

فعالیت ضد باکتریایی اسانس زیره سبز (*Cuminum cyminum*) و نیسین در مهار

باکتری *Streptococcus iniae* در محیط آزمایشگاه و فیله قزل آلا

لاله رومیانی*

L.roomiani@yahoo.com

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات خوزستان، گروه شیلات، خوزستان، ایران

تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۲

چکیده

اثر ضد باکتریایی غلظت های متفاوت اسانس زیره سبز (۰، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵، ۰/۰۴۵، ۰/۱۳۵، ۰/۴۰۵ درصد) و نیسین (۰، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ میکروگرم بر لیتر) در محیط آزمایشگاه و مدل غذایی (فیله ماهی قزل آلا) برای مهار باکتری *Streptococcus iniae* طی ۱۵ روز در دمای ۸ درجه سانتی گراد در سال ۱۳۹۲ بررسی گردید. برای این منظور، ابتدا با استفاده از روش رقت لوله ای حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) نیسین و اسانس زیره در آزمایشگاه بدست آمد و سپس برای استفاده در مدل غذایی بکار گرفته شد. نتایج نشان داد که (MIC) و (MBC) اسانس زیره و نیسین به ترتیب ۰/۰۱۵، ۰/۰۰۵ درصد و ۰/۱۲۵، ۰/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر بود. پس از ۱۵ روز نتایج نشان دادند که غلظت های مختلف اسانس زیره و نیسین برای کنترل رشد باکتری در فیله ماهی مورد نظر با گروه شاهد دارای اختلاف معنی دار بودند. نتایج حاکی از آن بود که ماده نگهدارنده نیسین تا روز سوم و اسانس زیره تا روز ششم (در بالاترین غلظت اسانس) و در ترکیب با هم تا روز ششم توانستند مانع رشد باکتری شوند. بیشترین تاثیر اسانس زیره سبز با نیسین در تیمار ۰/۱۳۵ و ۰/۴۰۵ درصد اسانس با ۰/۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر نیسین اتفاق افتاد. نیسین همراه با اسانس زیره سبز توانستند تاثیر مثبتی در کنترل باکتری فوق در فیله ماهی قزل آلا داشته باشند.

کلمات کلیدی: نیسین، اسانس زیره سبز، استرپتوکوکوس اینیایی، قزل آلا

مقدمه

زیره سبز (*Cuminum cyminum*) در نواحی وسیعی با آب و هوای مدیترانه ای می روید و از زمان‌های گذشته بعنوان ادویه و داروی طب سنتی شناخته شده است. بیشترین ترکیبات اسانس دانه زیره سبز شامل کومین آلدهید، بنزالدهید، مشتقات منتون، گاما ترپینن و پاراسیمن می باشند که در مناطق مختلف جغرافیایی درصد آنها متفاوت است (پژوهی الموتی و همکاران، ۱۳۹۱).

نیسین تنها باکتریوسینی است که در صنایع و کارخانجات مواد غذایی بیش از ۵۰ کشور جهان به عنوان افزودنی برای ایمنی و افزایش مدت زمان مصرف محصولات غذایی بکار می رود (Abdollahzadeh et al., 2013).

ترکیب اسانس‌های گیاهان با نیسین تاثیرات سینرژیکی روی کاهش ATP برون سلولی میکروارگانیسم ها دارد. نکته قابل توجه این است که اگر مواد نگهدارنده طبیعی بجای مواد شیمیایی در مواد غذایی استفاده شوند لازم است که ارزیابی فعالیت ضد میکروبی آنها در آزمایشگاه و سپس در مدل های غذایی صورت گیرد. بنابراین ما نیازمند به پیشرفت تکنیک های جدید برای حذف یا کاهش عوامل بیماری زای مواد غذایی از طریق ترکیب شیوه های نوین با روش های امروزه هستیم (Norhana et al., 2012).

اگرچه اکثریت اسانس ها بعنوان افزودنی های بی خطر طبقه بندی می شوند، اما غلظت های موثر آنها از مقادیر پذیرش حسی در مواد غذایی تجاوز می کند. به همین دلیل کاربرد اسانس ها در مواد غذایی بعنوان محافظت کننده بدلیل تأثیرات نامطلوب در خصوصیات حسی غذا محدود می گردد. بنابراین تقاضا برای شناخت صحیح مقادیر موثر و کاربردی اسانس ها همراه با ایجاد تعادل بین پذیرش حسی و تأثیر ضد میکروبی آنها رو به افزایش بوده و تحقیقات گسترده ای بر روی اسانس ها در مواد غذایی مختلف صورت گرفته است (پژوهی الموتی و همکاران، ۱۳۹۱).

در میان عوامل بیماری زای مواد غذایی، باکتری استرپتوکوکوس اینیایی عامل بیماری زای مشترک در ماهی و انسان و از پاتوژن های مهم نوظهور در چند دهه اخیر بوده است. در جهان حداقل ۲۵ مورد عفونت انسانی ناشی از باکتری فوق

در مقالات علمی مختلف گزارش شده است. باکتری فوق حداقل از ۲۷ گونه اقتصادی ماهیان پرورشی آب شور و شیرین جدا شده است (Sun et al., 2013).

امروزه تحقیقات قابل توجهی بر روی بهبود کیفیت و افزایش مدت زمان مصرف ماهی مانند استفاده از اسانس های گیاهی، پوشش های خوراکی، دودی کردن، روش های پیشرفته انجماد و اتمسفر تغییر یافته انجام گردیده است. از وقتی که عوارض جانبی مواد شیمیایی بخصوص سرطان زا بودن آنها شناخته شد، علاقه روزافزون برای استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی بیشتر گردید (Hong et al., 2012).

هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر سینرژیک نیسین و اسانس زیره سبز برای کنترل باکتری زئونوز استرپتوکوکوس اینیایی در فیله ماهی قزل آلا می باشد.

مواد و روش کار

اسانس گیاه زیره سبز (*Cuminum cyminum*) از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تهیه شد. به این ترتیب که اسانس گیاه به روش تقطیر با بخار (Steam distillation) با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) به دست آمد. دستگاه (GC/MS) از نوع (Termostequest Finnigan) با ستون موئینه به طول ۳۰ متر و قطر داخل ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر با برنامه دمایی ۵۰ تا ۲۶۵ و همراه با افزایش تدریجی ۲/۵ در هر دقیقه و نگهداری ستون در ۲۶۵ به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه فارنهایت و گاز حاصل از هلیوم با سرعت ۱/۵ میلی متر در دقیقه بود. شناساگر (EI) با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ درجه فارنهایت بود (فضل آرا و همکاران، ۱۳۹۱).

کشت لیوفیلیزه باکتری *Streptococcus iniae* (GQ850377) از گروه بهداشت و بیماری های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران مورد استفاده قرار گرفت. در ابتدا این کشت لیوفیلیزه در عصاره قلب و مغز (BHI) در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۸ ساعت دو مرتبه بطور متوالی تجدید

شدند که پس از جدا کردن سر و دم و خارج کردن محتویات آنها به فیله‌های ۲۵ گرمی با اندازه ۸×۳ سانتی متر مربع تقسیم شدند و با بسته بندی بصورت تکی در کیسه های فریزر همراه با یخ به سازمان انرژی اتمی فرستاده شده و تا حدود ۵ کیلوگرمی اشعه گاما به آنها داده شد تا از عدم وجود کلیه میکروارگانیسم‌ها اطمینان حاصل گردد (Ekhtiarzadeh *et al.*, 2012). فیله‌ها در شیشه های بزرگ دردار که حاوی آب مقطر، دی متیل سولفوکساید (Dimethyl Sulfoxide) (DMSO) ۵ درصد و آگار آگار ۱ درصد بود قرار داده شد و در دمای ۱۲۱/۱ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند. غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز (۰، ۰/۰۴۵، ۰/۱۳۵، ۰/۴۰۵ درصد) (براساس می نیمم غلظت بازدارنده اسانس (MIC) بدست آمده در آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انتخاب شدند. از آنجاییکه غلظت‌های مورد استفاده در محیط آزمایشگاه و ماده غذایی به علت وجود چربی، پروتئین، کربوهیدرات و تعامل آنها با اسانس، تاثیرات متفاوتی دارند، بنابراین از یک غلظت بالاتر استفاده شد و نیسین (۰، ۰/۲۵، ۰/۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر) و ترکیب آن‌ها با همدیگر به شیشه‌های دردار استریل اضافه شدند. سپس فیله‌های ماهی را در زیر هود به ظروف دردار اضافه کرده و در یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت باقی ماندند و فیله‌های ماهی در این مدت مواد را به خوبی جذب کنند. پس از ۲۴ ساعت در زیر هود، برش‌های ماهی توسط پنس استریل از ظروف دردار به پلیت‌های استریل منتقل گشته و تنظیم وزن آنها انجام شد. پس از مدت ۱۵ دقیقه نسبت به تلقیح دوز مورد اشاره باکتری به روش تلقیح نقطه‌ای بر روی آنها اقدام گردید. سپس یک فیله از هر تیمار را داخل یک کیسه (Bag mixer) استریل قرار داده شد، روی آن برچسب زده و درب آن محکم بسته شد و در انکوباتور ۸ درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس به مدت ۱۵ روز از نظر رشد باکتری و رسیدن به حد دوز مسمومیت زا یعنی 10^6 بررسی شدند.

داده‌های دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS20 مورد تجزیه و تحلیل توصیفی قرار گرفتند. ابتدا از تجزیه واریانس یکطرفه جهت مقایسه میانگین‌ها استفاده شد و در مواردی که بین میانگین‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشت جهت جدا کردن

کشت گردید. سپس کشت دوم به میزان ۵ به ۱ با گلیسرین مخلوط شد و در قسمت های مساوی در لوله های میکروسانتریفیوژ اپندروف استریل در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد (Soltani *et al.*, 2009).

در مطالعه حاضر، از پودر نیسین ۲/۵ درصد (Sigma 5764) استفاده شد. این ماده تا زمان استفاده بایستی در دمای ۲ تا ۸ درجه سلسیوس نگهداری شود. مقدار ۵۰ میلی لیتر آب مقطر استریل را با ۸۰ میکرولیتر اسید کلریدریک ۰/۰۲ نرمال حل کرده و در ظرف درداری، که از قبل استریل شده بود، مخلوط شد (اسید به آب اضافه شد). سپس ۵۰۰ میلی گرم پودر نیسین را در ۵۰ میلی لیتر اسید آماده شده بخوبی حل کرده بطوری که در ظرف استریل دیگری این محلول از فیلتر ۰/۲ میکرومتری عبور داده شد و با استفاده از رابطه $N_1 V_1 = N_2 V_2$ مقدار مورد نظر از آن را برداشته و به ظروف دردار افزوده و پس از پخش شدن آن در آب، برش های ماهی های مورد نظر به آن اضافه گردید (Rahnema *et al.*, 2011).

غلظت های متوالی اسانس زیره (۰، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵، ۰/۰۴۵، ۰/۱۳۵، ۰/۴۰۵ درصد) و نیسین (۰، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ میکروگرم بر لیتر) در محیط آبگوشت قلب و مغز حاوی ۵ درصد DMSO به کار گرفته شد. غلظت های متوالی ترکیبات مورد نظر در دو لوله آزمایش حاوی ۲ میلی لیتر از محیط فوق در لوله‌های آزمایش تهیه شد و در نهایت ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده به هر لوله تلقیح شد (غلظت نهایی باکتری $10^5 \times 5$ cfu/ml). سپس لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۵ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند و کدورت یا عدم کدورت در لوله‌ها مشاهده شد و MIC (Minimum Inhibitory Concentration) اسانس و نیسین تعیین شدند.

پس از تعیین MIC که دلیل بر عدم رشد باکتری در آن لوله است، تعیین MBC (Minimum Bacteriocidal Concentration) که حداقل غلظت باکتری کشی است، انجام گرفت. این کار با استفاده از عدم رشد باکتری به دنبال تلقیح مجدد از پلیت‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زیره و نیسین به محیط آگار تعیین شد.

در این مطالعه از ماهی قزل آلائی رنگین کمان ۲۵۰ گرمی استفاده شد. ماهیان مورد نظر از ماهی سرای کرج خریداری

در آزمایشگاه میزان MIC و MBC اسانس زیره سبز به ترتیب ۰/۰۱۵ و ۰/۰۰۵ درصد و نیسین ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه شد، که برای استفاده در مدل غذایی (فیله ماهی قزل آلا) بکار گرفته شدند.

لگاریتم رشد استرپتوکوکوس اینیایی در فیله‌های قزل‌آلای رنگین کمان در دمای ۸ درجه سانتیگراد تحت غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز و نیسین و ترکیب آنها در نمودارهای (۱ تا ۳) آورده شده است. همانطور که از نمودار مشخص است غلظت‌های متفاوت نیسین با گروه کنترل تفاوت معنی‌دار آماری نشان دادند ($P \leq 0/05$). نیسین توانست تا روز سوم مانع رشد باکتری در فیله شود و از روز سوم به بعد رشد باکتری به بالاتر از حد مجاز رسید ($10^7 \log \text{cfu/ml}$). همانطور که از نمودار ۱ مشخص می‌شود نیسین تا روز سوم توانست مانع رشد باکتری شود که در روز صفر و سوم تیمار ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر نیسین با گروه کنترل تفاوت معنی‌دار آماری داشتند ($P \leq 0/05$). تیمار ۰/۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر نیسین بیشترین تاثیر ضد باکتریایی را داشت ($5/17 \log \text{cfu/ml}$) ولی با تیمار ۰/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر نیسین تفاوت معنی‌دار نداشت ($P \leq 0/05$).

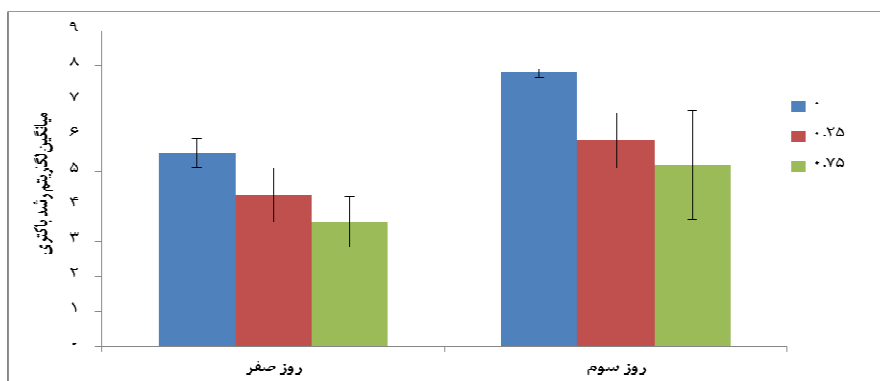
آنها از تست Tukey استفاده گردید. میانگین‌ها در سطح اعتماد ۹۵ درصد از نظر آماری متفاوت بودند.

نتایج

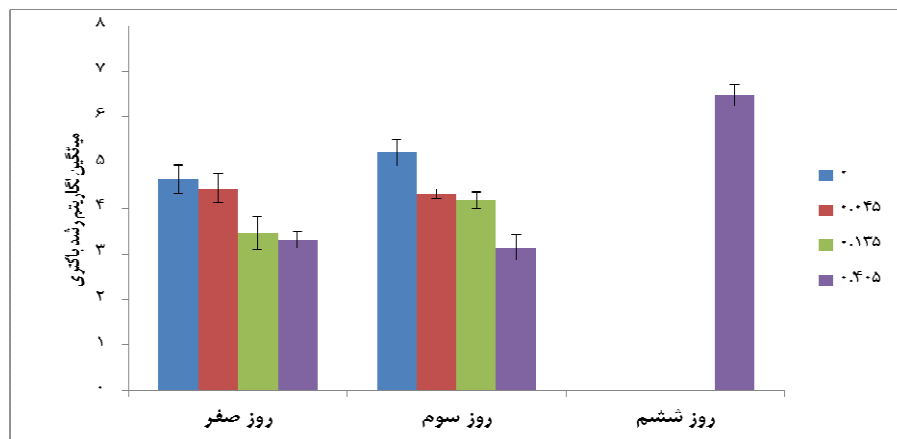
نتایج حاصل از آنالیز اسانس زیره سبز توسط دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی شامل درصد، نوع ترکیبات و زمان نگهداری آنها در جدول ۱ ارائه شده است. همانطور که از جدول ۱ آشکار می‌گردد، بیشترین ترکیب اسانس زیره سبز با ۲۷/۱۸ درصد مربوط به بنزالدهید است.

جدول ۱: ترکیب شیمیایی اسانس زیره سبز توسط GC/MS

ترکیب	درصد	زمان نگهداری (دقیقه)
B pinene	۷/۱۱	۱۳/۰۷
Benzene 1 methyl	۷/۷۳	۱۵/۵۷
B phellandrene	۱/۰۱	۱۵/۶۹
Gama terpinene	۱۲/۵۶	۱۷/۳۶
Isopropylbicyclo	۲/۷۶	۲۳/۸۸
Benzaldehyde	۲۷/۱۸	۲۶/۴۶
Isopropylidene	۳/۷۷	۲۸/۱۱
Phenylpropanol	۱۷/۵	۲۸/۷۴
Benzenemethanol	۱۰/۸۲	۲۸/۹۹
Ethanediol	۳/۰۲	۲۹/۳۵
جمع	۹۳/۴۶	



نمودار ۱: میانگین لگاریتم رشد باکتری تحت غلظت‌های متفاوت نیسین (میکروگرم بر میلی لیتر) بارها نمایانگر خطای استاندارد می‌باشند.



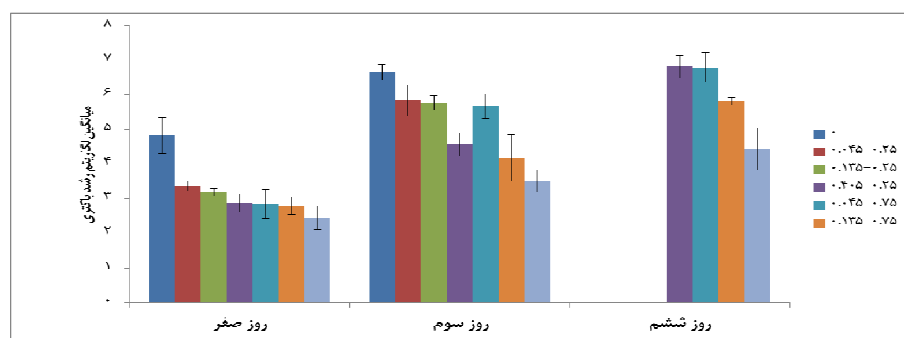
نمودار ۲- میانگین لگاریتم رشد باکتری تحت غلظت‌های متفاوت اسانس زیره سبز (درصد).
بارها نمایانگر خطای استاندارد میباشند.

زیر حد مسمومیت زای آن ($\log \text{cfu/ml}$) برسانند و از روز نهم رشد باکتری به بالاتر از این حد رسید. در روز صفر و سوم تمامی تیمارها با گروه کنترل تفاوت معنی دار آماری نشان دادند ($P \leq 0.05$).

در روز ششم تیمارهای 0.135 و 0.405 درصد اسانس با تیمار 0.75 میکروگرم بر میلی لیتر نیسین تفاوت معنی دار آماری در کنترل باکتری نداشتند ($P \leq 0.05$).

نمودار ۳ نشان می دهد که تیمار 0.405 درصد اسانس زیره سبز توانست تا روز ششم مانع رشد باکتری شود ($\log \text{cfu/ml}$ 6.184). در روز صفر تیمار 0.405 درصد اسانس تفاوت معنی داری در کاهش باکتری با گروه کنترل نشان نداد ($P \leq 0.05$). در روز سوم هر سه تیمار اسانس با گروه کنترل تفاوت معنی دار آماری داشتند ($P \leq 0.05$).

نمودار ۳ مشخص می سازد که ترکیب اسانس زیره با نیسین از تیمار بیشترین غلظت اسانس با 0.25 میکروگرم بر میلی لیتر نیسین تا تمامی تیمارهای اسانس با بیشترین تیمار نیسین (0.75 میکروگرم بر میلی لیتر) توانستند تا روز ششم باکتری را



نمودار ۳: میانگین لگاریتم رشد باکتری تحت غلظت‌های متفاوت نیسین (میکروگرم بر میلی لیتر) و اسانس زیره سبز (درصد).
بارها نمایانگر خطای استاندارد میباشند

اینیابی (باکتری نوظهور و زئونوز مواد غذایی) شده است. نتایج این بررسی نشان دادند که در دمای ۸ درجه سانتی گراد اسانس زیره سبز و نیسین به صورت توأم با هم توانستند تأثیر بیشتری در ممانعت رشد باکتری نسبت به گروه کنترل و به

بحث

در این بررسی برای اولین بار در یک مدل غذایی (فیله ماهی) با استفاده از تکنولوژی ممانعتی سعی به بررسی اثر اسانس زیره سبز و نیسین به تنهایی و توأم در کنترل استریپتوکوکوس

پاراهمولایتیکوس در ۸ درجه سلسیوس (گروه کنترل) در روز اول کشت متوقف گردید و به زیر $2 \log \text{cfu/ml}$ رسید. بهترین اثر بازدارندگی اسانس در ترکیب با نیسین برای باکتری ویبریو پاراهمولایتیکوس در غلظت 0.405 درصد اسانس و 0.75 میکروگرم بر میلی لیتر نیسین (مشابه با مطالعه حاضر) و برای لیستریا مونوسیتوژنز 0.405 درصد اسانس و 0.25 میکروگرم بر میلی لیتر نیسین حاصل شد. نتایج مطالعه ثابت کرد که دما نقش مهمی در کنترل باکتری تحت تاثیر نگهدارنده‌های طبیعی ایفا می‌کند. نتایج مطالعه‌ای که در آن اثر اسانس رزماری، دارچین و نیسین روی فیله ماهی بررسی شد، اسانس دارچین و رزماری بیشترین فعالیت ضد باکتریایی را علیه لیستریا مونوسیتوژنز از خود نشان دادند. نیسین در غلظت های 500 و 1000 واحد بین‌المللی توانست تاثیر ضد باکتری از خود نشان دهد.

تفاوت نتایج مطالعات پیشین با نتایج بررسی حاضر می‌تواند به علت اختلاف در اسانس بکار گرفته شده باشد. اختلاف در ترکیبات روغن های فرار گیاهان می‌تواند مربوط به تغییرات فصلی و دوره رویشی گیاه باشد. ضمن اینکه فاکتورهای محیط زیستی مانند دما، شرایط جغرافیایی، طول مدت روز، مواد مغذی در دسترس گیاه می‌توانند نقش کلیدی در ترکیبات اسانس داشته باشند (Machado et al., 2013). از طرفی نیسین و اسانس می‌توانند روی غشای سیتوپلاسم باکتری اثر بگذارند و در نهایت موجب افزایش تخریب ساختاری و عملکردی غشای باکتری ها شوند اما نیسین در عملکرد با اسانسها و شرایط محیط زیستی مختلف متفاوت عمل می‌کند (Guo et al., 2012).

تاریخ مصرف محصولات شیلاتی در دمای یخچال (۴ درجه سلسیوس) ۴ تا ۹ روز اعلام شده است. ثابت شده است که استفاده از اسانس‌های گیاهی در ترکیب با دمای یخچالی روش موثری برای افزایش تاریخ مصرف غذا است. مدل های ریاضی برای پیشگویی عوامل بیماری زای منتقله از طریق غذا در محیط آزمایشگاه (براث) نسبت به مدل های غذایی قابلیت پاسخگویی بیشتر و بهتری دارد چون شمارش عوامل بیماری زا در غذا با میکروفلور طبیعی موجود در آن مشکل است. هر چند مدل های پیشرفته در محیط های براث استریل شده همیشه از پیشگویی های قابل اعتمادی در مورد رشد میکروارگانیسم ها در غذاهای استریل نشده و غیر یکنواخت برخوردار نیستند (Rey et al., 2012).

پیشنهاد می‌شود که روغن های فرار یا ترکیبات آنها بصورت بخشی از سیستم ممانعتی در نظر گرفته شوند و می‌توان از آنها بصورت ترکیبات ضد میکروبی در خلال سایر تکنیک‌های نگهداری

تنهایی شوند که اسانس زیره موثرتر از نیسین عمل کرد. تیمار ترکیبی 0.405 درصد اسانس و 0.75 میکروگرم بر میلی لیتر نیسین توانست بیشترین کاهش را در رشد باکتری از خود نشان دهد ($4.44 \log \text{cfu/ml}$) و با اینکه تیمار 0.135 درصد اسانس با 0.75 میکروگرم بر میلی لیتر نیسین توانست در رشد باکتری تاثیر کمتری داشته باشد ($5.82 \log \text{cfu/ml}$) ولی با تیمار 0.405 درصد اسانس تفاوت معنی دار آماری نشان نداد و تا شش روز ماندگاری فیله را افزایش داد، در حالیکه تیمار 0.75 میکروگرم بر میلی لیتر نیسین به تنهایی تا روز سوم توانست مانع از رشد باکتری شود ($5.17 \log \text{cfu/ml}$) اما تیمار 0.405 درصد اسانس زیره نیز تا روز ششم مانع رشد استرپتوکوکوس اینیایی در فیله شد ($6.84 \log \text{cfu/ml}$) که از تفاوت معنی دار آماری برخوردار بودند.

تاثیر اسانس آویشن شیرازی و نیسین به تنهایی و به صورت ترکیبی با هم در مدل غذایی برای مهار لاکتوکوکوس گارویه در یک دوره ۹ روزه را مورد مطالعه قرار داد. نتایج حاصله نشان داد که نیسین در سه غلظت متفاوت علیه این باکتری موثر بوده است. به طوریکه با توجه به عدد t در غلظت 0.75 میکروگرم بر میلی لیتر این اثرگذاری به میزان $65/77$ درصد بیشترین تاثیر را بر روی رشد باکتری داشته است. به لحاظ اثر گذاری، اسانس آویشن بر روی رشد لاکتوکوکوس گارویه در تمامی غلظت‌های مورد نظر مورد تایید واقع گردیده است اما با توجه به عدد t در غلظت 0.405 درصد این اثرگذاری به میزان $71/91$ درصد بیشترین تاثیر را بر رشد باکتری ها به همراه داشته است. نتایج حاصله نشان داد که استفاده توأم دارای بیشترین اثر علیه لاکتوکوکوس گارویه بوده است.

تاثیر اسانس رزماری و نیسین را بر رفتار رشد استرپتوکوکوس اینیایی بررسی کرد و به این نتیجه رسید که در دمای ۸ درجه سانتی گراد در تمام غلظت های نیسین و رزماری از روز سوم به بعد نگهدارنده ها نتوانستند مانع رشد باکتری شوند. غلظت های مختلف رزماری و نیسین برای کنترل رشد باکتری مورد نظر با گروه شاهد دارای اختلاف معنی دار آماری بودند اما غلظت های بالای اسانس رزماری (0.135) و 0.405 درصد) تفاوت معنی دار نشان ندادند که با مطالعه فعلی همخوانی دارد.

رفتار رشد باکتریهای ویبریو پاراهمولایتیکوس و لیستریا مونوسیتوژنز در فیله ماهیان شور شده تحت تاثیر نیسین و اسانس آویشن شیرازی و ترکیب آنها با هم گزارش شد (Ekhtiarzadeh et al., 2012). برای باکتری لیستریا مونوسیتوژنز اثر بازدارندگی اسانس و در ترکیب با نیسین در دمای ۴ درجه سلسیوس مشاهده شد. رشد باکتری ویبریو

- Pazini F.L., Dalmarco J.B., Simionatto E.L., Pizzolatti M.G., Rodrigues A.L.S., 2012.** Antidepressant-like effects of fractions, essential oil, carnosol and betulinic acid isolated from *Rosmarinus officinalis* L. *Journal of Food Chemistry*, 136: 999–1005.
- Norhana M.N.W., Poole S.E., Deeth H.C., Gary A., Dykes A., 2012.** Effects of nisin, EDTA and salts of organic acids on *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* and native microflora on fresh vacuum packaged shrimps stored at 4°C. *Journal of Food Microbiology*, 31: 43-50.
- Rahnama M., Najimi M., Shahraki A., 2011.** Antibacterial effects of *Myristica fragrans*, *Zataria multiflora* Boiss, *Syzygium aromaticum*, and *Zingiber officinale* Rosci essential oils, alone and in combination with nisin on *Listeria monocytogenes*. *Academic Journal*.21(6): 1313 - 1316
- Rey M.S., García-Soto B., Fuertes-Gamundi J.R., Aubourg S., Barros-Velázquez J., 2012.** Effect of a natural organic acid-icing system on the microbiological quality of commercially relevant chilled fish species. *Journal of Food Science and Technology*, 46: 217-223.
- Soltani M., Ghodrattena M., Ahari H., Ebrahimzadeh Mousavi H.A., Atee M., Dastmalchi F., Rahmánya J., 2009.** The inhibitory effect of silver nanoparticles on the bacterial fish pathogens, and *Streptococcus iniae*, *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri* and *Aeromonas hydrophila*. *International Journal of Veterinary Research* .3(2): 137-142.
- Sun Y., Sun L., Xing M., Liu C. Hu Y., 2013.** Sag E induces highly effective protective immunity against *Streptococcus iniae* mainly through an immunogenic domain in the extracellular region. *Journal of Acta Veterinaria Scandinavica*, 55: 2-9.
- مانند دمای کاهش یافته، pH کاهش یافته یا استفاده از اثر سینرژتیک روغن های فرار و ترکیبات آنها سود برد.
- ### منابع
- پژوهی الموتی، م.ح.؛ تاجیک، ح.؛ آخوندزاده، ا.؛ گندمی، ح. و احسانی، ع.، ۱۳۹۱. مطالعه ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس های پونه کوهی و زیره سبز در سوپ. فصلنامه علوم و صنایع غذایی. شماره ۴۵-۳۳: ۳۶(۹).
فضل آرا، ع.؛ صادقی، ا. و رستمی سلیمانی، پ.، ۱۳۹۱. مطالعه تاثیر اسانس گیاه زیره سبز بر باکتری لیستریا مونوسیوتوزنز در پنیر سفید ایرانی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی. سال ۳۵، شماره ۹، صفحات ۴۴ تا ۳۵.
- Abdollahzadeh E., Rezaei M., Hosseini H., 2013.** 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. *Journal of Food Control*, 35(1): 177–183.
- Ekhtiarzadeh H., Akhondzadeh Basti A., Misaghi A., Sari A., Khanjar A., Rokni N., Abbaszadeh S., Partovi R., 2012.** Growth response of *Vibrio parahaemolyticus* and *Listeria monocytogenes* in salted fish fillets as affected by *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil, nisin and their combination. *Journal of Food Processing and Preservation*. 32(3): 263–269
- Guo J.J., Kuo C.M., Chuang Y.C., Hong J.W., Chou R.L., Chen T.I., 2012.** The effects of garlic-supplemented diets on antibacterial activity against *Streptococcus iniae* and on growth in orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*. *Journal of Aquaculture*, 364 (365): 33-38.
- Hong H., Luo Y., Zhou Z., Shen H., 2012.** Effects of low concentration of salt and sucrose on the quality of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) fillets stored at 4 °C. *Journal of Food Chemistry*, 133: 102–107.
- Machado D.G., Cunha M.P., Neis V.B., Balen G.O., Colla A., Bettio L.E.B., Oliveira A.,**

Antibacterial activity *Cuminum cyminum* essential oil and Nisin on control *Streptococcus iniae* in lab and fillets of Rainbow trout

Laleh Roomiani

L.roomiani@yahoo.com

1- Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Khuzestan, Iran

Received: May 2013

Accepted: August 2013

Keywords: Plant extract, Antibacterial activity, Food Processing

Abstract

Effect of antibacterial activity of different concentrations *Cuminum cyminum* essential oil (0, 0.005, 0.015, 0.045, 0.135, 0.405%) and nisin (0, 0.125, 0.25, 0.75 µg/ml) was carried out to evaluate in lab and food model (fillets of Rainbow trout) on control *Streptococcus iniae* for 15 days at 8 °C in 2013. In lab, micro-dilution method was used for determine MIC and MBC of nisin and essential oil, so used for food model. Results showed that MIC and MBC essential oil and nisin were 0.015, 0.005% and 0.25, 0.125µg/ml, respectively. Since 15 days, according to the results, statistical significant showed between concentrations of nisin and essential oil with control treatment ($P < 0.05$). Results showed growth of bacterial delayed in different samples treated with nisin and essential oil singly to 3 and 6 days and in combination 6 days. The highest synergistic effect of nisin with essential oil in 0.135 and 0.405% concentration of essential oil and 0.75 µg/ml nisin in 8°C.