

Original Article

اثر مهاری نایسین بر لیستریا مونوسایتوژنز تلقیح شده به گوشت چرخ شده و سوریمی ماهی

اسماعیل عبدالله زاده^۱، مسعود رضائی^{۱*}، هدایت حسینی^۲، رضا صفری^۳، زهرا یعقوب زاده^۲

- ۱- گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
۲- انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
۳- گروه میکروبیولوژی، پژوهشکده اکولوژی آبیان دریای خزر، ساری، مازندران، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۳/۰۹

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۰۸/۲۶

چکیده

زمینه و هدف: لیستریا مونوسایتوژنز هم‌اکنون جزء یکی از مهم‌ترین میکروب‌های بیماری‌زای غذایی است که باعث ایجاد بیماری لیستریوزیس در انسان می‌گردد. امروزه استفاده از باکتریوسین‌ها جهت تأمین ایمنی غذایی به طور چشمگیری در حال رشد است. باکتریوسین نایسین نسبت به سایر باکتریوسین‌ها دارای طیف مهاری وسیع‌تری است و باکتری‌های عامل مسمومیت غذایی نظیر لیستریا مونوسایتوژنز و بسیاری از میکروارگانیسم‌های گرم مثبت مولد فساد را مهار می‌کند. هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر مهارکنندگی باکتریوسین نایسین علیه باکتری لیستریا مونوسیتوژن و همچنین مطالعه نقش تغییر ترکیبات غذایی بر روی خواص ضد لیستریایی نایسین است.

مواد و روش‌ها: به نمونه‌های گوشت چرخ شده و سوریمی ماهی فیتوفاگ میزان 1×10^4 CFU/g باکتری لیستریا مونوسایتوژنز تلقیح شد. سپس تیمارهای نایسین در دو سطح ۵۰۰ IU/g و ۱۰۰۰ IU/g تهیه شدند. تمامی تیمارها و گروه شاهد بسته‌بندی و به مدت ۱۲ روز در دمای یخچال نگهداری شدند. تعداد باکتری لیستریا مونوسایتوژنز هر دو روز یک بار توسط کشت سطحی بر روی محیط لیستریا کروم آگار شمارش شد.

نتایج: نتایج حاصل از تحقیق نشان داد نایسین در دو غلظت ۵۰۰ IU/g و ۱۰۰۰ IU/g در گوشت چرخ شده و سوریمی قادر به کاهش تعداد باکتری‌های لیستریا مونوسایتوژنز به زیر حد مجاز برای افراد سالم (۱۰۰ سلول در هر گرم ماده غذایی خام) نبود، اما تعداد باکتری‌ها در سوریمی ماهی به میزان بیشتری نسبت به گوشت چرخ شده کاهش یافت. همچنین در طول زمان نگهداری از فعالیت ضد لیستریایی نایسین کاسته شد.

بحث: خاصیت مهارکنندگی نایسین علیه باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در سوریمی به طور معنی‌داری بیشتر از گوشت چرخ شده بود ($P < 0.05$). بنابراین ممکن است با حذف آنزیم‌ها در طی فرآوری خواص ضد لیستریایی نایسین بهبود یابد.

کلمات کلیدی: نایسین، لیستریا مونوسایتوژنز، گوشت چرخ شده، سوریمی

مقدمه

و دیگر ترکیبات نیتروژن‌دار حذف خواهند شد و در نتیجه محصولی بی‌بو و سفید با خواص عملکردی مطلوب و دارای ارزش افزوده به دست می‌آید که از آن به عنوان یک ماده اولیه در تولید محصولات دیگر استفاده می‌شود (۱۱-۹).

باتوجه به پتانسیل بالای آلودگی ماهیان بامیکروارگانیسم‌های مختلف، امروزه از روش‌ها و تکنیک‌های متفاوتی جهت سردسازی محصول و جلوگیری از فساد ماهیان استفاده می‌شود. اگرچه این تکنیک‌ها می‌توانند دوره ماندگاری غذا را افزایش دهند اما وجود باکتری‌های سرما دوست نظیر لیستریا در این شرایط می‌تواند زمینه فساد و مسمومیت غذایی را فراهم نماید (۳ و ۱۲). بنابراین استفاده از روش‌های نوین نگهداری نظیر استفاده از باکتریوسین‌ها جهت حفاظت از محصولات دریایی در برابر عوامل بیماری‌زا ضروری به نظر می‌رسد.

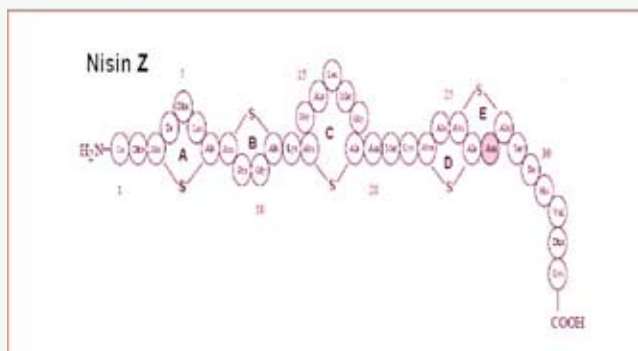
باکتریوسین‌ها پپتیدهای بیواکتیو آزاد شده به خارج سلول هستند که دارای خواص ضد باکتریایی بر روی گونه‌های هدف هستند. بر

لیستریا مونوسایتوژنز باکتری گرم مثبت، هوازی تابی‌هوازی اختیاری و میله‌ای شکل است که باعث بیماری لیستریوزیس در انسان می‌شود (۵-۱). اگرچه تعداد مسمومیت غذایی ناشی از لیستریا مونوسایتوژنز نسبت به مسمومیت با سالمونلا، کلستری‌دیوم، کمپلوباکترها و استافیلوکوکوس سروئوس کمتر است اما از نظر نقش تهدیدکنندگی، لیستریوزیس خطرناک‌ترین نوع مسمومیت غذایی است که منجر به مرگ و میر ۳۰٪ افراد مبتلا می‌شود (۱، ۲ و ۸-۶).

شیوع لیستریا مونوسایتوژنز در سطح خرده‌فروشی‌های ماهیان کپور نقره‌ای و کپور معمولی در ایران به ترتیب ۱۰ و ۱۷/۵ درصد بوده است. همچنین ۸/۵ درصد از ماهیان صید شده از سطح استخرهای پرورش ماهیان گرمابی (کپور نقره‌ای و کپور معمولی) آلوده به لیستریا مونوسایتوژنز بوده‌اند (۱). سوریمی یک محصول حد واسط بوده که طی چندین مرحله شستشو از گوشت چرخ شده ماهی به دست می‌آید (۹ و ۱۰). در طی فرآیند شستشو پروتئین‌های سارکوپلاسمیک، خون، چربی

* نویسنده مسئول: مسعود رضائی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، مازندران، ایران.
تلفن: ۰۱۲۲۶۲۵۳۴۹۹؛ فاکس: ۰۱۲۲۶۲۵۳۴۹۹
Email: rezai_ma@modares.ac.ir

شکل ۱: شمای نحوه آرایش آمینه اسیدها در نایسین Z



آماده‌سازی باکتری: سویه استاندارد و لیوفیلیزه باکتری *Listeria monocytogenes* PTCC 1163 از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. آمپول لیوفیلیزه باکتری ابتدا در شرایط استریل باز و سپس به محیط کشت مایع TSB (Tryptic Soy Broth) انتقال و به مدت ۴۸ ساعت در ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس محیط کشت حاوی باکتری به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی با محلول رینگر جایگزین گردید. به منظور جداسازی کامل محیط کشت از باکتری محلول حاصل دوباره به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. تعداد باکتری‌ها در مایع زیرین توسط روش کدورت سنجی در طول موج ۵۷۰ نانومتر به دست آمد، به طوری که جذب نوری ۰/۸ تا ۰/۱ تقریباً معادل 1×10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر در نظر گرفته شد. به منظور تأیید نتایج، شمارش باکتریایی به روش کشت سطحی بر روی محیط مولر هینتون اگر انجام پذیرفت. تیمار بندی و شمارش باکتری طی دوره نگهداری: به نمونه‌های گوشت چرخ شده ماهی و همچنین سوریمی ماهی میزان 1×10^4 CFU/g باکتری لیستریا مونوسیتوژنز تلقیح شد. سپس نمونه‌های گوشت تلقیح شده کاملاً هموزن شدند. از این گوشت تلقیح شده برای تهیه تمامی تیمارها استفاده شد. جهت انجام این تحقیق ۵ تیمار شامل تیمارهای شاهد، ۲ تیمار سوریمی حاوی نایسین در دو غلظت ۵۰۰ IU/g و ۱۰۰۰ IU/g و ۲ تیمار گوشت چرخ شده ماهی حاوی نایسین در دو سطح ۵۰۰ IU/g و ۱۰۰۰ IU/g تهیه شد. همچنین برای هر تیمار ۷ بسته گوشت ۵ گرمی مدنظر قرار گرفت. تمامی تیمارها در کیسه‌های پلاستیکی بسته‌بندی و در طول ۱۲ روز دوره آزمایش در دمای یخچال ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) نگهداری شدند. شمارش باکتری لیستریا مونوسیتوژنز هر ۴۸ ساعت یک بار انجام پذیرفت. در این آزمایش به منظور شمارش جمعیت لیستریا مونوسیتوژنز از محیط انتخابی CHROMagar™ *Listeria* (محیط کشت کروموزنیک، شرکت میکروبیولوژی کروم اگر فرانسه) و مکمل آن (CHROMagar *Listeria* supplement) استفاده شد (۱۶). به منظور شمارش باکتری در هر بار زمان نمونه‌گیری، به ۵ گرم گوشت چرخ شده ماهی مقدار ۴۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی اضافه و پس از هموزن‌سازی رقت‌های سریالی (۱:۱۰) تهیه شد. سپس ۱ ml از نمونه رقیق شده را بر روی محیط کشت CHROMagar™ *Listeria* با دو تکرار، کشت سطحی داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری شدند. پس از گرم‌خانه‌گذاری کلنی‌های آبی با هاله سفید شمارش شدند. در حین اجرای آزمایش کلیه نکات ایمنی رعایت شد.

اساس طبقه‌بندی موجود باکتریوسین نایسین در کلاس I (جزء لانتی بیوتیک‌های تیپ A و دارای لانتیونین و متیل لانتیونین) قرار می‌گیرد (۱۳). پودر باکتریوسین نایسین با نام تجاری Nisapline® از تخمیر شیر توسط *Lactococcus lactis subs. lactis* تولید می‌شود (۱۴). نایسین یک ماده ضد باکتریایی موثر علیه رشد برخی از باکتری‌های گرم مثبت نظیر لاکتوکوکوس، استرپتوکوکوس، استافیلوکوکوس، میکروکوکوس، پدیوکوکوس، لاکتوباسیلوس، لیستریا و مایکوباکتریوم است؛ اما این ترکیب در شرایط طبیعی در برابر باکتری‌های گرم منفی، مخمرها و قارچ‌ها تأثیر معنی‌داری ندارد. به طور عمده این ترکیب از طریق ایجاد سوراخ در غشای سیتوپلاسمی و مهار بیوسنتز دیواره سلولی موجب مرگ باکتری‌های هدف می‌شود (۱۴). نایسین با داشتن طیف مهارکنندگی وسیع علیه باکتری‌ها و اسپورهای مقاوم به حرارت نظیر اسپورهای جنس باسیلوس و کلستریدیوم و همچنین پایداری در برابر حرارت و pH پایین می‌تواند به عنوان یک افزودنی غذایی مناسب در صنایع غذایی مطرح باشد. این افزودنی غذایی دارای طعم خاصی نبوده و خصوصیات ارگانولپتیک غذا را تغییر نمی‌دهد. همچنین به راحتی توسط پروتئازهای دستگاه گوارش تجزیه شده و برای انسان مسمومیت‌زا نیست (۱۳). در حال حاضر نایسین به عنوان یک افزودنی غذایی در بیش از ۵۰ کشور مجاز شناخته شده است. مقدار استفاده از نایسین در اغلب غذاها بین ۲/۵ تا ۱۰۰ ppm است (۱۳).

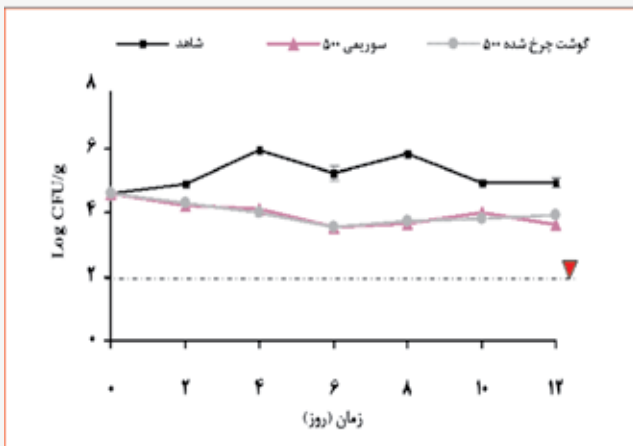
بنابراین با توجه به احتمال بالای آلودگی ماهیان به باکتری لیستریا مونوسیتوژنز، هدف تحقیق حاضر بررسی استفاده از باکتریوسین نایسین جهت مهار رشد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز تلقیح شده در گوشت چرخ شده و سوریمی ماهی فیتوفاگ است.

مواد و روش‌ها

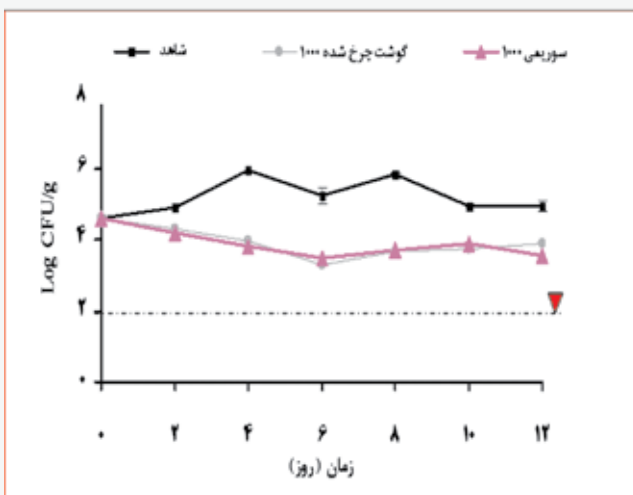
آماده سازی گوشت چرخ شده و سوریمی ماهی: ابتدا ۳۰ کیلوگرم ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) از سطح مزارع پرورشی صید و با کمک جعبه‌های حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل گردید و سپس عملیات شستشو و پوست‌کنی ماهی انجام پذیرفت. بعد از این مرحله سطح زیرین گوشت بدون تماس با امعا و احشا برداشته و توسط چرخ گوشت دو بار چرخ گردید. قسمتی از گوشت چرخ شده به منظور تهیه سوریمی در ظرف تمیز جداگانه‌ای قرار داده شد. بقیه گوشت چرخ شده تا فرا رسیدن زمان تلقیح باکتری به مدت تقریباً ۴۸ ساعت در یخچال نگهداری شد. در ادامه فرآیند تهیه سوریمی گوشت چرخ شده ۳ بار به نسبت ۱:۴ با آب شستشو داده شد. هر بار شستشو شامل ۵ دقیقه مرحله مخلوط‌سازی گوشت با آب و ۵ دقیقه زمان سکون بود. جهت آگیری از پارچه نظیف استفاده گردید. سوریمی به دست آمده تا زمان تلقیح باکتری در دمای یخچال نگهداری شد (به مدت ۴۸ ساعت).

آماده‌سازی نایسین: پودر تجاری Nisapline از شرکت SERVA (Heidelberg, New York) خریداری شد. محلول استوک نایسین Z با حل کردن ۰/۸ گرم Nisapline در ۱۰ میلی‌لیتر ۰/۲ HCl نایسین نرمال بدست آمد (هر یک میلی‌لیتر گرم Nisaplin حاوی ۱۰۰۰ IU نایسین خالص است) (۱۵). برای رسیدن به غلظت‌های پایین‌تر، از آب مقطر استریل استفاده شد. نحوه آرایش آمینه اسیدها در نایسین در شکل ۱ نشان داده شده است.

نمودار ۱: تغییرات جمعیت باکتری لیستریا مونوسایٲوژنز تلقیح شده به گوشت چرخ شده و سوری می ماهی تحت تیمار ناپسين با غلظت‌های ۵۰۰ IU/g در دمای ۴±۱ درجه سانتی‌گراد



نمودار ۲: تغییرات جمعیت باکتری لیستریا مونوسایٲوژنز تلقیح شده به گوشت چرخ شده و سوری می ماهی فیتوفاک تحت تیمار ناپسين با غلظت‌های ۱۰۰۰ IU/g در دمای ۴±۱ درجه سانتی‌گراد



شده ماهی نیز با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند اما جمعیت باکتری لیستریا مونوسایٲوژنز در ۲ تیمار سوری می به طور معنی‌داری کمتر از جمعیت باکتری در ۲ تیمار ناپسين در گوشت چرخ شده ماهی فیتوفاک بود ($P<0.05$).

بحث

جمعیت لیستریا مونوسایٲوژنز تلقیح شده به گوشت چرخ شده ماهی در تیمار شاهد، همانند سایر مطالعات در طی دوره نگهداری در دمای یخچال افزایش یافت که این به دلیل سرمادوست بودن باکتری مذکور است. میزان جزئی pH بالاتر در سوری می ماهی نسبت به گوشت چرخ شده ممکن است به علت از دست دادن اسیدهای چرب آزاد، اسیدهای آمینه آزاد یا دیگر مواد اسیدی محلول در آب باشد.

اسیدیته گوشت با کمک pH متر دیجیتالی (Multiline P4 Wtw) اندازه‌گیری شد. همچنین رطوبت نمونه‌های گوشت چرخ شده و سوری می مورد سنجش قرار گرفت (۱۷).
آنالیز آماری: آنالیز آماری داده‌ها با بهره‌گیری از نرم افزار SPSS 17.0 و توسط آزمون‌های آماری One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test و One way ANOVA با آزمون دانکن انجام پذیرفت (۱۲).

نتایج

میانگین درصد رطوبت و pH موجود در گوشت چرخ شده و سوری می ماهی در جدول ۱ نشان داده شده است که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشتند ($P<0.05$).

تغییرات جمعیت باکتری لیستریا مونوسایٲوژنز تلقیح شده به گوشت چرخ شده تیمار شده با باکتریوسین ناپسين در دو سطح ۵۰۰ و ۱۰۰۰ IU/g در مقایسه با گروه شاهد طی ۱۲ روز نگهداری در دمای یخچال مورد بررسی قرار گرفت (نمودار ۱ و ۲). در روز دوم نگهداری جمعیت باکتری لیستریا مونوسایٲوژنز در گوشت چرخ شده ماهی تیمار شده با ناپسين به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت ($P<0.05$) هر چند اختلاف معنی‌داری بین تیمار ۵۰۰ و ۱۰۰۰ IU/g ناپسين مشاهده نشد ($P<0.05$). در طول ۱۲ روز دوره آزمایش جمعیت باکتری لیستریا مونوسایٲوژنز در تیمار شاهد افزایش یافت (نمودار ۱). در روز چهارم جمعیت باکتری لیستریا مونوسایٲوژنز در تیمار ۱۰۰۰ IU/g ناپسين در گوشت چرخ شده ماهی به طور معنی‌داری کمتر از تیمار ۵۰۰ IU/g ناپسين بود ($P<0.05$). تعداد باکتری لیستریا مونوسایٲوژنز در گروه شاهد در روزهای ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ نگهداری به ترتیب به طور معنی‌داری بیشتر از ۲ تیمار ناپسين بود. اگرچه میانگین جمعیت باکتری لیستریا در روز ششم تا دوازدهم تحقیق در تیمار ۱۰۰۰ IU/g ناپسين کمتر از تیمار ۵۰۰ IU/g بود اما این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P<0.05$). حداکثر خاصیت مهار کنندگی ناپسين علیه لیستریا مونوسایٲوژنز در روز ششم تحقیق مشاهده گردید ($3/28 \pm 0/15$).

در روز دوم نگهداری تعداد باکتری لیستریا در تیمار ۵۰۰ IU/g ناپسين در سوری می به طور معنی‌داری کمتر از تیمار ۱۰۰۰ IU/g ناپسين در گوشت چرخ شده ماهی بود ($P<0.05$). همچنین این اختلاف معنی‌دار در روز چهارم و روز دهم آزمایش نیز مشاهده شد ($P<0.05$).

جدول ۱: درصد رطوبت و اسیدیته گوشت چرخ شده ماهی و سوری می (میانگین $\pm$ SD)

نوع فرآورده	درصد رطوبت	pH
گوشت چرخ شده ماهی	۷۷/۱۵ $\pm$ ۰/۲	۶/۵۵ $\pm$ ۰/۰۱
سوری می	۸۲/۲ $\pm$ ۰/۵۶	۷/۰۹ $\pm$ ۰/۰۷

از روز ۶ به بعد از عملکرد ضد لیستریایی ناپسين در سوری می ماهی فیتوفاک کاسته شد که این نتایج نیز مشابه گوشت چرخ شده ماهی بود. در روز چهارم تمامی ۵ تیمار مورد آزمایش با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند اما در انتهای روز ۱۲ دو سطح ناپسين در سوری می با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند و همچنین دو سطح ناپسين در گوشت چرخ

که ترکیب باکتریوسین‌ها با روغن‌های تری‌گلیسیریدی موجب کاهش چشمگیر فعالیت آن‌ها می‌شود (۲۲). نتایج این تحقیق بیانگر معنی‌دار بودن اثر نوع ترکیبات غذایی بر روی عملکرد باکتریوسین است که با تحقیق حاضر مشابهت دارد.

بر اساس نتایج این مطالعه عملکرد نایسین در سوریمی بهتر از گوشت چرخ شده ماهی بوده است. علت این پدیده احتمالاً حذف آنزیم‌ها، پروتئین‌های سارکوپلاسما میک گوشت در حین فرآیند تولید سوریمی بوده است. هر چند خواص ضد لیستریایی نایسین در سوریمی ماهی بهتر بوده است اما باکتریوسین نایسین قادر به کاهش تعداد باکتری‌های لیستریا به زیر حد مجاز برای افراد سالم (۱۰۰ سلول در هر گرم ماده غذایی خام) نبوده است (۱۵).

نتیجه‌گیری

به عنوان یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان این گونه اظهار داشت که فعالیت ضد باکتریایی نایسین تحت تأثیر ترکیبات غذایی است همچنین عملکرد نایسین در طول زمان نسبت به ابتدای دوره نگهداری کاهش یافت که این پدیده ممکن است به علت فاکتورهای محدودکننده موجود در غذا نظیر پروتئازها، کاهش پایداری نایسین در غذا و یا کاهش حساسیت باکتری به دلیل بروز جهش و بیان ژن‌های *hpk1021*، *pbp2229*، *Imo2487* در باکتری و پیدایش سویه‌های مقاوم به نایسین باشد (۲۱-۱۹). با توجه به اینکه میزان باکتری لیستریا در طی دوره آزمایش به حد قابل قبولی کاهش پیدا نکرد، پیشنهاد می‌شود که جهت تأمین ایمنی غذایی مطلوب، از تکنولوژی‌های تلفیقی نظیر کاربرد توأم نایسین با اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی و یا استفاده هم‌زمان با بسته‌بندی خلأ یا بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده بهره‌گیری شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با کد ثبت ۱۰۲۱۲۷۱ در تاریخ ۱۳۹۰/۲/۱۳ در پژوهشگاه علوم و فناوری اطلاعات ایران به ثبت رسیده است. بدین وسیله از دکتر رضا پور غلام رئیس پژوهشگاه اکولوژی دریایی خزر که هماهنگی‌های لازم را جهت انجام پروژه انجام داده‌اند، تشکر و قدردانی می‌گردد. این مقاله که منتج از یافته‌های پایان نامه کارشناسی ارشد می‌باشد توسط دانشگاه تربیت مدرس حمایت شده است.

References

1. Akhondzadeh A, Zahraie Salehi T, Misaghi A. 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. *J Vet Res*. 2003;57(4):9-12.
2. Dykes GA, Moorhead S M. Combined antimicrobial effect of nisin and a listeriophage against *Listeria monocytogenes* in broth but not in buffer or on raw beef. *Int J Food Microbiol*. 2002;73(1):71-81.
3. Inoue S, Nakama A, Arai Y, Kokubo Y, Maruyama T, Saito A, et al. Prevalence and contamination levels of *Listeria*

Pawar و همکاران (۲۰۰۰) تحقیقی بر روی مهار باکتری لیستریا مونوسایتوزنز در گوشت چرخ شده بوفالو در دمای یخچال انجام دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت از ۴۰۰ به ۸۰۰ IU/g فعالیت ضد لیستریایی نایسین در گوشت چرخ شده تقویت می‌شود. یافته‌های این محققین با نتایج مطالعه حاضر که نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در روز ۴، ۲ و ۱۰ بین دو سطح نایسین ۵۰۰ و ۱۰۰۰ IU/g در سوریمی و در روز چهارم در گوشت چرخ شده ماهی فیتوفاگ بود، مشابهت داشت (۱۸). در تحقیق حاضر باکتریوسین نایسین در سطح ۵۰۰ IU/g در گوشت چرخ شده ماهی و سوریمی فعالیت مهارکنندگی ضعیفی علیه لیستریا مونوسایتوزنز از خود نشان داد و با گذشت زمان از میزان فعالیت ضد باکتریایی آن کاسته شد. روند تغییرات تعداد باکتری لیستریا در تیمار ۱۰۰۰ IU/g نیز مشابه سطح ۵۰۰ IU/g بود. به طوری که نایسین از ابتدا تا اواسط دوره فعالیت مهارکنندگی خوبی از خود نشان داد اما از روز ششم به بعد جمعیت باکتری لیستریا مونوسایتوزنز افزایش یافت. نتایج حاصل از این تحقیق با سایر یافته‌های محققین که بیان گر کاسته شدن خاصیت ضد لیستریایی نایسین در گوشت با گذشت زمان است، مطابقت داشت (۱۲ و ۱۵). به طور کلی در ماتریکس غذا فاکتورهای محدودکننده‌ای وجود دارند که می‌توانند عملکرد باکتریوسین‌ها را در طول زمان تحت تأثیر خود قرار دهند. از مهم‌ترین فاکتورهای محدودکننده می‌توان به موارد زیر اشاره نمود: ۱- شرایط فرآوری غذا ۲- دمای نگهداری غذا ۳- pH غذا (باکتریوسین به تغییرات pH حساس است) ۴- ترکیب باکتریوسین با ترکیبات و افزودنی‌های غذایی ۵- حلالیت‌پذیری کم باکتریوسین‌ها و توزیع غیر یکنواخت آن‌ها در ماتریکس غذا ۶- محدود شدن پایداری باکتریوسین در طی دوره نگهداری ۷- عوامل وابسته به فعالیت‌های میکروب‌های غذایی نظیر بار میکروبی و فعل و انفعالات آن‌ها در غذا. همچنین از آنجایی که باکتریوسین‌ها ترکیبات پپتیدی هستند، این احتمال وجود دارد که این ترکیبات در اثر عملکرد آنزیم‌های موجود در گوشت به خصوص پروتئازها یا آنزیم نایسیناز باکتری‌ها تجزیه شوند (۱۵). از سوی دیگر علاوه بر فاکتورهای مذکور کاهش خواص ضد لیستریایی نایسین در طول زمان ممکن است با بروز سویه‌های مقاوم به نایسین به دلیل بیان ژن‌های *hpk1021*، *pbp2229*، *Imo2487* در باکتری و همچنین تغییر در اسیدهای چرب غشای سیتوپلاسمی و تغییرات در ترکیبات فسفولیپیدی دیواره سلولی باکتری در ارتباط باشد (۲۱-۱۹). در مطالعه‌ای محققان به ارتباط بین ترکیبات غذایی با عملکرد باکتریوسین *Sakacin P* و نایسین پرداخته‌اند؛ این تحقیق نشان داد

- monocytogenes* in retail foods in Japan. *Int J Food Microbiol*. 2000;59 (1-2):73-77.
4. Neetoo H, Mu Y, Haiqiang C. Potential antimicrobials to control *Listeria monocytogenes* in vacuum-packaged cold-smoked salmon pâté and fillets. *Int J Food Microbiol*. 2008;123 (3):220-227.
5. Wadud S, Carlos GL, Nathan L, Joseph AO. Evaluation of immunomagnetic separation in combination with ALOA *Listeria* chromogenic agar for the isolation and identification of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *J Microbiol*

Methods. 2010;81(2):153-159.

6. Elliot EL, Kvenberg JE. Risk assessment used to evaluate the US position on *Listeria monocytogenes* in seafood. *Int J Food Microbiol.* 2000;62(3):253-260.

7. Gudbjörnsdóttir B, Suihko ML, Gustavsson P, Thorkelson G, Salo S, Sjöberg AM, et al. The incidence of *Listeria monocytogenes* in meat, poultry and seafood plants in the Nordic countries. *Food Microbiol.* 2004;21(2):217-225.

8. Huss HH, Jørgensen LV, Vogel BF. Control options for *Listeria monocytogenes* in seafoods. *Int J Food Microbiol.* 2000;62(3):267-274.

9. Lin TM, Park JW. Effective washing conditions reduce water usage for surimi processing. *J Aquat Food Prod.* 1997;6(2):65-79.

10. Moosavi Nasab M, Alli I, Ismail AA, Ngadi MO. Protein structural changes during preparation and storage of surimi. *J Food Sci.* 2005;70(7):448-453.

11. Hsu SY. Effect of frozen storage and other processing factors on the quality of surimi. *J Food Sci.* 1990;55(3):661-664.

12. Yin L, Cw W, Jiang ST. Biopreservative effect of pediocin ACCEL on refrigerated seafood. *Fish Sci.* 2007;73(4):907-912.

13. Calo-Mata P, Arlindo S, Boehme K, Miguel T, Pascoal A, Barros-Velazquez J. Current applications and future trends of lactic acid bacteria and their bacteriocins for the biopreservation of aquatic food products. *Food Bioprocess Technol.* 2008;1(1):43-63.

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

15. Solomakos N, Govaris A, Koidis P, Botsoglou N. The

antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage. *Food Microbiol.* 2008;25(1):120-127.

16. Hegde V, Leon-Velarde CG, Stam CM, Jaykus LA, Odumeru JA. Evaluation of BBL CHROMagar *Listeria* agar for the isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from food and environmental samples. *J Microbiol Methods.* 2007;68(1):82-87.

17. AOAC, Official methods of Analysis of the Association of the official Analysis Chemists. 14th ed. Association of official Analytical Chemists. Washington, DC; 1995.

18. Pawar DD, Malik SVS, Bhilegaonkar KN, Barbuddhe SB. Effect of nisin and its combination with sodium chloride on the survival of *Listeria monocytogenes* added to raw buffalo meat mince. *Meat Sci.* 2000;56(3):215-219.

19. Gravesen AB, kallipolitis k, Holstrom P E, Hoiby M, Knochel S. pbp2229-mediated nisin resistance mechanism in *Listeria monocytogenes* confers cross-protection to class IIa bacteriocins and affects virulence gene expression. *Appl Environ Microbiol.* 2004;70:1669-1679.

20. Bouttefroy A, Milliere JB. Nisin-curvaticin 13 combinations for avoiding the regrowth of bacteriocin resistant cells of *Listeria monocytogenes* ATCC 15313. *Int J Food Microbiol.* 2000;62(1-2):65-75.

21. Harris LJ, Fleming HP, Klaenhammer TR. Sensitivity and resistance of *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, Scott A, and UAL500 to nisin. *J Food Prot.* 1991;54:836-840.

22. Aasen IM, Markussen S, Møretrø T, Katla T, Axelson L, Naterstad K. Interactions of the bacteriocins sakacin P and nisin with food constituents. *Int J Food Microbiol.* 2003;87(1-2):35-43.



Original Article

Inhibitory Effect of Nisin on *Listeria monocytogenes* Inoculated into Surimi and Minced Meat

Abdollahzadeh E¹, Rezaei M^{1*}, Hosseini H², Safari R³, Yaghoubzade Z³

1- Department of Seafood Science and Technology, Faculty of Natural Resources and Marine Science, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

2- Department of Food Technology, National Nutrition & Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences & Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran,

3- Iranian Fisheries Research Organization, Caspian Sea Ecology Research Center, Sari, Iran.

Abstract

Background & Objective: *Listeria monocytogenes* has already established as an important food born pathogen which induce listeriosis in human. Use of bacteriocins to provide food safety has been increased dramatically. Nisin has a wide spectrum inhibitory effect than the other bacteriocins and inhibits food-borne pathogens such as *L. monocytogenes* and many other Gram-positive spoilage microorganisms. The purpose of this study was to investigate the inhibitory effect of Nisin on population of *Listeria monocytogenes* and the role of changes in food components on the antilisterial properties of Nisin.

Materials & Methods: The minced meat and surimi samples were inoculated by 1×10^4 cfu/g of *L. monocytogenes*. Then samples exposed to Nisin at the levels of 500 or 1000 IU/g were prepared. All treatments after packaging in plastic bags were kept for 12 days at refrigerator temperature. Samples were cultured on CHROMagar™ *Listeria* every 2 days and the number of *listeria monocytogenes* was counted.

Results: two different concentrations of Nisin (500 or 1000 IU/g) was not able to inhibit *L. monocytogenes* below the acceptable level for raw food (100 cells per g) in minced meat and surimi of silver carp. But the number of bacteria reduces more in fish surimi as compared to the mince meal. Also, antilisterial activity of Nisin was reduced during the storage period.

Conclusion: Inhibitory property of Nisin against *L. monocytogenes* in surimi significantly was higher than the minced (P<0.05). So it is possible the antilisterial properties of Nisin will increase by elimination of some enzymes during processing.

Keywords: Nisin, *Listeria Monocytogenes*, Fish Mince, Surimi

* Corresponding author: Rezaei Masoud, Department of Fisheries, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Mazandaran, Iran.

Tel: +98 122 6253101

Fax: +98 122 6253499

E-mail: rezai_ma@modares.ac.ir