Archive of SID

DOI: 10.22092/vj.2017.109878
شماره ۱۱۶ پاییز ۱۳۹۶
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

مطالعه اثر آسکوربیک اسید بر باکتری‌های *استرپتوکوکوس اینیایی* و *لاکتوکوکوس گارویه* جداشده از ماهیان قزل آلای رنگین‌کمان پرورشی در شرایط آزمایشگاهی

• **معصومه محمودی**
کارشناسی ارشد بهداشت آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
• **امین نعمت اللهی(نویسنده مسئول)**
بهداشت آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
• **حمدا...مشتاقی**
بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
• **مجتبی بنیادیان**
بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۵-۰۶-۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵-۰۷-۲۵
Email: anematolahi@yahoo.com

چکیده

دستیابي به روش‌های حفظ کیفیت ماهي در هنگام نگهداري و جلوگيري از بروز عوامل بیماری‌زا در محصول مورد مصرف بسیار ضروري است. با توجه به اثرات سوء نگه‌دارنده‌های شیمیایی بر سلامت انسان، جایگزینی مواد طبیعي با خاصیت ضد باکتریایي براي حفظ کیفیت ماهیان پس از برداشت بسیار مطلوب می‌باشد. مطالعه اخیر به‌منظور استفاده از آسکوربیک اسید و ارتقاي خاصیت ضد باکتري آن تحت شرایط گوناگون pH محیطي بر روی *استرپتوکوکوس اینیایی* و *لاکتوکوکوس گارویه* جداشده از ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی انجام شد. فعالیت ضدباکتریایی غلظت‌های مختلف آسکوربیک اسید (۰، ۱۹/۵۳، ۳۹/۰۶، ۷۸/۱۳، ۱۵۶/۲۵، ۳۱۲/۵، ۶۲۵،۱۲۵۰، ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تحت سه اسیدیته ۵/۵، ۶ و ۷ و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد با استفاده از روش‌های میکرودایلوشن و قرائت جذب نوری انجام شد. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل و در سه تکرار انجام گرفت. میانگین آن‌ها به روش تجزیه وتحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار Sigmastat انجام شد. بیشترین اثر مهاری رشد (MIC) در غلظت ۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در pH ۵/۵ و ۶ علیه هر دو باکتری به دست آمد. کمترین میزان جذب نوری نیز در غلظت ۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آسکوربیک اسید در اسیدیته های ۵/۵ و ۶ علیه هر دو باکتری در مقایسه با غلظت‌های کمتر آن بود. درحالی‌که در اسیدیته ۷ با توجه با بالا بودن میزان MIC (۵۰۰۰میکروگرم بر میلی‌لیتر) کمتر تاثیر گذار بود. کمترین میزان جذب نوری نیز در غلظت ۲۵۰۰ آسکوربیک اسید در اسیدیته های ۵/۵ و ۶ علیه هر دو باکتری در مقایسه با غلظت‌های کمتر آن بود. در اسیدیته معادل ۷ نیز در غلظت ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آسکوربیک اسید، جذب نوری در مقایسه با سایر غلظت‌های کمتر آن علیه هر دو باکتری به‌طور معنی‌داری کمتر بود ($p < ۰/۰۵$) که نشان از اثر مهار رشد داشت. نتایج نشان داد که کاهش اسیدیته از ۷ به ۶ و ۵/۵ سبب افزایش اثر مهاری آسکوربیک اسید در غلظت ۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر علیه هر دو باکتري شد.

کلمات کلیدی: آسکوربیک اسید، *استرپتوکوکوس اینیایی*، *لاکتوکوکوس گارویه*، قزل آلای رنگین‌کمان

www.SID.ir

Archive of SID

Veterinary Researches & Biological Products No 116 pp: 225-231

Study effect of ascorbic acid on ***Streptococcus iniae*** and ***Lactococcus garvieae*** isolated from reared ***Oncorhynchus mykiss*** in invitro condition

By: Mahmoudi, M., M.Sc. in Aquatic Animal Health, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran. Nematollahi, A., (Corresponding Author), Associate Professor at Division of Aquatic Animal Health, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran. Moshtaghi, H., Associate Professor of Food Hygiene and Quality Control, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran. and Boniadian, M., Associate Professor of Food Hygiene and Quality Control, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.

Email: anematolahi@yahoo.com

Received: 2016-09-18 Accepted: 2016-10-16

Developing safe methods to maintain quality of harvested fish during storage and inhibiting growth of pathogens is crucial. On the other hand, using chemical preservatives to control the pathogens is a great health concern for us. Therefore, it is desirable to use natural preservatives with antibacterial properties for keeping health the harvested aquatic products. This study was conducted to evaluate effect of separate and synchronized activities of acid ascorbic so their improving anti-bacterial effect by pH alternations on *Streptococcus iniae* and *Lactococcus garviae* isolated from reared rainbow trout of province. We assessed the antibacterial effects of different concentrations of ascorbic acid (0, 19.53, 39.06, 78.13, 156.25, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000 µg/mL), separately and simultaneously, in vitro on growing *Streptococcus iniae* and *Lactococcus garviae* under different pH 5.5, 6 and 7 by microdilution and spectrophotometrically methods. In microdilution assessment method, the most effect of growth inhibitory on the both of bacteria by ascorbic acid was observed in concentration 2500 µg/L under pH 5.5 and 6; nevertheless less inhibitory was observed in pH 7 by more concentration of the ascorbic acid, as MIC 5000 µg/mL. Considering the mentioned results, decreasing pH from 7 to 6 and 5.5 could increase inhibitory effect of ascorbic acid on both growing *Streptococcus iniae* and *Lactococcus garviae* activities.

Key words: *Streptococcus iniae,* ascorbic acid, Rainbow trout, *Lactococcus garviae*

مقدمه

بیماری‌های غذازاد با منشا آبزیان یک مشکل بهداشت عمومی بزرگ و در حال رشد است. امروزه با توجه به اینکه درصد قابل‌توجهی از غذای مصرفی به‌صورت آماده یا فرآوری شده تهیه می شود، درنتیجه نیاز به حفظ کیفیت در محصولات غذایی و جلوگیری از رشد جمعیت باکتری‌ها امری مهم و غیرقابل‌چشم‌پوشی است (۱۲). از طرف دیگر استفاده بیش‌ازحد نگه‌دارنده‌های شیمیایی سبب افزایش نگرانی مصرف‌کنندگان شده است (۲). ویتامین‌ها ترکیباتی آلی غیر از گلوسید، لیپید و پروتئین‌اند که در طبیعت توسط تک‌یاخته‌ای‌ها، سلول‌های گیاهی تکامل‌یافته ساخته می‌شوند. آسکوربیک اسید باعث تأخیر در ایجاد رنگ تیره و ترشیدگی در فرآورده‌های گوشتی، میوه و سبزی‌های کنسرو شده می‌گردد (۱۷ و ۱۶، ۱۵، ۵، ۳). در صنایع غذایی از آسکوربیک اسید به‌عنوان نگه‌دارنده و تثبیت‌کننده استفاده می‌شود و در صنایع پلی مر، عکاسی، چاپ و مواد آرایشی و درزمینه پزشکی هنگام نگه‌داری خون ذخیره‌شده و داروهای ضدبارداری استفاده می‌شود (۷). ویتامین ث علاوه بر خاصیت اسیدی به دلیل ویژگی حذف‌کنندگی و جاذب بودن، می‌تواند از طریق اتصال با ترکیباتی همچون یون‌های فلزی و گروه‌های آمینی سولفیدریلی پروتئین‌ها اثرات مهاری بر میکروارگانیسم ها داشته باشد. ویژگی جذب اکسیژن به‌وسیله ویتامین ث ممکن است به‌عنوان یک سد ممانعتی مهم در مقابل میزان نیاز به اکسیژن برای باکتری‌ها مطرح باشد (۲۲). استرپتوکوکوزیس در ماهی به شکل مجموعه‌ای از بیماری‌های مشابه می‌باشد و توسط جنس‌ها و گونه‌های مختلفی از باکتری‌های کوکسی که در رنگ‌آمیزی گرم مثبت هستند و از باکتری‌های لاکتیک می‌باشند ایجاد می‌شود (۴). این کوکسی های گرم مثبت کوچک بی‌هوازی اختیاری می‌باشند که اغلب در زنجیره‌های طولانی به‌اندازه ۰/۵-۰/۳ میکرومتر دیده می‌شوند (۲۰ و ۱۹). از علائم مشخص این بیماری بیرون‌زدگی دو طرفی چشم‌ها و یا فرورفتگی آن‌ها، تیرگی و سیاه شدن رنگ پوست، خونریزی‌های سرسوزنی روی دیواره داخلی سرپوش آب‌ششی و شکم ماهی مبتلابه استرپتوکوکوزیس، متسع شده و در محوطه صفاقی مایع آسیتی همراه با خون وجود دارد (۱۱ و ۱). لاکتوکوکوس گارویه عامل بیماری

www.SID.ir

Archive of SID

لاکتوکوکوزیس می‌باشد این باکتری کوکوباسیل گرم مثبت و فاقد تحرک با همولیز آلفا است که در بسیاري از گونه‌های ماهي و به‌ویژه قزل آلاي رنگین‌کمان به‌عنوان عامل بیماری‌زا گزارش‌شده است (۱۸). این باکتري از عوامل بیماری‌های مشترك محسوب می‌شود و می‌تواند منجر به بروز اندوکاردیت در انسان شود که اهمیت بیماري را دوچندان می‌کند (۲۴). با بروز سپتي سمي در ماهی مبتلا همراه است که معمولاً با علائمی چون شناي غیرعادي، تیرگي بدن، اگزوفتالمي، خونریزي در داخل و یا اطراف کره چشم یا خونریزی‌های سطحي بدن در نواحی سرپوش آب‌ششی، قاعده باله‌ها و همچنین خونریزی‌های وسیع داخلي ظهور پیدا می‌کند (۱۳ و ۶). هدف از این مطالعه اثر آسکوربیک اسید تحت شرایط گوناگون اسیدیته محیطي علیه باکتری‌های زئونوز شامل استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه جداشده از ماهیان قزل آلای رنگین‌کمان پرورشي با استفاده از روش‌های میکرودایلوشن و قرائت جذب نوری بود.

مواد و روش‌ها

تهیه آسکوربیک اسید و آماده‌سازی آن

ابتدا پودر آسکوربیک اسید از شرکت سیگما آلدریچ (Sigma-Aldrich) خریداری‌شده و در آب مقطر استریل حل شد و توسط فیلتر میکروبیولوژیک ۴۵ درصد میکرومتر استریل گردید.

جداسازی و شناسایی باکتری‌های استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه

به‌منظور جداسازی و شناسایی باکتری‌های استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه، نمونه‌گیری از ماهیان ۳۳ مزرعه پرورش ماهی در استان چهارمحال و بختیاری که در تابستان ۱۳۹۴ به‌عنوان موارد مشکوک به بیماری گزارش‌شده بودند انجام شد و همچنین باکتری‌های ایزوله شده جهت شناسایی دقیق‌تر گونه به آزمایشگاه مرجع ارجاع داده شد. درمجموع ۱۰۰ ماهی دارای علامت مشکوک به بیماری در مجاورت یخ و در حداقل زمان ممکن به مرکز تحقیقات شیلات دانشگاه آزاد واحد شهرکرد منتقل شد.

تعیین خاصیت ضد باکتریایی آسکوربیک اسید

روش سنجش رقت میکرو براث (Microdilution broth assay) برای بررسی اثر مهاری آسکوربیک اسید بر روی باکتری‌های استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه تحت سه اسیدیته به ترتیب ۵/۵، ۶ و ۷ و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد مورداستفاده قرار گرفت. پلیت‌های استریل ۹۶ خانه‌ای پلی استرین با ظرفیت ۳۰۰ میکرو لیتر استفاده‌شده و محلول آسکوربیک اسید با غلظت ۱۰۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با عبور از فیلتر استریل غشایی با منافذ ۰/۴۵ mμ صاف‌شده و ۱۵۰ میکرو لیتر از محلول آسکوربیک اسید به هر چاهک از ستون اول با استفاده از یک پیپتور چندکاناله اضافه شد. سپس ۱۵۰ lμ از محیط آبگوشت TSB به ستون اول اضافه‌شده و به‌طور کامل با مایع داخل چاهک‌های متناظر از ستون دوم ده بار مخلوط شد. پس‌ازآن ۱۵۰ lμ نمونه برداشته و به ستون کناری اضافه و مخلوط شد. برای تمامی چاهک‌های دو برابر رقت انجام گردید. از یک ستون به‌عنوان شاهد باکتری و ستون دیگری نیز به‌عنوان شاهد محیط کشت استفاده شد. درنتیجه این‌گونه رقت سازی، گرادیان غلظت آسکوربیک اسید از ۰ تا ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سراسر پلیت به دست آمد. ۱۰ میکرو لیتر از محیط کشت هرکدام از باکتری‌های مورد آزمایش پس‌از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در هر چاهک پلیت به‌جز چاهک ۱۰ که شاهد ماده موردمطالعه بود و چاهک ۱۲ با غلظت حاصل نهایی 10^5 cfu/ml اضافه شدند. میکرو پلیت در انکوباتور به مدت ۴۸ ساعت در ۲۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده‌شده و رشد باکتریایی به‌وسیله ELISA reader و تغییر در جذب با طول‌موج ۶۳۰ nm اندازه‌گیری شد (MIC (Minimum Inhibitory Concentration.۹) به‌عنوان کمترین غلظت آسکوربیک اسید در مهار رشد باکتری‌های مورد آزمایش مشخص شد. سنجش MIC برای هر باکتري سه بار انجام‌شد (۲۵). برای تعیین MBC (Minimum Bactericidal Concentration)) نیز تعداد کلونی‌های باکتری بر روی محیط کشت Muller Hinton agar شمارش گردید.

آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل انجام شد. برای آنالیز نتایج حاصله از نرم‌افزار Sigmastat و روش آزمون چند

جدول ۱- حداقل غلظت مهار رشد و حداقل غلظت کشندگی محلول آسکوربیک اسید (میکروگرم بر میلی‌لیتر) بر *لاکتوکوکوس گارویه* و *استرپتوکوکوس اینیایی* در اسیدیته‌های مختلف

باکتری	غلظت (µg/mL)	آسکوربیک اسید		
		pH		
		۵/۵	۶	۷
لاکتوکوکوس گارویه	حداقل غلظت مهار رشد	۲۵۰۰	۲۵۰۰	۵۰۰۰
	حداقل غلظت کشندگی	*	*	*
استرپتوکوکوس اینیایی	حداقل غلظت مهار رشد	۲۵۰۰	۲۵۰۰	۵۰۰۰
	حداقل غلظت کشندگی	*	*	*

*: مشاهده نشد.

www.SID.ir

Archive of SID

دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال p<۰/۰۵ برای مقایسه میانگین داده‌ها استفاده شد. کلیه آزمون‌ها در سه تکرار انجام شدند.

یافته‌ها

نتایج حاصل از روش میکرودایلوشن نشان داد که مهار رشد باکتری استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه در اسیدیته های ۵/۵ و ۶ در غلظت ۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد درحالی‌که مهار رشد در اسیدیته ۷ در غلظت ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (جدول ۱).

یافته‌های حاصل از بررسی رشد باکتری با استفاده از تغییرات جذب نوری (جداول ۲، ۳ و ۴) نشان داد که در تمامی اسیدیته ها با افزایش میزان غلظت آسکوربیک اسید میزان جذب نوری کاهش یافت به‌گونه‌ای که کمترین میزان جذب نوری در اسیدیته های ۵/۵ و ۶ در غلظت ۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در اسیدیته ۷ در غلظت ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که به‌طور معنی‌داری با میزان جذب نوری سایر غلظت‌ها در اسیدیته های مختلف اختلاف داشت (p < ۰/۰۵).

قرائت تغییرات جذب نوری در غلظت‌های مختلف و اسیدیته های موردمطالعه حاکی از کاهش آن با افزایش غلظت آسکوربیک اسید بود، میزان جذب نوری در غلظت ۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در اسیدیته های ۵/۵ و ۶ در مقایسه با غلظت‌های کمتر از آن به‌طور معنی‌داری پایین بود که حاکی از مهار رشد باکتری می‌باشد. در اسیدیته ۷ در غلظت ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نیز در مقایسه با مقادیر کمتر آسکوربیک اسید میزان جذب نوری اختلاف آماری معنی‌داری داشت (p < ۰/۰۵).

بحث

در گذشته اغلب تولیدکنندگان مواد غذایی برای جلوگیری از رشد و بقای میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و فساد و نیز راستای افزایش ماندگاری از نگهدارنده های شیمیایی استفاده می کردند؛ اما در سال‌های اخیر به علت ترجیح دادن مصرف‌کننده‌ها به استفاده از غذای ایمن و عاری از مواد شیمیایی، مطالعات فراوانی درزمینه مصرف نگه‌دارنده‌های طبیعی در محصولات غذایی صورت گرفته است ازجمله این ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی آسکوربیک اسید می‌باشد. در این مطالعه اثر ضد باکتریایی آسکوربیک اسید بر استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه با استفاده از روش میکرودایلوشن و قرائت تغییرات جذب نوری موردسنجش قرار گرفت.

جدول ۲- اثر ضد باکتریایی غلظت‌های مختلف اسیدآسکوربیک بر روی *استرپتوکوکوس اینیایی* در محیط کشت TSB در اسیدیته های مختلف

اسیدآسکوربیک			
گروه‌های شاهد	pH		
	۵/۵	۶	۷
TSB شاهد	۰/۳۶۸±۰/۰۰۵	۰/۳۷۵±۰/۰۱۰	۰/۳۶۲±۰/۰۰۵
شاهد استرپتوکوکوس اینیایی	a ۰/۶۹۴±۰/ ۰۱۸	a ۰/۹۶۲±۰/۰۱۲	a ۱/۰۹±۰/۳۲
اسیدآسکوربیک شاهد	b ۰/۳۹۵±۰/۰۱۷	b ۰/۳۹۸±۰/۰۲۵	b ۰/۳۹۲±۰/۰۲۷
گروه‌های درمان برحسب غلظت اسیدآسکوربیک (µg/ml)			
۱۹/۵۳	ac ۰/۷۴۰±۰/۰۲۱	ac ۰/۹۷۵±۰/۰۲۳	ac ۱/۱۲۷±۰/۰۰۷
۳۹/۰۶	ac ۰/۷۳۵±۰/۰۲۰	ac ۰/۹۵۳±۰/۰۱۷	ac ۱/۰۷۲±۰/۰۱۴
۱۵۶/۱۲۵	ac ۰/۶۴۰±۰/۰۳۵	ac ۰/۹۲۰±۰/۰۱۵	ac ۰/۹۷۰±۰/۰۲۲
۳۱۲/۵	ac ۰/۶۱۱±۰/۰۳۴	ac ۰/۸۶۵±۰/۰۲۵	ac ۰/۹۲۱±۰/۰۱۶
۶۲۵	ac ۰/۵۳۵±۰/۰۱۵	ac ۰/۸۳۵±۰/۰۱۴	ac ۰/۸۸۵±۰/۰۲۳
۱۲۵۰	ac ۰/۵۰۸±۰/۰۳۵	ac ۰/۷۷۲±۰/۰۱۵	ac ۰/۸۵۵±۰/۰۳۸
۲۵۰۰	bdefghi ۰/۲۸۱±۰/۰۱۵	bdefghi ۰/۴۴۶±۰/۰۰۵	acd ۰/۷۲۸±۰/۰۲۲
۵۰۰۰	bdefghi ۰/۲۶۲±۰/۰۲۱	bdefghi ۰/۳۱۸±۰/۰۲۲	bdefghi ۰/۳۸۷±۰/۰۱۹

اعدادی که در هر ستون با حروف متفاوت مشخص‌شده‌اند، نشان‌دهنده اختلاف معناداری هستند (p<۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی اثر آسکوربیک اسید در مقایسه با سیتریک اسید و لاکتیک اسید در اسیدیته ۳ الی ۶/۵ به‌منظور ممانعت از لیستریا مونوسیتوژنز در دماهاي ۴ تا ۱۰ درجه سانتی‌گراد در محیط کشت تریپتون سویا براث نشان داد که در اسیدیته ۴ آسکوربیک اسید بیشترین اثر ممانعت کننده را نسبت به سیتریک اسید و لاکتیک اسید از خود نشان داد که می‌توان آن را به pKa بالاي آسکوربیک اسید نسبت داد (۸).

Ibrahim Tajkarimi و Cliver در سال ۲۰۱۰ اثر ضدمیکروبي آسکوربیک اسید به‌تنهایی یا در ترکیب با لاکتیک اسید روي اشریشیا کلی در محیط کشت آبگوشت Brain Heart Infusion و در آب هویج به‌عنوان یک مدل غذایي مورد ارزیابي قراردادند. نتایج آن‌ها پیشنهاد می‌کند که کاربرد آسکوربیک اسید در ترکیب با لاکتیک اسید ممکن است به‌عنوان نگه‌دارنده اثري بالقوه داشته باشد تا از رشد اشریشیا کلی O۱۵۷H۷ در غذا جلوگیري کند. مطالعات انجام‌شده پیشنهاد می‌کنند که آسکوربیک اسید در ترکیب با ارگانیک اسیدهاي انتخابي مثل پروپیونیک اسید در گوشت‌های قطعه‌قطعه شده گاو و در ترکیب با لاکتیک اسید تاثیر ضد باکتریایي علیه لیستریا مونوسیتوژنز دارد (۲۳).

مطالعه Giroux and etal در سال ۲۰۰۱ نشان داد که افزودن ویتامین ث به پیراشکی‌های تهیه‌شده از گوشت گاو منجر به کاهش معنی‌دار رشد باکتری‌ها در مقایسه با گروه شاهد شد (۱۰).

یافته‌های تاباک و همکاران بر روي نقش آسکوربیک اسید و مشتقات آن از قبیل پالمیتول آسکوربات نشان داد که آسکوربیک اسید در محدوده غلظت (۵۰-mM۱۰۰) ۲۰-۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در محیط کشت مایع تحت شرایط میکروائروفیلیک مانع رشد هلیکوباکتر پیلوری شد. در مقابل تحت شرایط هوازي آسکوربیک اسید در محدوده غلظت (۱۰-mM۱۰۰) ۲-۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌طور معنی‌داری بقاي هلیکوباکترپیلوری را افزایش داد. مشتق آب‌گریز آسکوربیک اسید تحت دو شرایط هوازي و میکروائروفیلیک در محدوده غلظت (۰/۱-mM۱) ۰/۰۴-۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر قوي ضد باکتریایی نشان داد. نتایج پیشنهاد می‌کنند که مشتقات مهم آسکوربیک اسید در از بین بردن هلیکوباکترپیلوری در محیط آزمایشگاه و در بدن مورداستفاده قرارگرفته و خطر بیماری‌های معدي را کاهش می‌دهد و همچنین با استفاده از غلظت‌های ۰/۲ تا ۲ درصد ویتامین ث رشد چندین میکروارگانیسم ازجمله هلیکوباکتر پیلوری، باسیلوس سرئوس و باسیلوس سوبتیلیس را مهار کنند (۲۱).

Khezri and etal در سال ۲۰۱۲ اثر آسکوربیک اسید به همراه

جدول ۳- اثر ضد باکتریایی غلظت‌های مختلف اسیدآسکوربیک بر روی *لاکتوکوکوس گارویه* در محیط کشت TSB در اسیدیته های مختلف

اسیدآسکوربیک			
گروه‌های شاهد	pH		
	۵/۵	۶	۷
TSB شاهد	۰/۳۶۸±۰/۰۰۲	۰/۳۷۵±۰/۰۰۵	۰/۳۶۲±۰/۰۰۳
شاهد *لاکتوکوکوس گارویه*	a ۰/۶۸۵±۰/ ۰۱۰	a ۰/۹۴۸±۰/۰۱۸	a ۰/۹۹۸±۰/۰۲۸
اسیدآسکوربیک شاهد	b ۰/۳۸۱±۰/۰۱۱	b ۰/۳۸۵±۰/۰۱۵	b ۰/۳۸۰±۰/۰۲۰
گروه‌های درمان برحسب غلظت اسیدآسکوربیک (µg/ml)			
۱۹/۵۳	ac ۰/۷۲۵±۰/۰۱۵	ac ۰/۹۵۰±۰/۰۲۰	ac ۱/۱۰۵±۰/۰۳۰
۳۹/۰۶	ac ۰/۷۱۵±۰/۰۱۵	ac ۰/۹۳۵±۰/۰۱۵	ac ۱/۰۵±۰/۰۲۰
۱۵۶/۱۲۵	ac ۰/۶۲۵±۰/۰۲۵	ac ۰/۸۹۰±۰/۰۱۱	ac ۰/۹۴۵±۰/۰۱۵
۳۱۲/۵	ac ۰/۵۸۵±۰/۰۲۰	ac ۰/۸۳۵±۰/۰۱۵	ac ۰/۸۹۵±۰/۰۰۵
۶۲۵	ac ۰/۵۰۱±۰/۰۱۱	ac ۰/۸۰۱±۰/۰۱۱	ac ۰/۸۲۵±۰/۰۱۵
۱۲۵۰	acde ۰/۴۸۵±۰/۰۱۵	ac ۰/۷۷۲±۰/۰۰۸	ac ۰/۷۸۹±۰/۰۲۹
۲۵۰۰	bdefghi ۰/۲۶۸±۰/۰۱۲	bdefghi ۰/۴۰۵±۰/۰۰۵	acdef ۰/۶۷۵±۰/۰۱۵
۵۰۰۰	bdefghi ۰/۲۵۶±۰/۰۱۶	bdefghi ۰/۲۹۵±۰/۰۱۵	bdefghij ۰/۳۴۵±۰/۰۱۵

اعدادی که در هر ستون با حروف متفاوت مشخص‌شده‌اند، نشان‌دهنده اختلاف معناداری هستند (p<۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

پوشش پروتئين آب‌پنير بر ماندگاري ماهي قزل‌آلای رنگين‌کمان در دماي يخچال به‌منظور ارزيابي بار ميکروبي و ويژگی‌های شيميايي موردمطالعه قراردادند. نتايج حاصل نشان‌دهنده تاثير ضد باکتريايي پوشش خوراکي پروتئين آب‌پنير حاوي ويتامين ث بود که توانست زمان نگهداري فيله‌های پوشش داده‌شده را به مدت ۴ روز افزايش دهد. به‌طورکلی بين تيمارهاي مختلف حاوي ويتامين ث اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (۱۴).

نتیجه گیری

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد کاربرد آسکوربیک اسید در اسیدیته‌های ۵/۵، ۶ و ۷ بر باکتری‌های استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه دارای اثر مهاری رشد بود، توان مهاری آسکوربیک اسید علیه هر دو باکتری فوق در اسیدیته های ۵/۵ و ۶ در مقایسه با اسیدیته ۷ به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($p < ۰/۰۵$). نتایج به‌دست‌آمده حاکی از بالا بودن توان ضدمیکروبی آسکوربیک اسید در اسیدیته های پایین‌تر در مقایسه با pH قلیایی بوده است، بنابراین خاصیت ضدمیکروبی اسیدآسکوربیک در این پژوهش در ماهی موردنظر به اثبات رسید، لذا پیشنهاد می‌شود که از آسکوربیک اسید به‌عنوان نگه‌دارنده‌ی طبیعی در ماهی‌ها به‌ویژه ماهی قزل آلای رنگین‌کمان می‌توان استفاده کرد.

منابع مورد استفاده

1. Agnew, W., Barnes, A.C. 2007. *Streptococcus iniae*: an aquatic pathogen of global veterinary significance and a challenging candidate for reliable vaccination. *Veterinary microbiology*, 122(1):1-15.
2. Akhond Zade Basti, A., Ebrahim zade Moosavi, H. 2012. Food stuff hygiene with the Field of aquatic. Tehran University publication:132-150.
3. Bendich, A. Vitamins and Immunity1. *The Journal of nutrition*. 1992;122(3S):601.
4. Bercovier, H., Ghittino, C., Eldar, A. 1996. Immunization with bacterial antigens: infections with streptococci and related organisms. *Developments in biological standardization,* 90:153-60.
5. Brubacher, D., Moser, U., Jordan P. 2000. Vitamin C concentrations in plasma as a function of intake: a meta-analysis. *International journal for vitamin and nutrition research*, 70(5):226-37.
6. Chen, S.C., Liaw, L.L., Su, H. Y., Ko, S. C., Wu, C. Y., Chaung, H. C., et al. 2002. *Lactococcus garvieae*, a cause of disease in grey mullet, *Mugil cephalus* L., in Taiwan. *Journal of fish diseases*, 25(12):727-32.
7. Davies, M. B., Austin, J., Partridge, D. A. 1991. Vitamin C: its chemistry and biochemistry: royal society of chemistry.
8. Giannuzzi, L., Zaritzky, N. E. 1996. Effect of Ascorbic Acid in Comparison to Citric and Lactic Acid on *Listeria monocytogenes* Inhibition at Refrigeration Temperatures. *LWT-Food Science and Technology*, 29(3):278-85.
9. Gill, A. O., Holley, R. A. 2003. Interactive inhibition of meat spoilage and pathogenic bacteria by lysozyme, nisin and EDTA in the presence of nitrite and sodium chloride at 24 C. *International Journal of Food Microbiology,* 80(3):251-9.
10. Giroux, M., Ouattara, B., Yefsah, R., Smoragiewicz, W., Saucier, L., Lacroix, M. 2001. Combined effect of ascorbic acid and gamma irradiation on microbial and sensorial characteristics of beef patties during refrigerated storage. *Journal of agricultural and food chemistry,* 49(2):919-25.
11. Haghighi, M., Sharif Rohani, M., Samadi, M., Tavoli, M., Eslami, M., Yusefi, R. 2014. Study of effects *Aloe vera* extract supplemented feed on hematological and immunological indices of rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss)*. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 2(6):2143-54.
12. Imoto, T., Johnson, L. N., North, A. C. T., Phillips, D. C., & Rupley, J. A. 1972. 21 Vertebrate Lysozymes. *The enzymes*, 7:665-868.
13. Raissy, M., Ansari, M. 2011. Antibiotic susceptibility of Lactococcus garvieae isolated from rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) in Iran fish farms. *African Journal of Biotechnology,* 10(8):1473-6.
14. Khezri Ahmadabad, M., Rezaei, M., Ojagh, M. 2012. The effect of ascorbic acid combined with whey protein coating on the shelf-life of rainbow trout stored at refrigerator temperature: Microbial and chemical analyzes. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & amp. Food Technology,* 7(3):69-78.
15. Leonhardt, C. W. M., Scheeder, MR. 2000. Monogastric Nutrition and PotentiaI for Improving MuscIe QuaIity. Antioxidants in Muscle Foods: Nutritional Strategies to Improve Quality:199.
16. MacLeod, D., Ozimeck, L., & Kennelly, J. J. 1996. Supplemental vitamin C may enhance immune function in dairy cows. In Proc. Western Canadian Dairy Seminar, *Advances in Dairy Technology,* 8:227-235.
17. Prieto, N., Andrés, S., Giráldez, FJ., Mantecón, A., Lavín, P. 2008.Ability of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to estimate physical parameters of adult steers (oxen) and young cattle meat samples. *Meat Science*, 79(4):692-9.
18. Ravelo, C., Magariños, B., López-Romalde, S., Toranzo, A. E., Romalde, J. L. 2003. Molecular fingerprinting of fish-pathogenic Lactococcus garvieae strains by random amplified polymorphic DNA analysis. *Journal of clinical microbiology*, 41(2):751-6.
19. Reno, P., Woo, P., Bruno, D. 1999. Fish diseases and disorders: viral, bacterial, and fungal infections. Fish Diseases and Disorders: *Viral, Bacterial and Fungal Infections.*
20. Ronald, J., R. Roberta. 2001. Fish diseases by bacterial pathogens.

www.SID.ir

Archive of SID

In: Fish Pathology. 3rd Edition. New York: W. B. Saunder. 234 -235.

21. Tabak, M., Armon, R., Rosenblat, G., Stermer, E., Neeman, I. 2003. Diverse effects of ascorbic acid and palmitoyl ascorbate on Helicobacter pylori survival and growth. *FEMS microbiology letters,* 224(2):247-53.

22. Tajkarimi, M., Ibrahim, S.A. 2011. Antimicrobial activity of ascorbic acid alone or in combination with lactic acid on *Escherichia coli* O157: H7 in laboratory medium and carrot juice. *Food Control*, 22(6):801-4.

23. Tajkarimi, M., Ibrahim, S. A., Cliver, D. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food control*, 21(9):1199-218.

24. Wang, C. Y. C., Shie, H. S., Chen, S. C., Huang, J. P., Hsieh, I. C., Wen, M. S., et al. 2007. *Lactococcus garvieae* infections in humans: possible association with aquaculture outbreaks. *International journal of clinical practice,* 61(1):68-73.

25. Zhang, G., Darius, S., Smith, S., Ritchie, S. 2006. In vitro inhibitory effect of hen egg white lysozyme on *Clostridium perfringens* type A associated with broiler necrotic enteritis and its α-toxin production. *Letters in applied microbiology*, 42(2):138-43.

www.SID.ir