مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۹، دوره ۶۵، شماره ۳، ۱۹۸-۱۹۳

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

نسرین چوبکار[1*] افشین آخوند زاده بستی[2] مهدی سلطانی[3] عباسعلی ساری[2] علی ملکشاهی[2] غزال نعمتی[2] راضیه پرتوی[2]

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

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

۳) گروه بهداشت و بیماری های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران- ایران.

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

چکیده

امروزه تقاضا برای استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی از جمله باکتریوسین‌ها جهت کنترل میکروارگانیسم‌های با منشأ مواد غذایی در فراورده‌های دریایی روبه افزایش است. این مطالعه به منظور ارزیابی اثرات ضد میکروبی نیسین بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در فیله‌ی کپور نقره‌ای شور سبک وسنگین (۴ و ۸ درصد نمک) صورت گرفت. اثر غلظت‌های مختلف نیسین (۰، ۰/۱۵، ۰/۲۵، ۰/۷۵ و ۱/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بر رفتار رشد استافیلوکوکوس اورئوس در شرایط نامناسب یخچالی (۱۰ درجه سانتیگراد) از طریق سنجش میزان رشد باکتری در فیله ماهی شور بررسی شد. نتایج نشان داد که تأثیر غلظت‌های مورد استفاده از نیسین در جلوگیری از رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در هر دو نوع ماهی شور سبک وسنگین نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بوده است ($p<0/05$). این مطالعه نشان داد که نیسین دارای اثر بازدارندگی بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس است و می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در ماهی شور سبک وسنگین مورد توجه قرار گیرد.

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

مقدمه

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

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

اما امروزه بر استفاده کمتر از این روش‌ها تأکید می‌شود زیرا از یک سو مصرف کنندگان موادغذایی خواستار غذاهای طبیعی با ماندگاری طولانی، همراه با کمترین تغییر در ساختار آن می‌باشند و از سوی دیگر خاصیت سرطان‌زایی و سمی بودن برخی از نگهدارنده‌های شیمیایی نیز برای انسان به اثبات رسیده است(۵). از این رو فشار بر روی صنایع غذایی برای جایگزینی سریع نگه‌دارنده‌های شیمیایی و استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی یکی از رویکردهای جدید در جهت ارتقاء سلامت غذاها و به دنبال آن افزایش سطح سلامت عمومی جوامع می‌باشد. یکی از این ترکیبات نگهدارنده طبیعی، نیسین(پلی پپتیدی که توسط سویه‌های خاصی از باکتری‌های لاکتوکوکوس در طول تخمیر ایجاد می‌گردد) می‌باشد که مانع رشد بسیاری از باکتری‌های گرم مثبت می‌گردد(۱۱).

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

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۰۸۳۱-۷۲۴۳۱۸۱ نمابر: ۰۸۳۱-۷۲۴۳۱۹۶ *Email: nchoobkar@iauksh.ac.ir*

شده با شوری سبک ۴درصد و سنگین ۸ درصد و نگهداری شده در شرایط نامناسب یخچالی(۱۰ درجه سانتیگراد) بوده است. لازم به ذکر است که شور کردن تا حد ۸ درصد نمک در مجموع جز شور کردن سبک در نظر گرفته می‌شود.

مواد و روش‌کار

باکتری مورد مطالعه

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

فعال سازی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

به‌منظور فعال سازی باکتری از کشت لیوفلیزه در محیط آبگوشت قلب و مغز در ۳۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۸-۱۶ ساعت (Over night) و حداقل برای دو بار متوالی کشت داده شد. سپس بررسی تعداد باکتری در هر میلی لیتر از کشت دوم و تکرار کشت و شمارش مجدد حداقل برای سه بار متوالی صورت گرفت و در نهایت نیز تعداد باکتری در هر میلی لیتر مشخص گردید. همچنین کشت آخر جهت استفاده در تحقیقات بعدی به صورت ۱ به ۵ با گلیسرین ۵۰ درصد استریل مخلوط و در حجم‌های ۱ میلی لیتری در میکروتیوپ‌های اپندرف در ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد و هر بار جهت انجام آزمایش، این کشت نگهداری شده در ۲۰- درجه سانتیگراد مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه میزان تلقیح باکتریایی

تهیه میزان تلقیح باکتری مورد آزمایش، با انتقال باکتری از لوله میکروسانتریفیوژ اپندورف به محیط براث (BHI) و نگهداری به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد انجام گرفت. مجدداً کشت دومی از این کشت ۱۸ ساعته اولیه، در براث (BHI) دیگر (به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد) تهیه شد. سپس لوله‌های کووت حاوی ۵ میلی لیتر براث استریل تهیه گردید. مقادیر مختلفی از کشت براث ۱۸ساعته دوم بر روی لوله‌های کووت مذکور برده شد. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Milton Roy Company USA) در طول موج ۶۰۰ نانومتر، جذب نوری لوله‌های مذکور خوانده شد. بدین ترتیب در هر بار انجام آزمایش (تعیین لگاریتم درصد احتمال رشد)، با مشخص شدن جذب نوری که معادل تقریباً 10^7 باکتری در هر میلی لیتر بود (که بعد با کشت Pour Plate نیز تأیید می‌شد)، لوله کووت حاوی تقریباً 10^7 باکتری در هر میلی لیتر مشخص گردید. سپس ۱ میلی لیتر از این لوله کووت را برداشته و در شیشه زیمکس، ۳۹ میلی لیتر از آب پپتونه استریل به آن افزوده گردید تا در نهایت در هر ۱۰۰ میکرولیتر از محتویات شیشه زیمکس $2/5\times10^4$ باکتری موجود باشد (که با کشت بر روی آگار این تعداد تأیید می‌شود). حال در زمان تلقیح برش‌های ماهی شور از ۱۰۰ میکرولیتر محتویات شیشه زیمکس استفاده می‌شد تا در هر سانتیمتر مربع از برش ماهی 1×10^3 باکتری موجود باشد.

تهیه محلول نیسین

از پودر نیسین (Sigma) ۲/۵ درصد استفاده شد و به منظور استفاده از آن در اسید کلریدریک (Merck) ۰/۰۲ نرمال حل گردید و در ظرف استریل توسط فیلتر ۰/۲ میکرون، استریل کرده و با استفاده از رابطه N1V1=N2V2 مقدار مورد نظر از آن را برداشته و به ظروف حاوی آب مقطر استریل افزوده و پس از مخلوط شدن (همگن شدن)، فیله‌های ماهی اشعه دیده آبه آن اضافه گردید.

آماده سازی محلول نمک

در شیشه‌های بزرگ درب دار استریل شده آب مقطر و نمک (در غلظت‌های ۴درصد و ۸درصد) با استفاده از مگنت و قراردادن روی دستگاه همزن مغناطیسی، نمک به خوبی حل گردید و سپس در دمای ۱۲۱/۱ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شد. سپس حجم‌های مورد نظر از محلول نیسین با غلظت‌های ۰/۱۵، ۰/۲۵، ۰/۷۵ و ۱/۵ میکروگرم به ازای هر میلی لیتر را به غلظت‌های مذکور نمک اضافه کرده و توسط مگنت و قراردادن روی همزن مغناطیسی محلول نیسین به خوبی در آب نمک‌های فوق الذکر حل گردید.

تهیه و آماده سازی فیله ماهی

پس از تهیه و خریداری تعدادی ماهی کپور نقره‌ای ۲ کیلوگرمی از یکی از مزارع پرورشی کپور ماهیان و انتقال سریع آنها در کنار یخ به آزمایشگاه نسبت به آماده‌سازی ماهیان و تهیه فیله‌های ۲۵ گرمی به تعداد ۱۰ فیله برای هر تیمار نسبت به استریل نمودن فیله‌ها با استفاده از سیستم پرتودهی اشعه گاما (GC-220) به میزان ۳ کیلوگری توسط چشمه کبالت ۶۰ در سازمان انرژی اتمی ایران اقدام گردید و سپس توسط یخ به آزمایشگاه انتقال داده شد. فیله‌های استریل شده (اشعه داده شده) به هر یک از تیمارهای آماده شده نمک و نیسین منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال با دمای ۵ درجه سانتیگراد در این غلظت‌ها نگهداری گردید.

انتقال فیله‌های ماهی به کیسه‌های استریل و تلقیح باکتری روی آنها

پس از گذشت ۲۴ ساعت، فیله‌ها توسط پنس استریل به داخل ظروف استریل منتقل و پس از تنظیم وزن مجدد، نسبت به تلقیح غلظت مورد اشاره باکتری روی آنها اقدام گردید و پس از جذب در آنها، هر فیله را داخل یک کیسه Bag mixer استریل قرار داده و روی آن برچسب زده، درب آن را محکم بسته و در انکوباتور با دمای ۱۰ درجه سانتیگراد قرار داده و سپس در روزهای ۰، ۱، ۲، ۳ و ۶، ۹ و ۱۲ و ۱۵، ۱۸ و ۲۱ از نظر رشد باکتری و رسیدن آنها به حد غلظت مسمومیت زا یعنی $10^6<$ (۱۶) بررسی شدند بدین ترتیب که هر کیسه را برداشته به آن ۲۲۵ میلی لیتر آب پپتونه ۰/۱ درصد استریل افزوده

جدول۱- لگاریتم رشد باکتری (±خطای استاندارد از میانگین) در فیله‌های ماهی کپور نقره‌ای متاثر از غلظت‌های مختلف نیسین و نمک در روزهای مختلف کشت: cfu ml -1 Logn=log10. در هر ستون، حروف نامتشابه اختلاف آماری معنی دار را نشان می دهد. - به معنای آن است که به دلیل بالا رفتن باکتری تا حد مسمومیت زای ۱۰۶ و فساد نمونه‌ها اندازه‌گیری صورت نگرفته است.

Nacl (٪)	Nis (µg/ml)	D۰	D۱	D۲	D۳	D۶	D۹	D۱۲
۰	۰	۲/۹۵±۰/۰۵۳	۳/۴۱±۰/۰۹۹	۴/۱۷±۰/۰۷۵	۶/۸۱±۰/۰۰۶	-	-	-
۴	۰	۰/۹۵±۰/۰۴۸	۳/۱۴±۰/۰۰۹	۴/۰۷±۰/۵۷۷	۴/۴۱±۰/۰۱۵	۸/۱۰±۰/۰۰	-	-
۴	۰/۱۵	۲/۷۷±۰/۰۳۶	۳/۱۴±۰/۰۱۵	۴/۲۴±۰/۰۱۲	۶/۱۳±۰/۰۰۵	۸/۲۵±۰/۰۰۷	-	-
۴	۰/۲۵	۲/۶۹±۰/۰۷۳	۳/۲۳±۰/۰۲۵	۴/۲۰±۰/۲۵۵	۶/۱۱±۰/۰۱۶	۷/۳۰±۰/۰۰۹	-	-
۴	۰/۷۵	۲/۶۷±۰/۰۷۳	۲/۷۹±۰/۰۷۳	۳/۲۳±۰/۰۲۴	۴/۰۰±۰/۰۴۳	۷/۱۱±۰/۰۰۲	۷/۸۰±۰/۰۲۷	-
۴	۱/۵	۲/۳۰±۰/۱۲۰	۳/۵۰±۰/۰۳۴	۳/۷۰±۰/۴۵	۴/۰۸±۰/۰۰۲	۶/۰۷±۰/۰۷۳	۷/۷۰±۰/۰۳۹	۷/۸۰±۰/۰۰۲
۸	۰	۲/۹۰±۰/۰۴۸	۳/۰۰±۰/۱۵۱	۳/۷۸±۰/۰۳۳	۴/۷۰±۰/۰۰۴	۶/۵۰±۰/۱۳۱	۷/۸۰±۰/۰۰۵	-
۸	۰/۱۵	۲/۷۷±۰/۰۷۴	۳/۰۰±۰/۷۵۵	۳/۷۷±۰/۰۸۴	۴/۶۹±۰/۰۰۷	۶/۵۰±۰/۰۱۲	۷/۸۰±۰/۰۰۴	-
۸	۰/۲۵	۲/۷۴±۰/۰۵۴	۳/۰۰±۰/۰۷۸	۳/۵۷±۰/۰۳۳	۴/۶۷±۰/۰۱۰	۶/۴۷±۰/۵۴۳	۶/۹۰±۰/۰۵۴	۷/۸۰±۰/۰۶۵
۸	۰/۷۵	۲/۷۴±۰/۲۳۴	۲/۹۸±۰/۰۷۵	۳/۶۱±۰/۰۹۶	۴/۶۲±۰/۴۳۴	۵/۴۰±۰/۰۰۵	۶/۷۹±۰/۱۲۵	۶/۹۹±۰/۰۹۸
۸	۱/۵	۲/۹۵±۰/۱۵۵	۲/۷۲±۰/۰۴۴	۳/۰۷±۰/۰۵۴	۳/۴۸±۰/۷۱۷	۵/۳۰±۰/۰۷۶	۶/۷۸±۰/۰۰۵	۷/۱۰±۰/۰۰۸
روز کشت=D نمک= Nacl نیسین= Nis								

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

اندازه‌گیری نمک در نمونه ماهی

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

٪Nacl= نیترات نقره مصرفی ×۰/۰۰۵۸۵×۱۰۰/٪

با استفاده از این روش میزان نمک موجود در بافت ماهی پس از شور کردن محاسبه گردید میزان نمک بافت در محلول ۴ درصد آب نمک، ۳/۱ درصد و میزان آن در محلول نمک ۸ درصد، ۵ درصد محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

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

نتایج

لگاریتم تعداد باکتری در فیله‌های ماهی کپور نقره‌ای متأثر از غلظت‌های مختلف نیسین و نمک در طول دوره نگهداری در جدول ۱ نشان داده شده است.

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

باکتری مورد مطالعه داشت. ($p<0/05$)لازم به ذکر است که همان‌طور که قبلاً عنوان گردید بررسی رشد باکتری تا حد غلظت مسمومیت زایی یعنی بیش از 10^6 بررسی گردید که در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱ نشان می‌دهد که در روز صفر در گروه‌های مختلف لگاریتم تعداد باکتری‌ها اختلاف آماری معنی‌داری را نشان نمی‌دهند. اما در روز اول نمونه‌برداری در تیمار بدون نمک و بدون نیسین لگاریتم تعداد باکتری دارای رشد بیشتر و اختلاف آماری معنی‌داری در مقایسه با تیمارهای دیگر بود($p>0/05$) اما استفاده از ۴ درصد نمک و نیسین در غلظت‌های زیر ۰/۲۵ از نظر آماری تاثیر معنی‌داری در رشد باکتری‌ها ایجاد نکرده است ($p>0/05$) با افزایش میزان نمک و نیسین به ویژه در غلظت‌های بالای نیسین ,۰/۷۵ و ۱/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، لگاریتم رشد باکتری مورد مطالعه به کمترین میزان خود رسید که در مقایسه با گروه‌های دیگر مورد مطالعه از نظر آماری معنی‌دار می‌بود($p>0/05$).

در روز دوم نمونه‌برداری در بالاترین غلظت نمک و نیسین مورد مطالعه، کمترین میزان رشد باکتریایی مشاهده گردید که از نظر آماری با سایر تیمارها معنی‌دار می‌باشد($p>0/05$).

همچنین در روز سوم نمونه‌برداری کمترین میزان رشد باکتری در بالاترین میزان نمک و نیسین مورد مطالعه مشاهده گردید که از نظر آماری با سایر تیمارهای مورد مطالعه معنی‌دار می‌باشد($p<0/05$) همچنین در نمک ۴ درصد و نیسین ۰/۷۵ و ۱/۵ نیز پس از آن رشد کمتری در تعداد باکتری مشاهده گردید و در روز ششم نمونه برداری، لگاریتم تعداد باکتری‌ها از عدد ۸ در تیمار بدون نمک و نیسین و نیز تیمار با ۴ درصد نمک و نیسین در غلظت ۰ و ۰/۱۵ به عدد ۵ در تیمار با بالاترین میزان نمک ۸ درصد و مقادیر بالای نیسین استفاده شده یعنی ۰/۷۵ و ۱/۵ رسید. در روز نهم نمونه‌برداری در تیمارهایی با نمک ۴ درصد و غلظت‌های مساوی و پایین‌تر از ۰/۲۵ نیسین، فساد در نمونه‌ها صورت گرفته بود و تعداد باکتری به بالاتر از حد مجاز مسمومیت زا رسیده بود و اما با افزودن نمک و نیسین ماندگاری در نمونه‌ها افزایش یافته بود به‌طوری که در نمک و نیسین بالا ماندگاری حتی تا روز دوازدهم نیز امکان پذیر بود در حالی که در تیمار بدون نمک و نیسین و در تیمار با ۴ درصد نمک و بدون نیسین، ماندگاری تنها تا روز سوم امکان پذیر بود.

بحث

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

فساد میکروبی سبب محدودیت در ماندگاری ماهی شور به دلیل فعالیت باکتری‌های نمک دوست می‌گردد که می‌توان رشد این گونه باکتری‌ها را توسط افزودن نگهدارنده‌های طبیعی مانند ادویه‌ها محدود کرد(۱۳).

یکی از نگهدارنده‌های طبیعی، نیسین است که پلی پپتیدی است که حاصل فعالیت باکتری‌های لاکتیک اسید می‌باشد و دارای فعالیت ضد باکتریایی علیه باکتری‌های گرم مثبت است که در این مطالعه در مدل غذایی نیز نشان داده شد(۷). نیسین روی غشاء سیتوپلاسمیک باکتری‌ها عمل می‌کند و سبب از بین بردن باکتری‌ها می‌گردد(۱۸).

بر اساس نظر Singh و همکاران در سال ۲۰۰۳، در مدل‌های مختلف غذایی به دلیل واکنش این ترکیبات نگهدارنده با اجزای غذا تأثیر ممانعت کنندگی این ترکیبات نگهدارنده کاهش می‌یابد(۱۴).

بررسی شده است که گیاهان در محیط براث دارای اثرات قوی تری نسبت به مدل‌های غذایی می‌باشند(۵).

چربی بر فعالیت ضد باکتریایی نیسین اثر منفی دارد پس استفاده از نیسین در محصولات غذایی با چربی زیادتر تأثیر محدودتری بر رشد باکتری‌ها دارد(۴).

تأثیر ترکیبات نگهدارنده هنگام استفاده در محیط‌های "in vivo" کاهش می‌یابد که این به دلیل محتوای بالای چربی و پروتئین در این محیط‌ها (مانند گوشت) می‌باشد که سبب کاهش تأثیر این ترکیبات ضد میکروبی می‌گردد البته شرایط محیطی نیز تأثیر گذار می‌باشد(۶).

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که استفاده از نیسین همراه با نمک به‌عنوان نگهدارنده در ۱۰ درجه سانتیگراد در غلظت‌های مورد استفاده بر رشد باکتری‌ها در فیله‌های ماهی کپور نقره‌ای تأثیر داشته است.

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

در تأثیر نیسین بر گوشت اختلاف نظر وجود دارد برخی عنوان کرده‌اند که فسفولیپید موجود در گوشت فعالیت نیسین را محدود می‌کند و بهترین فعالیت نیسین در محیط مایع و هموژن می‌باشد و توسط آنزیم‌های پروتئولیتیک در غذاها مانند گوشت تازه، این باکتریوسین‌ها غیر فعال می‌شوند(۸) در حالی که در تحقیق انجام شده، مشاهده گردید که نیسین بر جلوگیری از رشد باکتری در گوشت ماهی موثر بوده است.

بر اساس نظر Burt در سال ۲۰۰۴ فاکتورهای مختلف محیطی بر تاثیر ممانعت کنندگی این ترکیبات بر رشد باکتری‌ها، تاثیر گذار می‌باشد (۵).

در مطالعه بر روی تاثیر غلظت‌های مختلف نیسین بر رشد باکتری *Staphylococcus aureus* و *Salmonella typhimurium* در سوپ جو تجارتی، رشد باکتری *Staphylococcus aureus* در هر دو دمای گرمخانه گذاری ۸ و ۲۵ درجه سانتیگراد به طور معنی‌دار تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نیسین قرار گرفت ($p<۰/۰۵$)(۱۰) که با نتایج حاصله از این تحقیق در ۱۰ درجه سانتیگراد همخوانی دارد.

تأثیر مقادیر مختلف نیسین روی رشد باکتری *Salmonella typhimurium* در دمای ۸ درجه سانتیگراد معنی‌دار و در ۲۵ درجه سانتیگراد بی معنی بود (۱۰).

پس تولید نیسین با مواد سوبسترای ارزان در داخل کشور می‌تواند راه‌گشایی جهت تسهیل مسیر تحقیقات مشابه این مطالعه می‌باشد.

استفاده از سایر نگهدارنده‌های میکروبی طبیعی، بررسی اثرات سینرژیستی و آنتاگونیستی احتمالی و یافتن ترکیبات دیگر مشابه و نیز بررسی تغییرات شیمیایی و تاثیرات ضد میکروبی آنها در مدل‌های مختلف غذایی و نیز درجات حرارتی مختلف نگهداری می‌تواند شروع راهی جهت تحقیقات بیشتر جهت کنترل میکروبی و کیفی مواد غذایی و ماندگاری طولانی‌تر و تأخیر در فساد آنها باشد تا در صنعت نیز بتوان از آنها استفاده نمود.

تشکر و قدرانی

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

References

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

system, (1st ed.) CRC press. Washington, USA .

12. Parvaneh, V .(2007) Quality Control & the chemical analysis of food, (4rd ed.) University of Tehran Publications. Tehran, Iran.

13. Prasad, M. M., Seenayya, G. (2000) Effect of spices on the growth of red halophilic cocci isolated from salt cured fish and solar salt. Food Res. Int. 33: 793-798.

14. Singh, A., Singh, R. K., Bhunia, A.k., Singh, N. (2003) Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs. Lebensm. Wiss. Technol. 36: 787-794.

15. Solomakos, N., Govaris, A., Koidis, P., Botsoglou, N. (2007) The antimicrobial effect of thyme essential oil, Nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage. J. Food Microbiol. 25:120-127.

16. Varnam, A. H., Evans, M. G. (1991) Food borne pathogens. Wolfe Publishing Ltd. London, UK.

17. Vrinda Menon, K., Garg, v. (2001) Inhibitory effect of clove oil on *Listeria monocytogenes* in meat and cheese. Food Microbiol. 18: 647-650.

18. Yamazaki, K., Yamamoto, T., Kawai, Y., Inoue, N. (2004) Enhancement of anti listerial activity of essential oil constituents by Nisin and diglycerol fatty acid eter. Food Microbiol. 21:283-289.

J. Vet. Res. 65, 3:193-198, 2010

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

Choobkar, N.[1*], Akhonzadeh Basti, A.[2], Soltani, M.[3], Sari, A. A.[2], Malekshahi, A.[2], Nemati, Gh.[2], Partovi, R.[2]

[1]*Fisheries Department, Kermanshah branch, Islamic Azad University, kermanshah- Iran.*

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

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

(Received 22 July 2009 , Accepted 16 December 2009)

Abstract:

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

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

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