نشریه تازه ها در میکروب‌شناسی دامپزشکی
وبگاه: nfvm.uoz.ac.ir
دو فصلنامه - شاپا چاپی: ۲۶۴۵-۴۴۹۱ شاپا الکترونیکی: ۲۶۷۶-۵۰۰۴
دوره ۸، شماره ۲، تابستان ۱٤۰٤، صفحات ۵۲- ٦٤

بررسی تأثیرعصاره‌ی پیاز، اسانس لیموترش و نیسین بر رفتار باکتری *اشریشیاکلی* تلقیح شده در گوشت چرخ‌شده بلدرچین نگهداری شده در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد

زهرا افشارمنش[۱]، محمد رهنما*[۲]، مجید علیپور اسکندانی[۲]، غلامحسین حقایق[۳] و سعید سالاری[۴]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و مهندسی صنایع غذایی، گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۲- دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۳- استادیار، گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۴- دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

دریافت مقاله: ۱۹ خرداد ۱۴۰۴، بازنگری: ۲۶ مرداد ۱۴۰۴، پذیرش نهایی: ۲۸ مرداد ۱۴۰۴

10.22034/nfvm.2025.529414.1289

چکیده

یکی از مهم‌ترین گونه‌های باکتریایی که از طریق مصرف گوشت طیور منتقل می‌شود باکتری *اشریشیاکلی* می‌باشد. بنابراین استفاده از نگهدارنده‌های با خصوصیات ضد باکتریایی در فرآورده‌های طیور ضروری به نظر می‌رسد. لذا در مطالعه حاضر تأثیر آنتی‌باکتریایی عصاره‌ی پیاز، اسانس لیموترش و نیسین علیه باکتری *اشریشیاکلی* در گوشت چرخ‌شده بلدرچین طی دوره نگهداری در یخچال بررسی گردید. تیمار کنترل (بدون نگهدارنده) و رفتار باکتری *اشریشیاکلی* در تیمارهای حاوی عصاره‌ی پیاز (غلظت‌های ۲/۵ درصد، ۵ و۱۰ درصد)، اسانس لیموترش (غلظت‌های ۲، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرولیتر در گرم) و نیسین (غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم در گرم) به‌صورت دوره‌ای مورد بررسی قرار گرفتند. اسانس لیموترش با غلظت ۳۰ میکرولیتر در گرم توانست از روز یک تا پایان دوره نگهداری، تعداد باکتری *اشریشیاکلی* را به صفر برساند و به‌طور کامل مانع رشد باکتری شود. عصاره‌ی پیاز و نیسین اگرچه اثر مهارکنندگی ناچیزی بر باکتری *اشریشیاکلی* داشتند، اما استفاده توأم آنها موجب افزایش خاصیت بازدارندگی آنها بر روی باکتری *اشریشیاکلی* شد. با توجه به نتایج، عصاره‌ی پیاز در ترکیب با نیسین و اسانس لیموترش می‌تواند به‌عنوان یک آنتی‌باکتریال طبیعی در فرآورده‌های طیور استفاده گردد.

واژگان کلیدی: *اشریشیاکلی، بلدرچین، پیاز، لیموترش، نیسین*

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

مقدمه

گوشت بلدرچین، از نظر ارزش تغذیه‌ای، منبعی غنی از پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه ضروری، ویتامین‌ها، مواد معدنی از قبیل سدیم، پتاسیم، آهن، فسفر و همچنین اسیدهای چرب ضروری از جمله اسید لینولئیک و اسید لینولنیک است و در عین حال حاوی مقدار کمی چربی و کلسترول می‌باشد (۱- ۵). علاوه بر ارزش غذایی بالا، مقرون به صرفه بودن نیز سبب شده که گوشت بلدرچین به‌عنوان یکی از منابع تأمین‌کننده پروتئین، مورد توجه قرار گیرد (۵). با این حال، همانند سایر گوشت‌های سفید و قرمز، در صورت عدم رعایت اصول بهداشتی در مراحل کشتار، فرآوری، نگهداری و عرضه، می‌تواند محیطی مناسب برای رشد باکتری‌های بیماری‌زا شود (۶). از جمله مهم‌ترین این باکتری‌ها *اشریشیا کلی* (*E. coli*) است که حضور آن در محصولات غذایی می‌تواند منجر به بروز مسمومیت‌های شدید گوارشی در انسان شود. بنابراین بررسی نقش و اهمیت کنترل *E. coli* در فرآورده‌های حاصل از گوشت بلدرچین، جایگاهی اساسی در تضمین ایمنی و سلامت مصرف‌کنندگان دارد (۷، ۸). باکتری *اشریشیاکلی* نوعی باسیل گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه است (۹). این باکتری بیماری‌زای روده‌ای عامل مهم اسهال و اختلالات گوارشی در کشورهای درحال توسعه و مکان‌هایی با فقر بهداشتی است. این باکتری جزء فلور طبیعی روده بزرگ حیوانات خونگرم بوده و وجود این میکروارگانیسم در مواد غذایی نشان‌دهنده آلودگی مدفوعی است (۱۰). با توجه به خطر بالقوه آلودگی گوشت بلدرچین به *اشریشیاکلی* و پیامدهای بهداشتی ناشی از آن، یافتن راهکارهای مؤثر و ایمن برای کاهش بار میکروبی این محصول اهمیت ویژه‌ای دارد. امروزه استفاده از سرمای بالای صفر درجه سانتی‌گراد، یکی از روش‌های نگهداری گوشت به‌شمار می‌رود که موجب کاهش فعالیت میکروارگانیسم‌های مولد فساد در فرآورده و در نتیجه تعویق فساد در آن می‌گردد (۱۱، ۱۲). با توجه به محدودیت زمان نگهداری گوشت تازه در سرمای بالای صفر درجه سانتی‌گراد و اهمیت حفظ کیفیت آن تا هنگام مصرف، محققین به دنبال روش‌های دیگری نیز هستند که گوشت با کیفیت خوراکی مناسب به دست مصرف‌کنندگان برسد. با توجه به مضراتی همچون اثرات سرطان‌زائی نگهدارنده‌های شیمیایی و همچنین افزایش آگاهی مردم، امروزه تصوری منفی از افزودنی‌های سنتتیک به مواد غذایی در مصرف‌کنندگان ایجاد شده و تمایل به نگهدارنده‌های طبیعی جهت افزایش ماندگاری مواد غذایی، افزایش یافته است (۱۳). در سال‌های اخیر، استفاده از ترکیبات طبیعی با خواص ضد میکروبی به‌عنوان جایگزینی برای نگهدارنده‌های شیمیایی مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. اسانس لیمو ترش به‌دلیل دارا بودن ترکیبات فعال زیستی نظیر لیمونن، سیترال و فلاونوئیدها، دارای پتانسیل بالایی در مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زا از جمله *E. coli* گزارش شده است (۱۴، ۱۵). از این رو، بررسی تأثیر اسانس لیمو ترش بر کنترل آلودگی میکروبی گوشت بلدرچین می‌تواند افق‌های جدیدی در ارتقای ایمنی و افزایش ماندگاری این محصول غذایی بگشاید (۱۶، ۱۷). این میوه همچنین به‌دلیل داشتن عطر و طعم مطلوب، به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان چاشنی در صنایع غذایی کاربرد دارد. همچنین با دارا بودن میزان بالایی از اسیدهای آلی به‌ویژه اسید سیتریک و ایجاد شرایط اسیدی، در درمان بسیاری از عفونت‌های روده‌ای بکار می‌رود (۱۸، ۱۹). در کنار اسانس لیمو ترش، عصاره‌ی پیاز نیز به‌دلیل دارا بودن ترکیبات گوگردی فعال مانند آلیسین، دی‌سولفیدها و فلاونوئیدها، به‌عنوان یک عامل ضد میکروبی طبیعی شناخته شده است (۲۰). این ترکیبات با تخریب غشای سلولی و اختلال در متابولیسم میکروارگانیسم‌ها، قادر به مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زا از جمله *E. coli* می‌باشند. کامفرول (Kaempferol)، کوئرستین (Quercetin) و گالیک‌اسید (Gallic Acid) موجود در عصاره پیاز، از مهم‌ترین ترکیبات شیمیایی آنتی‌اکسیدان، ضد عفونی‌کننده و ضد التهاب هستند که به‌عنوان آنتی‌پاتوژن‌های فعال و طبیعی، هم در محیط آزمایشگاه و هم در موارد بالینی، اثر آنتی‌باکتریال از خود نشان داده‌اند

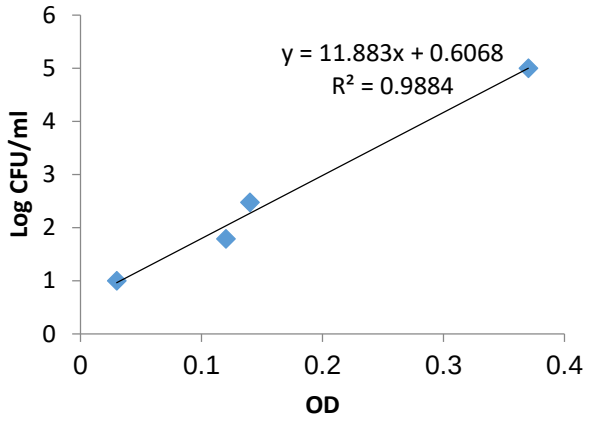
(۲۱-۲۳). از این رو، بهره‌گیری همزمان از اسانس لیمو ترش و پیاز می‌تواند با ایجاد اثرات هم‌افزایی، راهکاری مؤثرتر در کاهش آلودگی‌های میکروبی و ارتقای ایمنی گوشت بلدرچین فراهم آورد (۲۴، ۲۵). باکتریوسین‌ها پروتئین‌های باکتری‌کشی هستند که تولید آنها توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک در سال‌های اخیر به‌صورت گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است. نیسین (Nisin) با نام تجاری نیساپلین (Nisaplin)، نوعی باکتریوسین پلی‌پپتیدی می‌باشد (۲۶) که با توجه به خصوصیات ضد میکروبی و سمیت پایین آن برای انسان، به‌عنوان یک ماده ایمن (Generally Recognized as Safe, GRAS) و نگهدارنده مواد غذایی در صنایع غذایی استفاده می‌شود (۲۷-۳۲).

هدف از این مطالعه، بررسی اثر عصاره‌ی پیاز، اسانس لیموترش و نیسین به‌صورت مجزا و توأم برای کنترل باکتری *اشریشیاکلی* تلقیح شده در گوشت چرخ‌شده بلدرچین نگهداری شده در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد بود.

مواد و روش‌ها

مراحل انتخاب و کشت میکروبی: باکتری *اشریشیاکلی ATCC 35218* از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران به‌صورت لیوفیلیزه خریداری شد (۳۳). از محیط Brain Heart Infusion (BHI) به‌دلیل اینکه ترکیب غنی از مواد مغذی و منابع آلی قابل جذب، قابلیت حمایت از رشد سریع، یکنواخت و پایدار باکتری‌های گرم منفی مانند *Escherichia coli* ATCC 35218 را فراهم می‌آورد، استفاده گردید. این محیط به‌طور گسترده در مطالعات میکروبیولوژی غذایی و تحقیقات مربوط به اثرات ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی و نگهدارنده‌ها بر رشد پاتوژن‌های غذایی بکار گرفته شده است (۳۴)، استفاده از BHI امکان پایش دقیق منحنی رشد و ارزیابی اثرات درمانی و ضد میکروبی را با حساسیت بالا فراهم می‌کند. در شرایط کاملاً سترون آمپول میکروبی را شکسته و ۱۰۰ میکرولیتر از محیط‌کشت BHI (مرک آلمان) را داخل آمپول حاوی میکروب ریخته تا پودر لیوفیلیزه میکروبی کاملاً حل شد. سوسپانسیون میکروبی به‌دست آمده داخل ۱۰ میلی‌لیتر محیط‌کشت BHI تلقیح شد. همچنین یک کشت خطی از سوسپانسیون میکروبی روی محیط کشت BHI تهیه گردید. سپس تمام لوله‌های آزمایش و پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. محیط‌کشت حاوی باکتری به‌دست آمده، به‌عنوان کشت مادری در یخچال و ۲ میلی‌لیتر محتوای لوله‌ی کشت نیز در لوله‌ی فالکون به نسبت ۳۰ به ۷۰ با گلیسرول مخلوط و در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۳۵).

رسم منحنی رشد میکروبی: در شرایط کاملاً سترون ۱۰۰۰ میکرولیتر از محیط‌کشت مادری باکتری را به ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت تلقیح کرده، سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرمخانه‌گذاری شد. کشت ۲۴ ساعته را با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (Eppendorf 5810) کرده و رسوب میکروبی به‌دست آمده را ۲ بار با سرم فیزیولوژی (۹ درصد) شستشو داده و سانتریفیوژ کرده تا هیچ‌گونه ناخالصی در محیط باقی نماند. سپس رسوب میکروبی با ۱۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به مدت ۵ دقیقه مخلوط گردید تا محلول یکنواختی به‌دست آمد. محلول را در حجم‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ میکرولیتر به داخل سل‌های حاوی یک میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی (۹ درصد) ریخته و جذب در طول موج ۶۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید (۳۶-۳۸). سپس رقت‌های متوالی تهیه و از رقت‌های مورد نظر ۱۰۰ میکرولیتر بر روی محیط کشت BHI به‌صورت سطحی و در ۳ تکرار کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. بعد از شمارش پرگنه‌ها، منحنی رشد میکروب‌ها رسم گردید (شکل ۱) (۳۹). فرمول منحنی رشد باکتری *اشریشیاکلی ATCC 35218* به قرار ذیل است:



شکل ۱- نمودار جذب نور غلظت‌های مختلف از جمعیت میکروبی *اشریشیاکلی ATCC 35218*

آماده‌سازی اشریشیاکلی ATCC 35218 جهت تلقیح به گوشت بلدرچین: باکتری *اشریشیاکلی ATCC 35218* در ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت BHI براث در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شد. کشت گونه به محیط کشت BHI آگار به‌منظور بررسی خالص بودن کلنی‌ها منتقل و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. کلنی‌های تک به محیط BHI براث منتقل و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. سپس محیط به تیوپ تازه‌ای از BHI براث منتقل و در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید (۴۰). همه این مراحل به‌منظور اطمینان از خلوص کشت و به‌دست آوردن کشت یکنواخت از باکتری *اشریشیاکلی* می‌باشد. ۳۰ میلی‌لیتر از کشت ۲۴ ساعته *اشریشیاکلی ATCC 35218*، با سرعت ۲۴۵۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و به‌منظور حذف ترکیبات ناخالص، سه مرتبه به کمک سرم فیزیولوژی (۹ درصد) شستشو داده شد و سپس پلیت را در ۱۰ میلی‌لیتر سرم حل کرده تا سوسپانسیونی با غلظت نهایی 10^{8}-10^{9} CFU/ml به‌دست آمد. از سوسپانسیون به‌دست آمده به کمک سرم فیزیولوژی (۹ درصد)، سوسپانسیونی با غلظت 10^{3} CFU/ml تهیه گردید (۴۱).

آماده‌سازی عصاره پیاز: پیاز مورد نیاز از بازار محلی واقع در شهرستان جیرفت خریداری و به شهرستان زابل منتقل شد. پیازها پس از تمیز کردن و شستشو، کاملاً خرد شده و ۱۰۰ گرم از آنها، به ۶۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، اضافه گردید و استخراج عصاره به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد توسط دستگاه اولتراسونیک (۲۰۰ وات، ۴۰ هرتز) انجام شد. سپس فیلتراسیون با کاغذ صافی واتمن شماره یک صورت گرفت. به پسماند عصاره‌گیری مجدداً ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد دوباره اولتراسونیک و سپس فیلتر شد. عصاره حاصل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۴۲).

تهیه اسانس لیموترش: لیموترش از شهرستان جیرفت واقع در استان کرمان، خریداری و پس از انتقال به زابل، تحت شرایط سایه و بدون رطوبت، خشک گردید. پس از آسیاب کردن، بر روی ۱۰۰ گرم آن به روش تقطیر با بخار آب، توسط دستگاه کلونجر، اسانس‌گیری به عمل آمد. اسانس به‌دست آمده، توسط سدیم سولفات، رطوبت‌زدایی و به‌منظور شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس، به دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی تزریق شد (۴۳). نتایج به‌دست آمده به شرح زیر است:

جدول ۱- نتایج آنالیز اسانس لیموترش مورد مطالعه با استفاده از GC-MS

ترکیبات	درصد
لیمونن	۵۳/۵۷
آلفا- ترپینئول	۱۴/۶۹
بتا- پینن	۸/۲۳
آلفا- پینن	۱/۸۴
بتا- میرسن	۱/۵۱
آلفا- ترپینولن	۴/۳۳
ترپینن-۴- ال	۳/۳۸
سیمن	۱/۸۰
بتا- بیسابولن	۱/۴۳
بتا- لینالول	۰/۸۵
ای- سیترال	۱/۰۸

آماده‌سازی محلول نیسین: پودر تجاری نیساپلین از شرکت Heidelberg, SERVA (New York) خریداری شد. محلول استوک نیسین، با حل کردن ۰/۸ گرم نیساپلین در ۱۰ میلی‌لیتر HCl ۰/۰۲ نرمال، به‌دست آمد (بر اساس دستورالعمل گزارش شده در Codex Alimentarius). برای رسیدن به غلظت‌های پایین‌تر، از آب مقطر استریل استفاده شد (۴۴).

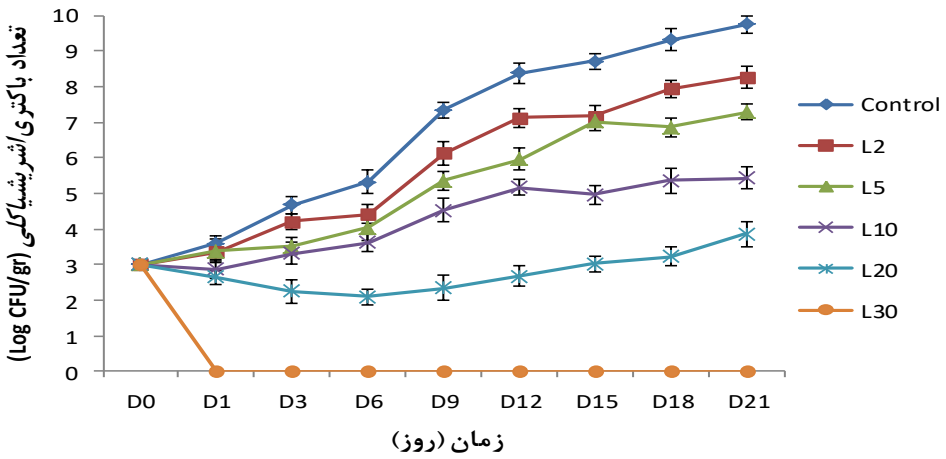
آماده‌سازی تیمارهای مختلف: بلدرچین زنده از بازار زابل خریداری و پس از کشتار، به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل منتقل گردید. گوشت‌ها بلافاصله در شرایط استریل چرخ شدند. این فرآیند با استفاده از چرخ گوشت پارس‌خزر انجام گرفت. سپس نمونه‌های ۲۰۰ گرمی از گوشت استریل چرخ‌شده تهیه گردید و اسانس لیموترش با غلظت‌های ۲، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرولیتر در هر گرم گوشت چرخ‌شده بلدرچین و عصاره‌ی پیاز با غلظت‌های ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد، محلول نیسین با غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم در هر گرم گوشت چرخ‌شده بلدرچین، به تنهایی و توأم و همچنین باکتری *اشریشیاکلی* به مقدار 10^3 CFU/g گوشت، به هر یک از نمونه‌ها افزوده شد (غلظت‌های مورد استفاده در این مطالعه بر اساس مقادیر گزارش شده در مطالعه‌ی Gutierrez و همکارانش در سال ۲۰۰۸ و همچنین محدوده‌ی MIC گزارش شده برای *E. coli* انتخاب گردید) (۳۴). نمونه‌های آماده شده در یخچال در دمای ۱±۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۱ روز نگهداری و در روزهای ۰، ۱، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۱ توسط آزمون میکروبی کشت سطحی مورد بررسی قرار گرفتند.

روش شمارش میکروبی: بررسی تغییر جمعیت باکتری، طی نگهداری تیمارها در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد در طول روزهای صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸و ۲۱ با روش کشت سطحی انجام شد. به‌منظور شمارش باکتری، در هر بار نمونه‌گیری به ۵ گرم گوشت چرخ‌شده بلدرچین مقدار ۴۵ میلی‌لیتر پپتون واتر ۰/۱ درصد، اضافه و پس از هموژن‌سازی، رقت‌های سریالی (۱:۱۰) تهیه گردید. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه رقیق شده، بر روی محیط‌کشت آگار قلب مغز، کشت سطحی داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید. سپس با استفاده از شمارنده کلنی (colony counter)، کلنی‌های تشکیل شده شمارش شدند (۴۵).

تجزیه و تحلیل آماری: در این پژوهش نتایج به‌دست آمده با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل گردید. مقایسه میانگین داده‌های مربوط به نتایج، به کمک آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام گرفت. نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel 2010 ترسیم و گزارش شدند.

نتایج

تعداد سلول‌های *اشریشیاکلی* تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس لیموترش در گوشت چرخ‌شده بلدرچین طی زمان نگهداری، در شکل ۲ نشان داده شده است. تعداد باکتری *اشریشیاکلی* در تمامی تیمارها در روز صفر، برابر با ۳ Log CFU/g بود. تعداد باکتری مذکور، در تیمار کنترل نسبت به سایر تیمارها از روز صفر تا پایان دوره نگهداری، با شیب تندتری افزایش یافت و در روز ۲۱ به Log CFU/g ۹.۷۵ رسید. تیمارهای لیموترش با غلظت ۲ و ۵ میکرولیتر برگرم نسبت به سایر تیمارها از روز صفر تا پایان دوره نگهداری خاصیت بازدارندگی کمتری بر روی رشد باکتری *اشریشیاکلی* داشتند به‌طوری که تعداد باکتری *اشریشیاکلی* را در روز ۲۱ به‌ترتیب به ۸/۲۸ Log CFU/g و ۷/۲۹ رساندند. نتایج نشان داد با افزایش غلظت اسانس لیموترش اثر مهارکنندگی آن بر روی رشد باکتری *اشریشیاکلی* افزایش یافت به‌طوری که تیمارهای لیموترش با غلظت ۱۰ و ۲۰ نسبت به غلظت‌های ۲ و ۵ میکرولیتر بر گرم، خاصیت بازدارندگی بیشتری بر روی رشد باکتری *اشریشیاکلی* نشان دادند و تعداد باکتری *اشریشیاکلی* را در پایان دوره نگهداری به‌ترتیب به ۵/۴۴ و ۳/۸۶ Log CFU/g رساندند. اسانس لیموترش با غلظت ۳۰ میکرولیتر بر گرم، در روز یک تعداد باکتری *اشریشیاکلی* را به صفر رساند و تا پایان دوره نگهداری، مانع از رشد باکتری شد.



شکل ۲- اثر اسانس لیموترش بر روی باکتری *اشریشیاکلی ATCC 35218* تلقیح شده به گوشت چرخ‌شده بلدرچین. Control : گوشت چرخ‌شده بلدرچین، L2: لیمو با غلظت ۲، L5: لیمو با غلظت ۵، L10: لیمو با غلظت ۱۰، L20: لیمو با غلظت ۲۰ و L30: لیمو با غلظت ۳۰ میکرولیتر بر گرم

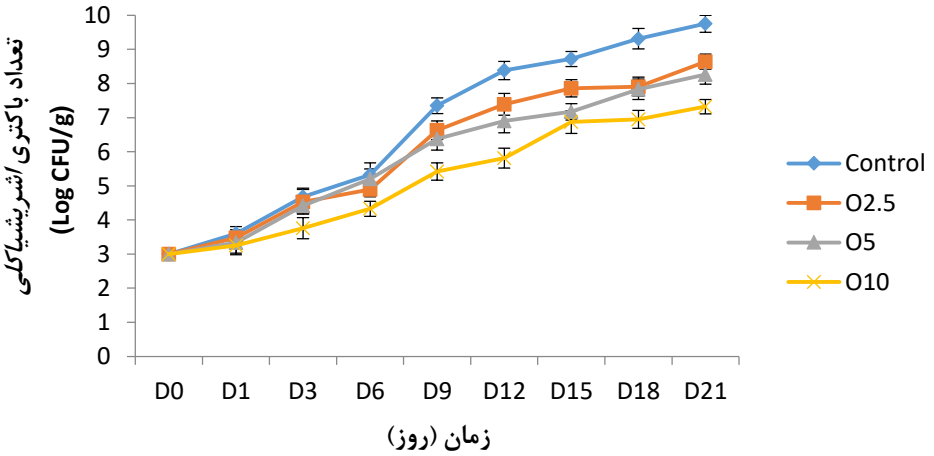
به‌طور کلی مقایسه نتایج به‌دست آمده در مورد خواص ضد باکتریایی اسانس‌های مختلف، بسیار مشکل می‌باشد. از دلایل آن می‌توان به تفاوت در روش‌های مختلف بررسی خواص ضد باکتریایی اسانس‌ها، منابع تهیه آنها و سویه‌های باکتریایی بکار برده شده، روش عصاره‌گیری، فاز رشد و میزان باکتری، نوع محیط‌کشت مورد استفاده، عوامل خارجی و داخلی مواد غذایی نظیر pH، چربی، پروتئین، آب، آنتی‌اکسیدان‌ها، مدت زمان و دمای گرمخانه‌گذاری، روش بسته‌بندی و ساختار فیزیکی مواد غذایی اشاره کرد. مدل‌های مختلفی در مطالعات متعدد به‌منظور بررسی اثرات ضد باکتریایی و نگهدارندگی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی استفاده شده است. در برخی از این روش‌ها از شرایط آزمایشگاهی و در بعضی دیگر، از مدل‌های غذایی برای بررسی اثرات ضد باکتریایی اسانس‌ها و عصاره‌ها استفاده شده است (۴۶). Fisher and Phillips در سال ۲۰۰۶ (۴۷) به مطالعه اثر اسانس لیمو، پرتقال، نارنج و اجزای آنها بر روی بعضی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی شامل *اشریشیاکلی O157*، *کمپیلوباکترژوژنی*، *لیستریامونوسیتوژنز*، *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در شرایط آزمایشگاهی و سیستم‌های غذایی

پرداختند. نتایج نشان داد که اسانس‌های مرکبات می‌توانند به‌عنوان عوامل مؤثری برای مقابله با میکروارگانیسم‌های رایج مسمومیت غذایی استفاده شوند.

Viuda-Martos و همکاران در سال ۲۰۰۸ (۴۸) اثر ضد باکتریایی اسانس‌های لیموترش، نارنگی، گریپ‌فروت و پرتقال را بر روی تعدادی از باکتری‌ها ازجمله *استافیلوکوکوس کارنوسوس*، *استافیلوکوکوس گزیلوسوس* و *انتروباکتر آمنیجینس* مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد اسانس لیمو، اثر ضد میکروبی بهتری نسبت به سایر مرکبات داشت.

تعداد سلول‌های *اشریشیاکلی* تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره پیاز در گوشت چرخ‌شده بلدرچین طی زمان نگهداری، در شکل ۳ نشان داده شده است. تعداد باکتری *اشریشیاکلی* در تمامی تیمارها در روز صفر، برابر با Log CFU/g ۳ بود. در تیمار کنترل نسبت به سایر تیمارها از روز صفر تا پایان دوره نگهداری، تعداد باکتری *اشریشیاکلی* با شیب تندتری افزایش یافت و در روز ۲۱ به Log CFU/g ۹/۷۵ رسید. در تیمارهای حاوی عصاره پیاز با غلظت ۲/۵و ۵ درصد، همانند تیمار کنترل، تعداد باکتری *اشریشیاکلی* در طول دوره نگهداری روند افزایشی داشت که این روند از روز صفر تا روز ششم نگهداری، شیب ملایم‌تر و از روز ششم تا نهم شیب تندتری داشت، سپس از روز نهم تا پایان دوره نگهداری با شیب نسبتاً ملایمی همراه بود. در مجموع هر یک از تیمارهای حاوی عصاره پیاز با غلظت ۲/۵ و ۵ درصد به تنهایی قابلیت مهار رشد ضعیفی بر روی باکتری *اشریشیاکلی* نشان دادند به‌طوری که، تعداد باکتری *اشریشیاکلی* را در روز ۲۱ به‌ترتیب به ۸/۶۴ و ۸/۲۶ Log CFU/g رساندند. نتایج نشان داد با افزایش غلظت عصاره‌ی پیاز، اثر مهارکنندگی آن بر روی رشد باکتری *اشریشیاکلی* افزایش یافت به‌طوری که تیمار پیاز با غلظت ۱۰ درصد، بیشترین خاصیت بازدارندگی را داشت و تعداد باکتری *اشریشیاکلی* را در روز ۲۱ به ۷/۳۲ Log CFU/g رساند.

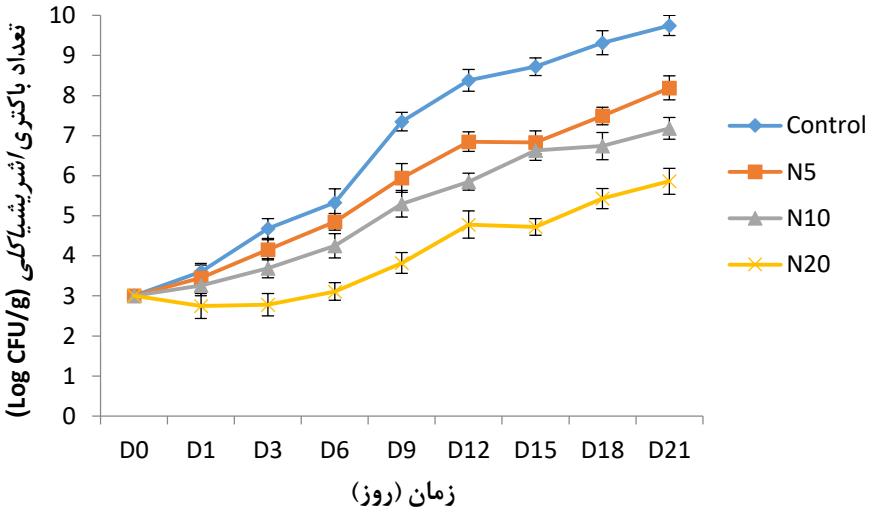
ترکیبات ضد میکروبی پیاز به‌طور عمده شامل کوئرسیتین، آلیسین و تیوسیانات می‌باشند (۴۹). به‌طور کلی باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت در مقابل اثر ضد میکروبی عصاره‌ها مقاوم‌تر هستند. این امر به‌دلیل وجود دیواره سلولی لیپوپلی‌ساکاریدی در باکتری‌های گرم منفی است که این دیواره از رسیدن ترکیبات مؤثره عصاره‌ها به غشای سیتوپلاسمی ممانعت می‌کند (۱۸). یکی از ترکیبات ضد میکروبی پیاز، ایزوتیوسیانات می‌باشد. با توجه به اینکه این ترکیب، قادر به غیر فعال کردن آنزیم‌های خارج سلولی از طریق اکسایش باندهای دی‌سولفیدی است، تشکیل رادیکال‌های تیوسیانات می‌تواند دلیل خاصیت ضد میکروبی آن باشد (۵۰).



شکل ۳- اثر عصاره‌ی پیاز بر روی باکتری *اشریشیاکلی* ATCC 35218 تلقیح شده به گوشت چرخ شده بلدرچین

Control: گوشت چرخ‌شده بلدرچین، O2.5: پیاز با غلظت ۲/۵ درصد، O5: پیاز با غلظت ۵ درصد، O10: پیاز با غلظت ۱۰ درصد

تعداد سلول‌های *اشریشیاکلی* تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نیسین در گوشت چرخ‌شده بلدرچین طی زمان نگهداری، در شکل ۴ نشان داده شده است. تعداد باکتری *اشریشیاکلی* در تمامی تیمارها در روز صفر، برابر با Log ۳CFU/g بود. در تیمار کنترل نسبت به سایر تیمارها از روز صفر تا پایان دوره نگهداری، تعداد باکتری *اشریشیاکلی* با شیب تندتری افزایش یافت و در روز ۲۱ به Log CFU/g ۹/۷۵ رسید. تعداد باکتری *اشریشیاکلی* در تیمارهای حاوی نیسین با غلظت ۵ و ۱۰ میکروگرم بر گرم، از روز صفر تا پایان دوره نگهداری، روند افزایشی داشت به‌طوری که در روز ۲۱ به‌ترتیب به ۸/۲۱ و Log CFU/g ۷/۱۸ رسید. نتایج نشان داد با افزایش غلظت نیسین، اثر مهارکنندگی آن بر روی رشد باکتری *اشریشیاکلی* افزایش یافت به‌طوری که تیمار نیسین با غلظت ۲۰ درصد، بیشترین خاصیت بازدارندگی را داشت و تعداد باکتری *اشریشیاکلی* را در روز ۲۱ به Log CFU/g ۵/۸۶رساند.



شکل ۴- اثر نیسین بر روی باکتری *اشریشیاکلی ATCC 35218* تلقیح شده به گوشت چرخ‌شده بلدرچین

Control: گوشت چرخ‌شده بلدرچین، N5: نیسین با غلظت ۵ درصد، N10: نیسین با غلظت۱۰ درصد و N20: نیسین با غلظت۲۰ میکروگرم بر گرم

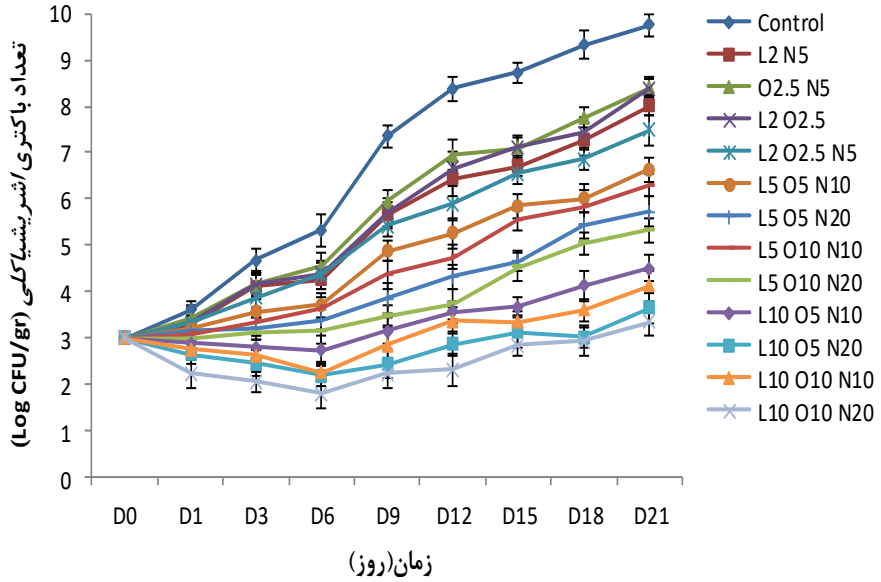
بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات گسترده حاکی از تأثیر بالقوه بکارگیری نیسین به همراه سایر روش‌ها و ترکیبات در محافظت از مواد غذایی است (۵۱).

Solomakos و همکاران در سال ۲۰۰۸ (۴۴) با بررسی اثر اسانس آویشن، نیسین و ترکیب این دو علیه *اشریشیاکلی O157:H7* در گوشت چرخ‌کرده گاو در طول مدت زمان نگهداری در یخچال نشان دادند که تیمار ترکیبی نیسین و آویشن، اثر فزاینده‌ای علیه *اشریشیاکلی* در ۱۰ درجه سانتی‌گراد داشت. هدف اولیه و اصلی نیسین در ممانعت از رشد باکتری‌ها، لیپید نوع دوم غشای سیتوپلاسمی باکتری‌هاست. از این طریق باعث افزایش نفوذپذیری در غشا و ایجاد روزنه در آن می‌گردد. در نهایت این مسئله منجر به خروج سریع مولکول‌های کوچک و ترکیبات حیاتی داخل سلولی و مرگ سلول می‌شود (۵۲). با توجه به مطالعات صورت گرفته اثر ضد میکروبی نیسین می‌تواند تحت تأثیر شرایط محیطی مختلف از جمله میکروارگانیسم‌های مورد بررسی، دمای نگهداری و مدل غذایی قرار بگیرد (۳۲، ۵۳). نتایج بررسی ساختار باکتری تحت تأثیر نیسین با میکروسکوپ الکترونی (TEM) مبین آن است که نیسین با آسیب‌رسانی و تخریب غشای سلولی باکتری و صدمه به سیتوپلاسم آنها زمینه را برای نابودی باکتری توسط سایر عوامل فراهم می‌کند. به‌دلیل وجود اختلاف در محتوای فسفولیپیدها و ترکیب اسیدهای چرب غشای سلول باکتری که منجر به عدم توانایی نیسین در ایجاد روزنه در غشاهای سخت و محکم می‌شود، میزان اثرگذاری نیسین در سویه‌های مختلف باکتری‌ها متفاوت است (۵۴، ۵۵). کاربرد نیسین به‌دلیل پایداری کم این ماده

در pH بالا و محدودیت استفاده از آن در برخی مواد غذایی، محدود می‌باشد. همچنین قابلیت برخی میکروارگانیسم‌ها در تحمل نیسین نیز یک محدودیت دیگر در استفاده از این ترکیب به شمار می‌رود (۵۶). استفاده ترکیبی نیسین با سایر ترکیبات طبیعی ضد میکروب یک راهکار مهم در استفاده بهتر، از این ماده ضد میکروبی است.

تعداد سلول‌های *اشریشیاکلی* تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس لیموترش، عصاره پیاز و نیسین در گوشت چرخ‌شده بلدرچین طی زمان نگهداری، در شکل ۵ نشان داده شده است. تعداد باکتری *اشریشیاکلی* در تمامی تیمارها در روز صفر، برابر با Log CFU/g ۳ بود. تعداد باکتری *اشریشیاکلی* در تیمار کنترل نسبت به سایر تیمارها از روز صفر تا پایان دوره نگهداری، با شیب تندتری افزایش یافت و در روز ۲۱ به Log CFU/g ۹/۷۵رسید. در این تحقیق در بین تیمارهای ترکیبی مورد مطالعه، تیمار O2.5 N5 دارای کمترین خاصیت بازدارندگی بر روی باکتری *اشریشیاکلی* بود به‌طوری که تعداد باکتری *اشریشیاکلی* را در روز ۲۱ به Log CFU/g ۸/۴۰ رساند.



شکل ۵- اثر اسانس لیموترش، عصاره پیاز و نیسین بر روی باکتری *اشریشیاکلی* ATCC 35218 تلقیح شده به گوشت چرخ‌شده بلدرچین. Control: گوشت چرخ‌شده بلدرچین، در هر یک از تیمارها، L: غلظت اسانس لیموترش بر حسب میکرولیتر بر گرم، O: غلظت عصاره پیاز بر حسب درصد و N: غلظت نیسین بر حسب میکروگرم بر گرم.

نتایج نشان داد در تیمارهای ترکیبی اسانس، عصاره و نیسین همانند تیمارهای حاوی هریک از آنها به تنهایی، با افزایش غلظت اسانس لیموترش، عصاره پیاز و نیسین اثر مهارکنندگی آنها بر روی رشد باکتری *اشریشیاکلی* افزایش یافت به‌گونه‌ای که تیمار L10 O10 N20 بیشترین خاصیت بازدارندگی را بر روی باکتری *اشریشیاکلی* نشان داد و در روز ۲۱ تعداد باکتری *اشریشیاکلی* را به Log CFU/g ۳/۳۵ رساند.

مطالعات متعددی افزایش خواص ضد میکروبی مواد نگهدارنده طبیعی مختلف را به‌صورت توأم در شرایط آزمایشگاهی و مدل‌های غذایی گزارش نموده‌اند (۵۱، ۵۷-۵۹). علت افزایش اثر مواد ضد میکروبی به هنگام استفاده همزمان، افزایش تعداد منافذ تشکیل شده در غشای سلولی عوامل بیماری‌زا و متعاقباً نشت ترکیبات داخل سلولی به خارج از سلول و همچنین مهار پروتئین‌های آنزیمی موجود در غشا می‌باشد که این پروتئین‌ها در حفظ ویژگی‌های عملکردی و ذخیره هیدروکربن‌ها در غشای سلولی نقش اساسی بر عهده دارند (۵۱، ۶۰).

نتایج مطالعات ما نشان داد اسانس لیموترش در مقایسه با عصاره پیاز و نیسین بر روی تعداد باکتری *اشریشیاکلی*

در گوشت چرخ‌شده بلدرچین، بیشترین اثر مهارکنندگی را داشت و در غلظت ۳۰ میکرولیتر بر گرم در روز یکم نگهداری، تعداد باکتری *اشریشیاکلی* را به صفر رساند و تا پایان دوره نگهداری، به‌طور کامل مانع از رشد باکتری شد. پس از آن به‌ترتیب نیسین و عصاره پیاز اثر مهارکنندگی کمتری بر باکتری *اشریشیاکلی* داشتند، به‌گونه‌ای که نیسین با غلظت ۲۰ میکرولیتر بر گرم و عصاره پیاز با غلظت ۱۰ درصد، از بین غلظت‌های مختلف عصاره پیاز و نیسین، بیشترین خاصیت بازدارندگی را بر باکتری *اشریشیاکلی* *ATCC 35218* نشان دادند. همچنین استفاده همزمان از نیسین، اسانس لیموترش و عصاره پیاز باعث کاهش معنی‌دار تعداد باکتری *اشریشیاکلی* در گوشت چرخ‌شده بلدرچین شد و با افزایش غلظت اسانس لیموترش، عصاره پیاز و نیسین قابلیت مهار رشد افزایش یافت.

References

1- Boni I, Nurul H, Noryati I. Comparison of meat quality characteristics between young and spent quails. *As J Food Ag-Ind*. 2010; 3(05): 498-504.

2- Faitarone ABG, Pavan AC, Mori C, Batista LS, Oliveira RP, Garcia EA, *et al.* Economic traits and performance of Italian quails reared at different cage stocking densities. *Braz J Poult Sci*. 2005; 7(1): 19-22.

3- Genchev A, Mihaylova G, Ribarski S, Pavlov A, Kabakchiev M. Meat quality and composition in Japanese quails. *Trakia J Sci*. 2008; 6(4): 72-82.

4- Prabakaran R. Good practices in planning and management of integrated commercial poultry production in South Asia. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2003, P: 159.

5- Mnisi CM, Oyeagu CE, Akuru EA, Ruzvidzo O, Lewu FB. Sorghum, millet and cassava as alternative dietary energy sources for sustainable quail production – A review. *Front Anim Sci*. 2023; 4: 1066388.

6- Anang DM, Rusul G, Bakar J, Ling FH. Effects of lactic acid and lauricidin on the survival of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* O157: H7 in chicken breast stored at 4'C. *Food Control*. 2007; 18(8): 961-969.

7- Henry YM, Natrajan N, Lauer WF. Detex for detection of *Escherichia coli* O157 in raw ground beef and raw ground poultry. *J AOAC Int*. 2001; 84(3): 752-760.

8- Lee GY, Jang HI, Hwang IG, Rhee MS. Prevalence and classification of pathogenic *Escherichia coli* isolated from fresh beef, poultry, and pork in Korea. *Int J Food Microbiol*. 2009, 134(3): 196-200.

9- Madigan MT, Martinko JM. Brock Biology of Microorganisms. 11th Edition. Pearson Publication. 2006; P: 432-445.

10- Eslamlo HF, Hami M, Athari SH, Haji Mohammadi B, Jazani NH. The evaluation of contamination rate with *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenesis* and *Salmonella* sp. in handmade butters in Urmia city. *Nur and Mid J*. 2009; 7(3): 157-165. [In Persian]

11- Rokni N. Principles of Food Hygiene. 1st Edition. University of Tehran Press. 1993; P: 100-102. [In Persian]

12- Lawrie RA. Meat science. 4th Edition. *Pergamon press*. 1988; P: 112-113.

13- Omidbeygi M, Barzegar M, Hamidi Z, Naghdibadi H. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against aspergillus flavus in liquid medium and tomato paste. *Food Control*. 2007; 18(12): 1518- 1523.

14- Tajkarimi MM, Ibrahim SA, Cliver DO. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*. 2010; 21(9): 1199-1218.

15- Tiwari BK, Valdramidis VP, O' Donnell CP, Muthukumarappan K, Bourke P, Cullen PJ. Application of natural antimicrobials for food preservation. *J Agric Food Chem*. 2009; 57(14) : 5987-6000.

16- Roy BC, Hoshino M, Ueno H, Sasaki M, Goto M. Supercritical carbon dioxide extraction of the volatiles from the peel of Japanese citrus fruits. *J Essent Oil Res*. 2007; 19(1): 78-84.

17- Kekelidze NA, Lomidze EP, Janikashvili MI. Analysis of terpene variation in leaves and fruits of Citrus unshiu Marc. during ontogenesis. *Flavour Fragr J*. 1989; 4(1): 37-41.

18- Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods. *Int J Food Microbiol*. 2004; 94(3): 223-53.

19- Rodrigues A, Sandstrom A, Ca T, Steinsland H, Jensen H, Aaby P. Protection from cholera by adding lime juice to food-results from community and laboratory studies in Guinea-Bissau, West Africa. *Trop Med Int Health*. 2000; 5(6): 418-422.

20- Tassou CC, Koutsoumanis K, Nychas GJE. Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. *Food Res Int*. 2000; 33(3-4): 273-280.

21- Chyun JC, Huang L. Ginger and its bioactive component inhibit enterotoxigenic *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin-induced diarrhea in mice. *J Agric Food Chem*. 2007; 55(21): 8390-8397.

22- Ekwenye UN, Elegalam NN. Antibacterial activity of ginger (*Zingiber officinale roscoe*) and garlic (*Allium sativum L.*) extracts on *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. *Int J Mol Med Adv Sci*. 2005; 1(4): 411-416.

23- Nelson C, Regiland A. Antimicrobial properties of extracts of *Allium cepa* and *Zingiber officinale* (ginger) on *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* and *Bacillus subtilis*. *Int J Trop Med*. 2007; 3(2): 1540-470.

24- Griffiths G, Trueman L, Crowther T, Thomas B, Smith B. Onions A global benefit to health. *Phytother. Res.* 2002; 16(7): 603-615.

25- Momeni L, Zamanzad B. The antibacterial properties of *Allium cepa* (onion) and *Zingiber officinale* (ginger) extracts on *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* isolated from vaginal specimens. *Med Sci*. 2010; 11(4): 81-87. [In Persian]

26- Arauz D, Juncioni L, Faustino JA, Mazzola GP, Vessoni Penna TC. Nisin biotechnological production and application: a review. *Trends Food Sci Technol*. 2009; 20(3-4): 146-154.

27- Chi-Zhang Y, Yam K, Chikindas MS. Effective control of *Listeria monocytogenes* by combination of nisin formulated and slowly released into a broth system. *Int J Food Microbiol*. 2004; 90(1): 15-22.

28- Smid EJ, Corris LGM. Natural antimicrobials for food preservation. In: Shafiurr rahman. Handbood of food preservation. Marcel Dekker. *New York*. 1999; 285-308.

29- Thomas LV, Wimpenny JT. Investigation of the effect of combined variation in temperature, pH and NaCl concentration on Nisin inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. *Appl Environ Microbiol.* 1996; 62(6): 2006-2012.

30- Kuwano K, Shimizu T, Nagatoshi K, Nou S, Sonomato K. Dual antibacterial mechanisms of nisin Z against gram-positive and gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents*. 2005; 26(5): 396-402.

31- Ross RP, Morgan S, Hill C. Preservation and fermentation: past, present and future. *Int J Food Microbiol*. 2002; 79(1-2): 3-16.

32- Periago PM, Moezelaar R. Combined effect of nisin and carvarcrol at different pH and temperature levels on the viability of different strains of *Bacillus cereus*. *Int J Food Microbiol*. 2001; 68(1-2): 141-148.

33- Ziuzina D, Patil S, Cullen PJ, Keener KM, Bourke P. Atmospheric cold plasma inactivation of *Escherichia coli* in liquid media inside a sealed package. *J Appl Microbiol*. 2013; 114(3): 778-787.

34- Gutierrez J, Rodríguez G, Barry-Ryan C, Bourke P. Efficacy of plant essential oils against foodborne pathogens and spoilage bacteria associated with ready-to-eat vegetables: Antimicrobial and sensory screening. *J Food Prot*. 2008; 71(9): 1846-1854.

35- Rajendram D, Ayenza R, Holder FM, Moran B, Long T, Shah HN. Long-term storage and safe retrieval of DNA from microorganisms for molecular analysis using FTA matrix cards. *J Microbial Methods*. 2006; 67(3): 582-592.

36- Fooks LJ, Gibson GR. In vitro investigations of the effect of probiotics and prebiotics on selected human intestinal pathogens. *FEMS Microbiol Ecol*. 2002; 39(1): 67-75.

37- Goderska K, Nowak J, Czarnecki Z. Comparison of growth of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* species in media supplemented with selected saccharids including prebiotic. *Acta Sci Pol, Technol Aliment*. 2008; 7(2): 5-20.

38- Rada V, Nevoral J, Trojanova I, Tomankova E, Smehilova M, Killer J. Growth of infant *faecal bifidobacteria* and *clostridia* on prebiotic oligosaccharides in vitro conditions. *Anaerobe*. 2008; 14(4): 205- 208.

39- Nourbakhsh L, Mohamadi Sani A, Milani E, Mansouri E. Evaluation of the in vitro effect of β-fructan extracted from Salsify root on growth of *B. bifidum* and *E. coli*. *Food Research Journal*. 2014; 23(4): 445-456. [In Persian]

40- Gill AO, Holley RA. Interactive inhibition of meat spoilage and pathogenic bacteria by lysozyme, nisin and EDTA in the presence of nitrite and sodium chloride at 24 degrees C. *Int J Food Microbiol*. 2003; 80(3): 251-259.

41- Huang Y, Ye M, Chen H. Efficacy of washing with hydrogen peroxide followed by aerosolized

antimicrobials as a novel sanitizing process to inactivate *Escherichia coli* O157:H7 on baby spinach. *Int J Food Microbiol*. 2012; 153(3): 306-313.

42- Cao Y, Gu W, Zhang J, Chu Y, Ye X, Hu Y, *et al*. Effects of chitosan, aqueous extract of ginger, onion and garlic on quality and shelf life of stewed-pork during refrigerated storage. *Food Chem*. 2013; 141(3): 1655-1660.

43- Pasha Zanussi MB, Reisi M, Mirkazemi Moghaddam S. Identification and Quantification of Compounds Present in Lemon Leaf Essential Oil Using GC-MS Spectrometry and Evaluation of Its Antibacterial and Antioxidant Activity. 5th National Conference on New Ideas in Agriculture; February 16, 2011; Azad University of Esfahan. 2011; P: 27-28. [In Persian]

44- Solomakos N, Govaris A, Koidis P, Botsoglou N. The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli* O157: H7 in minced beef during refrigerated storage. *Meat Sci*. 2008; 80(2): 159-166.

45- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official Methods Of Analysis of AOAC International. 16th ed. MD, Arlington; USA Association of Official Analytical Chemistry. 1995.

46- Basti AA, Misaghi A, Ghaibee S. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on probability of growth initiation of *Bacillus cereus* in brain heart infusion broth. *J Med Plants*. 2005; 4(16): 48-55. [In Persian]

47- Fisher K, Phillips CA. The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *staphylococcus aureus* in vitro and in food systems. *J Appl Microbiol*. 2006; 101(6): 1232-40.

48- Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernandez-Lopez J, Perez-Alvarez J. Antibacterial activity of lemon (*Citrus lemon*), mandarin (*Citrus reticulata*), grapefruit (*Citrus paradisi*) and orange (*Citrus sinensis*) essential oils. *J Food Saf*. 2008; 28(4): 567-576.

49- Ramos FA, Takaishi Y, Shirotori M, Kawaguchi Y, Tsuchiya K, Shibata H, *et al*. Antibacterial and antioxidant activities of quercetin oxidation products from yellow onion (*allium cepa*) skin. *J Agric Food Chem*. 2006; 54(10): 3551-3557.

50- De Souza EL, Montenegro Stanford TL, De Oliveira Lima E, Trajano VN, Barbosa Filho JM. Antimicrobial effectiveness of spices: an approach for use in food conservation systems. *Braz Arch Biol Technol*. 2005; 48(4): 549-558.

51- Misaghi A, Akhondzade Basti A. Effects of Zataria multiflora Boiss essential oil and nisin on *Bacillus cereus* ATCC 11778. *Food Control*. 2007; 18(9): 1043-1049.

52- Koji Yamazaki K, Yamamoto T, and Kawai Y, Inoue N. Enhancement of antilisterial activity of essential oil constituents by nisin and diglycerol fatty acid ester. *Food Microbiol*. 2004, 21(3): 283-289.

53- Gallo LI, Pilosof AMR, Jagus RJ. Effective control of *Listeria innocua* by combination of nisin, Ph and low temperature in liquid cheese whey. *Food Control*. 2007; 18(9): 1086-1092.

54- Periago PM, Palop A, Fernandes PS. Combined effect of nisin, carvacrol and thymol on the viability of *Bacillus cereus* heat-treated vegetative cells. *Food Sci Technol*. 2001; 7(6): 487-492.

55- Abee T. Pore- forming Bacteriocins of Gram- positive bacteria and self- protection mechanisms of producer organisms. *FEMS Microbiol Lett*. 1995; 129(1): 1-10.

56- Singh B, Falahee MB, Adams MR. Synergistic inhibition of *Listeria monocytogenes* by nisin and garlic extract. *Food Microbiol*. 2001; 18(2): 133-139.

57- Boziaris IS, Nychas GJE. Effect of nisin on growth boundaries of *Listeria monocytogenes* Scott A, at various temperatures, pH and water activities. *Food Microbiol*. 2006; 23(8): 779-784.

58- Lis-Balchin M, Steyrl H, Krenn E. The comparative effect of novel Pelargonium essential oils and their corresponding hydrosols as antimicrobial agents in a model food system. *Phytother Res*. 2003; 17(1): 60-65.

59- Lv F, Liang H, Yuan Q, Li C. In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. *Food Res Int*. 2011; 44(9): 3057-3064.

60- Razavi Rohani SM, Moradi M, and Mehdizadeh T. Antibacterial combined effects of nisin and onion essential oil under different concentration of NaCl and pH against *Listeria monocytogenes* in vitro. *Food Hygiene*. 2011; 1(3): 25-33. [In Persian]

New Findings in Veterinary Medicine
Homepage: nfvm.uoz.ac.ir
Semiannual - Print ISSN: 2645-4491 Online ISSN: 2676-5004

Volume 8, Issue 2, Summer 2025, pages: 52-64

Investigation of the Effect of Onion Extract, Lemon Essential Oil, and Nisin on the Behavior of *Escherichia coli* Inoculated in Minced Quail Meat Stored at 8°C

Zahra Afsharmanesh[1], Mohammad Rahnama*[2], Majid Alipour-Eskandani[2], Gholamhossein Haghayegh[3], Saeed Salari[4]

1- Graduated in MSc in Food Science and Engineering, Department of Food Industries, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.
2- Associate Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Food Industries, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.
4- Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.

Receive: June 09, 2025; Revise: August 17, 2025; Accept: August 19, 2025

10.22034/nfvm.2025.529414.1289

Summary

The use of preservatives with antibacterial properties in poultry products appears to be essential to control *Escherichia coli (E. coli)*, a most important bacterial species transmitted through poultry meat consumption. In this study, the antibacterial effects of onion extract, lemon essential oil, and nisin against *E. coli* in minced quail meat during refrigerated storage were investigated. The growth rate of *E. coli* in treatment groups containing onion extract (2.5%, 5%, and 10% concentrations), lemon essential oil (2, 5, 10, 20, and 30 microliters per gram), and nisin (5, 10, and 20 micrograms per gram) as well as control group (without preservatives) were examined periodically. Lemon essential oil at a concentration of 30 microliters per gram completely inhibited bacterial growth from day one until the end of the storage period, reducing the *E. coli* count to zero. Although onion extract and nisin had a minor inhibitory effect on *E. coli*, their combined use significantly enhanced their inhibitory effectiveness. Based on the results, onion extract combined with nisin and lemon essential oil can be considered as a natural antibacterial agent for quail meat.

Keywords: *Escherichia coli, quail, onion, lime, nisin*