مجله دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه
دوره ۶. شماره ۱. بهار ۱۳۹۷

مقاله پژوهشی

خاصیت ضد باکتریایی اسانس زیره سبز و نیسین بر جمعیت لیستریا مونوسیتوژن تلقیح شده در گوشت چرخ شده‌ی ماهی شیزوتوراکس زارودنی

محمد رهنما[1]، افسانه نوری جنگی[2]، مجید علیپور اسکندانی[1*]

۱. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲. واحد فراوری محصولات شیلاتی، اداره شیلات شهرستان زهک، سیستان و بلوچستان، ایران

چکیده

زمینه و هدف: باکتری لیستریا مونوسیتوژن یکی از مهمترین باکتری های بیماری زای منتقله از مواد غذایی بوده و در حال حاضر کنترل آن مهمترین چالش در صنایع غذایی محسوب می شود. هدف از این مطالعه بررسی خاصیت اسانس زیره سبز و نیسین در کنترل رشدلیستریا مونوسیتوژن در گوشت چرخ شده ی شیزوتوراکس می باشد.

روش‌ها: آنالیز ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس زیره سبز با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی انجام گرفت. به نمونه‌های گوشت چرخ شده، باکتری لیستریا مونوسیتوژن با لوگ ۳ در هر گرم تلقیح شد، سپس تیمارهای زیره سبز و نیسین به تنهایی و یا توام به نمونه ها اضافه شد. شمارش لیستریا مونوسیتوژن در روزهای ۰، ۱، ۳، ۵، ۷، ۹، ۱۱ انجام گردید.

نتایج: نتایج نشان داد که غلظت ۳ درصد اسانس دارای اثرات بازدارندگی رشد بر لیستریا بوده است. ۴۰ میکروگرم در گرم نیسین به تنهایی و ترکیب اسانس زیره سبز و نیسین به ترتیب ۱ درصد اسانس و ۱۰ میکروگرم در گرم دارای اثرات ممانعت‌کنندگی بر رشد لیستریا مونوسیتوژن بوده است.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که از اسانس زیره سبز و نیسین می‌توان بعنوان یک نگهدارنده طبیعی در کنترل رشد باکتری لیستریا مونوسیتوژن استفاده نمود.

کلید واژه‌ها:
لیستریا مونوسیتوژن، زیره سبز، نیسین، شیزوتوراکس زارودنی

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه محفوظ است.

مقدمه

بیماری‌های ناشی از غذا در نتیجه مصرف غذاهای آلوده به باکتری های عامل فساد و بیماری زا به طور مستقیم در سلامت جامعه نقش دارد (۱). استفاده از مواد شیمیایی به منظور جلوگیری یا به تاخیر انداختن فساد مواد غذایی امروزه دارای کاربرد وسیعی می باشد. در ارتباط با اثرات سوء استفاده از مواد شیمیایی صنعتی بحث های قابل قبولی درخصوص سرطان زایی و سمیت آنها برای انسان صورت گرفته است. به این دلیل تولیدکنندگان مواد غذایی و مصرف کنندگان آن بایستی در استفاده از این گونه مواد نگهدارنده احتیاط نمایند (۲). در نتیجه بالا رفتن سطح آگاهی مصرف کنندگان در سطح جامعه جهانی علاقه روز افزونی به استفاده از مواد نگهدارنده نظیر اسانس ها و آنتی بیوتیک های طبیعی وجود دارد (۳). گرچه رابطه مستقیمی بین شیوع لیستریا و آلودگی مواد غذائی دریائی گزارش نشده ولی این باکتری از فرآورده های دریائی خام و فرآوری شده، جداسازی شده است (٤). باکتری لیستریا از نظر مسمومیت غذایی و بیماری لیستریوزیس که در انسان ایجاد می کند از اهمیت خاصی برخوردار است (٥، ٦). همچنین ٥ درصد از انسانها بدون نشان دادن هر گونه علامتی می توانند این باکتری را سال ها در روده خود حمل نمایند (۲، ۷). لیستریا از طریق استنشاق، خوردن مواد غذایی آلوده و تماس با

*آدرس نویسنده مسئول: زابل، دانشگاه زابل، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت مواد غذایی
آدرس پست الکترونیک: alipour@uoz.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

فرآورده های حیوانی وارد بدن انسان می شود. در اغلب مواقع انسان از طریق مواد غذایی به لیستریوزیس مبتلا می‌گردد (۸). لیستریا یک باکتری گرم مثبت ، کوچک و به شکل میله ای است که به دمای بالا حساس می باشد. این باکتری بطور وسیعی در نقاط مختلف گسترش دارد. سلول های این باکتری قادرند در محیط های خشک، مرطوب، نمکی و در محیط بدون اکسیژن زنده بمانند (۹). باکتریوسین ها پروتئین های باکتری کشی هستند که تولید آنها توسط باکتری اسیدلاکتیک در سال های اخیر به صورت گسترده ای مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته است. با عنایت به این واقعیت که این ترکیبات به وسیله ارگانیسم های مفید موجود در مواد غذایی تولید می شوند، عنوان طبیعی را به آنها نسبت داده لذا به عنوان نگهدارنده های طبیعی مواد غذایی (بیونگهدارنده) مقبولیت بیشتری دارند. نایسین نوعی باکتریوسین پلی پپتیدی آمفی پاتیک دارای سی و چهار اسید آمینه می باشد، که توسط سوش های خاص لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه لاکتیس تولید شده و مدت ها است که با توجه به خصوصیات ضدمیکروبی آن و سمیت پایین آن برای انسان به عنوان یک نگهدارنده مواد غذایی در صنایع غذایی استفاده می شود (۱۰). تنها باکتریوسینی که با تصویب سازمان جهانی بهداشت در صنعت مواد غذایی کاربرد عملی وسیعی پیدا کرده نیسین می باشد(٤). نیسین از رشد باکتری های گرم مثبت جلوگیری کرده و مانع شیوع اسپورهای کلستریدیوم و باسیلوس می شود. نیسین در این باکتری ها با ایجاد منافذ در غشاء سلولی، کارکرد آن را مختل می نماید (۱۱، ۱۲).

در سال های اخیر کاربرد مصرف اسانس های گیاهی در مواد غذایی خام به خصوص مواد غذایی فرآوری شده به عنوان جایگزین مناسبی برای مواد نگهدارنده سنتتیک و افزودنی های شیمیایی افزایش یافته است (۱۳). زیره سبز، گیاهی علفی یکساله، ظریف و معطر از خانواده چتریان بوده و با نام علمی Cuminum cyminum L معروف می‌باشد، این گیاه در مناطق مدیترانه ای و جنوب غرب و مرکز آسیا می روید، زیره سبز جز گیاهان دارویی مهم و اقتصادی کشورمان بوده و در مناطق مختلفی از جمله تبریز، کرمان، یزد و برخی مناطق دیگر کشت می شود (١٤). از زیره سبز در درمان بیماری های مختلف به عنوان ضد تشنج، ضد صرع، تقویت کننده معده، ادار آور، ضدنفخ و سوء هاضمه و محرک تعریق استفاده شده و برای بیماران دیابتی نیز مفید است (۱۵). بررسی اثرات ترکیبی نیسین و اسانس ها نتایج امیدوارکننده ای دربرداشته هرچند که این تحقیقات هنوز در مراحل ابتدایی قرار دارد (١٦، ١٧). هدف از انجام این مطالعه بررسی خواص ضدباکتریایی اسانس زیره سبز و نیسین بروی باکتری لیستریا مونوسیتوژن در گوشت چرخ شدهی شیزوتوراکس بود.

روش‌ها

تهیه اسانس: در این پژوهش برای استخراج و اندازه‌گیری اسانس، بوته‌ها در دمای اتاق (حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و در سایه خشک گردیدند و سپس با استفاده از دستگاه کلونجر و روش تقطیر با آب، اسانس‌گیری شدند. از هر نمونه خشک شده ۱۰۰ گرم آسیاب گردید و به مدت دو ساعت با استفاده از روش تقطیر با آب، اسانس گیری (Gerhart) و درصد آن تعیین شد. ترکیب‌های تشکیل‌دهنده فرجهٔ تجاری توسط کروماتوگرافی گازی (GC) مدل Agilent 7890 متصل شده با طیف سنج جرمی (Mass) مدل (Agilent 5975) ستون HP-5MS و نیمه قطبی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ستون ۰/۲۵ میکرون، دتکتور MS، گاز حامل هلیوم (He)، سرعت جریان گاز حامل ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه، برنامه حرارتی ٦٠- ٢٢٥ درجه سانتی‌گراد با سرعت ٤ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه و دمای محفظه تزریق ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد) در مؤسسه دانش پژوهان تهران تجزیه شد. پس از تزریق اسانس به دستگاه‌های نامبرده، با استفاده از زمان بازداری ترکیب‌ها (tR)، اندیس بازداری (RT) طیف جرمی و مقایسه این پارامترها با ترکیب‌های استاندارد و یا با اطلاعات موجود در کتابخانه نسبت به شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس اقدام گردید. درصد کمّی این ترکیب‌ها نیز با

www.SID.ir
Archive of SID

محاسبه سطوح زیر منحنی در کروماتوگرافها محاسبه شد (۱۸).

نیسین: نیسین حاوی ۲/۵ درصد نایسین فعال از کمپانی SIGMA-ALDRICH خریداری شد. نیسین استوک با استفاده از اسید کلریدریک ۰/۰۲ مول در لیتر با pH برابر با ۱/٦ تهیه شد و به وسیله میکروفیلتر استریلیزه یک بار مصرف و سرنگ فیلتر شد (۱٦).

آماده سازی باکتری لیستریا مونو سیتوژنز برای تلقیح: سویه استاندارد و لیوفیلیزه باکتری Listeria monocytogenes PTCC 1295 از سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران تهیه شد. آمپولهای لیوفیلیزه باکتری ابتدا در شرایط استریل باز شد، سپس به محیط کشت مایع Tryptic Soy Broth (TSB) انتقال یافت و به مدت ٤۸ ساعت در ۳۰C° انکوبه شد. سپس محیط کشت حاوی باکتری به مدت ٥ دقیقه سانتریفوژ و مایع رویی با محلول رینگر جایگزین شد. به منظور جداسازی کامل محیط کشت از باکتریها محلول حاصل دوباره به مدت ٥ دقیقه سانتریفوژ شد. تعداد باکتریها در مایع زیرین توسط روش کدورت سنجی در طول موج ٥۷۰ نانومتر به دست آمد؛ به طوری که جذب نوری ۰/۰۸تا ۰/۱ تقریباً معادل 1×10^{8} 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 (۲٤ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد) انجام پذیرفت.

آماده سازی خمیر شیزوتوراکس: ابتدا ٥ کیلوگرم ماهی شیزوتوراکس(Schizothorax zarudnyi) از مرکز تکثیر ماهیان بومی زهک- زابل تهیه و داخل جعبه های حاوی یخ گذاشته شد. سپس به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی زابل 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 چرخ شد. بعد از آن به نمونه های گوشت چرخ شده ماهی، 1×10^{3}CFU/g باکتری تلقیح شد. نمونه های گوشت تلقیح شده کاملاً هموژن شدند. از این گوشت تلقیح شده برای تهیه همه تیمارهای مورد آزمایش استفاده شد (۱٤).

ماربندی و شمارش باکتری لیستریا مونوسیتوژن طی دوره نگهداری: تیمارهای شاهد، گوشت تلقیح شده اسانس زیره سبز با غلظت های ۱، ۲و ٤ %v/w در نظر گرفته شد. همه تیمارها در کیسه های پلاستیکی بسته بندی و در طول دوره آزمایش در دمای یخچال نگهداری شدند. در طول دوره آزمایش، شمارش باکتری لیستریا مونوسیتوژن هر ٤۸ ساعت انجام پذیرفت. به منظور شمارش لیستریا مونوسیتوژن از محیط انتخابی کشت CHROMagar کروموژنیک، شرکت میکروبیولوژی کروم آگار فرانسه) و مکمل آن (CHROMagar Listeria supplement) استفاده شد (۱۹).

برای شمارش باکتری در هر بار زمان نمونه گیری، به ٥ گرم گوشت چرخ شده ماهی مقدار ٤٥میلی لیتر سرم فیزیولوژی اضافه و سپس هموژن شد. به منظور شمارش باکتریها، رقتهای سریالی (۱:۱۰) تهیه شد. ۰/۱ میلی لیتر نمونه رقیق شده را روی محیط کشت CHROMagar TM Listeria کشت سطحی داده و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ گرمخانه گذاری شد. باکتری لیستریا مونوسیتوژنز روی این محیط، کلنی هایی به رنگ آبی با هاله سفید تشکیل داد. برای هر تیمار دو تکرار در نظر گرفته شد که پس از کشت پلیت های استاندارد، انتخاب و شمارش شدند.

تجزیه و تحلیل آماری: آنالیز آماری دادهها با بهره گیری از نرم افزارSPSS ورژن ۱۷ و توسط آزمونهای آنووا یک طرفه و تعقیبی دانکن انجام شد.

نتایج

آنالیز اسانس: نتایج آنالیز ترکیب های اسانس زیره سبز مورد استفاده در این مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. همانطور که در این جدول آمده است، ترکیب های اصلی تشکیل دهنده اسانس شامل منتول (٤۲/۹٦ درصد)، منتون (۱۸/٤۳

Archive of SID
www.SID.ir

درصد)، منتوفوران (٦/٢٤)، منتیل استات (٢/٧٦ درصد)، نئو منتول (٢/١٣ درصد)، لیمونن (١/٠٩ درصد) می باشد. نتایج میانگین لگاریتم تعداد سلول های لیستریا مونوسیتوژن تحت تاثیر غلظت های مختلف اسانس زیره‌سبز در گوشت چرخ شده شیزوتوراکس در روز صفر 1×10^{3}CFU/g بود که در جدول ٢ نشان داده شده است. با گذر زمان تعداد باکتری لیستریا در گروه شاهد افزایش یافت. در روز اول نگهداری تعداد باکتری های تیمارهای حاوی اسانس زیره سبز نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری داشت (P =٠/٠٠١). ولی در روز سوم نگهداری تعداد باکتری لیستریا در تیمار شاهد غیر قابل شمارش شدند بقیه تیمارها اثر مهارکنندگی ضعیف و معنی داری را در برابر باکتری لیستریا از خود نشان دادند ولی تیمار ٣ درصد اسانس در روز اول مانع از رشد باکتری شد و تعداد باکتری را به صفر رساند (P =٠/٠٠١). زیره سبز در سطح ١ و ٢ درصد اثر مهارکنندگی ضعیف و معنی داری را نسبت به گروه شاهد در برابر باکتری لیستریا از خود نشان داد ولی نتوانست باکتری را بطور کامل مهار کند (P =٠/٠٠١).

نتایج میانگین لگاریتم تعداد سلول های لیستریا مونوسیتوژن تحت تاثیر غلظت های مختلف نیسین در گوشت چرخ شده شیزوتوراکس در جدول ٣ نشان داده شده است. میانگین تعداد کلی باکتری لیستریا مونوسیتوژن در گوشت چرخ شده شیزوتوراکس در روز صفر 1×10^{3} CFU/g بود و با گذر زمان تعداد باکتری در نمونه شاهد (فاقد نیسین) افزایش رشد داشتند. در روز اول نگهداری تعداد باکتری های تیمارهای حاوی نیسین نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری داشت (P =٠/٠٠١). در روز سوم نگهداری تعداد باکتری لیستریا در تیمار شاهد غیر قابل شمارش شدند. اما بین غلظت ١٠ و ١٥ میکروگرم در گرم نیسین اختلاف معنی داری مشاهده نشد (P >٠/٠٥). بقیه تیمارها اثر مهارکنندگی معنی داری را در برابر باکتری لیستریا از خود نشان دادند در تیمارهای نیسین (٤٠، ٥٠) میکروگرم در گرم مانع از رشد باکتری شدند و تعداد باکتری را به صفر رساند (P =٠/٠٠١). در روز سوم تیمارهای نیسین (١٠، ١٥) میکروگرم در گرم اثر مهاری ضعیفی نشان دادند ولی اختلاف نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود (P =٠/٠٠١). روز دوازدهم اختلاف معنی‌دار بود ولی اثر مهار کنندگی ضعیفی از خود نشان دادند و نتوانستند بطور کامل باکتری را مهار کنند (P =٠/٠٠١).

جدول شماره ١. نتایج آنالیز اسانس زیره سبز با استفاده از GC/MS

ردیف	ترکیب	درصد	ردیف	ترکیب	درصد
١	α-Pinene	٠/٢٨	١٥	β-Bourbonene	٠/٣٥
٢	β-Pinene	٠/٣٩	١٦	Octanol	٠/٢١
٣	β-Myrcene	٠/٢٤	١٧	Ethylamylcarbinol	٠/٦٢
٤	Limonene	١/٠٩	١٨	spathulenol	٠/٢٧
٥	Menthol	٤٢/٩٦	١٩	isospathulenol	٠/٢٦
٦	Camphene	٠/٦	٢٠	Caryophyllene oxide	٠/٩٥
٧	Tymol	٠/٢٥	٢١	cis-sabinene hydrate	٠/٢٥
٨	neo-Menthol	٢/١٣	٢٢	Borneol	٠/١
٩	Neoisomenthol	٠/٥٦	٢٣	Menthyl acetate	٢/٧٦
١٠	Menthone	١٨/٤٣	٢٤	Menthol acetate	٠/٧٢
١١	α-Terpineol	٠/٢٢	٢٥	Viridiflorol	٠/٩٦
١٢	Menthofuran	٦/٢٤	٢٦	Farnesene	٠/٢٩
١٣	Sabinene	٠/٢٥	٢٧	α-Humulene	٠/١٨
١٤	gamma-Terpinene	٠/٢٧	٢٨	Menthyl acetate	٢/٧٦

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ۲. اثر ضد لیستریایی اسانس زیره سبز در سه سطح ۱، ۲ و ۳ درصد در گوشت چرخ شده ماهی شیزوتوراکس طی نگهداری در دمای یخچال (٤ درجه سانتی گراد)

زمان (روز) / اسانس (٪)	۰	۱	۳	۵	۷	۹	۱۲
شاهد	۳±*	۸/۳۷±۰/۰۱۷	TNTC**	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
۱	۳±۰	۵/۳۰±۰/۰۰۱	٦/٤۰±۰/۰۱۱	٦/۵۰±۰/۰۵۷	۷/۱۱±۰/۰۵۷	۷/۲۰±۰/۰۱۱	۷/۳۰±۰/۰۰۵
۲	۳±۰	۵/۳۰±۰	٦/۳۰±۰/۰۱۱	٦/٤۰±۰/۰۰۵	۷/۱۰±۰/۰۰۵	۷/۲۰±۰	۷/۳۰±۰/۰۱۱
۳	۳±۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰

*میانگین SE±(Log CFU/g) ، **غیرقابل شمارش

جدول شماره۳. اثر ضد لیستریایی نیسین در سه سطح ۱۰، ۱۵، ٤۰ و ۵۰ میکروگرم در گرم در گوشت چرخ شده شیزوتوراکس طی نگهداری در دمای یخچال (٤ درجه سانتی گراد)

ردیف زمان (روز) / نیسین (µg/g)	۰	۱	۳	۵	۷	۹	۱۲
شاهد	۳±*	۸/۳۷±۰/۰۱۷	TNTC**	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
۱۰	۳±۰	۳/۵۸±۰/۰۰٦	۷/۵۰±۰/۰۱۱	۷/٦۰±۰/۰۱۵	۷/۷۰±۰/۰۱۱	۷/۸۰±۰/۰۱۱	۷/۹۰±۰/۰۱۱
۱۵	۳±۰	۳/۷٦±۰/۰۱۱	٦/٦۱±۰/۰۱۷	٦/٦۹±۰/۰۰٦	۷/٦۰±۰/۰۱۱	۷/۷۰±۰/۰۱۱	۷/۸۰±۰/۰۱۷
٤۰	۳±۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۵۰	۳±۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰

*میانگین SE±(Log CFU/g) ، **غیرقابل شمارش

نتایج میانگین لگاریتم تعداد سلول های لیستریا مونوسیتوژن تحت تاثیر غلظت های مختلف نیسین و اسانس زیره در گوشت چرخ شده شیزوتوراکس در جدول ٤ نشان داده شده است. میانگین تعداد کلی باکتری لیستریا مونوسیتوژن در گوشت چرخ شده ماهی شیزوتوراکس در روز صفر 1×10^{3} CFU/g بود. در روز اول تعداد باکتری در تیمارهای دارای نیسین و زیره سبز نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی داری داشتند (P=۰/۰۰۱). در روز سوم تعداد باکتری لیستریا در تیمار های حاوی نیسین و زیره سبز نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری داشتند (P =۰/۰۰۱) و تیمار شاهد غیرقابل شمارش شدند. در روز سوم تیمارهای حاوی نیسین (۱۰µg/g) و زیره سبز (۱٪) تعداد باکتری لیستریا را به صفر رساندند. در روز پنجم اختلاف معنی داری و مهار کنندگی ضعیف بین تیمارها وجود داشت (P=۰/۰۰۱). همچنین در بررسی نتایج تاثیر سینرژیست نیسین و اسانس با هم بر لگاریتم رشد باکتری ها نسبت به استفاده از اسانس و نیسین به تنهایی نتایج معنی‌دار می‌باشند (P=۰/۰۰۱).

بحث

بطور کلی مقایسه نتایج بدست آمده در مورد خواص ضد باکتریایی اسانس‌های مختلف بسیار مشکل می‌باشد. از دلایل آن می‌توان به تفاوت در روش‌های مختلف بررسی خواص ضد باکتریایی اسانس‌ها، منابع تهیه آنها و سویه های باکتریایی بکار برده شده، روش عصاره گیری، فاز رشد و میزان باکتری، نوع محیط کشت مورد استفاده، عوامل خارجی و داخلی مواد غذایی نظیر pH ، چربی، پروتئین، آب، آنتی اکسیدانها، مدت زمان و دمای گرمخانه گذاری، روش بسته بندی و ساختار فیزیکی مواد غذایی اشاره کرد. مدلهای مختلفی در مطالعات متعدد به منظور بررسی اثرات ضد باکتریایی و نگهدارندگی اسانس‌های گیاهی

Archive of SID
www.SID.ir

استفاده شده است. در برخی از این روشها از محیط کشت و در برخی دیگر از مدلهای غذایی برای بررسی اثرات ضد باکتریایی اسانس ها استفاده شده است (۱۵، ۲۰). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که اسانس زیره سبز در سطح ۳ درصد (v/w) اثر مهارکنندگی و باکتری کشی قوی علیه لیستریا مونوسیتوژن در گوشت چرخ شده ماهی شیزوتوراکس دارد که احتمالاً به دلیل منتول فراوان موجود در اسانس زیره سبز است. مطالعات در محیط آزمایشگاهی نشان می دهند که این ترکیب فنولی موجود در اسانس زیره سبز فعالیت ضد لیستریایی دارند (۱۷).

جدول ٤. اثر ضد لیستریایی نیسین و زیره سبز در گوشت چرخ شده شیزوتوراکس طی نگهداری در دمای یخچال (٤ درجه سانتی گراد)

زمان (روز) / نیسین(µg/g)+اسانس(٪)	۰	۱	۳	۵	۷	۹	۱۲
شاهد	Ab۳±۰/۰۰۰	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
٪۰/۵+۲	Ad۳±۰/۰۰۰	Bc ٤/۵±۰/۰۰	Ab۷/۵±۰/۰۰۵	Aa۷/٦۰±۰/۰۱۱	TNTC	TNTC	TNTC
٪۱+۲	Ad۳±۰/۰۰۰	Bc٤/٤۱±۰/۲۸۸	Ab۷/۵۱±۰/۰۱	Aa ۷/٦۱±۰/۰۱	TNTC	TNTC	TNTC
٪۰/۵+٤	Ad۳±۰/۰۰۰	Cc۳/۵±۰/۰۰۵	Bb۷/۲۱±۰/۰۱۷	Ba۷/۳۰±۰/۰۰۵	TNTC	TNTC	TNTC
٪۱+٤	Ad۳±۰/۰۰۰	Cc۳/٤۸±۰/۰۱۷	Bb۷/۲۱±۰/۰۱۵	Ba۷/۳۰±۰/۰۰۵	TNTC	TNTC	TNTC
٪۰/۵+۱۰	Ae۳±۰/۰۰۰	Cd۳/٤٤±۰/۱۳۸	Cc٤/٦۳±۰/۰۵۱	Cb۵/۳۵±۰/۰۹۸	Aa۷/٦۱±۰/۰۲۸	TNTC	TNTC
٪۱+۱۰	Ab۳±۰/۰۰۰	Da۳/۱۳±۰/۰۳٤	Dc۲/٤٤±۰/۰٤٦	۰	۰	۰	۰

در مطالعه حاضر، تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان می‌دهد که نیسین در غلظتهای مختلف و در روزهای مختلف اثر ممانعت کنندگی بر روی لیستریا داشته است، اما غلظت بالای ٤۰ میکروگرم در گرم نیسین دارای بیشترین تاثیر بازدارندگی بر رشد باکتری بوده، که با سایر تیمارها تفاوت معنی دار آماری داشته است. فتار رشد باکتری های ویبریو پاراهمولایتیکوس و لیستریا مونوسیتوژنز در فیله ماهیان شور شده تحت تاثیر نیسین و اسانس آویشن شیرازی و ترکیب آنها با هم توسط Ekhtiarzadeh و همکاران در سال ۲۰۱۲ بررسی شد. ترکیب با نیسین در دمای ٤ درجه سانتی گراد مشاهده شد. رشد باکتری ویبریو در ۸ درجه سانتی گراد(گروه کنترل) در روز اول کشت متوقف گردید و به زیر ۲ لوگ رسید. بهترین اثر بازدارندگی اسانس در ترکیب با نیسین برای باکتری ویبریو در غلظت ۰/٤ اسانس و ۰/۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر نیسین و برای لیستریا ۰/٤ اسانس و ۰/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر نیسین حاصل شد (۲۱).

استفاده از پارامترهای چند مانعی راهکاری مناسب برای کاهش میزان غلظت مورد استفاده مواد نگهدارنده در مواد غذایی می باشند. نیسین و اسانس زیره سبز هر دو بر روی غشای سلولی باکتری ها تاثیر می گذارند. در واقع نیسین با تاثیر بر غشای سیتوپلاسمی میکروارگانیسم ها و ایجاد حفره در این غشاء سبب اختلال در تبادل مواد مورد نیاز سلول نظیر ATP , ADPمی شود. همچنین تشکیل حفرات در غشای سلولی روی نیروی محرکه بار مثبت سلول اثر نموده باعث مرگ میکروارگانیسم می شود (۱٦). علاوه بر این، خاصیت آبگریزی اسانس های روغنی نیز سبب می شود که این ترکیب به راحتی در غشای لیپیدی نفوذ کند و نشت مواد درون باکتری ها به بیرون و در نهایت باعث مرگ آنها می گردد (۳).

استفاده از اسانس زیره سبز به همراه نیسین سبب برطرف شدن محدودیت های استفاده از این ماده می شود، چرا که نیسین ترکیبی است که حلالیت کمی در آب دارد و همچنین بیشترین میزان تاثیر آن در شرایط اسیدی می باشد، یکی دیگر از محدودیت های استفاده از نیسین این است که بسیاری از باکتری ها مثل برخی از سویه های لیستریا مونوسیتوژنز به آن مقاومت دارند (۲۲)، نتایج این پژوهش نشان میدهد که با ترکیب

Archive of SID
www.SID.ir

این دو میتوان به مشکلات استفاد از نیسین و همچنین اسانس زیره غلبه کرد.

Yano در سال (۲۰۰٦) به بررسی اثر ضدمیکروبی اسانس تهیه شده از ۱۸ گیاه مختلف به صورت جداگانه بر رشد ویبریو پاراهمولیتیکوس پرداخت آثار بازدارندگی آن در غلظت ۲/۵ درصد تأیید گردید اثرات هر کدام از آنها در دو دمای ۵ و ۳۰ درجه ی سانتی گراد بررسی شد و مشخص گردید که ز یره ی سبز در هر دو دما دارای اثرات ضد میکروبی است و باعث حداقل ۱Log کاهش در جمعیت میکروبی گردید (۲۳).

در پژوهشی دیگر که توسط عروج علیان و همکاران انجام شد (۲۰۰۹) اثر عصاره ی روغنی زیره ی سبز بر روی چهار نوع باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، اشریشیا کلی و لیستریا مونوسیتوژنز بررسی شد و حداقل غلظت مهاری آن ۰/۳۷ تا ۳ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر برآورد شد (۲٤).

در مطالعه‌ای، اثرات سینرژیک عصاره آلی سیر بر روی ٦ سویه MIC و نیسین به صورت تعیین لیستریا مونوسیتوژنز در یک مدل محیط کشت مایع بررسی شد و یک تأثیر سینرژیستی ضد باکتریایی بر روی سویه های لیستریا در هنگام استفاده این دو ماده با هم مشاهده شد (۲۵).

در سال ۱۹۹۹ Pol و همکارانش از اسانس های گیاهی به همراه نایسین و استرهای دی گلیسرید اسیدهای چرب برای مهارباکتری لیستریا منوسیتوژن استفاده نمودند. در این بین کارواکرول و تیمول موثرترین ترکیبات علیه لیستریا منوسیتوژن بودند و بعد از آنها به ترتیب اوژنول، سینامالدئید و ایزواوژنول موثر بودند. در بین استرهای دی گلیسرید اسیدهای چرب، دی گلیسرول منو لورات موثرترین ترکیب علیه لیستریا منوسیتوژن بود. در استفاده توام از این ترکیبات، این مطالعه نشان داد که میتوان از نیسین و دی گلیسیرول منولورات برای بالا بردن اثر ضد لیستریایی ترکیبات گیاهی(کارواکرول، تیمول و اوژنول) استفاده نمود که در این حالت از مقدار (دوز) کمتری از اسانس گیاهی در مادهٔ غذایی استفاده می شود و در نتیجه از اثرات نامطلوب اسانس گیاهی روی طعم و مزهٔ غذا جلوگیری می شود (۱۸). در سال ۲۰۱۲ Roomiani تاثیر اسانس رزماری و نیسین را بررفتار رشد باکتری استرپتوکوکوس اینیایی بررسی کرد و به این نتیجه رسید که در دمای ٤ درجه سلسیوس رشد باکتری در غلظت های مختلف نیسین و رزماری به تنهایی تا روز نهم و در ترکیب با هم تا روز سوم به تأخیر افتاد. در دمای ۸ درجه سلسیوس در تمام غلظت های نیسین و رزماری از روز سوم به بعد نگه دارنده ها نتوانستند مانع رشد باکتری شوند (۱٤).

نتیجه‌گیری

در این تحقیق خواص ضدمیکروبی اسانس زیره سبز و نیسین به عنوان نگهدارنده طبیعی در رشد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز بررسی شد. البته لازم است که قبل از استفاده از اسانس زیره سبز به عنوان نگهدارنده غذا مطالعات بیشتری جهت شناسایی خصوصیات ضدمیکروبی اسانس های گیاهی صورت گیرد. با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش و موارد مطرح شده در بحث، اثرات سینرژیست نیسین و اسانس‌های زیره سبز بخوبی مشخص گردیده است. این اثرات تحت تأثیر عواملی نظیر کاهش pH افزایش می یابد و نقطه ضعف نیسین را که عدم تأثیر بر باکتری های گرم منفی است، می پوشاند. ضمن آنکه باعث کاهش غلظت مؤثره اسانس های مورد نظر می گردد که این خود باعث برطرف گردیدن اثرات منفی آن ها، بو، طعم و مزه مواد غذایی می گردد. لذا انجام مطالعات تکمیلی در مدل های آزمایشگاهی و سپس تعمیم آن بر مدل های غذایی به عنوان گام بعدی می تواند نتایج ارزنده ای را در برداشته باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی (شماره گرنت: UOZ-GR-9517-60) دانشگاه زابل انجام شد. بدین وسیله، نویسندگان مراتب سپاس خود را از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه زابل برای حمایت مالی انجام شده اعلام می‌دارند.

Archive of SID
www.SID.ir

تضاد منافع

در این پژوهش هیچ گونه تعارض منافعی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

References

1. Oussalah M, Caillet S, Saucier L and Lacroix M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coliO157: H7, Salmonella Typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogens. Food control. 2007; 18: 414-20.

2. Skandamis P, Koutsoumanis K, Fasseas K and Nychas GJE. Inhibition of oregano essential oil and EDTA on Escherichia coli O157:H7. Ital. J.Food Sci. 2001; 13: 65-75.

3. Shannon EM, Milillo SR, Johnson MG and Ricke SC. Inhibition of Listeria monocytogenes by exposure to a combination of nisin and coldpressed terpene less valencia oil. J. Food Sci. 2011; 9: 600-604.

4. Dillon VM, Board RG. Natural antimicrobial systems and food preservation. J. Food Safe. 1994; 16:239-41.

5. Ettayebi K, Yamani EIJ, Rossi-Hassani BD. Synergistic effects of nisin and thymol on antimicroibial activities in listeriamonocytogenes and Bacillus subtilis. FEMS Microbiol Lett .2000; 183(1): 191-195.

6. FAO. Fisheries Report No. 604. Expert consulation on the trade impact of listeria in fish products. Amherst, MA, USA. FAO; 1999.

7. Tirziu E, Nichita I, Cumpanasolu C, Gros RV, Seres M. Listeria monocytogenes,monographic study. Anim Science Biotechnol. 2010; 43: 441-446.

8. Yin LJ, Wu CW, Jiang ST. Biopreservative effect of pediocin ACCEL on refrigerated seafood. Fisher Sci. 2007; 73(4):907-12.

9. Vázquez-Boland JA, Kuhn M, Berche P, Chakraborty T, Domínguez-Bernal G, Goebel W, et al. Listeria pathogenesis and molecular virulence determinants. Clin microbiol rev. 2001; 14(3):584-640.

10. Kuwano K, Tanaka N, Shimizu T, Nagatoshi K, Nou S, Sonomoto K. Dual antibacterial mechanisms of nisin Z against Gram-positive and Gram-negative bacteria. Int J Antimicrob Agents. 2005; 26(5):396-402.

11. Helander IM, Mattila-Sandholm T. Permeability barrier of the Gram-negative bacteria outer membrane with special reference to nisin. Int J Food Microbiol. 2000; 60(2):153-61.

12. Breukink E, Wiedemann I, Van Kraaij C, Kuipers OP, Sahl HG, De Kruijff B. Use of the cell wall precursor lipid II by a pore-forming peptide antibiotic. Sci. 1999; 6(5448):2361-4.

13. Thomas LV, Wimpenny JW. Investigation of the effect of combined variations in temperature, pH, and NaCl concentration on nisin inhibition of Listeria monocytogenes and Staphylococcus aureus. Appl. Environ. Microbiol. 1996; 62(6):2006-12.

14. Roomiani, L. Study of effect Rosmarinus officinalis and nisin on the growth of Streptococcus iniae in lab conditions and fillet of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Thesis of Fisheries. Islamic Azad University. Science and Research Branch of Tehran. 2012; pp:164.

15. Moubarz G, Embaby MA, Doleib NM, Taha MM. Effect of dietary antioxidant supplementation (Cuminum cyminum) on bacterial susceptibility of diabetes-induced rats. Cent Eur J Immunol 2016; 41(2):132.

16. Misaghi A, Basti AA. Effect of Zataria multiflora Boiss. Essential oil and nisin on Bacillusereus ATCC 11778. Food control. 2007;18 (9):1043-9.

17. Ravi R, Prakash M, Bhat KK. Characterization of aroma active compounds of cumin (Cuminum cyminum L.) by GC-MS, e-Nose, and sensory techniques. Int. J. Food Proper. 2013; 16(5):1048-58.

18. Pol IE and Smid EJ. Combined action of nisin and carvacrol on Basillus cereus and Listeriamonocytogen. Lett. Appl. Microbiol. 1999; 29: 166-70.

19. Farber JM. Listeria monocytogenes in fish products. Journal of Food Protection. 2000; 54:922-924, 934.

20. Azimzadeh M. Genetic assessment of Iranian Bunium persicum Boiss using ITS. Tehran: University of Tehran; 2009. p.81.[persian]

21. Ekhtiarzadeh H, Akhondzadeh Basti A, Misaghi A, Sari A, Khanjar A, Rokni N, Abbaszadeh S, Partovi R. Growth response of Vibrio parahemolyticus and Listeria monocytogenes in

Archive of SID

www.SID.ir

salted fish fillets as affected by Zataria multiflora Boiss. Essential oil, nisin and their combination. Food processing and preservation. 2012; 32(3):263-69.

22. Boziaris IS, Nychas and GJE. Effect of nisin on growth boundaries of Listeria monocytogenesScott A, at various temperatures, pH and water activities. Food Microbiol. 2006; 8: 779-84.

23. Yano Y, Satomi M, Oikawa H. Antimicrobial effect of spices and herbs on Vibrio parahaemolyticus. Int. J. Food Microbiol. 2006: 6-11.

24. Oroojalian F, Kasra-Kermanshahi R, Azizi M, Bassami MR. Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. Food chem. 2010; 120(3):765-70.

25. Sousa AAS, Soares PMG, de Almeida ANS, Maia AR, de Souza EP, Assreuy AMS. 2010. Antispasmodic effect of Mentha piperita essential oil on tracheal smooth muscle of rats. Journal of Ethnopharmacol. 2010:130: 433-446.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences
2018, Volume 6, No.1:27-36

Original article

The effect of Cuminum Cyminum essence in preventing the growth of Listeria monocytogenes in the minced meat of *Schizothorax Zarudnyi*

Mohammad Rahnama[1], Afsaneh Noorijangi[2], Majid Alipour Eskandani[1*]

1. Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran

2. Department of fisheries products Processing, Zahak fisheries office, Sistan and Baluchestan, Iran

***Corresponding author*: alipour@uoz.ac.ir**

Keywords:

Cuminum cyminum essence, *Listeria monocytogenes*, *Schizothorax zarudnyi*

©2018 Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences. All rights reserved.

Abstract

Background & Aim: *Listeria monocytogenes* is one of the main food-borne bacterial pathogens and its control is currenly considered as the most important challenges in food industry. This study was aimed to investigate the effect of *Cuminum cyminum* essence and Nisin in preventing the growth of Listeria monocytogenes in the minced meat of *Schizothorax zarudnyi*.

***Methods*:** The analysis of the main components of *Cuminum cyminum* essence was achieved using Gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS). Further, 10^3CFU/g of *Listeria monocytogenes* was inoculated in minced meat of *Schizothorax zarudnyi*. Then the essence of *Cuminum cyminum* and nisin were added to the samples separately or in combination. Listeria monocytogenes was counted on days 0, 1,3,5,7,9,11.

***Results*:** The results showed that a concentration of 3% of *Cuminum cyminum* essence had growth preventing effect on *Listeria monocytogenes*. Fourtry micrograms of Nisin alone, and the combination of *Cuminum cyminum* essence (1%) and nisin (10 micrograms) had growth preventing effects on Listeria monocytogenes.

***Conclusion*:** The results demonstrated that *Cuminum cyminum* essence may be suitable as a natural preservative for controlling the growth of *Listeria monocytogenes*.

How to Cite this Article: Rahnama M, Noorijangi A, Alipour Eskandani M. The effect of Cuminum Cyminum essence in preventing the growth of Listeria monocytogenes in the minced meat of Schizothorax Zarudnyi. Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences. 2018;6(1):27-36.

Archive of SID

www.SID.ir