فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال پنجم، شماره اول، بهار ۱۳۹۶

پتانسیل ضدباکتریایی اسانس رزماری (*Rosmarinus officinalis*) و نایسین بر فیله ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

مهشید شاملوفر[۱]*، زهرا غیاثوند[۲]، مازیار کمالی[۳]، فاطمه بای[۴]

تاریخ دریافت: شهریور ۹۵ تاریخ پذیرش: دی ۹۵

چکیده

افزایش ماندگاری محصولات آبزی از جمله دغدغه‌های مهم صنعت فرآوری است. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی پتانسیل ضدباکتریایی اسانس رزماری و نایسین بر فیله ماهی کپور نقره‌ای انجام شد. تیمارهای مورد استفاده در این مطالعه شامل تیمار شاهد (فاقد هر ماده افزودنی)، رزماری (۱/۵ درصد) و نایسین (۰/۵ گرم بر کیلوگرم) و ترکیب نایسین و رزماری است و به منظور بررسی اثر ضدباکتریایی این دو ماده، باکتری *Salmonella typhimurium* روی فیله‌های ماهی فیتوفاگ به میزان ۵ log CFU/g تلقیح شد. همچنین تاثیرگذاری هر یک از تیمارها با شمارش باکتری‌های کل، باکتری‌های سرماگرا، باکتری‌های اسید لاکتیک و باکتری *S. typhimurium* در زمان‌های مختلف (۰، ۳، ۶ و ۹ روز) ارزیابی شد. نتایج به دست آمده حاکی از اثرگذاری مثبت معنی‌دار (P<۰/۰۵) هر یک از تیمارهای آزمایشی در قیاس با شاهد بود. استفاده مجزا از هر یک از دو ماده افزودنی رزماری و نایسین از عملکرد به مراتب بهتری در مقایسه با حالت ترکیبی برخوردار بود. با توجه به یافته‌ها، می‌توان از تیمارهای مجزای رزماری و نایسین به عنوان تیمارهای برگزیده از حیث توان مهار بار میکروبی در فیله ماهی فیتوفاگ نام برد.

واژگان کلیدی: *ضدباکتریایی، نایسین، اسانس رزماری، ماهی کپور نقره‌ای.*

۱- استادیار گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران.
۲- استادیار گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران.
۳- کارشناس ارشد شیلات، عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران.
۴- کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران.
* نویسنده مسئول: shamloofar@gmail.com

مقدمه

توسعه آبزی‌پروری کشور از جمله اهدافی که اهمیت سزایی دارد. در بسیاری از کشورها، غذاهای دریایی به عنوان منبع اصلی پروتئین حیوانی در جیره غذایی مردم در نظر گرفته می‌شود و بخش اعظم اسیدهای آمینه ضروری مورد نیاز برای افزایش ارزش تغذیه‌ای را فراهم می‌کند (جنت علیپور و همکاران، ۱۳۹۰). در ایران آلودگی غذایی سالانه حدودا جان ۳۵ هزار نفر از جمعیت ۷۰ میلیونی کشور را می‌گیرد (رضویلر، ۱۳۸۹). همان گونه که روش نگه‌داری برای تمامی مواد غذایی اهمیت دارد، برای ماهی نیز با توجه به فسادپذیری بیش‌تر آن نسبت به سایر مواد غذایی، ضروری است. استفاده از مواد ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی می‌تواند نقش موثری در بهبود کیفیت این محصولات ایفا کند (Yin and Cheng, 2003). در راستای تحقق این اهداف، روش‌های شیمیایی نیز استفاده شدند که با گذشت زمان با توجه به عواقب ناشی از مصرف آن‌ها (Burt, 2004) در مسیر حذف و انزوا قرار گرفتند. بنابراین، در این مورد فضا برای استفاده از موادی با منشا گیاهی که توانایی بروز خاصیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی از خود دارند مهیا شده است، با این هدف که نهایتا هر یک از منابع با اثرگذاری خود موجبات بهبود کیفیت و کاهش سرعت روند فسادپذیری را باعث شوند. در بین مواد با منشا گیاهی، گیاهان زیادی به عنوان مواد دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی مطرح شده‌اند که از جمله این گیاهان می‌توان به پونه کوهی (*Origanum vulgare*)، میخک (*Syzygium aromaticum*) و رزماری (*Rosmarinus officinalis*) اشاره کرد (چوبکار و همکاران، ۱۳۹۱؛ زرگری، ۱۳۶۹). از جمله راهکارهای نوین مورد استفاده در این راستا بهره‌گیری از مواد زیستی است که این مواد محصول متابولیسم باکتری‌های گروه لاکتیک (*Lactococcus lactis*) هستند و تحت عنوان تجاری نایسین به منظور جلوگیری و کاهش تراکم میکروارگانیسم‌های مسبب فساد غذایی، مورد استفاده قرار می‌گیرند (Castellano et al., 2008; Shahbazi, 2016). امروزه استفاده هر چه بیشتر از توان آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی گیاهان در اولویت مطالعه پژوهشگران قرار گرفته است که در این مطالعه نیز از عصاره گیاه رزماری با نام علمی *Rosmarinus officinalis* همراه با نایسین به منظور افزایش ماندگاری فیله ماهی استفاده

شد. گونه مورد استفاده در این آزمایش ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) از جمله ماهیان کپور پرورشی است که در بین عموم با عنوان فیتوفاگ نیز شناخته می‌شود. در این آزمایش با افزودن دو ماده نگهدارنده نایسین و رزماری به فیله، سعی بر آن شد که اثر مهاری این مواد نگهدارنده بر جمعیت میکروبی بررسی شود.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی فیله ماهیان

در این مطالعه، ماهیان کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) مورد نیاز از استخرهای پرورشی واقع در شهرستان ساری خریداری شد و در میان پوششی از یخ به پژوهشکده اکولوژی آبزیان دریای خزر حمل شد. ماهی‌ها در آزمایشگاه بلافاصله تخلیه شکمی و سر و دم زنی شدند و به فیله‌های با میانگین وزنی بین ۵۰ تا ۵۵ گرم قطعه قطعه شدند. سپس با آب کاملا شسته شدند.

آزمایش انجام شده دارای ۴ تیمار و ۲ تکرار بود. تیمارهای مربوطه شامل رزماری (۱/۵ درصد) و نایسین (۰/۵ گرم بر کیلوگرم) و ترکیب نایسین (۰/۵ گرم بر کیلوگرم) و رزماری (۱/۵ درصد) و گروه شاهد (فاقد هر نوع ماده افزودنی) بود که تاثیرگذاری هر یک از تیمارها در زمان‌های مختلف (۰، ۳، ۶ و ۹ روز) بررسی شد.

تهیه اسانس رزماری

برای آماده‌سازی تیمار رزماری، ۱/۵ میلی‌لیتر از اسانس رزماری (باریج اسانس، ایران) در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و سپس بر اساس تیمارها به طور یکنواخت در سطح فیله‌ها، با غلظت ۱/۵ درصد به میزان ۵ میلی‌لیتر بر روی هر فیله ۵۰ گرمی، توزیع شد (Peiretti et al., 2012).

آماده‌سازی نمونه‌های حاوی نایسین

برای آماده‌سازی تیمار حاوی نایسین، مقدار ۰/۰۵ گرم نایسین ٪۲/۵ (Serva، آمریکا) در ۱ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۰۲ نرمال (Merck، آلمان) حل شده، در ظرف استریل توسط فیلتر ۰/۴۵ میکرو متر، استریل شد. سپس به ظروف حاوی آب مقطر استریل افزوده شد و پس از مخلوط شدن با غلظت ۰/۵ گرم بر کیلوگرم به یک میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و بر روی فیله‌های ماهی اسپری شد (Ghomi et al., 2011).

آماده‌سازی نمونه‌ها برای آزمایش‌های تلقیح باکتری *Salmonella typhimurium*

فیله‌های آماده شده، به منظور برآورد بار میکروبی آن‌ها، در انتهای دوره آزمایش توسط باکتری *Salmonella typhimurium* تلقیح شدند.

باکتری *S. typhimurium* (ATCC 14028) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. برای فعال‌سازی باکتری از کشت لیوفلیزه در محیط TSB[1] (Merck، آلمان) در دمای ۳۵°C به مدت ۱۸-۱۶ ساعت استفاده شد. برای آماده‌سازی میزان تلقیح باکتری مورد آزمایش، کشت دومی با انتقال کلنی باکتری به محیط TSB و نگهداری به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷°C انجام شد. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (D30، Biophotometer، آمریکا) در طول موج ۶۰۰ نانومتر، جذب نوری لوله‌های حاوی باکتری خوانده شد. از این سوسپانسیون باکتری به فیله‌های ماهی به گونه‌ای اضافه شد تا در هر گرم از فیله ماهی ۱×۱۰^{۵} باکتری موجود باشد و به منظور اضافه کردن باکتری به سطح فیله از روش اسپری باکتری با سرنگ استفاده شد (Grisi and Lira, 2005). سپس نمونه‌ها در دمای استاندارد یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) به مدت نه روز نگهداری شدند.

1- Tryptic Soy Broth

آنالیز میکروبی

آماده‌سازی نمونه‌ها

به منظور آنالیز بار میکروبی ابتدا با استفاده از اسکالپل و پنس استریل شده میزان ۱۰ گرم از فیله برداشته شد و در ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ضد عفونی شد. سپس به مدت ۶۰ ثانیه در یک مخلوط‌کن آزمایشگاهی (FDES90، Fara Azma، ایران) هموژن شد.

شمارش کلی باکتری‌ها (TPC)[2]

روش کشت میکروبی در این آزمایش، روش PCA[3] بود. نمونه‌های کشت داده شده در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت در آنکوباتور قرار داده شد و بعد از ۴۸ ساعت، نتیجه آزمایش بررسی و تمام کلونی‌هایی که در ظرف پتری ظاهر شده بودند، شمارش شد (Zakipour Rahimabadi et al., 2013). برای به دست آوردن تعداد باکتری‌ها، تعداد کلونی‌های شمارش شده در عکس رقت ضرب و بر وزن نمونه تقسیم شد و مقدار آن با واحد log CFU/g بیان شد. در همه مراحل این

2 Total Plate Count
3 Plate Count Agar

آزمایش وسایل مورد استفاده، قبل از به کارگیری با استفاده از شعله و الکل ٪۷۰ استریل شدند (سازمان ملی استاندارد ایران شماره ۱-۸۹۲۳، ۱۳۷۹).

شمارش باکتری‌های سرماگرا (PTC[1])

برای شمارش تعداد باکتری‌های سرماگرا کشت به صورت سطحی بر روی محیط کشت پلیت کانت آگار انجام شد و بعد از نگهداری پلیت‌ها در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز تعداد کلنی‌های موجود بر روی پلیت شمارش شد (سازمان ملی استاندارد ایران شماره ۲۶۲۹، ۱۳۷۸).

شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB[2])

به منظور شمارش باکتری‌های گروه لاکتیک، از محیط کشت MRS[3] آگار (Merck، آلمان) استفاده شد. به این ترتیب که یک میلی‌لیتر نمونه با میکرو سمپلر به پتری دیش خالی منتقل شد و سپس یک لایه محیط کشت مایع آماده شده به نمونه اضافه شد. سپس پتری دیش به طور سینوسی تکان داده شد تا نمونه با محیط کشت مخلوط شود. پس از سرد شدن محیط کشت، لایه باریک دیگری به لایه اولیه اضافه شد. برای ایجاد یک محیط بی‌هوازی پلیت‌های کشت داده شده در جار بی‌هوازی حاوی دو گازپک C قرار داده شدند و در آنکوباتور ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ تا ۳ روز نگهداری شدند (Jones et al., 2008). داده‌های حاصل از شمارش چشمی پلیت‌ها در عکس رقت ضرب شده، بر وزن نمونه برداشت شده تقسیم شد و با قرار دادن این داده‌ها در لگاریتم، لگاریتم تعداد کلنی در واحد وزن (log CFU/g) به دست آمد.

شمارش باکتری‌های *Salmonella typhimurium*

برای شمارش تعداد باکتری‌های *S. typhimurium* کشت به صورت سطحی بر روی محیط کشت سالمونلا شیگلا آگار[4] (Merck، آلمان) انجام شد و بعد از نگهداری پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت تعداد کلنی‌های سیاه رنگ (تولید کننده H_2S) موجود بر روی پلیت شمارش شد و نتایج بر حسب log CFU/g بیان شد (Shahbazi, 2016).

1 Psychrotrophic Count
2 Lactic Acid Bacteria
3 deMan, Rogosa and Sharpe
4 SS Agar

آنالیز آماری

برای تجزیه و تحلیل داده و مقایسه میانگین‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه و دوطرفه و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18 انجام شد.

نتایج

شمارش کلی باکتری‌ها (TPC)

تغییرات مقادیر کل باکتری‌ها و مقایسه آن‌ها در بین تیمارها در طی زمان ماندگاری در جدول ۱ آمده است. طبق نتایج، TPC در تمامی تیمارهای این آزمایش در روز ۹ بیشترین مقدار و در روز صفر کمترین مقدار را داشت و بین زمان‌های مختلف آزمایش در همه تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵). میزان TPC فیله ماهیان در کلیه تیمارها در زمان صفر تفاوت معنی‌داری با هم نداشت (P>۰/۰۵).

شمارش باکتری‌های سرماگرا (PTC)

تغییرات مقادیر باکتری‌های سرماگرا و مقایسه آن‌ها در بین تیمارها در طی زمان ماندگاری در جدول ۲ آمده است. طبق نتایج، PTC در تمامی تیمارهای این آزمایش در روز ۹ بیشترین مقدار و در روز صفر کمترین مقدار را داشت و بین زمان‌های مختلف آزمایش در همه تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵). میزان PTC فیله ماهیان در کلیه تیمارها در زمان صفر تفاوت معنی‌داری با هم نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۱ : شمارش کلی باکتری‌ها (TPC) در تیمارها و زمان‌های مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

	شمارش کلی باکتری‌ها (log CFU/g)			
تیمار / زمان (روز)	صفر	۳	۶	۹
شاهد	۴/۸۸±۰/۰۲ aD	۶/۵۲±۰/۱۰ aC	۷/۵۶±۰/۳۰ aB	۸/۵۵±۰/۰۸ aA
رزماری	۴/۶±۰/۱۹ aD	۵/۲۸±۰/۰۴ bC	۶/۶۷±۰/۰۶ bB	۷/۳۷±۰/۱۲ bA
نایسین	۴/۶۰±۰/۱۴ aD	۵/۲۴±۰/۱۰ bC	۷/۱۹±۰/۰۹ aB	۸/۳۲±۰/۱۱ aA
ترکیبی	۴/۹۶±۰/۲۲ aD	۶/۱۱±۰/۰۴ aC	۷/۲۱±۰/۰۵ aB	۸/۲۲±۰/۱۳ aA

حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در هر زمان است (P<۰/۰۵) و حروف بزرگ متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف است (P<۰/۰۵).

جدول ۲: شمارش باکتری‌های سرماگرا (PTC) در تیمارها و زمان‌های مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

	شمارش باکتری‌های سرماگرا (log CFU/g)			
زمان (روز) / تیمار	صفر	۳	۶	۹
شاهد	۴/۵۵±۰/۲۲ aD	۵/۶۸±۰/۸۴ aC	۷/۳۲±۰/۱۲ aB	۸/۳۳±۰/۱۱ aA
رزماری	۴/۳۸±۰/۴۰ aC	۵/۱۶±۰/۰۸ cB	۶/۲۲±۰/۱۳ bA	۶/۷۶±۰/۰۹ cA
نایسین	۴/۲۶±۰/۰۷ aD	۵/۲۴±۰/۰۲ cbC	۶/۳۴±۰/۱۰ bB	۷/۳۷±۰/۰۷ bA
ترکیبی	۴/۵۳±۰/۱۱ aD	۵/۳۷±۰/۰۵ bC	۷/۱۸±۰/۰۵ aB	۷/۴۸±۰/۰۴ bA

حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در هر زمان است (P<۰/۰۵) و حروف بزرگ متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف است (P<۰/۰۵).

شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB)

تغییرات مقادیر باکتری‌های اسیدلاکتیک و مقایسه آن‌ها در بین تیمارها در طی زمان ماندگاری در جدول ۳ آمده است. طبق نتایج، LAB در تمامی تیمارهای این آزمایش در روز ۹ بیشترین مقدار و در روز صفر کمترین مقدار را داشت و بین زمان‌های مختلف آزمایش در همه تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵). میزان LAB فیله ماهیان در کلیه تیمارها در زمان صفر تفاوت معنی‌داری با هم نداشت (P>۰/۰۵).

مقادیر باکتری *Salmonella typhimurium* در نمونه ماهی

تغییرات مقادیر باکتری *S. typhimurium* و مقایسه آن‌ها در بین تیمارها در طی زمان ماندگاری در جدول ۴ آورده شده است. طبق نتایج، مقدار *S. typhimurium* در تمامی تیمارهای این آزمایش در روز ۹ بیشترین میزان و در روز صفر کمترین میزان بود و بین زمان‌های مختلف آزمایش در همه تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵). میزان *S. typhimurium* فیله ماهیان در کلیه تیمارها در زمان صفر تفاوت معنی‌داری با هم نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۳: شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک در تیمارها و زمان‌های مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

	تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک (log CFU/g)			
زمان (روز) / تیمار	صفر	۳	۶	۹
شاهد	۲/۴۱±۰/۰۱۴ aC	۴/۷۱±۰/۰۲۸ aB	۴/۹۳±۰/۲۸۲ aB	۷/۲۶±۰/۱۶۲ aA
رزماری	۲/۴۰±۰/۰۲۸ aD	۴/۳۲±۰/۰۴۹ bC	۴/۸۵±۰/۰۳۵ aB	۵/۴۸±۰/۰۲۸ dA
نایسین	۲/۴۲±۰/۱۲۰ aD	۳/۳۷±۰/۰۷۰ cC	۴/۲۴±۰/۰۲۸ bB	۶/۳۱±۰/۰۲۸ cA
ترکیبی	۲/۴۶±۰/۰۶۳ aD	۴/۰۳±۰/۰۷۷ dC	۴/۵۸±۰/۰۵۶ abB	۶/۸۹±۰/۰۲۱ bA

حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در هر زمان است (P<۰/۰۵) و حروف بزرگ متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف است (P<۰/۰۵).

جدول ۴: شمارش باکتری‌های *Salmonella typhimurium* در دمای ۴°C در تیمارها و زمان‌های مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

	تعداد باکتری‌های *Salmonella typhimurium* (log CFU/g)			
زمان (روز) / تیمار	صفر	۳	۶	۹
شاهد	۵/۰۲±۰/۰۳ aD	۶/۲۸±۰/۰۴ aC	۷/۲۰±۰/۰۴ aB	۸/۲۸±۰/۰۸ aA
رزماری	۴/۷۹±۰/۳۵ aD	۵/۲۱±۰/۰۷ cC	۶/۳۹±۰/۰۵ bB	۷/۱۲±۰/۰۵ cA
نایسین	۴/۸۰±۰/۱۴ aD	۵/۱۷±۰/۰۶ cC	۶/۳۸±۰/۰۹ bB	۷/۷۲±۰/۰۵ bA
ترکیبی	۴/۶۰±۰/۱۴ aD	۵/۵۱±۰/۱۰ bC	۶/۲۸±۰/۰۴ bB	۷/۷۶±۰/۰۷ bA

حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در هر زمان است (P<۰/۰۵) و حروف بزرگ متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف است (P<۰/۰۵).

بحث

با توجه به این اصل که بار میکروبی اولیه ماهیان آب شیرین بسته به دما و وضعیت آب تغییر می‌کند پژوهشگران محدوده بین ۲ تا ۶ log CFU/g را برای شمارش کل باکتری‌های اولیه در قزل‌آلای رنگین‌کمان (Chytiri et al., 2004; Rezaei and Hosseini, 2008) و سوف نقره‌ای (Gelman et al., 2001) پیشنهاد

داده‌اند. میزان TPC اولیه فیله ماهی کپور نقره‌ای در این مطالعه در تمامی تیمارها تقریبا برابر ۴/۴۳±۰/۱۳ log CFU/g بود که می‌تواند نشانه تازگی ماهی باشد. در مطالعه‌ای که ذوالفقاری و همکاران (۱۳۹۰) بر روی روند تغییرات میکروبی، شیمیایی و حسی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، طی نگهداری در دمای یخچال انجام دادند، میزان TPC اولیه فیله‌ها ۳/۵۴ log CFU/g محاسبه شد که به نتایج مطالعه حاضر نزدیک است. همچنین Chytiri و همکاران (۲۰۰۴) روند تغییرات میکروبی، شیمیایی و حسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را در زیر یخ به دو شکل فیله و شکم خالی شده با یکدیگر مقایسه کردند که میزان TPC اولیه فیله‌ها ۳/۸ log CFU/g به دست آمد که این نتایج به نتایج مطالعه حاضر نزدیک است. طبق نتایج حاضر، میزان TPC در تمامی تیمارها در طول زمان روندی افزایشی داشت یعنی در روز صفر کمترین و در روز ۹ بیشترین مقدار را داشت، همچنین اختلاف معنی‌داری بین زمان‌های مختلف آزمایش‌ها مشاهده شد (P<۰/۰۵). نتایج سایر پژوهشگران از جمله Ojagh و همکاران (۲۰۱۰) و Rezaei و Hosseini (۲۰۰۸) نیز نشان دهنده افزایش شاخص TPC در طول دوره نگهداری ماهی در دمای یخچال بود. در بررسی حاضر میزان TPC فیله ماهیان در کلیه تیمارها در زمان صفر تفاوت معنی‌داری با هم نداشت (P<۰/۰۵). در آخرین روز انجام آزمایش (روز ۹) بین تیمار شاهد و تیمارهای نایسین و ترکیبی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵)، اما بین تیمار حاوی رزماری با تیمارهای شاهد و نایسین و ترکیبی اختلاف معنی‌دار وجود داشت (P<۰/۰۵) که این نسبت در روزهای ۳ و ۶ نیز به همین ترتیب مشاهده شد.

مطالعه اعتمادی و همکاران (۱۳۸۷) بر بررسی پتانسیل ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری در افزایش عمر ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مشخص کرد که میزان شمارش شده کلی باکتری‌های نمونه شاهد به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار حاوی رزماری بود که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد و نشان دهنده اثرات بازدارندگی عصاره رزماری بر کل باکتری‌های موجود در نمونه است. Faghani و همکاران در سال ۲۰۱۱ اثر نایسین و استات سدیم را بر روی خواص میکروبی و شیمیایی ماهی آمور تلقیح شده با باکتری *Listeria monocytogenes* بررسی کردند. در این مطالعه فیله‌های ماهی آمور در

محلول‌های استات سدیم با غلظت‌های ۱ و ٪۳ و نایسین ۰/۱ و ٪۰/۲ و تیمار ترکیب نایسین و استات سدیم غوطه‌ور شد. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که خاصیت ضدمیکروبی این دو ماده به خوبی در کاهش بار میکروبی تاثیرگذار بود (Faghani et al., 2011) که با نتایج مطالعه حاضر از نظر تاثیر نایسین بر کاهش بار میکروبی کل مطابقت ندارد.

انوری و همکاران در سال ۱۳۸۸ در مطالعه‌ای به بررسی پتانسیل آنتی‌باکتریایی باکتریوسین Z در افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلا پرداختند که نتایج به دست آمده از آن بیانگر تاثیرگذاری باکتریوسین Z در غلظت ۰/۲ گرم بر کیلوگرم در نمونه‌های مورد آزمایش بود که تیمار حاوی باکتریوسین Z به طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد، رشد میکروبی را به تاخیر انداخت و باعث افزایش عمر ماندگاری محصول شد اما در مطالعه حاضر با توجه به عدم وجود اختلاف معنی‌دار در تیمار حاوی باکتریوسین نایسین با تیمار شاهد در شمارش باکتری‌های کل، عملکرد مشابهی با آنچه که در مطالعه انوری و همکاران (۱۳۸۸) رخ داد، در این مطالعه مشاهده نشد.

بیشترین حد پیشنهاد شده برای TPC در فیله ماهیان ۷ log CFU/g است (ICMSF, 1986; Sallam, 2007). Savvaidis و همکاران (۲۰۰۲) در مطالعه بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان، پس از ۸ روز نگه‌داری در یخچال تحت خلاء، Chytiri و همکاران (۲۰۰۴) در مطالعه بر روی فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از ۶ روز نگه‌داری در شرایط هوازی و در دمای یخچال و Arashisar و همکاران (۲۰۰۴) در مطالعه بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت خلاء پس از ۸ روز نگه‌داری در ۴±۱°C به بیشترین حد پیشنهاد شده برای TPC رسیدند. آلودگی میکروبی ابتدایی، وضعیت نگهداری و بسته‌بندی (بسته‌بندی در هوا، خلاء یا اتمسفر اصلاح شده) و دمای نگهداری نقش مهمی را در تعیین زمان ماندگاری محصولات شیلاتی ایفا می‌کنند (Ojagh et al., 2010).

باکتری‌های گرم منفی سرماگرا، میکروارگانیزم‌های اصلی مسئول فساد ماهیان تازه نگهداری شده به صورت سرد هستند (Sallam, 2007). نتایج به دست آمده در جدول ۲ بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در شمارش باکتری‌های سرماگرا میان تیمارها طی زمان نگهداری است ($P<۰/۰۵$) که این ناشی از افزایش بار میکروبی در روزهای نگهداری است. نتایج به دست آمده از آزمایش در روز ۳ حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمار

شاهد با سایر تیمارها (P<۰/۰۵) و همچنین وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای رزماری و ترکیبی (P<۰/۰۵) و همین طور عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمار رزماری و تیمار نایسین است (P<۰/۰۵). نتایج به دست آمده در روز ۶ بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در بین تیمارهای شاهد، نایسین و رزماری (P<۰/۰۵) و عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمار شاهد و تیمار ترکیبی (P<۰/۰۵) و همچنین عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای رزماری و نایسین است (P<۰/۰۵). نتایج به دست آمده از روز ۹ حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای شاهد، رزماری و نایسین (P<۰/۰۵) و عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمار شاهد و تیمار ترکیبی است (P<۰/۰۵). بیشترین تراکم باکتریایی مربوط به تیمار شاهد و تیمار ترکیبی و کمترین نیز مربوط به تیمار نایسین و رزماری بود که در بین این دو نیز تیمار رزماری کمتر بود که این موضوع نشان از خاصیت ضدمیکروبی دو ماده رزماری و نایسین دارد. در مطالعه‌ای، اعتمادی و همکاران (۱۳۸۷) به بررسی پتانسیل ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری در افزایش عمر ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداختند که نتایج شمارش باکتری‌های سرماگرا در پایان روز ۱۴، تراکم کمتری در تیمار حاوی عصاره رزماری نسبت به تیمار شاهد نشان داد (P≤۰/۰۵) و دلیل این امر را اثرات بازماندگی عصاره رزماری بر فساد باکتریایی دانستند (اعتمادی و همکاران، ۱۳۸۷). در مطالعه‌ای دیگر، Gimenez و همکاران (۲۰۰۲) نیز به نتایجی مشابهی دست یافتند. به طور کلی گیاه رزماری از جمله گیاهانی است که دارای خاصیت ضدباکتریایی زیادی است که این نیز می‌تواند بر نتایج به دست آمده صحه بگذارد. در مطالعه حاضر تیمار ترکیبی در مقایسه با تیمارهای دیگر عملکرد ضدباکتریایی قابل توجهی نداشت و این نتیجه بر خلاف نتایج مطالعه Shirazinejad و همکاران (۲۰۱۰) بود که در بررسی اثر سطوح مختلف اسید لاکتیک در ترکیب با نایسین در کاهش بار باکتریایی میگو فرآوری شده، بهترین عملکرد را در تیمار ترکیبی اسید لاکتیک با نایسین مشاهده کردند.

میزان LAB اولیه گوشت فیله‌های ماهی کپور نقره‌ای در این مطالعه در تمامی تیمارها تقریبا برابر ۲/۴۲±۰/۲۶ log CFU/g بود و تیمارها با هم از نظر میزان LAB اولیه اختلاف معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵؛ جدول ۳) که این امر می‌تواند نشانه تازگی ماهی باشد.

طبق نتایج، مقدار LAB در تمامی تیمارهای این آزمایش در روز ۹ در بیشترین میزان و در روز صفر در کمترین میزان بود و بین زمان‌های مختلف آزمایش در همه تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵). میزان LAB فیله ماهیان در کلیه تیمارها در زمان صفر تفاوت معنی‌داری با هم نداشت (P>۰/۰۵). صفری و سعیدی اصل در سال ۱۳۹۰ تاثیر نایسین A و بنزوات سدیم را بر رفتار *L. monocytogenes* و برخی از شاخص‌های میکروبی و شیمیایی در فیله ماهی کپور نقره‌ای نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بررسی کردند. طبق نتایج به دست آمده توسط آن‌ها، میزان اولیه LAB در همه تیمارها تقریبا برابر ۲/۸۶±۰/۰۶ log CFU/g بود و تا پایان ۱۲ روز آزمایش روند افزایشی در همه تیمارها مشاهده شد. اما روند رشد LAB در تیمارهای شاهد و تیمار دارای بنزوات سدیم به صورت منفرد سریع‌تر از تیمارهای دارای مواد نگهدارنده ترکیبی و تیمار نایسین به تنهایی بود (صفری و سعیدی اصل، ۱۳۹۰). Castellano و همکاران (۲۰۰۸)، علت این امر را تاثیر باکتری‌کشی[1] نایسین علیه اکثر باکتری‌های گروه لاکتیک دانستند.

Shirazinejad و همکاران (۲۰۱۰) اثر توام اسید لاکتیک و نایسین را بر کاهش فلور میکروبی طبیعی میگو در دمای یخچال بررسی کردند. تعداد اولیه باکتری‌های اسید لاکتیک در این مطالعه کمتر از محدوده قابل شمارش ۲ log CFU/g بود و در نهایت در تیمار شاهد به ۵/۴ log CFU/g رسید. در طول مدت آزمایش تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک کمتر از سایر باکتری‌های شمارش شده در این آزمایش از جمله سودوموناس‌ها و باکتری‌های تولید کننده H_2S بود. در بین تیمارهای این آزمایش بهترین تاثیر را تیمار نایسین به همراه ۲٪ اسید لاکتیک داشت. از نظر Shirazinejad و همکاران (۲۰۱۰) علت کم بودن LAB در این مطالعه این بود که این باکتری‌ها در دمای یخچال و در شرایط هوازی کمتر رشد می‌کنند و در رقابت با سودوموناس‌ها قرار می‌گیرند. در مطالعه اعتمادی و همکاران (۱۳۸۷) بر پتانسیل ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری در افزایش عمر ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، اختلاف معنی‌داری در شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک بین تیمار شاهد و تیمار حاوی رزماری مشاهده شد (P<۰/۰۵). این نتایج منطبق با نتایج مطالعه حاضر مبنی بر تاثیرگذاری رزماری بر کاهش

1 Bactericide

سرعت رشد میکروبی است. باکتری‌های اسید لاکتیک از جنس‌های متعددی از باکتری‌های گرم مثبت تشکیل شده‌اند. برخی پژوهشگران ترکیبات فنولی قطبی موجود در عصاره رزماری را عامل اصلی خاصیت ضدمیکروبی آن می دانند (Del Campo et al., 2000).

نتایج مربوط به شمارش باکتری‌های *S. typhimurium* در جدول ۴ آمده است. تعداد باکتری‌های تلقیح شده مورد نظر در زمان صفر (مقدار اولیه) فاقد هر گونه اختلاف معنی‌دار در بین تیمارهای مختلف بود و میانگین اولیه آن ۴/۷۶±۰/۲۵ log CFU/g بود. مقادیر باکتری‌ها در روز ۳ در تیمار شاهد در بیشترین سطح بود و در این روز تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار با سایر تیمارها داشت. همین طور تیمار حاوی رزماری و نایسین نیز دارای اختلاف معنی‌دار با سایر تیمارها بودند و از لحاظ بار میکروبی کمترین میزان را به خود اختصاص داده بودند. در روز ۶ نگهداری، تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار با سایر تیمارها داشت و همچنان بیشترین بار میکروبی را به خود اختصاص داده بود. همین طور بین تیمارهای حاوی رزماری، نایسین و ترکیبی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵). نتایج شمارش بار میکروبی *S. typhimurium* در روز ۹ نشان داد که در تیمار شاهد به شکل معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود (P<۰/۰۵) و تیمار حاوی رزماری به شکل معنی‌داری کمترین بار باکتری *S. typhimurium* را به خود اختصای داده (P<۰/۰۵) و بین تیمارهای نایسین و ترکیبی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

چوبکار و همکاران (۱۳۸۹) با بررسی رشد باکتری *Staphylococcus aureus* در فیله ماهی کپور نقره‌ای فرآوری شده با نمک و نایسین در سطوح ۰/۷۵ و ۱/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، مشاهده کردند که بار باکتریایی تیمارهای حاوی نایسین نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌دار داشت (P≤۰/۰۵). نتایج فوق مشابه نتایج آزمایش حاضر در تاثیرگذاری نایسین به عنوان یک ماده نگهدارنده در کاهش بار میکروبی در طی زمان نگهداری بود.

طبق نتایج Elliason و Tatini (۱۹۹۹) طی مطالعه امکان غیرفعال‌سازی پیشرفته *S. typhimurium* و *Escherichia coli* توسط نایسین در دمای ۶/۵ درجه سانتی‌گراد، تعداد این باکتری‌ها در آب پپتونه و در محیط کشت TSA در طی مدت دو هفته در حضور نایسین کاهش سریعتری نسبت به زمانی که نایسین وجود نداشت نشان داد و این مقدار برای باکتری *S. typhimurium* در حدود ۱/۷

لگاریتم باکتریایی کمتر از تیمار فاقد نایسین بود.

Moosavi و همکاران (۲۰۰۸) تاثیر اسانس آویشن شیرازی و نایسین را بر دو باکتری *S. typhimurium* و *S. aureus* در سوپ جو تجاری، بررسی کردند. در این مطالعه، غلظت‌های مورد استفاده اسانس آویشن شیرازی برابر صفر، ۵، ۱۵ و ۳۰ میکرولیتر بر ۱۰۰ میلی‌لیتر و غلظت‌های نایسین برابر صفر، ۰/۲۵ و ۰/۵ میکرولیتر بر میلی لیتر، دماهای مورد مطالعه ۲۵ و ۸ درجه سانتی‌گراد و زمان نگهداری تا ۲۱ روز بود. در این مطالعه رشد باکتری *S. typhimurium* در غلظت‌های متفاوت اسانس آویشن شیرازی و ترکیب با نایسین در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد به طور معنی‌داری کاهش یافت (Moosavi et al., 2008).

در تاثیر نایسین بر گوشت اختلاف نظر وجود دارد، برخی معتقدند که فسفولیپید موجود در گوشت فعالیت نایسین را محدود می‌کند، بهترین فعالیت نایسین در محیط مایع و هموژن است و توسط آنزیم‌های پروتئولیتیک در غذاها مانند گوشت تازه، این باکتریوسین‌ها غیرفعال می‌شوند (Juncioni et al., 2009). در حالی که در مطالعه حاضر مشاهده شد که نایسین بر جلوگیری از رشد باکتری در گوشت ماهی موثر بوده است. مشرقی و ممتازی در سال ۱۳۹۱ به مقایسه اثرات ضد میکروبی عصاره رزماری، علف چای و کاجیره در غلظت‌های مختلف (۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ گرم در میلی‌لیتر) بر مراحل مختلف رشد باکتری *Escherichia coli* 0157 در طی ۱۰ ساعت پرداختند. نتایج به دست آمده، بیانگر اثرگذاری بیشتر عصاره رزماری در ۴ ساعت اولیه نسبت به سایر تیمارها بود اما در مراحل پایانی منحنی رشد عصاره علف چای نسبت به سایر تیمارها عملکرد بهتری در کاهش بار میکروبی از خود به نمایش گذاشت (مشرقی و ممتازی، ۱۳۹۱). همچنین در مطالعه‌ای عصاره رزماری، کیتوزان و آلفاتکوفرول به طور جداگانه و مخلوط به سوسیس گوشت اضافه شد و شاخص‌های میکروبیولوژیکی از جمله شمارش Enterobacteriaceae و *Pseudomonas* مورد بررسی قرار گرفتند و مشخص شد که بهترین اثر ضدمیکروبی و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به اثرات مخلوط رزماری و کیتوزان بود (Georgantelis et al., 2007). مشابه با نتایج فوق در مطالعه حاضر نیز تیمار حاوی عصاره رزماری نتیجه بهتری در کاهش بار باکتریایی نشان داد.

با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر، تیمار شاهد از نظر کلیه شاخص‌های مورد بررسی به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود که این امر نشان می‌دهد که استفاده از رزماری و نایسین و تیمار ترکیبی می‌تواند تاثیر مناسبی در کاهش بار باکتریایی و افزایش زمان ماندگاری داشته باشد. همچنین از میان سه تیمار آزمایشی تیمار حاوی رزماری کاهش معنی‌دار بیشتری در مقایسه با سایر تیمارها در شمارش بار باکتریایی نشان داد و این امر می‌تواند نشان دهنده توان بالای اسانس رزماری در کاهش بار باکتریایی فیله ماهی کپور نقره‌ای باشد.

منابع

اعتمادی ح.، رضایی م. و عابدیان ع. ۱۳۸۷. پتانسیل آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری (*Rosmarinus officinalis*) در افزایش عمر ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۴: ۷۷-۶۷.

انوری م.، بهنام ش.، رضایی م.، سلطانیان س. و صفری ر. ۱۳۸۸. پتانیل آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی باکتریوسین Z در افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلا (*Oncorhynchus mykiss*) بسته‌بندی شده در خلا در دمای ۴°C. ششمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران، انجمن بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران، تهران. ص: ۱۲۸-۱۲۱.

جنت علیپور ح.، شعبانپور ب. و صادقی ماهونک ع. ۱۳۹۰. تغییرات ایجاد شده در عملکرد پروتئین فیله ماهی قره‌برون (*Acipenser persicus*) طی فرآیندهای عمل‌آوری. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۱(۴): ۴۵۱-۴۴۳.

چوبکار ن.، آخوندزاده بستی ا.، ساری ع.، گندمی ح. و امامی‌راد ا.م. ۱۳۹۱. بررسی تاثیر اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora Boiss*) و نیسین بر کنترل کیفیت فیله‌های سبک شور ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*). فصلنامه گیاهان دارویی، ۱۱(۲): ۲۱۵-۲۰۵.

چوبکار ن.، آخوندزاده بستی ا.، سلطانی م.، ساری ع.، ملکشاهی ع.، نعمتی غ. و پرتوی ر. ۱۳۸۹. مطالعه رشد باکتری (*Staphylococcus aureus*) در فیله‌های ماهی کپور نقره‌ای فرآوری شده با نمک و نیسین. مجله تحقیقات دامپزشکی، ۶۵(۳): ۱۹۸-۱۹۳.

ذوالفقاری م.، شعبانپور ب. و فلاح‌زاده س. ۱۳۹۰. بررسی روند تغییرات شیمیایی، میکروبی و حسی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان جهت تعیین مدت زمان ماندگاری آن در دمای یخچال. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۶۴(۲): ۱۱۹-۱۰۷.

رضویلر و. ۱۳۸۹. باکتری‌های بیماری‌زا در غذا. انتشارات دانشگاه تهران. ۴۳۸ص.

زرگری ع. ۱۳۶۹. گیاهان دارویی، جلد چهارم. انتشارات دانشگاه تهران. ۲۷۶ص.

سازمان ملی استاندارد ایران شماره ۱-۸۹۲۳. ۱۳۷۹. میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام، آماده‌سازی آزمایه، سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون‌های میکروبیولوژی، قسمت اول: مقررات کلی برای آماده‌سازی سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

سازمان ملی استاندارد ایران شماره ۲۶۲۹. ۱۳۷۸. میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام، روش شمارش میکروارگانیسم‌های سرماگرا و سرمادوست. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

صفری ر. و سعیدی اصل م.ر. ۱۳۹۰. تاثیر نایسین A و بنزوات سدیم بر رفتار لیستریا مونوستیوژنز و برخی از پارامترهای میکروبی و شیمیایی در فیله ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) نگهداری شده در دمای ۴ درجه سلسیوس. مجله بهداشت مواد غذایی، ۱(۳): ۱۳-۱.

مشرقی م. و ممتازی ف. ۱۳۹۱. مقایسه اثر ضدمیکروبی عصاره‌های الکلی رزماری (*Rosemarinus officinalis*)، علف چای (*Hypericum Perforatum*) و کاجیره (*Carthamus Tinctorious*) بر مراحل مختلف رشد باکتری اشرشیا کولی ۰۱۵۷. مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ۱۱(۲): ۱۱۱-۱۰۳.

Arashisar S., Hisar O., Kaya M. and Yanik T. 2004. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorynchus mykiss*) fillets. International Journal of Food Microbiology, 97: 209–214.

Burt S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential application in foods, A review. International Journal of Food Microbiology, 94: 223–253.

Castellano P., Belfiore C. and Fadda S. 2008. A review of bacterio-cinogenic lactic acid bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produced in Argentina. Meat Science, 79: 483–499.

Chytiri S., Chouliara I., Savvaidis I.N. and Kontominas M.G. 2004. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. Journal of Food Microbiology, 21: 157–165.

Del Campo J., Amiot M.J. and Nguyen-The C. 2000. Anti-microbial effect of rosemary extracts. Journal of Food Protection, 63: 1359–1368.

Elliason D.J. and Tatini S.R. 1999. Enhanced inactivation of (*Salmonella typhimorium*) verotoxigenic (*Escheria coli*) by nisin at 6.5 °C. Food Microbiology, 16: 257–267.

Faghani Langroudi H., Soltani M., Kamali K., Ghomi M.R., Hoseini S.E., Benjakul S. and Heshmatipour Z. 2011. Effect of (*Listeria monocytogenes*) inoculation, sodium acetate and nisin on microbiological and chemical quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) during refrigeration storage. African Journal of Biotechnology, 10(42): 8484–8490.

Gelman A., Glatman L., Drabkin V. and Harpaz S. 2001. Effects of storage temperature and preservative treatment on shelf life of the pond raised fresh water fish, silver perch (*Bidyanus bidyanus*). Journal of Food Protection, 64(10): 1584–1591.

Georgantelis D., Ambrosiadis I., Katikou P., Blekas G. and Georgakis S.A. 2007. Effect of rosemary extract, chitosan and tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausage stored at 4°C. Meat Science, 76(1): 172–181.

Ghomi M.R., Nikoo M., Heshmatipour Z., Jannati A.A., Ovissipour M., Benjakul S., Hashemi M., Faghani Langroudi H., Hasandoost M. and Jadiddokhan D. 2011. Effect of sodium acetate and nisin on microbiological and chemical changes of cultured grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) during refrigerated storage. Journal of Food Safety, 31: 169–175.

Gimenez B., Roncales P. and Beltran J.A. 2002. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. Journal of the Science of Food and Agriculture, 82(10): 1154–1159.

Grisi T.C. and Lira K.G. 2005. Action of nisin and high ph on growth of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* sp. in pure culture and the meat of land crab (*Ucides cordatus*). Brazilian Journal of Microbiology, 36: 151–156.

ICMSF (International Commission on Microbiological Specification for Foods). 1986. Microorganisms in foods: 2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. University of Toronto Press, Canada. 1465P.

Jones R., Hussein H.M. and Zagorec M. 2008. Isolation of lactic acid bacteria with inhibitory activity against pathogens and spoilage organisms associated with fresh meat. Food Microbiology, 25: 228–234.

Juncioni de Arauz L., Faustino Jozala A., Gava Mazzola P. and Vessoni Penna T.C. 2009. Nisin biotechnological production and application, A review. Trends in Science and Technology, 20: 146–154.

Moosavi M.H., Akhondzadeh Basti A., Misaghi A., Zahraei Salehi T., Abbasifar R., Ebrahimzadeh Mousavi H.A., Alipour M., Emami Razavi N., Gandomi H. and Noori N. 2008. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and nisin on (*Salmonella typhimurium*) and (*Staphylococcus aureus*) in a food model system and on the bacterial cell membranes. Food Research International, 41: 1050–1057.

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(1): 193–198.

Peiretti P.G., Gai F., Ortoffi M., Aigotti R. and Medana C. 2012. Effects of rosemary oil (*Rosmarinus officinalis*) on the shelf-life of minced rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during refrigerated storage. Foods, 1: 28–39.

Rezaei M. and Hosseini S. 2008. Quality assesssment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. Journal of Food Science, 73: 93–96.

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

Savvaidis I.N., Skandamis P.N., Riganakos K.A., Panagiotakis N. and Kontominas M.G. 2002. Control of natural microbial flora and *Listeria monocytogenes* in vacuum packaged trout at 4 and 10°C using irradiation. Journal of Food Protection, 65: 515–522.

Shahbazi Y. 2016. The antibacterial effect of *Ziziphora clinopodioides* essential oil and nisin against *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in doogh, a yoghurt-based Iranian drink. Veterinary Research Forum, 7: 213–219.

Shirazinejad A.R., Noryati I., Rosma A. and Darah I. 2010. Inhibitory effect of lactic acid and nisin on bacterial spoilage of chilled shrimp. World Academy of Science, Engineering and Technology, 65: 163–167.

Yin M.C. and Cheng W.S. 2003. Antioxidant and antimicbrobial effect of four garlic drived organo-sulfur compound in ground beef. Meat sciences, 63: 23–28.

Zakipour Rahimabadi E., Rigi M. and Rahnama M. 2013. Combined effects of *Zataria multiflora* Boiss essential oil and nisin on the shelf-life of refrigerated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. Iranian Journal of Fish Sciences, 12(1): 115–126.

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 5, No. 1, Spring 2017

Antibacterial potential of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essence and nisin on silver carps (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillet at temperature of 4ºC

Mahshid Shamloofar[1]*, Zahra Ghiasvand[2], Maziar Kamali[3], Fatemeh Bai[4]

Received: September 2016 Accepted: January 2017

Abstract

Enhancing the survival of the aquatic products is one of the most important concerns during processing industry. So the aim of present study was evaluating the antibacterial effects of rosemary essence and nisin on silver carp's fillet. The treatments had composed of rosemary (1.5%), nisin (0.5g/Kg), both nisin and rosemary and control group without any additive. In order to evaluate the antibacterial efficiency of rosemary and nisin, the *Salmonella typhimurium* (as an index pathogenic bacteria, 5 log CFU/g) was inoculated on silver carp's fillet and the growth of the bacteria was measured every three days (0, 3, 6, 9). The results revealed that the significant positive effect has been observed in all treatments in comparison with the control group ($P<0.05$). The independent usage of nisin and rosemary had better effects than the combined treatment. According to the results, we can use nisin and rosemary separately as a selected treatment for inhibiting the growth of bacteria on silver carp's fillets during the preservation.

Key words: *Antibacterial, Nisin,* Salmonella typhimurium, *Silver Carp*.

1- Assistant Professor in Department of Fisheries, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran.
2- Assistant Professor in Department of Fisheries, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran.
3- M.Sc. in Fisheries, Member of Young Researchers and Elite Club, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran.
4- M.Sc. in Food Industry and Science, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran.
*Corresponding Author: shamloofar@gmail.com