تاثیر نایسین A و بنزوات سدیم بر رفتار *لیستریامونوسیتوژنز* و برخی از پارامترهای میکروبی و شیمیایی در فیله ماهی فیتوفاگ (*Hypophtalmichtysmolitrix*) نگه‌داری شده در دمای ۴ درجه سلسیوس

رضا صفری[1*]، محمد رضا سعیدی اصل[2]

۱- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، ایران.

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار، گروه علوم و صنایع غذایی، سبزوار، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: Safari1351@gmail.com

(دریافت مقاله: ۹۰/۳/۳۱ پذیرش نهایی: ۹۰/۹/۲۵)

چکیده

در این مطالعه تاثیر نایسین A و بنزوات سدیم بر تعداد *لیستریامونوستیوژنز*، برخی پارامترهای میکروبی (باکتری‌های مزوفیل، باکتری‌های سرماگرا و باکتری‌های لاکتیک) و پارامترهای شیمیایی (عدد پراکسید و TVN) در فیله ماهی فیتوفاگ نگه‌داری شده در دمای ٤ درجه سلسیوس در زمان‌های صفر، ۳، ٦، ۹ و ۱۲ روز مورد ارزیابی قرار گرفت. به نسبت وزن اولیه فیله، مقدار تلقیح اولیه باکتری مشخص شده (٤ واحد لگاریتمی) و پس از اسپری نمودن سوسپانسیون باکتریایی و جذب آن به سطح فیله، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در محلول بنزوات سدیم ۲٪ قرار داده شده و بعد از قرار گرفتن در دمای ٤ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه، محلول نایسین A با غلظت ۰/۱۵ گرم بر کیلوگرم ماهی بر روی نمونه‌ها اسپری گردید. نتایج نشان داد که در نمونه دارای ترکیب نایسین A و بنزوات سدیم تعداد *لیستریا مونوسیتوژنز* از ٤/۱۲ به ۳/٦٦ واحد لگاریتمی کاهش یافت. این در حالیست که در نمونه‌های فاقد ماده نگه‌دارنده تعداد *لیستریا مونوسیتوژنز* تلقیح شده از ٤/٤۳ به ۵/۱٤ واحد لگاریتمی افزایش داشته است. جمعیت باکتری‌های مزوفیل در نمونه‌های حاوی ماده نگه‌دارنده (بصورت ترکیبی) و نمونه‌های فاقد نگه‌دارنده به ترتیب از ٤/۳۹ به ٦/۷۹ و از ٤/٤۸ به ۷/۹۳ واحد لگاریتمی افزایش داشته است. جمعیت باکتری‌های سرماگرا در نمونه‌های حاوی ماده نگه‌دارنده و نمونه‌های فاقد ماده نگه‌دارنده از ٤/۱٦ به ٦/۷۲ و از ٤/۳٤ به ۷/۹۲ واحد لگاریتمی و جمعیت باکتری‌های لاکتیک نیز در تیمارهای ذکر شده به ترتیب از ۲/۷٤ به ٤/۰۸ و ۲/۹ به ٤/۷۸ واحد لگاریتمی افزایش داشته است. افزایش مقدار عدد پراکسید و TVN در تیمار نایسین و بنزوات سدیم در مقایسه با نمونه‌های تیمار تفاوت نشان داد. نتیجه‌گیری کلی نشان می‌دهد که اگرچه مواد نگه‌دارنده مورد استفاده در این تحقیق به هنگام استفاده در محیط کشت آزمایشگاهی، جمعیت *لیستریا مونوسیتوژنز* را به صفر می‌رسانند ولی به هنگام تلقیح باکتری در بافت ماهی، پارامترهای مختلف بر اثرات ضدمیکروبی مواد نگه‌دارنده تأثیرگذار می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: نایسین A، بنزوات سدیم، *لیستریامونوستیوژنز*، ماهی فیتوفاگ

مقدمه

قابلیت فساد پذیری بالای ماهیان سبب شده تا حفظ کیفیت ماهی تازه، یکی از مسائل مهم مورد توجه صنعت ماهی و مصرف کنندگان باشد. ماهی فیتوفاگ با نام علمی *Hypophthalmichthysmolitrix* یکی از مهمترین ماهیان پرورشی کشور می‌باشد که به علت استفاده از رژیم غذایی کم‌هزینه و سطوح بالای زنجیره غذایی به مقدار زیاد پرورش می‌یابد. از نظر تولید بالای سالیانه و قابلیت دسترسی برای مصرف کننده و پراکنش مناسب از اهمیت زیادی بین پرورش‌دهندگان برخوردار است و اغلب به صورت ماهی کامل از مغازه‌های خرده فروشی، و یا به صورت فیله شده قابل تهیه است. روش نگه‌داری برای تمامی مواد غذایی اهمیت داشته و برای ماهی نیز با توجه به فساد پذیری بیشتر آن نسبت به سایر مواد غذایی ضروری است (Esmaeilzadeh and Sahari, 2004). نگه‌داری ماهی در یخچال سبب کاهش سرعت فعالیت‌های آنزیمی و شیمیایی و فعالیت موجودات ذره بینی خواهد شد اما به دلیل عدم توانایی دمای یخچال (٤ درجه سلسیوس) برای کاهش دمای ماهی به مقدار لازم، تغییرات نامطلوبی از جمله اکسیداسیون و هیدرولیز چربی به آرامی صورت گرفته و باعث کاهش کیفیت محصولات می‌گردد (Rezaei et al., 2003; Perez-Alonso and Auborg, 2003). از طرفی برخی از باکتری‌های سرماگرا نظیر جنس‌های سودوموناس، لیستریا، کلستریدیوم و یرسینیا قادر به رشد در چنین دمایی بوده و باعث فساد و متعاقب آن مسمومیت غذایی در انسان می‌گردند. بنابراین استفاده از موادی مناسب با فعالیت آنتی باکتریایی و آنتی اکسیدانی به منظور بهبود کیفیت، افزایش عمر ماندگاری گوشت و در عین حال جلوگیری ازضررهای اقتصادی، ضروری و مفید به نظر می‌رسد (Vescovo et al., 2006).

به منظور افزایش زمان ماندگاری محصولات غذایی از مواد نگه‌دارنده شیمیایی استفاده می‌شود. این مواد دارای عوارض جانبی بوده و استفاده از برخی از آنها بدلیل سرطان‌زا و موتاژن بودن توسط برخی از کشورها ممنوع شده است. نگه‌دارنده بیولوژیک که شامل ارگانیسم‌های مفید، متابولیت‌های میکروبی و اسانس یا عصاره‌های گیاهی می‌شود جزو آن دسته از موادی هستند که نه‌تنها عوارضی بدنبال ندارند بلکه باعث بهبود طعم و مزه مواد غذایی شده و زمان ماندگاری را آنها بطور نسبی افزایش می‌دهند. مطالعات نشان داده که اگر نگه‌دارنده بیولوژیک بصورت ترکیبی با نگه‌دارنده‌های شیمیایی (با غلظت پائین‌تر) مورد استفاده قرار گیرد نتایج بسیار مطلوبی در پی خواهد داشت (Tome et al., 2006; Vescovo et al., 2006).

باکتریوسین‌ها یکی از مهمترین متابولیت‌های باکتری-های گروه لاکتیک بوده که اغلب به عنوان ابزارهای بیولوژیکی باارزش برای ارتقاء ایمنی غذا و کاهش شیوع بیماری‌های ناشی از غذاهای فاسد مطرح هستند. باکتریوسین نایسین، نیز ترکیب بیواکتیو و پپتیدی است که توسط برخی *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیر گونه لاکتیس تولید می‌شود (Castellano et al., 2008; De et al., 2009).

از مهمترین نمک اسیدهای آلی که بـه عنـوان نگـه-دارنده شیمیایی مورد استفاده قرار می‌گیرد می‌توان بـه بنزوات سدیم اشاره نمود. این ماده بیشتر بعنوان مـاده نگه‌دارنده در انواع نوشـیدنی‌هـا مـورد اسـتفاده قـرار گرفته و کمتر در فرآورده‌های شیلاتی مـورد اسـتفاده قرار می‌گیرد، ولی متابولیت‌های آن مثل متیـل پـارابن در برخی از فرآورده‌های شیلاتی کاربرد دارد. توانایی بنزوات سدیم در جلـوگیری از رشـد میکـروب‌هـای ناخواسته ممکن است بدلیل تأثیر آن بر کـاهش pH و یـا جـذب یـون‌هـای فلـزی مـورد نیـاز بـاکتری‌هـا (بخصـوص ca++) باشـد (Savvaidis et al., 2002; Solomakos et al., 2008).

لیستریا مونوسیتوژنز باکتری گرم مثبت، هـوازی تـا بی‌هوازی اختیاری و میله‌ای شـکل اسـت کـه باعـث بیماری لیستریوزیس در انسان می‌شود (Chen et al., 2010; Dykes and Moorhead 2002; Inoue etal., 2000; Neetooet al., 2008; Wadud et al., 2010).

اگرچـه تعـداد مسـمومیت غـذایی ناشـی از *لیسـتریا مونوسـیتوژنز* نسـبت بـه مسـمومیت بـا سـالمونلا، کلستریدیوم، کمپیلوباکترها و *استافیلوکوکوس آرئوس* کمتر است اما به جرأت می‌توان گفت که از نظر نقش تهدیدکننـدگی، لیسـتریوزیس خطرنـاک‌تـرین نـوع مسمومیت غذایی است (Chen et al., 2010).

بر طبق مطالعه انجام شده در ایران مشخص شده که شیوع *لیستریا مونوسیتوژنز* در سطح خـرده فروشـی-های ماهی قزل آلای رنگین کمـان ۱۲/۵ درصـد و در کپور نقره‌ای و کپـور معمـولی بـه ترتیـب ۱۰و ۱۷/۵ درصد بوده است. همچنین نتـایج نشـان داده کـه ۸/۵ درصـد از ماهیـانی صـید شـده از سـطح اسـتخرهای پرورش ماهیان گرم‌آبی (کپور نقره‌ای و کپور معمولی) آلوده به *لیستریا مونوسیتوژنز* بودنـد (Akhondzadeh et al., 2003).

برای افراد سالم بیشترین میزان قابل قبـول بـاکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در غذا ۱۰۰ سـلول در هـر گـرم است (Gudbjornsdóttir et al., 2004; Huss et al., 2000). تعداد این باکتری در غـذاهای یخچـالی طـی یک دوره ۳-٤ هفته‌ای (دوره نگـه‌داری اکثـر غـذاها) می‌تواند به بیش از ۱۰۰ هزار سلول در هر گـرم غـذا برسـد (Gudbjornsdottir et al., 2004). در بیمـاری لیستریوزیس علائمی مشابه آنفلونزا، عفونت خـون و مننژیت ایجاد می کند. معمولاً افراد بزرگسال سالم بـه این بیماری مقاوم هستند. اما نوزادان، افراد سـالخورده و کسانی که سیستم ایمنی آنهـا توسـط دارو تضـعیف شده است و همچنین زنـان بـاردار در معـرض خطـر هسـتند (Duffes et al., 1999). ایـن بیمـاری ممکـن است موجب سقط جنین، بـروز مننژیـت یـا عفونـت خونی در نوزادان گردد (Martins and Pedro, 2011; Wadud et al., 2010).

هدف از این مطالعه بررسی اثر باکتریوسـین نایسـین A و بنزوات سدیم بر رفتار *لیسـتریا مونوسـیتوژنز* در فیله ماهی فیتوفاگ نگه‌داری شده در دمـای ٤ درجـه سلسیوس می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آماده سازی باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* جهت تلقیح

سویه استاندارد و لیوفیلیزه باکتری *Listeria monocytogenes PTCC 1163* از سازمان پژوهش-های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. آمپول‌های لیوفیلیزه باکتری ابتدا در شرایط استریل باز و به محیط کشت مایع TSB (Tryptic Soy Broth) انتقال و به مدت ٤٨ ساعت در ٣٠ درجه سلسیوس انکوبه شد. سپس محیط کشت حاوی باکتری سانتریفوژ شده (١٥ دقیقه در دور ٧٠٠٠ دور در رقیقه) و پس از ریختن مایع رویی، رسوب حاصله سه مرتبه با رینگر شستشو داده شده و هر بار عمل سانتریفوژ تکرار گردید. تعداد باکتری‌ها در رسوب نهایی، با ریختن مقداری رینگر، با استفاده از روش کدورت سنجی در طول موج ٥٧٠ نانومتر تعیین گردید (Hegde et al., 2007; Martins and Pedro, 2011).

آماده سازی نمونه

ماهی کپور نقره‌ای با میانگین وزن ٩٠٠-٧٠٠ گرم از یکی از مزارع پرورش ماهی واقع در شهرستان ساری تهیه شده و در جعبه‌های یونولیتی به همراه یخ به آزمایشگاه پژوهشکده اکولوژی دریای خزر انتقال داده شدند. ماهی را ابتدا شسته و سپس فیله نموده و در پایان عمل فیله کردن نیز، مجدداً فیله‌ها مورد شستشو قرار گرفتند. به نسبت وزن فیله، مقدار تلقیح اولیه باکتری مشخص شده (٤ log) و پس از اسپری نمودن سوسپانسیون باکتریایی (با استفاده از سرنگ‌های استریل) و جذب آن به سطح فیله، نمونه‌ها به مدت ١٥ دقیقه در محلول بنزوات سدیم ٢٪ قرار داده شده و بعد از قرار گرفتن در دمای ٤ درجه سلسیوس به مدت ١٠ دقیقه، محلول نایسین (A(ServaUSA با غلظت ٠/١٥ گرم بر کیلوگرم ماهی بر روی نمونه‌ها اسپری گردید. استاندارد نایسین و بنزوات سدیم در فرآورده‌های دریایی به ترتیب ٠/٢-٠/١ گرم بر کیلوگرم و ٢/٥-١/٥ درصد می‌باشد (Samelis et al., 2005). در نمونه‌های حاوی نایسین A، بنزوات سدیم به تنهایی، هر یک از مواد مذکور بطور جداگانه اضافه گردید. در نمونه شاهد فقط لیستریا اضافه گردید (فاقد نگه‌دارنده). تمامی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه وکیوم (BOSSN84) در شرایط خلاء بسته‌بندی شده و در دمای٤ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند و در روزهای ٠، ٣، ٦، ٩ و١٢ روز از نظر پارامترهای کیفی (شیمیایی و میکروبی) مورد آزمایش قرار گرفتند (با در نظر گرفتن ٣ تکرار برای هر نمونه)، (Samelis et al., 2005; Dykes and Moorhead 2002; Solomakos et al., 2008). لازم به ذکر است برای نگه‌داری کوتاه مدت فرآورده‌های شیلاتی از دماهای پائین استفاده شده تا ماهی تازگی خود را حفظ نماید. در دمای انجماد، با طولانی شدن زمان نگه‌داری، واکنش‌های شیمیایی باعث فساد فرآورده شده و علاوه بر این ماهی تازگی خود را از دست می‌دهد.

آزمون‌های شیمیایی و میکروبی

عدد پراکسید به روش Egan و همکاران (١٩٩٧)، مقدار کل بازهای نیتروژنی فرار(TVB-N) به روش AOAC محاسبه و تعیین گردید (AOAC, 2005). جهت شمارش کل باکتری‌ها (TVC) و باکتری‌های سرمادوست (PTC) در نمونه‌های تهیه شده، از

محیط تریپتیک سویا آگار (Tryptic Soy Agar) به روش کشت سطحی، استفاده شد (AOAC, 2005; Gimenez et al., 2002). پلیت‌های کشت داده شده مربوط به کل باکتری‌ها بعد از۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و پلیت‌های مربوط به باکتری‌های سرما دوست بعد از ۱۰ روز انکوباسیون در دمای ٤ درجه سانتی گراد شمارش شدند (AOAC, 2005; Gimenez et al., 2002; McMeekin et al., 1993). برای شمارش باکتری های اسید لاکتیک از محیط کشت DeManRogosa and Sharpe(MRS) agar استفاده شد. نمونه‌های اخیر در جار بی‌هوازی حاوی گازپک C قرار داده شده و در انکوباتور۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۳-۲ روز نگه‌داری شدند (Jones et al., 2008). به منظور شمارش *لیستریا مونوسیتوژنز* از محیط انتخابی CHROMagar™ Listeria (محیط کشت کروموژنیک، شرکت میکروبیولوژی کروم آگار فرانسه) و مکمل آن (CHROMagar Listeria supplement) با انکوباسیون در مای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ٢٤ تا ٤٨ ساعت استفاده شد (Hegde et al., 2007).

آنالیزهای آماری

برای مقایسه میانگین‌ها در زمان‌های مختلف برای یک تیمار از آزمون آنالیز واریانس تکراری و در ادامه از آزمون آماری تی وابسته و برای مقایسه میانگین‌ها بین تیمارهای مختلف در زمان‌های متفاوت از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی دانکن (Duncan) در سطح α=۰/۰۵ استفاده گردید (Egan et al., 1997).

یافته‌ها

آنالیزهای شیمیایی

عدد پراکسید

میزان پراکسید در تمامی تیمارها روند افزایشی داشته ولی میزان آن در نمونه‌های حاوی ترکیب نایسین و بنزوات سدیم از ۰/٤۳ به۷/٦۷ mqO2/g بوده در صورتیکه در نمونه‌های شاهد از ۰/٤۷ به ۱۲/۰۹ mqO2/g رسید (جدول ۱).

جدول ۱: نتایج عدد پراکسید در فیله ماهی فیتوفاگ نگه‌داری شده در دمای ۴ درجه سلسیوس در زمان‌های مختلف

زمان تیمار	پس از ۳ روز	پس از ۶ روز	پس از ۹ روز	پس از ۱۲ روز
لیستریا+بنزوات+ نایسین A	c۰/٤۳۵ ± ۰/۰۰۵	b۱/۸۵ ± ۰/۰۳	a۵/۰۹ ± ۰/۰۲	a*۷/٦۷ ± ۰/۰۳
بنزوات سدیم	c۰/٤۱ ± ۰/۰۱	b۱/٦۵ ± ۰/۱	a۵/۲۱ ± ۰/۱	a۷/۸۸ ± ۰/۲۱
نایسین A	c۰/٤۷ ± ۰/۰٤	b۲/۱۹ ± ۰/۰۵	a٦/۱۸ ± ۰/۰۵	a۸/۸۷ ± ۰/۳
شاهد دارای لیستریا (بدون ماده نگه‌دارنده)	d۰/٤۷ ± ۰/۰۱	c۳/۱٤ ± ۰/۰۹	b۸/۲۸ ± ۰/۱	a۱۲/۰۹ ± ۰/۵۹

*حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ما بین داده‌ها می‌باشد.

مقدار کل بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

میزان TVB-N در تیمار ترکیب مواد نگـه‌دارنـده، از ۷/۲۳ به ۲۶/۷۶ افزایش داشته در صـورتیکه در نمونـه شاهد از ۷/٤٤ **به** ۳۵/٦۰ mg N/100g افـزایش داشـته است (جدول ۲).

جدول ۲: نتایج TVB-N در فیله ماهی فیتوفاگ نگه‌داری شده در دمای ۴ درجه ساسیوس در زمان‌های مختلف

زمان تیمار	پس از ۳ روز	پس از ۶ روز	پس از ۹ روز	پس از ۱۲ روز
لیستریا+بنزوات+ نایسین A	c۷/۲ ± ۰/۱٤	b۱۲/۸۱ ± ۰/۱۳	a۱۸/۳۷ ± ۰/۵	a۲٦/۷٦ ± ۰/۷
بنزوات سدیم	c۷/۳٤ ± ۰/۰۱	b۱۲/۱۵ ± ۰/۰۵	a۱۷/٤۸ ± ۰/۳۲	a۲۹/۰۳ ± ۰/۱٤
نایسین A	c۷/٦۲ ± ۰/۰۲	b۱۳/۸٤ ± ۰/۲٦	a۱۹/٤۲ ± ۰/۰۹	a۲۹/۳٤ ± ۰/۲۲
شاهد دارای لیستریا (بدون ماده نگه‌دارنده)	d۷/٤٤ ± ۰/۰۳	c۱٤/۷۱ ± ۰/۰۷	b۲۰/٦۲ ± ۰/۰۹	a۳۵/٦۰ ± ۱/۹۸

*حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده ارتباط معنی‌دار ما بین داده‌ها می‌باشد.

آنالیزهای میکروبی

لیستریا مونوسیتوژنز

تعداد لیستریا در تیمارهای حاوی مـواد نگـه‌دارنـده روند کاهشی داشته بطوریکه در نمونـه دارای ترکیـب نایسین A و بنزوات سدیم تعداد بـاکتری از ٤/۱۲ بـه ۳/٦٦ واحد لگـاریتمی کـاهش داشـته اسـت. ایـن در حالیست که در نمونه‌های فاقد ماده نگه‌دارنـده تعـداد لیستریای تلقیح شده از٤/٤۳ به ۵/۱٤ واحد لگـاریتمی افزایش نشان داد (جدول ۳). در سایر تیمارهـا رونـد رشد لیستریا نیز کاهشی بوده ولی با این وجود نتـایج مربـوط بـه تیمـار دارای نایسـین بـه تنهـایی بهتـر از بنزوات سدیم بوده است. نتایج آنالیز آماری تیمارهای مختلف حاکی از ارتباط معنی دار مابین تیمار مخلوط و بنـــزوات (P=۰/۰۰۷)، نایســـین و نمونـــه کنتـــرل (P=۰/۰٤۰) و بنـزوات و نمونـه کنتـرل (P=۰/۰٤۱) بوده است.

جدول ۳: نتایج شمارش لیستریا (CFU/g) در فیله ماهی فیتوفاگ نگه‌داری شده در دمای ۴ درجه سلسیوس در زمان‌های مختلف

زمان تیمار	پس از ۳ روز	پس از ۶ روز	پس از ۹ روز	پس از ۱۲ روز
لیستریا+بنزوات+ نایسین A	a٤/۱۱± ۰/۰۵	a٤/۰۱± ۰/۰۲	b۳/۸۱± ۰/۱	c۳/٦٤± ۰/۱۵
بنزوات سدیم	a٤/۱۵± ۰/۰۵	a٤/۰٦± ۰/۰۲	b۳/۸۷± ۰/۰۷	b۳/۷۲± ۰/۱۲
نایسین A	a٤/۰۹± ۰/۰۲	a٤/۰٤± ۰/۰۲	b۳/۸٤± ۰/۰۷	c۳/۵۸± ۰/۰۳
شاهد دارای لیستریا (بدون ماده نگه‌دارنده)	c٤/٤۳± ۰/۰٦	b٤/۷۱ ± ۰/۰۷	a٤/۹٤± ۰/۳	a۵/۱۳±۰/۱۱

*حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ما بین داده‌ها می‌باشد.

باکتری‌های سرماگرا

تعدادPTC ابتدایی در مطالعه حاضر در تیمارهای شاهد و تیمار دارای نایسین روند افزایشی چشمگیری داشته و در روز ۱۲ از دامنه استاندارد خارج شده است. در سایر تیمارها (ترکیب نایسین و بنزوات و بنزوات سدیم بصورت منفرد) روند رشد باکتری‌های سرماگرا کندتر بوده بطوریکه در روز ۱۲ نگه‌داری، دارای دامنه قابل قبولی از باکتری‌ها بوده است (جدول ٤). نتایج آنالیز آماری تیمارهای مختلف حاکی از ارتباط معنی‌دار مابین تیمار مخلوط و کنترل (P=۰/۰۳۷) و نایسین و نمونه کنترل (P=۰/۰۳۹) بوده است.

جدول۴: نتایج شمارش باکتری‌های سرماگرا در فیله ماهی فیتوفاگ نگه‌داری شده در دمای ۴ درجه سلسیوس در زمان‌های مختلف (log CFU/g)

زمان تیمار	پس از ۳ روز	پس از ۶ روز	پس از ۹ روز	پس از ۱۲ روز
لیستریا+بنزوات+ نایسین A	c٤/١٥ ± ٠/٠٨	b٤/٣٤ ± ٠/١٥	a٥/٦٥ ± ٠/٠٣	a٦/٧١ ± ٠/٠٤
بنزوات سدیم	c٤/٢٥ ± ٠/١١	b٤/٦٣ ± ٠/١٧	a٦/١٦ ± ٠/٥٤	a٦/٨٧ ± ٠/٠٣
نایسین A	c٤/٠٨ ± ٠/٠٨	b٤/٧٥ ± ٠/٠٦	b٥/٩٥ ± ٠/٠٤	a٧/٤٨ ± ٠/٠٦
شاهد دارای لیستریا (بدون ماده نگه‌دارنده)	d٤/٣٣ ± ٠/٠٤	c٥/٧٧ ± ٠/٠٩	b٦/٩٣ ± ٠/٠٤	a٧/٩٣ ± ٠/٠٦

*حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار ما بین داده‌ها می‌باشد.

باکتری‌های مزوفیل

تعداد باکتری‌های مزوفیل در مطالعه حاضر در تیمارهای شاهد و تیمار دارای نایسین (مشابه باکتری-های سرماگرا) روند افزایشی داشته و در روز ۱۲ از دامنه استاندارد خارج شده است. در سایر تیمارها (ترکیب نایسین و بنزوات و بنزوات سدیم بصورت منفرد) روند رشد باکتری‌های مزوفیل کندتر بوده بطوریکه در روز ۱۲ نگه‌داری، دارای دامنه قابل قبولی از باکتری‌ها بوده است (جدول۵). نتایج آنالیز آماری تیمارهای مختلف حاکی از ارتباط معنی‌دار مابین تیمار نایسین و مخلوط (P=۰/۰٤) بوده است.

جدول ۵: نتایج شمارش باکتری‌های مزوفیل در فیله ماهی فیتوفاگ نگه‌داری شده در دمای ۴ درجه سلسیوس در زمان‌های مختلف (log CFU/g)

زمان تیمار	پس از ۳ روز	پس از ۶ روز	پس از ۹ روز	پس از ۱۲ روز
لیستریا+بنزوات+ نایسین A	b٤/٣٨ ± ٠/١٣	b٥/٠٨ ± ٠/٠٨	a٦/٤٥ ± ٠/٠٥	a٦/٧٩ ± ٠/٠٤
بنزوات سدیم	b٤/٤٦ ± ٠/٠٧	b٤/٥١ ± ٠/٦٧	a٦/٢٧ ± ٠/٦١	a٦/٩ ± ٠/٠٢
نایسین A	c٤/٥ ± ٠/٠٧	b٥/٥٥ ± ٠/٠٩	a٦/٩١ ± ٠/٠١	a٧/٥٦ ± ٠/٠٧
شاهد دارای لیستریا (بدون ماده نگه‌دارنده)	d٤/٤٨ ± ٠/٠٥	c٦/٨٨ ± ٠/٠٥	b٨/٠٧ ± ٠/٠٣	a٨/٩٢ ± ٠/٠٤

*حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده ارتباط معنی‌دار ما بین داده‌ها می‌باشد.

باکتری‌های لاکتیک

جمعیت باکتری‌های گروه اسید لاکتیک (LAB) در تمامی تیمارهای مورد استفاده در دامنه استاندارد قرار داشته است (۷ log CFU/g) ولی روند رشد باکتری-های لاکتیک در تیمارهای شاهد و تیمار دارای بنزوات سدیم بصورت منفرد سریع‌تر از تیمارهای دارای مواد نگه‌دارنده ترکیبی و تیمار نایسین به تنهایی بوده است (جدول ٦). نتایج آنالیز آماری تیمارهای مختلف حاکی از ارتباط معنی‌دار مابین تیمار مخلوط و نایسین (P=۰/۰۱۳)، مخلوط و نمونه کنترل (P=۰/۰۲) و بنزوات و نمونه کنترل (P=۰/۰۱۳) بوده است.

جدول ۶: نتایج شمارش باکتری‌های لاکتیک (CFU/g) در فیله ماهی فیتوفاگ نگه‌داری شده در دمای ۴ درجه سلسیوس در زمان‌های مختلف (log CFU/g)

زمان تیمار	پس از ۳ روز	پس از ۶ روز	پس از ۹ روز	پس از ۱۲ روز
لیستریا+بنزوات+ نایسین A	d۲/۷۱ ± ۰/۱۵	c۳/٦ ± ۰/۱۸	b۳/۸۵ ± ۰/۰٤	a٤/۰۸ ± ۰/۱
بنزوات سدیم	b۲/۸۳ ± ۰/۰۹	a۳/۷٦ ± ۰/۱	a٤/۰۱ ± ۰/۰٦	a٤/۳۸ ± ۰/۰۳
نایسین A	b۲/۸٤ ± ۰/۰۵	a۳/۸۷ ± ۰/۰۳	a٤/۰۳ ± ۰/۰۳	a٤/۲۲ ± ۰/۰٦
شاهد دارای لیستریا (بدون ماده نگه‌دارنده)	c۲/۹ ± ۰/۰۵	b٤/۱٦ ± ۰/۰٤	a٤/۳٤ ± ۰/۰٤	a٤/۷۸ ± ۰/۰۵

*حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار ما بین داده‌ها می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

جهت تعیین هیدروپراکسیدها به عنوان محصول اولیه اکسیداسیون چربی در ماهیان، از شاخص پراکسید استفاده می‌شود (Olafsdottir et al., 1997). تغییرات عدد پراکسید در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای دیگر با سرعت بیشتر رو به افزایش بوده (از ۰/٤۷ به ۱۲/۰۹mqO2/g) که دلیل این امر می‌تواند ناشی از تأثیر نایسین و یا بنزوات سدیم بر کاهش جمعیت باکتری‌های لیپولتیک (مثل برخی از گونه‌های سودوموناس و برخی از باکتری‌های گرم مثبت) و همچنین واکنش‌های آنزیمی باکتریایی مرتبط با اکسیداسیون چربی در ماهیان باشد (حد قابل قبول پیشنهادی(۲۰-۱۰ میلی اکی والان پراکسید بر کیلوگرم چربی) توسط Huss (1995) می‌باشد. روند صعودی تغییرات عدد پراکسید در تیمار شاهد در زمان‌های مختلف معنی‌دار بوده (P<۰/۰۵) ولی این روند در تیمارهای دارای مواد نگه‌دارنده، در برخی از موارد معنی‌دار بوده است. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج گزارش شده توسط Pacheco-Aguilar و همکاران (۲۰۰۰) بر روی ساردین و Ozogul و همکاران (۲۰۰۵) در مارماهی اروپایی مطابقت دارد. اکسیداسیون چربی توسط واکنش‌های متنوع غیر آنزیمی و آنزیمی (آنزیم‌های باکتریایی، بین سلولی، هضم کننده) کنترل می‌شود که این واکنش‌ها به طور اساسی به گونه ماهی و دمای نگه‌داری بستگی دارد (Huss, 1995).

در طی زمان نگه‌داری، مقدار TVB-N فقط در نمونه شاهد به بالاتر از حد قابل قبول پیشنهادی بر اساس گزارش اتحادیه اروپا (EU) و گزارش Gimenz و همکاران (۲۰۰۲) (۲۵mgN/100g) رسید. روند صعودی تغییرات TVB-N در نمونه شاهد در زمان‌های مختلف معنی‌دار بوده (P<۰/۰۵) ولی این روند در تیمارهای دارای مواد نگه‌دارنده، در برخی از موارد معنی‌دار بوده است. شاخص TVB-N دامنه وسیعی از ترکیبات فرار بازی همانند متیل آمین، دی متیل آمین، تری متیل آمین و آمونیاک را در بر می‌گیرد (Rodriquez et al., 2008). در مطالعه حاضر، میزان بازهای نیتروژنی با افزایش زمان ماندگاری افزایش داشته ولی با این وجود در تیمارهای حاوی مواد نگه‌دارنده این روند کندتر بوده و در تیمار شاهد میزان TVB-N افزایش معنی‌داری داشته است (P<۰/۰۵).

تعداد لیستریا در تیمارهای دارای مواد نگه‌دارنده روند نزولی داشته ولی تعداد آن در تیمار شاهد افزایش داشته است. روند تغییرات لیستریا در تیمار شاهد و تیمارهای حاوی نایسین و بنزوات (بطور ترکیبی و یا منفرد) در برخی از موارد معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۵). نتایج حاصل از این تحقیق با سایر یافته‌های محققین که بیانگر کاسته شدن تعداد لیستریا در گوشت حاوی نایسین مطابقت دارد (Solomakos et al., 2008; Yin et al., 2007). کاهش نسبی فعالیت ضد لیستریایی نایسین در طول زمان احتمالاً به دلیل ترکیب نایسین با پروتئین و چربی غذا و یا به خاطر فعالیت آنزیم‌های موجود در گوشت است (Duffes et al., 1999).

Pawar و همکاران (۲۰۰۰) تحقیقی بر روی مهار باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در گوشت چرخ شده بوفالو در دمای یخچال انجام دادند که نتایج حاصل از این مطالعه بیان کرد که با افزایش غلظت نایسین از ٤٠٠ به IU/g ٨٠٠ فعالیت ضد لیستریایی آن در گوشت چرخ شده تقویت می‌شود.

Yin و همکاران، نایسین و پدیوسین را در سطوح مختلف بین IU/g ۳۷۵ تا IU/g ۷۵۰۰ در کوفته ماهی بکار بردند. که نتایج حاصل از تحقیق مذکور بیانگر محدود شدن فعالیت ضد لیستریایی این باکتریوسین‌ها در دو هفته اول مطالعه بود. علاوه بر این در مطالعه Yin و همکارانش نایسین در غلظت IU/g ۱۵۰۰ حتی در روزهای اول نیز قادر به کاهش لیستریا به زیر حد نسبتاً قابل قبول (۱۰۰ باکتری در هر گرم غذا برای افراد سالم) نبود.

روند رشد باکتری‌های سرماگرا در تیمار شاهد رشد مثبت و معنی دار داشته است (P<۰/۰۵). روند تغییرات در تیمارهای حاوی نایسین و بنزوات (بطور ترکیبی و یا منفرد) در برخی از موارد معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۵). این امر احتمالاً بدلیل باکتریواستاتیک بودن نایسین باشد. بیشترین حد پیشنهاد شده برای PTC در ماهی ۷log CFU/g است (ICMSF1986). بالا بودن مقادیر PTC در ابتدای دوره احتمالاً بدلیل گونه ماهی و همچنین دستکاری‌های صورت گرفته در حین تخلیه شکمی و فیله کردن می‌باشد. باکتری‌های گرم منفی سرمادوست،

میکروارگانیزم‌های اصلی مسئول فساد ماهیان تازه نگه‌داری شده به صورت سرد هستند (Gram and Huss, 1996; Gram et al., 1987). تعیین عمر ماندگاری تیمارهای مختلف توسط آنالیزهای باکتریایی بر مبنای زمان رسیدن تیمارها به حد مجاز قابل قبول ۷ log CFU/g برای باکتری‌های سرمادوست قرار دارد.

باکتری‌های مزوفیل

نتایج آنالیز باکتری‌های مزوفیل شبیه به باکتری‌های سرماگرا بوده است. روند تغییرات باکتری‌های مزوفیل در تیمار شاهد روندی صعودی بوده است (P<۰/۰۵). روند تغییرات در تیمارهای حاوی نایسین و بنزوات (بطور ترکیبی و یا منفرد) در برخی از موارد معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۵). محققین مقدار TVC ابتدایی ۲-۶ log CFU/g را برای گونه‌های مختلف آب شیرین (تیلاپیا، باس راه راه، قزل آلای رنگین کمان، سوف نقره‌ای) پیشنهاد داده‌اند (Gonzalez et al., 2001; Savvaidis et al.,2002). باکتری‌های مزوفیل (TVC) جزو آن دسته از باکتری‌هایی هستند که در دمای بالاتر قادر به رشد بوده و زمانیکه دمای نگه‌داری دارای نوسان شود این گروه از باکتری‌ها شروع به تکثیر می‌نمایند (Inoue et al., 2000).

باکتری‌های لاکتیک

روند رشد باکتری‌های لاکتیک در نمونه شاهد روند صعودی داشته و در تیمارهای انتخاب روند نزولی داشته که بسته به نوع ماده نگه‌دارنده متفاوت بوده است. روند تغییرات باکتری‌های لاکتیک در نمونه شاهد معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۵). ولی با این وجود روند رشد در تیمارهای حاوی نایسین و بنزوات (بطور ترکیبی و یا منفرد) در برخی از موارد دارای ارتباط معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۵). علت این امر تأثیر باکتریوسایدی نایسین بر علیه اکثر باکتری‌های گروه لاکتیک می‌باشد. همچنین روند کاهشی باکتری‌های گروه لاکتیک را می‌توان به تاثیر مهار کننده بنزوات سدیم نسبت داد (Castellano et al., 2008).

نتیجه‌گیری کلی نشان می‌دهد که اگرچه مواد نگه‌دارنده مورد استفاده در این تحقیق به هنگام استفاده در محیط کشت آزمایشگاهی (مطالعات انجام شده)، جمعیت لیستریا را به صفر می‌رسانند ولی به هنگام تلقیح باکتری در بافت ماهی، پارامترهای مختلف بر اثرات ضدمیکروبی مواد نگه‌دارنده تأثیرگذارمی‌باشند. از مهمترین این پارامترها می‌توان به غلظت باکتریوسین و بنزوات سدیم مورد استفاده، روش استفاده از باکتریوسین، زمان غوطه‌وری، گونه ماهی، نوع محصول، درجه آلودگی میکروبی و وضعیت نگه‌داری اشاره نمود. استفاده از نایسین A (۰/۱۵٪) و بنزوات سدیم (۲g/100ml) (بصورت ترکیبی) در نمونه‌های مورد آزمایش، رشد میکروبی و تغییرات شیمیایی را بطور معنی‌داری به تأخیر انداخته ولی با این وجود قادر به کاهش لیستریا به حد دامنه استاندارد و قابل قبول نبوده است.

منابع

- Akhondzadeh, A., ZahraieSalehi, T. and Misaghi, A. (2003). The survey of *Listeria monocytogenes* in fresh and smoked fish and ice used in fish markets for retaining the freshness of the fish in Tehran and Gilan. Journal of Veterinary Research, 57(4): 9-12.
- AOAC. (2005). Official Method of Analysis. 17th edition, Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists, pp. 716-725.
- Castellano, P., Belfiore, C. and Fadda, S. (2008). A review of *bacteriocinogenic lactic acid* bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produced in Argentina. Meat Science, 79: 483-499.
- Chen, B.Y., Rajkumar, P., Tae-Jo, K., Juan, L.S. and Yean-Sung, J. (2010). Prevalence and contamination patterns of *Listeria monocytogenes* in catfish processing environment and fresh fillets. Food Microbiology, 27(5): 645-652.
- Dykes, G.A. and Moorhead, S.M. (2002). Combined antimicrobial effect of nisin and a listeriophage against *Listeria monocytogenes* in broth but not in buffer or on raw beef. International Journal of Food Microbiology, 73(1): 71-81.
- De Arauz, L.J., Jozala, A.F., Gava Mazzola, P. and Vessoni Penna, T.C. (2009). Nisin biotechnological production and application: a review. Trends in Food Science and Technology, 20(3-4): 146-154.
- Duffes, F., Françoise, L., Patrick, B. and Xavier, D. (1999). Inhibition of *Listeria monocytogenes*by *Carnobacterium spp*. strains in a simulated cold smoked fish system stored at 4°C. International Journal of Food Microbiology, 47(1-2): 33-42.
- Egan, H., Krik, R.S. and Sawyer, R. (1997). Pearsons Chemical Analysis of Foods. 9th edition, 609-634.
- Esmaeilzadeh, R. and Sahari, M. (2004). Compare of proximate factors of kutum (*Rutilisfrisiikutum*) and *Ctenopharyngodonidella* and production fo marinade from these fish. Iranian Scientific Fisheries, 4: 13-28 [In Farsi].
- Gimenez, B., Roncales, P. and Beltran, J.A. (2002). Modified atmospherepackaging of filleted rainbow trout. Journal of the Sciece of Food and Agriculture, 84,1154-1159.
- Geims, M. (2006). Modern Food Microbiology. 2th edition, translated by Mortazavi, E., Motamedzadegan, E. and Gohari, A. Ferdosi Publication, pp. 662.
- Gonzalez-Rodriguez, M.N., Sanz, J.J., Santos, J.A., Otero, A. and Garcia-Lopez, M.L. (2001). Bacteriological quality of aquaculture freshwater fish portions in prepackaged trays stored at 3℃. Journal of Food Protection, 64: 1399-1404.
- Gram, L., and Huss, H.H. (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. InternationalJournal of Food Microbiology, 33: 121-137.
- Gram, L., Trolle, G. and Huss, H.H. (1987). Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0 ℃) and high (20 ℃) temperatures. International Journal of Food Microbiology, 4: 65-72.
- Gudbjornsdottir, B., Suihko, M.L., Gustavsson, P., Thorkelsson, G., Salo, S., Sjoberg, A.M., Niclasen, O. and Bredholt, S. (2004). The incidence of *Listeria monocytogenes* in meat, poultry and seafood plants in the Nordic countries. Food Microbiology, 21(2): 217-225.
- Hegde, V., Leon-Velarde, C.G., Stam, C.M., Jaykus, L.A. and Odumeru, J.A. (2007). Evaluation of BBL CHROMagar Listeria agar for the isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from food and environmental samples. Journalof Microbiological Methods, 68(1): 82-87.
- Huss, H.H., Jorgensen, L.V. and Vogel, B.F. (2000). Control options for Listeria monocytogenes in seafoods. International Journal of Food Microbiology, 62(3): 267-274.

- Huss, H.H. (1995). Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper No. 348, Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, Rome, Italy.
- Inoue, S., Nakama, A., Arai, Y., Kokubo, Y., Maruyama, T. and Saito, A. (2000). Prevalence and contamination levels of *Listeria monocytogenes* in retail foods in Japan. International Journal of Food Microbiology, 59(1-2): 73-77.
- ICMSF ''International Commission on Microbiological Specification for Foods''. (1986). Microorganisms infoods. 2nd edition, Sampling for microbiological analysis: principle sand specific applications. 2nd edition, Buffalo, N.Y: University of Toronto Press, pp. 211-215.
- Jones, R., Hussein, H.M. and Zagorec, M. (2008). Isolation of lactic acid bacteria with inhibitory activity against pathogens and spoilage organisms associated with fresh meat. Food Microbiology, 25: 228-234.
- McMeekin, T.A., Olley, J.N., Roos, T. and Ratkowsky, D.A. (1993). Predictive microbiology. Theory and Application. Resaerch Studies Press Taunton, England, pp. 199-200.
- Martins, E.A. and Pedro, M.L.G. (2011). *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat, sliced, cooked ham and salami products, marketed in the city of Sao Paulo, Brazil: Occurrence, quantification, and serotyping. Food Control, 22(2): 297-302.
- Neetoo, H., Mu, Y. and Haiqiang, C. (2008). Potential antimicrobials to control *Listeria monocytogenes* in vacuum-packaged cold-smoked salmon pate and fillets. International Journal of Food Microbiology, 123(3): 220-227.
- Olafsdottir, G., Martinsdottir, E., Oehlenschlager, J., Dalgaard, P., jensen, B. and Undeland, I. (1997). Methods to evaluate fish freshness in research and industry. Trends in Food Science and Technology, 8: 258-265.
- Ozogul, Y., Ozyurt, G., Ozogul, F., Kuley, E. and Polat, A. (2005). Freshness assessment of European eel (Anguilla anguilla) by sensory, chemical and microbiological methods. Food Chemistry, 92: 745-751.
- Pacheco-Aquilar, R., Lugo-Sanchez, M.E. and Robles-Burgueno, M.R. (2000). Post mortem biochemical and functional characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0˚C. Journal of Food Science, 65(1): 40-47.
- Pawar, D.D., Malik, S.V.S., Bhilegaonkar, K.N. and Barbuddhe, S.B. (2000). Effect of nisin and its combination with sodium chloride on the survival of *Listeria monocytogenes* added to raw buffalo meat mince. Meat Science, 56(3): 215-219.
- Perez-Alonso, F.C. and Auborg S.P. (2003). Lipid deterioration during child storage of Atlantic pomfret (Bramabrama). Journal of Lipid Science and Technology, 105: 661-667.
- Rezaei, M., Sahari, M., Moeini, S. and Safari, M. (2003). Compare of fat quality in Clupeonellaengrauliformis in two handling systems. Iranian Scientific Fisheries, 3: 97-107 [In Farsi].
- Rodriquez, A., Carriles, N., Cruz, J. and P.Auborg, S. (2008). Changes in the flesh of cooked farmed salmon (oncorhynchuskisutch) with pevious storage in slurry ice (-1.5 ºC). Food Sciecne and Technology, 41: 1726-1732.
- 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 *Listeriamonocytogenes* on sliced pork bologna stored at4oC in vacuum packages. Swiss Society of Food Science and Technology, 38: 21-28
- Savvaidis, I.N., Skandamis, P.N., Riganakos, K.A., Panagiotakis, N. and Kontominas, M.G. (2002). Control of natural microbial flora and *Listeria monocytogenes* in vacuum packaged trout at 4 and 10°C using irradiation. Journal of Food Protection, 65: 515-522.

- Solomakos, N., Govaris, A., Koidis, P. and Botsoglou, N. (2008). The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage. Food Microbiology, 25(1): 120-127.
- Tome, E., Teixeira, P.A. and Gibbs, P. (2006). Anti-listerial inhibitory lactic acid bacteria isolated from commercial cold smoked salmon. Food Microbiology, 23: 399-405
- Vescovo, M., Scolari, G. and Zacconi, C. (2006). Inhibition of listreia innocua growth by antimicrobial-producing lactic acid culture in vacuum-packed cold smoked salmon. Food Microbiology, 23: 689-693.
- Wadud, S., Carlos, G.L., Nathan, L. and Joseph, A.O. (2010). Evaluation of immunomagnetic separation in combination with ALOA Listeria chromogenic agar for the isolation and identification of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Journal of Microbiological Methods, 81(2): 153-159.
- Yin, L.J., Wu, C.W. and Jiang, S.T. (2007). Biopreservative effect of pediocin ACCEL on refrigerated seafood. Fisheries Science, 73(4): 907-912.

The effect of nisin A and sodium benzoate on behavior of *Listeria monosytogenes* and some microbial and chemical parameters in silver carp (*Hypophtalmichtys molitrix)* fillet stored at 4°C

Safari, R[1*], Saeidi Asl, M.R. [2]

1- Caspian Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Research Organization, Sari, Iran.
2- Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Slamic Azad University, Sabzevar, Iran.
Corresponding author email: Safari1351@gmail.com
(Received: 2011/6/21 Accepted: 2011/12/16)

Abstract

The effect of nisin A and sodium benzoate on *Listeria monoc*ytogenes, as well as some microbial (mesophilic, psychrotrophic and lactic acid bacteria) and chemical (peroxide and TVN) in silver carp (*Hypophtalmichtys molitrix*) fillet during storage period (0, 3, 6, 9 and 12 days) at 4˚C were evaluated. For this, *Listeria monoc*ytogenes (4 logCFU/g) was inoculated to the fillets and were dipped into 2% sodium benzoate solution for 15 min and left to stand for 10 min at 4˚C. Subsequently nisin A was added to the fillet (0/15 g/kg) and samples were kept at 4˚C while packaged in vacuum condition. The results showed that, application of nisin A and sodium benzoate decrease the number of *Listeria monoc*ytogenes from 4/12 to 3/66. However, in control groups the number of bacterium was increased from 4/43 to 5/14. Moreover, the number of mesophilic bacteria in treatment and control groups was increased from 4/39 to 6/79 and 4/48 to 7/93, respectively. The number of psychrotrophic bacteria in treatment and control groups was increased from 4/16 to 6/72 and 4/34 to 7/92, respectively. The similar result was achieved for lactic acid bacteria in which the number of these bacteria was increased from 2/74 to 4/08 and 2/9 to 4/78, respectively. Moreover, different peroxide value and TVN for treatment and control groups was achieved. In conclusion, application of nisin A and sodium benzoate showed different inhibitory effects on *Listeria monoc*ytogenes in culture media and silver carp.

Key words: Nisin A, Sodium benzoate, *Listeria monoc*ytogenes, Silver carp