Archive of SID

مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال ششم، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۰، صفحات ۲۰-۱۳

تأثیر نایسین و اسانس آویشن شیرازی به تنهایی و توأم با یکدیگر بر جمعیت لیستریا مونوسیتوژن تلقیح شده در گوشت چرخ شده ماهی فیتوفاگ

اسماعیل عبداله‌زاده[۱]، مسعود رضائی[۲]، هدایت حسینی[۳]، رضا صفری[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی منابع طبیعی- فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس
۲- دانشیار گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس
پست الکترونیکی: rezai_ma@modares.ac.ir
۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۴- مربی پژوهشکده اکولوژی آبزیان دریای خزر، سازمان شیلات ایران

تاریخ دریافت: ۹۰/۱/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۰/۳/۲۵

چکیده

سابقه و هدف: عفونت غذایی ناشی از لیستریا در ۳۰ ٪ افراد مبتلا منجر به مرگ و میر می‌شود. با توجه به احتمال بالای آلودگی ماهیان پرورشی به باکتری لیستریا مونوسیتوژنز، هدف تحقیق حاضر، بررسی استفاده از اسانس آویشن و باکتریوسین نایسین به تنهایی و توأم با یکدیگر جهت مهار رشد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در گوشت چرخ شده ماهی فیتوفاگ است.

مواد و روش‌ها: به نمونه‌های گوشت چرخ شده ماهی میزان 1×10^4 CFU/g باکتری لیستریا مونوسیتوژنز تلقیح شد. تیمارهای نایسین در دو سطح ۵۰۰ IU/g و ۱۰۰۰ IU/g و تیمارهای اسانس آویشن در سه سطح ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲٪ حجمی وزنی به تنهایی و توأم با یکدیگر تهیه شدند. همه تیمارها و گروه شاهد بسته‌بندی و به مدت ۱۲ روز در دمای یخچال نگهداری شدند. تعداد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز هر دو روز یک بار توسط کشت سطحی روی محیط لیستریا کروم آگار شمارش شد.

یافته‌ها: نایسین در دو غلظت ۵۰۰IU/g و ۱۰۰۰ IU/g به تنهایی نتوانست تعداد باکتری‌های لیستریا مونوسیتوژنز را به زیر حد مجاز برای افراد سالم (۱۰۰ سلول در هر گرم ماده غذایی خام) برساند. با گذشت زمان از خاصیت مهارکنندگی نایسین علیه رشد لیستریا مونوسیتوژن کاسته شد. در حالی که استفاده همزمان از نایسین و اسانس آویشن در دو غلظت ۰/۸٪ و ۱/۲ ٪ موجب کاهش تعداد این باکتری به زیر حد مجاز در طول ۱۲ روز دوره آزمایش شد.

نتیجه‌گیری: بهترین فرمول پیشنهادی برای مهار رشد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در گوشت چرخ شده ماهی فیتوفاگ در دمای یخچال، استفاده توأم از آویشن ۰/۸٪ حجمی وزنی و نایسین ۱۰۰۰ IU/g است.

واژگان کلیدی: لیستریا مونوسیتوژنز، نایسین، اسانس آویشن، ماهی فیتوفاگ

• 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 یک بار درسال از بیماری‌های ناشی از مواد غذایی رنج می‌برند. بنابراین، نیاز به کاهش یا حذف پاتوژن‌های غذایی با استفاده از روش‌های مختلف احساس می‌شود. با توجه به امکان آلودگی ماهی از لحظه برداشت تا مصرف با میکروارگانیسم‌های مختلف، روش‌ها و تکنیک‌های متفاوتی برای سرد کردن ماهیان و جلوگیری از فساد آن‌ها به کار می‌رود. اگرچه این تکنیک‌ها می‌توانند دوره ماندگاری غذا را افزایش دهند، اما وجود میکروب‌های سرمادوستی نظیر لیستریا و سودوموناس می‌تواند زمینه فساد و عفونت غذایی را فراهم کند (۲، ۱).

لیستریا مونوسیتوژن باکتری گرم مثبت، هوازی تا بی‌هوازی اختیاری و میله‌ای شکل است که باعث بیماری لیستریوزیس در انسان می‌شود (۷-۳). با وجود اینکه تعداد عفونت غذایی ناشی از لیستریا مونوسیتوژن نسبت به عفونت

www.SID.ir

Archive of SID

با سالمونلا، کلستریدیوم، کمپلوباکترها و استافیلوکوکوس سروئوس کمتر است، اما به جرات می‌توان گفت که از نظر نقش تهدیدکنندگی، لیستریوزیس خطرناک‌ترین نوع عفونت غذایی است. تاکنون، مطالعات زیادی انجام شده است که نشان می‌دهد باکتری لیستریا در اکوسیستم‌های آبی اعم از آب شور و شیرین و رسوبات یافت می‌شود (۱۰-۸، ۴، ۳، ۱).

در مطالعه‌ای در داخل کشور شیوع لیستریا مونوسیتوژن در سطح خرده فروشی‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان ۱۲/۵ درصد و در کپور نقره‌ای و کپور معمولی به ترتیب ۱۰ و ۱۷/۵ درصد گزارش شد. طبق نتایج این تحقیق ۸/۵ درصد ماهیان صید شده از سطح استخرهای پرورش ماهیان گرمابی (کپور نقره‌ای و کپور معمولی) به لیستریا مونوسیتوژن آلوده بودند (۱۱).

برای افراد سالم بیشترین میزان قابل قبول باکتری لیستریا مونوسیتوژن در غذا ۱۰۰ سلول در هر گرم است (۱۰، ۹). تعداد این باکتری در غذاهای یخچالی طی یک دوره ۳ تا ۴ هفته‌ای (دوره نگهداری اکثر غذاها) می‌تواند به بیش از ۱۰۰ هزار سلول در هر گرم غذا برسد (۹). در بیماری لیستریوزیس یک آنزیم سمی توسط باکتری تولید و سپس وارد خون می‌شود. این آنزیم سمی علائمی مشابه عفونت خون و مننژیت ایجاد می‌کند. معمولاً افراد بزرگسال سالم به این بیماری مقاوم هستند. اما نوزادان، افراد سالخورده، کسانی که سیستم ایمنی آن‌ها توسط دارو تضعیف شده است و مادران باردار در معرض خطر هستند(۱۲). این بیماری ممکن است موجب سقط جنین، بروز مننژیت یا عفونت خونی در نوزادان شود (۱۳، ۷).

امروزه، استفاده از روش‌های نوین نگهداری نظیر استفاده از باکتریوسین‌ها و اسانس‌های گیاهی جایگاه ویژه‌ای در صنایع 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 نایسین ترکیب بیواکتیو و پپتیدی است که توسط برخی از باکتری‌های لاکتیک اسید تولید می‌شود (۱۵، ۱۴). حضور اسانس‌های گیاهی علاوه بر عطر و طعم بخشیدن به غذا زمینه تقویت خواص ضد میکروبی باکتریوسین ها را نیز فراهم می‌کند. در واقع، خاصیت ضد میکروبی اسانس آویشن به خاطر حضور مواد فنلی نظیر کارواکرول و تیمول است (۱۹-۱۶). هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر باکتریوسین نایسین و اسانس آویشن شیرازی به تنهایی و توام با یکدیگر بر باکتری لیستریا مونوسیتوژن در گوشت چرخ شده ماهی فیتوفاگ بود.

• مواد و روش‌ها

آماده سازی نایسین و اسانس آویشن شیرازی: اسانس گیاه آویشن شیرازی (کد ۲۲۰۵۰۲۷۴۳، شیشه ۴۰ گرمی) از شرکت مگنولیا (ساوه، ایران) و پودر تجاری Nisapline از شرکت SERVA (شرکت Heidelberg ، نیویورک) تهیه شد. محلول نایسن با حل نمودن ۰/۸ گرم Nisapline در ۱۰ میلی‌لیتر HCL ۰/۰۲ نرمال به دست آمد (هر میلی‌گرم Nisaplin حاوی ۱۰۰۰ IU نایسین خالص است) (۲۰). جهت رسیدن به غلظت‌های پایین‌تر از آب مقطر استریل استفاده شد.

آماده‌سازی باکتری لیستریا مونوسیتوژنز برای تلقیح: سویه استاندارد و لیوفیلیزه باکتری Listeria monocytogenes PTCC 1163 از *سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران* تهیه شد. آمپول‌های لیوفیلیزه باکتری ابتدا در شرایط استریل باز شد، سپس به محیط کشت مایع TSB (Tryptic Soy Broth) انتقال یافت و به مدت ۴۸ ساعت در ۳۰°C انکوبه شد. سپس محیط کشت حاوی باکتری به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ و مایع رویی با محلول رینگر جایگزین شد. به منظور جداسازی کامل محیط کشت از باکتری‌ها محلول حاصل دوباره به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شد. تعداد باکتری‌ها در مایع زیرین توسط روش کدورت سنجی در طول موج ۵۷۰ نانومتر به دست آمد؛ به طوری که جذب نوری ۰/۰۸ تا ۰/۱ تقریباً معادل $10^8 \times 1$ باکتری در هر میلی‌لیتر در نظر گرفته شد. به منظور دستیابی به این محدوده جذب نوری، رقیق سازی با رینگر استریل انجام شد. بمنظور تأیید نتایج، شمارش باکتریایی به روش کشت سطحی روی محیط مولر هینتون آگار (۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷°C) انجام پذیرفت.

آماده‌سازی خمیر ماهی فیتوفاگ: ابتدا ۳۰ کیلوگرم ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) از سطح مزارع پرورشی صید و داخل جعبه‌های حاوی یخ گذاشته شد. سپس به آزمایشگاه میکروبیولوژی *پژوهشکده اکولوژی دریای خزر* منتقل شد و پس از شستشوی ماهیان عملیات پوست کنی انجام پذیرفت. سپس سطح زیرین گوشت بدون تماس با امعا و احشا برداشته و توسط چرخ گوشت دو بار

www.SID.ir

Archive of SID

چرخ شد. بعد از آن به نمونه‌های گوشت چرخ شده ماهی، میزان 1×10^4 CFU/g باکتری تلقیح شد. نمونه‌های گوشت تلقیح شده کاملاً هموژن شدند. از این گوشت تلقیح شده برای تهیه همه تیمارهای مورد آزمایش استفاده شد.

تیماربندی و شمارش باکتری لیستریا مونوسیتوژن طی دوره نگهداری: تیمارهای شاهد، گوشت تلقیح شده با اسانس آویشن در غلظت‌های ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲ %v/w و گوشت تلقیح شده با نایسین در دو سطح ۵۰۰ و ۱۰۰۰ IU/g و تیمارهای ترکیبی ۵۰۰+۰/۴، ۱۰۰۰+۰/۴، ۵۰۰+۰/۸، ۱۰۰۰+۰/۸، ۵۰۰+۱/۲ و ۱۰۰۰ +۱/۲ (IU/g + %v/w) در نظر گرفته شد. جهت تهیه تیمارهای بالا از گوشت تلقیح شده استفاده شد. برای هر تیمار ۷ بسته گوشت ۵ گرمی در نظر گرفته شد. همه تیمارها در کیسه‌های پلاستیکی بسته‌بندی و در طول دوره آزمایش در دمای یخچال (۴±۱°C) نگهداری شدند. در طول دوره آزمایش، شمارش باکتری لیستریا مونوسیتوژن هر ۴۸ ساعت انجام پذیرفت. به منظور شمارش لیستریا مونوسیتوژن از محیط انتخابی CHROMagar™ Listeria (محیط کشت کروموژنیک، شرکت میکروبیولوژی کروم آگار فرانسه) و مکمل آن (CHROMagar Listeria supplement) استفاده شد (۲۱). برای شمارش باکتری در هر بار زمان نمونه‌گیری، به ۵ گرم گوشت چرخ شده ماهی مقدار ۴۵ml سرم فیزیولوژی اضافه و سپس هموژن شد. به منظور شمارش باکتری‌ها، رقت‌های سریالی (1:10) تهیه شد. ۰/۱ ml نمونه رقیق شده را روی محیط کشت CHROMagar™ Listeria کشت سطحی داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C گرمخانه گذاری شد. باکتری لیستریا مونوسیتوژنز روی این محیط، کلنی‌هایی به رنگ آبی با هاله سفید تشکیل داد. برای هر تیمار دو تکرار در نظر گرفته شد که پس از کشت پلیت‌های استاندارد، انتخاب و شمارش شدند.

تجزیه و تحلیل آماری: آنالیز آماری داده‌ها با بهره‌گیری از نرم‌افزار $SPSS_{17}$ و توسط آزمون‌های آماری کلموگروف-اسمیرنف و ANOVA یک طرفه و مقایسه میانگین‌ها نیز با آزمون دانکن انجام شد (۲).

• یافته‌ها

مطابق جدول ۱ میانگین تعداد کلی باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در گوشت چرخ شده ماهی فیتوفاگ در روز صفر 1×10^4 CFU/g بود. با گذشت زمان تعداد باکتری لیستریا مونوسیتوژن در گروه شاهد افزایش یافت. در روز دوم نگهداری تعداد باکتری‌های تیمارهای تلقیح شده با آویشن نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت ($P<0/05$). آویشن در دو سطح ۰/۸ ٪ و (v/w) ۱/۲٪ از روز ششم به بعد تعداد باکتری لیستریا مونوسیتوژن را به حد کمتر از ۲ log CFU/g (بیشترین میزان قابل قبول باکتری لیستریا مونوسیتوژن در هر گرم غذا) رساند. آویشن ۰/۴ ٪ در روزهای دوم و چهارم اثر مهارکنندگی ضعیف و معنی‌داری را در برابر باکتری لیستریا از خود نشان داد ($P<0/05$). در روز دهم آزمایش بار باکتریایی در گروه شاهد به طور جزئی و معنی‌داری کمتر از تیمار آویشن در سطح ۰/۴٪ بود. اما در پایان دوره آزمایش، اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد و تیمار آویشن ۰/۴٪ مشاهده نشد ($P<0/05$).

جدول ۱- اثر ضد لیستریایی اسانس آویشن در سه سطح ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲ درصد (v/w) در گوشت چرخ شده ماهی فیتوفاگ طی ۱۲ روز نگهدرای در دمای یخچال (۴°C)

تیمار	روز						
	۰	۲	۴	۶	۸	۱۰	۱۲
شاهد	۴/۶۰±۰/۰۰*	۴/۹۰±۰/۰۰	۵/۹۴±۰/۰۰	۴/۲۳±۰/۲۳	۵/۸۳±۰/۰۲	۴/۹۵±۰/۰۴	۴/۹۲±۰/۱۵
آویشن ۰/۴٪	۴/۶۰±۰/۰۰	۴/۶۰±۰/۰۰	۵/۳۹±۰/۰۰	۵/۸۰±۰/۰۷	۵/۷۹±۰/۰۰	۵/۹۳±۰/۱۰	۵/۰۵±۰/۰۵
آویشن ۰/۸٪	۴/۶۰±۰/۰۰	۲/۷۷±۰/۰۰	۲/۴۷±۰/۰۰	<۲	<۲	<۲	<۲
آویشن ۱/۲٪	۴/۶۰±۰/۰۰	۲/۳۰±۰/۰۰	۲/۰۰±۰/۰۰	<۲	<۲	<۲	<۲

* میانگین (Log CFU/g) ± SE

www.SID.ir

Archive of SID

اثر نایسین در دو سطح ۵۰۰ IU و ۱۰۰۰ IU بر علیه باکتری لیستریا مونوسیتوژن در گوشت چرخ شده ماهی در جدول ۲ نشان داده شده است. پس از دو روز نگهداری گوشت در دمای یخچال، کاهش معنی‌داری در تعداد باکتری‌های لیستریا مونوسیتوژنز در بین تیمارهای نایسین و شاهد مشاهده شد (P<۰/۰۵). در روزهای دوم و چهارم نگهداری، اختلاف معنی‌داری در کاهش تعداد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز بین دو سطح نایسین ۵۰۰ IU و ۱۰۰۰ IU مشاهده شد اما در روزهای ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ این اختلاف معنی‌دار نبود (P<۰/۰۵). اگرچه در ابتدای دوره، هر دو سطح نایسین اثرات ضد لیستریایی خوبی از خود نشان دادند، اما با گذشت زمان تعداد باکتری‌های لیستریا در تیمارهای نایسین افزایش یافت. بنابراین، به نظر می‌رسد که نایسین به تنهایی در دو سطح ۵۰۰ IU و ۱۰۰۰ IU نمی‌تواند اثر ضد لیستریای مطلوبی از خود نشان دهد.

اثر هم‌افزایی اسانس آویشن با نایسین برای مهار باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج حاصل از تحقیق حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای ترکیبی و شاهد از روز دوم به بعد بود (P<۰/۰۵). علاوه بر این، در پایان دوره آزمایش، همه تیمارهای ترکیبی در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری حاوی بار میکروبی پایین‌تری بودند (P<۰/۰۵). در روز دوازدهم تعداد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در ۴ تیمار ترکیبی ۵۰۰+۰/۸، ۱۰۰۰ +۰/۸ ، ۵۰۰ +۱/۲ و ۱۰۰۰+۱/۲ IU/g درصد (v/w) با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند و تعداد باکتری لیستریا در این تیمارها در حد قابل قبول (کمتر از ۱۰۰ باکتری در هر گرم) بود (P<۰/۰۵). اگرچه در پایان دوره آزمایش، میزان باکتری لیستریا دو تیمار ترکیبی ۵۰۰+۰/۴ و ۵۰۰+۰/۸ IU/g درصد (v/w) با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشت(P < ۰/۰۵) اما بار باکتریایی موجود در آن از نظر بهداشتی قابل قبول نبود.

جدول ۲- اثر ضد لیستریایی باکتریوسین نایسین در دو سطح ۵۰۰ IU و ۱۰۰۰ IU در گوشت چرخ شده ماهی فیتوفاگ طی ۱۲ روز نگهداری در دمای یخچال (۴°C)

تیمار	روز						
	۰	۲	۴	۶	۸	۱۰	۱۲
شاهد	۴/۶۰±۰/۰۰*	۴/۹۰±۰/۰۰	۵/۹۴±۰/۰۰	۴/۲۳±۰/۲۳	۵/۸۳±۰/۰۲	۴/۹۵±۰/۰۴	۴/۹۲±۰/۱۵
نایسین ۵۰۰IU	۴/۶۰±۰/۰۰	۴/۱۷±۰/۰۰	۴/۱۴±۰/۰۰	۳/۹۴±۰/۰۱	۳/۹۶±۰/۰۳	۴/۱۹±۰/۰۱	۴/۱۷±۰/۰۲
نایسین ۱۰۰۰IU	۴/۶۰±۰/۰۰	۳/۸۸±۰/۰۰	۳/۹۹±۰/۰۰	۳/۹۳±۰/۰۰	۴/۱۹±۰/۱۱	۴/۱۴±۰/۰۳	۴/۲۱±۰/۰۳

* میانگین (Log CFU/g) ± SE

جدول ۳ - تغییرات باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در گوشت چرخ شده فیتوفاگ تیمار شده با سطوح مختلف آویشن و باکتریوسین نایسین طی ۱۲ روز نگهداری در دمای یخچال (۴°C)

تیمار	روز						
	۰	۲	۴	۶	۸	۱۰	۱۲
شاهد	۴/۶۰±۰/۰۰*	۴/۹۰±۰/۰۰	۵/۹۴±۰/۰۰	۴/۲۳±۰/۲۳	۵/۸۳±۰/۰۲	۴/۹۵±۰/۰۴	۴/۹۲±۰/۱۵
آویشن۰/۴٪+ ۵۰۰ IU	۴/۶۰±۰/۰۰	۳/۶۹±۰/۰۰	۲/۷۴±۰/۰۰	۴/۰۰±۰/۳۳	۴/۲۱±۰/۰۶	۴/۱۲±۰/۰۴	۳/۸۳±۰/۰۵
آویشن۰/۴٪+ ۱۰۰۰ IU	۴/۶۰±۰/۰۰	۳/۵۶±۰/۰۰	۲/۱۴±۰/۰۰	۳/۷۳±۰/۰۳	۳/۸۱±۰/۰۵	۳/۹۵±۰/۰۴	۲/۹۹±۰/۰۸
آویشن۰/۸٪+ ۵۰۰ IU	۴/۶۰±۰/۰۰	۲/۳۰±۰/۰۰	<۲	<۲	<۲	<۲	<۲
آویشن۰/۸٪+ ۱۰۰۰ IU	۴/۶۰±۰/۰۰	<۲	<۲	<۲	<۲	<۲	<۲
آویشن۱/۲٪+ ۵۰۰ IU	۴/۶۰±۰/۰۰	<۲	<۲	<۲	<۲	<۲	<۲
آویشن۱/۲٪+ ۱۰۰۰ IU	۴/۶۰±۰/۰۰	<۲	<۲	<۲	<۲	<۲	<۲

* میانگین (Log CFU/g) ± SE

www.SID.ir

Archive of SID

• بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که اسانس آویشن در دو سطح ۰/۸ و ۱/۲ درصد (v/w) اثر مهارکنندگی و باکتری‌کشی قوی علیه لیستریا مونوسیتوژن در گوشت چرخ شده ماهی فیتوفاگ دارد که احتمالاً به دلیل تیمول و کارواکرول فراوان موجود در اسانس آویشن است. مطالعات در محیط آزمایشگاهی نشان می‌دهند که این دو جزء فنولی موجود در اسانس آویشن فعالیت ضد لیستریایی دارند (۲۳، ۲۲).

افزودن اسانس به میزان ۰/۸ و ۱/۲ درصد به گوشت چرخ شدهٔ ماهی اثر ضد لیستریایی خوبی داشت. این نتایج با یافته‌های *Singh* و همکاران (۲۰۰۴) در پنیر و هاد داگ و یافته‌های *Solomakos* و همکاران (۲۰۰۸) در گوشت گاو مشابهت دارد (۲۰، ۱۹). در انتهای دوره تحقیق حاضر، افزایش جزئی در تعداد باکتری‌های لیستریا مونوسیتوژنز در تیمار آویشن ۰/۴ ٪ مشاهده شد که احتمالاً به دو دلیل فرار بودن اسانس‌های گیاهی و کم شدن از غلظت اولیه آن‌ها یا حذف سایر باکتری‌های رقیب لیستریا مونوسیتوژنز بوده که حساسیت بیشتری نسبت به اسانس آویشن داشتند.

باکتریوسین نایسین در سطح ۵۰۰ IU/g فعالیت مهار کنندگی ضعیفی علیه لیستریا مونوسیتوژنز از خود نشان داد و با گذشت زمان از میزان فعالیت ضد باکتریایی آن کاسته شد. تغییرات تعداد باکتری لیستریا در تیمار ۱۰۰۰ IU/g نیز مشابه سطح ۵۰۰ IU/g بود. نتایج حاصل از این تحقیق با یافته‌های سایر محققان که بیانگر کاسته شدن خاصیت ضد لیستریایی نایسین در گوشت با گذشت زمان است، مطابقت دارد (۲۰، ۲). کاهش فعالیت ضد لیستریایی نایسین در طول زمان احتمالاً به دلیل ترکیب نایسین با پروتئین و چربی غذا، بروز مقاومت میکروبی و یا به خاطر فعالیت آنزیم‌های موجود در گوشت است(۲۰).

Pawar و همکاران (۲۰۰۰) تحقیقی در مورد مهار باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در گوشت چرخ شده بوفالو در دمای یخچال انجام دادند. نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت نایسین از ۴۰۰ به ۸۰۰ IU/g فعالیت ضدلیستریایی نایسین در گوشت چرخ شده تقویت می‌شود. یافته‌های این محققان با نتایج مطالعه حاضر که نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در روزهای دوم و چهارم بین دو سطح نایسین ۵۰۰ و ۱۰۰۰ IU/g بود، مشابهت دارد (۲۴).

Yin و همکاران (۲۰۰۷) نایسین و پدیوسین را در سطوح مختلف بین ۳۷۵ IU/g تا ۷۵۰۰ IU/g در کوفته ماهی به کار بردند. نتایج حاصل از تحقیق بیانگر محدود شدن فعالیت ضد لیستریایی این باکتریوسین‌ها در دو هفته اول مطالعه بود. بعلاوه، نایسین در غلظت۱۵۰۰ IU/g حتی در روزهای اول نیز قادر به کاهش لیستریا به زیر حد نسبتاً قابل قبول (۱۰۰ باکتری در هر گرم غذا برای افراد سالم) نبود(۲). با توجه به نتایج مشابه در تحقیق حاضر، پیشنهاد می‌شود که نایسین به صورت تلفیقی با سایر نگهدارنده‌های غذایی نظیر اسانس‌های گیاهی به کار رود یا اینکه نایسین در پوشش‌های غذایی استفاده شود تا در طول زمان، نایسین به آرامی به درون ماده غذایی نفوذ کند و از تجزیه یا کاهش خواص آن جلوگیری شود.

برخی محققان اظهار می‌کنند که نایسین و اسانس آویشن می‌توانند روی غشای سیتوپلاسمی باکتری اثر بگذارد و در نهایت موجب افزایش تخریب ساختاری و عملکردی غشای باکتری‌ها شوند. با این حال، توضیح خواص هم‌افزایی باکتریوسین‌ها با اسانس‌های گیاهی و دلایل و مکانیسم کاهش فعالیت ضد لیستریایی باکتریوسین نایسین در طول زمان مستلزم تحقیقات بیشتری در آینده است.

به طور خلاصه، آویشن در غلظت‌های ۰/۸ و ۱/۲ درصد از روز چهارم به بعد تعداد باکتری‌های لیستریا مونوسیتوژن را به حد کمتر از ۲ لوگ باکتریایی کاهش داد. در حالی که تیمارهای ترکیبی این دو غلظت اسانس با سطوح مختلف نایسین باعث کاهش سریع‌تر تعداد باکتری‌ها از روز دوم به بعد شد. با توجه به این موضوع که اسانس‌های گیاهی می‌توانند موجب تغییر طعم و بوی غذا شوند، بایستی در استفاده از غلظت مورد نیاز اسانس بیشتر دقت کرد تا بتوان در کنار حفظ ایمنی غذایی ویژگی‌های ارگانولپتیک غذا را در حد مطلوبی حفظ کرد و یا حتی ارتقا بخشید. بنابراین، به دلیل ایجاد تغییرات نامطلوب در ویژگی‌های ارگانولپتیکی غذا استفاده از غلظت‌های بالای اسانس توصیه نمی‌شود. از سوی دیگر به دلیل وجود خواص هم‌افزایی اسانس آویشن با باکتریوسین نایسین بهترین و کمترین غلظت پیشنهادی برای مهار باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در گوشت چرخ شدهٔ ماهی فیتوفاگ در دمای یخچال، تیمار ترکیبی آویشن ۰/۸ %v/w + نایسین ۱۰۰۰ IU/g است.

www.SID.ir

Archive of SID

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی *دانشگاه تربیت مدرس* انجام پذیرفت. بدین وسیله از مدیریت محترم پژوهشی این دانشگاه سپاسگزاری می‌شود. از دکتر رضا پورغلام رئیس *پژوهشکده اکولوژی دریایی خزر* که هماهنگی‌های لازم را جهت انجام پروژه انجام دادند، تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Dalgaard P, Vigel LJ. Predicted and observed growth of *Listeria monocytogenes* in seafood challenge tests and in naturally contaminated cold-smoked salmon. Int J Food Microbiol 1998;40(1-2):105-15.
2. Yin L, CW W, Jiang ST. Biopreservative effect of pediocin ACCEL on refrigerated seafood. Fisheries Sci 2007; 73 (4):907-12.
3. Chen BY, Rajkumar P, Tae-Jo K, Juan LS, Yean-Sung J. Prevalence and contamination patterns of *Listeria monocytogenes* in catfish processing environment and fresh fillets. Food Microbiol 2010; 27(5):645-52.
4. Dykes GA, Moorhead SM. Combined antimicrobial effect of nisin and a listeriophage against *Listeria monocytogenes* in broth but not in buffer or on raw beef. Int J Food Microbiol 2002;73(1):71-81.
5. Inoue S, Nakama A, Arai Y, Kokubo Y, Maruyama T, Saito A, et al. Prevalence and contamination levels of *Listeria monocytogenes* in retail foods in Japan. Int J Food Microbiol 2000 59 (1-2):73-7.
6. Neetoo H, Mu Y, Haiqiang C. Potential antimicrobials to control *Listeria monocytogenes* in vacuum-packaged cold-smoked salmon pâté and fillets. Int J Food Microbiol 2008;123 (3):220-7.
7. Wadud S, Carlos GL, Nathan L, Joseph AO. Evaluation of immunomagnetic separation in combination with ALOA Listeria chromogenic agar for the isolation and identification of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. J Microbiol Methods 1410;81 (2):153-9.
8. Elliot EL, Kvenberg JE. Risk assessment used to evaluate the US position on *Listeria monocytogenes* in seafood. Int J Food Microbiol 2000; 62 (3):253-60.
9. Gudbjörnsdóttir B, Suihko ML, Gustavsson P, Thorkelsson G, Salo S, Sjöberg AM, et al. The incidence of *Listeria monocytogenes* in meat, poultry and seafood plants in the Nordic countries. Food Microbiol 2004; 21 (2):217-25.
10. Huss HH, Jørgensen LV, Vogel BF. Control options for *Listeria monocytogenes* in seafoods. Int J Food Microbiol 2000;62 (3):267-74.
11. Akhondzadeh A, Zahraie Salehi T, Misaghi A. The survey of *Listeria monocytogenes* in fresh and smoked fish and ice used in fish markets for retaining the freshness of the fish in Tehran and Gilan. J Vet Res 2003; 57(4):9-12 [in Persian].
12. Duffes F, Françoise L, Patrick B, Xavier D. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by Carnobacterium spp. strains in a simulated cold smoked fish system stored at 4°C. Int J Food Microbiol 1999; 47(1-2):33-42.
13. Martins EA, Pedro MLG. *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat, sliced, cooked ham and salami products, marketed in the city of São Paulo, Brazil: Occurrence, quantification, and serotyping. Food Control 2011;22 (2):297-302.
14. Juncioni de Arauz L, Jozala AF, Mazzola PG, Vessoni Penna TC. Nisin biotechnological production and application: a review. Trends Food Sci Technol 2009;20 (3-4):146-54.
15. Zhou GH, Xu XL, Liu Y. Preservation technologies for fresh meat: A review. Meat Sci 1410;86 (1):119-28.
16. Antonio CM, Hikmate A, Rosario LL, Nabil BO, Eva V, Antonio G. Enhanced bactericidal activity of enterocin AS-48 in combination with essential oils, natural bioactive compounds and chemical preservatives against Listeria monocytogenes in ready-to-eat salad. Food Chem Toxicol 2009;47 (9):2216-23.
17. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. Int J Food Microbiol 2004;94 (3):223-53.
18. Leonard CM, Virijevic S, Regnier T, Combrinck S. Bioactivity of selected essential oils and some components on *Listeria monocytogenes* biofilms. S Afr J Bot 2010;76 (4):676-80.
19. Singh A, Singh RK, Bhunia AK, Singh N. Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie 1403; 36 (8):787-94.
20. Solomakos N, Govaris A, Koidis P, Botsoglou N. The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin, and their combination against *Listeria*

www.SID.ir

Archive of SID

monocytogenes in minced beef during refrigerated storage. Food Microbiol 1408;25 (1):114-27.

21. Hegde V, Leon-Velarde CG, Stam CM, Jaykus LA, Odumeru JA. Evaluation of BBL CHROMagar Listeria agar for the isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from food and environmental samples. J Microbiol Methods 2007; 68 (1):82-7.

22. Di PR, Hoskins N, Betts G, Mauriello G. Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addiction of thymol, carvacrol, limonene, cinnamaldehyde and eugenol in the growing media. J Agric Food Che 2006;54 (7): 2745-49.

23. Gill AO, Holley RA. Disruption of Escherichia coli, *Listeria monocytogenes* and Lactobacillus sakei cellular membranes by plant oil aromatics. Int J Food Microbiol 2006;108 (1):1-9.

24. Pawar DD, Malik SVS, Bhilegaonkar KN, Barbuddhe SB. Effect of nisin and its combination with sodium chloride on the survival of *Listeria monocytogenes* added to raw buffalo meat mince. Meat Sci 2000;56 (3):215-19.

www.SID.ir

Archive of SID

Effects of nisin and thyme essential oil, individually and in combination, on inoculated populations of *Listeria monocytogenes* in minced silver carp

Abdollahzadeh E[1], Rezaei M[2], Hosseini H[3], Safari R[4]*

1- M.Sc. Student, Dept. of Seafood Science and Technology, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

*2-*Corresponding author: Associate. Prof., Dept. of Seafood Science and Technology , Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran . Email: rezai_ma@modares.ac.ir*

3-Associate prof, Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

4- Lecturer, Iranian Fisheries Research Organization, Caspian Sea Ecology Research Center, Sari, Iran.

Received 13 Apr, 2011 **Accepted 15 Jun, 2011**

Background and Objective: Food poisoning caused by *Listeriamonocytogenes* results in death in 30% of the cases. Considering the high probability of *L. monocytogenes* contamination of local fish, the present study aimed at investigating the effects of thyme (*Zataria multiflora Boiss)* essential oil (EO) and nisin, individually and in combination, on the growth of *L. monocytogenes* in minced silver carp during refrigerated storage.

Materials and Methods: Minced fish samples were inoculated with 1×10^4 cfu/g of *L. monocytogenes*. A total of 11 samples were inoculaetd with thyme EO at a concentration (weight/volume)of 0.3 %, 0.8 % or 1.2%, nisin at a concentration of 500 or 1000 IU/g, or a combination of the two. The treated and control samples were packaged in plastic bags and kept at refrigerator temperature for 12 days.. Samples were cultured on CHROMagarTM Listeria every 2 days and the bacteri counted.

Results: Nisin at two different levels (500 and 1000 IU/g)could not inhibit the growth of *L.monocytogenes* to a level below the acceptable level in raw food (100 cells/g). The antibacterial activity of nisin decreased during the storage period, while simultaneous use of nisin and thyme EO at a concentartion of 0.8 and 1.2% reduced *L. monocytogenes* viable count to a level below the acceptable limit during 12 days.

Conclusion:A combination of 0.8% thyme (weight/volume)and 1000 IU/g nisin has the best inhibitory effect on growth of *L. monocytogenes* in minced silver carp during cold (4°C) storage.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, Nisin, Thyme (*Zataria multiflora Boiss*) essential oil, Silver carp

www.SID.ir