Archive of SID

اثرات دو ماده نگهدارنده نایسین و سدیم استات برتغییرات رشد کلستریدیوم بوتولینوم در ماهی قزل‌آلا(*Onchorhynchus mykiss*)

رضا صفری[۱]، زهرا یعقوب زاده[۱] و حامی کابوسی[۲*]

[۱] ساری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، گروه میکروبیولوژی

[۲] آمل، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی، گروه میکروبیولوژی

تاریخ دریافت: ۹۴/۷/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۱۸

چکیده

هدف از انجام این تحقیق در مرحله اول ارزیابی اثرات نایسین Z (۰/۱۵٪) و استات سدیم (۱٪) بصورت منفرد و ترکیبی برافزایش زمان ماندگاری فیله و ماهی کامل شکم خالی و ماهی قزل‌آلا در مرحله دوم ارزیابی رفتار باکتری کلستریدیوم بوتولینوم در تیمارهای مورد استفاده بوده است. پس از تهیه فیله و ماهی کامل شکم خالی از ماهی قزل‌آلا، مواد نگهدارنده مورد استفاده (نایسین و استات سدیم) و همچنین آماده‌سازی اسپور کلستریدیوم بوتولینوم تیپ E جهت تلقیح به نمونه‌ها، درمجموع ۱۲۰ نمونه در قالب ۸ تیمار، ۳ تکرار برای هر تیمار و ۵ زمان نگهداری، مورد آزمایش قرارگرفتند. نتایج تیمارهای مورد استفاده بر کلستریدیوم بوتولینوم نشان داد که در تیمار شاهد بیشترین رشد مشاهده گردید (لوگ ۸) ولی در تیمارهای منفرد و ترکیبی، رشد فزاینده باکتری کندتر بوده ولی کماکان روند صعودی وجود داشته بطوریکه در روز ۱۶ برای کلستریدیوم لوگ ۵ بوده است. نتایج همچنین حاکی از عدم اختلاف معنی‌دار مابین تیمارهای حاوی فیله و ماهی کامل شکم خالی بوده است. مشخص گردید که در تیمارهای ترکیبی، تأثیرات استات سدیم و نایسین بصورت سینرژینستی بوده و تأثیرات مخلوط دو ترکیب بیشتر از تک‌تک مواد مورد استفاده بوده است. پیش‌بینی میگردد که به هنگام استفاده از مواد نگهدارنده خصوصاً بصورت ترکیبی با غلظت‌های بالاتر و در محدوده استاندارد، روند رشد باکتری بطور معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد کند شده و میتوان از آنها در جهت کنترل بار میکروبی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: نایسین Z ، استات سدیم، قزل‌آلای رنگین‌کمان، کلستریدیوم بوتولینوم

* نویسنده مسئول، تلفن: ۳۴۶۲۴۹۹- ۰۱۵۱ ، پست الکترونیکی: kaboosi@gmail.com

مقدمه

چربی ماهیان منبع مهمی از اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره خصوصاً از خانواده امگا-۳ (3-ω) نظیر DHA (Docosa hexaenoic acid)، EPA (Eicosa pentaenoic acid) است. اسیدهای چرب خانواده امگا-۳ برای رشد عصبی کودک و مرحله جنینی و در طی سال‌های نخست پس از تولد ضروری هستند و اثرات مفیدی بر کاهش التهاب، افسردگی، فشارخون بالا (۲۲)، جلوگیری و درمان بیماری‌های قلبی و عروقی (۲۶) داشته و پیشرفت سرطان را کند نموده و به بهبود اختلالات خود ایمنی، تقویت حافظه و بینایی کمک می‌کند (۴۰). ازآنجایی‌که تولید خیلی از محصولات انبوه است آلودگی ماده غذایی به میکروب بیماریزا می‌تواند باعث شیوع وسیع بیماری در سطح جامعه مصرف‌کننده شود. به‌عنوان‌مثال در سال ۲۰۰۹ شیوع چند ایالتی اشرشیا کلی (Escherichia coli O157:H7) در امریکا به علت آلودگی گوشت گوساله چرخ شده بود که منجر به بستری ۱۹ نفر شد (۱۵ و ۱۷) اگرچه تلاش‌های زیادی توسط دولت‌ها و کمپانی‌های غذایی برای کنترل بیماری‌های ناشی از غذا انجام می‌شود،

www.SID.ir

Archive of SID

مرکز کنترل و پیشگیری بیماری‌ها در آمریکا اعلام کرد که سالانه حدوداً ۵/۲ میلیون بیماری و ۴۵۸۲۶ مورد بستری در بیمارستان و ۱۴۵۸ مرگ در اثر باکتری‌های بیماریزای شناخته‌شده در غذا ایجاد می‌شود (۳۱). پیشرفت‌های تکنولوژیکی جدیدی مانند سیستم انتقال مواد ضد میکروبی لازم است که آلودگی در حین تولید را کاهش و سلامت مواد غذایی را افزایش دهد. باکتری‌ها در تمام سطوح خارجی (پوست وآبشش ها) و در روده ماهی زنده و ماهی تازه صیدشده یافت می‌شوند. که میزان آن بسته به محیط (۳۲)، گونه ماهی (۲۱) و فصل (۴) متفاوت می‌باشد. در حالت طبیعی وجود باکتری‌ها برای ماهی سالم و زنده بدون خطر است، زیرا سیستم دفاع طبیعی بدن مانع از آسیب‌رسانی آنها می‌گردد ولی بلافاصله پس از مرگ، باکتریها و آنزیم‌های مترشحه آنها از طریق آبشش‌ها، عروق خونی، پوست و لایه پوششی حفره شکمی به بافت‌ها هجوم می‌برند (۴). باکتری‌ها در شرایط طبیعی، آنزیم‌هایی ترشح می‌کنند که بافت مورد هجوم را شکسته و حل می‌نمایند. به‌عبارت‌دیگر این آنزیم‌ها هستند که سبب ایجاد تغییرات و درنهایت فساد می‌گردند. باکتری‌های موجود در گوشت ماهی در اثر وجود شرایط مناسب برای رشدشان، در بو و طعم ماهی تغییراتی را به وجود می‌آورند. باکتری-هایی که به‌طور طبیعی روی سطوح خارجی بدن ماهی وجود دارند به قسمت‌هایی که فیله می‌شوند نزدیک‌تر از باکتری‌های روده هستند به همین دلیل عضلات، قبل از آنکه باکتری‌های روده از دیواره لوله گوارشی نفوذ کنند، مورد هجوم باکتری‌های سطحی قرار می‌گیرند. البته شستشوی سطح بدن ماهی می‌تواند تا حدود ۸۰-۹۰ درصد، شمارش باکتری‌های سطحی را کاهش دهد (۲۳). تعداد باکتریهای ماهی تازه زیاد می‌باشد ولی ازنظر ایجاد تغییرات و فساد بسیاری از این باکتری‌ها فاقد اهمیت می‌باشند. باکتری‌های عامل فساد باکتری‌هایی هستند که صفت مشخصه آنها قابلیت ایجاد بو و طعم نامطبوع در عضله ماهی می‌باشد که به‌طور طبیعی نیز تعداد این باکتریها محدود بوده و درصد کمی از فلور طبیعی ماهی را شامل می‌شوند. پس از مرگ ماهی سرعت رشد باکتریها به تعداد باکتریهای موجود در ماهی و درجه حرارت محیط نگهداری بستگی دارد (۲۰). پس از صید تحت تأثیر شرایط اعمال‌شده، تغییراتی در فلور طبیعی رخ می‌دهد. بدین‌صورت که برخی از باکتریها می‌میرند و در عوض باکتریهای جدید در اثر آلودگی‌های ثانویه اضافه می‌گردند (۴).

بوتولیسم عبارت است از مسمویتی که توسط توکسین مترشحه شده یکی از بی‌هوازی‌های هاگ‌زا به نام کلستریدیوم بوتولینوم (Clostridium botulinum) ایجاد می‌گردد. این میکروارگانیسم در خاک و آب‌های نزدیک سواحل در اکثر نقاط جهان به‌وفور یافت می‌گردد و هشت نوع توکسین ترشح می‌نماید. برحسب نوع توکسین مترشحه کلستریدیوم بوتولینوم دارای ۸ تیپ مختلف می‌باشد که آنها را از A تا G نامگذاری می‌نمایند. این مسمویت غذایی به‌صورت سندرم نوروپارا لیتیک است که اغلب با اختلالات و عوارض در معده و روده‌ها همراه می‌باشد. ۱۲ تا ۳۶ ساعت پس از دریافت توکسین، اسهال و استفراغ و سپس ضعف و پریدگی رنگ ایجاد می‌گردد. مهمترین مواد غذایی که در معرض خطر مسمومیت بوتولیسم قراردارند عبارتند از انواع کنسروها به‌ویژه کنسروهای سبزی‌ها مثل مارچوبه، اسفناج، نخودفرنگی، لوبیا و در مرحله بعد کنسروهای گوشتی و ماهی. انواع ماهی‌دودی بسته‌بندی‌شده نیز در معرض خطر این آلودگی می‌باشند. ارگانیسم و اسپور این باکتری در خاک زراعی و جنگل، رسوبات بستر رودخانه‌ها، دریاچه‌ها، وجود داشته و همچنین در روده ماهی و پستانداران نیز وجود دارد. کلستریدیوم بوتولینوم، نوع E، بارها از رسوبات جداشده است (۳۴،۱۲).

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 محصول (دوره زمانی که یک محصول غذایی، تحت وضعیت نگهداری مشخص، برای مصرف مناسب و امن

www.SID.ir

Archive of SID

باشد) مهم است. بدین منظور تکنیک‌های متفاوتی مثل سردسازی محصول بلافاصله پس از صید و نگهداری در یخ (۳۳)، انجماد (۱۱)، بسته‌بندی در خلأ و اتمسفر اصلاح‌شده (۳۲)، استفاده از مواد ضدمیکروبی مثل اسیدهای آلی (۱۰) و نمک اسیدهای آلی (۳۵)، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و مصنوعی (۱۳)، به‌کارگیری اسانس‌ها (۱۹) و همچنین اثر ترکیبی روکش غذایی و اسانس (۳۱) برای افزایش عمر ماندگاری محصولات دریایی و حفظ کیفیت ماهی به کار گرفته‌شده است. عدم استفاده از تکنیک‌های مناسب نگهداری ماهیان و محصولات دریایی منجر به تغییرات سریع در فاکتورهای متفاوت شیمیایی، بیوشیمیایی و میکروبیولوژی محصول گردیده و پدیده پیچیده فساد ماهی را به دنبال دارد (۲۴). که در این پژوهش تکنیک بکارگیری نمک اسیدهای آلی مورد استفاده قرارگرفت.

نایسین: نایسین یک پپتید با وزن مولکولی پایین است که به‌طور تجاری از باکتری Lactococcus lactis تهیه میگردد. نایسین A ۵ پیوند داخلی دی سولفید دارد و نایسین Z گونه طبیعی دیگر نایسین A است که هیستیدین آن در جایگاه ۲۷ با آسپارژین جایگزین شده است (۳۰،۹).

عملکرد نایسین براساس ارگانیسم هدفش به ۳ گروه اصلی تقسیم می‌شود.

ممانعت از فساد ماده غذایی با از بین بردن باکتریهای تولیدکننده اسپور

ممانعت از فساد میکروبی ایجادشده توسط باکترهای اسیدلاکتیک

از بین بردن یا ممانعت از عملکرد باکتریهای گرم مثبت بیماریزا مانند باسیلوس سروس، کلاستریدیوم بوتولینوم و لیستریا مونوسیتوژنز (۳۹). دلایل مختلفی وجود دارد که نایسین را به‌عنوان یک نگهدارنده خوب غذا مطرح می‌سازد. مثلاً این باکتریوسین می‌تواند دوره ماندگاری غذا را افزایش دهد. همچنین به علت خاصیت نگهدارندگی و خواص ضدباکتری خود تولیدکننده غذا را قادر می‌سازد تا فرایند دمای خود را که اثر منفی روی کیفیت غذا و افزایش قیمت تمام‌شده دارد- کاهش دهد. گفته می‌شود احتمال دارد نایسین بتواند هزینه حمل‌ونقل غذا را به علت عدم نیاز به نگهداری سرد، کاهش دهد (۴۰).

بسته به نوع غذا، فرایند حرارتی، pH، شرایط ذخیره‌سازی و بار باکتریایی میزان نایسینی که به غذا اضافه می‌شود، متفاوت خواهد بود. نایسین طیف مهارکنندگی وسیعی علیه باکتری‌های گرم مثبت دارد. همچنین علیه اسپورهای مقاوم به‌گرمای باکتری‌های گرم مثبت دارای فعالیت مهارکنندگی است. همچنین گفته می‌شود باکتریوسین نایسین علیه پاتوژن‌های غذای نظیر Listeria monocytogenes مؤثر است (۴۰). نایسین تجاری موجود در بازار مانند نایسیپلین که محصول شرکت Danisco است، شامل ۲/۵٪ نایسین A که خود دربرگیرنده یک‌میلیون واحد بین‌المللی (IU) در گرم می‌باشد و مابقی آن نمک و شیر خشک است. روش سنجش (آزمایش آگار دیفیوژن افقی برای اندازه‌گیری فعالیت نایسین برای اولین بار توسط Tramer و Fowlerابداع شد) (۱۸).

حضور لیپیدها و حتی پروتئین‌ها در غذا می‌تواند با ترکیب یا واکنش با نایسین باعث کاهش کارایی نایسین در مقابل باکتری‌ها شود. برای مثال در تحقیقی بر روی عملکرد همزمان نایسین و ترکیبات آلی مانند (فسفات، سیترات، EDTA) مشاهده شد که این ترکیبات بر روی دو باکتری E. coli و Salmonella Typhimurium در محلولهای بافری تأثیر مثبت دارند، اما عملکرد آنها در گوشت گوساله کاهش می‌یابد (۱۶) بنابراین باید از یک سیستم انتقال مناسب برای این ماده ضد میکروبی استفاده نمود.

استات سدیم: از گروه دیگر متابولیت‌های میکروبی میتوان به اسیدهای آلی اشاره نمود که فعالیت باکتریوسین‌ها را تکمیل نموده و بیشترین اثر مهارکننده را بر باکتری‌های گرم منفی و باکتری‌های گرم مثبت اسپوردار نشان می‌دهند. مکانیسم عمل این گروه از متابولیت‌ها، مختل نمودن فعالیت سلول و اجزای درون‌سلولی می‌باشد (۳۷). در

www.SID.ir

Archive of SID

صنایع غذایی از نمکهای سدیم اسیدهای آلی با وزن مولکولی کم مانند لاکتیک، استیک، سیتریک به‌منظور کنترل رشد میکروبی، بهبود خواص حسی و افزایش مدت‌زمان ماندگاری مواد غذایی مانند گوشت قرمز (۳۶) و ماهی (۱۴) استفاده می‌شود. عوامل ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی مانند استات و سیترات سدیم علاوه بر ایجاد طعم مقبول و کنترل pH (۴۱) در افزایش دوره ماندگاری مواد غذایی نگهداری شده در شرایط مختلف نگهداری مؤثر می‌باشند (۲۴، ۲۵).

به‌علاوه با توجه به اثر مهارکنندگی این نمکها در مقابل باکتریهای عامل فساد مواد غذایی، این نمکها می‌توانند خواص آنتی باکتریایی در مقابل انواع باکتریهای بیماریزای غذا ازجمله استافیلوکوکوس اورئوس، یرسینیا انتروکولیتیکا، لیستریا مونوسیتوژنز، اشرشیا کولی و کلاستریدیوم بوتولینوم نشان دهند (۲۷). به‌علاوه این نمک‌ها به‌راحتی در دسترس بوده و به‌طورکلی بی‌خطر و فاقد عوارض جانبی برای انسان شناخته‌شده‌اند (۳، ۳۷) .

مواد و روشها

تهیه و آماده‌سازی نمونه ماهی: ماهیان قزل‌آلا تازه صیدشده با میانگین وزنی ۶۰۰ تا ۷۰۰ گرم از مزرعه پرورشی در شهرستان ساری خریداری شد، و به‌سرعت داخل یخ به آزمایشگاه پژوهشکده اکولوژی دریای خزر منتقل شدند. در مدت‌زمان کمتر از نیم ساعت شست‌وشو، سر و دم زنی و تخلیه امعاء و احشاء صورت گرفت و ماهیان به فیله‌هایی با میانگین وزنی ۵ ± ۵۰ گرم تبدیل‌شده و مجدداً آبکشی شدند (۱۵ قطعه ماهی). در کنار فیله‌های تهیه‌شده، تعدادی از نمونه‌ها نیز بصورت ماهی کامل شکم خالی با میانگین وزنی۲۵ ± ۴۱۰ گرم نیز مورد ارزیابی قرارگرفتند (۶۰ قطعه ماهی).

آماده‌سازی نمونه‌های حاوی استات سدیم: استات سدیم مورد استفاده در این آزمایش از شرکت (Merck، آلمان) تهیه شد. فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در محلول ۱٪ w/v استات سدیم با دمای $4^{\circ}C$ به مدت ۱۰ دقیقه غوطه‌ور شدند. نمونه‌های شاهد نیز در آب مقطر $4^{\circ}C$ به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد، سپس به مدت ۵ دقیقه جهت خروج آب اضافی در شبکه توری در دمای $18^{\circ}C$ قرارگرفتند (۲۴، ۳۵).

آماده‌سازی نمونه‌های حاوی نایسین: جهت آماده‌سازی، ابتدا نایسین Z ۲/۵٪ (Serva، آمریکا) که حاوی ۱۰۰۰ IU/mg نایسین در ماده خشک، ۷۵٪ کلرید سدیم و ۲۲/۵٪ شیر می‌باشد در اسیدکلریدریک (Merck ، آلمان) ۰/۰۲ نرمال حل شد و در ظرف استریل توسط فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر، استریل شده و مقدار موردنظر آنرا برداشته و به ظروف حاوی آب مقطر استریل افزوده و پس از مخلوط شدن با غلظت ۰/۱۵٪ بر روی تیمارهای مختلف (فیله و ماهی کامل شکم خالی) اسپری شد.

آماده‌سازی نمونه‌ها جهت آزمایشات تلقیح کلستریدیوم بوتولینوم: الف) تهیه باکتری: سوش کلستریدیوم بوتولینوم، تیپ E (E-Beluga) بوده که از دانشگاه دیویس کالیفرنیا تهیه‌شده بود.

ب) تهیه سوسپانسیونهای میکروبی جهت آزمایشات تلقیحی (Inoculation study)

۱- تهیه سوسپانسیون اسپورهای کلستریدیوم بوتولینوم: با استفاده از تک کلنی خالص کلستریدیوم بوتولینوم در محیط کشت آگار حاوی زرده تخم‌مرغ (egg yolk agar) کشت‌های متعددی در همین محیط به‌صورت سطحی وپر حجم در شرایط بی‌هوازی (با استفاده از سیستم Gaspak) در ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲-۴ روز تا تولید اسپورهای آزاد تهیه گردید. اسپورهای آزاد از طریق تهیه لام و مشاهدات میکروسکوپی مداوم مشخص گردید. پس از تولید حداکثر اسپورهای آزاد، جهت جمع‌آوری اسپورها از پلیت‌های آگار حاوی زرده تخم‌مرغ از آب مقطر استریل حاوی ۰/۱٪ توین ۸۰ (tween 80) از طریق شستشوی کلنی‌ها استفاده گردید. سوسپانسیون تهیه‌شده، در اتانول ۵۰٪ به مدت یک ساعت جهت کشتن سلول‌های رویشی باقیمانده باکتری در حرارت آزمایشگاه قرارگرفت. اسپورها

www.SID.ir

Archive of SID

حداقل چهار بار با استفاده از سانتریفوژ ۱۵۰۰۰g شستشو و تجدید سوسپانسیون گردید.

با استفاده از محلول توین ۸۰ و پرل‌های شیشه‌ای (Glass beed) استریل و ورتکس نمودن سوسپانسیون مادر با تعداد معلوم اسپور در هر میلی‌لیتر از طریق کشت سطحی و شمارش آن در محیط آگار حاوی زرده تخم‌مرغ در شرایط بی‌هوازی انجام گرفت. قبل از انجام هر نوع مطالعه آزمایشات تلقیحی با برداشت ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون مذکور و کشت و شمارش در محیط آگار حاوی زرده تخم‌مرغ تعداد اسپور مجدداً تعیین و تائید گردید. سوسپانسیون تا موقع آزمایش در صفر درجه نگهداری گردید (۱۰). لوگ ۵ باکتری، جهت تلقیح باکتری به نمونه‌های ماهی قزل‌آلا استفاده گردید.

تیمارهای تهیه‌شده در این تحقیق عبارت بودند از:

۱. فیله بسته‌بندی‌شده در شرایط خلأ و بدون مواد نگهدارنده

۲. ماهی کامل شکم خالی بسته‌بندی‌شده در شرایط خلأ و بدون مواد نگهدارنده

۳. استفاده از نایسین ۰/۱۵ گرم بر کیلوگرم در فیله ماهی

۴. استفاده از نایسین ۰/۱۵ گرم بر کیلوگرم در ماهی کامل شکم خالی

۵. استفاده از استات سدیم با غلظت ۱ درصد در فیله ماهی

۶. استفاده از استات سدیم با غلظت ۱ درصد در ماهی کامل شکم خالی

۷. استفاده از استات سدیم با غلظت ۱ درصد و نایسین ۰/۱۵ گرم بر کیلوگرم در فیله ماهی

۸. استفاده از استات سدیم با غلظت ۱ درصد و نایسین ۰/۱۵ گرم بر کیلوگرم در ماهی کامل شکم خالی

با در نظر گرفتن ۸ تیمار، ۳ تکرار برای هر تیمار و ۵ زمان نگهداری، درمجموع ۱۲۰ نمونه مورد ارزیابی قرارگرفت. جهت بسته‌بندی نمونه‌ها در خلأ، ابتدا فشار داخلی بسته‌ها به صفر میلی‌متر جیوه رسید، سپس عمل دوخت سریعاً به‌طور اتوماتیک انجام شد. بسته‌بندی در کیسه‌های نایلونی سه لایه با ابعاد ۲۰×۴۰ که لایه میانی از جنس پلی وینیلیدن کلراید (PVDC) و دولایه خارجی از جنس پلی‌اتیلن (PE) است، با استفاده از دستگاه بسته‌بندی (Multivac ، A300/16، آلمان) انجام‌گرفته و در دمای ۴ درجه برای مدت ۱۶ روز نگهداری شده و رفتار کلستریدیوم در بازه‌های زمانی صفر، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ روز مورد بررسی قرارگرفت.

آزمایشات شمارش کلستریدیوم: ۵ گرم از گوشت ماهی از بسته‌بندی جداشده و به آن ۴۵ میلی‌لیتر آب پپتونه ۰/۱٪ استریل افزوده و در دستگاه قرارداده شد تا محیط هموژن گردد و سپس توسط سمپلر ۱۰۰۰–۱۰۰ میکرولیتری مقدار ۱ میلی‌لیتر جهت تهیه رقت‌های ۱۰ تایی متوالی در لوله‌های شیشه‌ای محتوی ۹ میلی‌لیتر محلول استریل آب پپتونه ۰/۱٪ و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به‌عنوان رقت از خود بسته محتوی ماهی برداشت شد. جهت کشت و جداسازی کلستریدیوم بوتولینوم از محیط کشت آگار حاوی زرده تخم‌مرغ استفاده‌شده و رشد کلنی‌های رشد یافته دارای هاله کدر شیری، حاکی از وجود کلستریدیوم بوتولینوم بوده که با رنگ‌آمیزی گرم تائید میگردد (۳،۳۴).

تجزیه‌وتحلیل آماری: تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌های حاصله با نرم‌افزار SPSS با نسخه ۱۸ انجام پذیرفت. به‌منظور تجزیه‌وتحلیل مقادیر کمی به‌دست‌آمده از آزمایش‌های شیمیایی و آزمایش‌های میکروبی پس از کنترل نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف – اسمیرنوف از تجزیه واریانس دوطرفه در قالب طرح آماری فاکتوریل کاملاً تصادفی استفاده گردید. همچنین برای تعیین تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها در تیمارهای مختلف از آزمون حداقل (LSD) و برای بررسی تفاوت‌های بین تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها در زمان‌های مختلف برای یک تیمار از آزمون دانکن استفاده گردید.

نتایج

www.SID.ir

Archive of SID

مطابق نتایج ذکرشده در جدول های ۱و۲، مقدار باکتری کلستریدیوم در تمامی تیمارهای این آزمایش در روز ۱۶ بیشترین میزان و در روز صفر کمترین میزان بود و بین زمانهای مختلف آزمایش در بیشتر تیمارها، به‌جز در چند مورد، ازنظر آماری اختلاف معنی‌دار بوده است ($P <$ ۰/۰۵). میزان باکتری در فیله و شکم خالی در کلیه تیمارها در زمان صفر تفاوت معنی‌داری باهم نداشت ($P <$ ۰/۰۵).

نتایج آنالیز آماری نشان می‌دهد که در فیله و شکم خالی شاهد و تیمار حاوی نایسین و استات سدیم بصورت ترکیبی، تمامی زمان‌ها باهم اختلاف داشتند. در تیمار حاوی نایسین و استات سدیم در هر دو فرم فیله و شکم خالی بین زمان‌های ۸ و۱۲ اختلاف معنی‌دار وجود نداشته ولی بقیه زمان‌ها دارای اختلاف معنی‌دار بودند.

جدول ۱- تفاوت بین مقادیر میانگین کلستریدیوم بوتولینوم تیپ E در نمونه‌های فیله ماهی قزل‌آلا در زمان‌های مختلف نگهداری

تیمار	زمان نگهداری(روز)				
	صفر	۴	۸	۱۲	۱۶
فیله شاهد	۴/۲۴±۰/۰۷* e A	۵/۳۶±۰/۰۳ d A	۶/۷۶±۰/۱۲ c A	۷/۴۵±۰/۰۸ b A	۸/۴۹±۰/۱۲ a A
فیله حاوی نایسین Z	۴/۳۱±۰/۰۲ d A	۴/۵۶±۰/۱ c B	۵/۲۵±۰/۰۵ b B	۵/۵۴±۰/۰۵ b B	۵/۸۹±۰/۱۳ a B
استات سدیم	۴/۲۵±۰/۰۴ d A	۴/۵۱±۰/۰۵ c B	۵/۲۷±۰/۰۶ b B	۵/۵۰±۰/۳ b B	۵/۹۱±۰/۰۸ a B
نایسین Z و استات سدیم	۴/۲۲±۰/۱ d A	۴/۴۵±۰/۰۴ b B	۵/۰۲±۰/۰۳ c B	۵/۴۲±۰/۰۵ b B	۵/۷۵±۰/۲ a B

* میانگین ± انحراف معیار از میانگین. حروف کوچک و بزرگ متفاوت به ترتیب در هر ردیف و ستون نشان از تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف می‌باشد.

جدول ۲- تفاوت بین مقادیر میانگین کلستریدیوم بوتولینوم تیپ E در نمونه‌های شکم خالی قزل‌آلا در زمان‌های مختلف نگهداری

تیمار	زمان نگهداری(روز)				
	صفر	۴	۸	۱۲	۱۶
شکم خالی شاهد	۴/۲۱±۰/۰۵* e A	۵/۳۲±۰/۰۴ d A	۶/۵۵±۰/۰۵ c A	۷/۵۷±۰/۳ b A	۸/۵۵±۰/۱۴ a A
شکم خالی حاوی نایسین Z	۴/۲۵±۰/۰۴ d A	۴/۴۵±۰/۰۵ c B	۵/۳۲±۰/۰۵ b B	۵/۶۱±۰/۰۷ b B	۵/۹۵±۰/۱ a B
استات سدیم	۴/۲۱±۰/۰۷ d A	۴/۴۸±۰/۰۳ c B	۵/۲۳±۰/۰۶ b B	۵/۵۵±۰/۰۵ b B	۵/۸۷±۰/۰۴ a B
نایسین Z و استات سدیم	۴/۲۴±۰/۰۶ d A	۴/۳۵±۰/۰۵ b B	۵/۱۷±۰/۱ c B	۵/۳۷±۰/۲ b B	۵/۸۰±۰/۰۹ a B

* میانگین ± انحراف معیار از میانگین. حروف کوچک و بزرگ متفاوت به ترتیب در هر ردیف و ستون نشان از تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف می‌باشد.

بحث

در حالت طبیعی وجود باکتری‌ها برای ماهی سالم و زنده بدون خطر است، زیرا سیستم دفاع طبیعی بدن مانع از آسیب‌رسانی آنها می‌گردد و با تقویت سیستم دفاعی، مقاومت ماهی در برابر باکتری‌های پاتوژن افزایش می‌یابد (۳). در مطالعه طافی و همکاران در سال ۱۳۹۲ با افزایش کیتوزان به جیره غذایی ماهی قزل‌آلا مقاومت ماهی را درروياروبی با باکتری بیماریزای آئروموناس هیدروفیلا افزایش دادند (۸). همچنین در مطالعه اکبری و همکاران در سال ۱۳۹۴با افزایش عصاره دانه اسپند اثر مثبتی بر فعالیت لیزوزیم خون ماهی داشت این آنزیم با اثر بر دیواره سلولی و از بین بردن باکتری‌های گرم مثبت

www.SID.ir

Archive of SID

مقاومت ماهی را در برابر این باکتری‌ها افزایش می‌دهد (۱). ولی بلافاصله پس از مرگ، باکتریها و آنزیم‌های مترشحه ماهی از طریق آبشش‌ها، عروق خونی، پوست و لایه پوششی حفره شکمی به بافت‌ها هجوم می‌برند (۳). در این صورت می‌توان با استفاده از مواد نگهدارنده روند رشد باکتری را کاهش داد.

کلستریدیوم بوتولینوم جزء باکتری‌های اسپوردار بی‌هوازی بوده که عامل بوتولیسم می‌باشد. تیپ‌های مختلف این باکتری باعث بروز بوتولیسم در انسان و حیوانات شده که از مهمترین تیپ‌ها میتوان به A، B وE اشاره نمود. تیپ E شایع‌ترین تیپ در محصولات دریایی بوده و از دستگاه گوارش ماهی، آبشش، رسوبات دریا جداشده است. رضویلر و همکاران در سال ۱۳۸۵ تیپ‌های مختلف کلستریدیوم بوتولینوم را در ماهیان شمال و جنوب مورد بررسی قراردادند. نتایج نشان داد که از ۲۴۰ نمونه مورد بررسی، ۱۲ نمونه به کلستریدیوم بوتولینوم آلوده بودند که سهم تیپ E بیشتر بوده (۶ نمونه) و تیپ‌های A و B در مرحله بعد قرارداشتند. بیشترین ارگان آلوده روده ماهیان مورد بررسی بوده است. همچنین میزان آلودگی در ماهیان شمال بیشتر از ماهیان جنوب بوده است. علت این امر احتمالاً بدلیل شوری بسیار بالا آب‌های جنوب بوده که باعث غیرفعال نمودن باکتری می‌گردد (۵). در مطالعه دیگر که توسط توکلی و همکاران در سال ۱۳۹۰ انجام گرفت ۱۴۶ نمونه از ماهیان فرآوری شده و فرآوری نشده ازنظر آلودگی به کلستریدیوم بوتولینوم مورد ارزیابی قرارگرفتند. نتایج نشان داد که تعداد نمونه‌های آلوده ۱۶ قطعه بوده و درصد آلودگی در ماهیان فرآوری شده بیشتر از فرآوری نشده بود. همچنین شایع‌ترین تیپ نیز تیپ E بود. علت اصلی انتخاب تیپ E در مطالعه حاضر پراکنش فراوان آن در محیطهای آبی بوده که از این طریق پتانسیل آلوده نمودن ماهی را دارا می‌باشد (۲). نتایج نشان می‌دهد که بیشترین جمعیت کلستریدیوم در نمونه شاهد (فیله و شکم خالی) در روز ۱۶ بوده که تعداد باکتری در این زمان به لوگ ۸ رسید. در مقایسه با سایر تیمارها که در محدوده لوگ ۵ قرار داشتند. همان‌طور که گفته‌شده تیمار ترکیبی تأثیر مهارکننده بیشتری بر کلستریدیوم داشته است. نتایج مطالعات Leistner و Gorris (۱۹۹۵) نشان داد که استفاده از چند نگهدارنده با مقادیر کم بر مصرف یک نگهدارنده به‌تنهایی با مقادیر زیاد، ارجحیت دارد که این موضوع هم ازنظر ماندگاری و هم خواص ظاهری، ارزش تغذیه‌ای و هم ازنظر اقتصادی بهتر است (۲۸). نتایج مطالعه رضویلر و همکاران در سال ۱۳۸۰ نیز تائید کننده مطلب فوق می‌باشد. طبق گزارشات این محققین تعداد کلستریدیوم در مخلوط نمک و متیل پارابن و همچنین مخلوط نمک با سایر مواد نگهدارنده، روند کاهشی داشته بطوریکه در نمونه‌دارای ترکیب نمک و متیل پارابن تعداد باکتری به صفر رسیده بود. این در حالیست که در نمونه‌های فاقد ماده نگهدارنده و یا نمک خالص به‌تنهایی، تعداد باکتری تلقیح شده به‌سرعت افزایش‌یافته و نشان از عدم تأثیر نمک در دوز مورد استفاده بوده است (۶).

ازآنجاکه میزان تلقیح باکتری به فیله ماهیان در ابتدای آزمایشات ۵ log cfu/g بود، شمارش اولیه باکتری در زمان صفر آزمایشات در تیمارهای فیله و شکم‌خالی به ترتیب ۴/۲۲±۰/۰۹ و۴/۲۱±۰/۰۴ بود. به‌منظور اطمینان از عدم آلودگی اولیه نمونه‌ها به کلستریدیوم بوتولینوم، بطور تصادفی از۱۰ تیمار حاوی فیله و شکم خالی نمونه‌برداری شده تا وجود یا عدم وجود باکتری تعیین گردد. نتایج نمونه‌برداری و کشت باکتریایی اولیه در محیط کشت آگار حاوی زرده تخم‌مرغ حاکی از عدم وجود کلستریدیوم بوتولینوم در نمونه‌های فیله و شکم خالی قزل‌آلا بود. نتایج نشان داد که روند رشد کلستریدیوم در نمونه‌های شاهد و دارای مواد نگهدارنده افزایشی بوده با این تفاوت در نمونه شاهد روند سریعتری داشته است. میزان حساسیت کلستریدیوم به مواد نگهدارنده مورد استفاده نسبت لیستریا بیشتر بوده است. دلیل این امر احتمالاً به خاطر آنست که زمانی اسپور کلستریدیوم به فیله یا ماهی کامل شکم خالی تبدیل به سلول رویشی شده و درنتیجه تحت تأثیر اثر مهارکننده نایسین و استات سدیم قرار می‌گیرند. سلول

www.SID.ir

Archive of SID

رویشی کلستریدیوم مقاومت کمتری، در مقایسه با سلول لیستریا، نسبت به نگهدارنده‌های شیمیایی و یا بیولوژیک دارد. مطالعات نشان می‌دهد که باکتریوسین‌های ترشح‌شده از باکتری‌های گروه لاکتیک بر رشد و تولید نوروتوکسین از کلستریدیوم بوتولینوم اثر مهارکننده داشته و با غیرفعال کردن سلولهای باکتریایی مانع از تولید توکسین می‌شوند. از مهمترین باکتریوسین‌ها میتوان به نایسین، پدیوسین و لاکتاسین و همچنین اسیدهای آلی مثل لاکتیک، استیک و پروپیونیک اشاره نمود (۱۶). مطابق نتایج ذکر شده در جداول ۱و ۲، جمعیت کلستریدیوم در تمامی تیمارهای این آزمایش (فیله و شکم خالی) در روز ۱۶ بیشترین میزان و در روز صفر کمترین میزان را داشته و بین زمان‌های مختلف آزمایش در بیشتر تیمارها ازنظر آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). روند رشد باکتری در نمونه‌های شکم خالی و فیله تفاوت چندانی باهم نداشته‌اند. در نمونه‌های که دارای مواد نگهدارنده ترکیبی رشد بطئی‌تر بوده است. رضویلر و همکارانش در سال ۱۳۸۰ از محیط عصاره مغز و قلب گاو (BHI) بعنوان محیط کشت مدل خاویار جهت ارزیابی روند رشد کلستریدیوم بوتولینوم و اشرشیا کلی استفاده کردند. نگهدارنده‌های مورد استفاده شامل نمک خالص در فرمولاسیون با اسید بوریک و بوراکس، سوربات پتاسیم و مشتقاوت بنزوات بوده که در دمای ۳۰ درجه و زمان‌های صفر، ۲، ۵ و ۷ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند (۸). نتایج نشان داد که به هنگام استفاده از متیل پارابن (از مشتقات بنزوات) رشد و تولید توکسین توسط کلستریدیوم متوقف‌شده ولی در سایر تیمارها خصوصاً نمک خالص، باکتری روند رشد صعودی داشته است. نتایج تحقیق فوق حاکی از اثرات مهارکننده نمک‌های شیمیایی در محیط کشت آزمایشگاهی بوده که نمک استات سدیم مورد استفاده در این تحقیق نیز اثرات مشابه‌ای را نشان خواهد داد. همانطور که در نتایج تحقیق حاضر مشاهده قرارگرفتن فیله و نمونه‌های شکم خالی ماهی در معرض تیمارهای حاوی استات سدیم، مشابه تیمارهای نایسین Z و تیمار ترکیبی، منجر به کاهش میزان TVC، PTC و LAB شد نتایج حاصله می‌تواند مؤید ادعای Lee و همکاران در سال ۲۰۰۲ باشد که به این نتیجه رسیدند که نمک‌های سدیم مواد ضد باکتری مؤثر در مقابل باکتری‌های گرم مثبت می‌باشند. ولی بااین‌وجود، به هنگام استفاده در بافت ماهی، پارامترهای مختلفی بر فعالیت نگهدارنده‌های مورد استفاده (نگهدارنده شیمیایی و یا بیولوژیک) اثر خواهند گذاشت (۲۷). نتیجه‌گیری کلی آنکه در تیمارهای ترکیبی، تأثیرات استات سدیم و نایسین بصورت سینرژینستی بوده و تأثیرات مخلوط دو ترکیب بیشتر از تک‌تک مواد مورد استفاده بوده است. پیش‌بینی می‌گردد که به هنگام استفاده از مواد نگهدارنده خصوصاً بصورت ترکیبی با غلظت‌های بالاتر و در محدوده استاندارد، روند رشد باکتری بطور معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد کند شده و میتوان از آنها در جهت کنترل بار میکروبی استفاده نمود.

منابع

۱- اکبری، پ.، فرقانی پور، م.، و فریدونی، م.س.، ۱۳۹۴. اثر عصاره دانه اسپند(Peganum harmalal) بعنوان مکمل غذایی بر برخی از پارامترهای غیراختصاصی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Onchorhynchus mykiss)، مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)، جلد۲۸، شماره۱، صفحات ۸-۱.

۲- توکلی، ح.، و ایمانی فولادی، ع.، ۱۳۹۰. تعیین آلودگی به کلستریدیم بوتولینوم در دوگونه از ماهیان فرآوری شده و فرآوری نشده، مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی‌گرگان، دوره ۱۳، شماره ۱ (پیاپی ۳۷)، صفحات ۷۹ -۸۷.

۳- حق پرست، س.، کشیری، ح.، و شعبانپور، ب.، ۱۳۸۷. بررسی تغییرات کیفی فیله ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان (Onchorhynchus mykiss) پس از غوطه‌وری در محلولهای نمکی سدیم طی نگهداری در یخچال (۴ °C)، کنفرانس ملی غذای عملگر، صفحات ۱۱ -۱۲.

۴- رضوی شیرازی، ح.، ۱۳۸۵. تکنولوژی فراورده‌های دریایی: اصول نگهداری و عمل‌آوری (۱)، چاپ دوم، تهران انتشارات پارس نگار، صفحه ۳۳۶.

www.SID.ir

Archive of SID

۵-رضویلر، و.، صفری، ر.، و پورغلام، ر.، ۱۳۸۰. مطالعه پتانسیل رشد و توکسین‌زایی کلستریدیوم بوتولینوم و اشریشیا کولای متأثر از فرمولاسیون‌های مختلف نمک و مواد نگهدارنده مورد پیش‌بینی در فرآوری خاویار، مجله تحقیقات دامپزشکی، سال پنجاه‌وشش، شماره ۲ (پیاپی ۲۲۲)، صفحات ۱۴-۹.

۶-رضویلر، و.، و توکلی، ح .، ۱۳۸۵. مطالعه فراوانی تیپ‌های مسمومیتزای انسانی کلستریدیوم بوتولینوم (A، B،E) در بعضی از ماهیان دریای شمال (سفید و کفال) و ماهیان دریای جنوب (شوریده و حلوا) ایران، مجله تحقیقات دامپزشکی، سال شصت و یکم، شماره ۱ (پیاپی ۲۴۱)، صفحات ۴۲-۳۹.

۷- رضویلر، و.، شجاعی، ه.، سلمانی، ع.، و رستمی، ح.، ۱۳۸۰. مطالعه مخاطرات بهداشتی و فساد میکروبی خاویان ایران در طول فراوری نگهداری و محیط فراوری آن در حوزه دریای مازندان مجله تحقیقات دامپزشکی، سال پنجاه‌وشش، شماره ۱ (پیاپی ۲۲۱)، صفحات ۸۷- ۸۱.

۸- طافی، ع.، مشکینی، س.، و توکمه چی، ا.، ۱۳۹۲. مطالعه تأثیر کیتوزان بر برخی از پاسخهای ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان(Onchorhynchus mykiss) و افزایش مقاومت آن به دنبال رویارویی باآئرومونا‌س هیدروفیلا، مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)، جلد۲۶، شماره۴، صفحات ۴۷۷-۴۶۸.

9- Abee, T., Rombouts, F.M., Hugenholtz, J., Guihard, G., and Letellier, L., 1994. Mode of action of nisin Z against Listeria monocytogenes Scott A grown at high and low temperatures Applied and Environmental Microbiology. 60, (6), PP: 1962-1968.

10- Al-Dagal, M.M., and Bazarra, W.A., 1999. Extension of shelf-life of whole and peeled shrimp with organic acid salts and bifidobacteria, Journal of Food Protect. 62, PP: 51–56.

11- Aubourg, S.P., Perez-Alonso, F., and Gallardo, J.M., 2004. Studies on rancidity inhibition in frozen horse mackerel (Trachurus trachurus) by citric acid and ascorbic acids, European Journal of Lipid Science and Technology. 106, PP: 232-240.

12- Baker, D.A., Genigeorgis, C., Glover, J., and Razavilar, V., 1990. Growth and toxigenesis of Clostridium botulinum type E in fishes packaged under modified atmospheres. International

13- Banergee, S., 2006. Inhibition of mackerel (Scomber scomberus) muscle lipoxygenase by green tea polyphenols, Food Research and Technology. 39, PP: 486-491.

14- Boskou, G., and Debevere, J., 2000. Shelf life extension of cod fillets with an acetate buffer spray prior to packaging under modified atmosphere, Food Additives and Contaminants. 17, PP: 17–25.

15- Centers for Disease Control and Prevention, 2009. Multistate outbreak of E. coli O157: H7 infections linked to eating raw refrigerated, prepackaged cookie dough. Update June, 30.

16- Crandall, A.D., and Montville, T.J., 1993. Inhibition of Cl. Botulinum growth and toxinogenesis in a model gravy system by coinoculation with bacteriocin producing lactic acid bacteria, J Food Prot. 56, PP: 485–488.

17- Cutter, C.N., and Siragusa, G.R., 1995. Treatments with nisin and chelators to reduce Salmonella and Escherichia coli on beef, Journal of Food Protection. 58 (9), PP: 1028-1030.

18 Fowler, G.G., Jarvis, B., and Tramer, J., 1975. The assay of nisin in foods, Technical Series, Society for Applied Bacteriology. (8), No. 8, PP: 91-105.

19- Frangos, L., Pyrgotou, N., Giatrakou, V., Ntzimani, A., and Savvaidis, I.N., 2010. Combined effects of salting, oregano oil and vacuum-packaging on the shelf-life of refrigerated trout fillets, Food Microbiology. 27, PP: 115–121.

20- Gram, L., and Dalgaard, P., 2002. Fish spoilage bacteria–problems and solutions, Current Opinion in Biotechnology. 13, PP: 262–266.

21- Guizani, N., Al-Busaidy, M.A., Al-Busaidy, I.M., Mothershaw, A., and Rahman, M.S., 2005.The effect of storage temperature on histamine production and freshness of yellow fin tuna (Thunnus albacores).Food Research International. 38, PP: 215-222.

22- Haliloglu, H.I., Bayir, A., Sirkecioglu, A.N., Aras, N.M., and Atamanalp, M., 2004. Comparison of fatty acid composition in some tissues of rainbow trot (Oncorhynchus mykiss) living in seawater and freshwater, Food Chemistry. 86, PP: 55-59.

23- Huss, H., and Zagorec, M.b., 1995. Biopreservation of Fish Products- A Review of Recent Approaches and Results, J. of Aquatic Food Product Technology. 4 (2), PP: 5 -26.

24- Kashiri, H., Haghparast, S., and Shabanpour, B., 2011. Effects of Sodium Salt Solutions (Sodium Acetate, Lactate and Citrate) on Physico-

www.SID.ir

Archive of SID

chemical and Sensory Characteristics of Persian Sturgeon (Acipenser persicus) Fillets under Refrigerated Storage, Journal of Agricultural Technology. 13, PP: 89-98.

25- Kim, C.R., Hearnsberger, J.O., Vickery, A.P., White, C.H., and Marshal, D.L., 1995. Extending shelf life of refrigerated catfish fillets using sodium acetate and mono potassium phosphate, J. Food Preserv. 58, PP: 644–647.

26- Kose, S., Karacam, H., Kutlu, S., and Boran, M., 2001. Investigating the shelf- life of the anchovy dish called .Hamsikusu. In frozen storage at -18±1ºc .Turk, J. Vet. Anim Sci. 25, PP: 651-656.

27- Lee, Y.L., Cesario, T., Owens, J., Shanbrom, E., and Thrupp, L.D., 2002. Antibacterial activity of citrate and acetate, Nutrition. 18, PP: 665–666.

28- Leistner, L., and Gorris, L.M.G., 1995. Food preservation by hurdle technology, Trends Food Science and Technology. 6, PP: 35-67.

29- Mead, P.S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L.F., Bresee, J.S., Shapiro, C., Griffin, P.M., and Tauxe, R.V., 1999. Food-related illness and death in the United States, Emerging Infectious Diseases. 5 (5), PP: 607-625.

30- Mulders, J.W.M., Boerrigter, I.J., Rollema, H.S., Siezen, R.J., and Devos, W.M., 1991. Identification and characterization of the lantibiotic nisin-Z, a natural nisin variant, European Journal of Biochemistry. 201 (3), PP: 581-584.

31- Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., and Hosseini, S.M.H., 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry. 120, PP: 193–198.

32- Özogul, F., Polat, A., and Özogul, Y., 2004. The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (Sardina pilchardus), Food Chemistry. 85, PP: 267-273.

33- Özyurt, G., Kuley, E., Özkűtűk, S., and Özogul, F., 2009. Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (Mullus barbutus) and goldband goatfish (Upeneus moluccensis) during storage in ice, Food Chemistry, Vol.114. PP: 505-510.

34- Peck, M.W., Goodburn, K.E., and Betts, R.P., 2006. Clostridium botulinum in vacuum packed (VP) and modified atmosphere packed (MAP) chilled foods. Final Project Report (B13006).

35- Sallam, K.I., 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon, Food control. 18(5), PP: 566-575.

36- Sallam, K.h.I., and Samejima, K., 2004. Microbiological and chemical quality of ground beef treated with sodium lactate and sodium chloride during refrigerated storage, Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie/ LWT-Food Science and Technology. 37, PP: 865–871.

37- Sallam, K.h.I., 2006. Chemical, sensory and shelf life evaluation of sliced salmon treated with salts of organic acids .Journal of Food Chemistry. 101, (2) PP: 592-600.

38- Skandamis, P.N., Stopforth, J.D., and Sofos, J.N., 2007. Modeling the Effect of Storage Atmosphere on Growth–No Growth Interface of Listeria monocytogenes as a Function of Temperature, Sodium Lactate, Sodium Diacetate, and NaCl, Journal of Food Protection. 70, (10) PP: 2329–2338.

39- Stiles, M.E., 1994. Potential for biological control of agents of foodborn disease, Food Research International. 27, PP: 245-250.

40- Stodolnik, L., Stawicka, A., Szczepanik, G., and Aubourg, S.P., 2005. Rancidity inhibition study in frozen whole mackerel (Scomber scombrus) following flaxseed (Linum usitatissimum) extract treatment, Grasas y Aceites. 56 (3), PP: 198-204.

41- USFDA., 1995. Bacteriological/analytical manual (8th Ed.)AOAC International,Gaithersburg ,MD 20877,USA:United States Food and Drug Administration.

www.SID.ir

Archive of SID

Effects of two preservatives nisin and sodium acetate on changes the growth of *Clostridium botulinum* in rainbow trout *(Onchorhynchus mykiss*)

Safari R.[1], Yaghoubzadeh Z.[1] and Kaboosi H.[2]

[1] Microbiology Dept., Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Caspian Sea Ecology Research Center (CSERC), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, I.R. of Iran

[2] Microbiology Dept., Ayat ollah Amoli Branch, Islamic, Azad University, Amol, I.R. of Iran

Abstract

The aim of this study was evaluation of the effect of nisin (0.15%) and sodium acetate (1%), individually and in combination together, to increase the shelf life of fillet and gutted whole rainbow trout. In total, 120 samples were examined in 5 time, 8 treatments with triplicate. Behavior of *Clostridium botulinum* in the samples stored at 4°C was tested in zero, 4, 8, 12 and 16 days. The results showed that the greatest growth of *C. botulinum* was observed in control treatment (without any preservatives) (log 8). However, in single preservative treatments, bacterial growth was slower than control treatment (log 5 on day 16). The lowest of bacterial changes was seen in combination of nisin and sodium acetate treatments. It was found that the effects of sodium acetate and nisin particularly in combination together have been more influenced on behavior of C. botulinum than single treatment (synergism effect) It is anticipated that the use of preservatives, especially in higher concentrations and range of standard, trend of bacterial growth significantly decrease compared with the control and can be used to control microbial count.

Key words: nisin Z, sodium acetate, rainbow trout, *Clostridium botulinum*

www.SID.ir