

“Research article”

DOI: 10.30495/JFH.2024.2003124.1431

A comparative study of the antimicrobial properties of nisin and natamycin in pasteurized liquid egg white and increasing its shelf life

Yaghma, E.¹, Torbati, M. A.^{2*}, Javadi, A.^{3,4}

1. M. Sc. of Food Science and Technology, Tabriz University, Tabriz, Tabriz, Iran

2. Department of Food Science and Technology, Faculty of Nutrition and Food Sciences, Tabriz University of Medical Sciences and Health-Therapeutic Services, Tabriz, Iran

3. Department of Food Hygiene, College of Veterinary, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

4. Health Promotion Research Center, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

*Corresponding author E-mail: torbati.ma@gmail.com

(Received: 2023/11/22 Accepted: 2024/1/17)

Abstract

This study aims to compare the antimicrobial properties of nisin and natamycin in pasteurized liquid egg whites. After breaking and processing the eggs and performing operations such as filtration and homogenization, the egg white liquid undergoes pasteurization at 56-57 °C for 10 minutes with a flow rate of 1800 m³/s. Following pasteurization, the liquid is mixed with 0.08% and 0.1% solutions of nisin and natamycin in packaging tanks. Microbial tests are conducted at 0, 7, 14, and 30 days of storage. Based on the results, the antimicrobial effect of both natural preservatives nisin and natamycin in the microbial tests of total count, coliform, mold, and yeast have a significant difference at the probability level of 5%. In the total count test, 0.1% nisin on the seventh day exhibits the lowest total count (1.71 log CFU/g), while the control sample on the 30th day shows the highest (4/49 log CFU/g). For natamycin, 0.1% on the seventh day and 0.08% on the seventh day have the lowest counts (2.63 log CFU/g and 2.67 log CFU/g) respectively, and the control sample on the 30th day has the highest (4.5 log CFU/g). No microorganism growth is observed in samples containing nisin and natamycin for coliform, mold, yeast, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and Salmonella tests. Nisin demonstrates a more intense reduction in total count compared to natamycin, indicating superior antimicrobial properties and increased shelf life over time.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Pasteurized liquid egg white, Shelf life, Antimicrobial, Natamycin, Nisin

DOI: 10.30495/JFH.2024.2003124.1431

«مقاله پژوهشی»

مطالعه مقایسه‌ای خاصیت ضد میکروبی نایسین و ناتامایسین در سفیده تخم مرغ مایع

پاستوریزه و افزایش زمان ماندگاری آن

خاصیت ضد میکروبی نایسین و ناتامایسین در سفیده تخم مرغ پاستوریزه

الهام یغما^۱، محمدعلی تربتی^{۲*}، افشین جوادی^۳ و^۴

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی تبریز، تبریز، ایران

۳- استاد گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۴- مرکز تحقیقات ارتقاء سلامت، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

*نویسنده مسئول: torbatima@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۹/۱۴ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۱۰/۲۷)

چکیده

هدف مطالعه حاضر مقایسه خاصیت ضد میکروبی نایسین و ناتامایسین در سفیده تخم مرغ مایع پاستوریزه می باشد. برای این منظور ابتدا تخم مرغ‌ها پس از شسته شدن و انجام عملیاتی همچون فیلتراسیون و هموژناسیون، مایع سفیده تخم مرغ به داخل مخازن جهت انجام پاستوریزاسیون در دمای ۵۶ تا ۵۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه و با دبی $1800 \text{ m}^3/\text{s}$ هدایت می شود و بعد از اتمام پاستوریزاسیون به داخل مخزن بسته بندی جهت مخلوط با محلول های ۰/۸ و ۰/۱ درصدی نایسین و ناتامایسین انتقال می یابد. سپس آزمون های میکروبی در زمان های نگهداری صفر، هفت، چهارده و سی روز بررسی شدند. بر اساس نتایج هر دو نگهدارنده طبیعی نایسین و ناتامایسین از نظر شمارش کلی، کلی فرم و کپک و مخمر در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری با بقیه نمونه ها دارند. در شمارش کلی نمونه حاوی نایسین ۰/۱٪ روز هفتم نگهداری با $1/71 \log \text{CFU/g}$ کمترین شمارش کلی و نمونه شاهد روز سی ام با $4/49 \log \text{CFU/g}$ بیشترین میزان شمارش را دارد. در مورد ناتامایسین نیز نمونه های ۰/۱٪ روز هفتم و ۰/۰۸٪ روز هفتم هر دو به ترتیب با $2/63 \log \text{CFU/g}$ و $2/67 \log \text{CFU/g}$ کمترین و نمونه کنترل روز سی ام نیز با $4/5 \log \text{CFU/g}$ بیشترین میزان شمارش کلی را دارد. در آزمون های کلی فرم، کپک و مخمر، اشریشیاکولای، استافیلوکوکوس آرتوس و سالمونلا نیز در تمامی نمونه های حاوی نایسین و ناتامایسین رشد هیچ میکروارگانیسمی دیده نشد. میزان شدت کاهش شمارش کلی در نمونه های نایسین نسبت به ناتامایسین بیشتر است و با گذشت زمان، خاصیت ضد میکروبی خود را بیشتر نشان داده است.

واژه های کلیدی: سفیده تخم مرغ مایع پاستوریزه، زمان ماندگاری، ضد میکروبی، ناتامایسین، نایسین

مقدمه

رشد میکروبی بر روی سطوح مواد غذایی، که می‌تواند از آلودگی پس پردازش در طول رسیدگی و بسته‌بندی ناشی شود، منجر به فساد مواد غذایی، بیماری‌های جدی و زیان‌های ناشی از آن برای صنعت مواد غذایی می‌شود (Ariyapitipun *et al.*, 2000; Avery and Buncic, 1997). عوامل ضد میکروبی را می‌توان از طریق تکنیک‌های کاربرد مستقیم مانند فرو بردن، اسپری کردن و یا شستشو با برس برای حذف آلودگی، بر روی سطوح غذایی به کار برد. کاربرد مستقیم مواد ضد میکروبی ممکن است منجر به خنثی‌سازی یا تبخیر عوامل فعال و انتشار سریع از سطح به بخش‌های داخلی غذاها شود. قرار دادن عوامل ضد میکروبی طبیعی در مواد بسته‌بندی زیستی یک روش نوآورانه برای غلبه بر این مشکلات است (Ture *et al.*, 2008). از گذشته تا حال، محصولات لبنی سهم قابل توجهی حدود ۴۳٪ از بازار غذاها و نوشیدنی‌های عملکردی را دارا می‌باشند (Tavakli, 2019). در pH پایین، باکتری‌ها با تولید اسید لاکتیک، سطح اسیدیته را افزایش و در نتیجه کیفیت محصول را کاهش می‌دهند، بنابراین جلوگیری از کاهش pH و افزایش تعداد باکتری، دو عامل حیاتی برای افزایش عمر مفید این محصولات است (Bodaszewska, 2012). لذا با توجه به قلیایی بودن پروتئین سفیده تخم مرغ، برخلاف شیر و پروتئین‌های لبنی، با کنترل pH آن، می‌توان فساد اسیدی را کاهش داد (Buncic *et al.*, 1995).

یکی از انواع روش‌های تامین پروتئین در ورزشکاران، مصرف سفیده تخم مرغ مایع به صورت خام است که عوارض جانبی زیادی از جمله عدم

هضم و جذب در بدن (به خاطر وجود آویدین در سفیده تخم مرغ) را دارد و علاوه بر آن آویدین، مانع جذب بیوتین در بدن می‌شود، عوارض پوستی و مشکلات بینایی ایجاد می‌کند و خطرات باکتری سالمونلا نیز وجود دارد که پودر سفیده تخم مرغ، فاقد این مشکلات است. نوع دیگر مصرف سفیده تخم مرغ به شکل پخته می‌باشد که پختن تخم مرغ و جداسازی پوسته و سفیده از زرده بسیار وقتگیر است، لذا سفیده تخم مرغ پاستوریزه آماده مصرف در باشگاه‌ها و مدارس به سهولت در هر زمان قابل مصرف است (Cegielska-Radziejewska *et al.*, 2008; Davies, 2009; Pina-Pérez *et al.*, 1997).

نگهدارنده‌ها موادی هستند که اجازه رشد میکروارگانیسم‌ها (باکتری‌ها، مخمرها و کپک‌ها یا قارچ‌ها) را در مواد غذایی مختلف که به صورت صنعتی تولید می‌شوند، نمی‌دهند. نگهدارنده‌ها بطور عمده به دو دسته طبیعی و شیمیایی تقسیم‌بندی می‌شوند. نگهدارنده‌های شیمیایی برای جلوگیری یا به تأخیر انداختن فساد مواد غذایی دارای کاربرد وسیع اما سرطان‌زا و سمی هستند (Tavakli, 2019). بسیاری از مواد شیمیایی ضد میکروبی برای طولانی مدت بدون هیچ گونه عوارض شناخته شده‌ای استفاده شده‌اند. امروزه مصرف کنندگان در مورد مواد نگهدارنده شیمیایی مانند نیترات سدیم، بنزوئیک اسید، پروپیونیک اسید و غیره که در مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند نگرانند، در نتیجه تمایل به غذاهای کمتر فرآوری شده دارند. بدین منظور استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی مورد توجه قرار گرفته است از جمله نگهدارنده‌های طبیعی می‌توان به سیتریک

به عنوان نگهدارنده ایمن و سالم در بیش از ۵۰ کشور جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Zendo, 2013).

ناتامایسین ($C_{33}H_{47}O_{13}N$) یک پپتید ضد میکروبی طبیعی است که توسط سویه‌های (*Streptomyces natalensis*) تولید می‌شود. این ماده به طور موثر به عنوان یک نگهدارنده ضد قارچ و کپک روی محصولات غذایی مختلف (مانند ماست، سوسیس، آب میوه، شراب و غیره) عمل می‌کند. این ماده که با نام پیماریسین (pimaricin) نیز شناخته می‌شود، یک قارچ کش از گروه پلی ان ماکرولید است که معمولاً به عنوان یک نگهدارنده زیستی در تیمار سطحی پنیر و سوسیس برای مهار رشد مخمرها و کپک‌ها استفاده می‌شود. همچنین می‌توان از آن در تولید ماست، محصولات پخته شده، نوشیدنی‌ها و شراب‌ها استفاده کرد. شماره افزودنی غذایی اروپایی برای آن (E235) است. این ترکیب در چهار نوع در بازار موجود است: ناتامایسین خالص، فرآورده‌های ۵۰٪ ناتامایسین با مواد کمکی لاکتوز، گلوکز یا نمک. با توجه به مزایای آن به عنوان یک روش طبیعی و کارآمد نگهداری مواد غذایی، استفاده از آن پتانسیل زیادی برای افزایش عمر مفید محصولات غذایی و جلوگیری از فساد دارد (Ture et al., 2008; Shrestha et al., 2023).

با این حال، مشخص شده‌است که برخی از عوامل ضد میکروبی ممکن است اثرات هم‌افزایی در مهار رشد باکتری داشته باشند وقتی که به صورت ترکیبی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Shrestha et al., 2023). هدف از بررسی حاضر افزایش زمان ماندگاری تخم‌مرغ مایع پاستوریزه شده بیشتر از ۷ روز نگهداری رایج در صنعت غذا می‌باشد تا با افزودن نگهدارنده‌های طبیعی علاوه بر کاهش خطرات

اسید، اسید آسکوربیک و باکتریوسین‌ها اشاره کرد (Soomro et al., 2012).

باکتریوسین‌ها پروتئین‌های باکتری‌کش و بازدارنده رشد اسپورها هستند که تولید آنها توسط لاکتوباسیل‌ها انجام می‌شود و به عنوان آنتی‌بیوتیک‌های درمانی بطور گسترده‌ای مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته‌اند (Tavakli, 2019; Mirhosseini et al., 2018). مهمترین مزیت باکتریوسین‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های معمولی متابولیت اولیه طبیعی آنهاست (Buncic et al., 1995). نایسین ($C_{143}H_{230}N_{42}O_{37}S_7$) یکی از مورد مطالعه‌ترین و مهمترین عوامل ضد میکروبی علیه باکتری‌های مولد فساد و بیماری‌زای گرم مثبت از جمله لیستریا مونوسیتوژنز است (Jung et al., 1992) که خاصیت مهارکنندگی علیه لیستریا در گوشت‌های آماده مصرف، مرغ، تخم‌مرغ و لبنیات را نشان می‌دهد (Knight et al., 1999; Zhang et al., 1999; Lungu and Johnson, 2005; Ruiz et al., 2009; Janes, 2012). آماده‌سازی نایسین به عنوان یک ماده ضد میکروبی تحت دستورالعمل ۷۱۲۰،۱ USDA FSIS (ایمنی و مواد مغذی مناسب) که از ۲۵۰ ppm (معادل ۶/۲۵ ppm نایسین) در محصولات تخم‌مرغ تجاوز نکند (FSIS, 2021). اسیدهای آلی مانند پروپیونیک، لاکتیک و استیک و نمک‌های مربوط به آنها برای حفظ محصولات غذایی به کار می‌روند. تحقیقات نشان داده‌است که اسیدهای آلی ممکن است هنگامی که با نایسین برای مبارزه با لیستریا ترکیب می‌شوند، اثر هم‌افزایی یا افزایشی ایجاد می‌کنند (Buncic et al., 1995; Davies et al., 1997; Geornaras et al., 2005; Samelis et al., 2005; Ukuku et al., 2005). نایسین یک باکتریوسین پلی پپتید طبیعی است که به طور گسترده در صنایع غذایی

نمونه‌های شاهد در این بررسی در مرحله بسته‌بندی بدون ترکیب با محلول‌های نایسین و ناتامایسین به دستگاه تزریق جهت بسته‌بندی هدایت شدند.

مخلوط محلول‌های نایسین و ناتامایسین با تخم مرغ مایع

در این مرحله در شرایط کاملاً ایمن و ضد عفونی و در ظروف استریل محلول‌های نایسین ۰/۰۸ و ۰/۱ درصد و ناتامایسین ۰/۰۸ و ۰/۱ درصد آماده و داخل مخزن بسته‌بندی ریخته شدند. با توجه به حساسیت بالای نایسین و ناتامایسین به درجه حرارت بالا این محلول‌ها را نمی‌توان قبل از پاستوریزاسیون به تخم مرغ مایع اضافه کرد. بعد از ریختن محلول‌های درست شده بایستی به فرآیند مخلوط شدن در داخل تانک، مدتی کوتاه زمان داد که این عمل توسط پره‌های همزن متصل به درب بالای مخزن بسته‌بندی انجام گرفت. بعد از اتمام فرآیند، سفیده تخم مرغ مایع پاستوریزه به داخل ستون تزریق هدایت شد تا جهت بسته‌بندی توسط دستگاه بسته‌بندی مخصوص مایعات PLC1000 PN (ساخت ماشین‌سازی حکمایی) در نیلون‌های پلی‌اتیلنی به داخل آنها تزریق شدند.

آزمون‌های میکروبی

پس از تولید تمام نمونه‌های سفیده تخم مرغ مایع پاستوریزه، مطابق استاندارد ملی شماره ۱۳۲۴۸ (استاندارد تخم مرغ مایع پاستوریزه) تمامی آزمون‌های میکروبی لازم اعم از شمارش کلی به طریق تهیه رقت و کشت به صورت کشت آمیخته و گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰ درجه سلسیوس (مطابق استاندارد ملی ایران/ شماره ۲-۵۲۷۲)، کلی‌فرم به روش کشت نه لوله‌ای و محاسبه بیشترین تعداد احتمالی - MPN (مطابق استاندارد ملی ایران/ شماره ۱۱۱۶۶)، /شریشیاکولای به

افزودنی‌های مصنوعی، با افزایش ماندگاری تخم مرغ مایع پاستوریزه در هزینه و انرژی مصرف شده در پروسه پاستوریزاسیون نیز صرفه‌جویی شود. لازم به ذکر است که در این بررسی به مقایسه اثر ضد میکروبی هر دو نگهدارنده نیز پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی قبل از پاستوریزاسیون

ابتدا تخم مرغ‌ها توسط نوار نقاله به قسمت تخم مرغ شکن منتقل و در آنجا توسط چاقوهای متصل به دستگاه شکسته شده و داخل ظروف مخصوص داخل دستگاه ریخته شدند. لازم به توضیح است که جداسازی زرده از سفیده تخم مرغ به خاطر لرزش پیاله‌ها در قسمت جداسازی خط تولید انجام شده و از طریق لوله‌های متصل به آنها مایع سفیده تخم مرغ پس از گذراندن مراحل جداسازی ذرات خارجی اعم از ذرات پوسته و غیره به داخل مخازن (مخصوص به خود) قبل از پاستوریزاسیون ریخته و مدت زمانی توسط هم‌زن‌های داخل مخازن هم‌زده شدند تا مایع نسبتاً صاف و یکنواختی به داخل دستگاه پاستور (Miracle ساخت چین) فرستاده شود.

پاستوریزاسیون

تخم مرغ مایع توسط دستگاه پاستور در دمای ۵۶ تا ۵۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه پاستوریزه شده و با دبی $1800 \text{ m}^3/\text{s}$ از طریق لوله مخصوص سفیده تخم مرغ مایع پاستوریزه به داخل مخزن بسته‌بندی (حاوی مایع پاستور شده سفیده) هدایت شد تا پس از مخلوط با محلول‌های ۰/۰۸ و ۰/۱ درصدی از قبل آماده شده نایسین و ناتامایسین به داخل دستگاه بسته‌بندی تزریق شوند. لازم به توضیح است که

یافته‌ها

نتایج نایسین با سفیده تخم‌مرغ مایع

با توجه به نتایج نمودار (۱) تیمارهای مختلف سفیده تخم‌مرغ مایع در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری با یکدیگر از نظر شمارش کلی میکروبی دارند ($p < 0/05$). تیمار کنترل روز سی‌ام نگهداری با $4/49 \log \text{CFU/g}$ بیشترین میزان شمارش کلی را در میان بقیه نمونه‌ها دارد و بعد از آن نیز تیمار کنترل روز چهاردهم نگهداری با $4/39 \log \text{CFU/g}$ میزان شمارش بیشتری دارد که در بین این دو، تیمار ۳۰ روزه با توجه به اینکه از حد مجاز استاندارد ملی شماره ۱۳۲۴۸ (استاندارد تخم‌مرغ مایع پاستوریزه) بیشتر بوده است قابل قبول نمی‌باشد. لازم به ذکر است تیمار نایسین ۰/۱٪ روز هفتم نگهداری با $\log \text{CFU/g}$ ۱/۷۱ کمترین میزان شمارش کلی را در میان بقیه نمونه‌ها دارد. این در صورتی است که این نمونه در روز اول تولید خود (روز صفر) میزان شمارش کلی برابر $2/06 \log \text{CFU/g}$ را داشته است و با وجود گذشت ۷ روز نگهداری به‌جای افزایش در میزان جمعیت میکروبی، کاهش در آن مشاهده شده است یعنی گذشت زمان نگهداری با جمعیت میکروبی تا ۷ روز نگهداری در نمونه حاوی نایسین ۰/۱٪ رابطه عکس داشته است ولی بعد از گذشت ۷ روز این رابطه روند صعودی به خود گرفته است به گونه‌ای که با افزایش زمان نگهداری میزان جمعیت میکروبی نیز افزایش یافته است. ابتدا این میزان افزایش در روز سی‌ام نگهداری با میزان $3/14 \log \text{CFU/g}$ به حداکثر مقدار خود رسیده است که همین میزان میکروبی نیز با حداکثر حد مجاز استاندارد ($3 \times 10^4 \text{CFU/g}$) معادل $4/47 \log \text{CFU/g}$ فاصله زیادی داشته است و از نظر

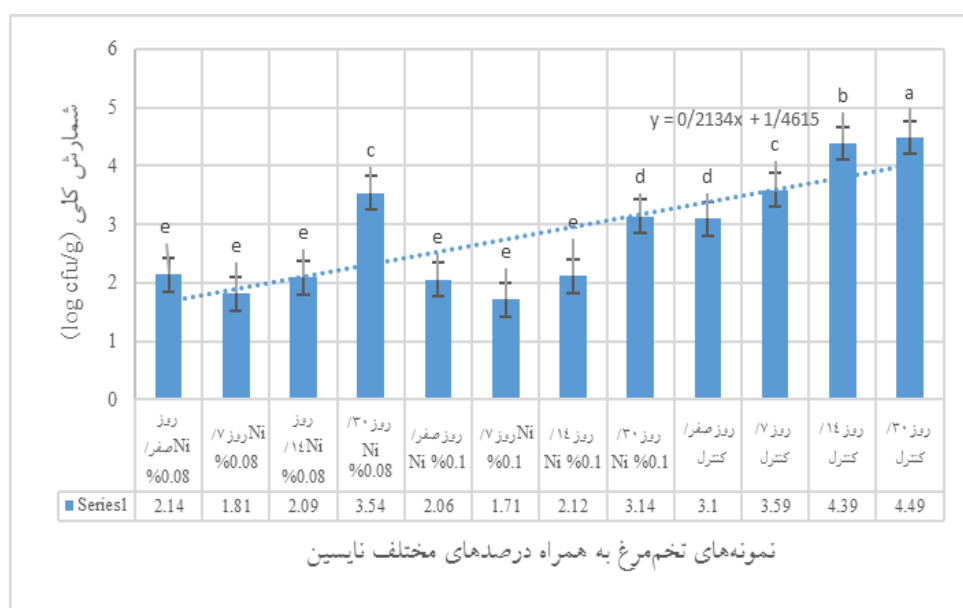
روش جستجو و شمارش /شربشیاکولای با استفاده از کشت در محیط کشت بریلیانت گرین بایل برات - Brilliant Green Bile Broth (مطابق استاندارد ملی ایران/ شماره ۲۹۴۶)، کپک و مخمر به روش شمارش کلنی در فرآورده‌هایی با فعالیت آبی بیشتر از ۰/۹۵ و کشت سطحی به مقدار ۰/۱ میلی گرم بر روی محیط کشت رزبنگال - RBC (مطابق استاندارد ملی ایران/ شماره ۱-۱۰۸۹۹)، استافیلوکوکوس آئوس به روش جستجو، شناسایی و شمارش به شیوه محتمل‌ترین تعداد (MPN) برای تعداد کم میکروارگانیسم‌ها (مطابق استاندارد ملی ایران/ شماره ۳-۶۸۰۶) و سالمونلا به روش جامع جستجو، شناسایی و شمارش گونه‌های سالمونلا (مطابق استاندارد ملی ایران/ شماره ۱-۱۸۱۰) بر روی نمونه‌های تولید شده (شاهد و فاقد آنتی‌بیوتیک) و نمونه‌های هدف این مطالعه (حاوی آنتی‌بیوتیک) در روز اول تولید (روز صفر) انجام و کشت داده شدند. سپس تمامی نمونه‌های تولید شده به سردخانه با دمای ۰ تا ۴ درجه سلسیوس جهت نگهداری و انبارش انتقال داده شدند تا تمامی آزمون‌های میکروبی ذکر شده در روز هفتم، چهاردهم و سی‌ام تولید بر روی تمامی نمونه‌های شاهد و نمونه‌های حاوی آنتی‌بیوتیک انجام شود.

تحلیل آماری

تمامی آزمون‌ها اعم از آزمون‌های تیمار نایسین و ناتامایسین با استفاده از طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار توسط نرم‌افزار SPSS 20 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسات میانگین آنها نیز توسط آزمون دانکن با دامنه اطمینان ۹۵ درصد برآورده شد.

حتی در روز سی ام نگهداری نیز میزان شمارش کلی کمتر از حد مجاز استاندارد بوده و همانند نایسین ۰/۱٪ مورد قبول می باشد ولی میزان شمارش کلی نمونه ۰/۰۸٪ روز سی ام نگهداری با $3/54 \log \text{CFU/g}$ بیشتر از نمونه مشابه آن با غلظت بالای نایسین بوده است که این مسأله دور از انتظار نمی باشد.

این آزمون میکروبی مورد قبول می باشد. این مسأله در مورد نمونه های حاوی نایسین ۰/۰۸٪ نیز مشاهده می شود. به گونه ای که میزان شمارش کلی در نمونه روز صفر بیشتر از روز هفتم نگهداری همان غلظت یعنی ۰/۰۸٪ بوده است ولی بعد از روز هفتم نگهداری تا روزهای ۱۴ و ۳۰ این رشد صعودی به خود گرفته است ولی مشابه غلظت ۰/۱٪ نایسین



نمودار ۱- میزان شمارش کلی در نمونه های مختلف سفیده تخم مرغ مایع پاستوریزه به همراه نایسین

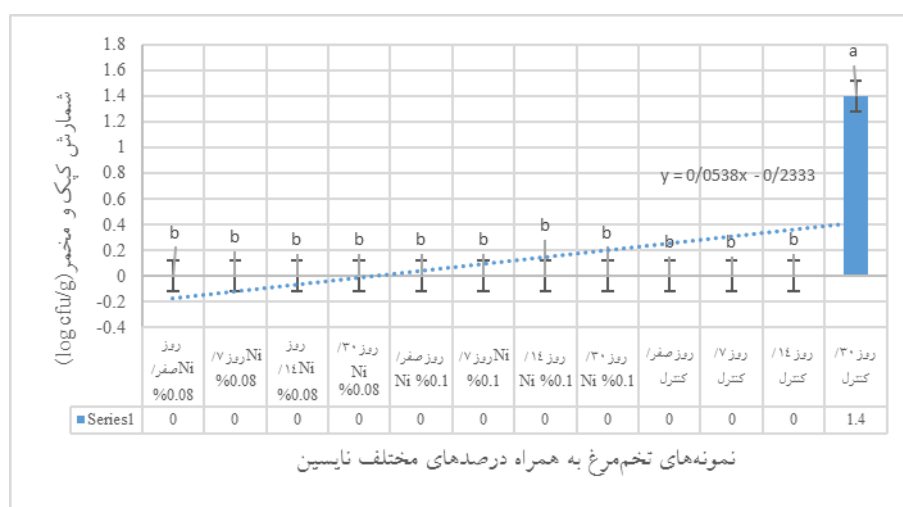
این در صورتی است که نمونه کنترل روز سی ام نگهداری با رشد ۲۵/۷ بیشتر از حد مجاز استاندارد ملی ۱۳۲۴۸ که کمتر از ۱۰ اعلام شده است، بوده است.

با توجه به نمودار (۳) نیز میان تیمارهای مختلف از نظر رشد کلی فرم نیز در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری وجود دارد ($p < 0/05$). همانطور که مشاهده می شود تیمار کنترل روز سی ام نگهداری با میزان $1/38 \log \text{CFU/g}$ بیشترین میزان کلی فرم را در میان بقیه نمونه ها داشته است و بعد از آن نیز نمونه

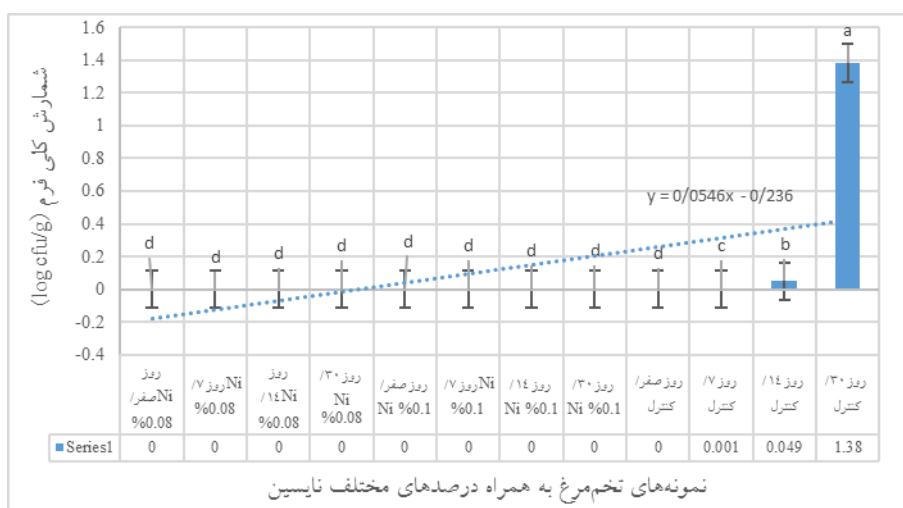
بر اساس نمودار (۲) مشاهده می شود که بین تیمارهای مختلف سفیده تخم مرغ مایع پاستوریزه در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری وجود دارد ($p < 0/05$). با توجه به نتایج تنها در تیمار کنترل با ۳۰ روز نگهداری میزان $1/40 \log \text{CFU/g}$ کپک و مخمر دیده شده است و در بقیه تیمارها در روزهای مختلف نگهداری هیچ کپک و مخمری رشد نکرده است که این مورد حاکی از این مطلب است که وجود نایسین در نمونه های سفیده تخم مرغ منجر به عدم رشد کپک و مخمر حتی در روز سی ام نگهداری نیز شده است و

گونه‌ای که حتی در روزهای نگهداری بیشتر نیز این خاصیت ضد میکروبی نایسین علیه باکتری‌های کلی فرمی بارز بوده است و این مطلب در نمونه‌های ۳۰ روز نگهداری با نایسین در هر دو غلظت ۰/۰۸ و ۰/۱ درصد کاملاً مشهود است و هیچ کلی فرمی در آنها بعد از ۳۰ روز نگهداری رشد نکرده است.

کنترل روز چهاردهم نگهداری با میزان جمعیت کلی فرمی $0/049 \log \text{CFU/g}$ میزان کلی فرم بیشتری را دارد. لازم به ذکر است که به جز تیمارهای کنترل، در میان نمونه‌های حاوی نایسین با غلظت‌های مختلف آن هیچ کلی فرمی رشد نکرده است و این از اثر خوب نایسین بر علیه باکتری‌های کلی فرمی می‌باشد به



نمودار ۲- میزان شمارش کپک و مخمر در نمونه‌های مختلف سفیده تخم مرغ مایع پاستوریزه به همراه نایسین



نمودار ۳- میزان شمارش کلی فرم در نمونه‌های مختلف سفیده تخم مرغ مایع پاستوریزه به همراه نایسین

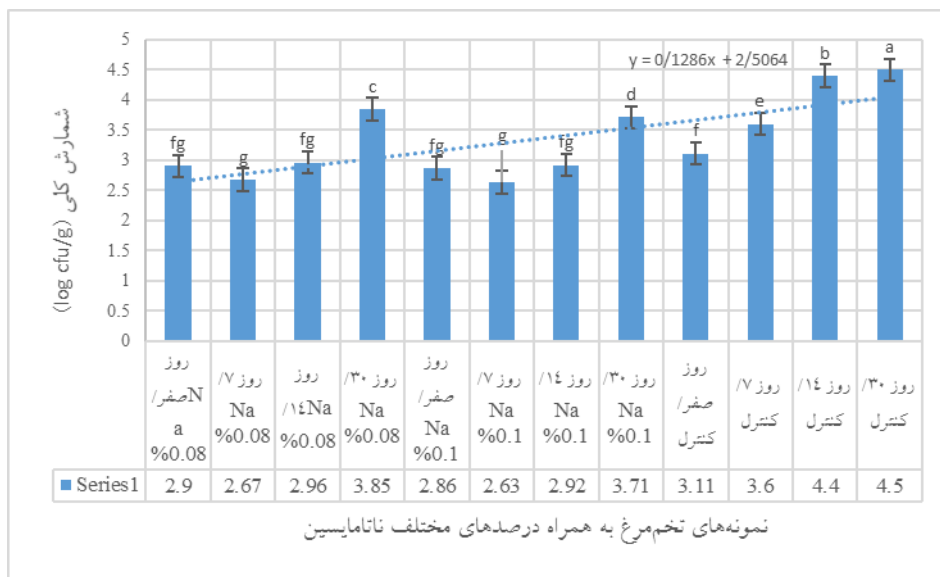
یکدیگر دارند ($p < 0/05$). در بین آنها بیشترین میزان شمارش کلی مربوط به نمونه‌ی کنترل روز سی‌ام نگهداری با $4/5 \log \text{CFU/g}$ است و بعد از آن نیز

نتایج ناتامایسین با تخم مرغ مایع

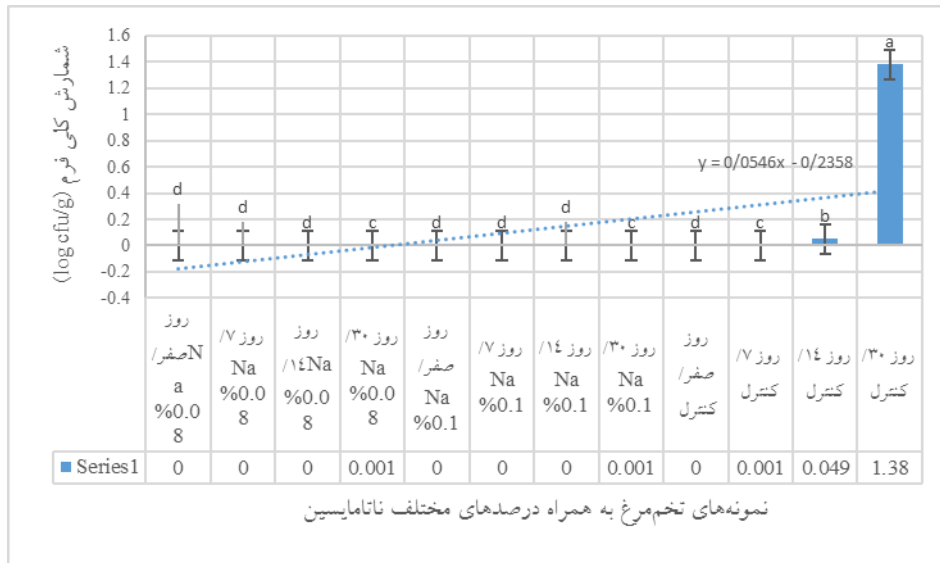
با توجه به نتایج نمودار (۴) تمامی نمونه‌های تخم مرغ در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی داری با

نمونه‌های فاقد آن (کنترل) قابل مقایسه نیست و در نمونه‌های کنترل با گذشت زمان میزان جمعیت میکروبی بیشتر از حد مجاز استاندارد ملی شماره ۱۳۲۴۸ شده است و این به گونه‌ای است که نمونه کنترل روز سی‌ام نگهداری قابل قبول از نظر استاندارد نبوده است. از طرف دیگر بایستی به این مطلب اشاره کرد که حداکثر زمان نگهداری سفیده تخم مرغ مایع پاستوریزه ۱۴ روز می‌باشد و این مطلب در نمونه‌های کنترل کاملاً مشهود بوده و نمونه بعد از ۱۴ روز نگهداری خارج از محدوده استاندارد بوده است ولی در نمونه‌های حاوی ناتامایسین حتی نمونه‌های سی‌ام نگهداری نیز کمتر از حد مجاز استاندارد بوده و قابل قبول می‌باشند. همچنین بایستس به این نکته اشاره کرد که با افزایش غلظت ناتامایسین میزان خاصیت ضد میکروبی نیز افزایش یافته است به گونه‌ای که نمونه‌هایی که غلظت بالای ناتامایسین را نسبت به نمونه مشابه خود در غلظت ۰/۰۸ درصد میزان شمارش کلی کمتری دارند.

نمونه شاهد روز چهارم با $4/40 \log \text{CFU/g}$ میزان شمارش کلی بیشتری نسبت به بقیه نمونه‌ها دارد. همانند نایسین بعد از افزودن محلول‌های ۰/۰۸ و ۰/۱ ناتامایسین به نمونه اصلی نیز میزان شمارش کلی به صورت بسیار بارزی کاهش می‌یابد به گونه‌ای که کمترین میزان شمارش کلی مربوط به نمونه‌های ۰/۱ درصد روز هفتم و ۰/۰۸ درصد روز هفتم به ترتیب با $2/63 \log \text{CFU/g}$ و $2/67 \log \text{CFU/g}$ می‌باشند و این خاصیت ضد میکروبی در ناتامایسین نیز همانند نایسین با گذشت زمان رابطه عکس دارد زیرا که روز صفر نمونه‌های ۰/۰۸ و ۰/۱ درصد ناتامایسین بیشتر از روز هفتم نگهداری آنها بوده است ولی در طول نگهداری اثر ضد میکروبی ناتامایسین بروز کرده و منجر به کاهش در جمعیت میکروبی اولیه آن شده است. البته لازم به ذکر است که کاهش جمعیت میکروبی تا روز هفتم نگهداری بوده است و بعد از آن با گذشت زمان میزان جمعیت میکروبی افزایش یافته که این افزایش دور از انتظار نیست ولی روند افزایشی جمعیت میکروبی در نمونه‌های حاوی ناتامایسین نسبت به



نمودار ۴- میزان شمارش کلی در نمونه‌های مختلف سفیده تخم مرغ مایع پاستوریزه به همراه ناتامایسین



نمودار ۶- میزان شمارش کلی فرم در نمونه‌های مختلف سفیده تخم مرغ مایع پاستوریزه به همراه ناتامایسین

بقیه نمونه‌ها اعم از نمونه‌های کنترل روزهای صفر، هفتم، چهاردهم و همچنین نمونه‌های حاوی نایسین و ناتامایسین هیچ باکتری از خانواده‌های *اشریشیاکولای*، *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* رشد نکرده است. با توجه به تشخیص باکتری‌های *اشریشیاکولای*، *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در روز سی‌ام نگهداری در مقابل عدم وجود این باکتری‌ها در همان روز نگهداری در بین نمونه‌های حاوی نایسین و ناتامایسین می‌توان به خاصیت ضد میکروبی نایسین و ناتامایسین در مورد باکتری‌های *اشریشیاکولای*، *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نیز اشاره کرد.

در ادامه با توجه به اهمیت آزمون‌های میکروبی *اشریشیاکولای*، *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* از یک طرف و همچنین لزوم انجام تمامی آزمون‌های شناسایی این باکتری‌ها در محصول تخم مرغ مایع پاستوریزه مطابق با استاندارد ملی شماره ۱۳۲۴۸ از طرف دیگر این الزام را ایجاب کرد تا آزمون‌های مربوطه نیز در مورد تمامی نمونه‌های مورد بررسی انجام گیرد. بر اساس نتایج جدول (۱) مشاهده می‌شود که به جز نمونه‌های کنترل روز سی‌ام نگهداری که باکتری‌های *اشریشیاکولای*، *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در آنها مشاهده شده است،

جدول ۱- شناسایی باکتری‌های *اشریشیاکولای*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا* در نمونه‌های مختلف سفیده تخم مرغ مایع پاستوریزه به همراه

نایسین و ناتامایسین

نوع آزمون / تیمار	شاهد / روز	شاهد / روز هفتم	شاهد / روز چهاردهم	شاهد / روز	شاهد / روز	شاهد / روز	شاهد / روز	شاهد / روز	شاهد / روز
روز سی‌ام / نایسین	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
روز چهاردهم / نایسین	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
روز سی‌ام / ناتامایسین	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
روز چهاردهم / ناتامایسین	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر

ن ۰/۱ %	ن ۰/۱ %	ن ۰/۱ %	ن ۰/۰۸ %	ن ۰/۰۸ %	ن ۰/۰۸ %	ن ۰/۰۸ %	ن ۰/۰۸ %	ن ۰/۰۸ %	ن ۰/۰۸ %	ن ۰/۰۸ %	ن ۰/۰۸ %	ن ۰/۰۸ %
منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	اشریشیاکولای
منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	استافیلوکوکوس
منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	س اورئوس
منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	سالمونلا
منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	

بحث و نتیجه گیری

نایسین نسبتاً آمفی پاتیک است. آمفی پاتیک بودن نایسین به علت تعامل آن با چربی و دیگر مواد غذایی و کاهش توانایی ضدنایسین در ماتریکس مواد غذایی باعث محدود شدن گستره فعالیت آن شده است. این بدان معنی است که عامل حفاظتی نایسین در محصولات لبنی موثرتر از گوشت است و فعالیت نایسین به دلیل دخالت اجزای گوشتی مانند فسفولیپید محدود شده است. نایسین در ترکیب با سیانید آلدهید روغن استحصال شده از پوست دارچین به عنوان یک نگهدارنده مواد غذایی استفاده می شود و می تواند مشکل مقاومت باکتریایی راتا حدی کاهش دهد (Shi *et al.*, 2016; Saxelin *et al.*, 2003). نایسین به عنوان یک دارو برای پیشگیری و درمان ورم پستان گاو در دامپزشکی (Perez *et al.*, 2014) و در پزشکی نیز در گروه داروهای ضد عفونت پستان زنان، کاهش جمعیت انتروکوکوی در روده (Bodaszewska-Lubas *et al.*, 2012)، درمان درماتیت آتوپیک، زخم معده و عفونت های کولون برای بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی (Arauz *et al.*, 2009) مورد استفاده قرار می گیرد. در محصولات پنیر فرآوری شده، نایسین در مقدار ۱۲/۵ میلی گرم در کیلوگرم و بیشتر در تاخیر رشد و تولید سم کلستریدیوم بوتولینیوم نوع A و نوع B موثر می باشد. همچنین باسیلوس های هوازی

بر اساس مشاهده نتایج کلی و مقایسه بین اثرات نایسین و ناتامایسین می توان به این نتیجه گیری کلی دست یافت که اثر ضد میکروبی هر دو نگهدارنده طبیعی نایسین و ناتامایسین کاملاً واضح و اثبات شده است. ولی با مشاهده نتایج شمارش کلی و میزان شدت کاهش در نمونه های حاوی نایسین و ناتامایسین می توان به این نتیجه رسید که شدت کاهش در نمونه های حاوی نایسین بیشتر از ناتامایسین می باشد و این مطلب را با مشاهده میزان شیب خط میانگین در نمودار (۱) که برابر ۰/۲۱۳ بوده در مقایسه با میزان شیب خط نمودار (۴) که برابر ۰/۱۲۸ بوده است بیشتر می باشد و همچنین اثر بخشی و میزان کاهش در نمونه حاوی نایسین با غلظت و زمان نگهداری بالا نسبت به ناتامایسین بیشتر است. لازم به توضیح است در مورد رشد کپک و مخمر و کلی فرم نیز عملکرد تمامی نمونه های حاوی نایسین و ناتامایسین به صورت یکسان بوده و در هیچ کدام رشدی دیده نشده است. در مورد شناسایی اشریشیاکولای، سالمونلا و استافیلوکوکوس اورئوس نیز در هر دو نگهدارنده منفی گزارش شده است و هیچ کدام از باکتری های اشریشیاکولای، سالمونلا و استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده نشده است.

کاربرد در غذاهای کنسروی کم اسید ۲/۵ تا ۵ میلی گرم در کیلوگرم است. همچنین در چاشنی های سالاد غلظت های ۲/۵ تا ۵ میلی گرم در کیلوگرم نایسین می تواند از فساد های ناشی از لاکتیک اسید باکتریایی جلوگیری کند. (Javan Yar and Sohrabi, 2012).

غلظت های مختلف نایسین تاثیر معنی داری بر رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس دارند بنابراین استفاده از غلظت های مختلف نایسین می تواند اثر باز دارندگی مناسبی را بر روی رشد باکتری مورد بررسی ایجاد نماید. در نهایت با استناد به نتایج بدست آمده از نایسین می تواند از آن به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در گوشت و فرآورده های گوشتی به منظور افزایش زمان ماندگاری استفاده کرد. غوطه ور کردن سوسیس پخته شده در محلول ۵ تا ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم نایسین می تواند عمر نگهداری آن را تا دمای ۱۲ درجه سلسیوس افزایش دهد (Qashunizadeh et al., 2014). این مطالعه همسو با نتایج سایر محققان است که بر روی تخم مرغ های آماده مصرف انجام دادند. طبق بررسی آنها حضور نایسین و اثر ضد میکروبی آن در تخم مرغ های آماده مصرف منجر به کاهش معنی داری در جمعیت میکروبی لیستریا مونوسیژنز از $0.46 \log \text{ CFU/g}$ به $0.36 \log \text{ CFU/g}$ رسید (Shrestha et al., 2023).

نایسین بهتر است به صورت یک محلول آبی به بخش مایع محصول در طی فرآوری اضافه شود مثلا در غذاهای کنسرو شده می توان نایسین را با آب نمک کنسرو ترکیب کرد و به داخل کل محصول افزود. نایسین را در دسر های لبنی می توان به شیر افزود و سپس به کل محصول اضافه کرد. سیراگوسا و همکاران (۱۹۹۹) از نایسین به صورت مایع در اتصال

اختیاری که در فساد پنیر فرآوری شده دخیل هستند با مقادیر ۵ تا ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم نایسین قابل کنترل هستند. کاربرد نایسین در تولید پنیر های سخت و نیمه سخت مثل Dutch و Swiss از رشد اسپورهای کلاسترییدیوم بوتولونیوم و کلاسترییدیوم تیروبو تیوریکوم جلوگیری می کند. استفاده از نایسین باعث تولید پنیر هایی با رطوبت بالاتر و فساد پذیری کمتر می شود (Jaafari and Elhami Rad, 2000).

افزودن نایسین در ماست نیز پس از تولید آن، موجب جلوگیری از رشد استارتر (ترکیبی از لاکتوباسیلوس دلبروکی، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استریپتوکوکوس ترموفیلوس است) می شود. بنابراین از اسیدی شدن ماست جلوگیری می شود. بدین ترتیب مدت نگهداری ماست با نگهداری طعم ماست و جلوگیری از سینریزاس افزایش می یابد. معمولا مقادیر افزوده شده حدود ۱/۲۵-۰/۵ میلی گرم در کیلوگرم است. در محصولات تخم مرغ، نایسین در حدود ۲/۵ تا ۵ میلی گرم در لیتر موجب افزایش مدت ماندگاری و حفاظت در مقابل رشد باکتری های سمی سایکروتروف باسیلوس سرئوس و لیستریا مونوسیژنز می شود. در محصولات آردی افزودن نایسین به مخلوط خمیر در مقادیر بیشتر از ۳/۷۵ میلی گرم در کیلوگرم برای جلوگیری از رشد باسیلوس سرئوس در استرالیا و نیوزلند به تصویب رسیده است. استفاده از نایسین در غذاهای کنسروی بیشتر برای جلوگیری از فساد ترموفیلی به کار می رود و باعث می شود بتوان این محصولات را به مدت طولانی در دمای اتاق نگهداری کرد و از رشد اسپور های ترموفیل جلوگیری نمود و با کاربرد آن می توان حداقل فرایند حرارتی را انجام داد، بدون اینکه خطر فساد افزایش یابد. مقدار نایسین

منجر به کاهش معنی‌داری در جمعیت کپک و مخمر شده‌اند (Ture *et al.*, 2008).

در مطالعه‌ای دیگر نیز که با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع در خصوص بررسی میزان غلظت نایسین و ناتامایسین در گذشت زمان انجام شده است و اذعان داشته‌اند که بعد از گذشت یک سال در دمای اتاق (۲۲ درجه سلسیوس) و در شرایط نگهداری تاریک و بدون نور، میزان غلظت ناتامایسین و نایسین به ترتیب ۱۰ تا ۱۵ درصد کاهش می‌یابد و این مطالعه آنها صرفاً جهت ماندگاری اثر آنتی‌بیوتیکی نایسین و ناتامایسین بوده است (Duchateau and van Scheppingen, 2018).

سپاسگزاری

از آزمایشگاه میکروبی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز که همکاری و مساعدت لازم را در پیشبرد این مطالعه داشتند کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

تعارض منافع

نویسندگان هیچگونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

با فیلم پلاستیکی بر پایه پلی‌اتیلن برای بسته بندی و کیوم لاشه گوشت گاو استفاده کردند. در مطالعه دیگری نیز که انجام شده بود مشاهده کردند که اسانس آویشن شیرازی و نایسین هر کدام به تنهایی روی باسیلوس سرئوس مؤثر هستند ولی استفاده به صورت توأم روی مهار باکتری حالت سینرژست دارد و با کاهش درجه حرارت از ۳۰ درجه سلسیوس به ۱۰ درجه سلسیوس اثرات ضد میکروبی هر کدام به تنهایی یا توأم افزایش می‌یابد (Misaghi and Basti, 2007).

ناتامایسین در آب کم محلول است و کریستال های آن فعالیت ضد قارچی ندارند. بنابراین، آزمایش‌ها برای تعیین MIC با استفاده از صفحات آگار حاوی سوسپانسیون‌های ناتامایسین بالاتر از حداکثر حلالیت آن در حالت خنثی است. بررسی‌های متعددی در مورد مایکوفلورا در صنعت پنیر گزارش شده است (Stark, 2003). اتواکسیداسیون ناتامایسین با ناپدید شدن یک پیوند دوگانه در یک انتهای پلی ین کروموفور و از دست دادن فعالیت ضد قارچی آن

همراه است (Duchateau and van Scheppingen, 2018). در بررسی دیگری که بر روی فیلم‌های بیوپلمری حاوی ناتامایسین و عصاره رزماری انجام شده بود، به این نتیجه دست یافتند که فیلم‌های حاوی ناتامایسین خاصیت ضد قارچی بالایی داشته‌اند و

منابع

- Arauz, L., Jozalaa, A., Mazzolab, P. and Penna, T. (2009). Nisin biotechnological production and application. Trends in Food Science and Technology, 20(2009): 146-154.
- Ariyapitipun, T., Mustapha, A. and Clarke, A.D. (2000). Survival of *Listeria monocytogenes* Scott A on vacuum-packaged raw beef treated with polylactic acid, lactic acid and nisin. Journal of Food Protection, 63(1):131-136.

- Avery, S.M. and Buncic, S. (1997). Antilisterial effects of a sorbate-nisin combination in vitro and on packaged beef at refrigeration temperature. *Journal Food Protection*, 60(9): 1075–1080.
- Bodaszewska-Lubas, M., Brzychczy-Wloch, M., Gosiewski, T. and Heczko, P.B. (2012). Antibacterial Activity of Selected Standard Strains of Lactic Acid Bacteria Producing Bacteriocins – Pilot Study. *Postepy Hig Med Dosw* (online), 66: 787-794.
- Buncic, S., Fitzgerald, C.M., Bell, R.G. and Hudson, J.A. (1995). Individual and combined listericidal effects of sodium lactate, potassium sorbate, nisin and curing salts at refrigeration temperature. *Journal of Food Safety*, 15(3): 247–264.
- Cegielska-Radziejewska, R., Lesnierowski, G., and Kijowski, J. (2008). Properties and application of egg white lysozyme and its modified preparations- A review. *Food Nutrition and Science*, 58(10): 5-10.
- Davies, E., Bevis, H. and Delves-Broughton, J. (1997). The use of the bacteriocin, nisin, as a preservative in ricotta-type cheeses to control the food-borne pathogen *Listeria monocytogenes*. *Letters in Applied Microbiology*, 24(5): 343–346.
- Duchateau, A.L.L and van Scheppingen, W.B. (2018). Stability study of a nisin/natamycin blend by LC-MS, *Food Chemistry*, 46(18): 1-15.
- Geornaras, L., Belk, K.E., Scanga, J.A., Kendall, P.A., Smith, G.C. and Sofos, J.N. (2005). Postprocessing antimicrobial treatments to control *Listeria monocytogenes* in commercial vacuum-packaged bologna and ham stored at 10°C. *Journal of Food Protection*, 68(5): 991–998.
- Jafari, M. and Elhami Rad, A. (2000). The role of bacteriocins as natural preservatives in milk and its products, National conference of new achievements in the food industry and healthy nutrition. [In Persian]
- Janes, M.E. (2012). Control of *Listeria monocytogenes* on the surface of refrigerated, ready-to-eat chicken coated with edible zein film coatings containing nisin and/or calcium propionate. *Journal of Food Science*, 67(7): 2754–2757.
- Javan Yar, A. and Sohrabi, F. (2012). Niacin as a food preservative, National conference of new achievements in food industry and healthy nutrition. [In Persian]
- Jung, D.S., Bodyfelt, F.W. and Daeschel, M.A. (1992). Influence of fat and emulsifiers on the efficacy of nisin in inhibiting *Listeria monocytogenes* in fluid milk. *Journal of Dairy Science*, 75(2): 387–393.
- Knight, K.P., Bartlett, F.M., McKellar, R.C. and Harris, L.J. (1999). Nisin reduces the thermal resistance of *Listeria monocytogenes* Scott A in liquid whole egg. *Journal of Food Protection*, 62(9): 999–1003.
- Lungu, B. and Johnson, M.G., (2005). Fate of *Listeria monocytogenes* inoculated onto the surface of model turkey frankfurter pieces treated with zein coatings containing nisin, sodium diacetate, and sodium lactate at 4°C. *Journal of Food Protection*, 68(4): 855–859.
- Mirhosseini, M., Nahvi, E., Emtiazi, G. and Tavasolli, M. (2018). Investigating the diversity of bacteriocin-producing lactic acid cocci in some unpasteurized dairy samples. *Iran biology magazine*. No: 23, pp: 808-815. [In Persian]
- Misaghi, A. and Basti, A.A. (2007). Effect of *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil and nisin on *Bacillus cereus* ATCC 11778. *Food control*; 18 (9): 1043 - 9.
- Pearson, L. J., and Marth, E. H. (1990). Behavior of *Listeria monocytogenes* in the presence of cocoa, carrageenan and sugar in a milk medium incubated with and without agitation. *Food Protection*, 53(1): 30–37.
- Perez, R., Zendo, T. and Sonomoto, K. (2014). Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB) various structures and applications. *Microbial Cell Factories*, 13(1): 3-16.
- Pina-Pérez, M. C., Silva-Angulo, A. B., Rodrigo, D., and Martínez-López, A. (2009). Synergistic effect of pulsed electric fields and cocoa OX 12% on the inactivation kinetics of

Bacillus cereus in a mixed beverage of liquid whole egg and skim milk. *International Food Microbiology*, 130(3): 196–3204.

- Qashunizadeh, H.A., Mehsti, P. and Shaabani, S. (2014). Investigating the antibacterial effects of nisin on *Staphylococcus aureus* bacteria in minced sheep meat stored in a refrigerator. *Microbiology Foods*, 4: 69-77. [In Persian]
- Ruiz, A., Williams, S.K., Djeri, N., Hinton, A. and Rodrick, G.E. (2009). Nisin, rosemary, and ethylenediaminetetraacetic acid affect the growth of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat turkey ham stored at 4°C for sixty-three days. *Poultry Science*, 88(8): 1765–1772.
- Samelis, J., Bedie, G.K., Sofos, J.N., Belk, K.E., Scanga, J.A. and Smith, G.C. (2005). Combinations of nisin with organic acids or salts to control *Listeria monocytogenes* on sliced pork bologna stored at 4°C in vacuum packages. *LWT - Food Science and Technology*, 38(1): 21–28.
- Saxelin, M., Corpela, R., and MaryaMakinen, A. (2003). Functional dairy product. *Dairy Processing*, 229–260.
- Soomro, A.H., Masud, T. and Anwaar, K. (2012). Role of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Food Preservation and Human Health. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1(1): 20-24.
- Shrestha, S., Erdmann, J.J., Riemann, M., Kroeger, K., Juneja, V.K. and Brown, T. (2023). Ready-to-Eat Egg Products Formulated with Nisin and Organic Acids to Control *Listeria monocytogenes*, *Journal of Food Protection*, 86: 100081.
- Shi, C., Zhang, X., Zhao, X., Meng, R., Liu, Z., Chen, X. and Guo, N. (2016). Synergistic interactions of nisin in combination with cinnamaldehyde against *Staphylococcus aureus* in pasteurized milk. *Food Control*, 71(2017): 10-16.
- Stark, J. (2003). Natamycin: an effective fungicide for food and beverages, pp: 82-97
- Tavakli, M. (2019). Bacteriocins are safe antimicrobial compounds. In: The first national seminar on food security, Sawad Koh 28-29 May. [In Persian]
- Ture, H., Erog, E., Soyer, F. and Zen, B.O. (2008). Antifungal activity of biopolymers containing natamycin and rosemary extract against *Aspergillus niger* and *Penicillium roquefortii*, *International Journal of Food Science and Technology*, 43: 2026–2032
- Ukuku, D.O., Bari, M.L., Kawamoto, S. and Isshikim, K. (2005). Use of hydrogen peroxide in combination with nisin, sodium lactate and citric acid for reducing transfer of bacterial pathogens from whole melon surfaces to fresh-cut pieces. *International Journal of Food Microbiology*, 104(2): 225–233.
- U.S. Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service (2021). Safe and suitable ingredients used in the production of meat, poultry, and egg production. Retrieved from <https://www.fsis.usda.gov/policy/fsis-directives/7120.1>. Accessed October 24, 2022.
- Zendo, T. (2013). Screening and characterization of novel bacteriocins from lactic acid bacteria. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 77(5): 893-899.
- Zhang, S. and Mustapha, A. (1999). Reduction of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 numbers on vacuum-packaged fresh beef treated with nisin or nisin combined with EDTA. *Journal of Food Protection*, 62(10): 1123–1127.