

تأثیر نیسین و عصاره الکلی چای ترش بر جمعیت *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC1113 تلقیح شده در فیله چرخ شده میگو وانامی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

سعیده سرگزی^۱، محمد رهنما*^۲، مجید علیپور اسکندانی^۲، داریوش سعادت^۲، افسانه نوری جنگی^۳، محمود
کهنه‌پوشی^۴

- ۱- دانش‌آموخته دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
- ۲- دانشیار، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
- ۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد فرآوری محصولات شیلاتی، اداره شیلات شهرستان زهک، زهک، ایران.
- ۴- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بهداشت و کنترل کیفیت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

دریافت مقاله: ۰۸ دی ۱۴۰۱، بازنگری: ۳۰ بهمن ۱۴۰۱، پذیرش نهایی: ۲۰ اسفند ۱۴۰۱

چکیده

استافیلوکوکوس اورئوس یک پاتوژن مواد غذایی است که برای انسان خطری جدی محسوب می‌شود این مطالعه به‌منظور ارزیابی اثرات ضد باکتریایی چای ترش[†] در مهار باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*[‡] به تنهایی و توأم با نیسین در گوشت چرخ شده میگو وانامی انجام گردید. استخراج عصاره گیاه مورد مطالعه با استفاده از روش تبخیر درخلاء و به کمک دستگاه روتاری صورت پذیرفت. اثر غلظت‌های مختلف عصاره الکلی چای ترش (۰، ۱، ۲/۵، ۳/۵، ۵ درصد) و نیسین (۰، ۰/۵، ۲/۵ میکروگرم بر گرم) و ترکیب مقادیر مختلفی از نیسین (میکروگرم بر گرم) و عصاره (٪): (۳/۵+۰/۲۵)، (۵+۰/۲۵)، (۲/۵+۰/۵)، (۱+۰/۵)، (۲/۵+۰/۵)، (۱+۲/۵)، (۲/۵+۲/۵) بر رفتار رشد باکتری مذکور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد طی ۲۱ روز بررسی گردید. نتایج نشان داد که رشد باکتری در غلظت‌های پایین عصاره‌ی چای ترش (۱ و ۲/۵ درصد) در مهار رشد باکتری از اختلاف معنی‌دار برخوردار نبودند تیمارهای ترکیبی عصاره به همراه نیسین توانستند از روز ۶ به بعد رشد باکتری را متوقف نمایند با توجه به یافته‌های این تحقیق می‌توان گفت عصاره‌ی چای ترش و باکتریوسین نیسین به تنهایی دارای خاصیت مهارکنندگی بوده و به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی مواد غذایی به جای انواع شیمیایی و صنعتی آن معرفی می‌شوند بکارگیری توأم این ترکیبات اثرات سینرژیست آنها را در کنار هم به اثبات رساند.

واژه‌های کلیدی: میگو وانامی، *استافیلوکوکوس اورئوس*، چای ترش، نیسین، عصاره الکلی

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: dr_m_rahnama@yahoo.com

[†] *Hibiscus sabdariffa*

[‡] *Staphylococcus aureus*

مقدمه

میگو یکی از لذیذترین غذاهای دریایی است و نسبت به سایر غذاها حاوی پروتئین زیادی بوده و کالری کمتری دارد (۱). استفاده از نگهدارنده‌های ضد میکروبی در بسیاری از محصولات غذایی به منظور جلوگیری از آلودگی ماده غذایی پس از تولید بسیار رایج است و باعث حفظ کیفیت غذا و افزایش زمان ماندگاری می‌شود (۲، ۲۳). باکتریوسین‌ها اغلب به عنوان ابزارهای بیولوژیکی با ارزشی جهت ارتقای ایمنی غذا و کاهش شیوع بیماری‌های ناشی از غذاهای فاسد مطرح هستند (۳). نیسین باکتریوسین پلی‌پپتیدی مقاوم به حرارت تولیدشده به وسیله سویه‌های معینی از لاکتوکوکوس لاکتیس تحت گونه‌ی لاکتیس می‌باشد که مورد تأیید سازمان جهانی سلامت به عنوان یک ترکیب محافظت کننده‌ی ضد میکروبی طبیعی در مواد غذایی قلمداد شده و همین‌طور چای ترش از قدیم‌الایام به عنوان دارو استفاده می‌شده است و هم‌اکنون نیز به عنوان دارو گیاهی دارویی مورد توجه است (۴). *استافیلوکوکوس اورئوس* عامل ایجاد عفونت و مسمومیت غذایی در انسان می‌باشد و فلور طبیعی پوست است و باعث بیماری‌هایی نظیر پنومونی و سپتی‌سمی می‌شود (۵). بشر از دیرباز برای افزایش مدت زمان ماندگاری مواد غذایی با استفاده از روش‌های مختلف به فکر کاهش یا حذف عوامل میکروبی بیماری‌زا در مواد غذایی بوده است. لذا نیاز به استفاده از نگهدارنده‌ها برای افزایش طول دوره‌ی نگهداری مواد غذایی ضروری به نظر می‌رسد (۶). نگهدارنده‌های طبیعی که نه تنها دارای عوارض جانبی نیستند بلکه باعث بهبود بو، طعم و مزه ماده غذایی شده و زمان ماندگاری محصول را نیز افزایش می‌دهند (۷). امروزه استفاده از روش‌های نوین نگهداری نظیر استفاده از باکتریوسین‌ها و عصاره‌های گیاهی استخراج شده از گیاهان که دارای خواص ضد میکروبی می‌باشند در صنایع غذایی مورد توجه قرار گرفته است (۳). استفاده از مواد مناسب با فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی به منظور بهبود کیفیت، افزایش عمر

ماندگاری گوشت و در عین حال جلوگیری از ضررهای اقتصادی، ضروری و مفید به نظر می‌رسد (۸).

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره: گیاه خشک‌شده‌ی چای ترش از پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل تهیه شد و جهت تهیه عصاره الکلی چای ترش میزان ۲۰ گرم از گیاه پودر شده، با ۱۰۰ سی‌سی اتانول ۹۶ درصد مخلوط گردید و به مدت ۷۲ ساعت به صورت مداوم هم زده شد و سپس توسط کاغذ واتمن صاف گردید. خارج کردن اتانول از محلول عصاره با روش تبخیر در خلأ و توسط دستگاه روتاری صورت پذیرفت. جهت اطمینان از استریل بودن عصاره، عصاره در محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک آلمان) کشت داده شد و عدم رشد میکروارگانیسم نشان‌دهنده استریل و مورد تأیید بودن عصاره اتانولی چای ترش بود (۹).

آماده‌سازی و محاسبه میزان تلقیح باکتری

استافیلوکوکوس اورئوس: کشت لیوفلیزه *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 1113 تهیه‌شده از بخش بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل جهت این بررسی مورد استفاده قرار گرفت. در ابتدا این کشت لیوفلیزه در محیط برات BHI در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت، دو مرتبه به‌طور متوالی تجدید کشت گردید. سپس کشت دوم به میزان یک به پنج با گلیسرین استریل مخلوط شد و در قسمت‌های مساوی در لوله‌های میکروسانتریفیوژ اپندورف استریل در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

در ادامه، باکتری نگهداری شده در لوله‌های اپندورف دو بار متوالی در محیط آب‌گوشت BHI به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تجدید کشت شد و به‌منظور محاسبه میزان باکتری لازم (CFU/g) 1×10^3 جهت تلقیح در گوشت چرخ شده میگو از دستگاه اسپکتروفوتومتر (ساخت شرکت Pharmacia انگلستان) در طول موج ۶۰۰ نانومتر با استفاده از منحنی استاندارد و به دست آوردن فاز سکون رشد باکتری از

($5+0.25$)، ($0+0.5$)، ($1+0.5$)، ($2.5+0.5$)، ($0+2.5$) و ($1+2.5$)، ($2.5+2.5$) می‌باشد. برای هر تیمار سه نمونه مورد آزمایش قرار گرفت. همه تیمارها در کیسه‌ها در طول دوره‌ی آزمایش در یخچال ($4 \pm 1^\circ C$) نگهداری شدند و شمارش باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در روزهای ۰، ۱، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۱ صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: به جهت آن که رشد باکتری‌ها در طی زمان به صورت تصاعدی و نمایی است. لذا برای نرمال کردن داده‌ها، از لگاریتم تعداد باکتری استفاده شد. برای مقایسه تیمارهای مختلف از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One way analysis of variance) و آزمون تکمیلی Tukey استفاده شد. تغییرات تعداد باکتری در طی مدت زمان آزمایش با استفاده از آزمون آماری Repeated Measures بررسی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ انجام شد. سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج جدول ۱ نشان می‌دهد که لگاریتم تعداد سلول‌های استافیلوکوکوس اورئوس تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره چای ترش در گوشت چرخ‌شده میگو و انامی در روز صفر 1×10^3 CFU/g بود که با گذر زمان تعداد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در گروه شاهد افزایش یافت.

طریق شمارش باکتریایی به کمک کشت سطحی، استفاده گردید (۱۰).

تهیه ماهی و تیمارها: برای انجام این پژوهش میگو و انامی از بازار ماهی‌فروشان زاهدان خریداری شده و به آزمایشگاه انتقال داده شد و جهت استریل‌سازی، فیله‌ها به سازمان انرژی اتمی ایران ارسال و با اشعه گاما با دوز ۱.۵ کیلوگری استریل گردید. جهت اطمینان از استریل بودن نمونه‌ها از روش کشت سطحی و محیط BHI استفاده شد. فیله‌ها در شرایط استریل چرخ شد و در وزن ۴۰ گرم در داخل کیسه‌های استریل استومیکر توزیع شد. برای بررسی نمونه‌ها از نظر میزان باکتری زنده از روش رقت‌سازی دهی و آزمون کشت سطحی بهره گرفته شد. از این رو هرکدام از تیمارهای مورد آزمایش، به همراه غلظت‌های مورد نظر عصاره الکلی چای ترش (۰، ۱، ۲/۵، ۳/۵، ۵، ۰، ۰/۵، ۲/۵) و دوز تعیین شده باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (1×10^3 CFU/g) داخل کیسه‌های استومیکر قرار داده شد و در شرایط کاملاً استریل توسط دستگاه استومیکر (مدل Interscience، فرانسه) به مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق کاملاً هموزن گردید (۱۱، ۱۲). از گوشت تلقیح شده برای تهیه همه تیمارهای مورد آزمایش استفاده شد.

تیمارهای این تحقیق شامل شاهد (گوشت چرخ‌شده)، گوشت تلقیح شده با نیسین ($\mu g/g$) و عصاره (۰/): ($0+0$)، ($1+0$)، ($2.5+0$)، ($3.5+0$)، ($5+0$)، ($3.5+0.25$).

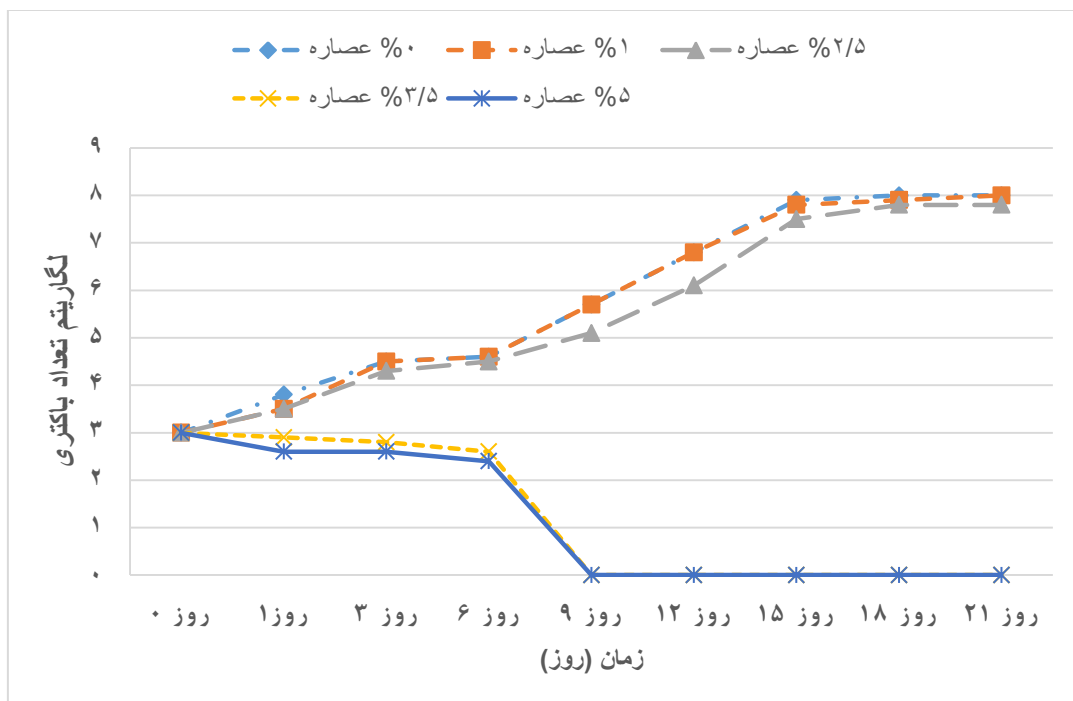
جدول ۱- میانگین و انحراف معیار ($Mean \pm SD$) لگاریتم تعداد باکتری در گوشت چرخ شده میگو و انامی با غلظت‌های مختلف عصاره چای ترش در طی مدت آزمایش

مقدار عصاره (%)	لگاریتم تعداد باکتری								
	روز ۰	روز ۱	روز ۳	روز ۶	روز ۹	روز ۱۲	روز ۱۵	روز ۱۸	روز ۲۱
۰	3 ± 0	3.8 ± 0.1^e	4.5 ± 0.1^d	4.6 ± 0.1^d	5.7 ± 0.2^d	6.8 ± 0.1^d	7.9 ± 0.1^d	8 ± 0.1^c	8 ± 0.1^c
۱	3 ± 0	3.5 ± 0.1^d	4.5 ± 0.1^d	4.6 ± 0.1^d	5.7 ± 0.1^c	6.8 ± 0.1^c	7.8 ± 0.1^c	7.9 ± 0.1^c	8 ± 0.1^c
۲/۵	3 ± 0	3.5 ± 0.1^c	4.3 ± 0.2^c	4.5 ± 0.1^c	5.1 ± 0.1^b	6.1 ± 0.1^b	7.5 ± 0.1^b	7.8 ± 0.1^b	7.8 ± 0.1^b
۳/۵	3 ± 0	2.9 ± 0.1^b	2.8 ± 0.1^b	2.6 ± 0.1^b	2.6 ± 0.1^a	2.6 ± 0.1^a	2.6 ± 0.1^a	2.6 ± 0.1^a	2.6 ± 0.1^a
۵	3 ± 0	2.6 ± 0.1^a	2.6 ± 0.1^a	2.6 ± 0.1^a	2.6 ± 0.1^a	2.6 ± 0.1^a	2.6 ± 0.1^a	2.6 ± 0.1^a	2.6 ± 0.1^a

در هر ستون حروف انگلیسی نامتشابه اختلاف آماری معنی‌دار را بین تیمارها نشان می‌دهد

آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که از روز ۱ تا روز ۲۱، میانگین لگاریتم تعداد باکتری در بین تیمارهای حاوی عصاره چای ترش، تفاوت آماری معنی‌داری دارد. در تمام روزها $P < 0.05$ بود. از روز دوازدهم به بعد لگاریتم تعداد باکتری در تیمار شاهد به حد فساد و بیماری‌زایی آن رسید. غلظت ۳/۵ درصد عصاره چای ترش از روز دوازدهم و غلظت ۵ درصد آن از روز نهم نگهداری تا روز آخر به‌طور

کامل رشد باکتری را متوقف نمود. همچنین آزمون آماری Repeated Measures نشان داد که میانگین لگاریتم تعداد باکتری‌ها در تیمارهای حاوی عصاره چای ترش در طول مدت آزمایش تغییرات معنی‌داری دارد ($P < 0.05$). میانگین لگاریتم تعداد باکتری در طول مدت آزمایش در تیمارهایی که فقط حاوی عصاره چای ترش بودند، در نمودار ۱ نشان داده شده است.



نمودار ۱- لگاریتم تعداد باکتری در تیمارهای حاوی غلظت‌های مختلف عصاره (بدون استفاده از نپسین)

جدول ۲- میانگین و انحراف معیار (Mean±SD) لگاریتم تعداد باکتری در گوشت چرخ شده میگو وانامی با غلظت‌های مختلف نپسین در طی مدت آزمایش

مقدار نپسین (µg/g)	روز ۰	روز ۱	روز ۳	روز ۶	روز ۹	روز ۱۲	روز ۱۵	روز ۱۸	روز ۲۱
۰	۳±۰	۳٫۸±۰٫۱ ^c	۴٫۵±۰٫۱ ^c	۴٫۶±۰٫۱ ^c	۵٫۷±۰٫۲ ^b	۶٫۸±۰٫۱ ^b	۷٫۹±۰٫۱ ^b	۸±۰٫۱ ^b	۸±۰٫۱ ^b
۰٫۵	۳±۰	۳٫۷±۰٫۱ ^b	۲٫۹±۰٫۱ ^b	۲٫۸±۰٫۱ ^b	۰±۰ ^a	۰±۰ ^a	۰±۰ ^a	۰±۰ ^a	۰±۰ ^a
۲٫۵	۳±۰	۳٫۵±۰٫۱ ^a	۲٫۵±۰٫۱ ^a	۲٫۳±۰٫۱ ^a	۰±۰ ^a	۰±۰ ^a	۰±۰ ^a	۰±۰ ^a	۰±۰ ^a

در هر ستون حروف انگلیسی نامتشابه اختلاف آماری معنی‌دار را بین تیمارها نشان می‌دهد

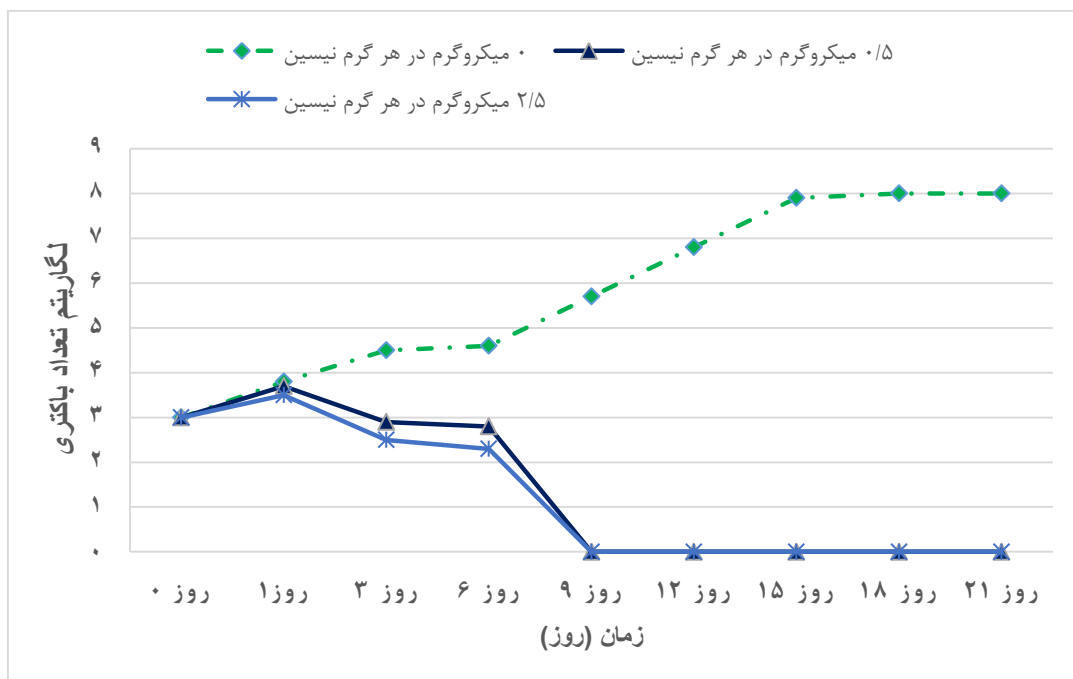
تفاوت آماری معنی‌داری دارد. در تمام روزها $P < 0.001$ بود.

آزمون آماری نشان داد که از روز ۱ تا ۲۱، میانگین لگاریتم تعداد باکتری در بین تیمارهای حاوی نپسین،

تا آخرین روز دوره نگهداری رشد باکتری را به طور کامل متوقف نمودند ($P < 0.05$).

همچنین آزمون آماری Repeated Measures نشان داد که میانگین لگاریتم تعداد باکتری‌ها در تیمارهای حاوی نیسین در طول مدت آزمایش تغییرات معنی‌داری دارد ($P < 0.05$).

نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد که میانگین تعداد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در گوشت چرخ شده میگو وانامی در روز صفر 1×10^3 CFU/g بود. با گذر زمان تعداد باکتری در نمونه شاهد فاقد نیسین افزایش رشد داشت. در روز اول نگهداری تعداد باکتری‌های تیمارهای حاوی نیسین نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت. تیمارهای ۰/۵ و ۲/۵ میکروگرم بر گرم نیسین به ترتیب از روز نهم و ششم



نمودار ۲- لگاریتم تعداد باکتری در تیمارهای فقط حاوی غلظت‌های مختلف نیسین (بدون استفاده از عصاره)

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار (Mean±SD) لگاریتم تعداد باکتری در گوشت چرخ شده میگو با غلظت‌های مختلف عصاره چای ترش و نیسین در طی مدت آزمایش

مقدار نیسین (μg/g)	مقدار عصاره (%)	روز ۰	روز ۱	روز ۳	روز ۶	روز ۹	روز ۱۲	روز ۱۵	روز ۱۸	روز ۲۱
۰	۰	۳±۰	۳.۸±۰.۱ ^g	۴.۵±۰.۱ ^f	۴.۶±۰.۱ ^e	۵.۷±۰.۲ ^b	۶.۸±۰.۱ ^b	۷.۹±۰.۱ ^b	۸±۰.۱ ^b	۸±۰.۱ ^b
۰/۲۵	۳.۵	۳±۰	۲.۸±۰.۱ ^b	۲.۷±۰.۱ ^d	۲.۵±۰.۱ ^d	۱.۸±۰.۱ ^a	۱.۸±۰.۱ ^a	۱.۸±۰.۱ ^a	۱.۸±۰.۱ ^a	۱.۸±۰.۱ ^a
۰/۵	۵	۳±۰	۲.۵±۰.۱ ^a	۲.۴±۰.۱ ^c	۲.۵±۰.۱ ^d	۲.۳±۰.۱ ^c	۲.۳±۰.۱ ^c	۲.۳±۰.۱ ^c	۲.۳±۰.۱ ^c	۲.۳±۰.۱ ^c
۰/۵	۱	۳±۰	۳.۳±۰.۱ ^f	۲.۸±۰.۱ ^e	۲.۴±۰.۱ ^c	۲.۳±۰.۱ ^c	۲.۳±۰.۱ ^c	۲.۳±۰.۱ ^c	۲.۳±۰.۱ ^c	۲.۳±۰.۱ ^c
۲/۵	۱	۳±۰	۳.۱±۰.۱ ^d	۲.۳±۰.۱ ^b	۲.۳±۰.۱ ^c	۲.۲±۰.۱ ^b	۲.۲±۰.۱ ^b	۲.۲±۰.۱ ^b	۲.۲±۰.۱ ^b	۲.۲±۰.۱ ^b
۲/۵	۲.۵	۳±۰	۳.۱±۰.۱ ^c	۲.۸±۰.۱ ^e	۲.۴±۰.۱ ^c	۲.۳±۰.۱ ^c	۲.۳±۰.۱ ^c	۲.۳±۰.۱ ^c	۲.۳±۰.۱ ^c	۲.۳±۰.۱ ^c

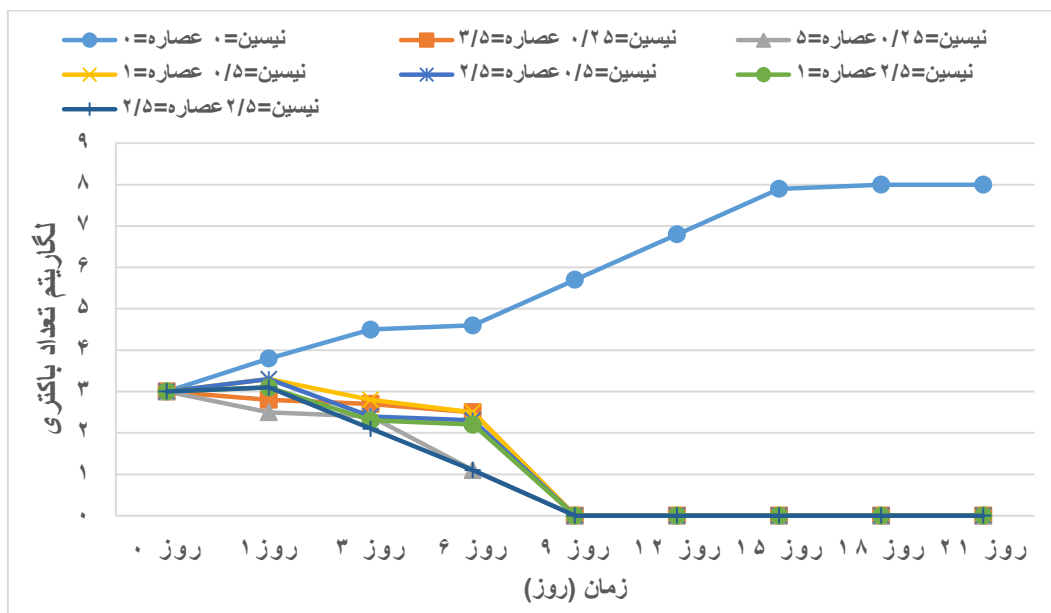
در هر ستون حروف انگلیسی نامتشابه اختلاف آماری معنی‌دار را بین تیمارها نشان می‌دهد.

باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در گوشت چرخ شده میگو

نتایج جدول ۳ نشان می‌دهد که میانگین تعداد

تیمارهای حاوی عصاره و نیسین به صفر رسید. همچنین آزمون آماری Repeated Measures نشان داد که میانگین لگاریتم تعداد باکتری‌ها در تیمارهای ترکیبی در طول مدت آزمایش تغییرات معنی‌داری دارد ($P < 0/05$). میانگین لگاریتم تعداد باکتری در طول مدت آزمایش در تیمارهای ترکیبی عصاره و نیسین در نمودار ۳ نشان داده شده است.

وانامی در روز صفر $CFU/g \times 10^3$ بود. در روز اول تعداد باکتری در تیمارهای دارای نیسین و چای ترش نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند ($P < 0/05$). آزمون آماری آنوا نشان داد که از روز یک تا روز ۲۱، میانگین لگاریتم تعداد باکتری در بین تیمارهای ذکر شده در جدول ۳، تفاوت آماری معنی‌داری دارد. در تمام روزها $P < 0/05$ بود. از روز نهم به بعد تعداد باکتری در تمامی



نمودار ۳- لگاریتم تعداد باکتری در تیمارهای ترکیبی نیسین و عصاره

در سال ۲۰۱۰ بر تأثیر عصاره متانولی چای ترش علیه باکتری اشیریشیاکلی (*Esherichia coli* O157:H7) جدا شده از مواد غذایی دامپزشکی و نمونه‌های بالینی، مشاهده گردید که جمع میانگین هاله مهار برای عصاره متانولی چای ترش ۱۲/۶۶ میلی‌متر برای غلظت ۱۰ درصد، ۱۷/۷۵ میلی‌متر برای غلظت ۵ درصد، ۸/۹ میلی‌متر برای غلظت ۲/۵ درصد بود. بالاترین هاله عدم رشد ۱۱/۱۶ میلی‌متر در نمونه دامپزشکی و کمترین ۱۰/۷۵ میلی‌متر در مواد غذایی مشاهده شد (۱۴).

در مطالعه انجام گرفته توسط جوادیان و همکاران در سال ۲۰۱۵، اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی برگ چای ترش بر روی سویه‌های کلبسیلا پنومونه مقاوم به

بحث و نتیجه‌گیری

استفاده از چند نگهدارنده با مقادیر کم بر مصرف یک نگهدارنده به تنهایی با مقدار زیاد ارجحیت دارد که این موضوع از نظر ماندگاری، حفظ خواص ظاهری، ارزش تغذیه‌ای و هم از نظر اقتصادی بهتر است (۱۳، ۱۹).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که عصاره الکلی چای ترش در غلظت ۳/۵ و ۵ و نیسین در غلظت های ۰/۵ و ۲/۵ اثر مهارکنندگی و باکتری‌کشی علیه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در گوشت چرخ شده میگو وانامی دارند و تیمارهای ترکیبی عصاره به همراه نیسین از روز ۶ به بعد رشد باکتری را مهار کردند.

در مطالعه انجام گرفته توسط Fullerton و همکاران

آنتی‌بیوتیک‌های مختلف نشان داد که عصاره گیاهی چای ترش در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دارای بیشترین اثر مهارکنندگی در برابر کلبسیلاپنومونه داشته است (۱۵). در بررسی اثر ضد میکروبی عصاره چای ترش بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشیریشیاکلی* در مدل غذایی گوشت مرغ آماده طبخ که توسط چوبکار، شاملو و همکاران در سال‌های ۲۰۱۰ و ۲۰۱۶ انجام گرفت، مشاهده کردند که عصاره چای ترش اثر ضد میکروبی قابل توجهی بر روی باکتری‌های مورد بررسی دارد (۱۷، ۲۶). در بررسی اثر ضد میکروبی و ضد اکسیداسیونی نیسین بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در فیله کپور نقره‌ای، شور سبک و سنگین (۴ و ۸ درصد نمک) آخوندزاده بستی، علیزاده دوغیکلایی و همکاران در سال ۲۰۱۱ مشاهده کردند که اثر نیسین باغلظت‌های مختلف در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد در جلوگیری از رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بوده است ($p < 0.05$) (۲۴، ۱۷). Delves, Solomakos و همکاران در سال‌های ۲۰۰۸ و ۲۰۰۵ اثر نیسین را بر روی سوسیس تهیه شده از گوشت گوسفندی نگهداری شده در دمای ۷ °C بررسی کردند که نتیجه این تحقیق نشان داد در تیمارهای حاوی نیسین روند رشد میکروبی تا روز پنجم کاهشی و از روز پنجم به بعد روند رشد به آرامی افزایشی بوده است. (۱۸، ۲۵). عبدالله زاده و همکاران در سال ۲۰۱۲ به تأثیر نیسین بر روی لیستریا *مونوسیژنوز* در گوشت گاو چرخ شده پرداختند که در نتیجه این تحقیق تیمارهای حاوی نیسین تا روز دوم روند کاهش بار میکروبی از خود نشان دادند و از روز دوم تا پایان دوره ماندگاری (۱۶ روز) روند افزایشی بار میکروبی مشاهده شد ولی این روند افزایشی هم کمتر از نمونه شاهد گزارش گردید (۱۹). در مطالعه انجام گرفته توسط Delves در سال ۲۰۰۵ نتایج نشان داد که عصاره آبی چای ترش مهارکننده باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشیریشیاکلی*، *کلبسیلا* و *سودوموناس* در غلظت‌های ۱۶۰-۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد (۲۵).

(۱۹). در بررسی دیگری توسط طباطبایی یزدی و همکاران در سال ۲۰۱۶ اثرات ضد میکروبی اسانس آویشن و ترکیب کارواکرول و تیمول بر روی باکتری‌های شیگلا *فلکسنری* و شیگلا *سونی* تأیید شد (۲۰). عباس زاده و همکاران در سال ۲۰۱۹ آثار مهارکنندگی ۲۸ نوع اسانس گیاهی انتخاب شده را بر روی چهار باکتری پاتوژن شامل *اشیریشیاکلی*، *سالمونلا تیفی‌موریوم*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسیژنوز* بررسی کردند، عصاره‌ها به محیط BHI تلقیح شدند و دیده شد که غلظت ۰/۴ درصد تمام گیاهان دارای اثرات ضد میکروبی علیه هر چهار میکروارگانیسم بودند (۲۱). در مطالعه انجام گرفته توسط فرشباغ در سال ۲۰۱۸ بر روی عصاره تعدادی از گیاهان دارویی از جمله فلفل سیاه مشخص شد که عصاره این گیاه اثر بازدارندگی بر روی *سودوموناس آئروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* دارد (۲۲).

در این تحقیق خواص ضد میکروبی عصاره الکی چای ترش و نیسین به صورت تنها و توأم در رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در گوشت چرخ‌شده میگو و انامی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد غلظت‌های پایین عصاره (درصد): ۱ و ۲/۵ نمی‌تواند باکتری را به طور کامل مهار کند ولی با افزایش غلظت عصاره ۳/۵ و ۵ درصد و افزودن نیسین ۰/۵ و ۲/۵ میکروگرم به تنهایی و ترکیب نیسین و عصاره به صورت: (۲۵+۰/۲۵)، (۵+۰/۲۵)، (۱+۰/۵)، (۲/۵+۰/۵)، (۱+۲/۵)، (۲/۵+۲/۵) دارای اثرات ممانعت‌کنندگی بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* بوده است. بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان گفت که از عصاره چای ترش و نیسین می‌توان به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در کنترل باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* استفاده نمود.

سپاسگزاری

در تحقیق حاضر از حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه زابل با شماره گرنت IR-UOZ-GR-2478 استفاده شده است.

References

- 1- Mohibi M, Akbarzadeh Totunchi MR, Shahidi F, Pourshahabi MR. Investigating the possibility of using machine vision and artificial neural network in predicting the moisture content of dried shrimp. *In the fourth conference on machine vision and image processing in Iran*. 2007, February. [In Persian]
- 2- Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH, Hosseini SM. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*. 2010; 120(1): 193-8.
- 3- de Arauz LJ, Jozala AF, Mazzola PG, Penna TC. Nisin biotechnological production and application: a review. *Trends in Food Science & Technology*. 2009; 20(3-4): 146-54.
- 4- Aziz EE, Gad N, Badran NM. Effect of cobalt and nickel on plant growth, yield and flavonoids content of Hibiscus sabdariffa L. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 2007; 1(2): 73-8.
- 5- Eshraghi S, Salehipour Z, Pourmand MR, Rahimi Forushani A, Zahrai Salehi MT, Agha Amiri S, et al. Studying the frequency distribution of *tst* gene with *entC*, *entA* and *entA/C* genes in *Staphylococcus aureus* isolates isolated from different foods. *Journal of Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences*. 2009; 67(7): 6-470. [In Persian]
- 6- Miliauskas G, Venskutonis PR, Van Beek TA. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*. 2004; 85(2): 231-7.
- 7- Zhou GH, Xu XL, Liu Y. Preservation technologies for fresh meat—A review. *Meat Science*. 2010; 86(1): 119-28.
- 8- Kashiri H, Haghparast S, Shabanpour B. Effects of sodium salt solutions (sodium acetate, lactate and citrate) on physicochemical and sensory characteristics of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) fillets under refrigerated storage. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 2011; 13(1): 89-98. [In Persian]
- 9- Alizadeh-Behbahani B, Tabatabaei-Yazdi F, Shahidi F, Mohebbi M. Antifungal effect of edible film (CMC) containing aqueous and ethanolic mangrove plant extract on Citrus pathogens *in vitro*. *Scientific Journal of Agricultural*. 2013; 2(1): 47-52. [In Persian]
- 10- Akhundzadeh Basti A, Misaghi A, Khaschabi D. Growth response and modelling of the effects of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil, pH and temperature on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. *LWT-Food Science and Technology*. 2007; 40(6): 973-81. [In Persian]
- 11- 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 Chemistry*. 2010; 120(3): 765-70. [In Persian]
- 12- Zarin Qalam Moghadam M, Sattari M, Zarin Qalam Moghadam J, Rezazadeh Sh. Effect of alcoholic extract of black pepper, red pepper and Shirazi thyme on inhibition of *Staphylococcus aureus* DNase enzyme. *Quarterly scientific journal of medicinal plants*. 2007; 6(24): 17-21. [In Persian]
- 13- Leistner L, Gorris LG. Food preservation by hurdle technology. *Trends in Food Science & Technology*. 1995; 6(2): 41-6.
- 14- Fullerton AH, Burnett KM, Steel EA, Flitcroft RL, Pess GR, Feist BE, et al. Hydrological connectivity for riverine fish: measurement challenges and research opportunities. *Freshwater Biology*. 2010; 55(11): 2215-37.
- 15- Javadian F, Sepehri Z, Amrayy M, Kiani Z, Shahraki Mujahid M, Shahi Z, et al. Investigating the antimicrobial effect of the ethanolic extract of sour tea leaves (*Hibiscus sabdariffa*) against *Klebsiella pneumoniae* resistant to different antibiotics. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*. 2015; 22(4): 565-70. [In Persian]
- 16- Tabatabai Yazdi F, Mortazavi SA, Alizadeh Behbahani B, Moradi S, Tabatabai Yazdi F, Jafarian S. A comparative study of the effect of different types of sour tea extracts and selected antibiotics on clinical and standard strains of the infection agent in the culture environment. *Infectious and tropical diseases of Iran*. 2015; 20(69): 31-40 [In Persian]
- 17- Chobkar N, Akhundzadeh Basti A, Soltani M, Sari A, Malekshahi A, Nemati Gh, et al. Study of growth of *Staphylococcus aureus* bacteria in silver carp fish fillets processed with salt and nisin. *Journal of Veterinary Research*. 2010; 65(3): 193-198 [In Persian]
- 18- Solomakos N, Govaris A, Koidis P, Botoglou N. The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage. *Food Microbiology*. 2008; 25(1): 120-7.

19- Abdullahzadeh E, Rezaei M, Hosseini H, Safari R. The effect of nisin and Shirazi thyme essential oil alone and in combination with each other on the population of *Listeria monocytogenes* inoculated in minced meat of phytophagous fish. *Journal of Nutritional Sciences and Food Industries of Iran*. 2012; 6(4): 13-20 [In Persian]

20- Tabatabai Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, Vasiei A, Mortazavi SA, Moradi S. Antibacterial effect of sour tea extracts on some antibiotic-resistant pathogenic bacteria in vitro. *Journal of Food Science & Technology*. 2016; 13(55). [In Persian]

21- Abbaszadeh S, Sharifzadeh A, Bagheri M. Investigating the antibacterial effect of thymol, carvacrol, eugenol and menthol on four spoilage bacteria in agricultural and dairy products. *Journal of Food Science & Technology*. 2019; 16(91): 283-290. [In Persian]

22- Farshbaf Derhamis S, Qiami Rad M, Mahmoudi R, Asadi Nadari MR. Comparative investigation of antibacterial effects of alcoholic extracts of coriander and bolag oti against some food pathogenic bacteria. *Scientific Research Journal of Veterinary Microbiology*. 2018; 13(2): 47-55. [In Persian]

23- Abdollahzadeh E, Rezaei M, Hosseini H. Antibacterial activity of plant essential oils and

extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. *Food Control*. 2014; 35(1): 177-83.

24- Alizadeh Doghikolai E, Asghari M, Safari R, Arshadi A. The effect of bacteriocin Z on shelf life of silver carp fillets during refrigerated storage. *Journal of Nutritional Sciences and Food Industries of Iran*. 2011; 6(3): 31-8. [In Persian]

25- Delves-broughton J. Nisin as a food preservative. *Food Australia*. 2005; 57(12): 525-7.

26- Shamlou M, Yavarmanesh M. Evaluation of antimicrobial activity of aqueous and ethanol extracts of aloe vera on pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*). *Iran Food Science and Industry-Iran Food Science and Industry Association*. 2016; 13. [In Persian]

27- Rumiani L, Rokni N. Investigating the inhibitory effect of cumin essential oil and nisin on the growth rate of *Streptococcus iniiiae* in salmon fillet using combined technology. *Iranian Journal of Food Science and industry*. 2015; 12(48): 37-46. [In Persian]

28- Cabo ML, Pastoriza L, Bernárdez M, Herrera JJ. Effectiveness of CO₂ and Nisaplin on increasing shelf-life of fresh pizza. *Food Microbiology*. 2001; 18(5): 489-98.

The effect of nisin and *Hibiscus sabdariffa* alcoholic extract on the population of *Staphylococcus aureus* ATCC1113 inoculated in minced Vanami shrimp fillet at 4 degrees Celsius

Saede Sarghazi¹, Mohammad Rahnama^{2*}, Majid Alipuor Eskandani², Darioush Saadati², Afsaneh Noori Jangi³, Mahmoud Kohneh Poushi⁴

1- Graduated of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.

2- Associate Professor Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Zabol University, Zabol, Iran.

3- MSc in fisheries products Processing, Zahak fisheries office, Zahak, Iran.

4- MSc in Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.

Receive: December 29, 2022; Revise: February 19, 2023; Accept: March 11, 2023

Summary

Staphylococcus aureus is a food pathogen and is a serious threat to humans. This study was conducted in order to evaluate the antibacterial effects of *Hibiscus sabdariffa* in inhibiting *Staphylococcus aureus* bacteria alone and together with nisin in Vanami shrimp minced meat. The plant was extracted using a vacuum evaporation method with the help of a rotary machine. The effect of different concentrations of alcoholic extract of *Hibiscus sabdariffa* (0, 1, 2.5, 3.5, 5%) and nisin (0, 0.5, 2.5 micrograms/gram) and the combination of different amounts of nisin (micrograms per gram) and extract (%) (0.25+3.5), (0.25+5), (0.5+1), (2.5+1), (2.5+2.5) were investigated on the growth behavior of the bacteria at a 4°C during 21 days. The results showed that bacterial growth in low concentrations of *Hibiscus sabdariffa* extract (2.5.1%) had no significant difference in inhibiting bacterial growth. Combined treatments of the extract with nisin could stop the growth of bacteria from the 6th day onwards. According to the findings of this research, it can be suggested that *Hibiscus sabdariffa* extract and nisin have inhibitory effects and are introduced as a natural food preservative instead of its chemical and industrial types. The combined use of these compounds proved their synergistic effects.

Key words: Vanami shrimp, *Staphylococcus aureus*, *Hibiscus sabdariffa*, Nisin, Alcoholic extract