



## تأثیر فرم آزاد و ریزپوشانی با نانولیپوزوم عصاره گیاهان برگ‌بو و رزماری بر رفتار برخی از

### شاخص‌های شیمیایی مواد فساد در ماهی کپور نقره‌ای نگهداری شده در دمای یخچال

جلال اعلا<sup>۱</sup>، محمد احمدی<sup>۲\*</sup>، لیلا گلستان<sup>۳</sup>، سید احمد شهیدی<sup>۴</sup>، نبی شریعتی<sup>۵</sup> فر

۱- دانشجوی دکترا، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد آیت ... املی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

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

۳- استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد آیت ... املی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

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

۵- دانشیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

#### چکیده

#### اطلاعات مقاله

#### تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۰۳

#### کلمات کلیدی:

خواص آنتی‌اکسیدانی،

شاخص‌ها شیمیایی،

گیاه برگ‌بو،

گیاه رزماری،

لیپوزوم،

ماهی کپور نقره‌ای.

در این مطالعه تأثیر عصاره گیاهان برگ‌بو و رزماری به دو فرم آزاد و ریزپوشانی شده با لیپوزوم، بر شاخص‌های شیمیایی مولد فساد (TVB-N و TBA) در ماهی کپور نقره‌ای چرخ‌کرده، مورد بررسی قرار گرفت. پس از استخراج، عصاره‌ها از نظر ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی مورد ارزیابی قرار گرفتند. تیمارهای مورد بررسی در ماهی کپور نقره‌ای چرخ‌کرده شامل تیمار شاهد، تیمارهای حاوی ۱ و ۱/۵ درصد از عصاره آزاد گیاهان برگ‌بو و رزماری و تیمارهای حاوی ۱ و ۱/۵ درصد از عصاره‌های ریزپوشانی شده با لیپوزوم بوده که در دمای یخچال و در زمان‌های صفر، ۴، ۸ و ۱۲ روز با ۳ تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در عصاره رزماری مطلوب‌تر از برگ‌بو بوده است. میزان ترکیبات فنلی در عصاره رزماری ۳۴۴/۶۶ و در عصاره برگ‌بو ۲۵۷/۶۶ میلی‌گرم اسید گالیک/ گرم عصاره بود. همچنین میزان ترکیبات فلاونوئیدی در عصاره رزماری ۲۴۵/۳۳ و در عصاره برگ‌بو ۱۵۱/۲۶ میلی‌گرم روتین/ گرم عصاره بود. نتایج تغییرات شیمیایی در ماهی کپور نقره‌ای چرخ‌کرده، نشان داد که با افزایش زمان نگهداری ماهی در دمای یخچال، پارامترهای مذکور افزایش یافته ولی باین وجود، در تیمار حاوی فرم ریزپوشانی شده دو گیاه برگ‌بو و رزماری (غلظت ۱/۵ درصد)، تغییرات به‌طور معنی‌داری کندتر از سایر تیمارها بوده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که به‌طور کلی افزودن عصاره گیاهان برگ‌بو و رزماری در غلظت ۱/۵ درصد، باعث حفظ کیفیت ماهی کپور نقره‌ای از لحاظ شاخص‌های کیفی شیمیایی می‌شود.

DOI: 10.22034/FSCT.19.131.275

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.22.3

\* مسئول مکاتبات:

drahmady@gmail.com

## ۱- مقدمه

محصولات شیلاتی منبع پروتئینی با ارزشی برای انسان‌ها می‌باشند و در یک رژیم غذایی سالم نقش مهمی را ایفا می‌کنند [۱]. ماهیان حاوی مقدار زیادی از ترکیبات مهم همچون ترکیبات مغذی، ویتامین‌های محلول در چربی (A, D, E, Ca, Fe, I, Zn) و اسیدهای چرب چند غیراشباع می‌باشند [۲]. این امر سبب شده که استفاده انسانی از اغلب منابع شیلاتی توسعه یابد. استفاده از ماهی و سایر گونه‌های دریایی برای تولید فرآورده‌هایی با اهمیت اقتصادی زیاد در بسیاری از کشورها رواج یافته است [۳-۵].

صنعت فرآوری محصولات غذایی در جهت یافتن روش‌های اصلاح‌شده‌ای برای افزایش عمر و ماندگاری آن‌ها می‌باشد که ازجمله‌ی آن می‌توان به کنترل درجه حرارت و کاهش آن، بسته‌بندی تحت خلأ، بسته‌بندی در اتمسفر اصلاح‌شده و همچنین افزودن آنتی‌اکسیدان اشاره نمود [۶]. مطالعات متعددی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی باکتریایی عصاره‌های گیاهی بر ضد فسادهای غذایی به اثبات رسانده است که موجب افزایش عمر ماندگاری مواد غذایی می‌گردد [۵، ۷ و ۸]. محصولات دریایی باوجودآنکه جز مواد غذایی حیوانی هستند، ولی از نظر ترکیب چربی با سایر مواد حیوانی متفاوت‌اند. چربی موجود در مواد غذایی حیوانی به‌طور عمده حاوی ترکیباتی به نام اسیدهای چرب اشباع‌شده هستند که این ترکیبات موجب بالا بردن کلسترول و سایر چربی‌های نامطلوب خون می‌شوند. برخلاف خیلی از منابع گیاهی که حاوی مقادیر زیادی اسید لینولئیک از خانواده امگا-۶ می‌باشند، روغن ماهی دارای دسته‌ای از اسیدهای چرب است که در گیاهان، حبوبات زمینی و یا محصولات لبنی یافت نمی‌شوند و از نوع اسیدهای چرب امگا-۳ می‌باشند [۹-۱۱].

قابلیت فسادپذیری بالای ماهیان سبب شده تا حفظ کیفیت ماهی تازه، یکی از مسائل مهم موردتوجه صنعت ماهی و مصرف‌کنندگان باشد. در این رابطه توجه به عمر ماندگاری مهم است [۱۲]. بدین منظور تکنیک‌های متفاوتی مثل سردسازی محصول بلافاصله پس از صید و نگهداری در یخ، انجماد، بسته‌بندی در خلأ و اتمسفر اصلاح‌شده، پرتودهی با اشعه گاما، استفاده از مواد ضد میکروبی مثل اسیدهای آلی و نمک اسیدهای آلی، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و

مصنوعی، به‌کارگیری اسانس‌ها، روکش‌دار کردن و همچنین اثر ترکیبی روکش غذایی و اسانس برای افزایش عمر ماندگاری محصولات دریایی و حفظ کیفیت ماهی به کار برده می‌شود [۱۳]. در ایران امکان انجماد بلافاصله پس از صید یا روی عرشه وجود ندارد، بنابراین انتخاب بهترین شیوه ممکن برای حفظ محصول، امری منطقی است. ازجمله راه‌هایی که از گسترش فساد جلوگیری می‌کند یخ پوشی برای ماهی کامل و برای فیله ماهی بسته‌بندی در پوشش‌های غیرقابل نفوذ به اکسیژن و نگهداری در دمای پایین است. چرا که در مورد فیله‌های ماهی امکان یخ پوشی وجود ندارد، ولی از طریق بسته‌بندی مناسب در بسته‌های بدون هوا و یا پوشش‌های مناسب دیگر می‌توان عمر ماندگاری را افزایش داد [۱۴ و ۱۵].

علیرغم کارایی و پایداری بالا و نیز ارزانی نسبی، به دلیل اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی ازجمله جهش‌زایی، ایجاد مسمومیت و سرطان‌زایی و همچنین، تأثیر یکسان با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی روی بازدارندگی اکسیداسیون بافت باعث شده است که امروزه، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی توصیه شوند [۱۶]. ازاین‌رو، آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند توکوفرول‌ها و مشتقات اسید آسکوربیک، فیبرها، پلی فنول‌ها، فلاونوئیدها، ایزوفلاونون‌ها تحت عنوان افزودنی‌های طبیعی ایمن به‌طور گسترده‌ای مورداستفاده قرار گرفته‌اند [۱۷ و ۱۸]. عصاره‌های گیاهی با استفاده از حلال‌ها و روش‌های عصاره‌گیری مختلفی تهیه می‌شوند. عصاره‌های گیاهی غنی از ترکیبات فنولیک بوده و جایگزین بسیار مناسبی در برابر آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی هستند [۱۹].

Gortzi و همکاران [۲۰]، به ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره چهار گونه آویشن قبل و بعد از انکپسولاسیون در لیپوزوم پرداختند. دو روش رنسیمت و اندازه‌گیری مالون دی آلدهید را جهت مقایسه عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با آنتی‌اکسیدان‌های تجاری متداول به کار گرفتند. عصاره‌ای که بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را داشت در لیپوزوم کپسوله کردند و خاصیت آنتی‌اکسیدانی را مجدداً ارزیابی نمودند. نتایج این پژوهش نشان داد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره‌های کپسوله بیشتر از عصاره‌های مشابه در حالت غیر کپسوله بود. Kong و همکاران [۲۱]، به بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۱۳ عصاره

زمان انجام آزمایش در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند [۸ و ۲۳].

ماهی کپور نقره‌ای در این تحقیق از مراکز بازار ماهی شهرستان آمل تهیه و به آزمایشگاه ارسال شد. در ابتدا ماهی کپور با آب داغ شسته و به‌صورت دستی سر و امعاء و احشاء جدا شده و پس از چرخ کردن با دستگاه مولینکس (ME740، فرانسه) استریل شده گوشت به‌دست آمده به ظرفی انتقال یافته و در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس گوشت چرخ شده در ظروف درب‌دار پلاستیکی استریل قرار گرفته و در روزهای ۰، ۴، ۸ و ۱۲ آزمایش‌های لازم بر آنها انجام گرفت. طبق تیمارهای تعریف‌شده عصاره‌های رزماری و برگ بو به فرم آزاد و با غلظت ۱ و ۱/۵ درصد و فرم نانولیپوزوم عصاره‌های رزماری و برگ بو با غلظت‌های ۱ و ۱/۵ درصد مخلوط کرده و در یخچال در دمای نگهداری شد [۲].

## ۲-۱- استخراج عصاره

جهت عصاره‌گیری، به‌طور مجزا، به نمونه‌ها، نسبت ۱ به ۵ وزنی / حجمی، آب مقطر اضافه‌شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵۰ درجه بن ماری شیک شد. نمونه‌ها با استفاده از کاغذ صافی، فیلتر شده و مایع حاصله در دمای ۴۵ درجه آون تحت خلأ به مدت ۴۸ ساعت خشک شد [۲۴].

## ۲-۲- اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل

جهت اندازه‌گیری ترکیبات فنلی، از روش طیف‌سنجی و معرف فولین- سیوکالتیو استفاده گردید [۲۲]. ۰/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره ۰/۱ درصد با ۲/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین- سیوکالتیو رقیق شده با آب با نسبت (۱۰:۱) و ۲ میلی‌لیتر از کربنات سدیم ۷/۵ درصد مخلوط شد. سوسپانسیون تهیه‌شده، به مدت ۰/۵ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت و سپس جذب آنها در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل JENWAY 6305، شرکت JENWAY، انگلستان) خوانده شد.

## ۲-۳- اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئیدی

سنجش ترکیبات فلاونوئیدهای کل با روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم انجام شد. به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره، ۱۰۰ میکرولیتر اسنات پتاسیم ۱ مولار اضافه کرده و بعد از ۵ دقیقه، ۱۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد، به سوسپانسیون اولیه اضافه شد. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر از متانول ۸۰ درصد و ۲/۸

گیاهی در سیستم لیپوزومی و در گوشت پخته‌شده خوک پرداختند. ۶ مورد از عصاره‌ها (میخک، رزماری، پوست کاسیاء شیرین‌بیان، جوز و هل) دارای بیشترین محتوای ترکیبات فنولی بوده و به‌شدت تشکیل TBARS را مهار کردند، محافظت گوشت خوک پخته‌شده در برابر اکسیداسیون چربی و ثبات رنگ قرمز میوگلوبین در طی نگهداری، اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها را در سوسپانسیون لیپوزومی نشان داد. در این پژوهش لیپوزوم‌ها از دیسپرس کردن فسفاتیدیل کولین سویا در کلرید پتاسیم و بافر و توسط هموژنیزاسیون و سپس سونیکاسیون در ۴ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ دقیقه حاصل شدند.

Muñiz-Márquez [۲۲] به بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ‌بو استخراجی با استفاده از درصد‌های مختلف اتانول پرداختند. آنها به‌منظور تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی از ۳ روش فعالیت رادیکال آزاد DPPH، ABTS و مهار اکسیداسیون لیپیدی پرداختند. آنها اعلام نمودند عصاره برگ‌بو دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشد و با افزایش غلظت اتانول تا ۷۰ درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. Fatima و همکاران [۲۳] به بررسی ترکیبات فنلی موجود در اسانس برگ‌بو استخراجی به روش تقطیر با آب و عصاره استخراجی با مایکروویو بدون استفاده از حلال پرداختند. مطابق نتایج آنها اصلی‌ترین ترکیبات برای دو اسانس شامل ۱- cineole (به ترتیب ۲۶/۴ - ۳۰/۹۰ درصد)، sabinene (۹- ۹/۶ درصد)، alpheterpiny acetate (۹/۵ - ۷/۸ درصد)، linalool (۴/۹ - ۹/۵ درصد) بود. با توجه به نتایج اسانس به‌دست‌آمده با استفاده از روش تقطیر آب فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره استخراج با مایکروویو داشت.

در این مطالعه به تأثیر فرم آزاد و ریزپوشانی با نانولیپوزوم عصاره گیاهان برگ‌بو و رزماری بر رفتار برخی از شاخص‌های شیمیایی مواد فساد در ماهی کپور نقره‌ای نگهداری شده در دمای یخچال پرداخته شده است.

## ۲- مواد و روش‌ها

گیاهان رزماری و برگ‌بو پس از تهیه در دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری شناسایی شدند و بعد از شستشو در آون تحت خلأ با درجه حرارت ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵۰ دقیقه خشک شدند. نمونه‌های خشک‌شده و پس از آسیاب تا

= درصد مهار رادیکال آزاد DPPH

$\times 100$  جذب نمونه - جذب شاهد

جذب شاهد

برای اندازه‌گیری قدرت احیاکنندگی آهن (FRAP) مقدار ۰/۱ گرم از عصاره با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر در هاون چینی سرد در حمام یخ هموژن می‌شود. هموژنات حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید. سپس به ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌ی به دست آمده ۱/۵ میلی‌لیتر معرف FRAP (بافر استات سدیم ۳۰۰ میلی‌مولار با  $\text{pH} = ۳/۶$ ، فریک-تری‌پیریدیل-اس-تریازین و فریک کلرید) اضافه می‌گردد. مخلوط حاصل ورتکس و به مدت ۴ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. جذب محلول‌ها در ۵۹۳ نانومتر نسبت به شاهد (شامل ۵۰ میکرولیتر آب مقطر به همراه ۱/۵ میلی‌لیتر معرف FRAP)، خوانده شد. آمونیوم فروس سولفات به‌عنوان شاهد برای مقایسه بکار رفت [۲۲].

همچنین بخش دیگری از گوشت، سطوح مختلف از عصاره گیاه برگ‌بو آزاد و نانوکپسوله اسپری شد پس از مخلوط نمودن گوشت چرخ شده با عصاره‌ها در کیسه‌های نایلونی زیپ‌دار بسته‌بندی در دمای یخچال ( $\pm 4$  درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. در روزهای صفر، ۴، ۸، ۱۲ دوره نگهداری ۳ نمونه از هر بخش به‌طور تصادفی انتخاب شد و به‌منظور تعیین پارامترهای شیمیایی (TVB-N و TBA) و میکروبی‌های تلقیح شده مورد آزمایش قرار گرفت.

## ۲-۷- اندازه‌گیری تیوباربتوریک اسید

اندازه‌گیری TBA به‌وسیله روش رنگ‌سنجی صورت گرفت. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه به یک بالن ۲۵ میلی‌لیتری انتقال یافت و سپس با ۱- بوتانل به حجم رسانده شد. ۵ میلی‌لیتر از مخلوط فوق به لوله‌های خشک درب‌دار وارد شده و به آن ۵ میلی‌لیتر از معرف TBA افزوده گردید (معرف TBA به‌وسیله حل شدن ۲۰۰ میلی‌گرم از TBA در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال ۱- بوتانل پس از فیلتر شدن به دست می‌آید). لوله‌های درب‌دار در حمام آب با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفته و پس‌از آن در دمای محیط سرد شدند. سپس مقدار جذب (As) در ۵۳۲ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر (Ab) خوانده شد. مقدار TBA (میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید در

میلی‌لیتر آب دیونیزه، به محلول اضافه گردید. پس از ۳۰ دقیقه، شدت جذب محلول در طول‌موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. غلظت فلاونوئیدها برحسب میلی‌گرم روتین بر گرم وزن خشک ارائه شد [۲۲].

## ۲-۴- آماده‌سازی رزماری و برگ‌بو ریزپوشانی

### شده با لیپوزوم

نانولیپوزم ها طبق روش Jiménez و همکاران [۲۵] با کمی تغییر یا اصلاح تولید شدند. ابتدا ۲ گرم لسیتین و ۲ گرم تئوین ۸۰ در ۳۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و برای ۵ ساعت تکان داده شدند. در مرحله بعد ۴ گرم عصاره برگ گیاه بو و ۴ گرم عصاره رزماری به دیسپرسیون آبی لسیتین اضافه‌شده و کل مخلوط به مدت ۶۰۰ ثانیه (۱ ثانیه روشن و ۱ ثانیه خاموش در فرکانس ۴۰ کیلو هرتز و ۴۰ درصد قدرت دستگاه) تحت شرایط سونیکاسیون قرار گرفت. نانولیپوزوم های تولیدی تا زمان استفاده در بطری‌های استریل و در شرایط تاریک نگهداری شد.

## ۲-۵- آزمون شکل و مورفولوژی نانولیپوزوم‌ها

به‌منظور بررسی شکل، مورفولوژی و تأیید اندازه ذرات نانو لیپوزوم‌ها از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM استفاده شد. برای تصویربرداری از نمونه‌ها حدود ۱ میلی‌گرم از نمونه روی پایه مخصوص میکروسکوپ قرار داده شد. سپس اندازه ذرات با ولتاژ و بزرگنمایی مشخص به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی (Hitachi SU3500, Tokyo, Japan) مشخص شد [۲۶].

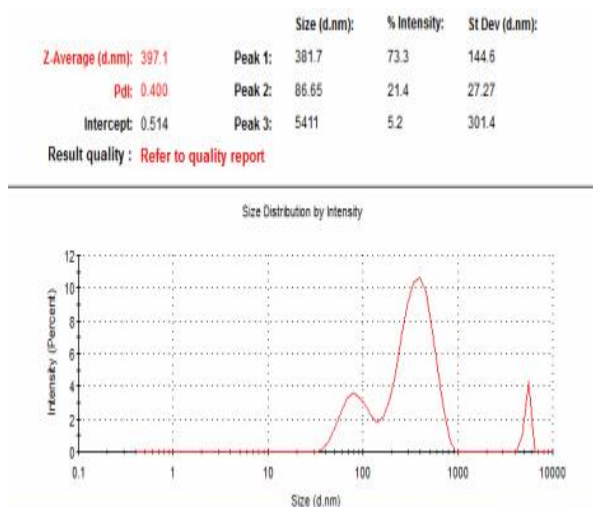
## ۲-۶- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره

بدین منظور ۱ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره به‌طور جداگانه (۲۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰) با ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی‌مولار DPPH<sup>۱</sup> اضافه و مخلوط حاصل به‌خوبی تکان داده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در اتاق تاریک قرار داده و سپس جذب نوری نمونه‌ها در طول‌موج ۵۱۷ nm در مقابل شاهد خوانده شد. تمامی این مراحل در مورد TBHQ<sup>۲</sup> به‌عنوان آنتی‌اکسیدان استاندارد انجام گرفت [۲۶].

1 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl  
2 tert-Butylhydroquinone

3 Fluorescence recovery after photobleaching

نتایج اندازه ذره و تراکم عصاره‌ها و لیپوزوم مورد استفاده که تحت فرآیند نانو ریزپوشانی قرار گرفتند در شکل ۱ نشان داده شده است. مطابق شکل، اندازه نانولیپوزوم حاوی عصاره‌ها، ۳۹۷/۱ نانومتر بوده است. در شکل ۱ سه پیک کاملاً مجزا نشان داده شده که پیک ۱ نمایانگر نانولیپوزوم حاوی عصاره‌های برگ‌بو و رزماری بوده که اندازه و تراکم آن به ترتیب ۳۸۱/۷ نانومتر و ۷۳/۳ درصد بوده و بیشترین تراکم را به خود اختصاص داده که نشان از درصد بالایی از عصاره بوده که به درستی نانو ریزپوشانی شده است. پیک‌های ۲ و ۳ نشان‌دهنده عصاره‌های آزاد و یا باقیمانده موادی که تحت تأثیر فرآیند ریزپوشانی قرار نگرفتند، می‌باشد. هر چند اندازه پیک ۲، در حد نانومتر می‌باشد (۸۶/۶۵ نانومتر) ولی پوششی آن را احاطه نکرده است. تراکم این فرم، ۲۱/۴ درصد بوده است. در پیک ۳، اندازه متوسط ذرات ۵/۴۱۱ میکرومتر و تراکم آنها نیز ۵/۲ درصد بوده است.



**Fig 1** Results of nanoliposome size containing bay laurel and rosemary extracts using particle sizer

شکل مورفولوژی نانو لیپوزوم حاوی عصاره‌های رزماری و برگ‌بو که با میکروسکوپ الکترونی روبشی تهیه شده در شکل ۲ نشان داده شده است. مطابق اشکال مذکور، ذرات نانو ریزپوشانی شده با ابعاد مختلف در گسترش میکروسکوپی پراکنده بوده بطوریکه ذرات در اندازه‌های مختلف (از قطر ۵۱/۴ نانومتر تا ۲۲۱/۲ نانومتر) قابل مشاهده می‌باشد.

کیلوگرم بافت گوشت) بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید [۲۷].

$$TBA = (As - Ab) \times 200/50$$

## ۸-۲- اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی

### فرار

این آزمون توسط روش کلدال با قرار دادن ۱۰ گرم گوشت میکس شده در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲ گرم اکسید منیزیم به‌عنوان کاتالیزور، ۲ قطره اکتانول به‌عنوان ضد کف و نهایتاً ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به داخل بالن کلدال شروع شد. سپس سیستم کلدال نصب شده و در زیر لوله خروجی سیستم، ارلنی حاوی ۲۵ میلی‌لیتر اسید بوریک ۳ درصد، ۰/۰۴ میلی‌لیتر مخلوط متیل رد و متیلن بلو به‌عنوان شاخص ریخته شد به طوریکه سر لوله خروجی کاملاً درون محلول ارلن باشد. عمل جوشیدن محتویات بالن کلدال و تقطیر گازهای متصاعد شده که معرف بازهای نیتروژنی فرار هستند تا رسیدن حجم بالن به ۱۲۵ میلی‌لیتر و تغییر رنگ محلول به رنگ سبز ادامه یافت و سپس با هیدروکلریک اسید ۰/۱ نرمال تا حاصل شدن رنگ صورتی تیتیر شد. با قرار دادن میزان اسید مصرفی جهت تیتراسیون در رابطه زیر بارهای نیتروژنی فرار بر حسب میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه ناگت مرغ محاسبه شد [۲۸].

$$TVB-N = \text{وزن نمونه} \times 100 \times 1/4 \times \text{میزان اسید هیدروکلریک مصرفی}$$

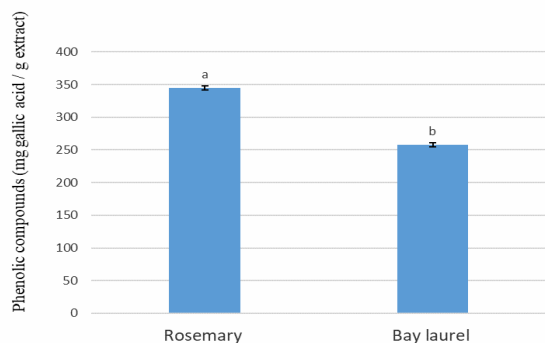
## ۹-۲- تجزیه و تحلیل آماری

نرم‌افزار مورد استفاده جهت تجزیه و تحلیل آماری SPSS VER 22 بود. برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین مقادیر حاصل از هر شاخص در زمان‌های ۰، ۴، ۸، ۱۲ روز نگهداری از روش تجزیه واریانس یک‌طرفه و همچنین برای مقایسه میانگین‌ها در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی‌دار شناخته شد از آزمون دانکن استفاده گردید.

## ۳- نتایج و بحث

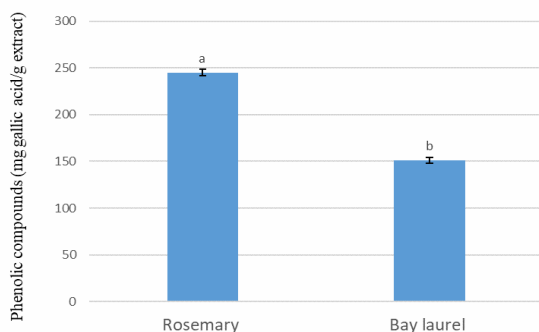
### ۳-۱- عصاره ریزپوشانی

بیشتر از برگ بو بوده است (۲۵۷/۶۶ میلی گرم اسید گالیک/ گرم عصاره) ( $P < 0.05$ ).



**Fig 3** Amounts of phenolic compounds in the rosemary and bay laurel extracts

میزان ترکیبات فلاونوئیدی در عصاره آبی دو گیاه رزماری و برگ بو در شکل ۴ نشان داده شده است. میزان ترکیبات فلاونوئیدی در عصاره رزماری (۲۴۵/۳۳ میلی گرم اسید گالیک/ گرم عصاره) بیشتر از برگ بو بوده است (۱۵۱/۲۶ میلی گرم اسید گالیک/ گرم عصاره) ( $P < 0.05$ ).

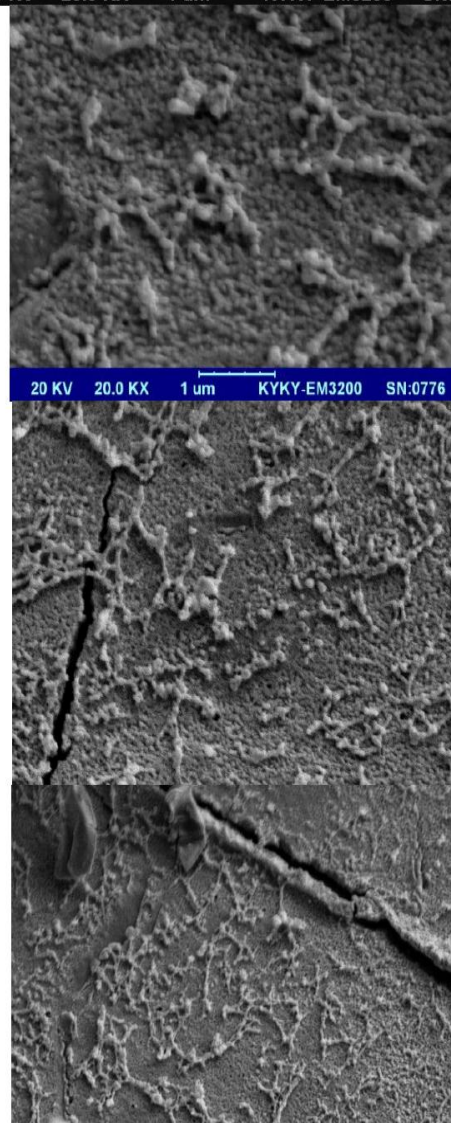
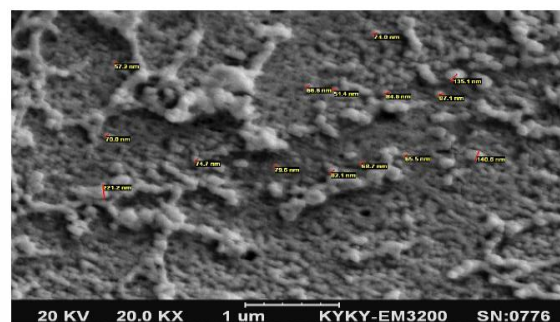


**Fig 4** Amounts of flavonoid compounds in the rosemary and bay laurel extracts

### ۳-۳- فعالیت آنتی اکسیدانی

#### ۳-۳-۱- مهار رادیکال آزاد DPPH

درصد مهار رادیکال آزاد DPPH دو عصاره برگ بو و رزماری در جدول ۱ نشان شده است. میزان فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH در دو عصاره مورد بررسی، دارای اختلاف معنی دار بوده است ( $P < 0.05$ ). با افزایش غلظت عصاره ها میزان فعالیت رادیکال آزاد DPPH در تمامی تیمارها افزایش داشته است ( $P < 0.05$ ). اثرات آنتی اکسیدانی عصاره رزماری به طور معنی داری بیشتر از عصاره برگ بو بوده است ( $P < 0.05$ ). میزان



**Fig 2** Density of nanoliposomes containing bay laurel and rosemary extracts, in different sizes, under scanning electron microscopy

### ۳-۲- مقادیر ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی

میزان ترکیبات فنلی در عصاره آبی دو گیاه رزماری و برگ بو در شکل ۳ نشان داده شده است. میزان ترکیبات فنلی در عصاره رزماری (۳۴۴/۶۶ میلی گرم اسید گالیک/ گرم عصاره)

تنها با غلظت ۱۰۰ ppm استفاده شده است. در جدول صرفاً برای آنالیز آماری در زیر تمامی غلظت‌ها نوشته شده است.

مهار رادیکال DPPH برای آنتی‌اکسیدان مصنوعی TBHQ به‌طور معنی‌داری بالاتر از عصاره‌های گیاهان موردنظر بوده است ( $P < 0.05$ ). آنتی‌اکسیدان TBHQ در تمامی آزمایش‌ها

**Table 1** Effects of extract concentration on the antioxidant activity (DPPH free radical scavenging activity: %)

| Extract            | 200 ppm                   | 500 ppm                   | 1000 ppm                  | 1500 ppm                  |
|--------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Bay laurel Extract | 25.1 ± 1.11 <sup>Cd</sup> | 47.1 ± 3.30 <sup>Cc</sup> | 54.1 ± 7.45 <sup>Cb</sup> | 63.1 ± 5.15 <sup>Ca</sup> |
| Rosemary Extract   | 32.1 ± 5.24 <sup>Bd</sup> | 55.1 ± 6.21 <sup>Bc</sup> | 61.1 ± 1.24 <sup>Bb</sup> | 78.1 ± 6.65 <sup>Ba</sup> |
| TBHQ               | 86.1 ± 6.08 <sup>Aa</sup> | 86.1 ± 6.08 <sup>Aa</sup> | 86.1 ± 6.08 <sup>Aa</sup> | 86.1 ± 6.08 <sup>Aa</sup> |

\*Means within the same column and rows with different letters (capital and small respectively) are significantly different ( $P < 0.05$ ).

داشته است ( $P < 0.05$ ). اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری به‌طور معنی‌داری بیشتر از عصاره برگ‌بو بوده است ( $P < 0.05$ ). مقادیر FRAP برای آنتی‌اکسیدان مصنوعی TBHQ به‌طور معنی‌داری بالاتر از عصاره‌های گیاهان مورد نظر بوده است ( $P < 0.05$ ).

### ۳-۲- قدرت احیاکنندگی آهن (FRAP)

قدرت احیاکنندگی آهن (FRAP) دو عصاره برگ‌بو و رزماری در جدول ۲ نشان شده است. مقادیر FRAP در دو عصاره موردبررسی، دارای اختلاف معنی‌دار بوده است ( $P < 0.05$ ). با افزایش غلظت عصاره‌ها، میزان FRAP افزایش

**Table 2** Effects of extract concentration on the antioxidant activity (FRAP test:  $\mu\text{mol/g}$  extract)

| Extract            | 200 ppm                     | 500 ppm                     | 1000 ppm                    | 1500 ppm                    |
|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Bay laurel Extract | 117.1 ± 5.64 <sup>Cd</sup>  | 123.1 ± 6.23 <sup>Cc</sup>  | 142.1 ± 4.34 <sup>Cb</sup>  | 153.1 ± 5.47 <sup>Ca</sup>  |
| Rosemary Extract   | 127.4 ± 4.61 <sup>Bd</sup>  | 140.3 ± 6.57 <sup>Bc</sup>  | 165.4 ± 5.59 <sup>Bb</sup>  | 195.5 ± 8.32 <sup>Ba</sup>  |
| TBHQ               | 330.1 ± 14.14 <sup>Aa</sup> | 330.1 ± 14.14 <sup>Aa</sup> | 330.1 ± 14.14 <sup>Aa</sup> | 330.1 ± 14.14 <sup>Aa</sup> |

\*Means within the same column and rows with different letters (capital and small respectively) are significantly different ( $P < 0.05$ ).

عدد تیوباربیتیک اسید در تمامی تیمارها افزایش یافت و این تغییرات در تیمار شاهد بیشتر بود ( $P < 0.05$ ). با توجه به نتایج آنالیز آماری در اکثر روزها بیشترین مقادیر در تیمار شاهد، مشاهده شد. با افزایش غلظت عصاره نتایج بهتری مشاهده شد و همچنین نتایج در ارتباط با تیمارهای حاوی عصاره ریز پوشانی شده بهتر بود به‌طوری‌که در روز ۱۲ ام نگهداری کمترین مقادیر عدد تیوباربیتیک اسید در تیمار عصاره نانولیپوزوم با غلظت ۱۵۰۰ ppm و بیشترین مقادیر در تیمار شاهد مشاهده شد ( $P < 0.05$ ).

### ۳-۴- تغییرات عدد تیوباربیتیک اسید

#### طی مدت نگهداری

نتایج مربوط به تغییرات عدد تیوباربیتیک اسید در گوشت چرخ شده ماهی کپور نقره‌ای حاوی عصاره آزاد و نانولیپوزوم گیاهان رزماری و برگ‌بو طی مدت‌زمان نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در جدول ۳ ارائه شده است. با توجه به نتایج آنالیز آماری تیمارهای مختلف در روز صفر نگهداری اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند ( $P > 0.05$ ). با افزایش زمان مقادیر

**Table 3** Changes in thiobarbituric acid of different treatment in silver carp fish minced meat during storage (mg MDA/kg of Fat)

| Treatment                                             | Day 0                      | Day 4                       | Day 8                      | Day 12                     |
|-------------------------------------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Control without extract                               | 0.60 ± 0.014 <sup>dA</sup> | 1.61 ± 0.042 <sup>cA</sup>  | 2.58 ± 0.042 <sup>bA</sup> | 3.50 ± 0.035 <sup>aA</sup> |
| Free extract of 1% rosemary and bay laurel            | 0.59 ± 0.009 <sup>dA</sup> | 1.385 ± 0.035 <sup>cB</sup> | 2.33 ± 0.028 <sup>bB</sup> | 3.13 ± 0.035 <sup>aB</sup> |
| Free extract of 1.5% rosemary and bay laurel          | 0.60 ± 0.011 <sup>dA</sup> | 1.28 ± 0.04 <sup>cd</sup>   | 2.14 ± 0.04 <sup>bd</sup>  | 2.90 ± 0.06 <sup>ad</sup>  |
| Liposome coated extract of 1% rosemary and bay laurel | 0.59 ± 0.016 <sup>dA</sup> | 1.32 ± 0.014 <sup>cC</sup>  | 2.26 ± 0.014 <sup>bc</sup> | 2.97 ± 0.013 <sup>aC</sup> |
| Liposome coated extract 1.5% rosemary and bay laurel  | 0.58 ± 0.003 <sup>dA</sup> | 1.19 ± 0.02 <sup>cE</sup>   | 1.70 ± 0.07 <sup>bE</sup>  | 2.58 ± 0.04 <sup>aE</sup>  |

Means within the same column and rows with different letters (capital and small respectively) are significantly different ( $P < 0.05$ ).

نتایج مربوط به تغییرات بازهای نیتروژنی فرار در گوشت چرخ شده ماهی کپور نقره‌ای حاوی عصاره آزاد و نانولیپوزوم گیاهان رزماری و برگ‌بو طی مدت‌زمان نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در جدول ۴ و نمودار ۴ ارائه شده است. با

### ۳-۵- تغییرات بازهای نیتروژنی فرار یا TVB-N

#### طی مدت نگهداری

عصاره نتایج بهتری مشاهده شد و همچنین نتایج در ارتباط با تیمارهای حاوی عصاره ریز پوشانی شده بهتر بود به طوری که در روز ۱۲ ام نگهداری کمترین بازهای نیتروژنی فرار در تیمار عصاره نانولیپوزوم با غلظت ۱۵۰۰ ppm و بیشترین مقادیر در تیمار شاهد مشاهده شد ( $P < 0.05$ ).

توجه به نتایج آنالیز آماری تیمارهای مختلف در روز صفر نگهداری اختلاف معنی داری با هم نداشتند ( $P > 0.05$ ). با افزایش زمان مقادیر بازهای نیتروژنی فرار در تمامی تیمارها افزایش یافت و این تغییرات در تیمار شاهد بیشتر بود ( $P < 0.05$ ). با توجه به نتایج آنالیز آماری در اکثر روزها بیشترین مقادیر در تیمار شاهد، مشاهده شد. با افزایش غلظت

**Table 4** Changes in TVB-N of different treatment in Silver carp fish minced meat during storage (mg mg/100g)

| Treatment                                             | Day 0                     | Day 4                      | Day 8                       | Day 12                      |
|-------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Control without extract                               | 9.9 ± 0.07 <sup>dA</sup>  | 24.47 ± 1.68 <sup>cA</sup> | 32.33 ± 1.53 <sup>bA</sup>  | 46.71 ± 2.05 <sup>aA</sup>  |
| Free extract of 1% rosemary and bay laurel            | 9.88 ± 0.16 <sup>dA</sup> | 20.76 ± 1.83 <sup>cB</sup> | 25.20 ± 1.64 <sup>bB</sup>  | 35.84 ± 1.52 <sup>aB</sup>  |
| Free extract of 1.5% rosemary and bay laurel          | 9.98 ± 0.13 <sup>dA</sup> | 20.19 ± 1.79 <sup>cB</sup> | 24.34 ± 1.74 <sup>bB</sup>  | 34.18 ± 1.47 <sup>aB</sup>  |
| Liposome coated extract of 1% rosemary and bay laurel | 9.83 ± 0.61 <sup>dA</sup> | 19.10 ± 1.65 <sup>cB</sup> | 22.65 ± 1.11 <sup>bBC</sup> | 33.87 ± 1.56 <sup>aB</sup>  |
| Liposome coated extract 1.5% rosemary and bay laurel  | 9.85 ± 0.28 <sup>dA</sup> | 17.32 ± 1.25 <sup>cC</sup> | 20.87 ± 1.04 <sup>bCD</sup> | 31.09 ± 1.64 <sup>aBC</sup> |

Means within the same column and rows with different letters (capital and small respectively) are significantly different ( $P < 0.05$ ).

حلال‌های آلی با تشکیل یک محیط نسبتاً قطبی همراه بوده و بنابراین از استخراج مقادیر و انواع بیشتری از ترکیبات فنولی در این شرایط اطمینان حاصل می‌گردد. علاوه بر این عصاره‌ی آبی حاوی مقادیر زیادی از ناخالصی‌هایی نظیر اسیدهای آلی، پروتئین‌ها و قندهای محلول می‌باشد که می‌توانند در تشخیص و تعیین مقدار ترکیبات فنولی تداخل ایجاد نمایند [۳۱]. در مطالعه حاضر با نتایج Maleki و همکاران [۳۲] گزارش گردید که کمترین میزان ترکیبات فنلی در روش استخراج آبی بوده است. آنها علت پایین بودن ترکیبات فنلی در روش استخراج آبی می‌توان به دلیل قطبیت بالای آب دانست. همچنین آنها اعلام نمودند در ترکیبات آبی- اتانولی میزان ترکیبات فنلی افزایش یافت که می‌توان این افزایش را در ارتباط با قطبیت حلال و تورم بافت‌های گیاهی در این روش دانست.

Muñiz-Márquez و همکاران [۲۲] نیز به بررسی حلال آبی- اتانولی با غلظت‌های اتانول ۰، ۳۵ و ۷۰ درصد بر میزان ترکیبات فنلی عصاره برگ‌بو پرداختند آنها نیز اعلام نمودند حلال آبی- اتانولی ۳۵ درصد بالاترین میزان ترکیبات فنلی را دارا بود که آنها علت این امر قطبیت حلال‌ها اعلام نمودند. در مطالعه Cedeno-Pinos و همکاران [۳۳] مشخص گردید که عصاره گیاه رزماری دارای بیش از ۱۵ ترکیب فنلی، فلاونوئیدی و دیتروپنی بوده و از این‌رو دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی بسیار بالایی دارد. مهم‌ترین ترکیب شاخص در عصاره این گیاه، رزمارینیک اسید می‌باشد. اسانس گیاه رزماری دارای ترکیبات فنلی فرار (اوکالپیتول، پینن

## ۴- بحث

### ۴-۱- مقادیر ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی

ترکیبات فنلی در میوه‌ها و سبزی‌ها توجه بسیاری از محققین را به خود معطوف کردند که به علت پتانسیل بالای آن برای فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. ترکیبات فنلی با اهدای اتم هیدروژن از فعالیت رادیکال آزاد جلوگیری می‌کنند [۲۹]. این ترکیبات شامل موادی از قبیل فلاونوئیدها، فلاونول‌ها، آنتوسیانین‌ها، آنتراکینون، استیلبنوئید و مشتقات آنها هستند. در بین ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری محسوب می‌شوند. فلاونوئیدها بازدارنده‌های قوی رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسید هستند کوثرستین یک فلاونول است و یکی از قوی‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌آید. افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل با قدرت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فلاونوئیدی رابطه‌ی مستقیم دارد [۳۰]. نتایج مربوط به مطالعه حاضر نشان داد که عصاره آبی گیاه رزماری دارای مقادیر بالاتری از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در مقایسه با عصاره برگ‌بو بوده بطوریکه میزان ترکیبات فنلی در عصاره رزماری ۳۴۴/۶۶ و در عصاره برگ بو ۲۵۷/۶۶ بوده است. همچنین میزان ترکیبات فلاونوئیدی در عصاره رزماری ۲۴۵/۳۳ و در عصاره برگ بو ۱۵۱/۲۶ میلی گرم اسید گالیک/ گرم عصاره بوده است.

استفاده از آب به عنوان حلال استخراج، یک محیط کاملاً قطبی ایجاد می‌کند که در آن برخی از ترکیبات فنولی با درجه قطبیت پائین به میزان کمتری استخراج می‌شوند. افزودن آب به

و کارواکول) و غیرفرار (رزماریتیک اسید و کارنوسیک اسید) می‌باشد [۳۴].

#### ۴-۲- بررسی فعالیت رادیکال آزاد DPPH

مدل به دام اندازی رادیکال DPPH به‌طور گسترده برای ارزیابی توانایی به دام اندازی رادیکال آزاد در نمونه‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ترکیب یک رادیکال آزاد با اتم مرکزی نیتروژن است که با احیاء شدن و تولید مولکول پایداری می‌کند که از ارغوانی به زرد تغییر رنگ می‌دهد. این رادیکال در ۵۱۵ تا ۵۲۸ نانومتر جذب دارد. با استفاده از روش اسپکتروفتومتری، میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر که بیانگر مقدار DPPH باقی مانده است، اندازه‌گیری می‌شود. هر چه این مقدار بیشتر باشد، فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در حذف رادیکال آزاد کمتر است؛ بنابراین، میزان DPPH باقی‌مانده به‌طور معکوس با فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال ضد اکسایشی در ارتباط است [۳۵].

نتایج مربوط به مطالعه حاضر نشان داد با افزایش غلظت عصاره، میزان مهار فعالیت رادیکال آزاد DPPH نیز افزایش یافت. عصاره‌های گیاهی به علت دارا بودن ترکیبات فنلی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی عمدتاً به دلیل ویژگی‌های اکسیداسیون احیاء آن‌ها می‌باشد، بنابراین به‌عنوان عوامل احیاءکننده، دهنده هیدروژن و درگیر کننده اکسیژن فعال عمل می‌کنند [۳۶].

با افزایش غلظت ترکیبات فنلی، فعالیت مهار رادیکالی عصاره نیز افزایش می‌یابد، سایر محققین نیز اعلام نمودند با افزایش غلظت ترکیبات فنلی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره نیز افزایش می‌یابد [۲۹ و ۳۲].

همچنین بیشترین مقادیر فعالیت رادیکال آزاد DPPH در تمامی غلظت‌ها مربوط به عصاره رزماری بوده است. علت بالاتر بودن میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در عصاره رزماری را می‌توان به دلیل بالاتر بودن ترکیبات فنلی در آن در مقایسه با عصاره برگ‌بو دانست. مقایسه نتایج خواص آنتی‌اکسیدانی دو گیاه در این مطالعه با مطالعات دیگران نشان داد که به هنگام استفاده از روش‌های دیگر نظیر روش‌های هیدروالکی و یا اولتراسوند، خواص آنتی‌اکسیدانی بالاتر بوده که این امر به دلیل استخراج بیشتر ترکیبات فنلی می‌باشد. در مطالعه Muñoz و همکاران [۳۷]، به هنگام استفاده از روش اولتراسوند، میزان مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره برگ‌بو،

۹۴ درصد گزارش شد. نتایج مطالعه حاضر با نتایج Maleki و همکاران [۳۲] هم‌خوانی داشت. آنها کمترین میزان مهار رادیکال آزاد DPPH را در روش استخراج به‌وسیله حلال آبی مشاهده نمودند آنها علت این امر را مقادیر اندک ترکیبات فنلی در این روش اعلام نمودند [۳۷].

#### ۴-۳- بررسی قدرت احیاءکنندگی یون فریک (FRAP)

حضور عوامل احیاءکننده در عصاره باعث کاهش یون‌های فریک ( $Fe^{+3}$ ) به یون فروس ( $Fe^{+2}$ ) می‌شود. این احیاء توسط رنگ سبز آبی در یک طول موج ۷۰۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود [۳۸]. مقادیر قدرت احیاءکنندگی آهن (FRAP) در گیاه رزماری در تمامی غلظت‌ها، بیشتر از گیاه برگ‌بو بوده است. ولی با این وجود در مقایسه با سایر روش‌های استخراج، دارای مقادیر پائین تری بوده است. علت تفاوت قدرت احیاءکنندگی توسط حلال‌های مختلف استخراج، به علت حضور مقادیر متفاوتی از عوامل احیاءکننده در آن‌ها است که به تناسب مقدار عامل احیاء، قدرت احیاءکنندگی عصاره افزایش می‌یابد. این عامل احیاء را می‌توان پلی فنل‌های موجود در عصاره برگ‌بو به‌ویژه ترکیبات فنولی دانست که ترکیب غالب دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد [۳۹]. از بین ترکیبات گیاهی که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشند، ترکیبات فنولی توزیع گسترده‌ای در بسیاری از گیاهان دارند. ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی عمدتاً ناشی از قدرت احیاء کنندگی و ساختار شیمیایی آنهاست که آنها را قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی و خاموش کردن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه‌گانه می‌سازد. ترکیبات فنولی از طریق اهداء الکترون به رادیکال‌های آزاد واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کنند. همچنین رادیکال‌های فتوکسیل تشکیل‌شده ترکیبات نسبتاً پایداری می‌باشند، بنابراین واکنش‌های زنجیره‌ای جدید به‌راحتی آغاز نمی‌شوند. این رادیکال‌ها از طریق واکنش با سایر رادیکال‌ها نیز می‌توانند سرعت مرحله توسعه اکسیداسیون را کاهش دهند. فلاونوئیدهای موجود در رژیم غذایی که دارای یک گروه کاتکول (۲، ۱- دی هیدروکسی بنزن) هستند از طریق مکانیسم‌های مختلفی از جمله: (۱) عمل کردن به‌عنوان بازدارنده رادیکال آزاد از طریق دادن اتم هیدروژن یا الکترون (۲) پیوند با پروتئین‌ها و آنزیم‌های شرکت‌کننده در تولید

گونه‌های فعال اکسیژن (۳) تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزات انتقالی که قادرند تولید گونه‌های فعال اکسیژن از طریق چرخه‌های ردوکس را کاتالیز کنند (۴) باز تولید آنتی‌اکسیدان‌های خارجی قوی مانند آلفا توکوفرول، قادر به مهار اکسیداسیون مولکول‌های زیستی هستند [۴۰].

#### ۴-۴- تغییرات عدد تیوباربیتیک اسید طی

##### مدت نگهداری

مطالعات قبلی نشان داده که کاهش رادیکال‌های آزاد موجب کاهش فرم مت‌میوگلوبین در نمونه گوشت می‌شود. در گوشت تازه، میوگلوبین به سه شکل وجود دارد: دئوکسی میوگلوبین، اکسی میوگلوبین و مت‌میوگلوبین. تیوباربیتوریک اسید به‌طور گسترده به‌عنوان شاخص نشان‌دهنده میزان اکسیداسیون ثانویه چربی مورد استفاده قرار می‌گیرد و ناشی از وجود مواد واکنش‌دهنده حاصل از مرحله دوم اتواکسیداسیون است که طی آن، پراکسیدها به موادی مثل آلدئیدها و کتون‌ها اکسید می‌شوند که این مواد با TBA واکنش می‌دهند. از سوی دیگر شاخص تیوباربیتیک اسید برای بررسی پتانسیل ایجاد ترکیبات سمی و یکی از عوامل ایجاد بیماری‌های قلبی عروقی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۴۱]. مقادیر TBA در تمامی تیمارها طی دوره نگهداری افزایش یافت. شاخص TBA میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون به‌ویژه آلدئیدها را نشان می‌دهد. روند افزایشی این شاخص در طول مدت نگهداری ممکن است به دلیل افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان‌ها در ماهیچه باشد. همچنین، آلدئیدها به‌عنوان محصول ثانویه اکسیداسیون از تجزیه هیدروپراکسیدها ایجاد می‌شوند. روند افزایشی هیدروپراکسیدها می‌تواند دلیلی بر این موضوع باشد [۴۲].

با توجه به نتایج آنالیز آماری بیشترین مقادیر TBA در تیمار شاهد مشاهده شد. ترکیبات پلی فنولیک موجود در عصاره‌ها اهداکننده‌ی مناسب الکترون و پروتون بوده و رادیکال‌های واسطه‌ی آنها به دلیل پدیده‌ی حرکت الکترون در حلقه بنزن و فقدان محل حساس به حمله‌ی اکسیژن، بسیار پایدار می‌باشد. ترکیبات فنولیک مانند آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی دارای خاصیت خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد هستند و همچنین قادر به مهار کردن یون‌های فلزی مانند  $Fe^{+2}$  می‌باشند و به‌این ترتیب سرعت شکل‌گیری مولکول اکسیژن فعال کاهش می‌یابد [۹]. همچنین Viuda-Martos و همکاران [۴۳] نیز اظهار داشتند

که اثر ضد اکسیدانی عصاره‌های گیاهی به دلیل مقادیر فراوان ترکیبات فنولیک و ترپن‌های موجود در اسانس و عصاره‌ی آن می‌باشد. ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌های گیاهی از واکنش‌های زنجیره‌ای در طول اکسیداسیون چربی جلوگیری می‌نمایند و هر چه غلظت این ترکیبات بیشتر باشد، توانایی جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها نیز افزایش می‌یابد. در مطالعه حاضر با افزایش غلظت عصاره نتایج بهتری مشاهده شد و همچنین نتایج در ارتباط با تیمارهای حاوی عصاره ریز پوشانی شده بهتر بود به‌طوری‌که در روز ۱۲ ام نگهداری کمترین مقادیر عدد تیوباربیتیک اسید در تیمار عصاره نانولپوزوم با غلظت ۱۵۰۰ ppm و بیشترین مقادیر در تیمار شاهد مشاهده شد. در واقع می‌توان این‌گونه بیان نمود نانولپوزوم ترکیب عصاره‌های برگ‌بو و رزماری سبب افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن و طولانی‌تر شدن اثربخشی آن طی دوره نگهداری می‌شود.

نتایج این پژوهش با نتایج Badee و همکاران [۴۴] هم‌خوانی داشت در مطالعه آنها اثرات آنتی‌اکسیدان عصاره مرزنجوش، نعناع و آویشن بر روی ماندگاری فیله نیمه سرخ‌شده ماهی سوف رودخانه نیل در یخچال مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی آنها نشان داد که در تغییرات اسید تیوباربیتوریک با توجه به نسبت عصاره افزایش معنی‌داری ایجاد شد که کمترین آن مربوط به ۱ میلی‌گرم عصاره مرزنجوش، نعناع و آویشن بود که در ماندگاری ماده فوق در یخچال نقش به سزایی ایفا کرد و بهتر از دیگر نمونه‌ها بود. در تحقیقات Fijelu و همکاران [۴۵]، نتایج تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های ماهی کپور نقره‌ای نشان داد که نمونه‌های حاوی عصاره سیر و زنجبیل، فساد اکسیداسیونی کمتری نسبت به سایر تیمارها دارا بودند. نتایج مطالعه حاضر با نتایج Mazandrani و همکاران [۴۶] در ارتباط با افزودن عصاره نانوکپسوله رازیانه بر فیله فیتوفاگ معمولی هم‌خوانی دارد. آنها نیز اعلام نمودند افزایش غلظت عصاره و همچنین استفاده از عصاره نانو کپسوله سبب کند شدن تغییرات عدد تیوباربیتیک اسید طی دوره نگهداری می‌شود. در خصوص رزماری، نیز مطالعات Ucak و همکاران [۴۷] و Nieto و همکاران [۴۸] تأیید کننده نتایج این مطالعه می‌باشند.

به‌طورکلی میزان TBA ۲ میلی‌گرم مالون دی آلدئید/گرم گوشت به‌عنوان محدودیت مصرف در نظر گرفته می‌شود و آن

حد مطلوب مجموع بازهای ازته فرار در گوشت و فرآورده‌های آن ۲۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم گوشت گزارش شده است [۲۸]. در انتهای دوره نگهداری میزان بازهای ازته فرار در همه نمونه‌ها به‌جز تیمار نانو عصاره ۱۵۰۰ ppm بیشتر از حد قابل قبول پیشنهادی بود.

## ۵- نتیجه‌گیری کلی

آبزیان به تغییرات اکسیداسیون طی مدت نگهداری حساس بوده و کاهش کیفیت در این فرآورده در مرحله اول به دلیل فعالیت میکروارگانیسم‌ها و اکسیداسیون چربی‌ها می‌باشد. همچنین با توجه به تغییرات میکروبی گوشت ماهی در هنگام نگهداری به روش سرد و مشکلات استفاده از نگه‌دارنده‌های مصنوعی، کاربرد مواد طبیعی که قابلیت زیست‌تخریب‌پذیری داشته و درعین‌حال بتواند باعث حفظ کیفیت و ایمنی محصولات غذایی شود، ضرورت می‌یابد. یکی از این نگه‌دارنده‌های طبیعی اسانس و عصاره‌های گیاهی ازجمله عصاره برگ‌بو و رزماری می‌باشد. در این راستا، اثرات ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره آزاد و نانوکپسوله برگ‌بو و رزماری بر میزان رشد باکتری‌های عامل فساد و بیماری و همچنین کیفیت فیله ماهی کپور نقره‌ای طی دوره نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین عصاره توسط لیپوزوم نانوریزپوشانی شد. نتایج مربوط به اندازه ذرات عصاره ریز پوشانی توسط لیپوزوم در مطالعه حاضر برابر با ۳۹۷ نانومتر بوده است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره برگ‌بو و رزماری دارای ترکیبات فنلی و خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و نانوکپسوله نمودن عصاره سبب افزایش خواص آنتی میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن شده است به طوری‌که فیله ماهی حاوی ۱۵۰۰ ppm عصاره نانولیپوزوم برگ‌بو و رزماری روند فساد شیمیایی را به‌طور معنی‌داری به تعویق انداخت. همچنین عصاره نانولیپوزوم برگ‌بو و رزماری سبب کند کردن روند رشد باکتری‌های تلقیح شده گردید. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که به‌طورکلی افزودن عصاره آبی برگ‌بو و رزماری با غلظت ۱۵۰۰ ppm سبب حفظ کیفیت فیله ماهی از لحاظ شاخص‌های کیفی شیمیایی افزایش ماندگاری در یخچال نسبت به سایر نمونه‌ها می‌شود.

زمانی است که بوی فساد در گوشت قابل کشف خواهد بود [۴۹]. در انتهای دوره نگهداری میزان TBA در همه نمونه‌ها به‌جز تیمار نانو عصاره ۱۵۰۰ ppm بیشتر از حد قابل قبول پیشنهادی بود.

## ۴-۵- مقادیر بازهای نیتروژنی فرار طی دوره

### نگهداری

TVB-N عمدتاً با تجزیه باکتریایی و آنزیمی پروتئین‌ها و ترکیبات نیتروژنی غیر پروتئینی گوشت تولید می‌شود. TVB-N یک اصطلاح کلی است که شامل اندازه‌گیری تری متیل آمین (ناشی از فساد باکتریایی)، دی متیل آمین (تولیدشده به‌وسیله آنزیم‌های اتولیتیک طی نگهداری)، آمونیاک (ناشی از آمین زدایی آمینواسیدها و کاتابولیت‌های نوکلئوتیدی) و دیگر ترکیبات بازی فرار نیتروژنی مرتبط با فساد غذایی است [۵۰]. درمجموع در تمامی تیمارها با افزایش زمان، میزان بازهای نیتروژنی فرار افزایش یافت. مقادیر افزایش میزان بازهای نیتروژنی فرار در ماهی ممکن است به دلیل فرایندهای آنزیمی مختلف نظیر آمین‌زدایی اسیدهای آمینه آزاد، تجزیه نوکلئوتیدها و اکسیداسیون آمین‌ها باشد [۲۸].

بیشترین مقادیر بازهای نیتروژنی فرار در تیمار شاهد مشاهده شد. کمتر بودن میزان بازهای ازته فرار در این تیمار نسبت به بقیه تیمارها را می‌توان به دلیل کاهش جمعیت باکتری تیمارهای مذکور و یا کاهش توانایی اکسایشی باکتری‌ها در جدا کردن آمین‌ها از ترکیبات نیتروژنی غیرفرار و یا هر دو عامل در نتیجه اثر عصاره بر باکتری‌های موجود در فیله نسبت داد. با افزایش غلظت عصاره به دلیل افزایش ترکیبات فنولی اثر ضد باکتریایی آن نیز افزایش یافته به همین دلیل در تیماری که حاوی غلظت بیشتر عصاره بوده میزان بازهای نیتروژنی کمتر بود [۸ و ۲۸]. مقادیر بازهای نیتروژنی فرار در تیمارهای حاوی نانو عصاره کمتر از مابقی تیمارها بود. علت این امر افزایش خاصیت ضد باکتریایی عصاره‌ها پس از انکپسولاسیون و یا حفظ پایداری خواص ضدباکتریایی برای مدت طولانی‌تر پس از انکپسولاسیون می‌باشد. Pezeshk و همکاران [۵۱] نشان دادند که عصاره‌های موسیر و زردچوبه در به تأخیر انداختن مجموع بازهای ازته فرار در فیله ماهی قزل‌آلا نگهداری شده طی دوره نگهداری در یخچال مؤثر بوده است.

در خصوص رزماری، نیز مطالعات Ucak و همکاران [۴۷] و Nieto همکاران [۴۸] تأیید کننده نتایج این مطالعه می‌باشند.

## ۶- منابع

- nano-encapsulated *Pulicaria gnaphalodes* (Vent.) Boiss. extract on quality attributes of rainbow trout. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 30(1), 62-75.
- [9] Mohamed, H. M., & 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.
- [10] Shahidi, Y. S., Mazandarani, M., Ghorbani, H. S. A., Ghorbani, R., & Soleymani, N. (2008). Determination of normal values of some blood serum factors (Electrolyte and non electrolyte) of *Acipenser persicus*. *New Technologies in Aquaculture Development (Journal of Fisheries)*, 2 (1), 25-32.
- [11] Shafizadeh, A., Golestan, L., Ahmadi, M., Darjani, P., & Ghorbani-HasanSaraei, A. (2020). Encapsulation of *Lactobacillus casei* in alginate microcapsules: improvement of the bacterial viability under simulated gastrointestinal conditions using flaxseed mucilage. *Journal of food measurement and characterization*, 14(4), 1901-1908.
- [12] Shaviklo, A. R., Moradinezhad, N., Abolghasemi, S. J., Motamedzadegan, A., Kamali-Damavandi, N., & Rafipour, F. (2016). Product optimization of fish burger containing tuna protein isolates for better sensory quality and frozen storage stability. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 16(4), 923-933.
- [13] Motamedzadegan, A., & Khaosravi Rad, T. (2021). The effect of basil and cress seed gum on rheological properties, texture, and color of phytophagous fish paste. *Journal of food science and technology (Iran)*, 18(113), 313-328.
- [14] 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.
- [15] Sallam, K. I. (2007). Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food control*, 18(5), 566-575.
- [16] 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.
- [1] Hamzeh, S., Motamedzadegan, A., Shahidi, S. A., Ahmadi, M., & Regenstein, J. M. (2019). Effects of drying condition on physico-chemical properties of foam-mat dried shrimp powder. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 28(7), 794-805.
- [2] Pouryousef, N., Ahmady, M., Shariatifar, N., Jafarian, S., & Shahidi, S. A. (2022). The effects of essential oil *Mentha pulegium* L. and nisin (free and nanoliposome forms) on inoculated bacterial in minced silver carp fish (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-11.
- [3] Ovissipour, M., Kenari, A. A., Motamedzadegan, A., Rasco, B., & Nazari, R. M. (2011). Optimization of protein recovery during hydrolysis of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) visceral proteins. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 20(2), 148-159.
- [4] Aubourg, S. P., Rodríguez, A., & Gallardo, J. M. (2005). Rancidity development during frozen storage of mackerel (*Scomber scombrus*): effect of catching season and commercial presentation. *European journal of lipid science and technology*, 107(5), 316-323.
- [5] Gómez-Estaca, J., Giménez, B., Montero, P., & Gómez-Guillén, M. C. (2009). Incorporation of antioxidant borage extract into edible films based on sole skin gelatin or a commercial fish gelatin. *Journal of Food Engineering*, 92(1), 78-85.
- [6] Hamzeh, A., Rezaei, M., Khodabandeh, S., Motamedzadegan, A., & Noruzinia, M. (2018). Antiproliferative and antioxidative activities of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) protein hydrolysates as affected by degree of hydrolysis. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(2), 721-727.
- [7] Kenari, R. E., Amiri, Z. R., Motamedzadegan, A., Milani, J. M., Farmani, J., & Farahmandfar, R. (2020). Optimization of Iranian golpar (*Heracleum persicum*) extract encapsulation using sage (*Salvia macrosiphon*) seed gum: chitosan as a wall materials and its effect on the shelf life of soybean oil during storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(5), 2828-2839.
- [8] Mehdizadeh, A., Shahidi, S. A., Shariatifar, N., Shiran, M., & Ghorbani-HasanSaraei, A. (2021). Evaluation of chitosan-zein coating containing free and

- dispersions and films based on corn starch and sodium caseinate. *Food Hydrocolloids*, 35, 159-169.
- [26] Pouryousef, N., Ahmady, M., Shariatifar, N., Jafarian, S., & Shahidi, S. A. (2022). The Effects of *Mentha pulegium* L. Aqueous Extract and Nisin (Free and Nonliposomes Forms) on Chemical, Biological, and Sensory Characteristics of Minced Silver Carp Fish (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, DOI: 10.1080/10498850.2022.2120379.
- [27] Natseba, A., Lwalinda, I., Kakura, E., Muyanja, C. K., & Muyonga, J. H. (2005). Effect of pre-freezing icing duration on quality changes in frozen Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Research International*, 38(4), 469-474.
- [28] Tometri, S. S., Ahmady, M., Ariaii, P., & Soltani, M. S. (2020). Extraction and encapsulation of *Laurus nobilis* leaf extract with nano-liposome and its effect on oxidative, microbial, bacterial and sensory properties of minced beef. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(6), 3333-3344.
- [29] 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.
- [30] Kothari, V., Gupta, A., & Naraniwal, M. (2012). Comparative study of various methods for extraction of antioxidant and antibacterial compounds from plant seeds. *Journal of Natural Remedies*, 12(2), 162-173.
- [31] Wang, L., & Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 300-312.
- [32] Maleki, M., Ariaii, P., & Fallah, H. (2016). Effects of celery extracts on the oxidative stability of canola oil under thermal condition. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(3), 531-540.
- [33] Cedeño-Pinos, C., Martínez-Tomé, M., Murcia, M. A., Jordán, M. J., & Bañón, S. (2020). Assessment of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract as antioxidant in jelly candies made with fructan fibres and stevia. *Antioxidants*, 9(12), 1289.
- [34] Naveena, B. M., Vaithyanathan, S., Muthukumar, M., Sen, A. R., Kumar, Y. P., [17] Afshar, P., Shokrzadeh, M., Roozbeh Nasiraie, L., Ghorbani-HasanSaraei, A., Naghizadeh Raeisi, S., & Alimi, M. (2020). Antioxidants protective effects on oxidative stress damage induced by mycotoxins: A Review. *Clinical Excellence*, 10(1), 1-20.
- [18] Azarashkan, Z., Motamedzadegan, A., Ghorbani-HasanSaraei, 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*. DOI: 10.1002/fsn3.3001.
- [19] Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. D., & Corke, H. (2007). Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against foodborne pathogenic bacteria. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(14), 5484-5490.
- [20] Gortzi, O., Lalas, S., Chinou, I., & Tsaknis, J. (2006). Reevaluation of antimicrobial and antioxidant activity of *Thymus* spp. extracts before and after encapsulation in liposomes. *Journal of food protection*, 69(12), 2998-3005.
- [21] Kong, B., Zhang, H., & Xiong, Y. L. (2010). Antioxidant activity of spice extracts in a liposome system and in cooked pork patties and the possible mode of action. *Meat science*, 85(4), 772-778.
- [22] Muñoz-Márquez, D. B., Rodríguez, R., Balagurusamy, N., Carrillo, M. L., Belmares, R., Contreras, J. C., ... & Aguilar, C. N. (2014). Phenolic content and antioxidant capacity of extracts of *Laurus nobilis* L., *Coriandrum sativum* L. and *Amaranthus hybridus* L. *CyTA-Journal of Food*, 12(3), 271-276.
- [23] Bendjersi, F. Z., Tazerouti, F., Belkhef-Slimani, R., Djerdjouri, B., & Meklati, B. Y. (2016). Phytochemical composition of the Algerian *Laurus nobilis* L. leaves extracts obtained by solvent-free microwave extraction and investigation of their antioxidant activity. *Journal of Essential oil Research*, 28(3), 202-210.
- [24] Ahmed, E. O., Ali, M. E., & Aziz, A. A. (2011). Length-weight relationships and condition factors of six fish species in Atbara River and Khashm el-girba Reservoir, Sudan. *International Journal of Agriculture Sciences*, 3(1), 65-70.
- [25] Jiménez, A., Sánchez-González, L., Desobry, S., Chiralt, A., & Tehrany, E. A. (2014). Influence of nanoliposomes incorporation on properties of film forming

- [43] Viuda-Martos, M., Mohamady, M. A., Fernández-López, J., Abd ElRazik, K. A., Omer, E. A., Pérez-Alvarez, J. A., & Sendra, E. (2011). In vitro antioxidant and antibacterial activities of essential oils obtained from Egyptian aromatic plants. *Food Control*, 22(11), 1715-1722.
- [44] Badee, A. Z. M., El-Akel A.T., and Abuhlega, T.A. (2013). Utilization of some essential oils to extend the shelf-life of coated semi fried Nile perch fish fillets during cold storage. *The Journal of Applied Sciences Research*, 9, 3508-3519.
- [45] Fijelu, F., Yanshun, X. U., Qixing, J. I. A. N. G., & Wenshui, X. (2014). Protective effects of garlic (*Allium sativum*) and ginger (*Zingiber officinale*) on physicochemical and microbial attributes of liquid smoked silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) wrapped in aluminium foil during chilled storage. *African journal of food science*, 8(1), 1-8.
- [46] Mazandrani, H. A., Javadian, S., & Bahram, S. (2016). The effect of encapsulated fennel extracts on the quality of silver carp fillets during refrigerated storage. *Food science & nutrition*, 4(2), 298-304.
- [47] Uçak, İ., Özogul, Y., & Durmuş, M. (2011). The effects of rosemary extract combination with vacuum packing on the quality changes of Atlantic mackerel fish burgers. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(6), 1157-1163.
- [48] Nieto, G., Ros, G., & Castillo, J. (2018). Antioxidant and antimicrobial properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A review. *Medicines*, 5(3), 98.
- [49] 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.
- [50] Valipour Kootenaie, F., Ariaii, P., Khademi Shurmasti, D., & Nemati, M. (2017). Effect of chitosan edible coating enriched with eucalyptus essential oil and  $\alpha$ -tocopherol on silver carp fillets quality during refrigerated storage. *Journal of food safety*, 37(1), e12295.
- [51]Pezeshk, S., Rezaei, M., Rashedi, H., & Hosseini, H. (2012). Investigation of antibacterial and antioxidant activity of turmeric extract (*Curcuma Longa*) on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in vitro. *Food Science and Technology*, 9(35), 77-87.
- Kiran, M., ... & Chandran, K. R. (2013). Relationship between the solubility, dosage and antioxidant capacity of carnosic acid in raw and cooked ground buffalo meat patties and chicken patties. *Meat Science*, 95(2), 195-202.
- [35] Mak, Y. W., Chuah, L. O., Ahmad, R., & Bhat, R. (2013). Antioxidant and antibacterial activities of hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) and Cassia (*Senna bicapsularis* L.) flower extracts. *Journal of King Saud University-Science*, 25(4), 275-282.
- [36] Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S., & Altundag, S. (2009). Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chemistry*, 112(4), 874-879.
- [37] Muñoz-Márquez, D. B., Martínez-Ávila, G. C., Wong-Paz, J. E., Belmares-Cerda, R., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2013). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Laurus nobilis* L. and their antioxidant activity. *Ultrasonics sonochemistry*, 20(5), 1149-1154.
- [38] Lagha-Benamrouche, S., & Madani, K. (2013). Phenolic contents and antioxidant activity of orange varieties (*Citrus sinensis* L. and *Citrus aurantium* L.) cultivated in Algeria: Peels and leaves. *Industrial Crops and Products*, 50, 723-730.
- [39] Yousfbeyk, F., Esmaili, T., Pashna, Z., Hozori, Z., Ghohari, A. R., Ostad, S. N., & AMIN, G. R. (2014). Antioxidant activity, total phenol and total anthocyanin contents of *Cornus sanguinea* L subsp *australis*. (CA Mey.) Jáv. *Journal of Medicinal Plants*, 13 (49), 69-74.
- [40] Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*, 22(3), 296-302.
- [41] Mexis, S. F., Chouliara, E., & 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(6), 598-605.
- [42] Keshri, R. C., & Sanyal, M. K. (2009). Effect of sodium alginate coating with preservatives on the quality of meat patties during refrigerated (4±1°C) storage. *Journal of muscle foods*, 20(3), 275-292.



## The effect of free form and microcoating with nanoliposomes of *Laurus nobilis* and Rosemary leaves extracts on the behavior of some chemical indicators of spoilage in Silver carp fish kept at refrigerator temperature

Aala, J. <sup>1</sup>, Ahmadi, M. <sup>2\*</sup>, Golestan, L. <sup>3</sup>, Shahidi, S. A. <sup>4</sup>, Shariatifar, N. <sup>5</sup>

1. Department of Food Hygiene, 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 Hygiene, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
4. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
5. Associate Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 2022/ 09/ 12

Accepted 2022/ 10/ 25

#### Keywords:

Antioxidant properties,  
Bay laurel,  
Chemical indicators,  
Liposome,  
Rosemary plant,  
Silver carp.

DOI: 10.22034/FSCT.19.131.275

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.22.3

\*Corresponding Author E-Mail:  
[drahmady@gmail.com](mailto:drahmady@gmail.com)

### ABSTRACT

In this study, the effect of bay laurel and rosemary leaf extracts in two forms, free and nanoliposome, on the chemical indices of spoilage (TVB-N) and (TBA) in minced Silver carp fish was investigated. Extracts were evaluated for phenolic and flavonoid compounds. The treatments studied in minced Silver carp fish included control treatment, treatments containing 1 and 1.5% of free extract of *Laurus nobilis* leaves and Rosemary and treatments containing 1 and 1.5%. It is one of the liposome-coated extracts that was tested at refrigerator temperature at 0, 4, 8 and 12 days with 3 replications. The results showed that the amount of phenolic and flavonoid compounds in rosemary extract was more favorable than fragrant leaves. The aqueous extract of rosemary had higher levels of phenolic (344.66 mg gallic acid / g extract) and flavonoid (245.33 mg Rutin / g extract) compounds compared to the bay laurel extract (257.66 mg gallic acid / g extract) and (151.26 mg Rutin / g extract) respectively. The results of chemical changes in minced Silver carp showed that with increasing the storage time of fish at refrigerator temperature, the mentioned parameters increased, but nevertheless, in the treatment containing the finely coated form of two plants, *Laurus nobilis* leaves and rosemary (concentration 1.5%), The changes were significantly slower than other treatments, and according to the results, it can be concluded that in general, the addition of extracts Odor of *Laurus nobilis* and rosemary leaves in a concentration of 1.5%, maintains the quality of Silver carp fish in terms of chemical quality indicators.