اثر ضد باکتریایی اسانس نارنج و بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته در کنترل استافیلوکوکوس اورئوس در توفوی ماهی تحت تاثیر دما، نمک و pH

لاله رومیانی[1*]، مهرنوش تدینی[2]

1- گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران
2- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

(تاریخ دریافت: 97/12/01 تاریخ پذیرش: 98/11/26)

چکیده

این پژوهش با هدف تاثیر دما، pH، نمک، اسانس گیاه نارنج[1] و بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته (50 درصد دی‌اکسیدکربن، 45 درصد نیتروژن و 5 درصد اکسیژن) در کنترل *استافیلوکوکوس اورئوس*[2] در توفوی ماهی انجام شد. در این پژوهش pH در سطوح 5/5، 6 و 7/5، دما در سه سطح 4، 25 و 37 درجه سانتی‌گراد، نمک به میزان 0، 1/5 و 3 درصد و اسانس نارنج در سطوح 0، 0/025 و 0/05 درصد در نظر گرفته شد. با توجه به نتایج به دست آمده مشاهده شد که هرچه pH نمونه‌های توفوی ماهی پایین‌تر بود، رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* محدودتر شد. در pH 5/5 با 0/025 و 0/05 درصد اسانس نارنج در نمونه‌های توفوی ماهی عدم رشد باکتری مشاهده شد، اما در pH 6 و 7/5 عدم رشد باکتری مشاهده نشد و رشد آنها به بیش از میزان مجاز رسید. با افزایش دما به 25 و 37 درجه سانتی‌گراد و نیز در pH 5/5، 6 و 7/5 رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در توفوی ماهی افزایش یافت. نتیجه این پژوهش ثابت کرد که در توفوی ماهی، اسانس نارنج در سطح 0/05 درصد در دمای 4 درجه سانتی‌گراد، نمک 3 درصد و pH 5/5 توانست رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* را کنترل کند.

کلید واژگان: توفوی ماهی، بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته، اسانس نارنج

* مسئول مکاتبات: l.roomiani@yahoo.com

1. Citrus aurantium L.
2. Staphylococcus aureus

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.52547/fsct.17.103.1]

1- مقدمه

در قرن حاضر، حفظ ایمنی ماده غذایی و کیفیت آن در دوره ماندگاری امری است که نه تنها توجه متخصصین صنعت غذا و مسئولین سلامت کشورها را به خود جلب کرده، بلکه بی‌توجهی یا کم‌توجهی به آن می‌تواند صدمات جبران ناپذیری به جامعه وارد کند. امروزه بیماری‌های ناشی از مصرف غذاهای آلوده در همه جای دنیا حتی در کشورهای پیشرفته هم یک مشکل اساسی به شمار می‌رود [۱،۲]. از آنجایی که محصولات غذایی در مناطقی دورتر از محل تولیدشان به فروش می‌رسند، لازم است عمر ماندگاری این محصولات افزایش یابد. غذاهای آماده مصرف، اغلب در معرض آلودگی سطحی هستند که موجب کاهش ماندگاری آن‌ها می‌شود [3].

آبزیان یکی از منابع مهم، باارزش و غنی از پروتئین، چربی‌های غیراشباع و انرژی هستند. در این میان چربی ماهیان و میگوها منبع مهمی از اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه و ترکیبات امگا 3 به طور عمده دوکوزاهگزائنوئیک اسید و ایکوزاپنتانوییک اسید است [4]. فرآورده‌های حاصل از آبزیان جزء غذاهایی با فسادپذیری بالا هستند و نسبت به سایر غذاهای گوشتی سریع‌تر فاسد می‌شوند [5]. هرچند باکتری-های بیماری‌زای ذاتی در محصولات شیلاتی تازه در سطوح کم یافت می‌شوند و زمانی که این محصولات قبل از مصرف پخته شوند و آلودگی اتفاق نیفتد، خطرات امنیت غذایی ناچیز می‌شوند، اما احتمال رشد سطوح بالای چنین باکتری‌هایی می-تواند سبب بیماری در انسان شود [6]. در محصولات شیلاتی فرآوری شده نیز خطر جدی باکتری‌های بیماری‌زا وجود دارد و حتی نمک و دودی کردن برای جلوگیری از رشد باکتری‌ها کافی نیستند [7].

همه میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌ها تحت تاثیر عوامل محیطی قرار دارند. عوامل محیطی بر رشد، تکثیر و مرگ باکتری‌ها تاثیر می‌گذارند. تغییرات pH یعنی تغییر غلظت یون هیدروژن در محیط زندگی باکتری‌ها، بر روند زندگی باکتری‌ها موثر است [8]. pH گوشت ماهی تاثیر مهمی بر فسادپذیری ماهی دارد، چون هم بر روی جمود نعشی و هم بر روی رشد باکتری‌ها اثر می‌گذارد[۹،۱۰]. یکی از راه‌های کنترل رشد باکتری‌های بیماری‌زای موادغذایی استفاده از نگهدارنده‌ها و ترکیبات ضد میکروبی می‌باشد [11]. افزودن مواد شیمیایی به منظور نگهداری مواد غذایی معمولاً بر مبنای جلوگیری از رشد میکروب‌ها و یا کشتن و از بین بردن گروه‌هایی از میکروارگانیسم‌های مضر می‌باشد [12]. بدون شک استفاده از عصاره و اسانس گیاهان جایگزین بسیار مناسبی می‌تواند باشد [13]. اسانس‌های گیاهی ترکیبات معطر، آب گریز، تغلیظ شده و فراری هستند که در سلول‌های ترشحی منفرد یا مجتمع، غده‌های ترشحی، مجاری ترشحی در قسمت‌های سطحی و درونی اندام‌های مختلف از جمله برگ، گل، میوه، جوانه و شاخه‌های گیاهان وجود دارند [14].

اجاق و همکاران (1395) کارایی اسانس پونه کوهی[1]، مرزنجوش[2] و شوید[3] جهت کنترل باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز*[4] در گوشت چرخ شده ماهی کپور نقره‌ای[5] را بررسی کردند [15]. تأثیر اسانس زنیان[6] بر رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*[7] در سوریمی ماهی کیلکا[8] نشان داد، اسانس زنیان ترکیب موثری جهت کاهش سرعت رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و کاهش تولید انتروتوکسین‌های ناشی از آن در سوریمی ماهی کیلکا می‌باشد [16]. تاثیر اسانس‌های گیاهی گل میخک، زیره و زیتون بر تغییرات میکروبی فیله ماهی توربوت[9] منجمد شده نشان داد که فیله‌های ماهی توربوت در گروه شاهد دارای نشانه‌هایی از فساد برای همه پارامترهای ارزیابی شده بود [17]. Van Haute و همکاران (2016) تاثیرات ضدمیکروبی اسانس دارچین، پونه کوهی و آویشن در ماریناد ماهی و گوشت قرمز را بررسی کردند. رشد کپک‌ها و مخمرها به وسیله اسانس دارچین مهار شد. اسانس‌های گیاهی مورد مطالعه سبب ممانعت رشد میکروبی در فرآورده‌های ماهی شد [18]. رضوی روحانی و همکاران (1390) اثرات ضد باکتریایی ترکیبی نیسین و اسانس پیاز تحت غلظت‌های مختلف نمک و pH بر *لیستریا مونوسیتوژنز* نشان داد که در حالت ترکیبی اثر ضدلیستریایی مؤثر را بروز می‌دهند که این اثرات به صورت سینرژیستی، افزایشی و گاهی بدون اثر است. این تأثیرات علاوه بر غلظت نمک به طور کامل تحت تأثیر pH قرار داشت. از طرفی و

1. *Origanum vulgare*
2. *Origanum majorana*
3. Anethum graveolens
4. *Listeria monocytogenes*
5. *Hypophthalmichthys molitrix*
6. *Carum copticum*
7. *Staphylococcus aureus*
8. *Clupeonella cultriventriscaspia*
9. *Scophthalmus maximus*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.52547/fsct.17.103.1]

صرف‌نظر از مقدار pH، رشد میکروارگانیسم از افزایش غلظت نمک متأثر گردید [19]. تاثیر دما، غلظت نمک و pH بر خواص ضدلیستریایی نایسین نشان داد که اثر نایسین در دمای 14 درجه سانتی‌گراد در مقایسه با دماهای 4 و 9 درجه سانتی‌گراد بیشتر بود. همچنین خواص ضدلیستریایی نایسین با افزایش غلظت نمک (2 و 4 درصد) افزایش یافت. میزان فعالیت نایسین در pH 5 نسبت به pH 6 و 7 بیشتر بود. در بین متغیرهای مورد مطالعه بیشترین تاثیر در کاهش تعداد باکتری مربوط به نمک و در مرحله بعد دما، سپس pH و نایسین بود [20]. گیاه نارنج جزء خانواده راتاسه می‌باشد و در نواحی گرم رشد می‌کند. پوست، گل و برگ این گیاه خواص دارویی زیادی دارد که در درمان بیماری های گوارشی و عصبی استفاده می‌شود [21].

این پژوهش با هدف تاثیر دما، pH، نمک، اسانس نارنج[1] و بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته (50 درصد دی‌اکسیدکربن، 45 درصد نیتروژن و 5 درصد اکسیژن) در کنترل *استافیلوکوکوس اورئوس*[2] در توفوی ماهی انجام شد.

2- مواد و روش‌ها

2-1- تهیه اسانس نارنج

نمونه‌های برگ نارنج از استان خوزستان، شهرستان دزفول، جمع‌آوری و توسط پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تایید شدند. به منظور استخراج اسانس برگ نارنج، بخش‌های خشک شده گیاه کاملا آسیاب و با استفاده از یک دستگاه کلونجر به مدت 3 ساعت روغن فرار آن به روش تقطیر توسط آب استخراج گردید. پس از آب‌گیری توسط سولفات سدیم خشک، تا هنگام تعیین خواص ضدباکتریایی و همچنین تشخیص و تعیین ترکیب‌های تشکیل دهنده، اسانس در ظروف شیشه‌ای تیره و در یخچال نگهداری شد [22]. جهت سنجش و شناسایی ترکیبات اسانس برگ نارنج از دستگاه گاز کروماتوگراف گازی مدل Agilent-6890 ساخت کمپانی Agilent آمریکا، مجهز به دریچه تزریق کاپیلاری، ستون کاپیلاری ویژه تجزیه اسانس‌ها و روغن‌ها، دتکتور یونش شعله‌ای استفاده گردید. دمای آشکارساز و محل تزریق به ترتیب بر روی 160 و 180 درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. 1 میکرولیتر از نمونه اسانس با استفاده از سرنگ میکرولیتری به دستگاه گاز کروماتوگراف تزریق شد. دمای اولیه ستون روی 160 درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. بعد از مدت 10 دقیقه، دمای ستون با سرعت 2 درجه سانتی‌گراد در دقیقه به دمای 180 درجه سانتی‌گراد رسانده شد و به مدت 75 دقیقه دما در این درجه باقی ماند. در این روش از گاز هلیوم با خلوص 99/99 درصد به عنوان گاز حامل و گاز هیدروژن به عنوان سوخت، ازت با خلوص99/99 درصد) به عنوان گاز کمکی و هوای خشک استفاده شد. از مقایسه زمان بازداری کروماتوگرام‌های نمونه مجهول با کروماتوگرام‌های به دست آمده از محلول استاندارد اسانس‌های موجود در برگ گیاه نارنج شناسایی شد و نتایج به صورت درصد گزارش گردید [23].

2-2- آماده‌سازی توفوی ماهی

نمونه‌های توفوی ماهی شامل 53/50 درصد سوریمی کپور نقره‌ای، 12/70 درصد یخ، 12/50 درصد سفیده تخم‌مرغ، 8/50 درصد آرد سویا، 4/50 درصد آرد نشاسته، 4/50 درصد روغن سویا، 1/5 درصد یا 3 درصد نمک و 2/40 درصد شکر تهیه شدند. سوریمی به مدت 4 دقیقه با نمک مخلوط شد، سپس به مخلوط شکر اضافه و به مدت 5 دقیقه هم زده شد. بعد از آن سایر مواد تشکیل دهنده شامل آرد سویا، آرد، سفیده تخم‌مرغ و روغن اضافه شده و به مدت 5 دقیقه مخلوط شدند. این مخلوط به طور مداوم به مدت 5 دقیقه خرد شده و دمای نهایی مخلوط بالاتر از 10 درجه سانتی‌گراد نبود. سپس نمونه-های توفوی ماهی به مدت 12 دقیقه پخت شده و پس از آن نمونه‌های توفو در دمای 170 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 دقیقه با روغن سرخ شدند. نمونه‌های توفوی ماهی پخته شده با دمای محیط اتاق خنک و در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند [24]. در این پژوهش pH در سطوح 5/5، 6 و 7/5، دما در سه سطح 4، 25 و 37 درجه سانتی‌گراد، نمک در سه سطح 0، 1/5 و 3 درصد و اسانس نارنج در سطوح 0، 0/025 و 0/05 درصد در توفوی ماهی درنظرگرفته شد.

2-3- بسته‌بندی نمونه‌ها

جهت بسته‌بندی از روش بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته (50 درصد دی‌اکسیدکربن، 45 درصد نیتروژن و 5 درصد اکسیژن) (به دلیل مطالعات مختلف اینجانب بر روی بسته‌بندی اتمسفر

1. *Citrus* essential oil
2. *Staphylococcus aureus*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.52547/fsct.17.103.1]

تغییر یافته و با توجه به نتایج آنها، بهترین تیمار انتخاب شد. ضمن اینکه هدف این مطالعه استفاده از ترکیب عوامل مختلف نگهدارنده برای کنترل باکتری بود سیستم hurdle) استفاده شد. تمامی نمونه‌های توفوی ماهی پس از تیماربندی توسط دستگاه بسته‌بندی هنکلمن مدل 200A ساخت کشور هلند با ترکیب گازی مشخص شده بسته‌بندی شدند. ظروف بسته‌بندی 5 لایه بوده که شامل 2 لایه پلی‌اتیلن، دو لایه پلی‌آمید و 1 لایه چسب با ضخامت 80 میکرون بودند. مقدار مورد نیازی از آرد بلوط به مدت 3 تا 4 دقیقه با حرارت ملایم بو داده و سپس طی حرارت مقدار مناسبی روغن قنادی به آن اضافه شد تا حالت تقریباً خمیری حاصل شود. سپس نمونه‌های توفوی ماهی در این پوشش خمیری قرار گرفتند.

2-4- کنترل دما و pH

برای کنترل pH مقدار 5 گرم از هر یک از نمونه‌ها پس از آماده شدن به همراه 45 میلی‌لیتر آب مقطر در یک بشر 250 میلی‌لیتری توسط همزن برقی به طور کامل هموژن گردید و سپس pH نمونه‌ها با دستگاه pH متر دیجیتالی مدل 713 Metrohm اندازه‌گیری و از محلول هیدروکسیدسدیم یک نرمال برای تنظیم مقادیر pH استفاده و برای جلوگیری از تغییرات آن، محیط کشت با استفاده از فیلتراسیون، استریل شد [9]. نمونه‌های توفوی ماهی در سه دمای 4، 25 و 37 درجه سانتی نگهداری شدند [25].

2-5- شمارش باکتری

سویه استاندارد و لیوفیلیزه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. محیط کشت افتراقی *استافیلوکوکوس اورئوس* ترپتیک سوی براث (TBS) بود. آمپول لیوفیلیزه باکتری ابتدا در شرایط استریل باز و سپس به محیط کشت مایع TBS انتقال و به مدت 48 ساعت در 30 درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس محیط کشت حاوی باکتری به مدت 5 دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی با محلول رینگر جایگزین گردید. به منظور جداسازی کامل محیط کشت از باکتری محلول حاصل دوباره به مدت 5 دقیقه سانتریفیوژ شد. تعداد باکتری‌ها در مایع زیرین توسط روش کدورت‌سنجی در طول موج 570 نانومتر به دست آمد، به طوری که جذب نوری 0/08 تا 0/1 تقریبا معادل 1×10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر در نظر گرفته شد. به نمونه‌های مورد نظر از محصولات میزان 1×10^4 CFU/g از باکتری مورد نظر تلقیح شد. برای تعیین حداقل غلظت مهار اسانس از روش براث میکرودایلیشن در پلیت‌های میکروتیتر 96 چاهکی با حجم 300 میکرولیتری استریل (اکستراژن، امریکا) استفاده شد. در هر چاهک 160 میکرولیتر محیط آبگوشت قلب و مغز استریل، 20 میکرولیتر از هر کدام از رقت‌های متوالی اسانس مورد مطالعه و 20 میکرولیتر کشت باکتریایی اضافه گردید. سپس پلیت‌های میکرولیتر به مدت 30 ثانیه با دور 250 rpm برای مخلوط شدن در همزن قرار داده شدند. بعد از 24 ساعت گرمخانه‌گذاری و در دمای 37 درجه سلسیوس در انکوباتور، به منظور تعیین حداقل غلظت مهاری، چاهک‌ها برای وجود کدورت به طریق چشمی بررسی و حداقل غلظتی که ایجاد حالت عدم رشد یا عدم کدورت مشهود با گروه کنترل به عنوان غلظت مهاری حداقل تعیین گردید. سپس 20 میکرولیتر از نمونه در محیط آگار قلب و مغز، کشت داده و پس از طی 24 ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای 37 درجه سلسیوس عدم رشد تایید شد. پس از تعیین حداقل غلظت مهاری اسانس، دو غلظت پایین‌تر از آن برای بررسی اثر اسانس گیاه نارنج بر روی رشد باکتری در دما، pH و غلظت‌های مختلف نمک مورد بررسی قرار گرفت [26]. برای شمارش باکتری‌ها از محتویات هریک از لوله‌های تهیه رقت مقدار 0/1 میلی‌لیتر برداشته و در سطح دو پلیت شمارش انجام گردید. به منظور ارزیابی رشد باکتری‌ها شمارش کلونی به روش کشت سطحی در محیط آگار انجام شد. در این مطالعه از شاخص DP استفاده گردید:

$$\text{Log DP= log N/ N0= log (N)-log (N0)}$$

2-6- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش همه آزمایش‌ها با 3 تکرار انجام شد. نتایج حاصل از این تحقیق با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 20 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. میانگین داده‌ها به منظور مقایسه اختلاف معنی‌دار با ضریب اطمینان 95 درصد (P=0.05) با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و آزمون دانکن (Duncan test) انجام شد. جهت تعیین وجود و یا عدم وجود تفاوت در میانگین تیمارهای مستقل از یکدیگر از آزمون T با نمونه‌های جفتی (Paired- Samples T- Test) استفاده شد. نرمال بودن داده‌ها به کمک آزمون کولموگراف ـ اسمیرنف بررسی شدند. همچنین جهت رسم جداول و نمودارها از نرم‌افزار Excel 2007 استفاده گردید.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.52547/fsct.17.103.1]

3- نتایج و بحث

ترکیبات شناسایی شده و زمان بازدارندگی اسانس برگ گیاه نارنج در جدول 1 آمده است. همانطور که مشاهده می گردد بالاترین ترکیب مربوط به لینالول با 34/688 درصد بوده است. هاشمی و همکاران (1393) بالاترین ترکیب اسانس برگ نارنج را لینالول (32/41 درصد) گزارش کردند [27]. مصدق و همکاران (1383) ترکیبات اسانس برگ نارنج در منطقه تنکابن را بررسی و لینالول را بالاترین ترکیب با 38/72 درصد گزارش کردند [28]. در مطالعه دیگر در منطقه تونس بالاترین ترکیب اسانس برگ نارنج را لیمونن (87/02 درصد) گزارش کردند [29]. مطالعات مذکور دلایل این اختلافات را فصل، زمان و مکان برداشت و شرایط متفاوت اسانس‌گیری ذکر کرده‌اند [۲۹،۲۸،۲۷].

Table 1 Compounds of essential oil of *Citrus aurantium*

Constituents	Composition (%)	Retention time (Min)
pinene	0.492	8.48
myrcene	2.032	9
Benzylamino	0.304	9.61
Limonene	0.629	10.26
Ocimene	0.985	10.63
Octatriene	2.324	10.99
Terpinolene	0.689	12.37
linalool	34.688	13.02
Benzeneethanamine	0.115	13.10
vinylcyclobutane	0.089	15.58
Cyclohexene	7.530	16.14
Carene	14.757	18.33
vinylphenol	1.822	20.34
Caryophyllene	4.584	23.65
Cycloundecatriene	0.452	24.71
Farnesene	0.133	24.79
Bicyclogermacrene	1.823	26.04
Neophytadiene	5.730	38.81
Benzenedicarboxylic acid	4.361	47.03
Hexadecanedione	0.302	48.23
Heneicosane	0.480	48.51
Eicosane (CAS	0.343	49.39
Octacosane	0.337	40.49
Squalene	0.423	50.42
Nonacosane	0.307	50.92

بررسی رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در توفوی ماهی تحت تاثیر pH، نمک، دما و اسانس نارنج در جدول 2 ارائه شده است. مقادیر چولگی و کشیدگی و نتایج حاصل از آزمون کولموگراف ـ اسمیرنف نشان داد که داده‌های رشد استافیلوکوکوس اورئوس در توفوی ماهی نرمال بودند.

در این تحقیق بین تعداد *استافیلوکوکوس اورئوس* شمارش شده در توفوی ماهی در pH 5/5، 6 و 7/5 در دماهای 4، 25 و 37 درجه سانتیگراد و نمک 1/5 و 3 درصد طی 12 روز نگهداری اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P< 0.05$). با افزایش دما به 25 و 37 درجه سانتیگراد و نیز در pH 6 و 7/5 رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در توفوی ماهی مورد مطالعه افزایش یافت. در روز هشتم و دوازدهم در pH 5/5 با نمک 1/5 درصد و اسانس نارنج 0/05 درصد رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* وجود نداشت. در دمای 25 و 37 درجه سانتی‌گراد در pH 5/5 و 6 و 7/5 با نمک 1/5 درصد و اسانس نارنج 0/025 درصد، pH 7/5 با نمک 1/5 درصد و اسانس نارنج 0/05 درصد، pH 7/5 با نمک 3 درصد و اسانس نارنج 0/025 درصد رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در توفوی ماهی مشاهده شد (جدول 3).

در pH 7/5 با نمک 1/5 درصد و اسانس نارنج 0/025 درصد در دماهای 25 و 37 درجه سانتیگراد افزایش رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* وجود داشت. افزایش هیدروفوبی روغن‌های اسانس در مقادیر پایین pH سبب افزایش انحلال‌پذیری آن‌ها در لیپیدهای غشاهای سلولی باکتری‌ها شده و در نهایت حساسیت باکتریایی افزایش می‌یابد. اثر بازدارندگی بیشتر pH های پایین بر فعالیت‌های سلولی از جمله نفوذپذیری غشاء سلولی می‌باشد [2]. به طور کامل باید گفت اسانس‌های روغنی مکانیسم‌های متفاوتی در نابودی میکروارگانیسم‌ها دارند. این ترکیبات با داشتن خواص ضدمیکروبی به لیپیدهای غشاء سلولی و میتوکندری وارد می‌شوند و همین مسئله سبب اختلاف در ساختمان سلول‌ها و ایجاد نفوذپذیری بیشتر آن‌ها می‌گردد و در نتیجه آن خروج یون و دیگر محتویات سلولی اتفاق می‌افتد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.52547/fsct.17.103.1]

Table 2 Statistic parameters of *Staphylococcus aurous* (Log cfu/g) under the influence of pH, salt, temperature and essential oil of citrus in fish tofu in MAP during 12 days storage at refrigerator temperature

pH	Salt (%)	Essential oil (%)	Temperature (°C)	Mean ±SD	Standard error	Variance	Skewness	Kurtosis
5.5	1.5	0.025	4	4.11±1.44	0.31	2.090	-0.768	0.360
			25	2.68±2.03	0.44	4.154	-0.338	-1.721
			37	3.04±2.26	0.49	5.132	-0.362	-1.616
6	1.5	0.025	4	4.09±1.25	0.15	1.015	-1.293	0.935
			25	3.84±1.16	0.29	2.230	-1.415	-1.615
			37	4.08±1.17	0.37	2.107	-1.630	0.722
7.5	1.5	0.025	4	3.62±1.90	0.52	2.800	-1.405	1.545
			25	4.18±1.62	0.63	3.129	-1.458	-1.405
			37	4.84±1.91	0.36	2.282	-1.532	1.925
5.5	1.5	0.05	4	2.48±1.88	0.41	3.553	-0.261	-1.576
			25	4.40±1.60	0.34	2.561	-0.709	-1.650
			37	4.71±1.60	0.34	2.565	-0.709	0.209
6	1.5	0.05	4	3.29±1.26	0.44	2.715	-1.415	-1.597
			25	3.84±1.12	0.56	1.471	-1.415	-1.493
			37	4.48±1.17	0.63	2.457	-1.652	-1.293
7.5	1.5	0.05	4	3.56±1.54	0.23	2.514	-1.230	1.116
			25	4.00±1.91	0.44	1.291	-1.244	-1.574
			37	4.69±1.14	0.68	3.892	-1.574	1.458
5.5	3	0.025	4	2.35±1.78	0.38	3.183	-0.307	-1.650
			25	4.12±1.29	0.28	1.680	-1.070	0.256
			37	4.22±1.27	0.27	1.638	-0.782	-0.128
6	3	0.025	4	3.09±1.09	0.25	1.678	-1.493	-1.545
			25	3.88±1.11	0.34	2.713	-1.700	-1.034
			37	4.72±1.17	0.35	2.122	-1.415	-1.485
7.5	3	0.025	4	3.74±1.57	0.66	1.117	-1.688	1.077
			25	4.26±167	0.72	2.564	-1.528	-0.828
			37	4.67±1.51	0.87	2.231	-1.293	1.652
5.5	3	0.05	4	1.60±1.58	0.34	2.498	0.163	-1.821
			25	3.51±0.75	0.16	2.564	-0.702	-0.188
			37	3.90±1.16	0.25	1.360	-0/781	-0.256
6	3	0.05	4	2.82±1.12	0.47	1.017	-1.545	1.225
			25	3.50±1.53	0.35	2.289	1.708	-1.390
			37	3.76±1.21	0.66	2.147	-1.248	1.718
7.5	3	0.05	4	3.81±1.47	0.85	1.912	-1.597	1.293
			25	4.05±1.68	0.97	2.415	-1.695	1.405
			37	3.47±2.70	0.81	2.720	-1.644	-1.644

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.52547/fsct.17.103.1]

Table 3 Effect of pH, salt, *Citrus aurantium* essential oil and temperature on growth of *Staphylococcus aurous* (Log cfu/g) in fish tofu in MAP storage at refrigerator temperature during 12 days

pH	Salt (%)	Essential oil (%)	T (°C)	0	2	4	6	8	10	12
5.5	1.5	0.025	4	1.34±0.27^{Aa}	3.23±0.05^{Ab}	3.83±0.13^{Ab}	4.38±0.10^{Ab}	4.77±0.13^{Ab}	5.24±0.21^{Ac}	5.97±0.16^{Ac}
			25	1.51±0.19^{Aa}	3.49±0.10^{Ab}	4.19±0.17^{Bb}	4.71±0.10^{Ab}	4.87±0.15^{Ab}	Overgrowth	Overgrowth
			37	1.98±0.13^{Aa}	3.79±0.08^{Ab}	4.75±0.05^{Bb}	5.10±0.09^{Bb}	5.64±0.09^{Bb}	Overgrowth	Overgrowth
6	1.5	0.025	4	1.55±0.12^{Aa}	3.51±0.04^{Ab}	4.09±0.08^{Bb}	4.52±0.08^{Ab}	5.16±0.05^{Bc}	6.24±0.25^{Bc}	no growth
			25	2.08±0.07^{Ba}	3.84±0.05^{Ab}	4.25±0.05^{Bb}	4.68±0.16^{Ab}	5.55±0.15^{Bc}	Overgrowth	Overgrowth
			37	1.87±0.13^{Aa}	4.08±0.08^{Bb}	4.79±0.17^{Bb}	5.10±0.08^{Bc}	5.82±0.07^{Bc}	Overgrowth	Overgrowth
7.5	1.5	0.025	4	1.56±0.09^{Aa}	3.62±0.06^{Ab}	4.14±0.16^{Bb}	4.71±0.12^{Ab}	5.38±0.15^{Bc}	Overgrowth	Overgrowth
			25	1.99±0.12^{Aa}	4.18±0.15^{Bb}	4.71±0.13^{Bb}	5.47±0.11^{Bc}	6.00±0.10^{Cc}	Overgrowth	Overgrowth
			37	1.80±0.16^{Aa}	4.84±0.14^{Bb}	5.29±0.15^{Cc}	5.89±0.06^{Bc}	6.40±0.09^{Cc}	Overgrowth	Overgrowth
5.5	1.5	0.05	4	1.53±0.11^{Aa}	3.12±0.11^{Ab}	3.55±0.04^{Ab}	4.31±0.07^{Ab}	4.77±0.10^{Ab}	no growth	no growth
			25	1.36±0.38^{Aa}	3.58±0.11^{Ab}	3.85±0.05^{Ab}	4.72±0.07^{Ab}	5.10±0.09^{Bc}	5.67±0.11^{Ac}	6.52±0.15^{Bc}
			37	1.60±0.11^{Aa}	4.10±0.09^{Bb}	4.26±0.06^{Bb}	4.76±0.11^{Ab}	5.45±0.12^{Bc}	5.87±0.02^{Ac}	6.92±0.12^{Bc}
6	1.5	0.05	4	2.08±0.07^{Ba}	2.97±0.26^{Ca}	3.29±0.07^{Aa}	3.87±0.02^{Ca}	4.17±0.03^{Ab}	4.66±0.05^{Cb}	5.15±0.13^{Ac}
			25	1.77±0.12^{a}	3.50±0.08^{Ab}	3.84±0.07^{Ab}	4.26±0.04^{Ab}	4.51±0.11^{Ab}	5.00±0.10^{Ac}	5.26±0.12^{Ac}
			37	1.87±0.17^{Aa}	3.71±0.02^{Ab}	4.09±0.08^{Bb}	4.48±0.07^{Ab}	4.87±0.06^{Ab}	5.36±0.04^{Ac}	6.00±0.10^{Bc}
7.5	1.5	0.05	4	1.54±0.08^{Aa}	3.21±0.09^{Ab}	3.56±0.14^{Ab}	4.85±0.05^{Ab}	4.36±0.04^{Ab}	4.75±0.05^{Cb}	6.31±0.27^{Bc}
			25	1.91±0.29^{Aa}	3.77±0.17^{Ab}	4.00±0.10^{Bb}	4.31±0.03^{Ab}	4.83±0.07^{Ab}	Overgrowth	Overgrowth
			37	2.14±0.44^{Ba}	4.00±0.11^{Bb}	4.69±0.08^{Bb}	4.87±0.08^{Ab}	5.36±0.11^{Bc}	Overgrowth	Overgrowth
5.5	3	0.025	4	1.39±0.14^{Aa}	3.05±0.09^{Ab}	3.45±0.05^{Ab}	4.13±0.13^{Ab}	4.43±0.07^{Ab}	no growth	no growth
			25	1.52±0.24^{Aa}	3.44±0.10^{Ab}	3.72±0.10^{Ab}	4.66±0.05^{Ab}	4.86±0.05^{Ab}	5.17±0.05^{Ac}	5.47±0.11^{Ac}
			37	1.77±0.20^{Aa}	3.57±0.11^{Ab}	3.77±0.13^{Ab}	4.36±0.14^{Ab}	5.00±0.10^{Bc}	5.36±0.03^{Ac}	5.74±0.04^{Ac}
6	3	0.025	4	1.61±0.07^{Aa}	3.09±0.08^{Ab}	3.52±0.09^{Ab}	3.87±0.03^{Cb}	4.18±0.06^{Ab}	no growth	no growth
			25	2.09±0.07^{Ba}	3.56±0.05^{Aa}	3.88±0.08^{Aa}	4.11±0.11^{Ab}	4.43±0.07^{Ab}	4.88±0.04^{Cb}	5.42±0.11^{Ac}
			37	1.83±0.08^{Aa}	3.83±0.05^{Ab}	4.27±0.07^{Bb}	4.72±0.10^{Ab}	5.12±0.11^{Bc}	5.28±0.04^{Ac}	5.19±0.17^{Ac}
7.5	3	0.025	4	2.05±0.11^{Aa}	3.41±0.13^{Aa}	3.74±0.12^{Aa}	4.17±0.15^{Ab}	4.74±0.11^{Ab}	5.37±0.06^{Ac}	6.04±0.16^{Bc}
			25	1.64±0.10^{Aa}	3.91±0.03^{Ab}	4.26±0.12^{Bb}	4.79±0.16^{Ab}	5.03±0.15^{Bc}	Overgrowth	Overgrowth
			37	2.13±0.15^{Ba}	3.96±0.05^{Aa}	4.67±0.07^{Bb}	5.18±0.09^{Bc}	5.53±0.07^{Bc}	Overgrowth	Overgrowth
5.5	3	0.05	4	1.44±0.21^{Aa}	2.05±0.16^{Ca}	3.20±0.02^{Aa}	3.80±0.06^{Cb}	no growth	no growth	no growth
			25	2.09±0.09^{Ba}	3.06±0.12^{Aa}	3.33±0.06^{Aa}	3.60±0.15^{Cb}	3.85±0.05^{Db}	4.18±0.07^{Cb}	4.45±0.17^{Cb}
			37	1.69±0.16^{Aa}	3.09±0.09^{Ab}	3.64±0.07^{Ab}	4.10±0.09^{Ab}	4.59±0.12^{Ab}	4.90±0.10^{Cb}	5.27±0.05^{Ac}
6	3	0.05	4	1.35±0.24^{Aa}	2.82±0.15^{Ca}	3.14±0.12^{Ab}	3.45±0.12^{Cb}	4.13±0.13^{Ab}	no growth	no growth
			25	1.94±0.20^{Aa}	3.11±0.10^{Ab}	3.50±0.03^{Ab}	3.82±0.09^{Cb}	4.25±0.10^{Ab}	4.93±0.03^{Cb}	5.37±0.04^{Ac}
			37	1.96±0.15^{Aa}	3.53±0.25^{Ab}	3.76±0.06^{Aa}	3.88±0.06^{Cb}	4.67±0.11^{Ab}	5.93±0.21^{Ac}	6.24±0.14^{Bc}
7.5	3	0.05	4	1.49±0.13^{Aa}	2.80±0.14^{Ca}	3.18±0.03^{Ab}	3.87±0.02^{Cb}	4.31±0.04^{Ab}	4.89±0.06^{Cb}	5.41±0.11^{Ac}
			25	1.96±0.16^{Aa}	3.00±0.11^{Ab}	3.26±0.07^{Ab}	4.05±0.14^{Ab}	4.67±0.32^{Ab}	4.79±0.12^{Cb}	6.28±0.27^{Bc}
			37	1.94±0.20^{Aa}	3.11±0.10^{Ab}	3.47±0.08^{Ab}	4.63±0.14^{Ab}	5.00±0.10^{Bc}	5.31±0.07^{Ac}	6.46±0.05^{Bc}

Different letters (a, b, c, d, e, f) in each row show a significant difference ($P < 0.05$)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.52547/fsct.17.103.1]

اگرچه خروج مقادیر مشخص از مواد داخلی باکتری می‌تواند برای سلول قابل تحمل باشد، اما خروج مقادیر زیاد محتویات سلولی و یا خروج مولکول‌ها و یون‌های حیاتی سبب مرگ سلول می‌شود و از این رو عمل بازدارندگی بر رشد میکروارگانیسم‌ها اعمال می‌گردد [30،31]. علت اصلی کاهش بار میکروبی احتمالاً به خاطر عواملی نظیر کاهش فعالیت آب باکتری‌ها، افزایش ویسکوزیته ماده سلولی، خروج گازهای سیتوپلاسمی یا تغییرات pH، تغییر حالت کلوئیدی پروتوپلاسم، افزایش غلظت، الکترولیت‌های سلولی و تغییر ماهیت پروتئین‌های سلولی و جدا شدن لیپوپروتئین‌ها از دیگر ترکیبات داخل سلولی بوده است [32،33]. با توجه به تعداد ترکیبات شیمیایی در اسانس گیاهان، نمی‌توان مکانیسم واحدی برای اثرات ضدباکتریایی آن‌ها در نظر گرفت، بلکه آن‌ها هدف‌های متعددی را در سلول خواهند داشت [۱،۲].

در نمونه‌های توفوی ماهی با 3 درصد نمک رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* پایین‌تر از نمونه‌های با 1/5 درصد نمک بود. به عبارت دیگر 3 درصد نمک در توفوی ماهی می‌تواند رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* را محدود کند، بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده افزایش مقادیر نمک در نمونه‌های توفوی ماهی می‌تواند از رشد میکروبی ممانعت کند. نمک با اتصال به آب آن را از اختیار میکروارگانیسم‌ها خارج می‌کند. به همین جهت می‌توان از طریق اضافه کردن نمک به ماده غذایی و در نتیجه کاهش آب فعال، اثر تخریبی باکتری‌ها را کاهش داد. نمک قادر است از طریق فشار اسمزی، رطوبت را از بافت ماهی خارج نموده و مقدار آب در دسترس را کاهش دهد که این خود نشانه کاهش فعالیت آب خواهد بود [34،35]. به عبارت دیگر به نظر می‌رسد خروج آب، رشد باکتری‌ها و فعالیت آنزیم‌ها را محدود نموده و از این طریق ماندگاری محصول را افزایش می‌دهد، ضمن اینکه نمک در دماهای پایین بر کنترل رشد باکتری موثر است [36،37].

با توجه به نتایج به دست آمده مشاهده می‌شود که هرچه pH نمونه‌های توفوی ماهی پایین‌تر باشد رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* محدودتر شده است. در pH 5/5 با 0/025 و 0/05 درصد اسانس نارنج در نمونه‌های توفوی ماهی عدم رشد باکتری مشاهده شد، اما در pH 6 و 7/5 عدم رشد باکتری وجود نداشت و بالعکس رشد بیش از معمول باکتری‌ها وجود داشت که تعداد *استافیلوکوکوس اورئوس* قابل شمارش نبود.

در فیله ماهی *کپور نقره‌ای*[1] به همراه اسانس *آویشن شیرازی*[2] تغییر چندانی در میزان pH در تیمارهای مورد مطالعه و در طول روزهای مختلف نمونه‌برداری گزارش نشده است، این فاکتور به تدریج تغییر می‌کند و فاکتور مناسبی برای نشان دادن فساد گوشتی نمی‌باشد [38]. کاهش pH ممکن است به دلیل عدم حلالیت دی اکسید کربن در ماهی باشد، به عبارت دیگر افزایش تجمع دی‌اکسیدکربن، سبب کاهش pH می‌گردد [39]. نتایج برخی تحقیقات نشان داد که میزان pH در فیله *قزل‌آلای رنگین‌کمان*[3] در برخی روزها افزایش و در برخی روزها کاهش یافت، اما در طول دوره نگهداری میزان این شاخص در نمونه-های تیمار شده گزارش شد [40،41]. افزایش pH گوشت ماهی در برخی روزهای نگهداری ممکن است به خاطر تولید ترکیبات بازی مانند آمونیاک، تری‌متیل‌آمین‌ها و دیگر آمین‌های بیوژنی باشد که توسط باکتری‌های عامل فساد در ماهی تولید می‌شود. با توجه به نتایج تحقیقات مختلف می‌توان بیان نمود که میزان pH گوشت ماهی می‌تواند بر عملکرد اسانس‌های گیاهی موثر باشد [42].

در دمای 4 درجه سانتی‌گراد در pH 5/5 با نمک 1/5 درصد و اسانس نارنج 0/05 درصد و pH 5/5 با نمک 3 درصد و اسانس نارنج 0/025 و 0/05 درصد در روز دهم و دوازدهم، pH 6 با نمک 3 درصد و اسانس نارنج 0/025 و 0/05 درصد در روزهای دهم و دوازدهم نگهداری، در توفو عدم رشد باکتری مشاهده شد. با توجه به نتایج، با افزایش دمای نگهداری، رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های توفوی ماهی با 0/025 و 0/05 درصد اسانس نارنج افزایش یافت. در دمای 37 درجه سانتی‌گراد افزایش تعداد باکتری در توفوی ماهی نسبت به دمای 4 درجه سانتی‌گراد مشاهده شد، بدیهی است که دمای انجماد و دمای نگهداری در یخچال سبب محدود شدن و متوقف شدن رشد باکتری‌ها شده است [43].

در این پژوهش اسانس گیاه نارنج در سطح 0/05 درصد، نمک 3 درصد و pH 5/5 در دمای 4 درجه سانتی‌گراد قدرت کنترل رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در توفوی ماهی را داشت. اسانس گیاه شلغم اثرات قابل توجهی علیه باکتری‌های گرم مثبت از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس*

1. *Hypophthalmichthys molitrix*
2. *Zataria multiflora*
3. *Oncorhynchus mykiss*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.52547/fsct.17.103.1]

داشته و اثر ضعیف‌تری بر علیه باکتری‌های گرم منفی داشته است [44]. این نتایج در هر دو روش مورد بررسی در این مطالعه قابل مشاهده می‌باشد که علت احتمالی آن با توجه به توضیحات، وجود لیپوپلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی می‌باشد که مانند سدی از عبور مولکول‌های بزرگ و آبگریز ممانعت می‌کند و از آنجایی که اکثر ترکیبات موثر موجود در عصاره‌ها و اسانس‌ها ماهیت آبگریزی دارند لذا می‌توان چنین نتیجه گرفت که این مواد امکان نفوذ و دسترسی به نقاط فعال داخل باکتری‌های گرم منفی را ندارند و به همین دلیل معمولا باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت مقاومت بیشتری نسبت به ترکیبات گیاهان نشان می‌دهند [45]. اگرچه بروز فعالیت ضدمیکروبی اغلب بسیار واضح است، اما مکانیزم عمل آن به طور کامل درک نشده است. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد اسانس‌ها اثر ضد میکروبی خود را از طریق تغییر ساختار و عمل غشای سلولی اعمال می‌کنند. بررسی‌های صورت گرفته در خصوص مکانیزم عمل اسانس‌ها اثبات نموده که این ترکیب‌ها نفوذپذیری غشاء را افزایش می‌دهند. اجزای اسانس با نفوذ در غشاء منجر به متورم شدن غشا شده و فعالیت آن را کاهش می‌دهد و در نهایت منجر به مرگ سلول خواهد شد [46،47].

نتایج بررسی بار میکروبی کل نشان داد که اسانس گیاه نارنج قدرت کنترل رشد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* در توفوی ماهی را داشت. به نظر می‌رسد حضور اسانس نارنج نفوذپذیری به گاز دی‌اکسیدکربن را کاهش داده و متعاقبا باعث افزایش غلظت گاز دی‌اکسیدکربن pH در بسته‌بندی شده است که این افزایش غلظت گاز با کاهش همراه است که می‌تواند بر روی کاهش فلور میکروبی گوشت نیز مؤثر باشد [48]. به طور کلی جمعیت میکروبی گوشت ماهی به دلیل عوامل محدودکننده حاصل از رشد خود باکتری‌ها بیشتر از حد Log 8 CFU/g افزایش نمی‌یابد، لذا استاندارد حد مجاز مجموع بار میکروبی Log CFU/g 7 تعیین شده است [49،50] که در این تحقیق به جز در روزهای 8 و 12 که رشد بیش از حد وجود داشت، در همه تیمارها رشد باکتری‌ها کمتر از Log CFU/g 7 به دست آمد.

4- نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش تاثیر دما، pH، نمک، اسانس نارنج و بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته در کنترل *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که کارن موجود در اسانس بیشترین ترکیب را به خود اختصاص داد. با افزایش دما و pH، افزایش رشد باکتری مشاهده گردید، اما با افزایش نمک کاهش رشد باکتری دیده شد. در دمای 4 درجه سانتی‌گراد، اسانس نارنج در سطح 0/05 درصد، نمک 3 درصد و pH 5/5 کمترین رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در توفوی ماهی طی 8 روز مشاهده شد.

5- قدردانی

این مقاله از طرح پژوهشی درون دانشگاهی تحت عنوان" مطالعه تاثیر دما، pH، نمک، اسانس نارنج، آرد بلوط و بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته در کنترل عوامل بیماری‌زای فرآورده‌های گوشتی و شیلاتی" استخراج شده و هزینه‌های آن توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز تامین گردیده است که بدین وسیله قدردانی می‌گردد.

6- منابع

[1] Shahnia, M. and Khaksar, R. 2013. Antimicrobial effects and determination of minimum inhibitory concentration (MIC) methods of essential oils against pathogenic bacteria. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology. 7 (5): 949-955.

[2] Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. International journal of food microbiology. 94 (3): 223-253.

[3] Cagri, A., Ustunol, Z. and Ryser, E.T. 2004. Antimicrobial edible films and coatings. Journal Food Prot. 67 (4): 833-848.

[4] Berkel, B.M., Boogaard, B.V. and Heijnen, C. 2004. Preservation of Fish and Meat. Guijt J, Kat-Reynen C, translators. Goffau-

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.52547/fsct.17.103.1]

with plant essential oils, salt and acetic acid for controlling *Listeria monocytogenes* in the liquid and chicken model *Hypophthalmichthys molitrix*. Journal of Aquatic Physiology and Biotechnology. 4 (4) : 110-89.

[16] Azizkhani, F. and Toryan, F. 2016. Effect of Carum Copticum on growth and expression of A and *Staphylococcus aurous* in Surimi in *Cluienella cultriventriscaspia*. Journal of Fisheries Science and Technology. 5 (1): 152-141.

[17] Cai, L., Cao, A., Li, T., Wu, X., Xu, Y. and Li, J., 2015. Effect of the fumigating with essential oils on the microbiological characteristics and quality changes of refrigerated turbot *Scophthalmus maximus* fillets. Food Bioprocess Technology, 8: 844-853.

[18] Van Haute, S., Raes, K., Van der Meeren, P. and Sampers, I., 2016. The effect of cinnamon, oregano and thyme essentialoils in marinade on the microbial shelf life of fish and meat products. Food Control. 68: 30-39.

[19] Razavi Rouhani, S.M., Moradi, M. and Mehdizadeh, T. 2011. Antibacterial effects of Nissin and onion essential oils under different concentration of salt and pH on *Listeria monocytogenes* in laboratory conditions. Journal of Food Health. 1 (3): 33-25.

[20] Mousavi, Ms. and Shah Weysi, N. 2015. Effect of temperature, salt concentration and pH on nicine anti-litter properties. Journal of Food Science and Technology Researches of Iran. 11 (2): 211-217.

[21] Ammar, AH., Lebrihi, A., Mathieu, F., Romdhane, M. and Zgrouba, F. 2012. Chemical composition and invitro antimicrobial and antioxidant activities of *Citrus aurantium* L. flowers essential oil. Biological Sciences. 15 (21): 1034-1040.

[22] Sparkman, O.D. 2005. Identification of essential oil components by gaschromatography /quadrupole mass spectroscopy Robert P. Adams. Journal ofthe American Society for Mass Spectrometry. 16 (11): 1902-1903.

[23] Mileski, K., Dzamic, A., Ciric, A., Grujic, S., Ristic, M., Matevski, V. and Marin, P. 2014. Radical scavenging and antimicrobial activity of essential oiland extracts of Echinophora sibthorpiana Guss.From Macedonia. Archives of Biological Sciences. 66 (1): 401-413.

Markusse M, editor. Wageningen: Agromisa Foundation, pp. 16-8.

[5] Boskovic, M., Djordjevic, J., Ivanovic, J., Janjic, J., Zdravkovic, N., Glisic, M., Glamoclija, N., Baltic, B., Djordjevic, V. and Baltic, M. 2017.Inhibition ofSalmonellaby thyme essential oil and its effect onmicrobiological and sensory properties of minced pork meat packaged undervacuum and modified atmosphere. International Journal of Food Microbiology. 258: 58-67.

[6] Tauxe, R.V. 2002. Emerging food borne pathogens. International Journal of Food Microbiology. 78: 3-41.

[7] Venugopal, V. 2005. Seafood Processing. Taylor and Francis Group Publidher.504 p.

[8] Ghaseminezhad, A., Fazlara, A. and Rahimi, E. 2016. The growth modelling of Escherichia coli in commercial chicken meat extract affecting by temperature and pH factors. Journal of Food Microbiology. 3 (1): 73-84.

[9] Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y., Chi, Y. 2009. Effects of chitosan coating on quality and shelf-life of silver carp during frozen storage, Food Chemistry. 115: 66–70.

[10] Daneshmandi, S., Soleimani, N., Pourfathollah, A.A. and M. Sattari, M. 2010. Evaluation of the drug synergistic and antibacterial effects of *cuminum cyminum* essential oil. Arak Medicine University Journal. 13: 75–82.

[11] Erturk, O. 2006. Antibacterial and antifungal activity of ethanol extracts from eleven spice a.plants. Section Cellular and Molecular Biology. 61 (3): 275-278.

[12] Bakhshi, F., Mirzai, H. and Asefi, N. 2016. Antimicrobial effect of basil essential oil on Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Rhododendralarabra yeast. Journal of Food Microbiology. 3 (4): 81-73.

[13] Ayyoubi Nejad, L., Nazari, H. and Mohammadi Sani, A. 2016. Study of Antibacterial and Synergistic Effects of Digestive Nervosa and Antibiotic Ciprofloxacin on *Staphylococcus aurous*. Journal of Food Microbiology. 3 (1): 31-25.

[14] Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A. and Cliver, D.O., 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control, 21: 1199–1218.

[15] Ojagh, S.M., Abdollah Zadeh, A., Shabanpour, B., Kordjezi, M. and Khosravi Castle, R. 2016. Efficiency of active substances produced from *Lactococcus lactis*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.52547/fsct.17.103.1]

properties of fish pulp produced from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in a refrigerator -18° C. Journal of Fisheries. 3 (2): 56-45.

[34] Hadizadeh, Z., Moreki, N. and Moeini, S. 2014. The Effect of Salt Profit on *Scomberoides commersonnianus* survival time. Iranian Journal of Fisheries Science. 23 (3): 139-129.

[35] Rodrigues, M.J., Ho, P., Lpez-Caballero, M.E., Vaz-Pires, P. and Nunes, M.L. 2003. Characterization an identification of microflora from soaked cod and respective salted raw materials. Food Microbiology. 20: 471–481.

[36] Soleimani, A., Varidi, M.J., Sadeghi Mahounk, A.S. and Nasiri Mahallati, M. 2012. Investigation of chemical composition of poison fish and assessment of moisture and salt changes of the tissue by salt and drying methods. Journal of Food Science and Technology of Iran. 8 (2): 120-115.

[37] Lakshmanan, R., Shakila, R.J. and Jeyasekaran, G. 2002. Changes in the halophilic amine forming bacterial flora during salt-drying of sardines (*Sardinellla gibbosa*). Food Research International. 35: 541–546.

[38] Choobkar, N., Akhondzadeh Basti, A., Sary, A., Gandomi, H. and Imami Rad, A.M. 2012. Examination of the Effect of Zataria Multiflora Boiss and Nissin on the Quality Control of *Hypophthalmichthys molitrix* salmon fillets. Journal of Medicinal Plants. 11 (2): 215-205.

[39] Fan, W., Chi, Y. and Zhang, S., 2008. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmicthys molitrix*) during storage in ice. Food Chemistry. 108: 148–153.

[40] Rezaeian, H., Hosseini, S.V., Motalebi Moghangouei, A.A. and Mirvaghefi, A.R. 2014. Effect of Holocuria leucospilota extract on the quality of rainbow trout fillet (*Oncorhynchus mykiss*) during storage in a refrigerator (1±4° C). Journal of Exploitation and Aquaculture. 3 (3): 36-27.

[41] Etemadi, H., Rezaei, M. and Abediyan, A. 2008.Anti-bacterial and antioxidant potential of extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on the shelf-life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal Food Science. 5: 67-77.

[42] Tassou, C., Koutsoumanis, K. and Nychas, G.J.E. 2000. Inhibition of

[24] Ketnawa, S., Benjakul, S., Martinez-Alvarez, O. and Rawdkuen, S. 2016. Physical, chemical, and microbiological properties of fish tofu containing shrimp hydrolysate. Fish Science. 82: 379-389.

[25] Pasbani, E. and Amiri, S. 2017. Evaluating the Effect of Aleo Vera Gel Coating and Solid Lipid Nano-particles Containing Thymol Seed (*Carum Copticum*) Essential Oil on Shelf Life of Fresh Beef . Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology. 12 (2): 75-86.

[26] Hashemi, M., Ehsani, A., Jazani, N.H., Aliakbarlu, J. and Mahmoudi, R. 2013. Chemical composition and in vitro antibacterial activity of essential oil and methanol extract of Echinophora platyloba DC against some of food borne pathogenic bacteria. Veterinary Research Forum. 4 (2): 123127.

[27] Hashemi, Z., Hojjati, M. and Tahanezhad. 2015. Study of antioxidant activity of *Citrus aurantium* essential oil in comparison of synthetic antioxidant TBHQ in edible oil. New Food technologies. 8: 18-27.

[28] Mosaddegh, M., Kamalinezhad, Dehmobedsharifabadi, A. and Esfahani, B. 2004. Evaluation and comparison of volatile oil from leaves of three orange, lemongrass and tangerine plants. Medicinal Plants. 11: 25-30.

[29] Trabelsi, D., Ammar, A.H., Bouabdallah, F. and Zagrouba, F. 2014. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oils and metabolic extracts of Tunisian *Citrus aurantium* L. Journal Environmental Science Toxicology and Food Technology. 8 (5): 18-27.

[30] Afsharian Torghabeh, S., Sheikholeslami, Z. And Ataee Salehi, A. 2016. Effect of essential oil of orange peel as a natural preservative on rheological, sensory and microbial characteristics of oily cake. Journal of Food Science and Technology. 13 (50): 143-133.

[31] Pauli, A. 2006.α-Bisabolol from chamomile-A specific ergostrol biosynthesis inhibitor. Journal of Aromatherapy. 16: 5-21.

[32] Moeini, S. And Farzanfar, A. 2005. Investigating the possibility of producing a burger snake from the Persian Gulf shark. Iranian Agricultural Science. 36 (6): 1151-1143.

[33] Gharagozlou, S.A. and Moeini, S. 2009. Review of chemical changes and sensory

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.52547/fsct.17.103.1]

[47] Bezic, N. and Skobibunic, V. 2002. Composition and antimicrobial activity of *Tanacetum parthenium* L. essential oil. Journal of Ethnopharmacoloy. 74(1): 123-134.

[48] Majnooni, M.B., Mansouri, K., Gholivand, M.B., Mostafaie, A., Mohammadi-Motlagh, H.R., Afnanzade, N.S., Abolghasemi, M.M. and Piriyaei, M. 2012. Chemical composition, cytotoxicity and antioxidant activities of the essential oil from the leaves of *Citrus aurantium* L. African Journal of Biothecnology. 11(2): 498-503.

[49] Raeisi, S., Sharifi-Rad, M., Young Quek, S., Shabanpour, B. and Sharifi-Rad, J. 2016.Evaluation of antioxidant and antimicrobial effects of shallot (*Allium ascalonicum* L.) fruit and ajwain (*Trachyspermum ammi* (L.) Sprague) seed extracts in semi-fried coated rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) fillets for shelf-life extension. LWT - Food Science and Technology. 65: 112-121.

[50] De Quadros, D.A., Rocha, I.F.O., Ferreira,S.M.R. and Bolini, H.M.A. 2015. Lowsodium fish burgers: Sensory profile anddrivers of liking. Food Science and Technology. 63: 236-242.

Salmonella entritidis and*Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mintessential oil.International Journal of Food Research. 33: 273-380.

[43] Ross, T., Dalgaard, P. and Tienungoon, S. 2000. Predictive modeling of the growth and survival of Listeria in fishery products. International Journal of Food Microbiology. 62: 231–245.

[44] Behnam, Kh., Mohammadi Sani, A. and Ismailpour, M., 2017. Determination of chemical composition and antimicrobial properties of essential oil of Shirazi turnip root in laboratory conditions. Journal of Food Microbiology. 3 (3): 40-31.

[45] Alizadeh, H., Qayyami Rad, M. and Ebrahimi Asl, S. 2013. Antibacterial effect of alcoholic extract of turnip on a number of pathogenic bacteria. Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences. 35 (6): 79-74.

[46] Izadi, Z., Modarres Sanevi, S.M.A., Soroushzadeh, A., Asna Ashari, M. and Davoudi, P. 2013. Antimicrobial effect of essential oils of German herbs and chamomile. Journal of Armageddon Science. Yasuj University of Medical Sciences. 18 (1): 43-31.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.52547/fsct.17.103.1]

Antimicrobial effect of *Citrus aurantium* essential oil, modified atmosphere packaging in controlling *Staphylococcus aurous* in tofu fish during 12 days of storage

Roomiani, L. [1*], Tadayoni, M. [2]

1. Department of Fisheries, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran
2. Department of Food Science and Technology, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

(Received: 2019/02/20 Accepted: 2020/02/15)

The aim of this study was to determine the effect of temperature, pH, salt, *citrus aurantium* L. and modified atmosphere packaging (50% carbon dioxide, 45% nitrogen and 5% oxygen) on control of *Staphylococcus aurous* in fish tofu of type. Descriptive-analytic study was carried out in the year of 2017-2018. In this research, pH was 5.5, 6 and 7.5, and temperature was 4, 25 and 37 ° C, salt at 0, 1.5 and 3%, and orange essential oil at 0.025 and 0.05% was considered. According to the results, it is found that the lower the pH of the tofu samples is lower, *Staphylococcus aureus* is more restricted. For example, at pH 5.5 with 0.025 and 0.05% of orange essential oil in tofu samples, bacteria did not grow, but at pH 6 and 7.5 there was no growth of bacteria and growth was more than usual. There was an enormous increase in *Staphylococcus aurous* at pH 7.5 with 1.5% salts and orange essential oil 0.025% at temperatures of 4, 25 and 37 ° C. Increasing temperature to 25 ° C and 37 ° C, as well as at pH 5.5, 6 and 7.5, the growth of *Staphylococcus aurous* in tofu fish has been increased. In this study, the essential oil of orange herb was stored at 0.05 % at 4 ° C, 3% salt and pH 5.5, to control the growth rate of *Staphylococcus aurous* in tofu fish for 8 days.

Keywords: Fish tofu, Modified atmosphere packaging, *Citrus aurantium* L. essential oil, *Staphylococcus aureus*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[DOI: 10.52547/fsct.17.103.1]

* Corresponding Author E-Mail Address: l.roomiani@yahoo.com