

مطالعه رشد باکتری *Staphylococcus aureus* در فیله‌های ماهی کپور نقره‌ای فرآوری شده با نمک و نیسین

نسرین چوبکار^{۱*}، افشین آخوندزاده بستی^۲، مهدی سلطانی^۳، عباسعلی ساری^۲، علی ملکشاهی^۲، غزال نعمتی^۲، راضیه پرتوی^۲

(۱) گروه مهندسی شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه، کرمانشاه - ایران.

(۲) گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(۳) گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(دریافت مقاله: ۳۱ تیر ۱۳۸۸، پذیرش نهایی: ۲۵ آذر ۱۳۸۸)

چکیده

امروزه تقاضا برای استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی از جمله باکتریوسین‌ها جهت کنترل میکروارگانیسم‌های با منشأ مواد غذایی در فرآورده‌های دریایی روبه‌افزایش است. این مطالعه به منظور ارزیابی اثرات ضد میکروبی نیسین بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در فیله‌ی کپور نقره‌ای شورسبک و سنگین (۴ و ۸ درصد نمک) صورت گرفت. اثر غلظت‌های مختلف نیسین (۰، ۰/۱۵، ۰/۲۵، ۰/۷۵ و ۱/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بر رفتار رشد استافیلوکوکوس اورئوس در شرایط نامناسب یخچالی (۱۰ درجه سانتیگراد) از طریق سنجش میزان رشد باکتری در فیله ماهی شور بررسی شد. نتایج نشان داد که تأثیر غلظت‌های مورد استفاده از نیسین در جلوگیری از رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در هر دو نوع ماهی شورسبک و سنگین نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بوده است ($p < 0.05$). این مطالعه نشان داد که نیسین دارای اثر بازدارندگی بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس است و می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در ماهی شورسبک و سنگین مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: *Staphylococcus aureus*، فیله‌ی کپور نقره‌ای، نمک، نیسین.

از این ترکیبات نگهدارنده طبیعی، نیسین (پلی‌پپتیدی که توسط سویه‌های خاصی از باکتری‌های لاکتوکوکوس در طول تخمیر ایجاد می‌گردد) می‌باشد که مانع رشد بسیاری از باکتری‌های گرم مثبت می‌گردد (۱۱).

تاکنون مطالعات متعددی پیرامون اثرات ضد باکتریایی نیسین در محیط‌های آزمایشگاهی انجام گرفته است مطالعات چندی نیز در مورد تأثیر ضد میکروبی نیسین در مدل‌های غذایی مایع صورت گرفته است و نیز مطالعات اندکی نیز در زمینه تأثیر این ماده در فرآورده‌های خام گوشتی انجام شده است اما در مجموع در مورد تأثیر مواد نگهدارنده طبیعی به ویژه نیسین در مدل‌های غذایی جامد به ویژه گوشت ماهی که در طول فرآوری به سرعت آلوده می‌شوند اطلاعات کمی وجود دارد. لذا با توجه به ضرورت به کارگیری مواد نگهدارنده غیر مضر برای مصرف کنندگان از طرفی و فسادپذیری سریع برخی فرآورده‌های غذایی نظیر گوشت ماهی، یافتن مواد نگهدارنده مفید برای کاهش بار میکروبی این گونه فرآورده‌ها یکی از ضرورت‌های امروری ارتقاء سطح بهداشت مواد غذایی در جوامع می‌باشد. لذا هدف از این تحقیق تأثیر غلظت‌های مختلف محلول نیسین شامل (۰/۱۵، ۰/۲۵، ۰/۷۵ و ۱/۵ میکروگرم به ازای هر میلی‌لیتر) بر روی رفتار رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان یکی از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زای غذایی در عضله ماهی کپور نقره‌ای تازه قبلاً شور

مقدمه

بر اساس گزارشات سازمان بهداشت جهانی هر ساله بیش از ۳۰ درصد مردم در کشورهای صنعتی از بیماری‌های منتقله توسط غذا رنج می‌برند (۱۷). استافیلوکوکوس در اغلب یا تمام محصولات غذایی یا آنهایی که به طور مستقیم توسط انسان هادستکاری می‌شوند می‌توانند حضور داشته باشند مخصوصاً در فرآورده‌های شور با توجه به مقاومت آنها به نمک و رشد در محتوای رطوبتی پایین، احتمال خطر بالایی از نظر مسمومیت غذایی وجود خواهد داشت (۱).

به منظور ماندگاری طولانی تر غذاها و جلوگیری از رشد باکتری‌ها، از روش‌های شیمیایی استفاده می‌گردد.

اما امروزه بر استفاده کمتر از این روش‌ها تأکید می‌شود زیرا از یک سو مصرف کنندگان مواد غذایی خواستار غذاهای طبیعی با ماندگاری طولانی، همراه با کمترین تغییر در ساختار آن می‌باشند و از سوی دیگر خاصیت سرطان‌زایی و سمی بودن برخی از نگهدارنده‌های شیمیایی نیز برای انسان به اثبات رسیده است (۵). از این رو فشار بر روی صنایع غذایی برای جایگزینی سریع نگه‌دارنده‌های شیمیایی و استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی یکی از رویکردهای جدید در جهت ارتقاء سلامت غذاها و به دنبال آن افزایش سطح سلامت عمومی جوامع می‌باشد. یکی



برش های ماهی شور از ۱۰۰ میکرولیتر محتویات شیشه زیمکس استفاده می شد تا در هر سانتیمتر مربع از برش ماهی 1×10^4 باکتری موجود باشد.

تهیه محلول نیسین

از پودر نیسین (Sigma) $2/5$ درصد استفاده شد و به منظور استفاده از آن در اسید کلریدریک (Merck) $0/2$ نرمال حل گردید و در ظرف استریل توسط فیلتر $0/2$ میکرون، استریل کرده و با استفاده از رابطه $N1V1 = N2V2$ مقدار مورد نظر از آن را برداشته و به ظروف حاوی آب مقطر استریل افزوده و پس از مخلوط شدن (همگن شدن)، فیله های ماهی اشعه دیده آبه آن اضافه گردید.

آماده سازی محلول نمک

در شیشه های بزرگ درب دار استریل شده آب مقطر و نمک (در غلظت های 4 درصد و 8 درصد) با استفاده از مگنت و قرار دادن روی دستگاه همزن مغناطیسی، نمک به خوبی حل گردید و سپس در دمای $21/1$ درجه سانتیگراد به مدت 15 دقیقه اتوکلاو شد. سپس حجم های مورد نظر از محلول نیسین با غلظت های $0/15$ ، $0/25$ ، $0/75$ ، $1/5$ میکرو گرم به ازای هر میلی لیتر را به غلظت های مذکور نمک اضافه کرده و توسط مگنت و قرار دادن روی همزن مغناطیسی محلول نیسین به خوبی در آب نمک های فوق الذکر حل گردید.

تهیه و آماده سازی فیله ماهی

پس از تهیه و خریداری تعدادی ماهی کپور نقره ای 2 کیلوگرمی از یکی از مزارع پرورشی کپور ماهیان و انتقال سریع آنها در کنار یخ به آزمایشگاه نسبت به آماده سازی ماهیان و تهیه فیله های 25 گرمی به تعداد 10 فیله برای هر تیمار نسبت به استریل نمودن فیله ها با استفاده از سیستم پرتو دهی اشعه گاما ($GC-220$) به میزان 3 کیلوگری توسط چشمه کبالت 60 در سازمان انرژی اتمی ایران اقدام گردید و سپس توسط یخ به آزمایشگاه انتقال داده شد. فیله های استریل شده (اشعه داده شده) به هریک از تیمارهای آماده شده نمک و نیسین منتقل و به مدت 24 ساعت در یخچال با دمای 5 درجه سانتیگراد در این غلظت ها نگهداری گردید.

انتقال فیله های ماهی به کیسه های استریل و تلقیح باکتری روی آنها

پس از گذشت 24 ساعت، فیله ها توسط پنس استریل به داخل ظروف استریل منتقل و پس از تنظیم وزن مجدد، نسبت به تلقیح غلظت مورد اشاره باکتری روی آنها اقدام گردید و پس از جذب در آنها، هر فیله را داخل یک کیسه Bag mixer استریل قرار داده و روی آن برچسب زده، درب آن را محکم بسته و در انکوباتور با دمای 10 درجه سانتیگراد قرار داده و سپس در روزهای 10 ، 20 ، 30 ، 40 ، 50 ، 60 ، 70 ، 80 ، 90 و 100 از نظر رشد باکتری و رسیدن آنها به حد غلظت مسمومیت زایی یعنی $10^6 > (16)$ بررسی شدند بدین ترتیب که هر کیسه را برداشته به آن 225 میلی لیتر آب پپتونه $0/1$ درصد استریل افزوده

شده با شوری سبک 4 درصد و سنگین 8 درصد و نگهداری شده در شرایط نامناسب یخچالی (10 درجه سانتیگراد) بوده است. لازم به ذکر است که شور کردن تا حد 8 درصد نمک در مجموع جز شور کردن سبک در نظر گرفته می شود.

مواد و روش کار

باکتری مورد مطالعه

باکتری لیوفلیزه استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 6538 از گروه میکروب شناسی دانشکده دامپزشکی تهران تهیه شد.

فعال سازی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

به منظور فعال سازی باکتری از کشت لیوفلیزه در محیط آبگوشته قلب و مغز در 25 درجه سانتیگراد به مدت $18-16$ ساعت (Over night) و حداقل برای دو بار متوالی کشت داده شد. سپس بررسی تعداد باکتری در هر میلی لیتر از کشت دوم و تکرار کشت و شمارش مجدد حداقل برای سه بار متوالی صورت گرفت و در نهایت نیز تعداد باکتری در هر میلی لیتر مشخص گردید. همچنین کشت آخر جهت استفاده در تحقیقات بعدی به صورت 1 به 5 با گلیسرین 50 درصد استریل مخلوط و در حجم های 1 میلی لیتری در میکروتیوپ های اپندرف در 20 - درجه سانتیگراد نگهداری شد و هر بار جهت انجام آزمایش، این کشت نگهداری شده در 20 - درجه سانتیگراد مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه میزان تلقیح باکتریایی

تهیه میزان تلقیح باکتری مورد آزمایش، با انتقال باکتری از لوله میکروسانتریفیوژ اپندورف به محیط برات (BHI) و نگهداری به مدت 18 ساعت در 37 درجه سانتیگراد انجام گرفت. مجدداً کشت دومی از این کشت 18 ساعته اولیه، در برات (BHI) دیگر (به مدت 18 ساعت در 37 درجه سانتیگراد) تهیه شد. سپس لوله های کووت حاوی 5 میلی لیتر برات استریل تهیه گردید. مقادیر مختلفی از کشت برات 18 ساعته دوم بر روی لوله های کووت مذکور برده شد. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Milton Roy Company USA) در طول موج 600 نانومتر، جذب نوری لوله های مذکور خوانده شد. بدین ترتیب در هر بار انجام آزمایش (تعیین لگاریتم درصد احتمال رشد)، با مشخص شدن جذب نوری که معادل تقریباً 10^7 باکتری در هر میلی لیتر بود (که بعد با کشت Pour Plate نیز تأیید می شد)، لوله کووت حاوی تقریباً 10^7 باکتری در هر میلی لیتر مشخص گردید. سپس 1 میلی لیتر از این لوله کووت را برداشته و در شیشه زیمکس، 39 میلی لیتر آب پپتونه استریل به آن افزوده گردید تا در نهایت در هر 100 میکرولیتر از محتویات شیشه زیمکس $10^4 \times 2/5$ باکتری موجود باشد (که با کشت بر روی آگار این تعداد تأیید می شود). حال در زمان تلقیح



جدول ۱- لگاریتم رشد باکتری (±خطای استاندارد از میانگین) در فیله‌های ماهی کپور نقره‌ای متأثر از غلظت‌های مختلف نیسین و نمک در روزهای مختلف کشت: 1- cfu ml - Logn=log10. در هر ستون، حروف نامتشابه اختلاف آماری معنی دار نشان می‌دهد. - به معنای آن است که به دلیل بالا رفتن باکتری تا حد مسمومیت زای ۱۰۶ و فساد نمونه‌ها اندازه‌گیری صورت نگرفته است.

D۱۲	D۹	D۶	D۳	D۲	D۱	D۰	Nis (µg/ml)	NaCl (%)
-	-	-	۶/۸۱±/۰۰۶	۴/۱۷±/۰۰۷۵	۳/۴۱±/۰۰۹۹	۲/۹۵±/۰۰۵۳	۰	۰
-	-	۸/۱۰±/۰۰۰	۴/۴۱±/۰۰۱۵	۴/۰۷±/۰۵۷۷	۳/۱۴±/۰۰۰۹	۰/۹۵±/۰۰۴۸	۰	۴
-	-	۸/۲۵±/۰۰۰۷	۶/۱۳±/۰۰۰۵	۴/۲۴±/۰۰۱۲	۳/۱۴±/۰۰۱۵	۲/۷۷±/۰۰۳۶	۰/۱۵	۴
-	-	۷/۳۰±/۰۰۰۹	۶/۱۱±/۰۰۱۶	۴/۲۰±/۰۲۵۵	۳/۲۳±/۰۰۰۲۵	۲/۶۹±/۰۰۷۳	۰/۲۵	۴
-	۷/۸۰±/۰۰۲۷	۷/۱۱±/۰۰۰۲	۴/۰۰±/۰۰۴۳	۳/۲۳±/۰۰۲۴	۲/۷۹±/۰۰۷۳	۲/۶۷±/۰۰۷۳	۰/۷۵	۴
۷/۸۰±/۰۰۰۲	۷/۷۰±/۰۰۳۹	۶/۰۷±/۰۰۷۳	۴/۰۸±/۰۰۰۲	۳/۷۰±/۰۰۴۵	۳/۵۰±/۰۰۳۴	۲/۳۰±/۰۱۲۰	۱/۵	۴
-	۷/۸۰±/۰۰۰۵	۶/۵۰±/۰۱۳۱	۴/۷۰±/۰۰۰۴	۳/۷۸±/۰۰۲۳	۳/۰۰±/۰۱۵۱	۲/۹۰±/۰۰۴۸	۰	۸
-	۷/۸۰±/۰۰۰۴	۶/۵۰±/۰۰۱۲	۴/۶۹±/۰۰۰۷	۳/۷۷±/۰۰۸۴	۳/۰۰±/۰۷۵۵	۲/۷۷±/۰۰۷۴	۰/۱۵	۸
۷/۸۰±/۰۰۰۶۵	۶/۹۰±/۰۰۵۴	۶/۴۷±/۰۵۴۳	۴/۶۷±/۰۰۱۰	۳/۵۷±/۰۰۲۳	۳/۰۰±/۰۰۷۸	۲/۷۴±/۰۰۵۴	۰/۲۵	۸
۶/۹۹±/۰۰۹۸	۶/۷۹±/۰۱۲۵	۵/۴۰±/۰۰۰۵	۴/۶۲±/۰۴۳۴	۳/۶۱±/۰۰۹۶	۲/۹۸±/۰۰۷۵	۲/۷۴±/۰۲۳۴	۰/۷۵	۸
۷/۱۰±/۰۰۰۸	۶/۷۸±/۰۰۰۵	۵/۳۰±/۰۰۷۶	۳/۴۸±/۰۷۱۷	۳/۰۷±/۰۰۵۴	۲/۷۲±/۰۰۴۴	۲/۹۵±/۰۱۵۵	۱/۵	۸

روز کشت = D = نمک = NaCl نیسین = Nis

کردن محاسبه گردید میزان نمک بافت در محلول ۴ درصد آب نمک، ۳/۱ درصد و میزان آن در محلول نمک ۸ درصد، ۵ درصد محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

تأثیر ضد میکروبی مواد نگهدارنده نیسین و نمک بر رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس توسط شمارش باکتری‌ها در روزهای مختلف کشت بررسی گردید. هر تیمار که شامل غلظت‌های مختلف نمک و نیسین بود در سه بار تکرار انجام گردید و خطای استاندارد از میانگین آنها محاسبه گردید. داده‌های مربوط به نتایج مربوطه با استفاده از نرم افزار SPSS 15.0 و تست TUKEY در لگاریتم تعداد باکتری‌ها در غلظت‌ها و روزهای مختلف مورد تجزیه و تحلیل توصیفی قرار گرفت.

نتایج

لگاریتم تعداد باکتری در فیله‌های ماهی کپور نقره‌ای متأثر از غلظت‌های مختلف نیسین و نمک در طول دوره نگهداری در جدول نشان داده شده است.

با انجام آزمون آماری نشان داده شد که کلیه غلظت‌های نمک و نیسین مورد استفاده در مقایسه با گروه کنترل اثرات معنی داری در رشد

در دستگاه Bag mixer قرار داده تا محیط هموژن گردد و سپس توسط سمپلر ۱۰۰-۱۰۰۰ میکرولیتری مقدار ۱ میلی لیتر جهت تهیه رقت‌های ۱۰ تا ۱ میلی متوالی در لوله‌های شیشه‌ای محتوی ۹ میلی لیتر محلول استریل آب پیتونه ۰/۱ درصد و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به عنوان رقت از خود کیسه محتوی ماهی برداشت شده روی محیط کشت اختصاصی باکتری مورد نظر (محیط برد پارکر) انتقال داده و کشت داده و پس از ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شمارش گردید.

اندازه‌گیری نمک در نمونه ماهی

ماهی را در بوتله چینی کوبیده تا کاملاً له گردد. از آن ۲ گرم برداشته داخل کوره با دمای ۵۵ درجه سانتیگراد قرار داده تا به خاکستر تبدیل گردد. سپس به خاکستر آن ۱۰ سی سی آب مقطر ۶۰-۵۰ درجه سانتیگراد افزوده و محتویات بوتله چینی را به بشر انتقال داده و بوتله را با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر شستشو داده و ۵/۰ میلی لیتر دی‌کرومات پتاسیم ۱۰ درصد به بشر افزوده و سپس توسط نیترات نقره ۰/۱ نرمال تیترا انجام داده و از فرمول زیر محتوای نمک نمونه به دست می‌آید (۱۲).

$$\%NaCl = \frac{100 \times 0.0585 \times \text{نیترات نقره مصرفی}}{\%}$$

با استفاده از این روش میزان نمک موجود در بافت ماهی پس از شور



فعالیت باکتری های نمک دوست می گردد که می توان رشد این گونه باکتری ها را توسط افزودن نگهدارنده های طبیعی مانند ادویه ها محدود کرد (۱۳).

یکی از نگهدارنده های طبیعی، نیسین است که پلی پپتیدی است که حاصل فعالیت باکتری های لاکتیک اسید می باشد و دارای فعالیت ضد باکتریایی علیه باکتری های گرم مثبت است که در این مطالعه در مدل غذایی نیز نشان داده شد (۷). نیسین روی غشاء سیتوپلاسمیک باکتری ها عمل می کند و سبب از بین بردن باکتری ها می گردد (۱۸).

بر اساس نظر Singh و همکاران در سال ۲۰۰۳، در مدل های مختلف غذایی به دلیل واکنش این ترکیبات نگهدارنده با اجزای غذا تأثیر ممانعت کنندگی این ترکیبات نگهدارنده کاهش می یابد (۱۴). بررسی شده است که گیاهان در محیط برات دارای اثرات قوی تری نسبت به مدل های غذایی می باشند (۵).

چربی بر فعالیت ضد باکتریایی نیسین اثر منفی دارد پس استفاده از نیسین در محصولات غذایی با چربی زیاد تر تأثیر محدودتری بر رشد باکتری ها دارد (۴).

تأثیر ترکیبات نگهدارنده هنگام استفاده در محیط های "in vivo" کاهش می یابد که این به دلیل محتوای بالای چربی و پروتئین در این محیط ها (مانند گوشت) می باشد که سبب کاهش تأثیر این ترکیبات ضد میکروبی می گردد البته شرایط محیطی نیز تأثیر گذار می باشد (۶).

نتایج این تحقیق نشان می دهد که استفاده از نیسین همراه با نمک به عنوان نگهدارنده در ۱۰ درجه سانتیگراد در غلظت های مورد استفاده بر رشد باکتری ها در فیله های ماهی کپور نقره ای تأثیر داشته است.

بررسی گردیده است که استفاده از چند نگهدارنده با مقادیر کم بر مصرف یک نگهدارنده به تنهایی با مقادیر زیاد، ارجحیت دارد که این موضوع هم از نظر ماندگاری و هم حفظ خواص ظاهری، ارزش تغذیه ای و هم از نظر اقتصادی بهتر است (۹) که در این مطالعه از نمک و نیسین به عنوان نگهدارنده استفاده گردیده است و تا آن جا که می توان باید از به کار بردن نمک بالا به علت ممنوعیت افراد مبتلا به بیماری های قلبی عروقی در مصرف نمک زیاد جلوگیری کرده و با افزودن ترکیبات طبیعی نگهدارنده مانند نیسین از کاربرد نمک زیاد خودداری نمود.

در تأثیر نیسین بر گوشت اختلاف نظر وجود دارد برخی عنوان کرده اند که فسفولیپید موجود در گوشت فعالیت نیسین را محدود می کند و بهترین فعالیت نیسین در محیط مایع و هموژن می باشد و توسط آنزیم های پروتئولیتیک در غذاها مانند گوشت تازه، این باکتریوسین ها غیر فعال می شوند (۸) در حالی که در تحقیق انجام شده، مشاهده گردید که نیسین بر جلوگیری از رشد باکتری در گوشت ماهی موثر بوده است.

باکتری مورد مطالعه داشت. ($p < 0/05$) لازم به ذکر است که همان طور که قبلاً عنوان گردید بررسی رشد باکتری تا حد غلظت مسمومیت زایی یعنی بیش از 10^6 بررسی گردید که در جدول آمده است.

جدول انشان می دهد که در روز صفر در گروه های مختلف لگاریتم تعداد باکتری ها اختلاف آماری معنی داری را نشان نمی دهند. اما در روز اول نمونه برداری در تیمار بدون نمک و بدون نیسین لگاریتم تعداد باکتری دارای رشد بیشتر و اختلاف آماری معنی داری در مقایسه با تیمارهای دیگر بود ($p > 0/05$) اما استفاده از ۴ درصد نمک و نیسین در غلظت های زیر ۲۵/۰ از نظر آماری تأثیر معنی داری در رشد باکتری ها ایجاد نکرده است ($p > 0/05$) با افزایش میزان نمک و نیسین به ویژه در غلظت های بالای نیسین، ۷۵/۰ و ۱۵/۰ میکروگرم بر میلی لیتر، لگاریتم رشد باکتری مورد مطالعه به کمترین میزان خود رسید که در مقایسه با گروه های دیگر مورد مطالعه از نظر آماری معنی داری بود ($p > 0/05$).

در روز دوم نمونه برداری در بالاترین غلظت نمک و نیسین مورد مطالعه، کمترین میزان رشد باکتریایی مشاهده گردید که از نظر آماری با سایر تیمارها معنی داری می باشد ($p > 0/05$).

همچنین در روز سوم نمونه برداری کمترین میزان رشد باکتری در بالاترین میزان نمک و نیسین مورد مطالعه مشاهده گردید که از نظر آماری با سایر تیمارهای مورد مطالعه معنی داری می باشد ($p < 0/05$) همچنین در نمک ۴ درصد و نیسین ۷۵/۰ و ۱۵/۰ نیز پس از آن رشد کمتری در تعداد باکتری مشاهده گردید و در روز ششم نمونه برداری، لگاریتم تعداد باکتری ها از عدد ۸ در تیمار بدون نمک و نیسین و نیز تیمار با ۴ درصد نمک و نیسین در غلظت ۰ و ۱۵/۰ به عدد ۵ در تیمار با بالاترین میزان نمک ۸ درصد و مقادیر بالای نیسین استفاده شده یعنی ۷۵/۰ و ۱۵/۰ رسید. در روز نهم نمونه برداری در تیمارهایی با نمک ۴ درصد و غلظت های مساوی و پایین تر از ۲۵/۰ نیسین، فساد در نمونه ها صورت گرفته بود و تعداد باکتری به بالاتر از حد مجاز مسمومیت زار رسیده بود و اما با افزودن نمک و نیسین ماندگاری در نمونه ها افزایش یافته بود به طوری که در نمک و نیسین بالا ماندگاری حتی تا روز دوازدهم نیز امکان پذیر بود در حالی که در تیمار بدون نمک و نیسین و در تیمار با ۴ درصد نمک و بدون نیسین، ماندگاری تنها تا روز سوم امکان پذیر بود.

بحث

بر اساس مطالعات صورت گرفته، باکتری *aureus* *Staphylococcus* از ماهیان شور و دودی کپور نقره ای ایران جداسازی شده است (۳).

فساد میکروبی سبب محدودیت در ماندگاری ماهی شور به دلیل



References

1. Akhondzadehh Basti, A., Misaghi, A., Khaschabi, D. (2007) Growth response and modelling of the effects of *Zataria multiflora Boiss.* essential oil, pH and temperature on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. LWT - Food Sci. Technol. 40:973-981.
2. Alipour Eskandani, M., Misaghi, A., Akhondzadeh Basti, A., Zahraei Salehi, T., Bokaie, S., Noori, N. (2009) Effect of *Zataria multiflora Boiss.* essential oil on the growth of *Bacillus cereus* ATCC 11778 in a commercial barley soup. J. Vet. Res. 64:29-32.
3. Basti, A. A., Misaghi, A., Salehi, T. Z., Kamkar, A. (2006) Bacterial pathogens in fresh, smoked and salted Iranian fish. J. Food Control. 17: 183-188.
4. Bhatti, M., Veeranachanani, A., Shelef, L. A. (2004) Factors affecting the antilisterial effects of Nisin in milk. Int. J. Food Microbiol. 97:215-219.
5. Burt, S. (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods. A review. Int. J. Food Microbiol. 94: 223-253.
6. Chi Wang, L., Shelef, A. (1992) Behavior of *Listeria monocytogenes* and the spoilage microflora in fresh cod fish treated with lysozyme and EDTA. Food Microbiol. 9: 207-213.
7. Delves-Broughton, J. (2005) Nisin as a food preservative. J. Food Australia. 57:12-14.
8. Juncioni de Arauz, L., Faustino Jozala, A., Gava Mazzola, P., Vessoni Penna, T. Ch. (2009) Nisin biotechnological production and application-A review. Trend. Food Sci. Tech. 20: 146-154.
9. Leistner, L., Gorris, L. M. G. (1995) Food preservation by hurdle technology. Trends Food Sci. Technol. 6:35-67.
10. Moosavy, M., Akhondzadeh Basti, A., Misaghi, A., Zahraei Ssalehi, T., Abbasifar, R., Mousavi, H., Alipour, M., Emami Razavi, N., Gandomi, H., Noori, N. (2009) Effect of *Zataria multiflora boiss.* Essential oil and nisin on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in a food model system and on the bacterial cell membranes. Food Res. Int. 41: 1055 - 1057.
11. Naidu, S. A. (2000) Natural food antimicrobial

بر اساس نظر Burt در سال ۲۰۰۴ فاکتورهای مختلف محیطی بر تاثیر ممانعت کنندگی این ترکیبات بر رشد باکتری ها، تاثیر گذار می باشد (۵). در مطالعه بر روی تاثیر غلظت های مختلف نیسین بر رشد باکتری *Staphylococcus aureus* و *Salmonella typhimurium* در سوپ جو تجارتي، رشد باکتری *Staphylococcus aureus* در هر دو دمای گرمخانه گذاری ۸ و ۲۵ درجه سانتیگراد به طور معنی دار تحت تاثیر غلظت های مختلف نیسین قرار گرفت ($p < 0.05$) (۱۰) که با نتایج حاصله از این تحقیق در ۱۰ درجه سانتیگراد همخوانی دارد. تاثیر مقادیر مختلف نیسین روی رشد باکتری *typhimurium* *Salmonella* در دمای ۸ درجه سانتیگراد معنی دار و در ۲۵ درجه سانتیگراد بی معنی بود (۱۰). پس تولید نیسین با مواد سوبسترای ارزان در داخل کشور می تواند راهگشایی جهت تسهیل مسیر تحقیقات مشابه این مطالعه می باشد. استفاده از سایر نگهدارنده های میکروبی طبیعی، بررسی اثرات سینرژیستی و آنتاگونیستی احتمالی و یافتن ترکیبات دیگر مشابه و نیز بررسی تغییرات شیمیایی و تاثیرات ضد میکروبی آنها در مدل های مختلف غذایی و نیز درجات حرارتی مختلف نگهداری می تواند شروع راهی جهت تحقیقات بیشتر جهت کنترل میکروبی و کیفی مواد غذایی و ماندگاری طولانی تر و تأخیر در فساد آنها باشد تا در صنعت نیز بتوان از آنها استفاده نمود.

تشکر و قدرانی

این تحقیق با استفاده از اعتبارات پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه انجام شده است و در این جا از شورای محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه به جهت تصویب این طرح تحقیقاتی تشکر و قدرانی می گردد. همچنین در انجام این تحقیق از همکاری های بی دریغ مسئولین و کارشناسان بخش مواد غذایی و میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران برخوردار بوده که بدین وسیله از ایشان سپاسگزاری می گردد.



- system, (1st ed.) CRC press. Washington, USA .
12. Parvaneh, V .(2007) Quality Control & the chemical analysis of food, (4rd ed.) University of Tehran Publications. Tehran, Iran.
 13. Prasad, M. M., Seenayya, G. (2000) Effect of spices on the growth of red halophilic cocci isolated from salt cured fish and solar salt. Food Res. Int. 33: 793-798.
 14. Singh, A., Singh, R. K., Bhunia, A.k., Singh, N. (2003) Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs. Lebensm. Wiss. Technol. 36: 787-794.
 15. Solomakos, N., Govaris, A., Koidis, P., Botsoglou, N. (2007) The antimicrobial effect of thyme essential oil, Nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage. J. Food Microbiol. 25:120-127.
 16. Varnam, A. H., Evans, M. G. (1991) Food borne pathogens. Wolfe Publishing Ltd. London, UK.
 17. Vrinda Menon, K., Garg, v. (2001) Inhibitory effect of clove oil on *Listeria monocytogenes* in meat and cheese. Food Microbiol. 18: 647-650.
 18. Yamazaki, K., Yamamoto, T., Kawai, Y., Inoue, N. (2004) Enhancement of anti listerial activity of essential oil constituents by Nisin and diglycerol fatty acid eter. Food Microbiol. 21:283-289.



STUDY ON THE GROWTH OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN PROCESSED FILLETS OF SILVER CARP WITH SALT AND NISIN

Choobkar, N.^{1*}, Akhonzadeh Basti, A.², Soltani, M.³, Sari, A. A.², Malekshahi, A.², Nemati, Gh.², Partovi, R.²

¹Fisheries Department, Kermanshah branch, Islamic Azad University, Kermanshah- Iran.

²Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.

³Department of Aquatic Animals Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.

(Received 22 July 2009 , Accepted 16 December 2009)

Abstract:

There is increasing demand for use of natural preservatives such as bacteriocins to control foodborne pathogens in seafoods. This study was performed to evaluate the antimicrobial effects of Nisin on *Staphylococcus aureus* in light and heavy salted silver carp fillets (4 and 8% NaCl). Effect of different concentrations of Nisin (0, 0.15, 0.25, 0.75, 1.5 µg/ml) on behavior of *S. aureus* at unfavourable refrigeration storage temperature (10°C) was determined by evaluation of the bacterial growth in salted fish fillets. The results showed that used concentrations of Nisin had inhibitory effect on the growth of *S. aureus* in light and heavy salted fish fillets compared to the control ($p < 0.05$). This study showed inhibitory effect of Nisin on the growth of *S. aureus*. Therefore it can be considered as a natural preservative in light and heavy salted fish.

Key words: *Staphylococcus aureus*, silver carp fillet, salt, Nisin.

*Corresponding author's email: nchoobkar@iauksh.ac.ir, Tel: 0831-7243181, Fax: 0831-7243196

