بررسی تأثیر اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss) و نیسین بر کنترل کیفیت فیله‌های سبک شور ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*)

نسرین چوبکار[1]*، افشین آخوندزاده بستی[2]، عباسعلی ساری[3]، حسن گندمی[4]، امیرمحمد امامی‌راد[5]

۱- استادیار، گروه شیلات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه، کرمانشاه
۲- استاد، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران
۳- استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا همدان، همدان
٤- استادیار، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران
٥- عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه، کرمانشاه
*آدرس مکاتبه: کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه، دانشکده کشاورزی، گروه شیلات
تلفن: ۷۲٤۳۱۸۱ (۰۸۳۱)، نمابر: ۷۲٤۳۱۹٦ (۰۸۳۱)
پست الکترونیک: Nchoobkar20@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۰/٦/۸ **تاریخ تصویب:** ۹۱/۲/۹

چکیده

مقدمه: گیاه آویشن شیرازی از گیاهان دارویی در طب سنتی ایران بوده و بررسی اثرات ضدباکتریایی آن در زمینه مواد غذایی بر روی باکتری‌های بیماری‌زای مهمی که از عوامل مسمومیت‌های غذایی رایج هستند، لازم و ضروری به نظر می‌رسد. نیسین نیز نوعی باکتریوسین است که از فعالیت باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس استحصال می‌شود و امروزه به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در برخی مواد غذایی استفاده می‌شود.

هدف: این مطالعه به منظور ارزیابی اثرات نگهدارندگی اسانس آویشن شیرازی و نیسین بر فاکتورهای کنترل کیفی فیله‌های سبک شور شده ماهی کپور نقره‌ای می‌باشد.

روش بررسی: اثرات اسانس آویشن شیرازی در غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۰٤٥، ۰/۱۳٥، ۰/٤۰٥ و ۰/۸۱۰درصد) و نیسین (صفر، ۰/۲٥ درصد) بر مدت زمان نگهداری فیله‌های سبک شور شده ماهی کپور نقره‌ای در شرایط یخچالی نامناسب (دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد) از طریق سنجش میزان بار میکروبی، pH، TVN، TBARS و Peroxide value انجام گرفت.

نتایج: نتایج نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل، استفاده از غلظت‌های بالای اسانس آویشن (۰/۱۳٥، ۰/٤۰٥ و ۰/۸۱۰ درصد) و نیسین (۰/۲٥ درصد) دارای تأثیر معنی‌دار بر افزایش مدت زمان نگهداری فیله‌های ماهی سبک شور بوده است ($p<0/05$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان می‌دهد که اسانس آویشن شیرازی و نیسین دارای اثرات بازدارندگی بر رشد میکروب‌ها و به عنوان نگهدارنده طبیعی در ماهی شور می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. همچنین از فاکتورهای شیمیایی مورد بررسی، TVN بهترین فاکتور کنترل کیفیت در مطالعه حاضر می‌باشد.

گل‌واژگان: کنترل کیفیت، فیله ماهی سبک شور، کپور نقره‌ای، اسانس آویشن شیرازی، نیسین

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.41.9]

مقدمه

علی‌رغم پیشرفت‌های نوین در عرصه کشتار بهداشتی و نیز تکنیک‌های تهیه و تولید مواد غذایی، سلامت و ایمنی مواد غذایی به طور روزافزون در بهداشت عمومی اهمیت می‌یابد.

۲ درصد از فرآورده‌های حاصله از ماهی به صورت شور و دودی مصرف می‌شوند. استفاده از نمک تا ۸ درصد را شوری سبک گویند. شور کردن ماهی جز روش‌های سنتی نگهداری ماهی می‌باشد که عمر نگهداری محصول را افزایش می‌دهد و از آنجاکه نمک بالا از نظر سازمان بهداشت جهانی مضر است و موجب بروز بیماری قلبی و عروقی می‌شود سعی بر آن است که در محصولات مختلف از نمک کمتری استفاده نمایند، اما از آنجاکه استفاده از نمک کمتر سبب رشد باکتری‌ها می‌شود پس بایستی نگهدارنده‌های دیگری را نیز به محصول اضافه نمود تا جلوی رشد میکرو ارگانیسم‌ها گرفته شود [۱،۲].

امروزه مردم با توجه به اثرات مضر نگهدارنده‌های غذایی شیمیایی و سنتتیک خواهان استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی مشتق از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی هستند تا علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا از اثرات مضر نگهدارنده‌های غذایی شیمیایی مصون باشند. در آخرین گزارش‌های معتبر در منابع علمی مشخصات ضدمیکروبی ترکیبات متنوعی از گیاهان، ادویه‌جات، میوه‌ها، سبزیجات، برگ‌ها، پوست درختان و بافت‌های حیوانی مانند لاکتوپراکسیداز از شیر، لیزوزوم از سفیده تخم‌مرغ و انجیر، ادویه‌ها و اسانس‌ها، باکتریوسین‌ها و کیتوزان تولیدی از پوسته سخت پوستان ارایه شده است. به هر حال هنوز هم بسیاری از ترکیبات طبیعی مورد بررسی علمی قرار نگرفته‌اند [۳].

در مواد غذایی نه تنها عوامل اصلی مثل چربی‌ها، پروتئین‌ها، آب، آنتی‌اکسیدان، pH، نمک بلکه عوامل خارجی مؤثر بر آن مانند دما، بسته‌بندی و خصوصیات میکروارگانیسمی نیز می‌تواند روی فعالیت ضدباکتریایی اسانس تأثیر بگذارد [۱].

بالا بودن میزان چربی و پروتئین در مواد غذایی، باکتری‌ها را از تأثیر بازدارندگی اسانس مصون نگه می‌دارد. چرا که وقتی اسانس در فاز چربی ماده غذایی حل می‌شود به منظور تأثیر ممانعت‌کننده بر رشد باکتری‌های موجود در فاز آبی غذا کمتر در دسترس می‌باشد. از طرف دیگر مقادیر کمتر آب در غذا در مقایسه با محیط‌های آزمایشگاهی می‌تواند مانع پیشرفت عوامل آنتی‌باکتریایی به طرف ناحیه هدف در سلول باکتری شود. البته در مورد کربوهیدرات‌ها اثرات محافظتی برای باکتری‌ها مانند چربی‌ها و پروتئین‌ها مشاهده نشده است [٤].

به احتمال زیاد قابل توجه‌ترین زمینه کاربرد اسانس‌ها، جلوگیری از رشد و نیز کاهش تعداد پاتوژن‌های خطرناک مواد غذایی می‌باشد. همچنین به تأخیر انداختن فساد و بهبود کیفیت ارگانولیپتیک نیز از نظر تجاری مورد توجه خواهد بود [۱]. اما از آنجاکه به دلیل تغییر در طعم فرآورده نمی‌توان از غلظت‌های بالای اسانس در گوشت استفاده نمود نیاز به همراه کردن آن با ترکیبات دیگر به منظور کاهش غلظت این ماده می‌باشد.

در طول دهه‌های اخیر، تحقیقات در زمینه اصول نگهداری و محافظت از میکروارگانیسم‌ها به اوج خود رسیده است [۵]. تنها باکتریوسینی که تاکنون در صنعت مواد غذایی کاربرد عملی پیدا نموده است نیسین است این ترکیب به وسیله نژادهای خاصی از لاکتوکوکوس‌لاکتیس تولید می‌شود [٦].

با مشارکت FDA و WHO در سال ۱۹٦۹، نیسین به عنوان یک افزودنی خوراکی بی‌خطر برای استفاده در غذا پذیرفته شد و این نگهدارنده زیستی به لیست افزودنی‌های خوراکی اروپا نیز اضافه شد [۷].

در pH برابر ۷ عملکرد سینرژیسم نیسین و اسانس کارواکرول (ترکیب غالب در اسانس آویشن شیرازی) در ۳۰ درجه سانتی‌گراد به طور معنی‌داری بیشتر از ۸ درجه سانتی‌گراد است پس درجه حرارت در نفوذپذیری غشاء سیتوپلاسمی تغییر ایجاد می‌کند فرض بر این است که

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.41.9]

کارواکرول می‌تواند تعداد، اندازه و یا مدت زمان وجود منافذ ایجاد شده توسط ماده نیسین در غشا سلولی را افزایش دهد [۱].

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی غذاها مانند pH، پروتیین، چربی و نشاسته می‌تواند فعالیت باکتریوسینی و ضدباکتریایی نیسین را تحت تأثیر قرار دهد. خصوصیت مهم نیسین فعالیت بالا در pH اسیدی است اما در pH بالا، فعالیت خود را از دست می‌دهد. در تأثیر نیسین در گوشت اختلاف نظر وجود دارد برخی عنوان کرده‌اند که فسفو لیپید موجود در گوشت فعالیت نیسین را محدود می‌کند و بهترین فعالیت نیسین در محیط مایع و هموژن می‌باشد و توسط آنزیم‌های پروتئولیتیک در غذاها مانند گوشت تازه غیرفعال شدن این باکتریوسین‌ها صورت می‌گیرد [۳]. تأثیر اسانس‌های گیاهی مختلف در مدل‌های غذایی با کنترل فاکتوری مانند اکسایش چربی و مدت زمان نگهداری در مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گرفته است [۸،۹،۱۰،۱۱] و در مطالعات محدودی روی گوشت ماهی مانند گوشت ماهی سیم دودی شده کنترل کیفیت مورد بررسی قرار گرفته است [۱۲].

پس از آنجا که در مدل‌های غذایی کار کمتری صورت گرفته در این مطالعه تأثیر اسانس آویشن شیرازی که گیاه بومی ایران است و به طور سنتی در برخی نقاط ایران استفاده می‌شود و ترکیب طبیعی نیسین به دست آمده از باکتری‌های لاکتیک اسید که جدیداً طرفداران زیادی دارد در کنترل کیفیت فیله‌های سبک شور ماهی کپور نقره‌ای در دمای نامناسب یخچالی مورد بررسی قرار می‌گیرد، زیرا در بازار ایران این فرآورده‌های شور در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) و یا دمای نامناسب یخچالی (۱۰ درجه سانتی‌گراد) نگهداری می‌شوند.

مواد و روش‌ها

تهیه گیاه، اسانس و آنالیز آن

گیاه آویشن شیرازی از استان فارس در فصل تابستان جمع‌آوری شد و توسط پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، نام علمی آن تأیید شد. پس از تهیه اسانس به روش تقطیر با بخار داغ، Steam distillation، از سرشاخه‌های هوایی گیاه، آنالیز اسانس توسط دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی (Gas Chormatography – Mass Spectrometry) (GC/MS) انجام شد. از دستگاه GC/MC نوع Thermoquest Finnigan GC/MC با ستون مویینه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر با برنامه دمایی ۵۰ تا ۲٦۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و گاز حاصل، هلیم با سرعت ۱/۵ میلی‌متر در دقیقه بود. شناساگر EI با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود). اجزای اصلی این اسانس عبارتند از: کارواکرول ۷۱/۱۲ درصد، گاماترپینن ۷/۳٤ درصد، آلفاپینن ٤/۲٦ درصد، اوکالیپتول ۳/۳۷ درصد و گلوبولول ۲/۳۲ درصد [۱۳].

آماده‌سازی محلول نیسین

از پودر نیسین۲/۵ درصد (Sigma) استفاده کرده و در هنگام استفاده موارد ایمنی نیز رعایت شد. این ماده تا زمان استفاده بایستی در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود. این ماده را به منظور استفاده، در اسید کلریدریک (Merck) ۰/۰۲ نرمال حل کرده که این اسید، ۳۷ درصد بود. سپس ۵۰۰ میلی‌گرم پودر نیسین را در ۵۰ میلی‌لیتر اسید آماده شده در ظرف استریل به خوبی حل کرده و روش استریل کردن آن به این صورت است که این محلول را در ظرف استریل دیگری توسط فیلتر ۰/۲ میکرومتری، فیلتر کرده و با استفاده از رابطه N1V1=N2V2 مقدار موردنظر از آن را برداشته به ظروف درب‌دار افزوده پس از خوب پخش شدن آن در آب، برش‌های ماهی‌های مورد نظر به آن اضافه می‌شد.

آماده‌سازی نمونه‌های ماهی

پس از صید ماهی فیتوفاگ (کپور نقره‌ای) تقریباً

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.41.9]

۲ کیلوگرمی از یک مزرعه ماهیان گرمآبی، آنها را توسط یخ در دمای صفر تا ۲ درجه سانتی‌گراد به کارگاه فیله کردن ماهی جاجرود انتقال داده که در آنجا پوست‌کنی، تخلیه اندرون و جداسازی سر و آبشش و دم ماهی صورت گرفته و سپس برش دادن در اندازه‌های ۳ ×۸ سانتی‌متر مربع و در وزن‌های ۲۵ گرمی انجام شده و با بسته‌بندی در کیسه‌های پلی‌اتیلنی به صورت ۱۲ تایی در مجاورت یخ به سازمان انرژی اتمی انتقال داده شد و به منظور از بین بردن کامل فلور سطحی تا حدود ۳ کیلوگری (Kilo Gray) اشعه گاما داده شد و مجدداً در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال داده شد. سپس در شیشه‌های بزرگ درب‌دار استریل، آب مقطر و نمک را در میزان لازم همراه با امولسی فایر ۱ درصد لسیتین (Merck) به منظور توزیع یکنواخت اسانس و ۰/۰۵ درصد آگار – آگار (Merck) به عنوان پایدار کننده امولسیون در آب افزوده و در دمای ۱۲۱/۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شد. سپس غلظت‌های موردنظر از اسانس آویشن شیرازی و نیسین را به شیشه‌های بزرگ درب‌دار اضافه نموده و توسط افزودن مگنت در آن و قراردادن روی همزن مغناطیسی و همان‌طور که گفته شد با ماده امولسی فایر لسیتین و آگار آگار، اسانس آویشن در آب حل می‌شد.

پس از آماده شدن این مواد در آب، برش‌های ماهی ۲۵ گرمی را در تعداد ۱۲ فیله به تعداد روزهای کشت (روزهای کشت ۱۰ روز می‌باشد اما برای اطمینان از ۱۲ فیله استفاده شد) در آن قرار داده درب آنها را بسته و در یخچال با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد به آنها اجازه داده می‌شد ۲٤ ساعت باقی بمانند تا برش‌های ماهی، این مواد را در این مدت به خود جذب نمایند.

قرار دادن برش‌ها در کیسه‌های استریل

پس از گذشت ۲٤ ساعت، برش‌های ماهی توسط پنس استریل به داخل ظروف استریل منتقل شده و در شرایط استریل و در پلت‌های استریل مجدداً در وزن‌های ۲۵ گرمی تنظیم وزن در آنها صورت می‌گرفت و سپس هر برش را داخل یک کیسه Bag mixer استریل قرار داده و روی آنها برچسب زده، درب آن را محکم بسته و در انکوباتور ۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و سپس در روزهای ۰، ۳، ٦، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۱ بررسی میکروبی و هر ۳ روز یک‌بار بررسی شیمیایی شدند. در بررسی میکروبی هر کیسه را برداشته به آن ۲۲۵ میلی‌لیتر آب پپتونه ۰/۱ درصد استریل افزوده در دستگاه استوموکر (Stomacher) قرار داده تا هموژن می‌شد و سپس توسط سمپلر ۱۰۰ – ۱۰۰۰ میکرولیتری مقدار ۱ میلی‌لیتر جهت تهیه رقت‌های ۱۰ تایی متوالی در لوله‌های شیشه‌ای محتوی ۹ میلی‌لیتر محلول استریل آب پپتونه ۰/۱ درصد و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر را به عنوان رقت از خود کیسه محتوی ماهی برداشته روی محیط کشت نوترینت براث برده، دو بار کشت داده و پس از ۲٤ ساعت شمارش باکتریایی انجام شد.

میانگین پرگنه‌های شمارش شده در دو پلت برای رقت مربوطه در نظر گرفته شد و حاصلضرب تعداد باکتری در فاکتور رقت به عنوان تعداد باکتری در هر گرم یا میلی‌لیتر از نمونه گزارش شد.

اندازه‌گیری نمک در نمونه ماهی

موارد بالا به منظور خواباندن فیله‌ها و کشت میکروبی آنها می‌باشد، اما مطابق با روش استاندارد اندازه‌گیری نمک در گوشت میزان نمک در بافت گوشت ماهی اندازه‌گیری شد [۱٤]. در محلول آب نمک ٤ درصد محتوای نمک بافت ماهی به طور متوسط ۳/۱ درصد به دست آمد.

اندازه‌گیری فاکتورهای کنترل کیفی شیمیایی در نمونه‌های ماهی

فاکتورهای pH، Peroxide، TVN، TBA مطابق با روش‌های استاندارد موجود اندازه‌گیری شد [۱٤]. TVN (مجموع ازت فرار) از تجزیه مولکول‌های پروتئینی به وجود آمده و هرگاه مقدار آن در عضله ماهی از ۲۰ میلی‌گرم درصد تجاوز کند گوشت صلاحیت مصرف را نخواهد داشت [۱٤]. فاکتور TBA (تیو باربیتوریک اسید، به عنوان محصول ثانویه اکسیداسیون چربی) و میزان پراکسید (محصول اولیه اکسایش

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.41.9]

چربی) نیز اندازه‌گیری شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های مربوط به نتایج مربوطه با استفاده از نرم‌افزار SPSS 15.0 مورد تجزیه و تحلیل توصیفی قرار گرفت. ابتدا از تجزیه واریانس یک طرفه جهت مقایسه میانگین‌ها استفاده شد و در مواردی که بین میانگین‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشت جهت جدا کردن آنها از تست Tukey استفاده کرد. میانگین‌ها در سطح اعتماد ۹۵ درصد از لحاظ آماری متفاوت قلمداد شدند.

نتایج

میزان چربی و پروتیین و رطوبت نمونه‌ها مطابق با روش‌های استاندارد [۱٤] اندازه‌گیری شد که به ترتیب ۲ و ۲۳ و ۷٤/۸ درصد به دست آمد.

مطابق با تحقیقات قبل در مطالعه غلظت‌های مختلف آویشن و نیسین در فیله‌های سبک شور شده ماهی کپور نقره‌ای و آزمایش‌های ارگانولیپتیک، غلظت ۰/۲۵ درصد از نیسین و غلظت‌های بیشتر از ۰/۰٤۵ درصد از آویشن شیرازی و به ویژه اثر سینرژیسم آویشن و نیسین تأثیرات ضدباکتریایی قوی‌تری داشته لذا از نظر کنترل کیفی این غلظت‌ها مورد بررسی قرار گرفته است [۱۵،۱٦].

در کنترل کیفی شیمیایی نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها در جدول شماره ۱ نشان می‌دهد که در روز صفر نمونه‌برداری هیچ یک از نتایج در غلظت‌های مختلف آویشن و نیسین و نیز با تیمار کنترل اختلاف آماری معنی‌داری نشان ندادند ($p>۰/۰۵$).

نتایج آماری در بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی در طول روزهای مختلف کشت بر روی رشد باکتری نشان می‌دهد که استفاده از غلظت‌های پایین اسانس با سایر غلظت‌های استفاده شده و بالاتر از اسانس یعنی ۰/۱۳۵ و ۰/٤۰۵ و ۰/۸۱۰ درصد دارای اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند ($p>۰/۰۵$).

همچنین استفاده از غلظت‌های ۰/۱۳۵ و ۰/٤۰۵ و ۰/۸۱۰ درصد از اسانس آویشن بر رشد باکتری‌ها نیز از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را با هم نشان می‌دهند ($p>۰/۰۵$). به طوری که استفاده از غلظت ۰/۱۳۵ درصد از اسانس آویشن شیرازی اثرات ممانعت‌کنندگی ضعیفی را نشان می‌دهد اما در غلظت ۰/٤۰۵ درصد آویشن تا روز ۹ کشت اثرات ممانعت‌کنندگی بالایی در رشد

جدول شماره ۱- مجموع تعداد باکتری‌ها (Total count) بر حسب cfu/gr در غلظت‌های مختلف آویشن شیرازی و نیسین در روزهای مختلف کشت

غلظت اسانس درصد	غلظت نیسین (µg/ml)	روز صفر کشت	روز سوم کشت	روز ششم کشت	روز نهم کشت	روز دوازدهم کشت
۰	۰	$۲/۵^{a}\times۱۰^{۲}$	$٦/۸^{a}\times۱۰^{٤}$	$۰/۸^{a}\times۱۰^{٦}$		
۰	۰/۲۵	$۰/۱^{a}\times۱۰^{۳}$	$٤/٦^{a}\times۱۰^{٤}$	$۰/٦^{a}\times۱۰^{٦}$		
۰/۰٤۵	۰/۲۵	$۰/۲^{a}\times۱۰^{۳}$	$٤/٤^{a}\times۱۰^{٤}$	$۰/۷^{a}\times۱۰^{٦}$		
۰/۱۳۵	۰/۲۵	$۰/۲^{a}\times۱۰^{۳}$	$۳/۵^{b}\times۱۰^{۳}$	$۰/۷^{a}\times۱۰^{۷}$		
۰/٤۰۵	۰/۲۵	$۰/۲^{a}\times۱۰^{۳}$	$۱/۸^{c}\times۱۰^{٤}$	$۰/۷^{a}\times۱۰^{٦}$	$۰/۲^{a}\times۱۰^{۸}$	
۰/۸۱۰	۰/۲۵	$۲/۵^{a}\times۱۰^{۲}$	$۳/۵^{d}\times۱۰^{۲}$	$۲/۸^{b}\times۱۰^{۳}$	$۷/۷^{b}\times۱۰^{٤}$	$۰/۱^{a}\times۱۰^{۸}$
۰/۸۱۰	۰	$۰/۱^{a}\times۱۰^{۳}$	$۲/۵^{d}\times۱۰^{۲}$	$۰/۳^{c}\times۱۰^{۵}$	$۷/۸^{c}\times۱۰^{۳}$	$۱/۲^{b}\times۱۰^{۸}$

لازم به ذکر است در مواردی که عددی ذکر نشده به معنای فساد نمونه بوده است و حروف مختلف در یک ستون نشان دهنده تفاوت آنها از نظر آماری می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.41.9]

باکتری نشان داد اما استفاده از غلظت ۰/۸۱۰ درصد آویشن تا روز ۱۲ کشت نسبت به سایر تیمارها اثرات ممانعت‌کنندگی قوی‌تری را بر رشد باکتری موردنظر نشان داد.

همچنین در بررسی تأثیر سینرژیسم نیسین و اسانس آویشن شیرازی با هم بر رشد باکتری‌ها نسبت به استفاده از اسانس به تنهایی نتایج معنی‌دار می‌باشد ($p>۰/۰۵$).

جدول شماره ۲ نشان می‌دهد میزان pH در گروه‌های مختلف و در طول روزهای مختلف نمونه‌برداری تغییر چندانی ندارد، این فاکتور به تدریج تغییر می‌کند و فاکتور چندان مناسبی برای نشان دادن فساد گوشتی نمی‌باشد. اما میزان پراکسید (محصول اولیه اکسایش چربی) در چربی استخراج شده از نمونه گوشت ماهی با نزدیک شدن به فساد، افزایش می‌یابد [۱٤] که در جدول بالا در نمونه بدون نمک و بدون اسانس و نیسین در روز ۹ به ۳/٦ رسید اما در نمونه با نمک ٤ درصد و بدون اسانس آویشن و نیسین در روز ۹ به ۲/۵ رسید اما با افزایش غلظت اسانس میزان این فاکتور کاهش می‌یابد به طوری که در استفاده از اسانس ۰/٤۰۵ درصد و ۰/۲۵ نیسین در روز ۹ نمونه‌برداری به ۱/۷ و در استفاده از اسانس ۰/۸۱۰ درصد و ۰/۲۵ نیسین در روز ۹ به ۱/٤ و در روز ۱۲ نمونه‌برداری به ۱/۸ رسید و در استفاده از این غلظت اسانس بدون استفاده از نیسین در روز ۹ به ۱/۷ و در روز ۱۲ نمونه‌برداری به ۱/۸ رسید.

جدول شماره ۲- اندازه‌گیری برخی از فاکتورهای کنترل کیفیت در دوزهای مختلف آویشن و نیسین در مقایسه با گروه بدون نمک و آویشن و نیسین و با نمک ٤ درصد و بدون آویشن و نیسین

روز کشت	غلظت نمک (درصد)	غلظت اسانس (درصد)	نیسین	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	pH	پراکسید	TVN	TBA (nmol/ml)
۰	۰	۰	۰	۱۰	٦/۵۸	۲	۱۲/۵	۰/۰۰۲۹۱۲
۳	۰	۰	۰	۱۰	٦/٦۵	۲/۲	۱۳/۳	۰/۰۰۳۹۰۸
٦	۰	۰	۰	۱۰	٦/٦۹	۲/٦	۱٦	۰/۰۰٤۷۸۹
۹	۰	۰	۰	۱۰	٦/۷۷	۳/٦	۵۱/۸	۰/۰۰۵۱۲۵
۰	٤	۰	۰	۱۰	٦/۸	۱/۸٦	۱۲/٤	۰/۰۰۲۸۱٦
۳	٤	۰	۰	۱۰	٦/۸۸	۱/۹۱	۱٤	۰/۰۰۳۹۲۷
٦	٤	۰	۰	۱۰	٦/۹	۲/۱	۱۵	۰/۰۰٤۲٦۲
۹	٤	۰	۰	۱۰	٦/۹	۲/۵	۳۹/۹	۰/۰۰٤٦۳٦
۰	٤	۰	۰/۲۵	۱۰	٦/۹	۱/۸٦	۱۲/٤	۰/۰۰۲۸۱٦
۳	٤	۰	۰/۲۵	۱۰	٦/۸۸	۱/۸۹	۱٤	۰/۰۰۳۷۷٤
٦	٤	۰	۰/۲۵	۱۰	٦/۹	۱/۹۹	۱٤/۹	۰/۰۰٤۳٤۹
۹	٤	۰	۰/۲۵	۱۰	٦/۹٦	۲/۳۵	٤۱	۰/۰۰٤۵۸۸
۰	٤	۰/۰٤۵	۰/۲۵	۱۰	٦/۸۸	۱/۸	۱۲/٤	۰/۰۰۲۷۲۰
۳	٤	۰/۰٤۵	۰/۲۵	۱۰	٦/۹	۱/۸۳	۱۳/۵	۰/۰۰۳۷۷٤

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.41.9]

ادامه جدول شماره ۲-

روز کشت	غلظت نمک (درصد)	غلظت اسانس (درصد)	نیسین	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	pH	پراکسید	TVN	TBA (nmol/ml)
٦	٤	۰/۰٤٥	۰/۲٥	۱۰	٦/۹۱	۱/۹٤	۱٤	۰/۰۰٤۳۰۱
۹	٤	۰/۰٤٥	۰/۲٥	۱۰	۷	۲/۳	۳۹	۰/۰۰٤٦۸٤
۰	٤	۰/۱۳٥	۰/۲٥	۱۰	٦/۸	۱/٥	۱۲/٥	۰/۰۰۲۹۱۲
۳	٤	۰/۱۳٥	۰/۲٥	۱۰	٦/۸	۱/۷۱	۱۳	۰/۰۰۳۳۹۱
٦	٤	۰/۱۳٥	۰/۲٥	۱۰	٦/۷۸	۱/۸٥	۱٤/۱	۰/۰۰۳۸۷۰
۹	٤	۰/۱۳٥	۰/۲٥	۱۰	٦/۹٤	۲	۳۸	۰/۰۰٤۳٤۹
۰	٤	۰/٤۰٥	۰/۲٥	۱۰	٦/۷	۱	۱۲/٤	۰/۰۰۲۸۰۷
۳	٤	۰/٤۰٥	۰/۲٥	۱۰	٦/۷	۱/۱	۱۳	۰/۰۰۲۹۱۲
٦	٤	۰/٤۰٥	۰/۲٥	۱۰	٦/۸	۱/۳	۱٤	۰/۰۰۳۱۰۳
۹	٤	۰/٤۰٥	۰/۲٥	۱۰	٦/۸۸	۱/۷	۳۲	۰/۰۰۳۳٤۳
۰	٤	۰/۸۱۰	۰/۲٥	۱۰	٦/٤	۰/۸	۱۲	۰/۰۰۲۷۱۱
۳	٤	۰/۸۱۰	۰/۲٥	۱۰	٦/٦	۱	۱۳	۰/۰۰۲۷٥۹
٦	٤	۰/۸۱۰	۰/۲٥	۱۰	٦/۸	۱/۱	۱۳/٥	۰/۰۰۲۸٦٤
۹	٤	۰/۸۱۰	۰/۲٥	۱۰	٦/۹	۱/٤	۲٥	۰/۰۰۳۱٦۱
۱۲	٤	۰/۸۱۰	۰/۲٥	۱۰	۷	۱/۸	٤۲	۰/۰۰۳۲۹٥
۰	٤	۰/۸۱۰	۰	۱۰	٦/۷	۰/۹	۱۲/٤	۰/۰۰۲۷۲۰
۳	٤	۰/۸۱۰	۰	۱۰	٦/٦	۱/۱	۱۳/٥	۰/۰۰۲۷۸۷
٦	٤	۰/۸۱۰	۰	۱۰	٦/۷۹	۱/۳	۱٥	۰/۰۰۲۸۲٦
۹	٤	۰/۸۱۰	۰	۱۰	٦/۸۱	۱/۷	۲۳/٥	۰/۰۰۳۰۹٤
۱۲	٤	۰/۸۱۰	۰	۱۰	۷	۱/۸	٤۰	۰/۰۰۳۲۹٥

میزان فاکتور TVN (نشانه فساد پروتیین) که بهترین فاکتور از نظر تغییرات در این مطالعه می‌باشد در نمونه بدون نمک و بدون آویشن و نیسین در روز ۹ نمونه‌برداری به ٥۱/٦ رسید که بسیار بیشتر از محدوده فساد یعنی ۳٥ می‌باشد اما در نمونه با ٤ درصد نمک و بدون آویشن و نیسین در روز ۹ نمونه‌برداری به ۳۹/۹ رسید و در استفاده از غلظت‌های پایین از اسانس آویشن (۰/۱۳٥ و ۰/۰٤٥ درصد) در روز ۹ نمونه‌برداری مشابه استفاده از نمک به تنهایی تغییر داشته است. اما در غلظت ۰/٤۰٥ درصد اسانس و ۰/۲٥ نیسین در روز ۹ میزان این فاکتور به ۳۲ رسیده بود و در بالاترین میزان مورد استفاده از اسانس (۰/۸۱۰ درصد) و نیسین (۰/۲٥) در روز ۹ به میزان ۲٥ و در روز ۱۲ به ٤۲ رسید و اما در بیشترین میزان اسانس مورد استفاده و بدون استفاده از نیسین در روز ۹ و ۱۲ نمونه‌برداری به ترتیب به ۲۳/٥ و ٤۰ رسید.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.41.9]

میزان فاکتور TBA (تیوباربیتوریک اسید، به عنوان محصول ثانویه اکسیداسیون چربی) نیز با افزایش زمان و کاهش غلظت مواد نگهدارنده یعنی نمک، اسانس و نیسین از نظر عددی افزایش نشان داده است که از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد.

این جدول اندازه‌گیری فاکتورهای شیمیایی که توضیحات آن آورده شد نیز تأییدی بر این مطلب است که استفاده از ۰/۸۱۰ درصد اسانس و ۰/۲۵ درصد در ماهی سبک شور سبب بیشترین میزان ماندگاری در نتیجه رشد کمتر میکروب‌ها می‌شود و بهترین فاکتور کنترل شیمیایی نیز در این مطالعه TVN بوده که میزان آن همراه با بار میکروبی تغییر می‌کند و استفاده از غلظت‌های کمتر از ۰/۱۳۵ اسانس آویشن حتی به همراه بالاترین میزان نیسین مورد استفاده یعنی ۰/۲۵، تأثیر چندان مناسبی بر ممانعت از رشد میکروب‌ها ندارد.

بحث

فرآورده‌های شور معمولاً در ایران و اغلب کشورها در دمای محیط و یا شرایط نامناسب یخچالی نگهداری می‌شوند لذا میکروارگانیسم‌های نمک دوست می‌توانند در این فرآورده‌ها رشد و تکثیر نموده و بنابراین استفاده از نگهدارنده‌ها برای جلوگیری از خطرات میکروبی این محصولات ضروری به نظر می‌رسد. اسانس‌های گیاهی از مدت‌ها قبل به عنوان عوامل طعم‌دهنده در مواد غذایی و نوشیدنی‌ها استفاده می‌شوند، همچنین به دلیل داشتن ترکیبات ضدمیکروبی مختلف به عنوان نگهدارنده‌های طبیعی در مواد غذایی مطرح هستند.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی و نیسین بر روی فاکتورهای مورد مطالعه از الگوی وابسته به دوز تبعیت می‌نماید همچنین بررسی‌های ارگانولپتیک بر روی غلظت‌های مورد استفاده از اسانس آویشن شیرازی نشان داد که به کارگیری این غلظت‌ها تا میزان ۰/۴۰۵ درصد نه تنها اثر نامطلوب در طعم فرآورده نداشت بلکه موجب بهبود طعم آن نیز شد و غلظت ۰/۸۱۰ درصد نیز طعم قابل قبول ایجاد کرد.

در مطالعه‌ای اثرات روغن سیر و چند ترکیب از اسانس‌ها شامل Carvacrol، Allylisothiocyanate، Cinnamaldehyde، Citral، Cuminnaldehyde، Eugenol، Isoeugenol و Thymol Linalool روی میکرو فلور طبیعی ماهی کپور بررسی گردید و نشان داده شد که علیه میکرو فلور ماهی مذکور که حاوی باکتری‌های میکروکوکوس، مورکسلا، فلاووباکتریوم، سودوموناس، دو باکتری از خانواده انتروباکتریاسه و ویبریوناسه بود بیشترین تأثیر را کارواکرول، تیمول و سینماآلدئید داشتند و در گیاه مورد مطالعه ما، آویشن شیرازی، نیز ترکیب کارواکرول غالب است [۲].

براساس نظر برت (۲۰۰٤) گیاهان در محیط براث دارای اثرات قوی‌تری نسبت به مدل‌های غذایی می‌باشند [۱]. در مدل‌های مختلف غذایی به دلیل واکنش این ترکیبات نگهدارنده با اجزای غذا تأثیر ممانعت‌کنندگی این ترکیبات نگهدارنده کاهش می‌یابد [۱۷] تأثیر اسانس‌های گیاهی هنگام استفاده در محیط‌های in vivo کاهش می‌یابد که این به دلیل محتوای بالای چربی و پروتئین در این محیط‌ها (مانند گوشت) می‌باشد که سبب کاهش تأثیر این ترکیبات ضدباکتریایی می‌شود البته شرایط محیطی نیز تأثیرگذار می‌باشد [۱۸].

همچنین در مطالعه حاضر نیز به دلیل محیط in vivo بافت ماهی تأثیر مفید ضدباکتریایی اسانس‌های گیاهی کاهش یافته در نتیجه به منظور ممانعت از رشد باکتری‌ها نیاز به غلظت‌های بالاتری از اسانس‌ها می‌باشد.

در مطالعه تاسو و همکاران (۲۰۰۰) اثر ممانعت‌کنندگی اسانس نعناع بر رشد و بقاء سالمونلا انترتیدس و استافیلوکوکوس اورئوس در مدل غذایی فرآورده‌های گوشت گاو انجام شد و مشخص شد که نیاز به استفاده از غلظت‌های بالاتری از اسانس نعناع به منظور تأثیر ممانعت‌کنندگی از رشد میکروب‌ها می‌باشد که به دلیل محتوای چربی و پروتئین بالا در این نوع بافت‌های غذایی می‌باشد. اسانس نعناع هیدروفوبیک بوده و در فاز چربی غذا حل می‌شود و بدین‌ترتیب فرصت تأثیر ضدباکتریایی آنها روی ارگانیسم موردنظر کاهش می‌یابد و علاوه‌بر آن، چربی و پروتئین و نیز

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.41.9]

میزان pH بافت غذایی می‌تواند در عملکرد این اسانس‌های گیاهی مؤثر باشند [۱۱].

همچنین اثر اسانس پونه کوهی (Oregano) در گوشت خام و پخته مورد بررسی قرار گرفته است و این اسانس سبب تأخیر در اکسیداسیون لیپید می‌شود که این اکسایش لیپید مؤثر در فساد گوشت می‌باشد [۱۰].

اگرچه اسانس‌های گیاهی در غذاها به عنوان ترکیب ضدباکتریایی استفاده می‌شوند و همان‌طورکه گفته شد در ترکیبات گوشتی به دلیل محتوای چربی بالاتر به میزان بیشتری از این ترکیبات نیاز است اما بایستی توجه داشت که شاخص ارگانولپتیک آنها نیز مهم است که در این مطالعه تا ۰/۴۰۵ درصد آویشن در بررسی‌های ارگانولپتیکی بسیار مورد پذیرش بوده و اما ۰/۸۱۰ درصد اسانس مزبور نیز، نسبتاً مورد پذیرش می‌بود.

باراکات و همکاران (۲۰۰۶) به وسیله ترکیب نمک طعام و ترکیبات اسانس که حاوی نیم درصد کارواکرول و نیم درصد تیمول بود بر روی فیله ماهی کپور نشان دادند که ترکیب نمک طعام به همراه کارواکرول و تیمول موجب افزایش زمان نگهداری فیله ماهی کپور می‌شود [۸] که نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر این مسأله را تأیید می‌کند.

شور کردن دارای اثرات نگهداری قابل توجه بوده و اسانس‌های گیاهی به ویژه اسانس نعناع دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی می‌باشد. فیله‌های ماهی تحت تأثیر این اسانس حتی تا غلظت ۰/۸ درصد، تست ارگانولپتیک قابل پذیرش نشان دادند که البته این اثرات به نوع تغذیه ماهی، فصل صید، اندازه ماهی و دیگر فاکتورهای محیطی و حتی بافت ماهی بستگی دارد [۹].

همچنین نشان داده شد که چربی روی فعالیت ضدباکتریایی نیسین هم اثر منفی دارد. پس استفاده از نیسین در محصولات با چربی بیشتر تأثیر محدودتری بر رشد باکتری‌ها دارد [۱۹].

از آنجا که اسانس آویشن شیرازی به مقدار قابل توجهی دارای ترکیبات فنلی است و نیسین روی غشاء سیتوپلاسمیک عمل می‌کند فعالیت ضدباکتریایی آنها در حضور هم می‌تواند تقویت شود [۲۰] که نتیجه به دست آمده از این تحقیق نیز این موضوع را تأیید می‌کند.

در این تحقیق غلظت‌های پایین از آویشن و نیسین تأثیر اندکی در رشد باکتری‌ها داشتند و نیز در فیله‌های ماهی مورد تحقیق هیچ‌گاه رشد باکتری به طور کامل متوقف نشد بلکه تأخیر در رشد باکتری‌ها حاصل شد.

در مطالعه‌ای نیز که بر روی فاکتورهای کنترل کیفیت در فیله دودی شده ماهی سیم انجام شد تفاوت معنی‌داری در میزان pH مشاهده نشد شاخص TBA در نتیجه اکسایش چربی در نمونه شور به تدریج افزایش می‌یابد و نمک، فعالیت آنزیم اکسیداز را افزایش می‌دهد و TVN نیز به دلیل ارتباط با فساد باکتریایی افزایش می‌یابد [۱۲] که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

نتایج بررسی حاضر اثرات نگهدارندگی اسانس آویشن شیرازی و نیسین در فیله ماهی سبک شور شده را به خوبی ثابت می‌نماید و این اسانس را به عنوان جایگزینی برای نگهدارنده‌های شیمیایی در مواد غذایی معرفی می‌نماید اما با این حال استفاده عملی از این اسانس نیازمند انجام بررسی‌های اقتصادی و میکروبی بیشتر است.

پیشنهاد

استفاده از سایر نگهدارنده‌های میکروبی طبیعی، بررسی اثرات سینرژیستی و آنتاگونیستی احتمالی و یافتن ترکیبات دیگر مشابه و نیز بررسی تأثیر ارگانولپتیکی و تغییرات شیمیایی و تأثیرات ضدباکتریایی آنها در مدل‌های مختلف غذایی و نیز درجات حرارتی مختلف نگهداری می‌تواند شروع راهی جهت تحقیقات بیشتر جهت کنترل میکروبی و کیفی مواد غذایی و ماندگاری طولانی‌تر و تأخیر در فساد آنها باشد.

تشکر و قدردانی

در این تحقیق از همکاری‌های جناب آقای دکتر حسن اختیارزاده و نیز مسئولین محترم آزمایشگاه کنترل مواد غذایی و

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.41.9]

میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1. Burt S. Essential *Listeria, Staphylococcus aureus* oils: their antibacterial properties and potential application in foods-a review. *International Journal of Food Microbiol*. 2004; 94: 223 - 53.

2. Barakat, SM Mahmoud, Yamazaki K, Milyasita K, Shin Il- shik chang Dong – suk and Suzuki T. Bacterial microflora of carp (*Cyprinus capia*) and its shellf life extersion by essential oil compounds. *Food Microbiol*. 2004; 21: 657 - 66.

3. Juncioni de Arauz, L, Faustino Jozala, A, Gava Mazzola, P and Vessoni penna TCh. Nisin biotechnological production and application: A Review. *Food Science & Technol*. 2009; 1 - 9.

4. Bagamboula CF, Uyttendaele M and Debevere J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiol*. 2004; 21: 33 - 42.

5. Mc Auliffe O, Ross RP and Hill C. Lantibiotics: Structure, Biosynthesis and mode of action. *FEMS Microbial Rev*. 2001; 25: 285 - 308.

6. Naidu SA.Natural food antimicrobial system, first edition, Washington, CRC press. 2000; 265 - 278, 463 - 93.

7. Paul Ross R, Morgan S. and Hill C. Preservation and Fermentation: Past, Present and Future. *International Journal of Food Microbiol*. 2002; 79: 3 - 16.

8. Barakat SM Mahmoud, Yamazaki K, Miyashita K, Shin Il- shik, and Suzuki T. A new technology for fish preservation by combined treatment with electrolyzed NaCl solutions and essential oil compounds. *J. Food Chemistry*. 2006; 99: 656 - 62.

9. Goulas AE and Kontominas MG. 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 Chem*. 2007; 100: 287 – 96.

10. Botsoglou NA, Christaki E, Fletouris DJ, Florou-Paneri P, Spais AB. The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. *Meat Sci*. 2002; 62: 259 – 65.

11. Tassou C, Koutsoumanis K and Nychas G-JE.Inhibition of *Salmonella entritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. *International Journal of Food Res*. 2000; 33: 273 - 80.

12. Bulgin S, Unlusayin M, Izci L, and Gunlu A. The Determination of the shelflife and some nutritional components of Gilthead bream (Sparus aurata) after cold and hot smoking. *J. Vet. Anim. Sci*. 2006; 32 (1): 49 - 56.

13. Akhondzadehh A, Misaghi A and Khaschabi D. Growth response and modelling of the effects of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil, pH and temperature on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. *LWT -Food Science and Technol*. 2007; 40: 973 - 81.

14. Parvaneh V. Quality Control & the chemical analysis of food. (4rd ed.) University of Tehran. 2007, pp: 241 - 55.

15. Choobkar N, Akhonzadeh Basti A, Soltani M, Sari AA, Malekshahi A, Nemati Gh, Partovi R. Study the behavior of Staphylococcus aureus bacteria in fish processed with salt affected natural substance Nisin, *Journal of Veterinary Res*. 2010; 65 (3): 185 - 9.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.41.9]

16. Choobkar N, Soltani M, Ebrahimzadeh Mousavi HA, Akhonzadeh Basti A, Matinfar A. 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 Sci. (ISI).* 2010; 9 (3): 352 - 9.

17. Singh A, Singh RK, Bhunia Ak and Singh N. Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*. 2003; 36: 787 – 94.

18. Gutierrez, J, Barry-Ryan C and Bourke P. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiol.* 2008; 124: 91 – 9.

19. Bhatti M, Veeranachanani, A and Shelef LA. Factors affecting the antilisterial effects of nisin in milk. *International J. Food Microbiol*. 2004; 97: 215 - 9.

20. Yamazaki K, Yamamoto T, Kawai Y and Inoue N. Enhancement of anti listerial activity of essential oil constituents by nisin and diglycerol fatty acid eter. *Food Microbiol*. 2004; 21: 283 - 9.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.41.9]