مطالعه تأثیر غلظت‌های مختلف نمک بر رفتار رشدی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسایتوژنز* در فیله ماهی کپور نقره‌ای شور (*Hypophthalmichthys molitrix*)

نسرین چوبکار[۱*]، افشین آخوند زاده بستی[۲]، مهدی سلطانی[۳]، عباسعلی ساری[۴]، امیر محمد امامی راد[۵]، منصوره قائنی[۶]، لاله رومیانی[۷]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرمانشاه، گروه مهندسی منابع طبیعی- شیلات، کرمانشاه، ایران.
۲- دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت مواد غذایی، تهران، ایران.
۳- دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه بیماری‌های آبزیان، تهران، ایران.
۴- دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده پیرادامپزشکی، گروه بهداشت مواد غذایی، همدان، ایران.
۵- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرمانشاه، عضو باشگاه پژوهشگران جوان، کرمانشاه، ایران.
۶- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهواز، گروه مهندسی منابع طبیعی- شیلات، اهواز، ایران.
۷- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آبادان، گروه مهندسی منابع طبیعی- شیلات، آبادان، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: Nchoobkar20@gmail.comk
(دریافت مقاله: ۹۰/۷/۲۵ پذیرش نهائی: ۹۱/۲/۱۶)

چکیده

شور کردن ماهی جزو روش‌های سنتی نگه‌داری ماهی می‌باشد که به منظور کاهش فساد، افزایش عمر ماندگاری و دسترسی به بازارهای جدید مورد استفاده قرار می‌گیرد. از آنجایی که در بعضی از کشورها ماهی شور و دودی، بصورت نیمه‌پخته و یا خام مصرف می‌شوند لذا احتمال بروز مسمومیت غذایی ناشی از میکروارگانیسم‌های نمک دوست وجود دارد. این مطالعه به منظور ارزیابی اثر ضد میکروبی غلظت‌های مختلف نمک بر باکتری‌های *لیستریا مونوسایتوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در ماهی کپور نقره‌ای شور صورت گرفت. در این تحقیق تأثیر غلظت‌های مختلف نمک (٤، ٨ و ١٢ درصد) بر رشد باکتری‌های بیماری‌زای احتمالی موجود در کپور نقره‌ای شور، در دمای ١٠ درجه سلسیوس (شرایط نامناسب یخچالی) در روزهای صفر، ١، ٢، ٣، ٦، ٩، ١٢، ١٥، ١٨ و ٢١ مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که اثر غلظت‌های مختلف نمک بر تعداد باکتری *لیستریا مونوسایتوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد (P<٠/٠٥). این مطالعه نشان می‌دهد که نمک به تنهایی نگه‌دارنده مناسبی جهت افزایش عمر ماندگاری محصولات شور نمی‌باشد لذا استفاده از سایر نگه‌دارنده‌های طبیعی در محصولات شور ضروری به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: نمک سود کردن، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا مونو سایتوژنز*، فیله ماهی کپور نقره‌ای

مقدمه

شور کردن ماهی یکی از روش‌های سنتی نگه‌داری ماهی در برخی کشورها می‌باشد که عمر نگه‌داری محصول را افزایش می‌دهد. فرآورده‌های شور در دنیا به سه صورت تهیه می‌گردند: کم شور (۱ تا ۸ درصد نمک)، شوری متوسط (۸ تا ۱۶ درصد نمک) و محصولات با شوری شدید (۱۶ تا ۲۵ درصد نمک) (Burt, 2004 and Barakat et al., 2004).

فرآورده‌های شور معمولاً در ایران و اغلب کشورها در دمای محیط و یا شرایط نامناسب یخچالی نگه‌داری می‌شوند و بصورت نیمه‌پخته و یا خام مصرف می‌شوند در نتیجه میکروارگانیسم‌های نمک دوست می‌توانند در این فرآورده‌ها رشد و تکثیر کنند. بر اساس مطالعات صورت گرفته باکتری‌های مورد مطالعه، *لیستریا مونوسایتوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس*، از کپور نقره-ای شور و دودی در ایران جداسازی شده است (Akhondzade Basti et al., 2006).

استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aures*) باکتری گرم مثبت، کروی تا بیضوی است که در لام میکروسکوپی به شکل خوشه‌ای کنار هم قرار می‌گیرند. این باکتری، عامل بیماری‌زای مهم مواد غذایی است (Blackburn and Peter, 2002)، بطوریکه در بسیاری از کشورها، پس از سالمونلا و *کلستریدیوم پرفرینجنز* به عنوان سومین عامل بیماری‌زا است که موجب بروز مسمومیت غذایی می‌گردد. انسان و اغلب حیوانات اهلی به عنوان مخزن این باکتری هستند (Munoz et al., 2006) و بنابراین انتظار بر این است که آلودگی استافیلوکوکی در اغلب یا تمام محصولات غذایی یا آنهایی که به طور مستقیم توسط انسان دستکاری می شوند وجود داشته باشد مخصوصاً در فرآورده‌های شور با توجه به اینکه مقاومت این باکتری‌ها به نمک و رشد در فعالیت آبی پایین، احتمال بروز مسمومیت ناشی از این باکتری‌ها وجود خواهد داشت (Akhondzadeh Basti et al., 2007). بنابراین توجه به این باکتری‌ها در فرآورده‌های شور و مواد غذایی که هنگام تولید و یا مصرف، حرارت نمی‌بینند از اهمیت بسزایی برخوردار می‌باشد (Akhondzadeh Basti et al., 2007).

لیستریا مونوسایتوژنز، یک باکتری گرم مثبت، فاقد هاگ و به شکل کروی یا میله ای است که موجب بروز لیستریوزیس در انسان و حیوان می‌شود (Okutani et al., 2004). این باکتری سبب عوارض وخیمی از قبیل مننژیت، سقط جنین، عفونت کشنده خصوصاً در افراد خیلی جوان، سالمندان، زنان باردار یا افراد با ضعف سیستم ایمنی می‌شود (Gandhi and Chikindas, 2007) اگر چه موارد لیستریوزیس از نظر بروز بیماری جزو چند عامل اول بیماری‌زای مواد غذائی نیست اما به واسطه میزان بالای مرگ ومیر مبتلایان از نظر بهداشت عمومی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Riberio et al., 2006). این باکتری قادر به رشد در دمای بین ۱ تا ٤٥ درجه سلسیوس (Kim, et al.,2007)، pH بین٤/٣ تا ٩/٦ و غلظت ۱۰ درصد کلرید سدیم می‌باشد و در بین سایر باکتری‌های رویا (vegetative) از مقاومت حرارتی بالاتری برخوردار می باشد (Riberio et al., 2006).

از آنجایی که در ایران و سایر نقاط دنیا فرآورده‌های شور اغلب در دمای محیط و یا شرایط نامناسب یخچال (۱۰ درجه سلسیوس) نگه‌داری می‌شوند. لذا این تحقیق با هدف بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف نمک بر رشد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا*

مونوسایتوژنز در فیله‌های ماهی کپور نقره‌ای شور در دمای ۱۰ درجه سلسیوس انجام شده است.

مواد و روش‌ها

باکتری مورد مطالعه

باکتری لیوفلیزه *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 6538 و *لیستریا مونوسایتوژنز* ATCC 19118 از گروه میکروب‌شناسی دانشکده دامپزشکی تهران تهیه شد. به منظور فعال سازی باکتری از این کشت لیوفلیزه در محیط آبگوشت قلب و مغز (Brain Heart Infusion Broth) در ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۸-۱۶ ساعت (Over night) و حداقل برای دو بار متوالی کشت داده شد. سپس از کشت دوم به نسبت ۱ به ۵ با گلیسرین ۵۰٪ استریل مخلوط شده و در حجم‌های ۱ میلی‌لیتری در میکروتیوپ‌های اپندرف در ۲۰- درجه سانتیگراد به منظور مطالعات بعدی نگه‌داری گردید (Varnam and Evans, 1991).

تهیه میزان تلقیح باکتریایی

تهیه میزان تلقیح باکتری مورد آزمایش، با انتقال باکتری از میکروتیوب‌های اپندرف به محیط آبگوشت BHI و نگه‌داری به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس انجام گرفت. مجدداً کشت دومی از این کشت ۱۸ ساعته اول در آبگوشتBHI دیگر (به مدت ۱۸ ساعت، ۳۷ درجه سلسیوس) تهیه شد. از کشت ۱۸ ساعته دوم سوسپانسیون باکتریایی با کدورت معادل ۰/۵ مک‌فارلند (با جذب نوری ۰/۱) به روش اسپکتروفتومتری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Milton Roy Company USA) در طول موج ۶۰۰ نانومتر تهیه شد و تعداد باکتری در این سوسپانسیون از طریق شمارش تعداد کلونی محاسبه گردید و در تمام مراحل آزمایش برای تهیه دوز تلقیح از سوسپانسیون باکتری با کدورت معادل ۰/۵ مک فارلند استفاده شد. برای تهیه دوز تلقیح، سوسپانسیون مذکور با استفاده از رقیق کننده استریل آب پپتونه ۰/۱ ٪ حاوی ۳٪ نمک رقیق شد تا در نهایت در هر ۱۰۰ میکرولیتر از محتویات لوله آزمایش مقدار $۲/۵ \times ۱۰^{۴}$ باکتری موجود باشد (تعداد دقیق باکتری با کشت بر روی آگار و شمارش تعداد پرگنه‌ها تأیید می‌گردید).

آماده‌سازی نمونه‌های ماهی

ماهی کپور نقره‌ای یا فیتوفاگ با نام علمی *Hypophthalmichthys molitrix* با وزن متوسط ۲ کیلوگرم از یک مزرعه پرورش ماهی تهیه شد و در دمای صفر تا ۲ درجه سلسیوس در مجاورت یخ نگه‌داری و در کیسه‌های پلی‌اتیلنی به محل فیله‌گیری منتقل گردید. در محل مذکور بلافاصله مراحل پوست کنی، تخلیه اندرونه، جداکردن سر و آبشش ماهی‌ها انجام گرفت. سپس فیله کردن ماهی به قطعات ۸ × ۳ سانتی متر مربع صورت گرفت، به طوری که وزن متوسط قطعات حدود ۲۵ گرم بود. تعداد ۱۲ قطعه فیله ماهی در داخل کیسه‌های پلی اتیلنی استریل قرار داده شد و مجدداً در مجاورت یخ و دمای صفر تا ۲ درجه سلسیوس به سازمان انرژی اتمی منتقل و برای از بین بردن کامل فلور سطحی، فیله‌ها در معرض اشعه گاما به میزان ۳ کیلوگری پرتودهی شدند. پس از این مرحله فیله‌های اشعه دیده در مجاورت یخ و در دمای صفر تا ۲ درجه سلسیوس به آزمایشگاه منتقل گردیدند.

جهت اطمینان از عدم آلودگی فیله‌ها، از فیله‌های پرتو دیده به طور اتفاقی نمونه‌برداری کرده و پس از تهیه

رقت به روش کشت مخلوط در محیط کشت آگار BHI کشت داده شد و به مدت ٢٤ ساعت در دمای ٣٧ درجه سلسیوس نگه‌داری گردید و سپس محیط‌های کشت از لحاظ رشد باکتری مورد بررسی قرار گرفت، که هیچگونه باکتری رشد نکرده بود.

فیله‌ها در محلول‌های مختلف آب نمک استریل (غلظت‌های ٤، ٨ و ١٢ درصد) به مدت٢ ± ٢٤ ساعت در دمای ٥ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند.

آماده‌سازی نمونه‌ها و نحوه کشت میکروبی

در شرایط استریل در زیر هود بیولوژیک فیله‌ها از محلول نمک خارج و به مدت یک دقیقه در ظرف استریل قرار داده شدند تا آب اضافی آنها گرفته شود و سپس در داخل پلیت استریل وزن آنها به ٢٥ گرم رسانده شد و بعد ١٠٠ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی (حاوی $۲/۵ \times ۱۰^{٤}$ باکتری) به صورت کشت نقطه‌ای در ده نقطه روی هر فیله تلقیح شد. بطوریکه دوز نهایی تلقیح در هر گرم از فیله ماهی ۱×۱۰^{۳} باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* باشد. سپس فیله‌ها به مدت ٢٠ دقیقه در دمای اتاق در زیر هود بیولوژیک نگه‌داری شدند تا باکتری‌ها جذب بافت ماهی گردند. بعد فیله‌ها با حفظ شرایط استریل در کیسه‌های پلاستیکی استوموکر قرار داده شدند و به گرم‌خانه ١٠ درجه سلسیوس منتقل گردیدند.

کشت فیله‌های تلقیح شده (به روش سطحی روی محیط کشت آگار انتخابی Baird parker (Merck آلمان) برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و آگار انتخابی Palcam برای باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز*) و شمارش باکتری‌های مورد بررسی در روزهای صفر، ١، ٢، ٣، ٦، ٩، ١٢، ١٥، ١٨ و ٢١ صورت گرفت. به ازای هر غلظت نمک ٢ تکرار در نظر گرفته شد (Akhondzadeh Basti et al., 2006; Blackburn and Peter, 2002).

اندازه‌گیری میزان نمک در بافت ماهی

نمونه ماهی را در بوته چینی کوبیده تا کاملاً له و یکنواخت گردد. سپس ٢ گرم از نمونه برای خاکستر شدن به کوره الکتریکی (دمای ٥٥٠ درجه سلسیوس به مدت ٦ تا ٨ ساعت) انتقال یافت. پس از سرد شدن خاکستر، به آن ١٠ سی‌سی آب مقطر ٦٠-٥٠ درجه سلسیوس اضافه شد و محتویات بوته چینی به بشر انتقال یافت و سپس ١ میلی‌لیتر معرف دی‌کرومات پتاسیم ٥ درصد به بشر اضافه و توسط نیترات نقره ٠/١ نرمال تیتراسیون انجام گردید و میزان نمک موجود در بافت ماهی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Parvaneh, 2007).

٢ / ١٠٠ × ٠/٠٠٥٨٥ × نیترات نقره مصرفی برحسب میلی لیتر = نمک (٪)

تجزیه و تحلیل آماری

ابتدا از تجزیه واریانس یک طرفه جهت مقایسه میانگین‌ها استفاده شد و در مواردی که بین میانگین‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشت، از تست Tukey جهت جدا کردن آنها استفاده شد. میانگین‌ها در سطح اعتماد ٩٥٪ از لحاظ آماری متفاوت قلمداد شدند. آنالیزهای آماری با استفاده از برنامه SPSS16 انجام شد.

یافته‌ها

اثر غلظت‌های مختلف نمک بر رشد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسیتوژنز* در جداول ١ و ٢ آمده است. یافته‌های حاصله از تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان می‌دهد که تأثیر غلظت‌های

مختلف نمک بر لگاریتم تعداد *لیستریا مونوسایتوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵) و این نشان می‌دهد که با بالا رفتن غلظت نمک، رشد باکتری‌های مورد مطالعه در فیله ماهی به تأخیر افتاده و افزایش عمر ماندگاری فیله‌های ماهی را سبب شده است. اثر غلظت‌های مختلف نمک بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* در دمای ۱۰ درجه سلسیوس در جدول ۱ آمده است. همانطور که در این جدول مشاهده می‌شود در گروه کنترل از روز اول کشت، افزایش تعداد باکتری مشاهده گردید بطوریکه از روز سوم کشت به بعد به حداکثر رشد $۱۰^{۷}$ cfu/g رسید و پس از آن تا روز ۲۱ تغییر معنی‌داری نداشت. در غلظت‌های ٤، ۸ و ۱۲ درصد، تأثیر مهار کنندگی نمک مشاهده گردید بطوریکه در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب پس از روز ششم، نهم و پانزدهم کشت به حداکثر رشد $۱۰^{۷}$ cfu/g رسید. تأثیر غلظت‌های مختلف نمک بر روی *لیستریا مونوسایتوژنز* در دمای ۱۰ درجه سلسیوس در جدول ۲ آمده است. همانطور که در این جدول مشاهده می‌شود در این گروه نیز اثر مهار کنندگی نمک در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار است بطوریکه در غلظت‌های ٤ و ۸ و ۱۲ درصد، رشد باکتری به ترتیب پس از روز ششم، نهم و پانزدهم به حداکثر رشد $۱۰^{۷}$ cfu/g رسید.

جدول۱: لگاریتم تعداد *استافیلوکوکوس اورئوس* در غلظت های مختلف نمک در روزهای مختلف کشت

ترکیب	غلظت نمک	زمان بر حسب روز									
		شروع	اول	دوم	سوم	ششم	نهم	دوازدهم	پانزدهم	هجدهم	بیست و یکم
۱	۰	۲/۹۵	۳/٤۳	٤/۱۷	٦/۸۲	>۸	>۸	>۸	>۸	>۸	>۸
۲	٤	۲/۹۰	۳/۱٤	٤/۰۷	٥/٤۱	۸/۱۰	>۸	>۸	>۸	>۸	>۸
۳	۸	۲/۹۰	۲/۹۹	۳/۷۹	٤/۷۱	٦/٥۲	۷/۸۳	>۸	>۸	>۸	>۸
٤	۱۲	۲/۹۹	۲/۸۰	۲/۸٤	۳/۱۸	۳/۹٥	٥/۹٥	٦/۲٦	۷/۸۱	>۸	>۸

جدول۲: لگاریتم تعداد *لیستریا مونوسایتوژنز* در غلظت های مختلف نمک در روزهای مختلف کشت

ترکیب	غلظت نمک	زمان بر حسب روز									
		شروع	اول	دوم	سوم	ششم	نهم	دوازدهم	پانزدهم	هجدهم	بیست و یکم
۱	۰	۲/۹۹	۳/٤۹	٤/۱۸	۷/۱٥	۷/۸۱	>۸	>۸	>۸	>۸	>۸
۲	٤	۲/۹۹	۳/٤۳	٤/۲۱	٥/۷٦	۷/٤۲	۷/۳۸	>۸	>۸	>۸	>۸
۳	۸	۲/۹۳	۲/۹۷	۳/٤۳	٤/۰٤	٥/۹۰	۷/۷۲	>۸	>۸	>۸	>۸
٤	۱۲	۲/۹۰	۲/۸۱	۲/٦۹	۲/۹۰	۳/۸٤	٤/٥	٦/۱٥	۷/٤۰	>۸	>۸

نتایج اندازه‌گیری میزان نمک موجود در بافت ماهی

میزان نمک موجود در بافت ماهی در محلول ٤ درصد آب نمک، ۳/۱ درصد، در محلول ۸ درصد، ۵ درصد و در محلول ۱۲ درصد نمک، ۷/٤ درصد به دست آمد.

بحث و نتیجه‌گیری

شور کردن روشی است که جهت افزایش عمر ماندگاری فرآورده‌های دریایی استفاده می‌شود و بخش قابل توجهی از محصولات دریایی در دنیا بصورت شور عرضه می‌شوند. فرآورده‌های شور معمولاً در ایران و اغلب کشورها در دمای محیط و یا شرایط نامناسب یخچالی نگه‌داری می‌شوند در نتیجه میکروارگانیسم‌های نمک دوست مانند *لیستریا مونوسایتوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌توانند در این فرآورده‌ها رشد و تکثیر کنند (Akhondzade Basti et al., 2006). مطالعات نشان می‌دهد که در اغلب موارد در شور کردن از غلظت‌های بالای نمک (۲۵-۱٦ درصد) استفاده می‌شود و با توجه به نقش نمک در افزایش احتمال خطر بروز بیماری‌های قلبی و عروقی، سازمان جهانی بهداشت توصیه‌هایی را مبنی بر کاهش میزان نمک در رژیم غذایی در دستور کار قرار داده است و لذا در مطالعه حاضر اثر غلظت‌های کمتر (٤، ۸ و ۱۲ درصد) بر رشد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسایتوژنز* مورد مطالعه قرار گرفت.

در مدل‌های غذایی بر روی باکتری‌های غالب در ماهیان شور و دودی موجود در بازارهای ایران مطالعات کمتری صورت گرفته است که مطالعه حاضر به بررسی تأثیر نمک سود کردن با غلظت‌های مختلف موجود بر باکتری‌های جداسازی شده از ماهی کپور نقره‌ای شور مانند *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسایتوژنز* پرداخته است و نتیجه حاصله که با بالا رفتن غلظت نمک، ماندگاری فیله‌ها افزایش یافته، فساد به تأخیر افتاده و رشد باکتری‌ها نیز کاهش یافته که هم‌سو با مطالعه اخیر می‌باشد زیرا نمک از تغییر در چربی و پروتئین موجود در گوشت جلوگیری کرده و فساد را به تأخیر می‌اندازد (Choobkar et al., 2010a).

در مطالعه Oh و همکاران مشخص گردید که آلودگی *استافیلوکوکوس اورئوس* در غذای آماده مصرف، دلیل اصلی بیماری‌های ناشی از غذا در کشور کره بود که از طریق کیک‌های خامه‌ای و ماهی خام ایجاد شده بودند. در این گزارش ٤۸ درصد این محصولات آلوده به یک یا چند توکسین بودند (Oh et al., 2007).

همچنین به وسیله ترکیب نمک طعام و ترکیبات اسانس‌های گیاهی که حاوی نیم درصد کارواکرول و نیم درصد تیمول بود، بر روی فیله ماهی کپور نشان داده شده است که ترکیب نمک طعام به همراه ترکیبات کارواکرول و تیمول موجود در اسانس موجب افزایش زمان نگه‌داری فیله ماهی کپور می‌شود که نتایج حاصله از تحقیق حاضر این مسأله را تأیید می‌کند (Barakat et al., 2006).

تأثیر بسته‌بندی در شرایط اتمسفر اصلاح شده (٤۰ درصد دی اکسید کربن، ۳۰ درصد اکسیژن و ۳۰ درصد نیتروژن) و اسانس پونه کوهی(oregano) بر ماندگاری فیله های ماهی سیم دریایی(Sparus aurata) سبک شور در شرایط یخچالی مطالعه گردید و مشاهده گردید که شور کردن دارای اثرات نگه‌داری قابل توجه بوده و اسانس‌های گیاهی دارای اثرات آنتی اکسیدانی قوی

می‌باشد. البته تغییر در فیله‌های ماهی تحت تأثیر این ترکیبات نگه‌دارنده به نوع تغذیه ماهی، فصل صید، اندازه ماهی و دیگر فاکتورهای محیطی و حتی ترکیبات بافت ماهی بستگی دارد (Goulas and Kontominas, 2007).

محتوای بالای چربی و پروتئین در محیط‌هایی مانند گوشت سبب کاهش تأثیر ترکیبات ضد میکروبی می‌گردد البته شرایط محیطی نظیر درجه حرارت نیز تأثیرگذار می‌باشند. همچنین در مطالعه حاضر نیز به دلیل شرایط in vivo" تاثیر مفید ضد میکروبی نمک کاهش یافته در نتیجه به منظور ممانعت از رشد باکتری‌ها نیاز به غلظت‌های بالاتری از نمک می‌باشد (Chi wang and Shelef 1992; Gutierrez et al., 2008) که البته در تحقیقات دیگری از ترکیبات نگه‌دارنده طبیعی مانند اسانس‌های گیاهی و مواد طبیعی حاصله از باکتری‌ها مانند نیسین بجای غلظت‌های بالاتر نمک استفاده شد و فساد به تأخیر افتاد و رشد باکتری‌ها کاهش یافت (Choobkar et al., 2010 a,b).

نتایج مطالعه حاضر اثر بازدارندگی نمک بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسایتوژنز* را به خوبی ثابت می‌کند اما در خصوص جایگزین کردن مقادیر بالای نمک با مواد نگه‌دارنده طبیعی گیاهی و بررسی اثرات سینرزیستی آنها نیاز به انجام تحقیقات بیشتر می‌باشد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از جناب آقای دکتر حسن اختیارزاده تشکر ویژه گردیده و از کارشناسان محترم آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران بی‌نهایت سپاسگزاریم.

منابع

- Akhondzadeh Basti, A., Misaghi, A. and Khaschabi, D. (2007). Growth response and modelling of the effects of *Zataria multiflora Boiss*. essential oil, pH and temperature on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. Food Science and Technology, 40(6): 973-981.
- Barakat, S.M. Mahmoud., Yamazaki, K., Miyasita, K.,Shin, ll., Chang, D-S. and Suzuki, T. (2004). Bacterial microflora of carp (Cyprinus capia) and its shelf life extersion by essential oil compounds. Food Microbiology, 21: 657-666.
- Barakat, S.M. Mahmoud., Yamazaki, K., Miyashita, K., Shin, ll., and Suzuki, T. (2006). A new technology for fish preservation by combined treatment with electrolyzed NaCl solutions and essential oil compounds. Food Chemistry, 99: 656-662.
- Akhondzadeh Basti, A., Misaghi, A., Zahraei Salehi, T. and Kamkar, A. (2006). Bacterial pathogens in fresh, smoked and salted Iranian fish. Food Control, 17(3): 183-188.
- Blackburn, C.W. and Peter, J.M. (2002). Foodborne pathogens, hazard, risk analyses and control, CRC press, pp. 385-390.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods- a review. International Journal of Food Microbiology, 94: 223-253.
- Wang, C. and Shelef, L.A. (1992). Behavior of *Listeria monocytogenes* and the spoilage microflora in fresh cod fish treated with lysozyme and EDTA. Food Microbiology, 9: 207-213.
- Choobkar, N., Soltani, M., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., Akhonzadeh Basti, A. and Matinfar, A. (2010a). Effect of *Zataria multiflora Boiss* essential oil on the growth of *Staphylococcus aureus* in the

light salted fillets of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). Iranian Journal of Fisheries Science, 9(3): 352-359.

- Choobkar, N., Akhonzadeh Basti, A., Soltani, M., Sari, A.A., Malekshahi, A., Nemati, Gh. and Partovi, R. (2010b). Study on the growth of *Staphylococcus aureus* in processed fillets of silver carp with different concentration of salt and Nisin. Journal of Veterinary Research, 65(3): 185-189[In Farsi].
- Gandhi, M. and Chikindas, M.L. (2007). Listeria: A foodborne pathogen that knows how to survive. International Journal of Food Microbiology, 113(1): 1-15.
- Goulas, A.E. and Kontominas, M.G. (2007). Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (Sparus aurata): Biochemical and sensory attributes. Food Chemistry, 100: 287- 296.
- Gutierrez, J., Barry-Ryan, C. and Bourke, P. (2008). The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. International Journal of Food Microbiology, 124: 91- 99.
- Kim, J., Hee, H. and Kang, S. (2007). Anti-listerial properties of garlic shoot juice at growth and morphology of *Listeria monocytogenes*. Food Control, 18: 1198-1203.
- Munoz, A. and Ananou, S. (2006). Inhibition of *Staphylococcus aureus* in products by enterocin AS-48 produced in situ and exsitu: Bactericidal synergism. International Dairy Journal, 20: 987-991.
- Sukyung, O., Nari, L., Young Sun, C., Dong-Bin, Sh., Soon Young, C. and Minseon, K. (2007). Occurrence of toxigenic *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat food in korea. Journal of Food Protection, 70 (5): 1153-1158.
- Okutani, A., Yumiko, O., Shigeki, Y. and Shizunobu, I. (2004). Overview of *Listeria monocytogenes* ontamination in Japan. International Journal of Food Microbiology, 93(2): 131-140.
- Parvaneh, V. (2007). Quality control and the chemical analysis of food. (4th Edition) University of Tehran, pp. 241- 255[In Farsi].
- Riberio, M.H., Manha, S. and Brito, L. (2006). The effects of salt and pH stress on the growth rates of persistent strains of *Listeria monocytogenes* collected from specific ecological niches. Food Research International, 39(7): 816 - 822.
- Varnam, A.H. and Evans, M.G. (1991). Food borne pathogens. Wolf Publishing Ltd, 235-265.

Effect of different concentrations of sodium chloride on the growth of *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in salted Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fish fillets

Choobkar, N.[1*], Akhondzadeh Basti, A.[2], Soltani, M.[3], Sari, A.A.[4], Emami Rad, A.[5], Ghaeni, M.[6], Roomiani, L.[7]

1- Department of Fisheries, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.
2- Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
3- Department of Aquatic Animals Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
4- Department of Food Hygiene, Faculty of Paraveterinary sciences, Bu-ali sina university, Hamedan, Iran.
5- Young Researchers Club, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.
6- Department of Fisheries, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.
7- Department of Fisheries, Abadan Branch, Islamic Azad University, Abadan, Iran.
*Corresponding author email: Nchoobkar20@gmail.com
(Received: 2011/10/17 Accepted: 2012/5/5)

Abstract

Salting of fish is a traditional method for fish preservation which reduces corruption, increase shelf life and is used in order to have an access to the new markets. In some countries, consuming semi-cooked or raw salted and smoked fish is well-liked. Due to the presence of halophilic microorganisms in salted fish, occurrence of food-borne infections is probable. The aim of this study was to investigate the antimicrobial activity of NaCl on *Staphlococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in salted silver carp. Effect of different concentrations of NaCl (4, 8, 12 %) on behavior of *Staphlococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in 10˚C during 3 weeks (0, 1, 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 days) was determined by evaluation of the bacterial growth in salted fish fillets. Statistical analysis showed that application of different concentrations of NaCl had significant inhibitory effect on the growth of *S. aureus* and *L.monocytogenes* in salted fish fillets compared to control group (p<0/05). This study indicated that application of NaCl without any complementary element is not considered as a good preservative for extending the salted fish shelf-life. Consequently using of other natural preservatives along with salting is suggested.

Key words: Salting, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, Fish fillet of silver carp.