داشتند؛ به عبارت دیگر، عطرمايه دارچین با غلظت کمتر، فعالیت بازدارندگی رشد بیشتری را در برابر باکتری *E. coli* نشان داد. این مشاهدات را می‌توان به مکانیسم‌های مختلف عمل سینامالدهید در برابر باکتری‌ها مرتبط کرد که در آن سیتوکینز را در غلظت کم محدود می‌کند، اما تقسیم سلولی باکتری را در غلظت‌های بالا سرکوب می‌کند [۳۰].

Table 4 The MIC and MBC of the prepared cinnamon essential oil (based on co-surfactant of propylene glycol) and extract nanoliposomes against *E. coli* and *L. monocytogenes*

Sample	Formulation	MIC (ppm)		MBC (ppm)	
		<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Cinnamon essential oil nanoliposomes	C	0.00625	0.0125	0.0125	0.025
	D	0.00312	0.0125	0.00635	0.025
Cinnamon extract nanoliposomes	E	0.00312	0.0125	0.00625	0.025
	F	0.001	0.0125	0.01	0.025
Controls	cinnamon essential oil	0.000195	0.00039	0.000195	0.00039
	cinnamon extract	0.00039	0.00625	0.00039	0.00625

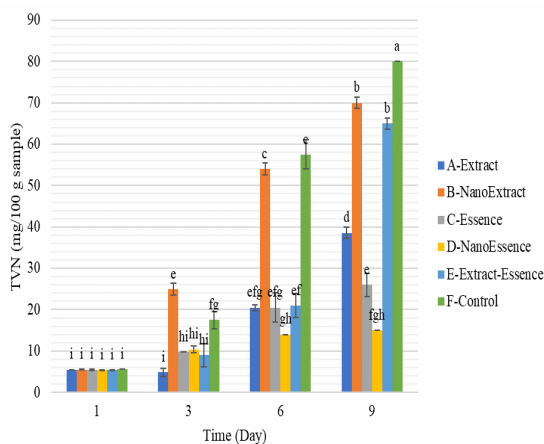


Fig 2 Changes in total volatile base nitrogen of different treatment during storage (*E. coli* inoculated into ground beef)

اثر متقابل تیمار و زمان نگهداری بر ازت فرار تام نمونه‌های گوشت چرخ‌کرده تلقیح شده با لیستریا مونوسیتوژنز معنی‌دار بود ($P < 0.05$). با افزایش زمان نگهداری در هر تیمار میزان ازت فرار تام با گذشت زمان افزایش یافت (شکل ۳). همان‌گونه که از شکل مشخص است بیشترین ازت فرار تام مربوط به نمونه شاهد در روز ۹ و کمترین ازت فرار تام مربوط به تیمار شده با عصاره در روز سوم است.

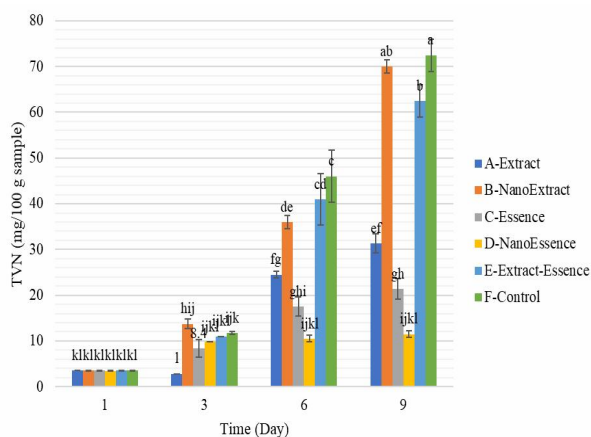


Fig 3 Changes in total volatile base nitrogen of different treatment during storage (*L. monocytogenes* inoculated into ground beef)

TVN یک ملاک مهم در ارزیابی کیفیت گوشت می‌باشد. تخمین نیتروژن فرار به ارزیابی روند فساد کمک می‌کند و افزایش TVN طی نگهداری مرتبط با فعالیت باکتری‌های مولد فساد می‌باشد. از روز صفر تا روز نهم در تمامی تیمارها افزایش معنی‌داری در مقدار TVN وجود داشت و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05$) بین روزهای مختلف آزمایش مشاهده شد که افزایش این شاخص حین نگهداری در

از بین رفتن احتمالی برخی از ترکیبات ترپن و آلدئید و سایر ترکیبات فعال در طول نانوکپسوله شدن آنها در نانولیپوزوم‌ها می‌تواند کاهش فعالیت ضد باکتریایی عطرهای را در حین نانوکپسولاسیون توجیه کند [۳۳]. فعالیت ضد باکتریایی کمتر عطرهای نانولیپوزومی نسبت به عطرهای غیر کپسولی نیز توسط جبرائیلی و همکاران [۱۸] گزارش شده است. با این حال، برخی از تحقیقات قبلی فعالیت ضد باکتریایی طولانی‌مدتی را برای عطرهای نانوکپسوله‌شده در مقایسه با عطرهای با اندازه ماکرو گزارش کردند [۳۰]. طبق مشاهدات آنها، در ابتدای دوره ذخیره‌سازی، فعالیت ضد باکتریایی سینامالدئید با اندازه میکرو بیشتر از نانوذرات سینامالدئید بود. با این حال، در حالی که طی نگهداری، فعالیت ضد باکتریایی هر دو به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافت، در ۱۰ روز نگهداری، فعالیت ضد باکتریایی سینامالدئید در اندازه نانو قوی‌تر از سینامالدئید در اندازه میکرو بود. به نظر می‌رسد طی نگهداری، اجزای فرار نمونه‌ها کاهش می‌یابد، اما میزان کاهش ترکیبات فرار در عطرهای نانوکپسوله‌شده به‌طور قابل‌توجهی کمتر از نمونه‌های دارای عطرهای آزاد بود. در تأیید نتایج این تحقیق، گوئرا-روزاس و همکاران [۳۱] نشان دادند که اثر ضد میکروبی کلی عطرهای بیشتر به نوع ترکیبات فرار بستگی دارد. علاوه بر این، آنها ارتباط مثبتی بین حفظ ترکیبات فرار و فعالیت باکتری کشی عطرهای در اندازه نانو طی نگهداری ۵۶ روزه گزارش کردند. از سوی دیگر، برخی از محققان دیگر مانند جبرائیلی و همکاران [۱۸] افزایش فعالیت ضد باکتریایی را برای عطرهای نانو نسبت به عطرهای کوچک گزارش کردند. آنها معتقدند که نفوذ ترکیبات فعال به سلول پس از کپسوله کردن در لیپوزوم‌ها بهبود می‌یابد؛ اما این نتیجه در مطالعه حاضر به دست نیامد.

۳-۵- ازت فرار تام

اثر متقابل تیمار و زمان نگهداری بر ازت فرار تام نمونه‌های گوشت چرخ‌کرده تلقیح شده با *شرشیا کلی* معنی‌دار بود ($P < 0.05$). با افزایش زمان نگهداری در هر تیمار میزان ازت فرار تام با گذشت زمان افزایش یافت (شکل ۲). همان‌گونه که از شکل مشخص است بیشترین ازت فرار تام مربوط به نمونه شاهد در روز ۹ و کمترین ازت فرار تام مربوط به نمونه‌های روز اول است.

تیوباریتوریک اسید مربوط به نمونه تیمار شده با نانو عصاره در روز سوم است.

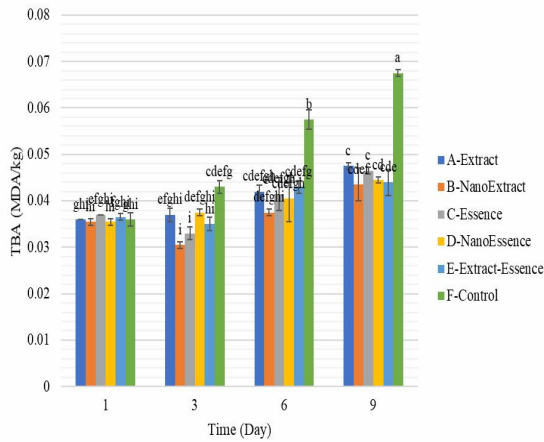


Fig 4 Changes in TBA of different treatment during storage (*E. coli* inoculated into ground beef) اثر متقابل تیمار و زمان نگهداری بر اندیس تیوباریتوریک اسید نمونه‌های گوشت چرخ‌کرده تلقیح شده با لیستریا مونوسیتوژنز معنی‌دار بود ($P < 0.05$). با افزایش زمان نگهداری در هر تیمار میزان اندیس تیوباریتوریک افزایش یافت (شکل ۵). همان‌گونه که از شکل مشخص است بیشترین اندیس تیوباریتوریک اسید مربوط به نمونه شاهد در روز ۹ و کمترین اندیس تیوباریتوریک اسید مربوط به نمونه‌های روز اول است.

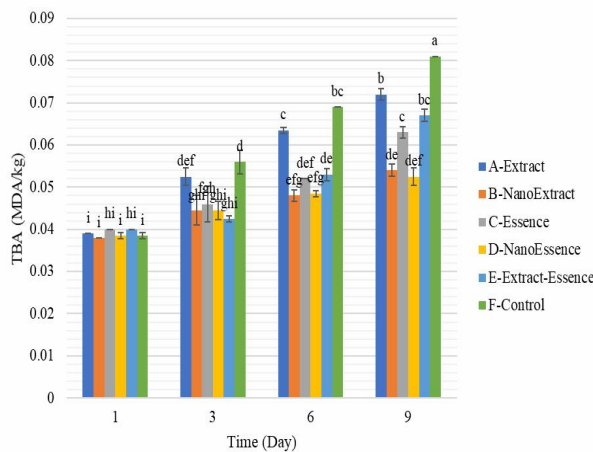


Fig 5 Changes in TBA of different treatment during storage (*L. monocytogenes* inoculated into ground beef)

تندی اکسیداتیو یکی از خصوصیات مهم ارگانولپتیکی برای تائید یا رد کیفیت نگهداری گوشت برای زمان‌های طولانی می‌باشد. TBA اندیسی برای درجه اکسیداسیون ثانویه چربی که با وسواس مورد استفاده قرار می‌گیرد و به دلیل تولید ماده

دهای یخچال احتمالاً در نتیجه دامیلاسیون اسیدهای آمینه نیز می‌تواند باشد.

بازهای نیتروژنی فرار از تجزیه ترکیبات نیتروژنی پروتئینی و غیر پروتئینی که عمدتاً نتیجه فعالیت میکروبی است تولید می‌شوند. این ترکیبات به‌طور گسترده برای ارزیابی کیفیت گوشت استفاده می‌شوند. میزان بازهای ازته فرار ۲۵-۳۵ میلی‌گرم بر صد گرم به‌عنوان محدوده بحرانی پذیرش تعیین شده است [۳۴]. درصد زیادی از بازهای ازته فرار محصول کاتابولیس میکروبی هستند [۳۵]. کم‌تر بودن مقادیر بازهای ازته فرار در نمونه تیمار شده نسبت به نمونه شاهد به دلیل حضور ترکیبات فنولی موجود می‌باشد که نقش بازدارندگی در برابر میکروارگانیسم‌ها به‌خصوص میکروارگانیسم‌های عامل فساد دارد. بصیری و همکاران [۳۶] نتایج مشابهی را در رابطه با اثر عصاره پوست انار روی بازهای ازته فرار موجود در میگو در طی نگهداری در یخچال به دست آوردند. مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) یکی از شاخص‌های اصلی بیان‌کننده کیفیت غذاهای گوشتی و یکی از نشانگرهای اصلی تخریب و تجزیه گوشت محسوب می‌شود که متشکل از تری متیل آمین، دی متیل آمین، آمونیاک و سایر ترکیبات نیتروژنی فرار مرتبط با فساد غذاهای گوشتی می‌باشد که توسط باکتری‌های مولد فساد، آنزیم‌های اتولیتیک، دامیناسیون اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدها تولید می‌شود که غالباً توسط فعالیت میکروارگانیسم‌ها و به میزان کمتر توسط آنزیم‌های اتولیتیک انجام می‌شود [۳۷ و ۳۸]. در مجموع تمامی تیمارها با افزایش زمان، میزان بازهای نیتروژنی فرار افزایش یافت. افزایش میزان بازهای نیتروژنی فرار در گوشت ممکن است به دلیل فرایندهای آنزیمی مختلف نظیر آمین‌زدایی اسیدهای آمینه آزاد، تجزیه نوکلئوتیدها و اکسیداسیون آمین‌ها باشد [۳۹].

۳-۶- اندیس تیوباریتوریک اسید

اثر متقابل تیمار و زمان نگهداری بر اندیس تیوباریتوریک اسید نمونه‌های گوشت چرخ‌کرده تلقیح شده با/شرشیا کلی معنی‌دار بود ($P < 0.05$). با افزایش زمان نگهداری در هر تیمار به‌جز شاهد میزان اندیس تیوباریتوریک اسید تا روز سوم اندکی کاهش یافت و پس از آن افزایش یافت (شکل ۴). همان‌گونه که از شکل مشخص است بیشترین اندیس تیوباریتوریک اسید مربوط به نمونه شاهد در روز ۹ و کمترین اندیس

به‌طورکلی میزان تیوباریوتیک اسید ۲ میلی‌گرم مالون دی آلدئید/گرم گوشت به‌عنوان محدودیت مصرف در نظر گرفته می‌شود و آن زمانی است که بوی فساد در گوشت قابل کشف خواهد بود [۴۵]. نتایج مطالعه حاضر با نتایج رشدیابی و همکاران [۴۴] در ارتباط با افزودن عصاره رزماری بر مقادیر تیوباریوتیک گوشت گاو هم‌خوانی دارد. آنها نیز اعلام نمودند افزایش غلظت عصاره سبب کند شدن تغییرات عدد تیوباریوتیک اسید طی دوره نگهداری می‌شود.

۳-۷- شمارش کلی باکتری‌ها

اثر متقابل تیمار و زمان نگهداری بر شمارش کلی باکتری‌ها نمونه‌های گوشت چرخ‌کرده تلقیح شده با *شرشیا کلی* معنی‌دار بود ($P < 0.05$). با افزایش زمان نگهداری در هر تیمار میزان شمارش کلی باکتری‌ها افزایش یافت (شکل ۶). همان‌گونه که از شکل مشخص است بیشترین شمارش کلی باکتری‌ها مربوط به نمونه شاهد در روز ۹ و کمترین شمارش کلی باکتری‌ها مربوط به نمونه‌ها در روز سوم است.

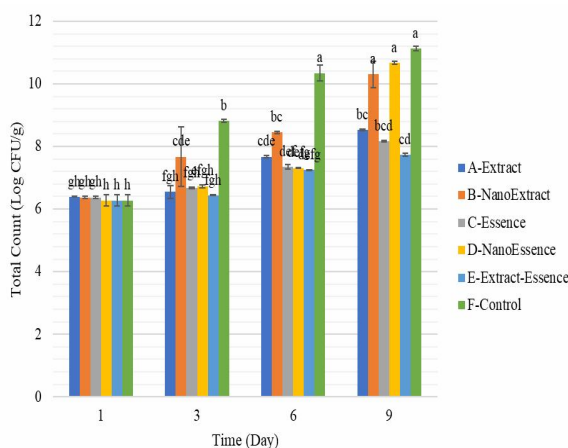


Fig 6 Changes in total count of different treatment during storage (*E. coli* inoculated into ground beef) اثر متقابل تیمار و زمان نگهداری بر شمارش کلی باکتری‌ها نمونه‌های گوشت چرخ‌کرده تلقیح شده با لیستریا مونوسایتوزنز معنی‌دار بود ($P < 0.05$). با افزایش زمان نگهداری در هر تیمار میزان شمارش کلی باکتری‌ها افزایش یافت (شکل ۷). همان‌گونه که از شکل مشخص است بیشترین شمارش کلی باکتری‌ها مربوط به نمونه شاهد در روز ۹ و کمترین شمارش کلی باکتری‌ها مربوط به نمونه‌ها در روز سوم است.

واکنش‌دهنده تیوباریوتوریک اسید (TBARS) طی اتواکسیداسیون در فاز دوم می‌باشد که پراکسیدها به آلدئید، کتون و لاکتون اکسیده می‌شوند. وجود این ترکیبات در گوشت چرخ‌کرده تغییراتی در خصوصیات حسی مانند بو و طعم ایجاد می‌کند. افزایش TBA طی نگهداری منتج از تبدیل پراکسیدها به موادی مانند آلدئید و افزایش TBA طی ماندن در یخچال نیز ممکن است به دلیل دهیدروژناسیون گوشت چرخ‌کرده و افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب باشد. از روز صفر تا روز نهم در تمامی تیمارها افزایش معنی‌داری در مقدار TBA وجود داشت و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) بین روزهای مختلف آزمایش مشاهده شد.

کمتر بودن اندیس تیوباریوتوریک اسید نمونه تیمار شده نسبت به نمونه شاهد می‌تواند به دلیل مقادیر زیاد ترکیبات فنولی موجود باشد که باعث ایجاد توانایی آنتی‌اکسیدانی قوی می‌شود. آستانه حسی پذیرفته‌شده برای تیوباریوتوریک اسید 1 mg/kg می‌باشد [۴۰]؛ بنابراین مقدار تیوباریوتوریک اسید بعد از ۹ روز نگهداری حتی برای نمونه شاهد در انتهای دوره نگهداری کمتر از حد قابل‌پذیرش بود. نتایج به‌دست‌آمده در این آزمایش با نتایج بازرگانی گیلانی و همکاران [۴۱] مطابقت داشت. آن‌ها اثر آب انار را بر روی نگهداری مرغ در یخچال بررسی کردند و بیان کردند که مقادیر زیاد ترکیبات فنولی موجود در آب انار باعث ایجاد قدرت آنتی‌اکسیدانی بالا می‌شود. کیم و همکاران [۴۲] نیز نتایج مشابهی را در رابطه با اثر سیر روی گوشت خوک به دست آوردند. آن‌ها مشاهده کردند که نمونه‌های حاوی سیر اندیس تیوباریوتوریک کمتری نسبت به نمونه شاهد طی نگهداری نشان دادند.

در مرحله دوم اتواکسیداسیون که هیدرو پراکسیدها به آلدئیدها و کتون‌ها اکسید می‌شوند، مالون دی آلدئید تشکیل می‌شود. محصولات ثانویه اکسیداسیون سبب ایجاد طعم و بوی نامطلوب در محصول می‌شوند. عدد تیوباریوتیک اسید یکی از قدیمی‌ترین روش‌ها برای اندازه‌گیری محصولات ثانویه اکسیداسیون در فرآورده‌های گوشتی و دریایی می‌باشد [۴۳]. با افزایش زمان مقادیر تیوباریوتیک اسید در تمامی تیمارها افزایش یافت. روند افزایشی این شاخص به دلیل افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان‌ها در گوشت و همچنین تولید آلدئیدها از محصولات ثانویه حاصل از شکست هیدروپراکسیدها است [۴۴].

۵- نتیجه گیری کلی

نانولیپوزوم‌های عطرمايه و عصاره دارچین با استفاده از روش هیدراتاسیون لایه نازک- فراصوت با استفاده از لسیتین و سه کوسورفکتانت مختلف به نام‌های گلیسرول، تری استین و پروپیلن گلیکول و Tween 80 به‌عنوان سورفکتانت تهیه شدند. نتایج نشان داد که پروپیلن گلیکول منجر به تولید نانولیپوزوم‌هایی با کوچک‌ترین میانگین اندازه ذرات کروی شکل (۹۲/۰۳ نانومتر) و بیشترین مقدار پتانسیل خالص زتا (۲۴/۱- میلی‌ولت) شد و به‌عنوان کوسورفکتانت مناسب‌تر انتخاب شد. فعالیت ضد باکتریایی عطرمايه و عصاره دارچین بیشتر از آنهایی بود که در نانولیپوزوم‌ها محصور شده بودند، هم عطرمايه دارچین و هم نانولیپوزوم‌های عصاره فعالیت ضد باکتریایی بالایی در برابر باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز* نشان دادند. به‌منظور مطالعه اثر دارچین در افزایش عمر ماندگاری گوشت چرخ شده، اثر تیمارهای مختلف عصاره، نانو عصاره، عطرمايه، نانو عطرمايه و عصاره به همراه عطرمايه بر ویژگی‌های مختلف گوشت چرخ شده (pH، مقادیر تیویاریتوریک اسید و بازهای نیتروژنی فرار) و همچنین اثر این تیمارها در کنترل جمعیت میکروبی *اشریشیا کلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز* تلقیح شده در گوشت چرخ شده بررسی شدند. نتایج نشان داد که عصاره دارچین دارای خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی بوده و نانوکپسوله کردن عصاره سبب افزایش ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن می‌شود. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر می‌توان از عصاره دارچین نانولیپوزومی برای افزایش ماندگاری گوشت چرخ‌کرده بدون ایجاد اثر نامطلوب و از نظر پایداری اکسیداتیو و فساد میکروبی کم استفاده کرد.

۶- منابع

- [1] Yu, T., Yao, H., Qi, S., & Wang, J. (2020). GC-MS analysis of volatiles in cinnamon essential oil extracted by different methods. *Grasas y Aceites*, 71(3), e372-e372.
- [2] Bouhdid, S., Abrini, J., Zhiri, A., Espuny, M. J., & Manresa, A. (2009). Investigation of functional and morphological changes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cells induced by

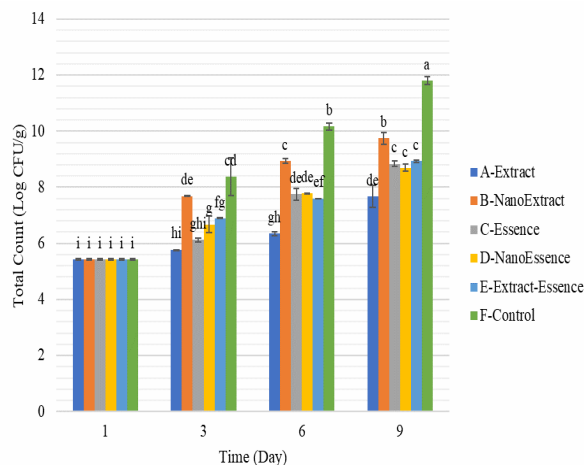


Fig 7 Changes in total count of different treatment during storage (*L. monocytogenes* inoculated into ground beef)

از نتایج حاصل از آنالیز میکروبی نمونه می‌توان نتیجه گرفت فعالیت ضد میکروبی که در نمونه‌های تیمار شده مشاهده شد مربوط به ترکیبات فنولی و فلاونوئیدهای موجود می‌باشد. فعالیت ضد میکروبی ترکیبات فنولی به چند عامل وابسته می‌باشد. نوع میکروارگانیسم و ساختار دیواره سلولی آن نقش مهمی را ایفا می‌کند. ترکیبات فنولی می‌توانند آنزیم‌ها را دناتوره کنند و همچنین می‌توانند با سوبستراهایی مانند مواد معدنی، ویتامین‌ها و کربوهیدرات‌ها اتصال برقرار کنند و آنها را از دسترس میکروارگانیسم‌ها خارج کنند [۴۶-۴۸]. بازرگانی گیلانی و همکاران [۴۱] نتایج مشابهی را در رابطه با اثر ترکیبات فنولی آب انار بر بازدارندگی رشد باکتری‌های سایکروتروف مشاهده کردند. داهام و همکاران [۴۹] اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی انار را مورد بررسی قرار دادند آن‌ها گزارش کردند اثر ضد میکروبی انار به دلیل حضور پلی‌فنول‌ها (حاوی چندین گروه هیدروکسیل)، پلی‌تانن‌ها و فلاونوئیدها (فلاونول‌ها، فلاوانول‌ها و آنتوسیانین‌ها) می‌باشد. در مطالعه‌ای دیگر نیز رشد چندین گونه از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا گرم مثبت مانند *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استریتوکوکوس موتانس* و باکتری‌های گرم منفی مانند *اشریشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* به‌وسیله انواع گردو مهار شد [۵۰]. همچنین مطالعات نشان داده است که بسیاری از گونه‌های باکتریایی گرم مثبت و گرم منفی می‌توانند با سیر و بعضی از سویه‌ها نیز به میزان قابل‌توجهی توسط عصاره آلیسین مهار شوند [۵۱].

- developing countries. *Indian Journal of Natural Sciences*, 10(60), 20412-20417.
- [13] Adarsh, A., Chettiyar, B., Kanthesh, B., & Raghu, N. (2020). Phytochemical screening and antimicrobial activity of "Cinnamon zeylanicum". *Int. J. Pharm. Res. Innov*, 13, 22-33.
- [14] Mehdizadeh, A., Shahidi, S. A., Shariatifar, N., Shiran, M., & Ghorbani-HasanSarai, A. (2022). Physicochemical characteristics and antioxidant activity of the chitosan/zein films incorporated with *Pulicaria gnaphalodes* L. extract-loaded nanoliposomes. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(2), 1252-1262.
- [15] Azarashkan, Z., Motamedzadegan, A., Ghorbani-HasanSarai, A., Rahaiee, S., & Biparva, P. (2022). Improvement of the Stability and Release of Sulforaphane-enriched Broccoli Sprout Extract Nanoliposomes by Co-encapsulation into Basil Seed Gum. *Food and Bioprocess Technology*, 1-15.
- [16] Azarashkan, Z., Motamedzadegan, A., Ghorbani-HasanSarai, A., Biparva, P., & Rahaiee, S. (2022). Investigation of the physicochemical, antioxidant, rheological, and sensory properties of ricotta cheese enriched with free and nano-encapsulated broccoli sprout extract. *Food Science & Nutrition*, 10(11), 4059-4072.
- [17] Emami, S., Ahmadi, M., Nasiraie, L. R., Shahidi, S. A., & Jafarizadeh-Malmiri, H. (2022). Cinnamon extract and its essential oil nanoliposomes-preparation, characterization and bactericidal activity assessment. *Biologia*, 77(10), 3015-3025.
- [18] Jabraeili, S., Mirzaei, H., Anarjan, N., Javadi, A., & Behnajady, M. A. (2022). Nanoliposomal thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil: Effects of formulation parameters. *Food Science and Technology International*, 28(3), 257-272.
- [19] Firoozi, M., Rezapour-Jahani, S., Shahvegharasl, Z., & Anarjan, N. (2020). Ginger essential oil nanoemulsions: Preparation and physicochemical characterization and antibacterial activities evaluation. *Journal of Food Process Engineering*, 43(8), e13434.
- [20] Solomakos, N., Govaris, A., Koidis, P., & Botsoglou, N. (2008). The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli* O157: *Origanum compactum* essential oil. *Journal of applied microbiology*, 106(5), 1558-1568.
- [3] Toldrá, F. (Ed.). (2022). *Lawrie's meat science*. Woodhead Publishing.
- [4] Dave, D., & Ghaly, A. E. (2011). Meat spoilage mechanisms and preservation techniques: a critical review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 6(4), 486-510.
- [5] Hui, Y. H. (Ed.). (2012). *Handbook of meat and meat processing*. CRC press.
- [6] Hanlon, K. E., Miller, M. F., Guillen, L. M., Echeverry, A., Dormedy, E., Cemo, B., ... & Brashears, M. M. (2018). Presence of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157 on the hide, and presence of *Salmonella*, *Escherichia coli* O157 and *Campylobacter* in feces from small-ruminant (goat and lamb) samples collected in the United States, Bahamas and Mexico. *Meat science*, 135, 1-5.
- [7] Fröder, H., Martins, C. G., De Souza, K. L. O., Landgraf, M., Franco, B. D., & Destro, M. T. (2007). Minimally processed vegetable salads: microbial quality evaluation. *Journal of food protection*, 70(5), 1277-1280.
- [8] Park, M. S., Kim, Y. S., Lee, S. H., Kim, S. H., Park, K. H., & Bahk, G. J. (2015). Estimating the burden of foodborne disease, South Korea, 2008–2012. *Foodborne Pathogens and Disease*, 12(3), 207-213.
- [9] Omar, M. A., Al-Aboudy, M. S., Abosheba, F., & Elzwawi, S. (2017). Prevalence of parasitic contamination of leafy green vegetables in misurata, Libya. *Российский паразитологический журнал*, (2 (40)), 197-204.
- [10] Noorlis, A., Ghazali, F. M., Cheah, Y. K., Tuan Zainazor, T. C., Ponniah, J., Tunung, R., ... & Son, R. (2011). Prevalence and quantification of *Vibrio* species and *Vibrio parahaemolyticus* in freshwater fish at hypermarket level. *International Food Research Journal*, 18(2).
- [11] Gormley, F. J., Little, C. L., Grant, K. A., De Pinna, E., & McLauchlin, J. (2010). The microbiological safety of ready-to-eat specialty meats from markets and specialty food shops: A UK wide study with a focus on *Salmonella* and *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, 27(2), 243-249.
- [12] Banerjee, P., Maitra, S., & Banerjee, P. (2020). The role of small millets as functional food to combat malnutrition in

- [30] Yang, K., Liu, A., Hu, A., Li, J., Zen, Z., Liu, Y., ... & Li, C. (2021). Preparation and characterization of cinnamon essential oil nanocapsules and comparison of volatile components and antibacterial ability of cinnamon essential oil before and after encapsulation. *Food Control*, 123, 107783.
- [31] Guerra-Rosas, M. I., Morales-Castro, J., Cubero-Márquez, M. A., Salvia-Trujillo, L., & Martín-Belloso, O. (2017). Antimicrobial activity of nanoemulsions containing essential oils and high methoxyl pectin during long-term storage. *Food Control*, 77, 131-138.
- [32] Arjabi, A., Anarjan, N., & Jafarizadeh Malmiri, H. (2021). Effects of extracting solvent composition on antioxidant and antibacterial activities of Alhagi maurorum extracts. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(3), e15300.
- [33] Bagheri, L., Khodaei, N., Salmieri, S., Karboune, S., & Lacroix, M. (2020). Correlation between chemical composition and antimicrobial properties of essential oils against most common food pathogens and spoilers: in-vitro efficacy and predictive modelling. *Microbial pathogenesis*, 147, 104212.
- [34] Gokoglu, N., Topuz, O. K., & Yerlikaya, P. (2009). Effects of pomegranate sauce on quality of marinated anchovy during refrigerated storage. *LWT-Food Science and Technology*, 42(1), 113-118.
- [35] Hernández, M. D., López, M. B., Álvarez, A., Ferrandini, E., García, B. G., & Garrido, M. D. (2009). Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. *Food chemistry*, 114(1), 237-245.
- [36] Basiri, S., Shekarforoush, S. S., Aminlari, M., & Akbari, S. (2015). The effect of pomegranate peel extract (PPE) on the polyphenol oxidase (PPO) and quality of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during refrigerated storage. *LWT-Food Science and Technology*, 60(2), 1025-1033.
- [37] Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food chemistry*, 120(1), 193-198.
- [38] Yuan, G., Lv, H., Yang, B., Chen, X., & Sun, H. (2015). Physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of H7 in minced beef during refrigerated storage. *Meat science*, 80(2), 159-166.
- [21] Khademi, F., Raeisi, S. N., Younesi, M., Motamedzadegan, A., Rabiei, K., Shojaei, M., ... & Falsafi, M. (2022). Effect of probiotic bacteria on physicochemical, microbiological, textural, sensory properties and fatty acid profile of sour cream. *Food and Chemical Toxicology*, 166, 113244.
- [22] Davarnia, B., Shahidi, S. A., Karimi-Maleh, H., Ghorbani-HasanSaraei, A., & Karimi, F. (2020). Biosynthesis of Ag Nanoparticle by Peganum Harmala Extract; Antimicrobial Activity and Ability for Fabrication of Quercetin Food Electrochemical Sensor. *Int. J. Electrochem. Sci*, 15, 2549-2560.
- [23] Li, Y. Q., Kong, D. X., & Wu, H. (2013). Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC-MS and FTIR spectroscopy. *Industrial Crops and Products*, 41, 269-278.
- [24] Anwekar, H., Patel, S., & Singhai, A. K. (2011). Liposome-as drug carriers. *International journal of pharmacy & life sciences*, 2(7).
- [25] Buckingham, J. H., & Staehelin, L. A. (1969). The effect of glycerol on the structure of lecithin membranes; a study by freeze-etching and X-ray diffraction. *Journal of Microscopy*, 90(2), 83-106.
- [26] Rafiee, Z., Barzegar, M., Sahari, M. A., & Maherani, B. (2017). Nanoliposomal carriers for improvement the bioavailability of high-valued phenolic compounds of pistachio green hull extract. *Food chemistry*, 220, 115-122.
- [27] Pezeshky, A., Ghanbarzadeh, B., Hamishehkar, H., Moghadam, M., & Babazadeh, A. (2016). Vitamin A palmitate-bearing nanoliposomes: Preparation and characterization. *Food Bioscience*, 13, 49-55.
- [28] Anarjan, N., Tan, C. P., Nehdi, I. A., & Ling, T. C. (2012). Colloidal astaxanthin: Preparation, characterisation and bioavailability evaluation. *Food chemistry*, 135(3), 1303-1309.
- [29] Ahmadi, O., & Jafarizadeh-Malmiri, H. (2021). Intensification and optimization of the process for thyme oil in water nanoemulsions preparation using subcritical water and xanthan gum. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, 235(5), 629-648.

- [45] Campo, M. M., Nute, G. R., Hughes, S. I., Enser, M., Wood, J. D., & Richardson, R. I. (2006). Flavour perception of oxidation in beef. *Meat Science*, 72(2), 303-311.
- [46] Abdi, R., Ghorbani-HasanSaraei, A., Karimi-Maleh, H., Raeisi, S. N., & Karimi, F. (2020). Determining caffeic acid in food samples using a voltammetric sensor amplified by Fe₃O₄ nanoparticles and room temperature ionic liquid. *Int. J. Electrochem. Sci*, 15, 2539-2548.
- [47] Hayrapetyan, H., Hazeleger, W. C., & Beumer, R. R. (2012). Inhibition of *Listeria monocytogenes* by pomegranate (*Punica granatum*) peel extract in meat paté at different temperatures. *Food Control*, 23(1), 66-72.
- [48] Abdi, R., Ghorbani-HasanSaraei, A., Naghizadeh Raeisi, S., & Karimi, F. (2020). A gallic acid food electrochemical sensor based on amplification of paste electrode by Cdo/CNTs nanocomposite and ionic liquid. *Journal of Medicinal and Chemical Sciences*, 3(4), 338-344.
- [49] Dahham, S. S., Ali, M. N., Tabassum, H., & Khan, M. (2010). Studies on antibacterial and antifungal activity of pomegranate (*Punica granatum* L.). *Am. Eurasian J. Agric. Environ. Sci*, 9(3), 273-281.
- [50] Simsek, M., Uguz, M. T., Gul, M. K. E. A., Karakoc, S., & Digrak, M. (2011). Selection studies on high quality walnut types and their antibacterial properties. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(14), 3269-3275.
- [51] Wilson, E. A., & Demmig-Adams, B. (2007). Antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties of garlic and onions. *Nutrition & food science*. 37(3), 178-183
- chitosan films containing carvacrol and pomegranate peel extract. *Molecules*, 20(6), 11034-11045.
- [39] Valipour Kootenaie, F., Ariaii, P., Khademi Shurmasti, D., & 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] Vaithyanathan, S., Naveena, B. M., Muthukumar, M., Girish, P. S., & Kondaiah, N. (2011). Effect of dipping in pomegranate (*Punica granatum*) fruit juice phenolic solution on the shelf life of chicken meat under refrigerated storage (4 C). *Meat science*, 88(3), 409-414.
- [41] Bazargani-Gilani, B., Aliakbarlu, J., & Tajik, H. (2015). Effect of pomegranate juice dipping and chitosan coating enriched with *Zataria multiflora* Boiss essential oil on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. *Innovative food science & emerging technologies*, 29, 280-287.
- [42] Kim, Y. J., Jin, S. K., Park, W. Y., Kim, B. W., Joo, S. T., & Yang, H. S. (2010). The effect of garlic or onion marinade on the lipid oxidation and meat quality of pork during cold storage. *Journal of Food Quality*, 33, 171-185.
- [43] Moawad, R. K., Abozeid, W. M., & Nadir, A. S. (2012). Effect of nitrite level and tea catechins on residual nitrite and quality indices of raw-cured sausages. *Journal of Applied Sciences Research*, 8(2), 815-822.
- [44] Rashidaie Abandansarie, S. S., Ariaii, P., & Charmchian Langerodi, M. (2019). Effects of encapsulated rosemary extract on oxidative and microbiological stability of beef meat during refrigerated storage. *Food science & nutrition*, 7(12), 3969-3978.



The effect of free and encapsulated essential oil and extract of cinnamon with nanoliposome on *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* inoculated into ground beef

Emami, Sh. ¹, Ahmadi, M. ^{2*}, Roozbeh Nasiraie, L. ³, Shahidi, S. A. ⁴,
Jafarizadeh-Malmiri, H. ⁵

1. Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

2. Associate Professor, Department of Food Hygiene, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

3. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Nour Branch, Islamic Azad University, Nour, Iran.

4. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

5. Associate Professor, Department of Food Engineering, Faculty of Chemical Engineering, Sahand University of Technology, Tabriz, East Azarbaijan, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/12/13

Accepted 2023/01/23

Keywords:

Antibacterial activity,
Antioxidant activity,
Cinnamon,
Essential oil,
Nanoliposomes.

DOI: 10.22034/FSC.19.133.1

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.133.1.6

*Corresponding Author E-Mail:
drahmady@gmail.com

ABSTRACT

The cinnamon essential oil and extract nanoliposomes were prepared through thin layer hydration-ultrasonication technique, using lecithin and three different co-surfactants namely, glycerol, triacetin and propylene glycol, and Tween 80 as surfactant. Results showed that the propylene glycol led to production of the nanoliposomes with the smallest mean particle size (92.03 nm) with spherical-shaped and the greatest net-zeta potential value (-24.1 mV) and was selected as more suitable cosurfactant. Although antibacterial activity of cinnamon essential oil and extract were greater than those were encapsulated into nanoliposomes, both cinnamon essential oil and extract nanoliposomes exhibited high antibacterial activities against *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* bacteria strains. Results indicated that based on the minimum inhibitory and bactericidal concentrations of the prepared samples, *L. monocytogenes* had higher resistance to the prepared cinnamon nanoliposomes. Then, six treatments including control, extract, nano-extract, essential oil, nano-essential oil and extract- essential oil were used for investigate the effect of cinnamon extract on shelf life of ground beef. Chemical (pH, TBA and TVN) and microbial parameters were detected periodically, as well as the effect of different treatments on ground beef inoculated with *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* were examined. The results showed that the extract has an antimicrobial and antioxidant properties and the nanoencapsulation process enhances the attributes mentioned, so that bacterial spoilage and oxidation process delayed in the ground meet contains nano-extract ($p < 0.05$). The highest value of pH (6.58), TBA (0.081MDA/kg) and TVB-N (72.5mg/100g) in the control treatment on the 9th day was observed. While, the value of pH (6.09), TBA (0.002MDA/kg) and TVB-N (11.5mg/100g) was detected on the 9th day in the nanoencapsulated essence. According to the results obtained in present study nano-liposomal cinnamon extract can be used for extending shelf-life ground beef without causing undesirable effect in terms of oxidative stability and low microbial spoilage.