مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال چهاردهم، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸، صفحات ۱۱۱-۱۰۳

فعالیت ضدمیکروبی فیلم نانورس حاوی اسانس نارنج (*Citrus aurantium*) بر عوامل بیماری‌زای منتقل شده در فرآورده‌های شیلاتی

حسن دهقان[۱]، لاله رومیانی[۲]

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

۲- نویسنده مسئول: گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران. پست الکترونیکی: l.roomiani@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۷/۹/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱/۱۸

چکیده

سابقه و هدف: در سال‌های اخیر فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی که قابل خوردن بوده و بطور قابل توجهی بار میکروبی و ایمنی غذا را کنترل می‌کنند، مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این مطالعه تأثیر استفاده از فیلم نانورس اسانس نارنج (*Citrus aurantium*) علیه پاتوژن‌های بیماری‌زای *لیستریا مونوسیتوژنز*، *ویبریو پاراهمولیتیکوس*، *استرپتوکوکوس اینیایی* و *سالمونلا تایفی* در فرآورده‌های شیلاتی شامل: سوریمی کپور نقره‌ای، سوسیس کپور علفخوار و توفوی کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: فیلم نانورس با استفاده از انحلال آلژینات سدیم و سدیم ژلاتین جامد ساخته شد. محلول فیلم با ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد (حجمی/ حجمی) اسانس نارنج مخلوط شد. بار باکتریایی در فرآورده‌های ماهی در روزهای صفر، ۷ و ۱۴ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: بار میکروبی در تیمارهای ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد اسانس نارنج در سوریمی کپور نقره‌ای، سوسیس کپور علفخوار و توفوی کپور معمولی از روز صفر تا چهاردهم، به شکل معنی‌دار افزایش یافت ($P<0/05$). میزان باکتری‌های مورد بررسی در فرآورده‌های شیلاتی، در تیمارهای ۰/۴ و ۰/۶ درصد اسانس نارنج در مقایسه با شاهد تا روز ۱۴ در محدوده مجاز قرار داشت. بار باکتریایی در سایر تیمارها در محصولات شیلاتی مختلف از محدوده مجاز خارج شد.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد تیمار ۰/۴ و ۰/۶ درصد اسانس نارنج قادر به کنترل بار میکروبی در فرآورده‌های کپور نقره‌ای، سوسیس کپور علفخوار و توفوی کپور معمولی بود و میزان این فعالیت علاوه بر درصد اسانس نارنج به نوع باکتری نیز وابسته بود.

واژگان کلیدی: فیلم نانورس اسانس نارنج، پاتوژن‌های غذازاد، فرآورده‌های شیلاتی

• مقدمه

بقا و رشد میکروارگانیسم‌ها یکی از مهمترین نگرانی‌ها در صنعت غذا است. آلودگی میکروبی می‌تواند سبب ضایعات گسترده در غذا شده و کیفیت غذا را کاهش و موجب عفونت و انتقال بیماری‌ها به انسان شود (۱). تخمین زده می‌شود سالانه یک سوم از محصولات غذایی در اثر ضایعات میکروبی از دست می‌رود. علاوه بر این باکتری‌ها، ویروس‌ها و سموم تولید شده به وسیله میکروارگانیسم‌ها جزء آلوده‌کننده‌های غذا محسوب می‌شوند. در میان استراتژی‌های مختلف مورد استفاده برای کنترل و حذف میکروارگانیسم‌های غذایی، نگهدارنده‌های شیمیایی در مقایسه با سایر تکنیک‌ها، به صورت گسترده‌تری مورد استفاده قرار می‌گیرند. از طرف دیگر، امنیت افزودنی‌های سنتتیک در سال‌های اخیر مورد تردید واقع شده است و مصرف‌کننده‌ها به صورت روزافزونی تقاضا دارند تا از تولیدات طبیعی به عنوان نگهدارنده‌های غذایی استفاده کنند (۲). یک پاسخ به این تقاضا، استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها است. اسانس‌های گیاهی از بهترین نگهدارنده‌های طبیعی محسوب می‌شوند. این اسانس‌ها که روغن‌های اساسی یا فرار نیز نامیده می‌شوند به دلیل دارا بودن ترکیبات فنلی نظیر کارواکرول، اوژنول و تیمول دارای اثرات ضدمیکروبی هستند (۳).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]

در این میان، استفاده از سیستم‌های بسته‌بندی با استفاده از پلی‌مرهای زیستی متنوع از جمله فیلم‌های زیستی که قابل خوردن بوده و با قدرت قابل توجهی بار میکروبی غذا را کنترل کرده و امنیت غذا را حفظ می‌کنند، مورد توجه قرار گرفته است (۴، ۳). از طرفی کاربرد تجاری فیلم‌های ضدباکتریایی در صنعت غذایی به دلیل هزینه بالای مواد پلی‌مری زیستی خالص و ضدباکتریایی (۵) و همچنین ضعیف بودن آنها در برابر صدمات مکانیکی در طی جابه‌جایی و یا ورود گازها و یا مقاومت کم آنها نسبت به آب، سبب شده است تا برای استفاده های تجاری مناسب نباشند (۶). کاربرد نانوتکنولوژی (۷) و تشکیل نانوکامپوزیت‌ها در فیلم های بیوپلی‌مری می‌تواند امکان جدیدی را نه تنها برای بهبود خواص بلکه برای کاهش قیمت این محصولات نیز فراهم کند (۹،۸). نانوکامپوزیت‌ها موادی هستند که ماتریکس پلی‌مری آنها شامل پرکننده‌های نانو مقیاس است که حداقل یک بعد آنها کمتر از ۱۰۰ نانومتر باشد (۱۰). نانوذرات در نانوکامپوزیت‌های پلیمری سطح ویژه بالایی نسبت به ذرات در اندازه میکرو دارند. همین سطح ویژه بالا موجب بهبود برهمکنش بین پلیمر و نانوذرات می‌شود و دستیابی به ویژگی‌های مناسب مانند بسته‌بندی را ممکن می‌سازد. علاوه بر این نانوکامپوزیت‌ها، کارایی مواد ضدباکتریایی طبیعی در بسته‌بندی، همانند عصاره‌های گیاهی که می‌توانند درون فیلم‌های نانوکامپوزیت ترکیب شوند، از طریق عدم وجود اکسیژن و رطوبت، را افزایش می‌دهند. در مطالعات مختلف فعالیت آنتی‌باکتریایی اسانس *Citrus aurantium* بررسی و فعالیت آن تایید شده است (۱۰،۸،۵). Singh و همکاران (۲۰۱۶) اثر ضدمیکروبی نانوذرات AgZn، $AgSio_2$ و AgZ را درون پلی‌پروپلین جهت بسته‌بندی غذاهای دریایی مورد بررسی قرار دادند و پس از بررسی آنها طبق استانداردهای صنعتی ژاپن به این نتیجه رسیدند که این ترکیبات تأثیر بهتری بر روی باکتری‌های گرم منفی نسبت به گرم مثبت نشان داد و کیفیت غذاهای دریایی را بالا برد (۶). Pandit و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی خاصیت ضدمیکروبی نانوذرات نقره همراه با نایسین بر روی گونه‌های لیستریا، استافیلوکوکوس و سودوموناس پرداختند و نتیجه حاکی از آن بود که نایسین به همراه نانوذرات نقره خاصیت ضدباکتری بیشتری داشت (۱۱). Alboofetileh و همکاران (۲۰۱۴) به بررسی فعالیت ضدمیکروبی فیلم نانوکامپوزیت نانورس به همراه اسانس رزماری (۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد) پرداختند و ثابت کردند که فیلم ساخته شده با توجه به اینکه دوستدار محیط زیست است می‌تواند در صنایع غذایی کاربرد داشته و بالاترین درصد اسانس به علت وجود ترکیبات فنلی مانند کارنوزیک اسید و کارنوزول فعالیت میکروبی بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم مثبت نشان داد (۲)، Alboofetileh و همکاران (۲۰۱۶) بر روی فعالیت ضدباکتری فیلم نانوکامپوزیت آلژینات-رس در ترکیب با ۶ اسانس گیاهی در کنترل عوامل بیماری‌زای مواد غذایی شامل: *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli* و*Listeria monocytogenes* مطالعه کردند. آنها نشان دادند که گیاه مرزنجوش نسبت به سایر گیاهان فعالیت ضدمیکروبی بیشتری نشان داد و توانست بار میکروبی را در مورد باکتری‌های ذکر شده به ترتیب۵/۸۰، ۴/۵۲ و ۶/۳۳ لوگ کاهش دهد (۳). با توجه به اینکه تاکنون در این زمینه مطالعه‌ای بر روی فرآورده‌های شیلاتی انجام نشده است و نیز به علت اهمیت وافر صنعت غذا به استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی در نگهداری و بسته‌بندی مواد غذایی، این مطالعه با هدف ارزیابی اثر فیلم اسانس نارنج همراه با نانوذرات در کاهش رشد پاتوژن‌های شاخص شامل *لیستریا مونوسیتوژنز*، *ویبریو پاراهمولیتیکوس* و *استرپتوکوکوس اینیایی* در فرآورده‌های شیلاتی توفوی کپور معمولی، سوسیس علفخوار، سوریمی کپور نقره‌ای انجام شد تا بتوان به گسترش اطلاعات در این زمینه کمک کرد.

• مواد و روش‌ها

استخراج اسانس نارنج: گیاه نارنج از مرکز تحقیقات کشاورزی صفی‌آباد در شهر دزفول تهیه و به جهاد دانشگاهی دانشگاه تهران جهت تأیید گونه ارسال شد. برگ‌های نارنج سه بار با آب تمیز شسته شده و به قطعات کوچک بریده شدند. اسانس آنها به روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر، به مدت ۳ ساعت استخراج و در دمای $^{\circ}C$ ۴ نگهداری شد (۱۱). آنالیز اسانس توسط دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به آشکارساز طیف‌سنج جرمی (GC/MS) مدلAgilent 5973 با ستون BPX5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میکرومتر با برنامه دمایی $^{\circ}C$ ۵۰ تا ۳۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه و پمپ IDP-3 Dry Scroll مقرون بصرفه، با کارایی بالا و بدون نیاز به روغن مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس، نمونه که توسط n - هگزان رقیق شده بود به مقدار یک میکرولیتر به دستگاه GC/MS تزریق شد.

آماده‌سازی فیلم نانورس: برای تهیه محلول نانورس یک درصد (وزن/ وزن ژلاتین)، ابتدا مقدار مناسبی از نانورس در

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]

۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد. جهت اطمینان از همگن شدن، محلول با استفاده از همزن برقی در ۷۰°C و با دوز ۱۲۰۰ rpm به مدت ۳۰ دقیقه مخلوط شد. بعد از این مرحله، اسانس نارنج با سه غلظت (۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد) تعیین شده، به آرامی به محلول اضافه و برای چهار ساعت مخلوط شدند. این مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه تحت تیمار با امواج فراصوت قرار گرفت. در نهایت، محلول تشکیل دهنده فیلم بر روی ظروف پلگسی گلاس لبه‌دار پخش شده و در ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ساعت خشک شد. پس از خشک شدن، فیلم پیوسته و شفاف، از سطح ظروف جدا شد (۱).

تهیه سوریمی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*): جهت تهیه سوریمی از ماهی کپور نقره‌ای با وزن ۷۰۰-۵۰۰ گرم استفاده شد. ماهی‌ها، بعد از انتقال، شسته و سر و دم زنی شده، به روش دستی فیله و سپس مجدداً شستشو داده شدند. فیله‌ها توسط دستگاه استخوان‌گیر با قطر منفذ استوانه ۲ میلی‌متر تبدیل به گوشت چرخ کرده بدون استخوان شده و جهت تهیه سوریمی، ابتدا آب نمک ۰/۲۵درصد (حجمی)، سپس به نسبت ۴:۱ (گوشت: آب نمک) درون ظروف شستشو ریخته شده و عمل هم زدن به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. در تمام مدت شستشو دمای آب بین ۴-۰ درجه سانتیگراد بود. سوریمی پس از اختلاط کامل با مواد نگهدارنده و طعم‌دهنده (۴ درصد شکر، ۴ درصد سوربیتول، ۰/۳ تری پلی‌فسفات‌سدیم) در کیسه‌های پلی‌اتیلنی با وزن ۱ کیلوگرم بسته‌بندی و در دمای ۳۵- درجه سانتی‌گراد توسط تونل انجماد پیوسته به روش انجماد سریع انفرادی در مدت زمان ۳۰دقیقه منجمد شد. سپس نمونه‌ها در سردخانه ۱۸- درجه نگهداری شدند (۱۱).

تهیه توفوی کپور معمولی(*Cyprinus carpio*): مواد تشکیل دهنده توفو ماهی شامل ۵۳/۵۰ درصد سوریمی کپور معمولی، ۱۲/۷۰ درصد یخ، ۱۲/۵۰ درصد سفیده تخم‌مرغ، ۸/۵۰ آرد سویا، ۴/۵۰ درصد آرد معمولی، ۴/۵۰ درصد روغن سویا، ۱/۲۰ درصد نمک، ۲/۴۰ درصد شکر بود. سوریمی با نمک در ۴ درجه سانتی گراد برای ۵ دقیقه مخلوط شد. سپس شکر به آن اضافه و با سرعت متوسط برای ۵ دقیقه مخلوط و دمای آن به وسیله یخ حفظ شد. سایر افزودنی‌ها شامل آرد سویا، آرد معمولی، سفیده تخم مرغ و روغن اضافه شده و با دوری مشابه برای ۵ دقیقه مخلوط شدند (۱۲).

تهیه سوسیس کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*): برای دست‌یابی به فرمول بهتر و یکنواخت‌تر، فیله ماهی کپور علفخوار منجمد و گوشت گاو به صورت جداگانه در چرخ گوشت کاملاً خرد و سپس درون کاتر یکنواخت گردید. پس از یکنواخت‌شدن، نمونه‌ها توسط دستگاه فیلر R225-G ساخت ایران در پوشش‌های پلی‌آمیدی مخصوص سوسیس بسته‌بندی و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه در فشار یک اتمسفر حرارت‌دهی شدند (۱۳).

آماده‌سازی باکتری: کشت لیوفیلیزه باکتری‌ها شامل *لیستریا مونوسیتوژنز* (*Listeria monocytogenes*)، *ویبریو پاراهمولیتیکوس* (*Vibrio parahaemolyticus*) و *سالمونلا تایفی* (*Salmonella typhi*) (به عنوان باکتری‌های منتقل‌شده از طریق محصولات شیلاتی) (۱۴) و *استرپتوکوکوس اینیایی* (*Streptococcus iniae*) به عنوان باکتری که ضررهای اقتصادی زیادی را به آبزیان و در نهایت محصولات آنها (۱۵) وارد می‌کند، از گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران جهت این بررسی مورد استفاده قرار گرفت. در ابتدا این کشت‌های لیوفیلیزه در ۱۰ میلی‌لیتر محیط براث BHI در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت، دو مرتبه بطور متوالی تجدید کشت شد. سپس کشت دوم به میزان ۵ به ۱ با گلیسیرین مخلوط و در قسمت‌های مساوی در لوله‌های میکروسانتریفیوژ اپندروف استریل در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۶).

میزان برآورد دوز تلقیح باکتری: تهیه میزان دوز تلقیح باکتری‌های مورد آزمایش، با انتقال باکتری از لوله میکروسانتریفیوژ اپندروف به محیط براث برای تمام باکتری‌ها به جز ویبریو (TCBS) و نگهداری به مدت ۲۴ ساعت در ۳۳-۳۰ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت (۱۷). مجدداً کشت دومی از این کشت‌های ۲۴ ساعته در براث دیگر (به مدت ۲۴ ساعت در ۳۳ درجه سانتی گراد) تهیه شد. سپس لوله‌های کووت حاوی ۵ میلی‌لیتر براث استریل تهیه شد. مقادیر مختلفی از کشت براث ۲۴ ساعته دوم، بر روی لوله‌های کووت مذکور برده شد. جذب نوری با استفاده از دستگاه اسپکتوفوتومتر (Milton Roy Company USA) در طول موج ۶۰۰ نانومتر، خوانده شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از کووت را برداشته و در شیشه زیمکس، ۳۹ میلی‌لیتر آب پپتونه استریل اضافه شد. در زمان تلقیح باکتری به فرآورده‌های شیلاتی از ۱۰۰ میکرولیتر محتویات شیشه زیمکس استفاده شد تا در هر سانتیمتر مربع از فرآورده‌های شیلاتی $۱۰^{۳} \times ۱$ باکتری موجود باشد (۱۸). شمارش کلنی‌ها در فواصل روزهای صفر، ۷ و ۱۴ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]

شمارش باکتری‌ها: برای این منظور، ۵ گرم نمونه با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر به کیسه استریل استومیکر منتقل و توسط دستگاه استومیکر به صورت هموژن درآمد. سپس نمونه‌ها تا رقت 10^{-5} میلی‌لیتر رقیق شدند. ۱ میلی‌لیتر از هر رقت در پلیت قرار داده و محیط کشت پلیت کانت آگار به آن افزوده شد. هر پلیت به منظور توزیع همگن نمونه به دقت تکان داده شد. بعد از چند دقیقه همه پلیت‌ها وارونه شده و در انکوباتور به مدت ۴۸ ساعت با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند (۱۹).

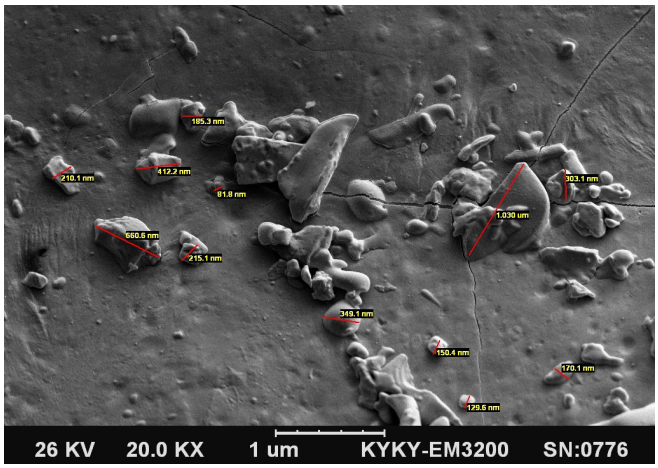
تجزیه و تحلیل آماری: نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف بررسی شد و سپس آزمون آماری آنالیز واریانس و آزمون تعقیبی دانکن در نرم افزار SPSS18جهت مشخص کردن اختلاف بین میانگین‌ها انجام شد. سطح معنی‌دار در حد ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

• یافته‌ها

ترکیب شیمیایی اسانس برگ نارنج (*Citrus aurantium L*) با استفاده از GC-MS: نتایج حاصل از آنالیز اسانس برگ نارنج نشان داد که بیشترین ترکیب موجود در اسانس کارن (۳۴/۶۸ درصد)، آلفا ترپینئول (۷/۵۳ درصد)، بتاکاریوفیلن (۴/۵۸درصد)، اوسمین (۲/۳۲درصد) و بتامیرسین (۲/۰۳درصد) بود (جدول ۱). در شکل ۱، تصویر SEM میکروگراف فیلم نانورس اسانس نارنج نشان داده شده است. بر اساس شکل ۱، ریز ساختار نانورس اسانس نارنج درجه بالایی از انتشار ذرات رس بر روی ماتریکس پلی‌مری را نشان می‌دهد.

جدول ۱. ترکیب شیمیایی اسانس برگ نارنج (*Citrus aurantium L*) با استفاده از GC-MS

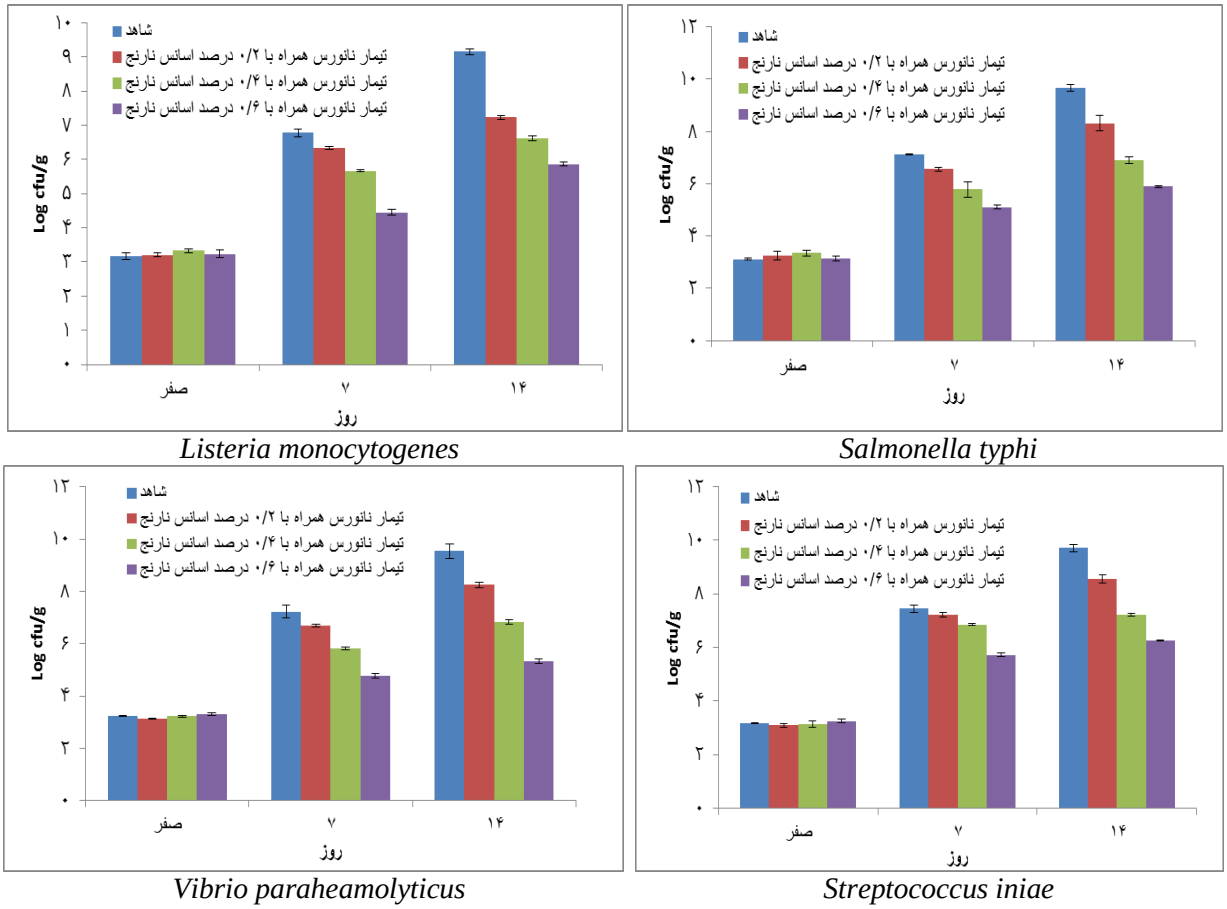
ترکیبات	درصد	زمان جداسازی (دقیقه)
بتاپینن	۰/۴۹۲	۸/۴۸
بتامیرسن	۲/۰۳۲	۹
لیمونن	۰/۶۲۹	۱۰/۲۶
اوسیمن	۰/۹۸۵	۱۰/۶۳
اوکتاترین	۲/۳۲۴	۱۰/۹۹
آلفا- ترپینولن	۰/۶۸۹	۱۲/۳۷
کارن	۳۴/۶۸۸	۱۳/۰۲
آلفا- ترپینئول	۷/۵۳۰	۱۶/۱۴
کارن- بی سیکلو	۱/۶۰۷	۱۷/۴۰
دلتا کارن بی سیکلو۱	۱۴/۷۵۷	۱۸/۳۳
۲ متوکسی -۴ وینیل	۱/۸۲۲	۲۰/۳۴
۳ کارن بی سیکلو	۲/۲۲۲	۲۱/۹
۴ کارن بی سیکلو	۴/۱۸۴	۲۲/۵۳
بتا-کاریوفیلن	۴/۵۸۴	۲۳/۶۵
سیکلوآندکاترین	۰/۴۵۲	۲۴/۷۱
بی سیکلوگرماکرن	۱/۸۲۳	۲۶/۰۴
۹ و ۱۲ اکتا دکادی نوئیک اسید	۰/۵۴۹	۳۲
۱۹اکتا دی سنوئیک اسید	۰/۶۶۰	۳۲/۴۱
۲پنتا دی کانن	۰/۴۰۶	۳۵/۶۲
۱هپتادی‌سن	۰/۵۸۷	۳۸/۸۱
نئوفیتادین	۵/۷۳۰	۴۲/۵۳
۱ و ۲ بنزن دی کربوکسیل	۴/۳۶۱	۴۷/۲۰
پنتاکوزان	۰/۴۷۹	۴۷/۷۴
۱ و ۲- بنزن دی کربوکسیل اسید	۱/۸۱۶	۴۸/۲۳
هنی کوزان	۰/۴۸۰	۴۸/۶۵
ایکوزان	۰/۳۴۳	۴۹/۴۹
اوکتاکوزان	۰/۳۳۷	۵۰/۴۲
اسکوالن	۰/۴۲۳	۵۰/۷۴
نانوکوسان	۰/۳۰۷	۵۱/۴۶



شکل ۱. SEM میکروگراف فیلم اسانس نارنج (*Citrus aurantium*)

بررسی میزان رشد باکتریایی در سوریمی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) تحت تأثیر فیلم اسانس نارنج (*Citrus aurantium*): در شکل ۲، تغییر بار باکتری‌های *لیستریا، ویبریو، استرپتوکوکوس و سالمونلا* در سوریمی کپور نقره‌ای تحت تأثیر نانورس اسانس نارنج نشان داده شده است. بر اساس این شکل در زمان‌های صفر، ۷ و ۱۴ روز بین هر چهار غلظت اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P<0/05$) و کمترین تعداد باکتری در روز ۷ و ۱۴ در تیمار ۰/۶ درصد نانورس اسانس نارنج اندازه‌گیری شد. همچنین در تیمارهای شاهد، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد اسانس نارنج با گذشت زمان تعداد باکتری با اختلاف معنی‌دار افزایش یافت ($P<0/05$).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]



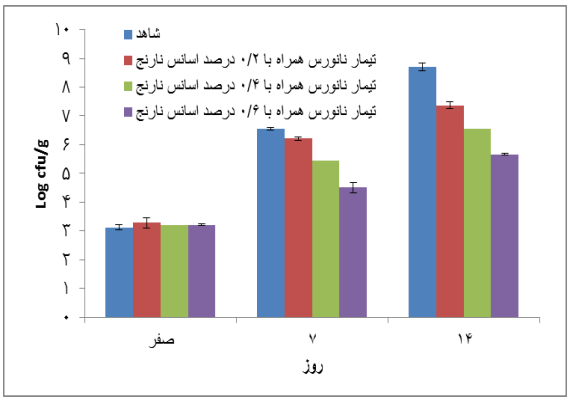
شکل ۲. تغییرات بار باکتریایی در سوریمی کپور نقره‌ای تحت تأثیر غلظت‌های مختلف فیلم اسانس نارنج

تأثیر استفاده از فیلم اسانس نارنج (*Citrus aurantium*) علیه پاتوژن های شاخص در توفوی کپور معمولی(*Cyprinus carpio*): بررسی بار باکتریایی طی روزهای ۰، ۷ و ۱۴ نگهداری نشان داد که در مورد هر چهار باکتری در تیمارهای شاهد، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد اسانس نارنج، روند افزایش بار باکتریایی با فاصله گرفتن از روز صفر قابل مشاهده بود. در روز چهاردهم، در مورد بار باکتریایی کل همانند باکتری‌های *لیستریا مونوسیتوژنز*، *ویبریو پاراهمولیتیکوس*، *استرپتوکوکوس اینیایی* و *سالمونلا تایفی* در تیمارهای دارای ۰/۶ اسانس نارنج رشد باکتری (Log CFU/g ۵/۵۶±۰/۱۱) به شکل معنی‌داری کمتر از تیمارهای Log CFU/g ۰/۲، (۸/۳۲±۰/۱۸ Log CFU/g ۰/۴، (۶/۹۵±۰/۲۵ و شاهد (Log CFU/g ۹/۲۵±۰/۰۷) بود (P<۰/۰۵) (شکل ۳).

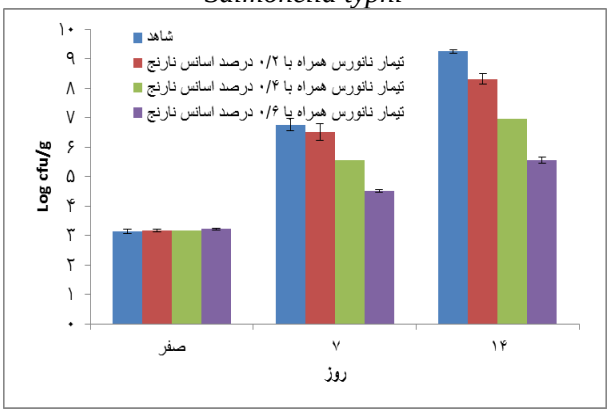
تأثیر استفاده از فیلم اسانس نارنج (*Citrus aurantium*) علیه پاتوژن‌های شاخص در سوسیس کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) : تغییرات باکتری‌های *لیستریا مونوسیتوژنز*، *ویبرو پاراهمولیتیکوس*، *استرپتوکوکوس اینیایی* و *سالمونلا تایفی* در سوسیس کپور علفخوار تحت تأثیر اسانس نارنج روند افزایش معنی‌دار بار باکتریایی را در شکل ۴ نشان داد. همچنین این بررسی نشان داد که با افزایش سطح اسانس میزان رشد باکتری‌ها کاهش معنی‌داری یافت (P<۰/۰۵).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]

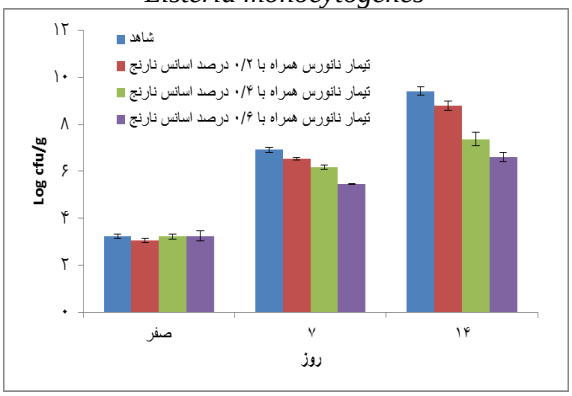
Salmonella typhi



Listeria monocytogenes

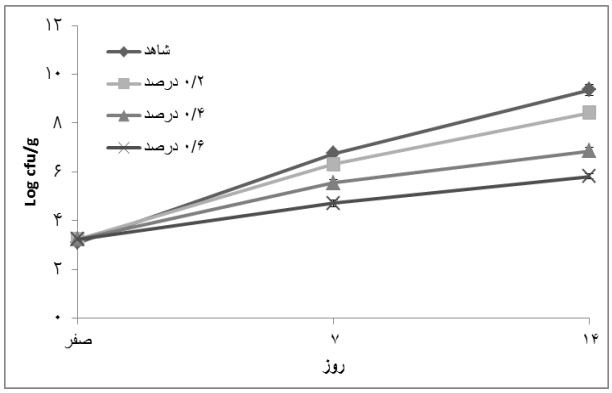


Streptococcus iniae

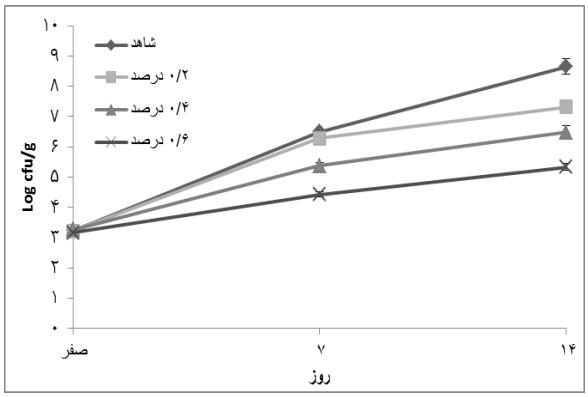


Vibrio parahaemolyticus

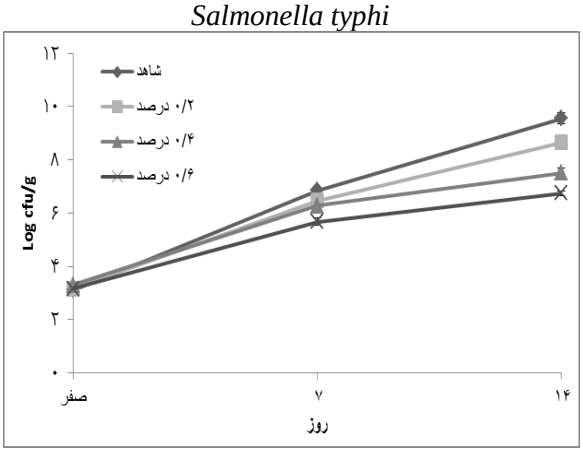
شکل ۳. تغییرات بار باکتریایی در توفوی کپور معمولی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف فیلم اسانس نارنج



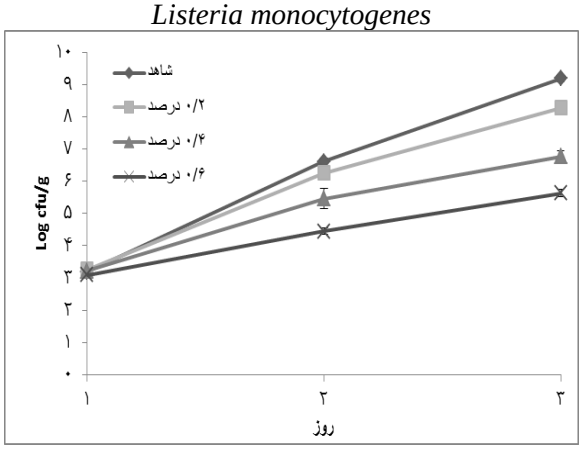
Salmonella typhi



Listeria monocytogenes



Streptococcus iniae



Vibrio parahaemolyticus

شکل ۴. تغییرات بار باکتریایی در سوسیس کپور علفخوار تحت تأثیر غلظت های مختلف فیلم اسانس نارنج

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]

• بحث

بررسی نتایج نشان داد در فرآورده‌های سوریمی کپور نقره‌ای، سوسیس کپور علفخوار و توفوی کپور معمولی روند افزایش بار میکروبی با گذشت زمان و با اختلاف معنی‌دار بین روزهای مورد بررسی مشاهده شد، به شکلی که در تمام تیمارها کمترین بار باکتریایی (*لیستریا مونوسیتوژنز*، *ویبریو پاراهمولیتیکوس*، *استرپتوکوکوس اینیایی* و *سالمونلا تایفی*) در روز صفر و بیشترین تعداد باکتری شمارش شده در روز ۱۴مشاهده شد. با افزایش غلظت اسانس نارنج، تعداد باکتری-ها و همچنین شمارش کل باکتری‌ها به شکل معنی‌داری در تمام تیمارها کاهش معنی‌داری پیدا کرد و در تمام تیمارها در روز ۱۴ بالاترین تعداد باکتری در تیمار شاهد و کمترین تعداد در تیمار ۰/۶ درصد اسانس نارنج اندازه‌گیری شد. چنین نتیجه‌ای در مطالعه Alboofetileh و همکاران (۲۰۱۴) بر روی فعالیت ضدباکتریایی فیلم نانوکامپوزیت آلژینات- رس همراه با اسانس‌های گیاهی علیه عوامل بیماری‌زای غذازاد نیز بدست آمد. آنها عنوان کردند که غلظت اسانس نقش بسیار مهمی در فعالیت ضدباکتریایی فیلم نانورس آلژینات داشته و فیلم نانورس ۱/۵ درصد اسانس مرزنجوش توانست بار باکتریایی را در مقایسه با شاهد به میزان ۶/۳۳، ۴/۵۲ و ۵/۸۰ لوگ کاهش دهد (۲). Alboofetileh و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی تأثیر استفاده از فیلم نانوکمپوزیت آلژینات/ رس همراه با ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد اسانس مرزنجوش، میخک و دارچین برای کنترل *لیستریا مونوسیتوژنز* در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان عنوان کردند که این اسانس‌ها به دلیل دارا بودن مواد ضدباکتریایی کارایی بالایی در کاهش میزان باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* داشتند (۳). Azadi و همکاران (۲۰۱۲) ترکیبات عمده در برگ گیاه نارنج را لینالول (۳۹/۴٪)، لینالیل استات (۳۸/۸٪) و آترپینئول (۷/۲٪) و اجزای اصلی پوست نارنج را لیمونن (۹۱/۳٪)، میرسین (۰/۳٪) و لینالول (۱/۱٪) گزارش کردند که همگی دارای فعالیت ضدباکتریایی هستند. این موضوع افزایش قدرت ضدباکتریایی فیلم نانورس همراه با اسانس نارنج را همگام با افزایش سطح اسانس نارنج تایید می‌کند (۵). همچنین Karimi و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی خواص ترکیبات فنلی و فعالیت‌های بیولوژیکی عصاره برگ نارنج (*Citrus aurantium*) پرداختند و به این نتیجه رسیدند که عصاره استخراج شده حاوی فنل و ترکیبات فلاونوئید است که این مواد فنولی عهده‌دار فعالیت ضدباکتریایی هستند (۱۸). مکانیسم فعالیت ضدباکتریایی اسانس‌های گیاهی به تخریب فسفولیپیدهای موجود در دیواره سلولی مربوط می‌شود که سبب افزایش نفوذ و تراوش سیتوپلاسم شده و یا به جانشین شدن آنها در جایگاه‌های آنزیمی در دیواره سلول مرتبط است (۲۰). Benavides و همکاران (۲۰۱۲) ویژگی‌های ضدمیکروبی فیلم آلژینات همراه با اسانس پونه کوهی بر باکتری‌های بیماریزای شاخص مواد غذایی *E. coli*، *L. monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* و *S. aureus* بررسی و عنوان کردند که ترکیب اسانس و آلژینات به طور موثر قادر به کنترل رشد عوامل بیماری‌زا در مواد غذایی است و نشان دادند که این تأثیر بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از گرم منفی بود. همچنین در بررسی اثر ضدباکتریایی اسانس-های گیاهان مرزه بختیاری، زیره سبز، بابونه، درمنه، بومادران بر روی باکتری *ویبریو پاراهمولیتیکوس* نتایج نشان داد که اسانس‌ها دارای اثرات ضدباکتریایی قوی بوده و قادر به حذف باکتری *ویبریو پاراهمولیتیکوس* هستند (۷). مطابق با نتایج بدست آمده، میزان رشد استرپتوکوکوس اینیایی بجز در تیمار ۰/۴ سوسیس کپور علفخوار و توفوی کپور معمولی و در مورد *سالمونلا تایفی* تیمار ۰/۴ درصد فیلم اسانس نارنج، در سایر تیمارها، بار باکتریایی تا روز ۱۴ از استاندارد 10^{7} Log cfu/g (۲۱) بالاتر نرفت که نشان می‌دهد فیلم نانورس با اسانس نارنج قادر به افزایش ماندگاری فرآورده‌های شیلاتی تا ۱۴روز بود. البته لازم به ذکر است که فعالیت ضدباکتریایی فیلم نانورس همراه با اسانس‌های گیاهی به نوع باکتری وابسته است، که این موضوع تفاوت موجود در تعداد باکتری شمارش شده را توجیه می‌کند (۲۲). نتایج پژوهش حاضر نشان داد استفاده از فیلم نانورس اسانس نارنج به خوبی قادر به کنترل رشد باکتری‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* (*Listeria monocytogenes*)، *ویبریو پاراهمولیتیکوس* (*Vibrio parahaemolyticus*)، *استرپتوکوکوس اینیایی* (*Streptococcus iniae*) و *سالمونلا تایفی* (*Salmonella typhi*) در کپور نقره‌ای، سوسیس کپور علفخوار و توفوی کپور معمولی بود و با افزایش سطح اسانس فعالیت ضدباکتریایی فیلم نانورس حاوی اسانس نارنج افزایش و بالاترین کارایی را در غلظت ۰/۶ درصد اسانس نارنج نشان داد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]

References

1. Abdollahi M, Rezaei M, Gholamali F. A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. J Food Engineering 2012; 111:343–350.

2.Alboofetileh M, Rezaei M, Hosseini H, Abdollahi M. Antimicrobial activity of alginate/clay nanocomposite films enriched with essential oils against three common foodborne pathogens. Food Control 2014; 36:1–7.

3.Alboofetileh M, Rezaei M, Hosseini H, Abdollah M. Efficacy of activated alginate-based nanocomposite films to control *Listeria monocytogenes* and spoilage flora in rainbow trout slice. J Food Sci Tech 2016; 53(1):521–530.

4.Appendini P, Hotchkiss JH. Immobilization of lysozyme on food contact polymers as potential antimicrobial films. Pack Tech Sci 1997; 10(5):271–279.

5.Azadi B, Nichavar B, Amin CH. Voltivated constituent of the peel and leaf of *Citrus aurantium*.L. cultivated in the north of Iran. J Pharm Health Sci 2012; 1(3): 37-41.

6. Singh S, Lee M, Park I, Shin Y, Lee, YS. Antimicrobial properties of polypropylene films containing $AgSiO_2$, AgZn and AgZ for returnable packaging in seafood distribution. J Food Measurement and Charac 2016; 10: 781-793.

7.Benavides S, Villalobos-Carvajal R, Reyes J, Physical. Mechanical and antibacterial properties of alginate film: effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. J Food Eng 2012; 110(2): 232-239.

8.Essadik FZ, Haida S, Kribi A, Kribi AR, Ounine K, Habsaoui A. Antioxidant activity of *Citrus aurantium L. var. amara* Peel from western of Morocco, identification of volatile compounds of its essential oil by GC-MS and a preliminary study of their antibacterial activity. Int J Innovation Sci Res 2015; 16: 425-432.

9.Gómez-Estaca J, López de Lacey A, López-Caballero M, Gómez-Guillén M, Montero P. Biodegradable gelatinechitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. Food Microbio 2010; 27(7):889-896.

10.Hsouna A, Hamdi N, Ben Halima N, Abdelkafi, S. Characterization of essential oil from *Citrus aurantium* L. flowers: Antimicrobial and antioxidant activities. J Oleo Sci 2013; 62(10):763-72.

11. Pandit R, Rai M, Santos CA. Enhanced antimicrobial activity of the food protecting nisin peptide by bioconjugation with silver nanoparticles. Environmental Chemistry Letters 2017; 1-10.

12. Ketnawa S, Benjakul S, Martinez-Alvarez O, Rawdkuen S. Physical, chemical, and microbiological properties of fish tofu containing shrimp hydrolysate. Fish Sci 2016; 82:379–389.

13. Hashemi A, Jafarpour A. Physico chemical and textural attributes of frankfurter sausage formulate with talang qeenfish fillet mince. J of Research of Food Science 2017; 27: 47-64.

14. Novoslavskij A, Terentjeva M, Eizenberga I,Valciņa O, Bartkevičs V, Bērziņš A. Major foodborne pathogens in fish and fish products: a review. Ann Microbiol 2016; 66:1–15.

15. Soltani M, Pirali E, Shayan P, Eckert B, Rouholahi S, Sadr Shirazi N. Development of a reverse line blot hybridization method for detection of some Streptococcal/ Lactococcal Species, the causative agents of Zoonotic Streptococosis/Lactococosis in farmed fish. J Microbiol 2012; 4(2): 70-74.

16. Sánchez-González L, Cháfer M, Hernández M, Chiralt A, González-Martínez C. Antimicrobial ctivity of polysaccharide films containing essential oils. Food Control 2011; 22(8): 1302-1310.

17. Tajkarimi M, Ibrahim S, Cliver D. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control 2010; 21(9): 1199-1218.

18. Karimi E, Oskoueian E, Hendra R, Oskoueian A, Hawa ZE. Phenolic compounds characterization and biological activities of Citrus aurantium Bloom. Molecules 2012; 17:1203-1218.

19- Solomakos N, Govaris A, Koidis P, Botsoglou N. The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage. Food Microbiol 2013; 25:120–127.

20- Tunc S, Duman O. Preparation of active antimicrobial methyl cellulose/ carvacrol/ montmorillonite nanocomposite films and investigation of carvacrol release. LWT 2011; 44:465–472.

21. Azeredo H. Nanocomposites for food packaging applications. Food Res Int 2009; 42(9):1240-1253.

22. Shams B, Golshan Ebrahimi N, Khodaiyan F. Development of Antibacterial Nanocomposite: Whey Protein-Gelatin-Nanoclay Films with Orange Peel Extract and Tripolyphosphate as Potential Food Packaging. J Advances in Polymer Tech 2019; doi.org/10.1155/2019/1973184

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]

Antimicrobial Activity of Nanoclay Films Enriched with *Citrus aurantium* Essential Oil against Indicator FoodBorne Pathogens in Fishery Products

Dehghan H[1], Roomiani L[2]*

1-Department of Food Science and Technology, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

*2-*Corresponding author: Department of Fisheries, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran*
Email: l.roomiani@yahoo.com

Received 8 Dec, 2018 **Accepted 7 Apr, 2019**

Background and Objectives: In recent years, edible films and coatings that are nutritious and able to significantly control microbial loads for the food safety have been further popular. In this study, effects of nanoclay film of citrus essential oil on bacterial pathogens of *Listeria monocytogenes, Vibrio parahaemolyticus, Streptococcus iniae* and *Salmonella* typhi were investigated in fishery products, including silver carp surimi, grass carp sausages and common carp tofu.

Materials and Methods: The nanoclay film was prepared using solution of sodium alginate and solid sodium gelatin. The film solution was mixed with 0.2, 0.4 and 0.6% of citrus essential oil. Bacterial load in fish products was investigated on Days 0, 7 and 14.

Results: The microbial load significantly increased by 0.2, 0.4 and 0.6% ($p < 0.05$) in nanoclay treatment of the citrus essential oil in silver surimi, grass carp sausage and common carp tofu from Day 0 to Day 14. Load of bacteria in fishery products included 0.4 and 0.6% in nanoclay treated with citrus essential oil until Day 14, compared to controls. The exceptions included common carp tofu contaminated with *Salmonella* typhi and *Streptococcus iniae* and grass carp sausages contaminated with *Streptococcus iniae* treated with 0.6% citrus essential oil contained nanoclay; in which, the bacterial load increased up to Day 14.

Discussion: Results showed that nanoclay with 0.4 and 0.6% of citrus essential oil was able to control the microbial load in fisheries products. This activity depended on the bacterial species as well as percentage of the citrus essential oil.

Keywords: Nanoclay film, Citrus essential oil, Foodborne pathogens, Fishery products

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-09]