بررسی اثرات آنتی باکتریال نیسین بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در گوشت چرخ شده گوسفندی نگهداری شده در یخچال

ریحانه قشونی زاده[1]، سید ابراهیم حسینی*[2]، پیمان مهستی[2]، شاهرخ شعبانی[2]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

***نویسنده مسئول:** *ebhoseini@yahoo.com:*

تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹٤/۳/۲۵

چکیده

با توجه به اثرات جانبی نگهدارنده‌های شیمیایی و توجه تولید کنندگان مواد غذایی به نگهدارنده‌های طبیعی، ارزیابی اثرات ضد میکروبی نگهدارنده‌های طبیعی در مدل‌های آزمایشگاهی و غذایی ضروری به نظر می‌رسد باشد. کنترل میکروبی گوشت از لحاظ سلامت انسان و ارتقاء سطح کیفی زندگی دارای اهمیت بسیاری می‌باشد. باکتریوسین نیسین نسبت به سایر باکتریوسین‌ها دارای طیف مهاری وسیعتری است و باکتری‌های عامل مسمومیت غذایی نظیر استافیلوکوکوس اورئوس و بسیاری از میکروارگانیسم‌های گرم مثبت مولد فساد را مهار می‌کند. هدف تحقیق حاضر، بررسی استفاده از نیسین بر رشد و بقاء باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در گوشت چرخ کرده بود.مواد و روش ها:به نمونه‌های گوشت چرخ شده گوسفند میزان 1×10^{3} CFU/g باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ATCC29213 تلقیح شد. تیمارهای نیسین در سه سطح ۵ ، ۷ ، ۹ µg/ml تهیه گردید. همه تیمارها و گروه شاهد بسته بندی و به مدت ۱۴ روز در دمای یخچال نگهداری شدند. پارامترهای مورد بررسی شامل شمارش کلی، شمارش استافیلوکوکوس اورئوس، تعیین pH، در روزهای ۱ ، ۳ ، ۷ ، ۱۴ ارزیابی می‌باشد.یافته ها: بر اساس یافته‌های این تحقیق مقادیر مختلف نیسین بر روی رشد باکتری مورد مطالعه تاثیر معنی داری داشت($p<0/05$). همچنین با گذشت زمان از خاصیت مهارکنندگی نیسین علیه رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس کاسته شد.

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، نیسین، گوشت چرخ کرده گوسفند.

مقدمه

همزمان با پیشرفت‌های نوین در عرصه کشتار بهداشتی و تکنیک‌های جدید تهیه محصول، سلامت و ایمنی مواد غذایی به طور فزاینده‌ای در بهداشت عمومی اهمیت می‌یابد. تخمین زده می‌شود که ۳۰٪ مردم در کشورهای صنعتی، حداقل یک‌بار در سال از بیماری‌های ناشی از مواد غذایی رنج می‌برند. بنابراین، نیاز به کاهش یا حذف پاتوژن‌های غذایی با استفاده از روش‌های مختلف احساس می‌شود. رشد میکروارگانیسم‌ها مهم‌ترین علت فساد مواد غذایی است و به همین علت یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های صنعت غذا کنترل میکروارگانیسم‌های بیماری زا و عامل فساد می‌باشد (Bouhdid et al., 2010). فساد مواد غذایی در سراسر جهان از جدی‌ترین و پرهزینه‌ترین نگرانی‌ها برای سلامت عمومی می‌باشند (Abdollahzadeh et al., 2013).

در میان محصولات غذایی، گوشت یکی از حساس‌ترین مواد غذایی فساد پذیر به شمار می‌آید زیرا محیطی بسیار مساعد جهت فعالیت میکروب‌ها، مخمرها و کپک‌ها است (دباغ مقدم، ۱۳۸۴). استافیلوکوکوس اورئوس یکی از عوامل پیش رو در ایجاد عفونت‌های باکتریایی در کشورهای در حال توسعه بوده و مسئول ایجاد طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها در انسان و حیوان، از یک عفونت کوچک پوستی تا ذات‌الریه کشنده، است.

Archive of SID
www.SID.ir

(Chambers and Delves., 2005 ; Turlej et al., 2011).

امروزه، استفاده از روش‌های نوین نگهداری نظیر استفاده از باکتریوسین‌ها جایگاه ویژه‌ای درصنایع غذایی پیدا کرده‌اند. باکتریوسین‌ها اغلب به عنوان ابزارهای بیولوژیکی با ارزشی جهت ارتقای ایمنی غذا و کاهش شیوع بیماری‌های ناشی از غذاهای فاسد مطرح هستند. باکتریوسین نیسین ترکیب بیواکتیو و پپتیدی است که توسط برخی از باکتری‌های لاکتیک اسید تولید میکند. مصرف نیسین توسط سازمان‌های بین المللی مانند بهداشت جهانی، کشاورزی ملل متحد و غذا و داروی آمریکا مجاز شناخته شده است (Arauz et al. , 2009). در کشورهای مختلف مقادیر مجاز استفاده متفاوت بوده ولی عموما در رنج ppm ۱۰۰ – ۲/۵ هستند. بر خلاف آنتی بیوتیک‌ها باکتریوسین‌ها تنها بر تعداد محدودی از باکتری‌های گرم مثبت اثر می‌گذارند (Jay , 2000).

Ming و همکاران در سال ۲۰۰۶ تاثیرافزودن باکتریوسین‌ها به مواد بسته بندی غذایی جهت ممانعت از رشد لیستریا مونوسایتوژنز در گوشت‌ها را بررسی کردند. کیسه‌های پوشش داده شده توسط پودر پدیوسین به طور کامل از رشد لیستریا مونوسایتوژنز انکوباتورگذاری شده به مدت ۱۲ هفته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جلوگیری به عمل آورد. که این نتیجه حاصل شد که افزون لیستریا مونوسایتوژنز به بسته‌بندی غذاها روش موثری جهت کاهش رشد میکروارگانیسم‌ها در گوشت و مرغ است (Ming et al., 2006).

Millet در سال ۲۰۰۷ جلوگیری از رشد استافیلوکوکوس اورئوس بوسیله فیلم‌های اصلاح شده‌ی آلژینات حاوی نیسین در گوشت گوساله بررسی شد. نتایج نشان دادند که فیلم‌های زیست تجزیه پذیر، آب گریز و استریل حاوی مقادیر متفاوت نیسین می‌توانند به نحو موثری به منظور جلوگیری از رشد پاتوژن‌ها یا میکرو ارگانیسم‌های مسئول فساد در سطح گوشت گوساله یا دیگر فرآورده‌های گوشتی استفاده شوند (Millet , 2007).

Pinto و همکاران در سال ۲۰۱۱ اثر نیسین بر تعداد استافیلوکوکوس اورئوس و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی پنیر سنتی میناس سرو[1] بررسی شد. تغییرات عمده در ویژگی‌های فیزیکو شیمیایی، خواص مکانیکی و رنگ پنیر طی فرآیند رسیدن پنیر اتفاق افتادند. که البته شاخص رسیدن در حضور نیسین پایین تر بود. هدف از انجام این مطالعه نشان دادن خاصیت ضد میکروبی نیسین در پنیری که از شیر خام تهیه می‌شود ، می باشد (Pinto et al. , 2011)

هدف این پژوهش بررسی خاصیت ضد میکروبی نیسین بعنوان یک نگهدارنده طبیعی بر میزان آلودگی استافیلوکوکوس اورئوس گوشت چرخ کرده نگهداری شده در شرایط یخچالی است.

مواد و روش کار

آماده سازی نیسن: نیسین از شرکت سیگما (sigma-Aidrich Inc.United Kingdom, EC215-807-5) خریداری شد که به صورت پودر و حاوی ۲/۵ درصد نیسین فعال بود جهت تهیه محلول نیسین، ابتدا پودر نیسین در اسید کلریدریک ۲ درصد حل گردید و پس از سانتریفوژ کردن با دور ۷ هزار به مدت ده دقیقه، برای سترون کردن از فیلتر μ m ۰/۴۵ عبور داده شد و در شیشه استریل تیره رنگ در دمای ۱۸- نگهداری شد (حسین چی، ۱۳۹۸).

آماده سازی باکتری برای تلقیح

1 Minas Serro

Archive of SID

www.SID.ir

استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 2912139 به صورت زنده از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شد. سپس از کشت جوان و تازه ۲۴ ساعته که میکروارگانیسم‌های آن در فاز فعال خود هستند سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک فارلند از آن تهیه شد. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، پس از رشد کشت مربوطه، کلونی‌های سطح آن با محلول نرمال سالین ۰/۹٪ شسته شده و سوسپانسیون غلیظی از میکروب‌ها حاصل گردید. آنگاه به کمک پیپت پاستور استریل مقدار کمی از این سوسپانسیون غلیظ میکروبی، داخل لوله‌های درپیچ دار استریل ریخته و با افزودن محلول نرمال سالین، سوسپانسیون غلیظ تا حدی رقیق گردد که در مقایسه با محلول استاندارد ۰/۵ مک فارلند، میزان جذب سوسپانسیون در طول موج ۵۳۰ نانومتر اسپکتروفوتومتر (UA-160,SHIMADZU) با میزان جذب (کدورت) محلول ۰/۵ مک فارلند برابر گردد. (Abdollahzadeh et al., 2013).

آماده سازی گوشت

بیست و چهار ساعت پس از کشتار و طی زمان جمود نعشی گوشت سر دست تهیه شده از مراکز توزیع و عرضه گوشت در تهران تحت شرایط بهداشتی و در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل گردید و سطح بیرونی گوشت با غوطه ور کردن آن در اتانول ۹۵٪ استریل شد و سپس اتانول باقی مانده در سطح گوشت مشتعل و بعد از جداسازی سطح خارجی گوشت در شرایط اسپتیک قسمت داخلی گوشت به وسیله چرخ گوشت استریل چرخ شد(Solomakos et al., 2008).

آماده سازی نمونه‌ها

گوشت‌های چرخ شده را پس افزودن غلظت‌های مختلف نیسین ۵ ، ۷ ، ۹ µg/ml وتلقیح (۳ ماکرولیتر) باکتری از سوسپانسیون نیم مک فارلند به گونه‌ای که در هر گرم گوشت 10^3 سلول باکتری باشد به صورت بسته‌های ۱۰۰ گرمی در داخل پلاستیک‌های پلی اتیلنی که قبلا توسط اتوکلاو استریل شدند بسته بندی کرده سپس کیسه‌ها را در دمای ۴ درجه به مدت ۱۴ روز نگهداری و در روزهای ۱، ۳، ۷، ۱۴ آزمایشات مربوطه بر روی نمونه‌ها انجام شد(حسینچی، ۱۳۸۹).

شمارش استافیلوکوکوس اورئوس طی دوره نگهداری در طول دوره آزمایش، شمارش باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در روزهای ۱، ۳، ۷، ۱۴ نگهداری انجام پذیرفت. به منظور شمارش استافیلوکوکوس اورئوس از محیط انتخابی (برد پارکر آگار)[2] تولید شرکت مرک آلمان و مکمل آن تلوریت پتاسیم تولید شرکت مرک آلمان و سوسپانسیون زرده تخم مرغ استفاده شد. از نمونه چندین رقت تهیه گردید و به منظور شمارش باکتری‌ها از روش کشت سطحی بر روی محیط کشت B.P.A استفاده شده. (شعبانی، ۱۳۹۲) برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد.

شمارش کلی باکتری‌ها طی دوره نگهداری

یکی از روش‌های مناسب برای تعیین کل آلودگی میکروبی مواد غذایی آزمایش توتال کانت[3] است. برای این آزمون از روش کشت آمیختنی، درون محیط کشت پلیت کانت آگار (شرکت مرک آلمان) استفاده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۲-۳۰ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شدند(شعبانی، ۱۳۹۲).

آزمونpH : ۲۰ گرم نمونه در ۱۰۰ سی سی آب مقطر مخلوط کرده و پس از چند دقیقه ان را صاف میکنیم. بعد از گذشت ۱۰-۵ دقیقه در حرارت معمول آزمایشگاه و ست نمودن دستگاه pH متر مقدار pH را به وسیله قرار دان سر الکترود دستگاه pH متر در مایع صاف شده اندازه میگیریم (استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۲۸).

آنالیز آماری

2 Baird Parker Agar (BPA)
3 Total count

Archive of SID
www.SID.ir

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTAT_C طرح پایه بلوک کاملا تصادفی و در سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۹۵٪ انجام گردید.

نتایج

نمونه شاهد ۲۴ ساعت نگهداری شده در یخچال حاوی۱/۹۹ log cfu/ g استافیلوکوکوس اورئوس بوده اما نمونه‌های حاوی ۵، ۷، ۹ نیسین به ترتیب ۱/۵۲۰، ۱/۲۹۰ و ۱/۱۹۰ log cfu/ g استافیلوکوکوس اوروئوس داشته که این کاهش با افزایش غلظت نیسین در سایر بازه‌های زمانی مشاهده می‌شود. و در کل بین غلظت‌های مختلف نیسین تا روز هفت، اختلاف معنی دار شاهده میشود. تیمارهای حاوی نیسین در هر سه غلظت تعداد استافیلوکوکوس اورئوس تا ۷۲ ساعت کاهش معنی داری داشته ولی از روز سوم به بعد تا روز چهاردهم روند افزایشی داشته که این روند افزایشی در هر سه غلظت با همدیگر دارای اختلاف معنی دار می‌باشد. البته در ارتباط با غلظت‌های نیسین ۷ و ۵ (µg/ml) در روز هفت و چهارده اختلاف معنی داری مشاهده نشد. همچنین بین غلظت‌های مختلف نیسین و نمونه شاهد نیز اختلاف معنی دار مشاهده می‌شود ($P< ۰/۰۵$).

جدول ۱-نتایج آزمون شمارش استافیلوکوکوس اورئوس در گوشت گوسفندی طی نگهداری در دمای یخچالی به مدت ۱۴ روز بر حسب (log cfu/ g)

ردیف	تیمار	۲۴ ساعت	۷۲ ساعت	روز هفتم	روز چهاردهم
۱	نمونه شاهد	۱/۹۹±۰/۱۵^{L}	۲/۵۸۰±۰/۰۵^{G}	۳/۶۱۰±۰/۰۸^{B}	۴/۵۵۰±۰/۱۵^{A}
۲	گوشت حاوی نیسین۵µg/ml	۱/۵۲۰±۰/۱۲^{P}	۱/۳۱۷±۰/۰۲^{S}	۱/۴۰۳±۰/۱۵^{R}	۱/۵۰۳±۰/۰۴^{Q}
۳	گوشت حاوی نیسین ۷µg/ml	۱/۲۹۰±۰/۰۶^{T}	۱/۱۸۰±۰/۰۹^{W}	۱/۲۵۳±۰/۰۲^{U}	۱/۳۹۰±۰/۱۱^{R}
۴	گوشت حاوی نیسین ۹µg/ml	۱/۱۹۰±۰/۰۵^{W}	۰/۰۰۸۷±۰/۰۹$^{Z(3)}$	۰/۹۸۰۰±۰/۰۵^{Y}	۱/۱۰۳±۰/۰۷^{X}

میانگین‌های نشان دار شده با حروف غیر یکسان در هر ستون دارای اختلاف آماری معنی دار می‌باشند

جدول ۲- نتایج آزمون شمارش کلی در گوشت گوسفندی طی نگهداری در دمای یخچالی به مدت ۱۴ روز بر حسب (log cfu/ g)

ردیف	تیمار	۲۴ ساعت	۷۲ ساعت	روز هفتم	روز چهاردهم
۱	شاهد	۴/۱۶۳±۰/۱۱^{K}	۵/۴۱۷±۰/۰۳^{E}	۷/۱۲۰±۰/۰۳^{B}	۹/۸۶۰±۰/۱۵^{A}
۲	گوشت حاوی نیسین ۵ µg/ml	۳/۸۲۳±۰/۰۳^{O}	۳/۶۵۰±۰/۱۱^{S}	۳/۷۷۰±۰/۰۴^{P}	۳/۹۱۳±۰/۰۴^{N}
۳	گوشت حاوی نسیین ۷ µg/ml	۳/۵۷۷±۰/۰۷^{T}	۳/۴۳۰±۰/۱۱^{V}	۳/۵۵۰±۰/۰۳^{U}	۳/۶۹۳±۰/۰۹^{R}
۴	گوشت حاوی نیسین ۹ µg/ml	۳/۱۸۰±۰/۰۱^{X}	۲/۵۸۰±۰/۰۳$^{z(3)}$	۲/۹۸۰±۰/۰۹^{Z}	۳/۲۰۳±۰/۰۲^{W}

میانگین‌های نشان دار شده با حروف غیر یکسان در هر ستون دارای اختلاف آماری معنی دار می‌باشند

تعداد شمارش کلی در هر سه غلظت نیسین تا روز سوم روند کاهشی معنی داری داشته و از روز سوم به بعد روند افزایشی در پیش گرفته است و بین هر سه غلظت نیسین اختلاف مشاهده می‌شود در ضمن بین تیمارها و نمونه شاهد نیز اختلاف به صورت معنی دار در سطح ($P< ۰/۰۵$)مشهود می‌باشد.

جدول ۳- نتایج آزمون pH در گوشت گوسفند نگهداری شده در دمای یخچال

ردیف	تیمارها	۲۴ساعت	۷۲ساعت	روز هفتم	روز چهاردهم
۱	نمونه شاهد (کنترل)	۶/۰۲±۰/۹ ^{EFGHIJKL}	۶/۱۸۰±۱/۵ ^{DEFGH}	۶/۳۴۰±۰/۹۵ ^{BCD}	۶/۶۴۳±۰/۵۱ ^{A}
۲	گوشت حاوی نیسین۵ µg/ml	۵/۹۲۰±۰/۰۵^{GHIJKLM}	۵/۹۴۰±۰/۰۸^{FGHIJKLM}	۶/۱۱۷±۰/۰۱^{DEFGHIJKL}	۶/۲±۰/۱۱ ^{DEFG}
۳	گوشت حاوی نیسین ۷ µg/ml	۵/۸۹۰±۰/۱۱^{HIJKLM}	۵/۹۲۳±۰/۰۲^{GHIJKLM}	۶/۰۴۳^{DEFGHIJKL}	۶/۱۶۷±۰/۰۱ ^{DEFGHI}
۴	گوشت حاوی نیسین ۹µg/ml	۵/۸۵۳±۰/۰۵^{JK}	۵/۸۹۷±۰/۰۴^{GHIJKLM}	۶/۰۱۷±۰/۰۴ ^{EFGHIJKL}	۶/۱۱۷±۰/۰۲ ^{DEFGHIJK}

میانگین‌های نشان دار شده با حروف غیر یکسان در هر ستون دارای اختلاف آماری معنی دار می‌باشند

Archive of SID

www.SID.ir

مطالعات وسیعی که در زمینه اثر ضد باکتریایی باکتریوسین‌ها انجام شده ، نشان داده که استفاده از ۲/۵-۵ mg/kg نیسین در محصولات تخم مرغ (تخم مرغ کامل، سفیده و زرده) از رشد دو باکتری گرم مثبت باسیلوس سرئوس و لیستریا منوسیتوژنز جلوگیری می‌کند(Delves., 2005).

غشا سیتوپلاسمی باکتری هدف اصلی برای عمل نیسین است که عملکرد آن با ایجاد منفذ در غشاء صورت می‌گیرد. نیسین‌ها از طریق بر هم کنش با ترکیبات فسفولیپیدی غشاء سیتوپلاسمی توسط پیوندهای یونی عمل می‌کنند. حساسیت باکتریهای گرم منفی در مقابل نیسین محدود بوده که ناشی از دیواره سلولی غیر نفوذ پذیر آن است. اثر نیسین بر اسپورها شدیدتر از سلولهای رویشی است و مراحل اولیه جوانه زنی را کنترل می‌کند (wiedemann et al., 2001).

در برخی از کشورها افزودن نیسین به شیر پاستوریزه مجازشناخته شده و همینطور در تهیه محصولات لبنی نظیر پنیر، ماست و خامه نیز از نیسین استفاده می‌نمایند. امکان افزودن نیسین در محصولات آردی، موادغذایی کنسرو شده و فرآورده‌های گوشتی نیز توسط محققین بررسی شده و در برخی کشورها از آن برای افزایش زمان ماندگاری محصولات مذکور استفاده می‌شود (Delves., 2005).

مطابق جدول ۳ طی ۲۴ ساعت بعد از نگهداری روند تغییر pH در کلیه تیمارها به گونه‌ای است که مقدارpH به نسبت شاهد کاهش داشته اما از لحاظ آماری تفاوت معنی داری وجود ندارد ($P < ۰/۰۵$). همچنین نمونه شاهد در روز هفتم و چهاردهم نیز با همدیگر اختلاف معنی داری دارند.

بحث

Hammou و همکاران در سال ۲۰۱۱ اثر نیسین بر روی سوسیس تهیه شده از گوشت گوسفند نگهداری شده در دمای ۷ درجه را بررسی کردند که نتیجه این تحقیق نشان داد در تیمارهای حاوی نیسین ، روند رشد میکروبی تا روز پنجم کاهشی و از روز پنجم به بعد روند رشد به آرامی افزایش بوده است که این نتیجه با نتایج حاصل از پژوهش حاضر مطابقت دارد (Hammou et al., 2011).

Ercolini و همکاران در سال ۲۰۱۰ به بررسی تغییرات میکروبی باکتری‌های موجود در گوشت گاو تحت تاثیر نیسین در دمای ۱ درجه پرداختند. در طی این تحقیق با گذشت زمان بار میکروبی به صورت غیر معنی داری روند افزایشی داشته به بیان دیگر در تیمارها نسبت به شاهد بار میکروبی کمتری مشاهده گردیده است.(Ercolini et al., 2010)

Solomakos و همکاران در سال ۲۰۰۸ به تاثیر نیسین بر روی لیستریا در گوشت گاو چرخ شده پرداختند که در نتیجه این تحقیق تیمارهای حاوی نیسین تا روز دوم روند کاهش بار میکروبی از خود نشان داده و از روز دوم تا پایان دوره ماندگاری (شانزده روز) روند افزایش بار میکروبی مشاهده شده است ولی این روند افزایش هم کمتر از نمونه شاهد گزارش گردیده است. با بیشتر شدن غلظت نیسین نیز بار میکروبی نمونه افزایش یافته است (Solomakos et al. ,2008).

تفسیر نتایج آزمون pH : میزان pH هر ماده غذایی در ترکیب فلور میکروبی آن موثر است و به همین دلیل فلور میکروبی میوه هایی که دارای pH پایین تری می‌باشند با فلور میکروبی گوشت تازه و ماهی بسیار متفاوت می‌باشند. در گوشت قرمز بیشتر میکروارگانیسم‌های گرم منفی و پروتئولیتیک وجود

Archive of SID
www.SID.ir

دارند. در بسیاری از مواد غذایی یا منشاء دامی مانند مرغ ، گوشت، ماهی، لبنیات نزول pH در طول مدت نگهداری در اثر تغییرات شیمیایی حاصله مانند تغییرات پس از کشتار در گوشت و یا عمل آوری مشاهده می‌شود.در صورتی که زمان نگهداری مواد غذایی افزایش یابد و موجب تکثیر میکروارگانیسم‌ها گردد ، میزان pH بالا رفته و مواد غذایی را در مخاطره آلودگی به میکروارگانیسم‌های عامل عفونت و مسمومیت غذایی قرار خواهد داد. (رکنی، ۱۳۹۱) مطابق جدول ۳ طی ۲۴ ساعت بعد از نگهداری روند تغییر pH در کلیه تیمارها به گونه‌ای است که مقدارpH به نسبت شاهد کاهش داشته اما از لحاظ آماری تفاوت معنی داری وجود ندارد ($P > ۰/۰۵$). همچنین نمونه شاهد در روز هفتم و چهاردهم نیز با همدیگر اختلاف معنی داری دارند و هر سه غلظت نیسین با نمونه شاهد دارای اختلاف معنی دار می‌باشند. در کلیه تیمارهای نیسین در طی دوره نگهداری روند pH نسبت به هم کاهش داشته ، اما از لحاظ آماری این تفاوت معنی دار نمی باشد. بیشترین pH مربوط به نمونه شاهد در روز چهاردهم با مقدار ۶/۶۴ µg/ml نیسین و کمترین با مقدار ۵/۹ µg/ml نیسین می‌باشد.

Pawar و همکاران در سال ۲۰۰۰ به بررسی اثر نیسین بر روی گوشت خام بوفالو پرداختند که در طی این تحقیق روند pH در طول شانزده روز نگهداری در دمای ۴ درجه افزایشی گزارش شد و نمونه‌های حاوی نیسین روند افزایشی کمتری در مقایسه با شاهد داشتند (Pawar *et al.* , 2000)

نتیجه گیری: غلظت‌های مختلف نیسین تاثیر معنی داری بر رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس دارند بنابراین استفاده ازغلظت‌های مختلف نیسین می‌تواند اثر باز دارندگی مناسبی را بر روی رشد باکتری مورد بررسی ایجاد نماید. در نهایت با استناد به نتایج بدست آمده می‌توان نتیجه گرفت که از نیسین می‌توان به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در گوشت و فرآورده‌های گوشتی به منظور افزایش زمان ماندگاری استفاده کرد.

منابع

۱. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۶). اندازه گیری pH. استاندارد شماره ۱۰۲۸.

۲. حسین‌چی، زکریا. (۱۳۸۹). اثر ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی و نیسن در برابر سالمونلا تیفی موریوم در گوشت چرخ شده گوسفند در طول نگهداری در یخچال. پایان نامه کارشناسی ارشد- رشته مهندسی صنایع غذایی- علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران.

۳. دباغ مقدم، آراسب.، صادق‌زاده عراقی، عذرا. (۱۳۸۴). درسنامه بهداشت و بازرسی گوشت. چاپ اول ، انتشارات مرز دانش، صفحات: ۳، ۵، ۶، ۱۱، ۱۳.

۴. رکنی، نوردهر. (۱۳۹۱). اصول بهداشت مواد غذایی.چاپ نهم، انتشارات دانشگاه تهران ، صفحه۷۱

۵. شعبانی، شاهرخ. (۱۳۹۲). کنترل کیفیت میکربی مواد غذایی. انتشارات واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تهران ، چاپ دوم. صفحه۳۴۶

6. Abdollahzadeh, E., Rezaei, M. and Hosseini, H. 2013. Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. Food Control. 35: 177-183.

Archive of SID

www.SID.ir

7. Arauz, D., Juncioni, L., Faustino ,JA., Mazzola,G.P.,Vessoni, T.C. 2009. Nisin biotechnological production and application: a review. Trends Food Sci Technol. 20: 146-154.
8. Ben Hammou, F., Skali,S.N., Idaomar,M and Abrini, J. 2011. The antimicrobial effect of Origanum compactum essential oil, nisin and their combination against Escherichia coli in tryptic soy broth (TSB) and in sheep natural sausage casings during storage at 25 and 7°C. Afr J Biotechnol.10: 140-147.
9. Bouhdid, S., Abrini, J., Amensour, M., Zhiri, A., Espuny, M.J and Manresa, A. 2009. Functional and ultrastructural changes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cells induced by *Cinnamomum verum* essential oil, J Appl Microbiol. 109: 1139–1149.
10. Cabo, M.L., Herrera, J.J.R., Samlpedro,G. and Riza, L. 2005. Aplication of nisin, co_2 and termegilzala agint in the prozarration of refrigerated blue whithing. Food Sci Agri. 85: 1733-1340.
11. Chambers, H.F. and Deleo, F.R. 2009. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. Nat Rev Microbial. 7: 629–641.
12. Delves-Broughton J. 2005. Nisin as a food preservative,Food Australia.12: 525- 528.

in minced beef during refrigerated storage. Food Microbiol. 25: 120-127.

19. Turlej, A., Hryniewicz, W. and Empel, J. 2011. *Stapylococcal* cassette choromosome mec classification and typing method. Pol J Microbiol. 60: 95-103.
13. Ercolini, D., Ferrocino, I., La Storia ,A., Mauriello ,G., Gigli ,G., Masi ,P and Villani,P. 2011 Development of spoilage microbiota in beef stored in nisin activated packaging. Food Microbiol. 27 :137–143.
14. Gao,m., Feng, I., Jiang,T.,Zhu, J., Fu,I and Yuna, D. 2014.The use of rosemary extract in combination with nisin to extend the shelf life of pompano fillet during chilled storage. Food control. 37:1_8.
15. Pawar, D.D., Malik, S.V.S., Bhilegaonkar, K. N and Barbuddhe, S.B. 2000. Effect of nisin and its combination with sodium chloride on the survival of *Listeria monocytogenes* added to raw buffalo meat. Meat Sci. 56: 215-219.
16. Pinto, M. S. , Carvalho, A. F., Pires, A. C. D. S., Souza, A. A. C., Sobral, P. H. F. D., Paula, J. C. J and Santos ,A. L. 2011. The effects of nisin on *Staphylococcus aureus* count and the physicochemical properties of Traditional Minas Serro cheese. Inter Dairy J. 21:90-96.
17. Jay, M.J. 2000. Modern Food Microbiology. 6th ed. Aspen publication. USA, pp. 441-456.
18. Solomakos, N., Govaris,A., Koidis,P and Botsoglou,N. 2008. The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes*
20. Lim, H-S., Park, SH., Ghaffor, K Hwang, S. and Park, J. 2011. Quality and antioxidant properties of bread containing turmeric (*Curcuma longa L.*) cultivated in South Korea. Food Chem. 124: 1577-1582.
21. Millet, M., Tien, C., Smoragiewicz, W and

Archive of SID
www.SID.ir

Lacroix, M. 2007. Inhibition of *Staphylococcus* aureus on beef by nisin-containing modiWed alginate Wlms and beads, Food Control. 18: 878-884.

22. Ming, X., Weber, G. H., Ayres, and. Sandine, J.W. 2006. Bacteriocins applied to food packaging materials to inhibit *listeria monocytogenes* on meats, J Food Sci.62: 413-415.

23. Wiedemann, I., Breukik, E., kraaij, C.,Kuipers, O.P., Bierbaum, G., Kruijff, B.D and Sahl, H.G. 2001 Specific Binding of Nisin to the Peptidoglycan Precursor Lipid II Combines Pore Formation and Inhibition of Cell Wall Biosynthesis for Potent Antibiotic Activity. J Biol Chem. 278: 322-330.

Archive of SID

www.SID.ir

The Antimicrobial Effect of nisin, Against *Staphylococcus aureus* in Minced Sheep during Refrigerated Storage

Ghoshoonizade R[1], Hoseini E[*2], Mahasty P[2], Shabani Sh[2]

1. M.Sc Student of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Department of food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[*]**Corresponding author:** *ebhoseini@yahoo.com*

Received: 4 April 2015 Accepted: 15 June 2015

Abstract

Considering the side effects of chemical preservatives and attention of food producers to natural preservatives, evaluation of antimicrobial effects of them in the laboratory and food models seems to be necessary. Meat microbial control from health human and high quality life chief very important. Nisin has a wide spectrum inhibitory effect than the other Bacteriocins and inhibits food-borne pathogens such as *S. aureus* and many other Gram-positive spoilage microorganisms. The purpose of this study is investigating the effects of nisin, on the growth of *S. aureus* in minced sheep during refrigerated storage. Lamb mince samples were inoculated with *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 1×10^3. Nisin treatments at three levels 5,7,9 µg/ml. Parameters included total count, *Staphylococcus aureus*, pH, on days 1, 3, 7, 14 Evaluation. Results showed that the effect of different concentrations of nisin was statistically significant ($P< 0.05$). The antibacterial activity of nisin decreased during the storage period.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Nisin, Minced Sheep

Archive of SID

www.SID.ir