

تأثیر دما، pH، نمک، اسانس برگ نارنج و بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته در کنترل باکتری *Salmonella typhimurium* در برگ کپور نقره‌ای

لاله رومیانی^{*}^۱، مهرنوش تدینی^۲

^{*}l.roomiani@yahoo.com

۱- گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

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

تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۷

چکیده

این پژوهش با هدف تاثیر دما، pH، نمک، اسانس نارنج (*Citrus aurantium* L.) و بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته (۰ درصد دی اکسید کربن، ۴۵ درصد نیتروژن و ۵ درصد اکسیژن) در کنترل باکتری *Salmonella typhimurium* در برگ کپور نقره‌ای در سال ۱۳۹۶-۹۷ انجام شد. در این پژوهش pH در سطح ۵/۵، ۶ و ۷/۵، دما در سه سطح ۴، ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد، نمک در سه سطح ۰، ۱/۵ و ۳ درصد و اسانس نارنج در سطح ۰/۰۲۵ و ۰/۰۵ درصد در نظر گرفته شد. روند رشد این گونه در برگ در pH ۵/۵، ۶ و ۷/۵ در دمای ۴، ۳۵ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد طی ۱۲ روز نگهداری افزایش یافت. در pH ۷/۵ با نمک ۱/۵ درصد و ۳ درصد و اسانس نارنج ۰/۰۲۵ درصد و ۰/۰۵ درصد در دمای ۴، ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد در روزهای ششم، هشتم، دهم و دوازدهم رشد باکتری *S. typhimurium* در pH ۶ با نمک ۱/۵ درصد و اسانس نارنج ۰/۰۲۵ درصد در روزهای هشتم، دهم و دوازدهم در دمای ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد رشد این باکتری زیاد بود. در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در pH ۵/۵ با نمک ۱/۵ درصد و اسانس نارنج ۰/۰۵ درصد، pH ۵/۵ و ۶ با نمک ۳ درصد و اسانس نارنج ۰/۰۵ درصد، pH ۵/۵ با نمک ۳ درصد و اسانس نارنج ۰/۰۲۵ درصد در روزهای هشتم، دهم و دوازدهم عدم رشد باکتری *S. typhimurium* مشاهده گردید. اسانس گیاه نارنج در سطح ۰/۰۵ درصد در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، نمک ۳ درصد و pH ۵/۵ قدرت کنترل رشد باکتری *S. typhimurium* را در برگ ماهی داشت.

واژگان کلیدی: برگ ماهی، اتمسفر تغییر یافته، اسانس نارنج (*Citrus aurantium* L.), *Salmonella typhimurium*

*نویسنده مسئول

مقدمه

می تواند بهداشت انسان ها را به مخاطره اندازد (WHO, 2002). فاکتور مهمی که به ارگانیسم های بیماری زای منتقله از طریق غذا نسبت داده می شود، رشد آنها در دمای یخچال است (Winkler *et al.*, 2010). غذاهای دریابی یکی از ۴ گروه عمده مواد غذایی هستند که مسئول خطرات عمده بیماری های انتقال یافته از طریق مواد غذایی می باشند (Liu *et al.*, 2016).

به طور کلی، نگهدارنده ها و ضد میکروب های طبیعی فرصت بسیار مطلوبی برای ترکیب با سایر سیستم های نگهدارنده را بوجود آورده اند. برای مثال، اسانس پونه کوهی در ترکیب با بسته بندی اتمسفر تغییر یافته، تولید یک سیستم ممانعتی ترکیبی در نگهداری گوشت و طولانی شدن ماندگاری آن در مقایسه با بسته بندی به تهایی کرده است (Zhou *et al.*, 2010). این روش زمانی موثرتر است که ترکیبات ضد میکروبی طبیعی با نگهدارنده های غذایی مرسم برای کاهش استفاده از مواد شیمیایی در واکنش به تقاضای مصرف کننده ها مورد استفاده قرار گیرند. اثر ترکیبات مختلف اسانس ها یا اجزای فعال آنها با سایر مواد ضد میکروبی مورد بررسی قرار گرفته است (Vernam & Evans, 1991).

گیاهان با پتانسیل دارویی و ارزش های درمانی، به طور موفقیت آمیزی برای بیماری های منتقل شده از طریق غذا بکار می روند. این پتانسیل به طور عمده به وجود ترکیبات فوتoshیمیایی (بیواکتیو) است. بعضی از مزایای استفاده از ترکیبات گیاهی شامل وابستگی کمتر به آنتی بیوتیک ها، کاهش مقاومت دارویی میکروار گانیسم ها به آنتی بیوتیک ها، کنترل آلودگی های ناشی از میکروار گانیسم های منتقله از طریق غذا، بهبود تکنولوژی های نگهداری غذا و تقویت سیستم ایمنی انسان می باشند (Zaouali *et al.*, 2010; Hwanhlem *et al.*, 2015). محصولات ثانویه گیاهان مانند روغن های فرار و فلاونوئیدها برای انجام فعالیت های ضد قارچ، ضد باکتری و سیستوتوكسیک به طور گستره ای مورد مطالعه قرار می گیرند. ویژگی آنتی اکسیدان روغن های فرار گیاهان دارویی از طریق روش های فیزیکی - شیمیایی مورد توجه قرار گرفته است تا کاربرد آن ها را به عنوان نگهدارنده های طبیعی غذا ترویج دهند (Tajkarimi *et al.*, 2010; Fournomiti *et al.*, 2015).

ماهی یکی از فساد پذیرترین مواد غذایی بشمار می آید و از گوشت قرمز قابلیت فساد پذیری بیشتری دارد (رضوی شیرازی، ۱۳۸۰). بالا بودن میزان آب، بالا بودن میزان اسید آمینه های آزاد، کمتر بودن بافت های پیوندی، داشتن مقدار بیشتر اسیدهای چرب غیر اشباع و فعالیت های آنزیمی بیشتر، از جمله عوامل موثر در فساد سریع تر ماهی در مقایسه با سایر غذاهای گوشتی است (فهیم دژبان، ۱۳۸۷). چنانچه بلا فاصله پس از صید و مرگ ماهی به صورت مناسبی نگهداری آنها صورت نگیرد، به دلیل تغییرات سریع بیوشیمیایی و آنزیمی در ماهیچه های آنها و فعالیت های میکروبی بسرعت تجزیه و فساد در آنها گسترش می یابد (Rohbein & Oehlenschlager, 2009; Van Haute *et al.*, 2016).

بیماری های شایع از طریق غذا حدود ۲۵۰ نوع می باشند. باکتری ها مسئول ۳۰ درصد بیماری های منتقله از طریق غذا هستند و ۷۲ درصد آنها منجر به مرگ می شوند. لیستریا مونوسیتوئن (۲۸ درصد)، اشريشیا کلای (۳ درصد) و گونه های سالمونلا (۳۱ درصد) مسئول بیشترین تعداد بیماری های مذکور هستند (Ross *et al.*, 2000; Meira *et al.*, 2017). در سراسر جهان، بیماری های قابل انتقال از طریق غذا و بویژه بیماری های دستگاه گوارش مهم ترین عوامل مرگ و میر بشمار می آیند (Rozman & Jersek, 2009; Cai *et al.*, 2015). در سال های اخیر، اپیدمیولوژی بیماری های انتقالی از طریق غذا به صورت عوامل عفونی جدیدی که ظهور می کنند، تغییر یافته است. بیماری های نوظهور^۱ آن دسته از بیماری هایی هستند که در دهه های اخیر یا در آینده نزدیک شیوع آنها افزایش می یابد (Sobrino-Lopez & Martin-Beloso, 2008).

هر چند باکتری های بیماری زای ذاتی در محصولات شیلاتی تازه در سطوح کم یافت می شوند و زمانی که این محصولات قبل از مصرف پخته شوند و آلودگی اتفاق نیافتد، خطرات امنیت غذایی ناچیز می شوند، اما احتمال رشد سطوح بالای چنین باکتری هایی می تواند سبب بیماری در انسان شود (Tauxe, 2002). افزایش شیوع بیماری های منتقل شده از طریق غذا، سبب افزایش توجه و نگرانی در مورد میکروار گانیسم های بیماری زا و فاسد کننده غذا شد. رشد میکروب ها در ماهیان تازه

^۱ Emerging diseases

سانتی گراد بسته‌بندی به همراه اسانس توانست رشد باکتری را کنترل کند (Mahgoub *et al.*, 2019). هادی زاده و همکاران (۱۳۹۳) اثر نمک سودکردن را بر زمان ماندگاری ماهی سارم دهان بزرگ مطالعه کردند و به این نتیجه رسیدند که در طول دوره آزمایش، میزان پراکسید کاهش و مقدار N-TVBN افزایش یافت، ولی در مجموع نتایج آنالیز حسی امتیاز بالای (۶/۶) را به فیله‌های نمک سود شده نسبت به تیمار شاهد (۴/۸) داد. لطیفی و همکاران (۱۳۹۸) تغییرات فیزیکوشیمیابی، میکروبی و حسی بر فیله‌های فیل ماهی دودی شده با آب نمک و سس را مورد مطالعه قرار دادند. آنها با این روش توانستند ۲۰ روز ماندگاری فیله‌ها را افزایش دهند.

اثر عصاره آویشن شیرازی بر ماندگاری فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان شور و بسته‌بندی شده در خلاء در شرایط یخچال مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد عصاره در ترکیب با بسته‌بندی توانست ۵ روز ماندگاری را نسبت به تیمار بدون عصاره افزایش دهد (شعبانپور و همکاران، ۱۳۹۰). در گوشت‌های بسته‌بندی شده فاکتورهای موثر و ضروری در رفتار رشد باکتری لیستریا مونوسیتوژن دما، pH، نوع بافت (کم‌چرب یا پر‌چرب) می‌باشد (Grau & Vanderlinde, 1990a, b).

در این مطالعه سعی بر آن شد که با توجه به فاکتورهای موثر در رشد باکتری و استفاده از راه حل‌های مناسب برای کنترل آن ماند بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته در ترکیب با اسانس بتوان ماندگاری و ایمنی محصولات شیلاتی را افزایش داد. از این‌رو، این تحقیق با هدف تاثیر دما، pH، نمک، اسانس برگ نارنج و بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته در کنترل باکتری *Salmonella typhimurium* در برگ‌کپور نقره‌ای انجام شد.

روش کار

نمونه‌های برگ نارنج در سال ۹۶-۹۷ 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 کاملاً آسیاب و با استفاده از یک دستگاه کلونجر (مدل ۱۰-۸۵۰۰۰ ساخت ایران) به مدت ۳ ساعت روغن فرار آن به روش تقطیر توسط آب استخراج گردید. پس از آبگیری توسط سولفات سدیم خشک، تا هنگام تعیین خواص ضد باکتریایی و همچنین تشخیص و تعیین ترکیب‌های

اجاق و همکاران (۱۳۹۵) کارایی اسانس پونه کوهی (*Origanum vulgare*)، مرزنجوش (*Anethum graveolens*) و شوید (*majorana*) را جهت کنترل گونه *Listeria monocytogenes* در گوشت چرخ شده کپور نقره‌ای (*Hopophthalmichthys molitrix*) بررسی کردند. تأثیر اسانس زنیان (*Carum copticum*) بر رشد *Staphylococcus aureus* در سوریمی ماهی کیلکا زنیان (Clupeonella cultriventris caspia) نشان داد که اسانس زنیان ترکیب موثری جهت کاهش سرعت رشد *Staphylococcus aureus* و کاهش تولید انتروتوكسین‌های ناشی از آن در سوریمی ماهی کیلکا می‌باشد (عزیزخانی و توریان، ۱۳۹۵). تأثیر اسانس‌های گیاهی گل میخک، زیره و زیتون بر تغییرات میکروبی فیله ماهی توریوت گروه شاهد نشانه‌هایی از فساد به میزان آستانه برای همه پارامترهای ارزیابی شده بود (Van Haute *et al.*, 2015).

و همکاران (۲۰۱۶) تأثیرات ضدمیکروبی اسانس دارچین، پونه کوهی و آویشن در ماریناد ماهی و گوشت قرمز را بررسی کردند. رشد کپک‌ها و مخرم‌ها بوسیله اسانس دارچین مهار شد. اسانس‌های گیاهی مورد مطالعه سبب ممانعت رشد میکروبی در فرآورده‌های ماهی شد. اسانس اسطوخودوس (*Allium Trachyspermum ammi*) و زنیان (*ascalonicum*) در فیله سرخ شده قزل‌آلای (*Oncorhynchus mykiss*) توانستند به عنوان نگهدارنده‌های طبیعی برای افزایش ماندگاری محصولات شیلاتی استفاده شوند (Raeisi *et al.*, 2016).

همچنین Meira و همکاران (۲۰۱۷) توانستند با استفاده از ترکیب اسانس‌های گیاهی رشد اشريشياکلاي در سوسیس‌های تخمیری خشک شده ماهی را کنترل کنند. ارزیابی لیستریا مونوسیتوژن تحت بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته و باکتری اسیدلاکتیک در محصولات گوشتی دودی شده انجام شد و به این نتیجه رسیدند که ترکیب باکتری اسیدلاکتیک با بسته‌بندی اثر قوی بر کاهش رشد باکتری داشت (Mahgoub *et al.*, 2019). استفاده از بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته و اسانس آویشن به همراه دمای سرد جهت غیرفعال کردن باکتری لیستریا مونوسیتوژن در گوشت بوقلمون آماده مصرف مورد مطالعه قرار گرفت و ثابت شد که در دمای ۰-۵ درجه

دستگاه قالبزنی دستی به ضخامت ۱ سانتی‌متر و قطر ۸ سانتی‌متر برگ‌های تهیه شدند. در ترکیب تمامی برگ‌ها ۷۵ گرم گوشت ماهی، ۶ گرم پیاز، ۰/۱ گرم پودر سیر، ۲ گرم سفیده تخم مرغ، ۰/۵ گرم رونگ، ۵ گرم سویا، ۱/۵ یا ۳ گرم نمک و ادویه، ۳/۲۵ گرم رب گوجه فرنگی، ۰/۱۵ گرم آبلیمو و ۶/۵ گرم پودر نان استفاده شد (علیزاده و رومیانی، ۱۳۹۶)، برگ‌ها به مدت ۱ دقیقه در دمای اتاق در محلول‌های اسانس گیاه نارنج غوطه‌ور شدند. سپس آنها را از محلول خارج کرده و به مدت ۳۰ ثانیه اجازه داده شد تا آبچک شوند و بعد از آن به مدت ۳۰ ثانیه در محلول ۲ درصد کلرید کلسیم در دمای اتاق غوطه‌ور شدند (Rojas-Grau *et al.*, 2007). جهت بسته‌بندی از روش بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته (۵۰ درصد دی‌اکسید کربن، ۴۵ درصد نیتروژن و ۵ درصد اکسیژن) توسط دستگاه بسته‌بندی هنکلمن مدل A200 ساخت کشور هلند با ترکیب گازی مشخص شده انجام شد. ظروف بسته‌بندی ۵ لایه بوده که شامل ۲ لایه پلی‌اتیلن، دو لایه پلی‌آمید و ۱ لایه چسب با ضخامت ۰/۰ میکرون بودند. برای سنجش و کنترل pH مقدار ۵ گرم از هر یک از نمونه‌ها پس از آماده شدن به همراه ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر در یک بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری توسط همزن برقی به طور کامل هموزن گردید و سپس pH نمونه‌ها با دستگاه pH متر دیجیتالی مدل Metrohm 713 اندازه‌گیری شد (Fan *et al.*, 2009). نمونه‌های برگ برای کنترل دما در دستگاه اتوکلاو در سه دمای ۴، ۲۵ و ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (پاسبانی و امیری، ۱۳۹۶). سویه استاندارد و لیوفیلیزه باکتری سالمونولا تیفی‌موریوم از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند. محیط کشت افتراقی سالمونولا تیفی‌موریوم (Triple Sugar Iron Agar) TSI بود. آمپول لیوفیلیزه باکتری ابتدا در شرایط استریل باز و سپس به محیط کشت مایع TSB 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 دواره به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. تعداد باکتری‌ها در مایع زیرین توسط روش کدورت‌سنجدی در طول موج ۵۷۰ نانومتر بدست آمد بطوریکه جذب نوری ۱۰۰-۰/۱۰ تقریباً معادل 1×10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر در نظر گرفته شد. به نمونه‌های

تشکیل دهنده، اسانس در ظروف شیشه‌ای تیره و در یخچال نگهداری شد (Sparkman, 2005). جهت سنجش و شناسایی ترکیبات اسانس برگ نارنج از دستگاه کروماتوگراف گازی (مدل Agilent-6890) ساخت شرکت Agilent (آمریکا)، مجهز به دریچه تزریق کاپیلاری، ستون کاپیلاری ویژه تجزیه اسانس‌ها و رونگ‌ها، دکتور یونش شعله‌ای استفاده گردید. دمای آشکارساز و محل تزریق بترتیپ بر ۱۶۰ و ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. ۱ میکرولیتر از نمونه اسانس با استفاده از سرنگ میکرولیتری به دستگاه کروماتوگراف تزریق شد. دمای اولیه ستون روی ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. بعد از مدت ۱۰ دقیقه، دمای ستون با سرعت ۲ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد رسانده شد و به مدت ۷۵ دقیقه دما در این درجه باقی ماند. در این روش از گاز هلیوم با خلوص ۹۹/۹۹ درصد به عنوان گاز حامل و گاز هیدروژن به عنوان سوخت، ازت با خلوص ۹۹/۹۹ درصد به عنوان گاز کمکی و هوای خشک استفاده شد. از مقایسه زمان بازداری کروماتوگرام‌های نمونه مجھول با کروماتوگرام‌های بدست آمده از محلول استاندارد اسانس‌های موجود در برگ گیاه نارنج شناسایی شدند و نتایج به صورت درصد گزارش گردید (Mileski *et al.*, 2014).

در این پژوهش انتخاب تیمارها بر اساس تجربیات نتایج مطالعات گذشته بود. pH در سطوح ۵/۵، ۶، ۷/۵ و ۸ در سه سطح ۳/۷، ۲/۵ و ۴ درجه سانتی‌گراد، نمک در سه سطح ۱/۵ و ۳ درصد و اسانس نارنج در سطوح ۰، ۰/۰۲۵ و ۰/۰۵ درصد در برگ کپور نقره‌ای در نظر گرفته شد. برای تهیه برگ، پس از تهیه ماهیان، قطع سر و تخلیه امعاء و احتشاء انجام و شستشوی آنها چندین بار صورت گرفت. گوشت ماهی با استفاده از دستگاه استخوان‌گیر (مدل ۱۰۰۰s ساخت ایران)، از پوست و استخوان جدا شد. برای کاهش بو و طعم، گوشت ماهی با محلول آب نمک ۰/۳ درصد سرد به نسبت ۴:۱ (چهار ماهی با دستگاه چرخ قسمت ماهی) شستشو گردید. فیله ماهی با دستگاه چرخ گوشت با منافذی به قطر ۳ میلی‌متر چرخ شد. برای تولید این محصول خمیر ماهی را با مواد افزودنی لازم در دستگاه برش یا مخلوط‌کن مخلوط نموده، سپس خمیر فرآوری شده به شکل گرد خارج شد. ضخامت برگ معمولاً در حدود نیم سانتی‌متر و قطر آن کمتر از ۱۰ سانتی‌متر بدست آمد. سپس با استفاده از

نتایج

ترکیبات تشکیل دهنده اسانس برگ گیاه نارنج (*Citrus aurantium*) در جدول ۱ معرفی شده‌اند. بررسی رشد باکتری pH نمک، دما و اسانس برگ نارنج در جدول ۲ ارائه شده است. مقادیر چولگی و کشیدگی و نتایج حاصل از آزمون کولموگراف-اسمیرنف نشان داد که داده‌های رشد باکتری *S. typhimurium* در برگ ماهی نرمال بودند. در نمونه‌های برگ با ۱/۵ درصد نمک در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۰/۰۲۵ درصد اسانس برگ نارنج و $pH = ۵/۵$ در روز دوازدهم تعداد $7/18 \pm 0/03$ Log cfu/g شمارش *S. typhimurium* باکتری شمارش شد. در روز دهم در $pH = ۶$ و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، Log cfu/g شمارش شد. در روزهای صفر، دوم و چهارم در تمامی نمونه‌های برگ در سطوح مختلف اسانس نارنج در ۰/۰۲۵ و ۰/۰۵ درصد، دما (۴، ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد)، نمک (۱/۵ و ۰/۰۵ درصد) و $pH = ۵/۵$ و ۶ سالمونلا تیفی‌موریوم و ۳ درصد) و $pH = ۷/۵$ سالمونلا تیفی‌موریوم شمارش شد. در نمونه‌های برگ با ۳ درصد نمک در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۰/۰۲۵ درصد اسانس برگ نارنج و $pH = ۶$ در روز دوازدهم $6/84 \pm 0/54$ Log cfu/g مشاهده شد. در روز صفر بیشترین باکتری شمارش شده در $pH = ۵/۵$ با ۱/۵ درصد نمک، دما (۲۵ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد) در روز ۰/۰۲۵ درصد اسانس برگ نارنج در ۰/۰۲۵ با ۱/۵ درصد نمک، دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد ۵/۳۱ $\pm 0/۰۸$ Log cfu/g شمارش گردید که بالاتر از سایر سطوح بود. بیشترین باکتری شمارش شده در روز چهارم نیز مربوط به $pH = ۷/۵$ با ۱/۵ درصد نمک، دمای ۰/۰۲۵ درصد اسانس برگ نارنج در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد $6/16 \pm 0/15$ Log cfu/g شمارش شده در $pH = ۵/۵$ و ۶ با ۷/۵ غلظت ۱/۵ و ۳ درصد نمک و مقادیر ۰/۰۲۵ و ۰/۰۵ درصد اسانس برگ نارنج در روزهای ۰، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲ و ۱۴ معنی‌داری داشت ($P < 0.05$), اما تعداد باکتری در روز ۰ در $pH = ۵/۵$ و ۶ با غلظت ۱/۵ و ۳ درصد نمک و مقادیر ۰/۰۲۵ و ۰/۰۵ درصد اسانس برگ نارنج اختلاف معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$). (جدول ۳).

مورد نظر از محصولات میزان $CFU/g = 1 \times 10^4$ از باکتری مورد نظر تلقیح شد. برای تعیین حداقل غلظت مهار اسانس از روش براث میکروولیشن در پلیت‌های میکروتیتر ۹۶ چاهکی با حجم ۳۰۰ میکروولیتری استریل (اکسترائز، امریکا) استفاده شد. در هر چاهک ۱۶۰ میکروولیتر محیط آبگوشت قلب و مغز استریل، ۲۰ میکروولیتر از هر کدام از رقت‌های متوالی اسانس مورد مطالعه و ۲۰ میکروولیتر کشت باکتریایی اضافه گردید. سپس پلیت‌های میکروولیتر به مدت ۳۰ ثانیه با دور ۲۵۰ rpm برای مخلوط شدن در همزن قرار داده شدند. بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری و در دمای ۳۷ 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 ۲۰ میکروولیتر از نمونه در محیط آغاز قلب و مغز، کشت داده و پس از طی ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ 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 رشد باکتری در دمای $pH = ۶$ و غلظت‌های مختلف نمک مورد بررسی قرار گرفت (Hashemi et al., 2013). برای شمارش باکتری از محتويات هر یک از لوله‌های تهیه رقت مقدار ۱/۰ میلی‌لیتر برداشته و در سطح دو پلت بررسی شدند. به منظور ارزیابی رشد باکتری‌ها شمارش کلونی به روش کشت سطحی در محیط آغاز انجام شد. در این مطالعه از شاخص DP استفاده گردید.

$$Log DP = \log N/N_0 = \log (N) - \log (N_0)$$

در این پژوهش همه آزمایش‌ها با ۴ تکرار انجام شد. نتایج حاصل از این تحقیق با استفاده از نرمافزار آماری SPSS20 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. میانگین داده‌ها به منظور مقایسه اختلاف معنی‌دار با ضریب اطمینان ۹۵ درصد ($P=0.05$) با استفاده از آنالیز واریانس چندطرفه (ANOVA) و آزمون دانکن (Duncan test) انجام شد. نرمال بودن داده‌ها به کمک آزمون کولموگراف-اسمیرنف بررسی شدند. همچنین جهت رسم جداول و نمودارها از نرمافزار Excel 2007 استفاده گردید.

جدول ۱: ترکیبات تشکیل دهنده اسانس برگ نارنج (*Citrus aurantium*)Table 1: Compounds of leaf of citrus essential oil (*Citrus aurantium*)

زمان جداسازی (دقیقه)	درصد	ترکیبات
۸/۴۸	.۰/۴۹۲	2-BETA.-PINENE Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-beta.-Myrcene 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) Myrcene
۹	.۲/۰۳۲	
۹/۶۱	.۰/۳۰۴	Ethyl 2-(N-Benzylamino)-4-chloro-3,3-dimethylbutanoate
۱۰/۲۶	.۰/۶۲۹	dl-Limonene Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- (CAS) Nesol
۱۰/۶۳	.۰/۹۸۵	Cis-Ocimene 1,3,7-Octatriene, 3,7-Dimethyl-, (E)- (CAS)
۱۰/۹۹	.۲/۷۲۴	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)- (CAS).BETA. OCIMENE Y (E)-Ocimene
۱۲/۳۷	.۰/۶۸۹	Alpha.-Terpinolene Cyclohexene, 1-Methyl-4-(1-Methylethylidene)
۱۳/۰۲	.۳۴/۶۸۸	DELTA.3-Carene Bicyclo[4.1.0]hept-3-ene, 3,7,7-trimethyl- (CAS)
۱۳/۱۰	.۰/۱۱۵	Benzeneethanamine PHenethylamine.beta.-Aminoethylbenzene
۱۵/۵۸	.۰/۰۸۹	1-Isopropylidene-3-methyl-3-vinylcyclobutane
۱۶/۱۴	.۷/۰۳۰	3-Cyclohexene-1-methanol, .alpHa.,.alpHa.,4-trimethyl-, (S)- (CAS) Terpineol
۱۷/۴۰	.۱/۰۰۷	DELTA.3-Carene Bicyclo[4.1.0]hept-3-ene, 3,7,7-trimethyl- (CAS)
۱۸/۳۳	.۱۴/۷۵۷	DELTA.3-Carene Bicyclo[4.1.0]hept-3-ene, 3,7,7-trimethyl- (CAS)
۲۰/۰۴	.۱/۰۲۲	2-Methoxy-4-vinylphenol Phenol, 4-ethenyl-2-methoxy- p-Vinylguaiacol
۲۱/۸۹	.۲/۲۲۲	DELTA.3-Carene Bicyclo[4.1.0]hept-3-ene, 3,7,7-trimethyl- (CAS)
۲۲/۰۳	.۴/۱۸۴	DELTA.3-Carene Bicyclo[4.1.0]hept-3-ene, 3,7,7-trimethyl- (CAS)
۲۲/۶۵	.۴/۵۸۴	Caryophyllene.beta.-Caryophyllene.beta.-Caryophyllene
۲۴/۷۱	.۰/۴۵۲	1,4,7,-Cycloundecatriene, 1,5,9,9-tetramethyl-, Z,Z,Z
۲۴/۷۹	.۰/۱۳۳	Trans-.Beta.-Farnesene (E)-.Beta.-Farnesene Beta-Farnesene
۲۶/۰۴	.۱/۸۲۳	Bicyclogermacrene -Lepidozene
۲۶/۱۵	.۰/۰۸۵	Alpha.-Murolene.Alpha.-Murolen Alpha-Murolene
۲۶/۸۳	.۰/۱۹۰	Beta.-Cadinene (-)-.Beta.-Cadinene (-)-Beta-Cadinene Cadinene
۲۸/۰۴	.۰/۱۳۱	Ethyl N-allyl-N-pHENylcarbamate
۲۸/۴۹	.۰/۱۴۱	Delta.-Cadinene (Cas) (+)-.Delta.-Cadinene Cadina-1(10),4-Diene (Cas)
۳۰/۶۹	.۰/۰۴۹	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester Linoleic acid, methyl ester
۳۲	.۰/۹۶۰	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester Oleic acid, methyl ester Emery
۳۲/۴۱	.۰/۴۰۶	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl- Hexahydrofarnesyl acetone
۳۵/۶۲	.۰/۰۵۸۷	1-Heptadecene Hexahydroplaxene
۳۸/۸۱	.۰/۰۷۳۰	NeopHytadiene 7,11,15-Trimethyl,3-Methylene-1-Hexadecene
۴۲/۰۳	.۰/۰۳۴۳	Tetracosane (CAS) n-Tetracosane n - tetracosane
۴۶/۳۷	.۰/۱۴۴	2,4,6-Triphenyl-1-hexene
۴۷/۰۳	.۰/۰۷۶۱	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester Diisooctylphthalate DIOP
۴۷/۰۰	.۰/۰۰۷	Cyclopropaneoctanal, 2-octyl- 8-(2-Octylcyclopropyl)octanal
۴۷/۰۵	.۰/۰۷۹	Pentacosane (CAS) n-Pentacosane n - pentacosane n - pentacosanene
۴۷/۰۴	.۰/۰۱۶	1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester Mehp
۴۸/۲۳	.۰/۰۰۲	2,15-Hexadecanedione
۴۸/۰۱	.۰/۰۸۰	Heneicosane (CAS) n-Heneicosane Heneicosane n - heneicosanene
۴۸/۶۵	.۰/۰۹۴	Isophthalic acid, octyl 3-pentyl ester
۴۹/۳۹	.۰/۰۳۴۳	Eicosane (CAS) n-Eicosane Icosane n - eicosane n - icosane
۴۹/۴۹	.۰/۰۳۳۷	Octacosane (CAS) n-Octacosane n - octacosane n - octacosanene
۵۰/۰۲	.۰/۰۴۲۳	Squalene 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl
۵۰/۰۴	.۰/۰۲۱۲	HC 20-511 Ketotifen Hc20-511
۵۰/۹۲	.۰/۰۰۷	Nonacosane n-Nonacosane

جدول ۲: پارامترهای آماری رشد *(Log cfu/g) Salmonella typhimurium* تحت تأثیر pH، نمک، دما و اسانس برگ نارنج در برگر ماهی طی ۱۲ روز نگهداری

Table 2: Statistical parameters of *Salmonella typhimurium* (*Log cfu/g*) under the influence of pH, salt, temperature and *citrus* essential oil in fish burger during 12 days of storage

نام	نمره	نام	نمره	نام	نمره	نام	نمره	نام	نمره
۰/۳۸	۱/۵۳	۴/۰۳	۴						
۰/۵۶	۱/۶۲	۴/۵۵	۲۵	۰/۰۲۵		۱/۵	۵/۵		
۰/۲۸	۱/۲۷	۵/۱۲	۳۷						
۰/۲۹	۱/۲۵	۳/۹۰	۴						
۰/۴۸	۱/۴۰	۴/۱۲	۲۵	۰/۰۲۵		۱/۵	۶		
۰/۷۰	۱/۸۹	۴/۴۹	۳۷						
۰/۷۸	۱/۲۳	۴/۵۱	۴						
۰/۴۹	۱/۴۸	۵/۱۰	۲۵	۰/۰۲۵		۱/۵	۷/۵		
۰/۵۲	۱/۵۰	۵/۳۱	۳۷						
۰/۴۰	۱/۷۰	۳/۴۵	۴						
۰/۳۲	۱/۹۸	۳/۹۱	۲۵	۰/۰۵		۱/۵	۵/۵		
۰/۱۸	۱/۶۳	۵/۳۳	۳۷						
۰/۶۳	۱/۲۸	۳/۵۴	۴						
۰/۴۶	۱/۷۰	۴/۰۹	۲۵	۰/۰۵		۱/۵	۶		
۰/۴۸	۱/۴۰	۴/۷۴	۳۷						
۰/۶۶	۱/۳۱	۳/۸۱	۴						
۰/۵۶	۱/۴۹	۴/۲۹	۲۵	۰/۰۵		۱/۵	۷/۵		
۰/۷۲	۱/۲۵	۵/۱۷	۳۷						
۰/۶۰	۱/۳۷	۳/۴۲	۴						
۰/۶۳	۱/۶۰	۴/۲۳	۲۵	۰/۰۲۵		۳	۵/۵		
۰/۳۳	۱/۷۲	۴/۸۶	۳۷						
۰/۳۱	۱/۶۰	۳/۶۴	۴						
۰/۵۵	۱/۴۱	۴/۶۶	۲۵	۰/۰۲۵		۳	۶		
۰/۳۲	۱/۷۰	۵/۲۴	۳۷						
۰/۱۴	۱/۰۷	۴/۰۶	۴						
۰/۱۷	۱/۹۵	۴/۶۹	۲۵	۰/۰۲۵		۳	۷/۵		
۰/۴۷	۱/۲۴	۶/۰۸	۳۷						
۰/۵۵	۱/۳۵	۳/۰۳	۴						
۰/۷۷	۱/۶۸	۴/۶۲	۲۵	۰/۰۵		۳	۵/۵		
۰/۱۹	۱/۹۵	۵/۱۲	۳۷						
۰/۵۶	۱/۹۷	۴/۰۴	۴						
۰/۴۹	۱/۴۱	۴/۴۴	۲۵	۰/۰۵		۳	۶		
۰/۳۵	۱/۲۲	۵/۱۱	۳۷						
۰/۳۹	۱/۵۰	۳/۶۴	۴						
۰/۴۰	۱/۲۶	۴/۲۰	۲۵	۰/۰۵		۳	۷/۵		
۰/۲۹	۱/۶۹	۵/۰۴	۳۷						

جدول ۳: اثر pH، نمک، اسانس برگ نارنج و دما بر رشد *Salmonella typhimurium* (Log cfu/g) در برگ ماهی طی ۱۲ روز نگهداری (mean±SD)

Table 3: Effect of pH, salt, citrus essential oil and temperature on *Salmonella typhimurium* (Log cfu/g) in fish burger during 12 days of storage (mean±SD)

pH	نمک	اسانس	دما (درجه سانتی گراد)	نارنج (درصد)	نارنج (درصد)	دما	۰	۲	۴	۶	۸	۱۰	۱۲	
۵/۷۹±۰/۱۰ ^c	۵/۴۰±۰/۰۴ ^c	۵/۰۹±۰/۰۸ ^c	۴/۴۴±۰/۰۹ ^b	۴/۰۳±۰/۰۶ ^b	۴/۰۷۳±۰/۰۷ ^b	۱/۴۳±۰/۱۹ ^a	۴							
۶/۵۵±۰/۰۷ ^c	۶/۱۳±۰/۱۱ ^c	۵/۶۳±۰/۰۹ ^c	۵/۳۳±۰/۱۰ ^c	۴/۰۵±۰/۰۲ ^b	۴/۱۳±۰/۱۱ ^b	۲/۰۷±۰/۱۷ ^a	۲۵	۰/۰۲۵	۱/۵	۵/۵				
۷/۱۸±۰/۰۳ ^d	۶/۵۴±۰/۰۸ ^c	۶/۱۰±۰/۱۰ ^c	۵/۷۲±۰/۰۵ ^b	۵/۱۲±۰/۱۱ ^b	۴/۴۹±۰/۱۲ ^b	۲/۰۴±۰/۲۲ ^a	۳۷							
رشد زیاد	۷/۰۹±۰/۰۸ ^d	۶/۲۳±۰/۲۰ ^c	۵/۱۷±۰/۰۵ ^c	۴/۰۶±۰/۱۸ ^b	۲/۹۰±۰/۰۴ ^b	۱/۰۴±۰/۲۱ ^a	۴							
رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	۵/۷۸±۰/۱۵ ^c	۴/۹۵±۰/۰۵ ^b	۴/۱۲±۰/۱۰ ^b	۱/۰۸±۰/۱۳ ^a	۲۵	۰/۰۲۵	۱/۵	۶				
رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	۶/۱۴±۰/۱۲ ^c	۵/۰۱±۰/۱۱ ^c	۴/۴۹±۰/۱۴ ^b	۱/۰۹±۰/۰۵ ^a	۳۷							
رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	۴/۰۸±۰/۰۶ ^b	۴/۰۵±۰/۲۳ ^b	۱/۰۸±۰/۰۷ ^a	۴							
رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	۵/۰۴±۰/۱۵ ^b	۵/۰۱±۰/۱۰ ^b	۱/۰۵±۰/۰۹ ^a	۲۵	۰/۰۲۵	۱/۵	۷/۵				
رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	۶/۱۶±۰/۱۵ ^b	۵/۰۳±۰/۰۸ ^b	۱/۰۹±۰/۰۵ ^a	۳۷							
عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	۴/۲۸±۰/۰۳ ^b	۴/۰۴±۰/۱۱ ^b	۳/۰۸±۰/۰۷ ^b	۲/۰۴±۰/۰۶ ^b	۱/۰۴±۰/۱۹ ^a	۴						
۶/۳۶±۰/۰۷ ^c	۵/۹۱±۰/۰۹ ^c	۵/۰۹±۰/۰۳ ^c	۴/۰۷۲±۰/۰۵ ^b	۳/۰۹±۰/۱۰ ^a	۳/۰۸۳±۰/۰۶ ^a	۲/۰۳۳±۰/۰۵ ^a	۲۵	۰/۰۰۵	۱/۵	۵/۵				
۷/۰۳±۰/۰۶ ^d	۶/۲۲±۰/۰۵ ^c	۵/۰۸۳±۰/۱۲ ^c	۵/۰۳۳±۰/۰۹ ^c	۴/۰۲۲±۰/۰۷ ^b	۴/۰۳۰±۰/۱۱ ^b	۱/۰۸۰±۰/۲۰ ^a	۳۷							
۵/۹۰±۰/۱۰ ^c	۵/۰۵۲±۰/۰۷ ^c	۴/۹۳±۰/۰۵ ^b	۴/۱۶±۰/۰۴ ^b	۳/۰۹۰±۰/۰۴ ^a	۳/۰۴۰±۰/۰۵ ^a	۲/۰۸۰±۰/۰۷ ^a	۴							
۶/۳۹±۰/۱۶ ^c	۵/۰۷۸±۰/۰۷ ^c	۵/۰۲۷±۰/۱۴ ^c	۴/۰۳۳±۰/۰۸ ^b	۴/۰۹±۰/۰۸ ^b	۳/۰۸۶±۰/۰۴ ^b	۱/۰۸۰±۰/۱۷ ^a	۲۵	۰/۰۰۵	۱/۵	۶				
۶/۰۷۰±۰/۲۶ ^c	۶/۰۳۰±۰/۱۵ ^c	۵/۰۴۴±۰/۱۲ ^c	۴/۰۷۴±۰/۰۸ ^b	۴/۰۲۸±۰/۰۵ ^b	۴±۰/۱۱ ^b	۱/۰۸۰±۰/۲۸ ^a	۳۷							
رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	۴/۹۴±۰/۱۰ ^b	۴/۰۹۰±۰/۱۰ ^b	۴/۰۲۲±۰/۰۷ ^b	۱/۰۵۰±۰/۱۱ ^a	۴						
رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	۵/۰۳۰±۰/۰۹ ^c	۴/۰۹۰±۰/۱۰ ^b	۴/۰۲۹±۰/۰۶ ^b	۱/۰۹۰±۰/۱۱ ^a	۲۵	۰/۰۰۵	۱/۵	۷/۵			
رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	۶/۰۰۰±۰/۰۵ ^c	۵/۰۶۰±۰/۱۰ ^b	۵/۰۱۷±۰/۰۴ ^b	۱/۰۴۰±۰/۱۶ ^a	۳۷						
عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	۴/۰۳±۰/۰۷ ^b	۴/۰۴۰±۰/۱۰ ^b	۳/۰۸۰±۰/۰۷ ^b	۳/۰۴۰±۰/۰۷ ^b	۱/۰۴۰±۰/۱۹ ^a	۴						
۶/۴۰±۰/۱۴ ^c	۶/۱۱±۰/۱۰ ^c	۵/۰۳۰±۰/۱۴ ^c	۴/۰۸۰±۰/۱۱ ^b	۴/۰۲۳±۰/۰۷ ^b	۳/۰۵۰±۰/۰۷ ^b	۱/۰۷۰±۰/۰۵ ^a	۲۵	۰/۰۲۵	۳	۵/۵				
۶/۹۳±۰/۰۶ ^c	۶/۰۴۰±۰/۱۰ ^c	۵/۰۷۴±۰/۱۰ ^c	۵/۰۴۰±۰/۲۳ ^c	۴/۰۶۰±۰/۰۴ ^b	۴/۰۱۰±۰/۰۴ ^b	۲/۰۱۰±۰/۱۱ ^a	۳۷							
۶/۱۸±۰/۰۴ ^c	۵/۰۷۴±۰/۰۸ ^c	۵/۰۱۴±۰/۰۶ ^c	۴/۰۷۴±۰/۰۵ ^b	۴/۰۲۰±۰/۰۴ ^b	۴/۰۴۰±۰/۰۵ ^b	۱/۰۴۰±۰/۰۹ ^a	۴							
۶/۵۳±۰/۱۱ ^c	۵/۰۹۰±۰/۱۰ ^c	۵/۰۵۶±۰/۱۰ ^c	۵/۰۱۴±۰/۰۴ ^c	۴/۰۶۰±۰/۰۴ ^b	۳/۰۷۴±۰/۰۵ ^b	۱/۰۴۰±۰/۲۸ ^a	۲۵	۰/۰۲۵	۳	۶				
۶/۸۴±۰/۰۴ ^c	۶/۰۳۲±۰/۰۹ ^c	۵/۰۸۴±۰/۱۰ ^b	۵/۰۲۴±۰/۰۴ ^b	۰±۰/۱۱ ^b	۳/۰۸۰±۰/۰۵ ^a	۲/۰۱۰±۰/۰۶ ^a	۳۷							
رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	۵/۰۰۰±۰/۰۸ ^c	۴/۰۵۰±۰/۱۰ ^b	۴/۰۱۶±۰/۰۷ ^b	۱/۰۴۰±۰/۱۰ ^a	۴						
رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	۵/۰۰۰±۰/۰۸ ^c	۴/۰۵۰±۰/۱۰ ^b	۴/۰۱۶±۰/۰۷ ^b	۱/۰۴۰±۰/۱۰ ^a	۲۵	۰/۰۰۵	۱/۵	۷/۵			
رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	۶/۰۰۰±۰/۰۸ ^c	۵/۰۲۰±۰/۱۰ ^b	۴/۰۱۶±۰/۰۷ ^b	۱/۰۴۰±۰/۱۰ ^a	۳۷						
عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	۴/۰۳±۰/۰۷ ^b	۴/۰۴۰±۰/۱۰ ^b	۳/۰۸۰±۰/۰۷ ^b	۳/۰۴۰±۰/۰۷ ^b	۱/۰۱۰±۰/۰۵ ^a	۴						
۶/۲۰±۰/۰۹ ^c	۵/۰۶۹±۰/۱۳ ^c	۵/۰۱۲±۰/۱۱ ^c	۴/۰۶۲±۰/۰۹ ^b	۴/۰۰۶±۰/۱۲ ^b	۳/۰۳۰±۰/۱۰ ^a	۲/۰۰۳±۰/۰۶ ^a	۲۵	۰/۰۰۵	۳	۵/۵				
۶/۶۶±۰/۱۱ ^c	۵/۰۹۳±۰/۰۶ ^c	۵/۰۶۵±۰/۱۳ ^c	۵/۰۱۲±۰/۱۱ ^c	۴/۰۷۷±۰/۰۹ ^b	۳/۰۴۲±۰/۰۶ ^b	۱/۰۷۷±۰/۰۷ ^a	۳۷							
عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	۴/۰۹±۰/۰۸ ^b	۴/۰۵۶±۰/۰۶ ^b	۴/۰۴۰±۰/۰۵ ^b	۳/۰۴۰±۰/۰۵ ^b	۱/۰۸۰±۰/۱۶ ^a	۴						
۶/۱۸±۰/۱۶ ^c	۵/۰۵۵±۰/۰۸ ^b	۵/۰۱۶±۰/۰۴ ^b	۴/۰۸۹±۰/۰۲ ^b	۴/۰۴۴±۰/۰۹ ^b	۳/۰۶۱±۰/۰۸ ^b	۱/۰۸۰±۰/۲۲ ^a	۲۵	۰/۰۰۵	۳	۶				
۶/۲۴±۰/۱۴ ^c	۵/۰۹۳±۰/۲۱ ^c	۴/۰۶۷±۰/۱۱ ^b	۳/۰۸۸±۰/۰۶ ^b	۳/۰۷۶±۰/۰۵ ^b	۳/۰۵۳±۰/۰۲ ^b	۱/۰۹۶±۰/۱۵ ^a	۳۷							
رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	۵/۰۲۴±۰/۰۲ ^c	۴/۰۶۲±۰/۰۷ ^b	۴/۰۱۲±۰/۰۱ ^b	۳/۰۶۴±۰/۰۵ ^b	۱/۰۲۷±۰/۰۶ ^a	۴						
رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	۵/۰۴۳±۰/۱۵ ^c	۴/۰۸۹±۰/۰۹ ^b	۴/۰۴۹±۰/۰۲ ^b	۴/۰۲۰±۰/۲۶ ^b	۱/۰۴۱±۰/۰۲ ^a	۲۵	۰/۰۰۵	۳	۷/۵			
رشد زیاد	رشد زیاد	رشد زیاد	۶/۱۷±۰/۱۵ ^c	۵/۰۷۲±۰/۱۰ ^b	۵/۰۴۰±۰/۱۰ ^b	۵/۰۴۰±۰/۰۶ ^b	۱/۰۷۷±۰/۰۷ ^a	۳۷						

(P<0.05) در هر ردیف اختلاف معنی دار انشان می دهد (a, b, c, d, e, f)

بحث

رونده رشد باکتری *S. typhimurium* در برگر ماهی در pH ۶، ۷/۵ و ۵/۵ در دماهای ۴، ۳۵ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد طی ۱۲ روز نگهداری افزایش داشت. در برگر ماهی بین تعداد *S. typhimurium* شمارش شده در pH ۶، ۵/۵ و ۷/۵ در دماهای ۴، ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد و نمک ۱/۵ و ۳ درصد طی ۱۲ روز نگهداری اختلاف معنیداری وجود داشت ($P<0.05$). در pH ۷/۵ با نمک ۱/۵ درصد و ۳ درصد و اسانس نارنج ۰/۰۲۵ درصد و ۰/۰۵ درصد در دماهای ۴، ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد در روزهای ششم، هشتم، دهم و دوازدهم رشد زیاد *S. typhimurium* مشاهده شد. همچنین در pH ۶ با نمک ۱/۵ درصد و اسانس نارنج ۰/۰۲۵ درصد در روزهای هشتم، دهم و دوازدهم در دماهای ۲۵ و ۳۷ درجه سانتیگرد رشد زیاد این باکتری وجود داشت. در دماهی ۴ درجه سانتی‌گراد در pH ۵/۵ با نمک ۱/۵ درصد و اسانس نارنج ۰/۰۵ درصد، pH ۵/۵ و ۶ با نمک ۳ درصد و اسانس نارنج ۰/۰۵ درصد، pH ۵/۵ با نمک ۳ درصد و اسانس نارنج ۰/۰۲۵ درصد در روزهای هشتم، دهم و دوازدهم عدم رشد *S. typhimurium* مشاهده شد. در *S. typhimurium* نمونه‌های برگر با ۳ درصد نمک رشد پایین‌تر از نمونه‌های با ۱/۵ درصد نمک بود. به عبارت دیگر، ۳ درصد نمک در برگر ماهی می‌تواند رشد باکتری *S. typhimurium* را محدود کند، بنابراین، با توجه به نتایج بدست آمده افزایش مقادیر نمک در نمونه‌های برگر ماهی می‌تواند از رشد میکروبی ممانعت کند. نمک با اتصال به آب آن را از اختیار میکرووارگانیسم‌ها خارج می‌کند. به همین علت می‌توان از طریق افزودن نمک به ماده غذایی و در نتیجه کاهش آب فعال، اثر تحریبی 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 (هادی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۳؛ Rodrigues et al., 2003). به عبارت دیگر، بنظر می‌رسد خروج آب رشد باکتری‌ها و فعالیت آنزیم‌ها را محدود نموده و از این طریق ماندگاری محصول را افزایش می‌دهد (سلیمانی و همکاران، ۱۳۹۱؛ Lakshmanan et al., 2002).

با توجه به نتایج بدست آمده مشاهده می‌شود که هرچه pH نمونه‌های برگر پایین‌تر باشد، رشد *S. typhimurium* محدودتر شده است. برای مثال، در pH ۵/۵ با ۰/۰۲۵ و ۰/۰۵ درصد اسانس نارنج در نمونه‌های برگر عدم رشد باکتری مشاهده شد.

اما در pH ۶ و ۷/۵ رشد بیش از معمول باکتری اتفاق نداشت. در فیله کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) به همراه اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) (Tighe، ۱۳۹۱) تغییر چندانی در میزان pH در تیمارهای مورد مطالعه و در طول روزهای مختلف نمونه‌برداری گزارش نشد. فاکتور pH بتدربیج تغییر می‌کند و فاکتور مناسبی برای نشان دادن فساد گوشت نمی‌باشد (چوبکار و همکاران، ۱۳۹۱). کاهش pH ممکن است به دلیل عدم حلالیت دی‌اکسیدکربن در ماهی باشد. به عبارت دیگر، افزایش تجمع دی‌اکسیدکربن، سبب کاهش pH می‌گردد (Fan et al., 2008). نتایج برخی تحقیقات نشان داد که میزان pH در فیله قزلآلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در برخی روزهای افزایش و در برخی روزهای کاهش بافت (رضاییان و همکاران، ۱۳۹۳؛ Etemadi et al., 2008) افزایش pH تولید ترکیبات بازی مانند آمونیاک، تری‌متیل‌آمین‌ها و سایر آمین‌های بیوژنی باشد که توسط باکتری‌های عامل فساد در ماهی تولید می‌شود (Tassou et al., 2000).

نتایج نشان داد که اسانس گیاه نارنج قدرت کنترل رشد باکتری *S. typhimurium* را داشت. بنظر می‌رسد حضور اسانس نارنج نفوذپذیری به گاز دی‌اکسیدکربن را کاهش داده و متعاقباً سبب افزایش غلظت گاز دی‌اکسیدکربن در بسته شده است که این افزایش غلظت گاز با کاهش pH همراه است که بنویه خود می‌تواند بر کاهش فلور میکروبی گوشت نیز موثر باشد (Majnooni et al., 2012). اسانس‌های گیاهی به عنوان ترکیبات ضدمیکروبی یکی از منابع بالقوه بازدارنده رشد میکروب می‌باشند (چوبکار و همکاران، ۱۳۹۱؛ Kirbaslar et al., 2009). تحقیقات متعدد نشان می‌دهد برخی ترکیبات استخراج شده از اسانس پوست و برگ نارنج دارای فعالیت ضداسیدان، ضدمیکروب، ضدقارچ، ضدانگل و ضدالتهابی می‌باشد (Sonbol et al., 1992؛ Wei & Shibamoto, 1992؛ Boskovic, 2010). آویشن بر باکتری سالمونلا و تاثیر آن بر ویژگی‌های میکروبی و حسی گوشت خوک چرخ شده بسته‌بندی شده در شرایط خلاء و اتمسفر اصلاح شده را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که طی دوره آزمایش میزان باکتری ۱/۶۹-۴/۰۵ لوگ کاهش داشت. تیمار ۰/۳ درصد اسانس از نظر داوران بهترین نتیجه را در بخش ارزیابی حسی بخود اختصاص داد. بر اساس بررسی منابع خواص ضدمیکروبی اسانس‌های روغنی و عصاره گیاهان

دارویی بر میکروارگانیسم‌های متفاوت در مناطق مختلف گزارش شده است (چوبکار و همکاران، ۱۳۹۱؛ علیزاده و همکاران، ۱۳۹۲؛ بهنام و همکاران، ۱۳۹۶). برخی از محققین ارتباط بین ساختارهای شیمیایی برخی از اجزای غالب موجود در اسانس‌ها را با فعالیت ضدمیکروبی آنها گزارش نمودند. اسانس‌هایی که دارای ترکیب‌های کریزانتنیل استات، پارسیمن و آلفا بیزابولول اکسید هستند، خاصیت ضدمیکروبی شدید آنها گزارش شده است (ایزدی و همکاران، ۱۳۹۲؛ Fabry *et al.*, 2007).

قدرتدازی

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

منابع

- اجاق، س.م.، عبدالله زاده، ا.، شعبانپور، ب.، کردجزی، م. و خسروی قلعه، ر.، ۱۳۹۵. کارآیی مواد زیست‌فعال تولیدی از باکتری *Lactococcus lactis* همراه با اسانس‌های گیاهی، نمک و اسید استیک جهت کنترل *monocytogenes* در مدل مایع و گوشت چرخ شده انسانی *Hypophthalmichthys molitrix* و بیوتکنولوژی آبزیان، ۴ (۴): ۸۹-۱۱۰.
- ایزدی، ز.، مدرس ثانوی، س.م.ع.، سروش زاده، ع.، اثنی عشری، م. و داوودی، پ.، ۱۳۹۲. اثر ضد میکروبی اسانس گیاهان دارویی بابونه آلمانی و بابونه کبیر. مجله ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، ۱۸ (۱): ۳۱-۴۳.
- بهنام، خ.، محمدی ثانی، ع. و اسماعیل پور، م.، ۱۳۹۶. تعیین ترکیبات شیمیایی و خاصیت ضد میکروبی اسانس ریشه شلغم شیرازی در شرایط آزمایشگاهی. مجله میکروب‌شناسی مواد غذایی، ۳ (۳): ۴۰-۴۱.
- پاسبانی، ا. و امیری، ص.، ۱۳۹۶. بررسی تأثیر پوشش خوارکی عصاره آلوئه‌ورا همراه با نانو ذرات چربی جامد حاوی اسانس روغنی زنیان بر عمر نگهداری گوشت تازه گاو. مجله علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۲ (۲): ۷۵-۸۶.
- چوبکار، ن.، آخوندزاده بستی، ا.، ساری، ع.، گندمی، ح. و امامی راد، ا.م.، ۱۳۹۱. بررسی تأثیر اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss) و نیسین بر کنترل کیفیت

دارویی بر میکروارگانیسم‌های متفاوت در مناطق مختلف گزارش شده است (چوبکار و همکاران، ۱۳۹۱؛ علیزاده و همکاران، ۱۳۹۲؛ بهنام و همکاران، ۱۳۹۶). برخی از محققین ارتباط بین ساختارهای شیمیایی برخی از اجزای غالب موجود در اسانس‌ها را با فعالیت ضدمیکروبی آنها گزارش نمودند. اسانس‌هایی که دارای ترکیب‌های کریزانتنیل استات، پارسیمن و آلفا بیزابولول اکسید هستند، خاصیت ضدمیکروبی شدید آنها گزارش شده است (ایزدی و همکاران، ۱۳۹۲؛ Sarrou و همکاران (۲۰۱۳) ترکیبات فرار موجود در اسانس پوست، گل و برگ‌های پیر و جوان نارنج‌های یونانی را شناسایی کرده و از نظر فعالیت ضداکسیدانی مورد ارزیابی قرار داده و بالاترین فعالیت ضداکسیدانی را در اسانس استخراج شده از برگ‌های پیر مشاهده کردند. Ellouze و همکاران (۲۰۱۲) زمان برداشت برگ نارنج در فصول مختلف را عاملی موثر بر ترکیب شیمیایی و ویژگی‌های زیستی اسانس دانسته و فصل تابستان را بهترین زمان برداشت برگ نارنج جهت تهیه اسانس گزارش نمودند. Trabelsi و همکاران (۲۰۱۴) فعالیت ضداکسیداسیون و ضداکسیدانی و ضداکسیداسیون اسانس گل، برگ و پوست نارنج شمال تونس را بررسی و نشان دادند که اسانس حاصل از همه قسمت‌های مورد بررسی دارای فعالیت ضداکسیداسیون و ضداکسیدانی می‌باشدند. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد انسان‌ها اثر ضدمیکروبی خود را از طریق تغییر ساختار و عمل غشاء 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 غشاء شده و فعالیت آن را کاهش و در نهایت منجر به مرگ سلول خواهد شد (ایزدی و همکاران، ۱۳۹۲؛ Bezic & Skobibunic, 2002). فعالیت ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی از مکانیسم مشابهی برخوردار نیست. با این وجود در اغلب موارد تاثیر اسانس‌های گیاهی بر ساختار دیواره سلولی تایید شده است. ویژگی آبگریزی اسانس‌ها سبب نفوذ آنها در لیپید غشاء سلولی و افزایش نفوذپذیری آن می‌گردد که این امر سبب اختلال در کلیه فعالیت‌های حیاتی وابسته به غشاء سلولی، خروج یون‌ها، ترکیبات حیاتی و در نهایت مرگ سلول خواهد شد (Palmer *et al.*, 2001; Burt, 2004).

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر نتایج آزمایش نشان داد که ترکیب نگهدارنده‌ها و بسته‌بندی توانست رشد باکتری *S.*

- فیزیکوشیمیابی، میکروبی و حسی فیله‌های فیل ماهی دودی طعم دهی شده با آب نمک و سس به مدت ۳۰ روز در یخچال. مجله علمی شیلات ایران. ۲۸ (۴): ۱۱-۱۲. DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119397
- هادی زاده، ز.، مورکی، ن. و معینی، س.، ۱۳۹۳. اثر نمک سود کردن بر روی زمان ماندگاری ماهی سارم دهان بزرگ (*Scomberoides commersonianus*). شیلات ایران، ۲۳ (۳): ۱۳۹-۱۲۹.
- Bezic, N., Skocibusić, M., Dunkić, V. and Radonić, A., 2002.** Composition and antimicrobial activity of *Tanacetum parthenium* L.essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*, 74(1): 123-134. DOI: 10.1002/ptr.1290.
- Boskovic, M., Djordjevic, J., Ivanovic, J., Janjic, J., Zdravkovic, N., Glisic, M., Glamoclijja, N., Baltic, B., Djordjevic, V. and Baltic, M., 2017.** Inhibition of Salmonellaby 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. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.07.011.
- Burt, S., 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potentialapplications in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94 (3): 223-253. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
- 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. DOI: 10.1007/s11947-014-1453-0
- Ellouze, I., Abderrabba, M., Sabaou, N., Mathieu, F., Lebrihi, A. and Bouajila, J., 2012.** Season's variation impact on Citrus aurantium leaves essential oil: chemical composition and biological activities. *Journal*

- فیله‌های سبک شور ماهی کپور نقره‌ای (Hypopthalmichthys molitrix) دارویی، ۱۱ (۲): ۲۱۵-۲۰۵.
- رضاییان، ح.، حسینی، س.و.، مطلبی مغانجویی، ع.ع. و میرواقفی، ع.ر.، ۱۳۹۳. اثر عصاره خیار دریایی (*Holothuria leucospilota*) بر کیفیت شیمیابی فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در یخچال (۱±۴ درجه سانتیگراد). مجله بهره برداری و پرورش آبزیان، ۳ (۳): ۳۶-۲۷.
- رسوی شیرازی، ح.، ۱۳۸۰. تکنولوژی فرآوردهای دریایی (علم فرآوری جلد دوم). انتشارات نقش مهر، چاپ اول. صفحه ۲۹۲.
- سلیمانی، ع.، وربیدی، م.ج.، صادقی ماهونک، ع. و نصیری محلاتی، م.، ۱۳۹۱. بررسی ترکیبات شیمیابی ماهی پوزانک و ارزیابی تغییرات رطوبت و نمک بافت آن طی روش های نمک زنی و خشک کردن. *فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران*, ۸ (۲): ۱۲۰-۱۱۵.
- شعبانپور، ب.، ذوالفاراری، م.، فلاح زاده، س. و علی پور، غ.، ۱۳۹۰. اثر عصاره آویشن شیرازی بر ماندگاری فیله قزل آلای رنگین کمان شور و بسته‌بندی شده در خلاء در شرایط یخچال. *علوم و صنایع غذایی*, ۲۳ (۱): ۱۱-۱.
- عزیزخانی، ف. و توریان، ف.، ۱۳۹۵. بررسی تأثیر اسانس زنیان (*Carum Copticum*) بر رشد و بیان ژنی انتروتونکسین‌های *Aureus* C و *Staphylococcus aureus* در *Clupeonella* (کیلکا) سوریمی ماهی کیلکا (*Cultriventris caspia*). *مجله علوم و فنون شیلات*, ۵ (۱): ۱۵۲-۱۴۱.
- علیزاده، ش. و رومیانی، ل.، ۱۳۹۶. ارزیابی شاخص های شیمیابی، میکروبی و زمان ماندگاری برگر تلفیقی (کپور نقره ای - گوشت مرغ) در طول مدت نگهداری در شرایط انجماد. *محله میکروب شناسی مواد غذایی*, ۳ (۳): ۲۹-۱۹.
- علیزاده، ه.، قیامی‌راد، م. و ابراهیمی‌اصل، س.، ۱۳۹۲. اثر ضدباکتریایی عصاره الکلی شلغم بر روی تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زا. *محله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز*, ۳۵ (۶): ۷۹-۷۴.
- فهیم دژبان، ی.، ۱۳۸۷. فرآوری محصولات شیلاتی. انتشارات مهر النبی. چاپ اول. قائم شهر. صفحه ۲۹۱.
- لطیفی، ب.، ابوالقاسمی، س.ج.، شویک لو، ار.، احمدی، م.، اعتمادیان، ی. و قائمی، و.، ۱۳۹۸. مقایسه تغییرات

- Food Science*, 77(9): 173-180. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2012.02846.x
- Etemadi, H., Rezaei, M. and Abedian, 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.
- Fabry, W., Hames, E. and Locatell, J., 2007.** Antimicrobial activities of methanol extracts of *Matricaria chamomilla*, depending on location and seasonal variation. *Food Chemical*, 100: 559-564.
- Fan, W., Chi, Y. and Zhang, S., 2008.** The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice. *Food Chemistry*, 108:148–153. DOI: org/10.1016/j.foodchem.2007.10.057
- 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. DOI: org/10.1016/j.foodchem.2008.11.060
- Fournomiti, M., Kimbaris, A., Mantzourani, I., Plessas, S., Theodoridou, I., Papaemmanouil, V., Kapsiotis, I., Panopoulou, M., Stavropoulou, E., Bezirtzoglou, E.E. and Alexopoulos, A., 2015.** Antimicrobial activity of essential oils of cultivated oregano (*Origanum vulgare*), sage (*Salvia officinalis*), and thyme (*Thymus vulgaris*) against clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, and *Klebsiella pneumoniae*. *Microbial Ecology in Health Disease*, 26: 23289. DOI: 10.3402/mehd.v26.23289.
- Grau, F.H. and Vanderlinde, P.B., 1990a.** Growth of *Listeria monocytogenes* vacuum packaged beef. *Journal of Food Protection*, 53:739–741. DOI: 10.4315/0362-028X-53.9.739
- Grau F.H. and Vanderlinde, P.B., 1990b.** Growth of *Listeria monocytogenes* on vacuum packaged beef. *Journal of Food Protection*, 53(9):739–741. DOI: 10.4315/0362-028X-53.9.739
- 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): 123-127.
- Hwanhlem, N., Jaffres, E., Dousset, X., Pillot, G., Choiset, Y., Haertle, T., Kittikun, A. and Ghobert, J.M., 2015.** Application of a nisin Zproducing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* KT2W2L isolated from brackish water for biopreservation in cooked, peeled and ionized tropical shrimps during storage at 8°C under modified atmosphere packaging. *European Food Research and Technology*, 240 (6): 1259–1269. DOI: 10.1007/s00217-015-2428-8
- Kirbaslar, F.G., Tavman, A., Dulger, B. and Turker, G., 2009.** Antimicrobial activity of Turkish Citrus peel oils. *Pakistan Journal of Botany*, 41: 3207–3212. DOI: abs/10.1002/ffj.2730010409
- Lakshmanan, R., Shakila, R.J. and Jeyasekaran, G., 2002.** Changes in the halophilic amine forming bacterial flora during salt-drying of sardines (*Sardinella gibbosa*). *Food Research International*, 35: 541–546. DOI: 10.1016/S0963-9969(01)00154-5
- Liu, Ch., Mou, J. and Su, Y., 2016.** Behavior of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in raw Yellowfin tuna during cold storage. *Foods*, 5:2-9. DOI:10.3390/ foods5010016.
- Mahgoub, S.A., El-Mekkawy, R.M., El- Hack, M.E.A., El- Ghareeb, W.R., Suliman, G.M., Alowaimer, A.N. and Swelum, A.A., 2019.**

- Inactivation of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat smoked turkey meat by combination with packaging atmosphere, oregano essential oil and cold temperature. *AMB Express*, 9:1-9. DOI: 10.1186/s13568-019-0775-8
- Majnooni, M.B., Mansouri, K., Gholivand, M.B., Mostafaie, A., Mohammadi-Motlagh, H.R., Afanzade, 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 Biootechnology*, 11(2): 498-503. DOI: 10.5897/AJB11.1449
- Meira, N.V.B., Holley, R.A., Bordina, K., deMacedo, R.E.F. and Luciano, F.B., 2017.** Combination of essential oil compounds and phenol acids against *Escherichia coli* O₁₅₇:H₇ in vitro and in dry-fermented sausage production. *International Journal of Food Microbiology*, 260: 59-64. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.08.010
- Mileski, K., Dzamic, A., Ceric, A., Grujic, S., Ristic, M., Matevski V. and Marin, P., 2014.** Radical scavenging and antimicrobial activity of essential oil and extracts of *Echinophora sibthorpiana* Guss from Macedonia. *Archives of Biological Sciences*, 66(1): 401-413. DOI: 10.2298/ABS1401401M
- Palmer, A.S., Steward, J. and Fyfe, L. 2001.** The potential application of plant essential oils as natural preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, 18: 463-470. DOI: 10.1006/fmic.2001.0415
- Raeisi, S., Sharifi-Rad, M., Young Quek, S., Shabaniour, 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. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.07.064
- 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. Doi: org/10.1016/S0740-0020 (02)00086-2
- Rohbein, H. and Oehlenschlager, J., 2009.** Fishery Products.Wiley-Blackwell Pub.477 P. DOI: SH335.5.Q35F58
- Rojas-Grau, M.A., Tapia, M.S., Rodriguez, F.J., Carmona, A.J., and Martin-Beloso, O., 2007.** Alginates and gellanbased edible coatings as carriers of antibrowning. *Food Hydrocolloids*, 21: 118-27. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2006.03.001
- Ross, T., Dalgaard, P. and Tienungoon, S., 2000.** Predictive modelling of the growth and survival of *Listeria* in fishery products. *International Journal of Food Microbiology*, 62: 231-245. DOI: 10.1016/S0168-1605 (00)00340-8
- Rozman, T. and Jersek, B., 2009.** Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.) against different species of *Listeria*. *Acta Agriculture Slovenica*, 93 (1): 51-58. DOI: 10.2478/v10014-009-0007-z
- Sarrou, E., Chatzopoulou, P., Dimassi-Theriou, K. and Therios, I., 2013.** Volatile constituents and antioxidant activity of peel, flowers and leaf oils of *Citrus aurantium* L. growing in Greece. *Molecules Journal*, 18: 10639-10647. DOI: org/10.3390/molecules180910639
- Sobrino-Lopez, A. and Martin-Beloso, A., 2008.** Use of nisin and other bacteriocins for preservation of dairy products. *International*

- Dairy Journal*, 18: 329–343. DOI: 10.1016/j.idairyj.2007.11.009
- Sonbol, F., Ibrahim, S.M. and Mohamed, B.M., 1992.** Antimicrobial activity of oil of bitter orange. *Alexandria Journal of Pharmaceutical Science*, 9: 107–109.
- Sparkman, O.D., 2005.** Identification of essential oil components by gaschromatography /quadrupole mass spectroscopy. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 16(11): 1902-1903.
- Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A. and Cliver, D.O., 2010.** Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21: 1199–1218. DOI: 10.1016/j.foodcont.2010.02.003
- Tassou, C., Koutsoumanis, K. and Nychas, G.J.E., 2000.** Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mintessential oil. *International Journal of Food Research*, 33: 273-380. DOI: 10.1016/S0963-9969 (00) 00047-8
- Tauxe, R.V., 2002.** Emerging foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, 78: 3–41. DOI: 10.1016/S0168-1605(02)00232-5
- 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.
- 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 andmeat products. *Food Control*, 68: 30-39. DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.03.025
- Vernam, A.H. and Evans, M.G., 1991.** Foodborne Pathogens. Wolf Pub Lth., pp: 235-265.
- Wei, A. and Shibamoto, T., 2010.** Antioxidant/lipoxygenase inhibitory activities and chemical compositions of selected essential oils. *Journal of Agriculturaland Food Chemistry*, 58: 7218-7225. DOI: 10.1021/jf101077s
- Winkler, K., Wackers, F.L., Termorshuizen, A.J. and Lenteren, J.C., 2010.** Assessing risks and benefits of floral supplements in conservation biological control. *Bio-Control*, 55: 719–727. DOI: 10.1007/s10526-010-9296-8
- World Health Organization (WHO), 2002.** WHO Traditional Medicine Strategy 2002–2005. World Health Organization Geneva.
- Zaouali, Y., Bouzaine, T. and Boussaid, M., 2010.** Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 3144–3152. DOI: 10.1016/j.fct.2010.08.010
- Zhou, G.H., Xu, X.L. and Liu, Y., 2010.** Preservation technologies for fresh meat: A review. *Meat Science*, 86: 119–128. DOI: 10.1016/j.meatsci.2010.04.033

Effect of temperature, pH, salt, leaf citrus essential oil and modified atmosphere packaging in control of *Salmonella typhimurium* in Burger fish

Roomiani L.^{1*}; Tadayoni M.²

*l.roomiani@yahoo.com

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

Abstract

The aim of this study was to determine the effect of temperature, pH, salt, *Citrus aurantium* eseential oil and modified atmosphere packaging (50% carbon dioxide, 45% nitrogen and 5% oxygen) on control of *Salmonella typhimurium* was carried out in 1996-97. In this research, pH was adjusted at 5.5, 6 and 7.5, temperature at 4, 25 and 37°C, salt at three levels 0, 1.5 and 3 %, and citrus essential oil at 0, 0.025 and 0.05%. *S. typhimurium* growth was increased in fish burger at pH 5.5, 6 and 7.5 at 4, 25 and 37°C, during 12 days of storage. Bacterial growth was increased at pH 7.5 with 1.5% and 3% salt and 0.025% and 0.05% citrus essential oil at 4, 25 and 37°C, respectively, on days 6, 8, 10 and 12. Growth was also observed at pH 6 with 1.5% salt and 0.025% citrus essential oil on days 8, 10 and 12 at 25 and 37°C. At 4°C at pH 5.5 with 1.5% salt and citrus oil 0.05%, pH 5.5 and 6 with 3% salt and citrus oil 0.05%, pH 5.5 with salt 3% and 0.025% citrus essential oil were not observed of growth of bacterial on the 8th, 10th and 12th days. Citrus essential oil at 0.05% level at 4°C, 3% salt and pH 5.5 had the ability to control *Salmonella typhimurium* growth in fish burger.

Keywords: Fish burger, Modified atmosphere packaging, *Citrus aurantium* L., *Salmonella typhimurium*

*Corresponding author