بررسی و مقایسه خواص ضدباکتریایی کاتچین، فرولیک اسید و عصاره دانه انگور بر باکتری های عامل مسمومیت غذایی در میگوی پا سفید غربی پرورشی (*Litopenaeus vannamei*)

مینا سیف‌زاده* و علی اصغر خانی پور

انزلی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، پژوهشکده آبزی پروری آب های داخلی کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۱۹

چکیده

این پروژه با هدف بررسی اثرات ضدباکتریایی کاتچین، فرولیک اسید و عصاره دانه انگور بر باکتری‌های عامل مسمومیت غذایی در میگوی **پا سفید غربی پرورشی** انجام شد. این پروژه در چهار تیمار و سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل میگوی عمل‌آوری شده با غلظت‌های ۰/۱ درصد کاتچین، ۳ ٪ فرولیک اسید و ۱ درصد عصاره دانه انگور به مدت ۱۵ دقیقه و میگوی شاهد هستند. تیمارها به مدت ۶ ماه در سردخانه ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شدند. کیفیت نمونه‌ها با استفاده از آزمایشات باکتریایی مورد ارزیابی قرارگرفت. شمارش کلی باکتری‌ها، شمارش باکتری‌های استافیلوکوک و کلی فرم در نمونه‌های آزمایشی در مقایسه با نمونه‌های شاهد کاهش معنی‌دار نشان نداد (P>۰/۰۵). شمارش کلی باکتری‌ها در نمونه‌های عمل‌آوری شده با کاتچین بیشترین مقدار و در نمونه‌های عمل‌آوری شده با عصاره دانه انگور کمترین مقدار بود. باکتری استافیلوکوک در نمونه‌های عمل‌آوری شده با کاتچین و فرولیک اسید تفاوت نشان نداد. این باکتری در نمونه‌های عمل‌آوری شده با عصاره دانه انگور در مقایسه با سایر نمونه‌های آزمایشی افزایش معنی‌دار نشان نداد (P>۰/۰۵). شمارش باکتری کلی فرم در نمونه‌های عمل‌آوری شده با فرولیک اسید بیشترین مقدار و در نمونه‌های عمل‌آوری شده با کاتچین کمترین مقدار بود. آلودگی به باکتری‌های سودوموناس آئروجینوزا، ویبریو پاراهمولیتیکوک و اشریشیا کلی در نمونه‌های آزمایشی و شاهد کمتر از ده عدد در هر گرم بود. تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد از کیفیت باکتریایی بهتری برخوردار بودند.

واژه‌های کلیدی: کاتچین، فرولیک اسید، عصاره دانه انگور، میگو**ی پا سفید غربی پرورشی** ، باکتری

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۱۸۱۲۳۵۲۰۳۲ ، پست الکترونیکی: m.seifzadeh@gmail.com

مقدمه

میگو یکی از محصولات صادراتی مهم کشور است که از نظر تغذیه و اقتصادی مهم می‌باشد. به دلیل فاسد شدن سریع این محصول، استفاده از روشی که بتواند بدون ایجاد اثرات منفی کنترل آلودگی‌های میکروبی این محصول را امکان‌پذیر سازد، بسیار حائز اهمیت است. غذاهای دریایی از مهمترین غذاهایی هستند که می‌توانند سبب مسمومیت غذایی شوند. این غذاها براحتی در طی مراحل مختلف عمل‌آوری از طریق آب، ابزارآلات مورد استفاده برای عمل‌آوری، حمل‌ونقل و غیره می‌توانند به باکتری‌های مختلفی آلوده شوند.

باکتری استافیلوکوک گرم مثبت بدون اسپور و بی‌هوازی اختیاری بوده جزء فلور طبیعی بدن انسان محسوب شده در طبیعت انتشار گسترده‌ای داشته و در خاک نیز یافت می‌شود. این باکتری یکی از عاملین مسبب مسمومیت غذایی محسوب شده و در درجه سوم اهمیت بعد از سالمونلا و کلوستریدیوم پرفرین ژنژ قراردارد. باکتری کلی

فرم گرم منفی بدون اسپور و بی‌هوازی اختیاری بوده این باکتری نشانگر کیفیت بهداشتی غذا و آب بوده در خاک آب و مدفوع حیوانات خونگرم یافت می‌شوند. این باکتری بیماریزا نبوده اما حضور آن‌ها نشان‌دهنده سایر میکرواورگانیسم‌های پاتوژن مدفوعی است. باکتری سودوموناس گرم منفی هوازی اجباری و بی‌هوازی اختیاری می‌باشد. این باکتری در خاک و آب قادر به زیست بوده و به عنوان پاتوژن فرصت‌طلب انسانی و عامل مسمومیت غذایی نیز محسوب شده است. باکتری ویریو گرم منفی بی‌هوازی اختیاری چندگونه از این باکتری عامل عفونت غذایی بوده و بوسیله خوردن غذاهای دریایی خوب پخته نشده مانند میگو و خرچنگ بروز می‌کند. بسیاری از گونه‌های جانوران به انسان قابل انتقال هستند (۷).

کاتچین یک مکمل گیاهی و پلی‌فنول قوی، متابولیت ثانویه و محلول در آب است. این ترکیب یکی از مواد مهم در برگ سبز چای محسوب می‌شود. در برگ چای بیشتر به‌صورت اپی گالوکاتچین و اپی گالوکاتچین گالات وجود دارد. این ترکیب دارای ساختمان فلاونول است و فلاونوئید نامیده شده است (۱۲). این ترکیب علیه وروتوکسین اشریشیا کلی موثر است (۲۶).

فرولیک‌اسید یک ترکیب لیگنوسلولزی، روشن کننده پوست، مکمل گیاهی و ترکیب آلی است که با رادیکال‌های آزاد واکنش می‌دهد. این ترکیب سرشار از ترکیبات فنولیک دیواره سلول گیاهی مانند آرابینوکسی لانز است. فرولیک-اسید در برگ‌ها و دانه‌های گزنه، گندم، برنج، جوی صحرایی، تمشک، ذرت و توت‌فرنگی و غیره وجود دارد. فرولیک اسید دارای خواص باکتریسیدال و باکتریواستاتیک می‌باشد. فرولیک اسید یک هیدروکسی سینامیک اسید بوده و از اسید کافئیک مشتق می‌شود (۳۱).

عصاره انگور قرمز محصول جانبی انگور است که حاوی مخلوطی از منومرهای کاتچین، الیگومرها و پلی‌مرهای پروآنتوسیانین، پروسیانیدین، ویتامین E، فلاونول، اسیدهای مورد نیاز بدن (اسید فرولیک)، لینولئیک اسید و نوعی پلی فنل به نام رسیراترول است که از دانه‌های مو انگور (*vitis vinifera*) استخراج می‌شود. این عصاره به‌عنوان یک مکمل غذایی طبیعی، قوی و فاقد اثرات سمی بوده محسوب شده و هم‌اکنون در بسیاری از کشورها مصرف می‌گردد. این عصاره دارای خواص باکتریوسایدی و باکتریواستاتیک می‌باشد (۲۷). این ترکیب علیه اسپورهای کلوستریدیوم بوتولینوم، شیگلا، ورو توکسین باکتری اشریشیا کلی و باکتری‌های گرم مثبت مؤثر است.

هدف از اجرای این پروژه بررسی اثرات ضدباکتریایی کاتچین، فرولیک‌اسید و عصاره دانه انگور بر باکتری‌های عامل مسمومیت غذایی در میگوی پرورشی بود.

جهت بررسی تاثیر ضد باکتریایی کاتچین، فرولیک اسید و عصاره دانه انگور بر روی باکتری های عامل مسمومیت غذایی در میگوی پا سفید غربی پرورشی تا کنون در کشور تحقیق نشده است اما در سایر کشور ها توسط Arakawa در سال ۲۰۰۴ خاصیت باکتری کشی کاتچین را روی باکتری های پاتوژن(۸)، Borges در سال ۲۰۱۳ فعالیت ضد باکتریایی فرولیک اسید را روی باکتری های پاتوژن(۱۰)، Caturla در سال ۲۰۰۳ خاصیت ضد باکتریایی کاتچین را روی ساختار فسفولیپیدهای غشاء باکتری ها(۱۱)، Graham در سال ۱۹۹۲ ترکیبات چای سبز و پلی فنل های آن شامل کاتچین را روی باکتری ها (۱۲)،Hamilton-Miller and Shah در سال ۲۰۰۰ تاثیر کاتچین را روی تقسیم سلولی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (۱۴و۱۳)، Hashimoto در سال ۱۹۹۹ تاثیر کاتچین را روی لایه های لیپید دیوراه سلولی باکتری ها (۱۵)، Ikigai et al در سال ۱۹۹۳ تاثیر کاتچین را روی لایه های لیپید دیواره سلولی باکتری ها (۱۸)، Jayaprakash در سال ۲۰۰۳ خاصیت ضد باکتریایی عصاره دانه انگور را روی باکتری های پاتوژن(۲۰)،

Okubo et al در سال ۱۹۹۸ خاصیت ضد باکتریایی و باکتری کشی کاتچین را روی *اشریشیاکلی* پاتوژن (۲۶)، Roccaro et al در سال ۲۰۰۴ خاصیت ضد باکتریایی کاتچین را روی باکتری *استافیلوکوکوس* (۲۸)، Stapleto et al در سال های ۲۰۰۴ و ۲۰۰۵ خاصیت ضد میکروبی کاتچین را روی *استافیلوکوکوس اورئوس* های مقاوم به متی سیلین (۳۲ و ۳۱) و Yam et al در سال ۱۹۹۷ خاصیت ضد میکروبی ترکیبات و پلی فنل های عصاره چای شامل کاتچین را روی باکتر ها (۳۵) تحقیق شده است.

مواد و روشها

عمل‌آوری میگو با کاتچین، فرولیک اسید و عصاره دانه انگور: در این مرحله ۴ تیمار در نظر گرفته شد. تیمارها شامل میگوی پا سفید غربی پرورشی عمل‌آوری شده با غلظت‌های ۰/۱ درصد کاتچین، ۳ درصد فرولیک اسید و ۱ درصد عصاره دانه انگور به مدت زمان ۱۵ دقیقه بودند. محلول‌ها به میگو به نسبت ۲ به ۱ استفاده شدند. میگو بعد از برداشت دریچه‌ای و با استفاده از آب یخ به مدت ۳ دقیقه سرد شد. سپس تحت شرایط بهداشتی و دمای صفر درجه سیلسیوس به کارخانه عمل‌آوری میگوی بندرکلاهی انتقال داده شد. بعد از این مرحله میگو با استفاده از پلاستیک‌های پلی‌اتیلن در مقادیر ۵۰۰ گرمی بسته‌بندی شده، سپس جعبه‌گذاری شده و به مدت ۸ – ۱۲ ساعت در داخل تونل انجماد قرار داده شد و سپس به سردخانه ۱۸ – درجه سلسیوس به مدت ۶ ماه انتقال داده شد.

نمونه شاهد: دو نمونه شامل میگوی پا سفید غربی پرورشی بدون افزودنی به عنوان نمونه کنترل استفاده شد. به این ترتیب که میگو بعد از سردسازی سریع با استفاده از سبد حاوی یخ به نسبت ۲ به ۱ به کارخانه عمل‌آوری میگو در بندرکلاهی منتقل و در مقادیر ۵۰۰ گرمی با استفاده از پلاستیک‌ها و جعبه‌های مخصوص بسته‌بندی میگو، بسته‌بندی شد. این نمونه هم مانند نمونه‌های آزمایشی در سردخانه ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شد و کیفیت آن‌ها بوسیله آزمایشات میکروبی مورد مقایسه قرارگرفت. نمونه‌های شاهد و آزمایشی در سه تکرار عمل‌آوری شدند.

آزمایشات میکروبی: آزمایشات میکروبی برای نمونه‌های شاهد و آزمایشی منجمد شامل شمارش کلی باکتری‌ها به روش کشت پورپلیت (۴،۱)، باکتری‌های سودوموناس آئروجینوزا به روش کشت سطحی (۲)، استافیلوکوک به روش کشت سطحی (۳)، کلی فرم و اشریشیا کلی به روش کشت پورپلیت (۶) و ویبریو پاراهمولیتیکوس به روش کشت سطحی (۵) انجام شد.

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس جدول ۱ شمارش کلی باکتری‌ها، شمارش باکتری‌های استافیلوکوک و کلی فرم در نمونه‌های آزمایشی در مقایسه با نمونه‌های شاهد کاهش معنی‌دار نشان نداده است ($P>$ ۰/۰۵). شمارش کلی باکتری‌ها در نمونه‌های عمل‌آوری شده با کاتچین بیشترین مقدار و در نمونه‌های عمل‌آوری شده با عصاره دانه انگور کمترین مقدار می‌باشد. باکتری استافیلوکوک در نمونه‌های عمل‌آوری شده با کاتچین و فرولیک اسید تفاوت نداشته است. این باکتری در نمونه‌های عمل‌آوری شده با عصاره دانه انگور در مقایسه با سایر نمونه‌های آزمایشی افزایش معنی‌دار نشان نداده است ($P>$۰/۰۵) باکتری‌های استافیلوکوک رشد کرده در نمونه متعلق به گونه *capitis* و *xylosus* هستند شمارش باکتری کلی فرم در نمونه‌های عمل‌آوری شده با فرولیک اسید بیشترین مقدار و در نمونه‌های عمل‌آوری شده با کاتچین کمترین مقدار می‌باشد. آلودگی به باکتری‌های سودوموناس، ویبریو پاراهمولیتیکوک و اشریشیا کلی در نمونه‌های آزمایشی و شاهد کمتر از ده عدد در هر گرم بود.

جدول۱- نتایج شمارش باکتری‌ها در نمونه‌های عمل‌آوری شده با کاتچین، فرولیک اسید، عصاره دانه انگور و شاهد طی مدت زمان نگهداری در سردخانه به مدت شش‌ماه (لگاریتم واحد تشکیل دهنده کلنی به ازای هرگرم)

نمونه	کاتچین			فرولیک اسید			عصاره دانه انگور			شاهد		
زمان نگهداری در سردخانه	شمارش کلی باکتری ها	باکتری استافیلوکوک	باکتری کلی فرم	شمارش کلی باکتری ها	باکتری استافیلوکوک	باکتری کلی فرم	شمارش کلی باکتری‌ها	باکتری استافیلوکوک	باکتری کلی فرم	شمارش کلی	باکتری استافیلوکوک	باکتری کلی فرم
قبل از سردخانه گذاری	۴/۷ ±۰/۱۶ A	۲/۷۹ ±۰/۴۵ A	۰/۶ ±۰/۴۱ A	۴/۴۹±۰/۲۱ A	۲/۷۹ ±۰/۱۲ A	۰/۹ ±۰/۲۴ A	۴/۳ ±۰/۴۳ A	۲/۸۸ ±۰/۳۷ A	۰/۶۹ ±۰/۲۹ A	۵/۷ ±۰/۴۳ A	۲/۹۶ ±۰/۳۲ A	۱/۲۳ ±۰/۳۴ A
یک ماه بعد	۴/۴۱ ±۰/۳۱	۲۷۲ ±۰/۷۷	کمتر از ده عدد در هر گرم	۴/۳۱±۰/۷۸	۲/۲۳ ±۰/۶۲	۰/۶۹ ±۰/۲۲ A	۴/۴۹ ±۰/۲۵	۲/۱۲±۰/۳۱	۰/۳ ±۰/۲۶ A	۵/۵۱ ±۰/۳۵	۲/۵۴ ±۰/۱۲	۱/۱۱ ±۰/۴۳ A
دو ماه بعد	۴/۱۱ ±۰/۲۹	۱/۸۹ ±۰/۴۷	//	۴/۰۹±۰/۵۲	۱/۷۵ ±۰/۳۶	۰/۴۷ ±۰/۲۷ A	۴/۱۶ ±۰/۶۳	۱/۶۹ ±۰/۵۸	کمتر از ده عدد در هر گرم	۵/۱۳ ±۰/۱۳	۱/۹۹ ±۰/۳۴	۰/۹۵ ±۰/۲۵ A
سه ماه بعد	۳/۶۷ ±۰/۲۲	۱/۱۲ ±۰/۳۹	//	۳/۶۴±۰/۵۱	۱/۲۸±۰/۱۹	کمتر از ده عدد در هر گرم	۳/۷۳ ±۰/۲۴	۱/۱۳ ±۰/۸۵	//	۴/۷۹ ±۰/۴۴	۱/۲۷ ±۰/۷۴	۰/۸۱ ±۰/۳۷ A
چهار ماه بعد	۳/۳۹ ±۰/۱۷	کمتر از ده عدد در هر گرم	//	۳/۱۴±۰/۱۱	کمتر از ده عدد در هر گرم	//	۳/۳۱ ±۰/۱۴	کمتر از ده عدد در هر گرم	//	۴/۳۱ ±۰/۲۴	کمتر از ده عدد در هر گرم	کمتر از ده عدد در هر گرم
پنج ماه بعد	۳/۱۱ ±۰/۵۱	//	//	۲/۷۱±۰/۱۲	//	//	۳/۱۷ ±۰/۵۱	//	//	۳/۹۱ ±۰/۴۶	//	//
شش ماه بعد	۲/۷۲ ±۰/۱۶	//	//	۲/۴۳±۰/۱۴	//	//	۲/۸۱ ±۰/۴۵	//	//	۳/۵۳ ±۰/۶۳	//	//

حروف مشابه در یک ردیف نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین گروهها می‌باشد ($P>0/05$).

تعداد شمارش کلی باکتری‌ها و باکتری‌های استافیلوکوک در نمونه‌های آزمایشی در مقایسه با شاهد کاهش معنی‌دار نشان ندادند (P>۰/۰۵). شمارش باکتری‌ها در تیمارهای عمل‌آوری شده با کاتچین، فرولیک اسید و عصاره دانه انگور با هم تفاوت معنی‌داری نداشت. نتایج به دست آمده از این آزمایش با نتایج به دست آمده توسط Arakawa ، Jayaprakash ، Caturla ، Borges ، Graham، Hamilton-Miller and Shah، Hashimoto ، Ikigai، Okubo، Roccaro، Stapleto و Yam بر روی شمارش کلی باکتری ها و باکتری های *استافیلوکوکوس* مطابقت داردکاهش ریزاندامگان در نمونه‌های عمل‌آوری شده با کاتچین تحت تأثیر تخریب دیواره سلولی به‌وسیله تشکیل کمپلکس کاتچین با پروتئین‌های دیواره سلولی است (۲۱، ۳۰). در این نمونه‌ها بازهای بازهای آزومتین (Schiff base) و انتقال کمپلکس‌های فلزی توسط آن‌ها دارای خواص ضد باکتریایی برعلیه باکتری‌های سودوموناس و اشریشیا کلی می‌باشند (۳۴). کاتچین با اکسیژن موجود در محلول‌های آبی واکنش کرده و منجر به تولید هیدروژن پراکسید می‌شود (۸). این ترکیب سبب از بین رفتن محدوده وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی می‌گردد. کاتچین در باکتری استافیلوکوک روی ساختمان دیواره سلولی مؤثر است (۱۴، ۲۲، ۲۸، ۳۲). این ترکیب قادر به افزایش ضخامت دیواره سلولی و تحریک تشکیل توده چند سلولی کاذب است.کاتچین آزادسازی لیپوتایکوئیک اسید را از دیواره سلولی تحریک می‌کند (۱۳). توانایی کاتچین در از بین بردن این باکتری‌ها به توانایی آنها به نفوذ به قسمت داخلی فسفولیپید مرتبط است (۱۵). کاتچین دارای خواص باکتریوسایدی و باکتریواستاتیکی می‌باشد (۱۰، ۱۸).

فرولیک‌اسید نیز قادر به تشکیل کمپلکس با پروتئین‌های دیواره سلولی و تخریب دیواره است. این ترکیب منجر به تغییرات غیرقابل برگشت در غشای سلولی مانند شارژ، نفوذپذیری خارج و داخل سلولی و خواص فیزیکو-شیمیایی می‌شود. این تغییرات از طریق تغییرات آبگریزی، کاهش منفی شارژ، بروز سوراخ در غشای سلولی و تراوش ترکیبات داخل سلولی به خارج از سلول می‌شود. علاوه بر این خاصیت اسیدی فرولیک‌اسید نیز در جلوگیری از رشد ریزاندامگان موثر بوده است (۳۳). فرولیک‌اسید دارای خواص باکتریوسایدی و باکتریواستاتیکی می‌باشد. این ترکیب برعلیه باکتری‌های گرم مثبت باکتریسیدال و برعلیه باکتری‌های گرم منفی باکتریواستاتیک هست (۱۱).

عصاره دانه انگور از ترکیبات فنلی منومری مثل کاتچین، اپی کاتچین، اپی کاتچین ۱ و ۳ گالات و پروسیانیدین های دیمری، تریمری و تترامری بسیار غنی بوده و لذا به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی با قدرت ضد میکروبی مناسب مطرح است (۲۹، ۳۵). علاوه بر این عصاره دانه انگور از سایر ترکیبات فنولیک مانند کلروجنیک اسید، فرولیک‌اسید، کاتکول، کافئیک‌اسید، دوپا، تانن، هیدروکوئینون، فنل، رزورسینول و پروتوکاتکوئیک اسید تشکیل شده است. این عصاره به دلیل دارا بودن کاتچین در ترکیبات تشکیل‌دهنده خود علاوه بر برخوردار بودن از مکانیسم ضدباکتریایی کاتچین برای تخریب میکرواورگانیسم‌ها از مکانیسم‌های دیگری نیز برای از بین بردن ریزاندامگان استفاده می‌کند (۲۷). از سایر مکانیسم‌ها به خاصیت ضدباکتریایی تانن و کاتکول می‌توان اشاره کرد. به این ترتیب که کاتکول می‌تواند بوسیله آنزیم پلی فنل اکسیداز میگو به تانن پلی مریزه شود (۲۴). تانن‌ها از نظر شیمیایی سیانیدین احیاء شده هستند و می‌توانند به کاتچین احیاء شوند. تانن مواد پلی فنولیک با وزن مولکولی بالایی بوده و دارای تعداد قابل ملاحظه‌ای گروه هیدروکسیل فنولیک (۱ تا ۲ درصد وزن مولکولی) می‌باشد (۲۵). فنل و اسید کافئیک نیز داری خواص باکتریوسایدی و باکتریواستاتیک هستند. اسید کافئیک علیه باکتری‌های استافیلوکوک و اشریشیا کلی مؤثر می‌باشد. عصاره دانه انگور دارای خواص باکتریوسایدی و باکتریواستاتیک می‌باشد. این عصاره از کاتچین قوی‌تر است (۲۰).

علاوه بر این کاتچین، عصاره دانه انگور و فرولیک‌اسید با استفاده از خاصیت آنتی اکسیدانی و جذب اکسیژن شرایط را برای رشد میکرواورگانیسم‌های هوازی نامساعد کرده و از رشد آن‌ها جلوگیری می‌کنند (۱۶، ۲۳). اما در این شرایط باکتری‌های بی‌هوازی و بی هوازی اختیاری مانند باکتری‌های استافیلوکوک، کلی‌فرم، سودوموناس و ویبریو قادر به رشد هستند (۱۹).

پی اچ نیز از عوامل موثر بر رشد باکتری‌ها می‌باشد. با توجه به رشد باکتری‌ها در پی اچ حداکثر و عدم سازگاری باکتری‌ها با پی اچ محیط پی اچ محلول های کاتچین و فرولیک‌اسید برای رشد باکتری‌های استافیلوکوک، سودوموناس و کلی فرم مناسب نبوده اما برای رشد باکتری ویبریو مناسب می‌باشد. پی اچ عصاره دانه انگور برای رشد باکتری‌های استافیلوکوک، کلی فرم و سودوموناس مناسب بوده اما برای رشد باکتری ویبریو مناسب نیست (۷).

با توجه به استریل بودن و فاقد آلودگی بودن گوشت در حالت عادی می‌توان ورود باکتری‌های ساپروفیت مختلف مانند استافیلوکوک و کلی فرم را به فرآورده تحت تاثیر مراحل عمل‌آوری مکانیکی، آب و ابزار آلات مورد استفاده برای عمل‌آوری دانست (۹).

باکتری‌های استافیلوکوک رشد کرده در نمونه متعلق به گونه *capitis* و *xylosus* هستند (۱۷) این گونه‌های باکتری استافیلوکوک از باکتری‌های فلور طبیعی دست بوده و قادر به تولید انتروتوکسین نبوده و بیماری زا محسوب نمی شوند.

منابع

۱. استاندارد شماره ۱- ۲۳۹۴، بهمن ماه ۱۳۷۹. « ماهی و میگو، ویژگی های میکروبی»، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

۲. استاندارد شماره۳۱۴۰ مرداد ماه ۱۳۷۳ «روش شناسایی سودوموناس ائروجینوزا در مواد غذایی»، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

۳. استاندارد شماره ۱ – ۶۸۰۶ .۱۳۸۴« میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- شمارش استافیلوکوکوس های کوآگولاز مثبت (ستافیلوکوکوس اورئوس و سایر گونه‌ها) روش آزمون – قسمت اول: روش استفاده از محیط کشت بردپارکرآگار»، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

۴. استاندارد شماره۱ – ۸۹۲۳ ، ۱۳۸۶. «میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- آماده‌سازی آزمایه سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون‌های میکروبیولوژی قسمت اول: مقررات کلی برای آماده‌سازی سوسپانسیون اولیه و رقت های اعشاری»، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

۵. استاندارد شماره ۱ – ۹۶۶۷ ، ۱۳۸۶. میکروبیولوژی مواد غذایی وخوراک دام– روش جامع برای جستجو و شناسایی گونه‌های انتروپاتوژنیک ویبریو– قسمت اول: شناسایی ویبریو پارا همولیتکوس و ویبریو کلرا. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

۶. استاندارد شماره ۱۱۱۶۶، ۱۳۸۷. «میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- روش جامع برای شمارش کلی فرم‌ها – روش شمارش کلنی»، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

7. Adams, M.R., and Moss, M.O., 2002. Food microbiology 2nd ed, RS.C, Cambridge, PP: 234 - 256.

8. Arakawa, H., Maeda, M., Okubo, S., and Shimamura, T., 2004. Role of hydrogen peroxide in bactericidal action of catechin. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 27, PP: 277–281.

9. Banwart, G.J., 2004. Basic food microbiology 2nd Edition, CBS Publishers and Distributors, New Delhi, PP: 159 – 165.

10. Borges, A., Ferreira, C., Saavedra, M. J., and Simoes, M., 2013. Antibacterial Activity and Mode of Action of Ferulic and Gallic Acids against Pathogenic Bacteria. Microbial Drug Resistance. 19: 256-265.

11. Caturla, N., Vera-Semper, E., Villalaín, J., Reyes Mateo, C., and Micol, V., 2003. The

relationship between the antioxidant and the antibacterial properties of galloylated catechins and the structure of phospholipid model membranes. Free Radical Biology and Medicine, 34, PP: 648–662.

12. Graham, H., 1992. Green tea composition, consumption and polyphenol chemistry. Preventive Medicine, 21, PP: 334–350.

13. Hamilton-Miller, J.M.T., and Shah, S., 2000. Activity of the tea component epicatechin gallate and analogues against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 46, PP: 852–853.

14. Hamilton-Miller, J.M.T., and Shah, S., 1999. Disorganisation of cell division of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by a component of tea (*Camellia sinensis*): a study by electron microscopy. FEMS Microbiology Letters, 176, PP: 463–469.

15. Hashimoto, T., Kumazawa, S., Nanjo, F., Hara, Y., and Nakayama, T., 1999. Interaction of tea catechins with lipid bilayers investigated with liposome systems. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 63, PP: 2252–2255.

16. Higdon, J.V., and Frei, B., 2003. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. Food Science Nutrition, 43, PP: 89 – 143.

17. Holt, J.G., Krieg, R.N., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., and Williams, S.T., 1994. Bergeys manual of determinative bacteriology. Ninth edition, Williams & Wilkins. Philadelphia. PP: 345-349.

18. Ikigai, H., Nakae, T., Hara, Y., and Shimamura, T., 1993. Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. Biochimica et Biophysica Acta, 147, PP: 132–136.

19. Jay, J. M., 2003. Modern food microbiology 3rd Edn. CBS Publishers and Distributors New Delhi, PP: 64 – 75.

20. Jayaprakash, G.K., Tamili, S., and Sakariah, K.K., 2003. Antibacterial and Antioxidant activities of grape seed extract. Food Research, 36, PP: 117- 122.

21. Kajiya, K., Kumazawa, S., Nakayama, T., 2001. Steric effects on interaction of tea catechins with lipid bilayers. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 65, PP: 2638–2643.

22. Kajiya, K., Kumazawa, S., Nakayama, T., 2002. Effects of external factors on the interaction of tea catechins with lipid bilayers. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 66, PP: 2330–2335.

23. Kanduri, L., and Eckhard, R.A., 2002. Food safety in shrimp processing: A handbook for shrimp processors, importers, exporters and retailers. Willy Blackwell, 184 p.

24. Nirmal, P., and Benjakul, S., 2009. Effect of ferulic acid on inhibition of polyphenoloxidase and quality changes of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during iced. Food Chemistry Journal, 116, PP: 323 – 331.

25. Nirmal, P., and Benjakul, S., 2010. Effect of catechin and ferulic acid on melanosis and quality of Pacific white shrimp subjected to prior freeze-thawing during refrigerated storage. Food Control, 21, PP: 1263 – 1271.

26. Okubo, S., Sasaki, T., Hara, Y., Mori, F., and Shimamura, T., 1998. Bactericidal and anti-toxin activities of catechin on enterohemorrhagic Escherichia coli. Kansenshogaku zasshi, 72, PP: 211 – 7.

27. Pazos, P., Alonso, M., Bolanos, A.J.F., Torres, J.L., and Medina, I., 2006. Physicochemical Properties of Natural Phenolics from Grapes and Olive Oil Byproducts and Their Antioxidant Activity in Frozen Horse Mackerel Fillets. Journal Agricultural Food Chemistry. 54 (2), PP: 366–373107.

28. Roccaro, A.S., Blanco, A.R., Giuliano, F., Rusciano, D., and Enea, V., 2004. Epigallocatechin gallate enhances the activity in staphylococci by inhibiting its efflux from bacterial cells. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 48, PP: 1968–1973.

29. Scott, B.C., Butler, J., Halliwell, B., and Aruoma, O.I., 1993. Evaluation of the antioxidant actions of ferulic acid and catechins. Free Radical Research Communications, 19: 241–253.

30. Stapleton, P.D., Shah, S., Anderson, J.C., Hara, Y., Hamilton-Miller, J.M.T., and Taylor, P.W., 2004a. Modulation of β-lactam resistance in *Staphylococcus aureus* by catechins and gallates. International Journal of Antimicrobial Agents, 23, PP: 462–467.

31. Stapleton, P.D., Shah, S., Hamilton-Miller, J.M.T., Hara, Y., Nagaoka, Y., and Kumagai, A., et al., 2004b. Anti-*Staphylococcus aureus* activity and oxacillin resistance modulating capacity of 3-*O*-acyl-catechins. International Journal of Antimicrobial Agents, 24, PP: 374–380.

32. Stapleton, P.D., Shah, S., and Taylor, P.W., 2005. Altered cell surface properties and decreased autolytic activity in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by epicatechin gallate; International Union of Microbiological Societies; San Francisco, USA: Abstract B-852.

33. Timcushni, T.P., and Lamb, A. J., 2005. Review antibacterial activity of flavonoids. International Journal Antimicrobial Agents, 26, PP: 343 – 346.

34. Voss, H.P., and Bast, A., 2002. Interactions between flavonoids and proteins: Effect on the total antioxidant capacity. Journal Agricultural Food Chemistry. 50, PP: 1184-1187.

35. Yam, T.S., Shah, S., and Hamilton-Miller, J.M.T., 1997. Microbiological activity of whole and fractionated crude extracts of tea (*Camellia sinensis*), and of tea components. FEMS Microbiology Letters, 152, PP: 169–174.

Study and comparing of antibacterial property of catechin, ferulic acid and grape seed extract on food poisoning bacterial in cultured shrimp

Seifzadeh M. and Khanipour A.A.

Iranian Fisheries Science Research Institute, National Inland Water Aquaculture Institute, Agricultural Research Education and Extention Organization (AREEO), Anzali, I.R. of Iran

Abstract

This project carried out to aim of monitoring of antibacterial effects of catechin, ferulic acid and grape seed extract on food poisoning bacterial in cultured shrimp. This project carried out in 4 treatment and 3 replicates. Treatments are shrimp processed in 0.1 catechin, 3 ferulic acid and 1% grape seed extract concentrations in 15 minutes and control shrimp. Treatments storage in -18 ^{o}C period of six months. Evaluated quality of samples by bacterial experiments. Total bacterial counts, *Coliform* and *Staphylococcus* bacterial counts were not significantly decreasing in test samples compared with control samples ($p>0.05$). Total bacterial counts were highest in samples processed with catechin and lowest in samples processed with grape seed extract. *Staphylococcus* bacterial counts were not differences in samples processed with catechin and ferulic acid. This bacterium was not significantly increasing in samples processed with grape seed extract compared with other test samples ($p>0.05$). *Coliform* bacterial counts were highest in samples processed with ferulic acid and lowest in samples processed with catechin. *Pseudomonas aeroginosa*, *Vibrio parahemolyticus* and *Escherichia coli* bacterial contamination were lower of ten numbers in per gram in experimental and control samples. Bacterial qualities were better in test samples compared with control samples.

Key words: Catechin, Ferulic acid, Grape seed extract, Shrimp, Bacteria