

Original Article



Effect of Nanoencapsulated *Plantago ovata* Extract on *Streptococcus iniae* Behavior in Inoculated Silver Carp Fillets Stored at 4°C

Mahshid Shamloofar^{1*} , Amineh Karimi galoogahi² 

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

Article history:

Received: 6 February 2026
Revised: 26 April 2026
Accepted: 6 May 2026
ePublished: 6 May 2026

*Corresponding author: Mahshid Shamloofar, Department of Fisheries, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran.

E-mail: shamloofar@gmail.com

Abstract

The aim of this study was to evaluate the antimicrobial effect of *Plantago ovata* (psyllium) extract in both conventional and encapsulated forms on the behavior of *Streptococcus iniae* bacteria in silver carp fillets during refrigerated storage. For this purpose, after preparing and inoculating fish fillets with *Streptococcus iniae*, two concentrations of conventional psyllium extract (0.1% and 0.3%) and two similar concentrations of encapsulated psyllium extract (0.1% and 0.3%) were added to the samples. The samples were stored at refrigerator temperature for 12 days, and bacterial counts were performed at intervals of 0, 4, 8, and 12 days. The results of microbiological tests showed that although the encapsulated form of psyllium, particularly at 0.3% concentration, exhibited greater reduction in bacterial growth and count compared to other treatments, no statistically significant difference was observed between conventional and encapsulated treatments ($p>0.05$). However, the bacterial growth rate in the treatment containing 0.3% nanoencapsulated extract was slower than in other treatments. In general, the results of this study indicate that the application of psyllium extract, especially in nanoencapsulated form at 0.3% concentration, can be effective in reducing the growth of *Streptococcus iniae* in silver carp fillets. Nevertheless, to achieve stronger antimicrobial effects, it is recommended that higher concentrations of psyllium extract along with more comprehensive evaluation of microbiological and chemical parameters be investigated in future studies.

Keywords: *Streptococcus iniae*, Nanoencapsulation, Psyllium, Silver carp, Microbial changes.

Please cite this article as follows: Shamloofar M., Karimi Galoogahi A. Effect of Nanoencapsulated *Plantago ovata* Extract on *Streptococcus iniae* Behavior in Inoculated Silver Carp Fillets Stored at 4°C. J Mar Bio, 2026; 17(4): 66–79. DOI:



Copyright © 2026 Journal of Marin Biology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cite

مقاله اصلی

بررسی اثر عصاره نانوکپسوله گیاه اسفرزه *Plantago ovata* بر رفتار استرپتوکوکوس اینیایی تلقیح شده در فیله کپور نقره‌ای *Hypophthalmichthys molitrix* در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

مهشید شاملوfer^{۱*} , امینه کریمی گلوگاهی^۲ 

۱. گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران.
۲. گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران.

چکیده

هدف از این پژوهش، ارزیابی اثر ضد میکروبی عصاره اسفرزه در دو فرم معمولی و ریزپوشانی‌شده بر رفتار باکتری *Streptococcus iniae* در فیله کپور نقره‌ای طی دوره نگهداری در دمای یخچال بود. بدین منظور، پس از آماده‌سازی و آلودگی فیله‌های ماهی به باکتری استرپتوکوکوس اینیایی، دو غلظت از عصاره اسفرزه به فرم معمولی (۰/۱ و ۰/۳ درصد) و دو غلظت مشابه از عصاره اسفرزه به فرم ریزپوشانی‌شده (۰/۱ و ۰/۳ درصد) به نمونه‌ها افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۱۲ روز در دمای یخچال نگهداری شدند و شمارش باکتری در فواصل زمانی ۰، ۴، ۸ و ۱۲ روز انجام گرفت. نتایج آزمون‌های میکروبی نشان داد که اگرچه فرم ریزپوشانی‌شده اسفرزه، به‌ویژه در غلظت ۰/۳ درصد، کاهش بیشتری در روند رشد و تعداد باکتری نسبت به سایر تیمارها نشان داد، اما اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمارهای معمولی و ریزپوشانی‌شده مشاهده نشد (۰/۰۵ < p). این حال، روند رشد باکتری در تیمار حاوی عصاره نانوکپسوله ۰/۳ درصد کندتر از سایر تیمارها بود. به‌طور کلی، نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از عصاره اسفرزه، به‌ویژه در فرم نانوکپسوله و غلظت ۰/۳ درصد، می‌تواند در کاهش رشد استرپتوکوکوس اینیایی در فیله ماهی کپور نقره‌ای مؤثر باشد. با این وجود، به منظور دستیابی به اثرات ضد میکروبی قوی‌تر، پیشنهاد می‌شود غلظت‌های بالاتر عصاره اسفرزه همراه با ارزیابی جامع‌تر شاخص‌های میکروبی و شیمیایی در مطالعات آینده مورد بررسی قرار گیرد.

واژگان کلیدی: استرپتوکوکوس اینیایی، نانوکپسوله کردن، اسفرزه، کپور نقره‌ای، تغییرات میکروبی.

تاریخچه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۱۱/۱۷

تاریخ ویرایش مقاله: ۱۴۰۵/۲/۶

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۵/۲/۱۶

تاریخ انتشار مقاله: ۱۴۰۵/۲/۱۶

تمامی حقوق برای دانشگاه آزاد اهواز محفوظ است.

* نویسنده مسئول: مهشید شاملوfer، گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران.

ایمیل: shamloofar@gmail.com

استناد: شاملوfer، مهشید؛ کریمی گلوگاهی، امینه. بررسی اثر عصاره نانوکپسوله گیاه اسفرزه (*Plantago ovata*) بر رفتار *Streptococcus iniae* تلقیح‌شده در فیله کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد. مجله زیست‌شناسی دریا، زمستان ۱۴۰۴؛ ۱۷(۴): ۶۶-۷۹

مقدمه

با وجود پیشرفت‌های چشمگیر در تکنیک‌های تولید و فرآوری مواد غذایی، ایمنی غذا همچنان به عنوان یکی از مهمترین چالش‌های بهداشت عمومی در سطح جهان مطرح است. آمارها حاکی از آن است که بیش از ۳۰ درصد از جمعیت کشورهای توسعه‌یافته به بیماری‌های ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده مبتلا می‌شوند و سالانه حدود ۲ میلیون نفر در سراسر جهان جان خود را بر اثر این بیماری‌ها از دست می‌دهند (ریبئی و همکاران، ۱۳۹۲؛ WHO, 2022).

در میان انبوه پاتوژن‌های غذایی، باکتری استرپتوکوکوس اینیایی (*Streptococcus iniae*) به عنوان یک عامل بیماری‌زای مشترک رو به رشد بین انسان و ماهی شناخته شده است. این پاتوژن فرصت‌طلب که در دو دهه اخیر شیوع چشمگیری در صنعت آبزی‌پروری جهانی داشته، تهدیدی جدی برای امنیت غذایی و سلامت شاغلین این صنعت و مصرف‌کنندگان محسوب می‌شود (محمدی و همکاران، ۱۴۰۱؛ Shoemaker et al., 2021). موارد متعددی از سپتیمی، مننژیت، سلولیت و ضایعات پوستی در انسان متعاقب تماس با ماهیان آلوده یا مصرف آنها گزارش شده است که اهمیت کنترل این پاتوژن در زنجیره تولید تا مصرف را دوچندان می‌کند (Weinstein et al., 2022).

از سوی دیگر، افزایش نگرانی مصرف‌کنندگان نسبت به اثرات سوء نگهدارنده‌های شیمیایی سنتتیک، گرایش به سمت استفاده از ترکیبات طبیعی با خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی را در صنعت غذا به شدت افزایش داده است (Abdollahi et al., 2023). در این میان، گیاه اسفرزه (*Plantago ovata*. L) به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی متعدد از جمله اسیدهای فنولیک (بنزوئیک، کافیک، فوماریک) و فلاونوئیدها، در سالیان اخیر مورد توجه ویژه محققین علوم غذایی قرار گرفته است. مطالعات متعدد، فعالیت ضد باکتریایی قابل توجه عصاره اسفرزه را علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا تأیید کرده‌اند (ابراهیمی‌ولدانی و همکاران، ۱۴۰۳؛ Jamilah et al., 2022). با این حال، ترکیبات زیست‌فعال گیاهی ذاتاً ناپایدار بوده و در برابر شرایط فرآوری و محیط دستگاه گوارش به سرعت تخریب می‌شوند. فناوری نانوکپسوله‌سازی به عنوان یک راهکار نوین، توانسته است این چالش را با افزایش پایداری، حلالیت و رهایش کنترل‌شده ترکیبات مؤثر مرتفع سازد. تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که نانوکپسوله‌کردن عصاره‌های گیاهی، نه تنها اثر ضد میکروبی آنها را تشدید می‌کند، بلکه امکان کاربرد مؤثرتر آنها را در ماتریکس‌های غذایی مختلف فراهم می‌آورد (Yousefi et al., 2024). برای مثال، مطالعات مشابه بر روی فیله ماهی نشان داده است که استفاده از عصاره‌های نانوکپسوله در مقایسه با فرم معمولی، توانایی بالاتری در کنترل رشد باکتری‌های بیماری‌زا و افزایش ماندگاری محصول در دمای یخچال دارد (Hasanvand et al., 2021). بنابراین، با توجه به پتانسیل ضد میکروبی گیاه اسفرزه و مزایای فناوری نانوکپسوله‌سازی، این تحقیق با هدف بررسی اثر عصاره نانوکپسوله گیاه اسفرزه (*Plantago ovata*. L) بر رفتار باکتری استرپتوکوکوس اینیایی تلقیح شده در فیله کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) در طول دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد طراحی و اجرا گردید. در این مطالعه، پس از آماده‌سازی فیله‌ها، غلظت‌های ۰/۳-۰/۱ درصد از عصاره معمولی و نانوکپسوله اسفرزه به نمونه‌های آلوده به باکتری اضافه شد و تغییرات جمعیت میکروبی شامل شمارش کلی باکتری‌ها، باکتری‌های سرماگرا، باکتری‌های اسید لاکتیک و باکتری هدف (استرپتوکوکوس اینیایی) طی روزهای ۰، ۳، ۶ و ۹ و ۱۲ مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره گیاه اسفرزه: در این بررسی گیاه اسفرزه *Plantago ovata* پس از جمع‌آوری از رویشگاه‌های طبیعی استان مازندران و تشخیص گونه بر اساس (AHPA, ۲۰۱۴) در محیط خشک و تاریک، به دور از نور خورشید و در جریان هوا خشک شد و سپس آسیاب شده و به صورت پودر درآمد. پودر به دست آمده در بالن یک لیتری و با نسبت ۱ به ۵ با الکل اتیلک ۸۰ درصد مخلوط شد و به مدت ۴۸ ساعت بر روی دستگاه شیکر به آرامی مخلوط گردید. سپس مخلوط به دست آمده توسط صافی و کیف بوخنر صاف شد. عصاره اولیه به دست آمده وارد دستگاه تقطیر دوار گردید و

در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴ ساعت الکل پرانی صورت گرفت و عصاره تغلیظ شده به دست آمده تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد (Sivam, 2001).

نانو کپسوله کردن عصاره اسفرزه: ماده ای که برای نانو کپسوله کردن اسفرزه مورد استفاده قرار گرفت صمغ عربی (شرکت مرک، آلمان) بود که به شکل تجاری تهیه و ابتدا به مدت ۳۰ دقیقه با اسید لینولئیک به مقدار ۰/۱۳ درصد (بعنوان سورفاکتانت) در دما ۴۰ درجه هم زده شد (۴/۵ = pH). پس از اتمام زمان انکوباسیون، اسفرزه به مخلوط صمغ عربی سورفاکتانت اضافه شده و به مدت ۲ ساعت در دمای محیط هم زده شد. مخلوط مذکور در دستگاه اسپری درایر OPH, Lab-plant (UK Ltd YO14، انگلستان) با سرعت ۵/۲۶ ml/min با ۱۰۰٪ هوادهی، دمای ورودی ۱۰۵ درجه و دمای خروجی ۶۸ درجه خشک شد نسبت صمغ به اسفرزه ۴ به ۱ بود (Beyki et al., 2014). در پایان، جهت تایید نهایی اندازه ذرات ریزپوشانی شده، از دستگاه تعیین کننده اندازه ذرات (Particle Size Analysis) استفاده گردید.

تهیه ماهی: جهت تهیه نمونه‌ها، ابتدا ماهیان از یک استخر پرورش ماهیان گرمابی واقع در شهرستان گرگان (گرگان، گلستان) تهیه و سپس با آب شستشو داده شده و به صورت دستی سر و امعاء و احشاء را جدا کرده و سپس هر ماهی به صورت مساوی به فیله‌های ۵۰ گرمی تقسیم بندی شد و نسبت به انتخاب تیمارها و تکرارهای مورد نظر اقدام و با عصاره اسفرزه به فرم معمولی و با غلظت ۰/۱ و ۰/۳ درصد و فرم نانو کپسوله با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۳ درصد مخلوط و به یخچال منتقل و به مدت ۱۲ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تهیه باکتری: باکتری /ستریپتوکوکوس/ اینیایی LMG 14520 از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. جهت فعال سازی باکتری از کشت لیوفلیزه در محیط آبگوشت قلب و مغز در دمای ۳۵°C به مدت ۱۸-۱۶ ساعت استفاده شد. برای تهیه میزان تلقیح باکتری مورد آزمایش، با انتقال باکتری از لوله میکروسانتریفیوژ اپندرف به محیط براث (BHI) و نگهداری به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷°C انجام شد. مجدداً کشت دومی از این کشت اولیه، در محیط براث (BHI) دیگر (به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷°C) تهیه شد. سپس لوله‌های کووت حاوی ۵ میلی لیتر براث استریل تهیه گردید. مقادیر مختلفی از کشت براث ۱۸ ساعته دوم بر روی لوله‌های کووت مذکور برده شد. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر Eppendorf Biophotometer (آمریکا) در طول موج ۶۰۰ نانومتر، جذب نوری لوله‌های مذکور خوانده شد. بدین ترتیب در هر بار انجام آزمایش (تعیین لگاریتم درصد احتمال رشد)، با مشخص شدن جذب نوری که معادل تقریباً ۱۰^{-۸} باکتری در هر میلی لیتر بود، لوله کووت حاوی تقریباً ۱۰^{-۷} باکتری در میلی لیتر مشخص گردید. سپس ۱ میلی لیتر از این لوله کووت را برداشته و در شیشه زیمکس، ۳۹ میلی لیتر از آب پیتونه استریل به آن افزوده گردید تا در نهایت در هر ۱۰۰ میکرولیتر از محتویات شیشه زیمکس ۱۰^{-۴} × ۲/۵ باکتری موجود باشد. سپس در زمان تلقیح به فیله ماهی از ۱۰۰ میکرولیتر محتویات شیشه زیمکس استفاده شد تا در هر گرم از فیله ماهی ۱۰^{-۵} × ۱ باکتری موجود باشد و به منظور اضافه کردن باکتری به سطح فیله از روش اسپری باکتری با سرنگ استفاده گردید. باکتری استریپتوکوکوس اینیایی با این تعداد به همه تیمارهای آزمایشی اضافه شد سپس نمونه‌ها ماساژ داده شده تا از اختلاط کامل باکتری با فیله ماهی اطمینان حاصل شود و در ادامه فیله‌ها بسته بندی شده و در دمای ۴ ± ۱°C به مدت ۱۲ روز نگهداری شد (رومیانی، ۱۳۹۲).

شمارش کلی باکتری‌ها (Total Viable Count – TVC): برای شمارش کلی باکتری‌های هوازی مزوفیل، ابتدا در شرایط استریل، ۱۰ گرم از نمونه فیله ماهی با ۹۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل ۰/۸۵ درصد در کیسه‌های استومایز ریخته و به مدت ۶۰ ثانیه در دستگاه استومایز همگن سازی گردید. سپس رقت‌های سریالی ۱۰ برابر تهیه و ۰/۱ میلی لیتر از هر رقت به روش سطحی در محیط کشت پلیت کانت آگار (Plate Count Agar, Merck, Germany) کشت داده شد. پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند و کلنی‌های تشکیل شده شمارش و به صورت لگاریتم کلنی در گرم نمونه (log CFU/g) گزارش شد (Podineh et al. 2020).

شمارش باکتری‌های سرماگرا (Psychrotrophic Count – PTC): به منظور شمارش باکتری‌های سرماگرا، مشابه مراحل فوق، از رقت‌های تهیه شده، ۰/۱ میلی لیتر بر روی محیط پلیت کانت آگار (PCA) کشت سطحی انجام شد. پلیت‌ها به مدت ۷ تا ۱۰ روز در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس کلنی‌ها شمارش گردیدند. نتایج بر حسب لگاریتم کلنی در گرم نمونه (log CFU/g) بیان شد (Baptista et al, 2024).

شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک (Lactic Acid Bacteria – LAB): برای شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک، از محیط کشت اختصاصی MRS آگار (de Man, Rogosa and Sharpe agar, Merck, Germany) استفاده گردید. پس از تهیه رقت‌های متوالی، ۰/۱ میلی‌لیتر از هر رقت به روش سطحی بر روی محیط MRS آگار کشت داده شد. پلیت‌ها به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و در شرایط بی‌هوازی (با استفاده از ژار و پاکت‌های تولیدکننده شرایط بی‌هوازی) قرار داده شدند. کلنی‌های رشد کرده شمارش و نتایج بر حسب لگاریتم کلنی در گرم نمونه ($\log \text{CFU/g}$) گزارش گردید (Cao et al., 2015).

شمارش باکتری استرپتوکوکوس اینیایی: برای شمارش باکتری استرپتوکوکوس اینیایی، ابتدا ۱۰ گرم از نمونه فیله ماهی با ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل ۰/۸۵ درصد در کیسه استومایز ریخته و به مدت ۶۰ ثانیه در دستگاه استومایز همگن‌سازی گردید. سپس رقت‌های سریالی ۱۰ برابر تهیه شد. برای کشت و شمارش باکتری، از محیط کشت آگار خونی حاوی ۵ درصد خون گوسفند (Blood Agar, Merck, Germany) استفاده گردید. تلقیح ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت به روش سطحی بر روی محیط کشت انجام شد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در شرایط میکروآئروپیل (کم‌اکسیژن) انکوبه شدند. کلنی‌های گرم‌مثبت، اکسیداز منفی و کاتالاز منفی با ایجاد همولیز آلفا (سبز رنگ) یا بتا (شفاف) در محیط کشت به عنوان استرپتوکوکوس اینیایی شناسایی و شمارش گردیدند. نتایج بر حسب لگاریتم کلنی در گرم نمونه ($\log \text{CFU/g}$) گزارش شد. جهت تأیید نهایی، از تست‌های بیوشیمیایی API 20 STREP (BioMérieux, France) استفاده گردید (Shoemaker et al, 2021).

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18 انجام پذیرفت. ابتدا بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف-اسمیرنوف و به منظور ارزیابی تعداد باکتری سودوموناس در زمان‌های مختلف با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (one-way analysis of variance) صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Multiple-range test Duncans) در سطح احتمال ۵ درصد تعیین گردید ($P \leq 0.05$).

نتایج

در مطالعه حاضر متوسط اندازه ذرات ریزپوشانی شده اسفرزه توسط دستگاه تعیین‌کننده اندازه ذرات (Particle Size Analysis) تعیین شد. بر اساس نتایج مشاهده شده متوسط اندازه ذرات ریزپوشانی شده اسفرزه ۱۴۲/۷ نانومتر و تراکم اندازه ذرات ۸۶/۸ درصد بود. تغییرات TVC (بر حسب $\log \text{CFU/g}$) در فیله ماهی کپور نقره‌ای در تیمارهای مختلف، طی زمان نگه‌داری در یخچال در جدول ۱ نشان داده شده است. طبق نتایج حاصله (جدول ۱)، مقادیر کل باکتری‌های قابل‌رویت در تمامی نمونه‌ها روندی افزایشی داشته ولی این روند افزایشی در روز پایانی آزمایش در تیمارهای فرم نانوکپسوله اسفرزه‌کننده از تیمارهای معمولی بوده است ($P < 0.05$). نتایج آنالیز واریانس نشان می‌دهد که تغییرات TVC در تیمارهای مختلف از روز ۳ تا ۱۲ روز دارای اختلاف معنی‌داری است ($P < 0.05$).

جدول ۱. تاثیر اشکال معمولی و نانو کپسوله اسفرزه بر شاخص TVC در تیمارهای مختلف فیله ماهی کپور نقره‌ای در طی نگهداری در یخچال

روز	شاهد	فرم معمولی اسفرزه %۰/۱	فرم معمولی اسفرزه %۰/۳	فرم نانو کپسوله اسفرزه %۰/۱	فرم نانو کپسوله اسفرزه %۰/۳
۳	cD	bD	aD	aD	aD
	۶/۰±۰/۰۳	۵/۰±۳۳/۰۲	۵/۴۶±۰/۰۲	۵/۵۰±۰/۰۳	۵/۴۵±۰/۰۱
۶	bC	aC	aC	aC	aC
	۷/۸۲±۰/۰۹	۶/۲۱±۰/۰۵	۶/۴۰±۰/۰۱	۶/۴۹±۰/۰۳	۶/۴۱±۰/۰۶
۹	cB	aB	aB	aB	aB
	۸/۷۶±۰/۰۴	۷/۴۴±۰/۰۲	۷/۵۱±۰/۰۳	۷/۵۳±۰/۰۷	۷/۵۷±۰/۰۷
۱۲	dA	cA	bA	bA	aA
	۱۱/۰±۰۲/۰۷	۸/۴۶±۰/۰۴	۸/۳۰±۰/۰۵	۸/۲۶±۰/۰۵	۸/۰±۰/۰۶

میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار از ۳ تکرار. حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار ($P < ۰/۰۵$) یک تیمار در روزهای مختلف می باشد. حروف کوچک متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار ($P < ۰/۰۵$) در یک روز برای تیمارهای مختلف می باشد.

در مطالعه حاضر، الگوی افزایش مقادیر PTC (بر حسب logCFU/g) همه تیمارها مشابه با الگوی تغییرات TVC بوده، در حالیکه PTC مقادیر پائین تری از TVC داشت. با توجه به **جدول ۲** می توان مشاهده کرد که شاخص PTC در طی دوره نگهداری برای همه تیمارها افزایش معنی داری ($P < ۰/۰۵$) داشت. مطابق نتایج ذکر شده در جدول، مقدار PTC در تمامی تیمارهای این آزمایش در روز ۱۲ بیشترین میزان و در روز سه کمترین میزان بود و بین زمانهای مختلف آزمایش در همه تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی دار مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$) ولی میزان PTC فیله ماهیان در کلیه تیمارها در روز ۳ و ۶ تفاوت معنی داری با هم نداشت ($P < ۰/۰۵$).

جدول ۲. تاثیر اشکال معمولی و نانو کپسوله اسفرزه بر شاخص PTC در تیمارهای مختلف فیله ماهی کپور نقره‌ای در طی نگهداری در یخچال

روز	شاهد	فرم معمولی اسفرزه %۰/۱	فرم معمولی اسفرزه %۰/۳	فرم نانو کپسوله اسفرزه %۰/۱	فرم نانو کپسوله اسفرزه %۰/۳
۳	bD	aD	aD	aD	aD
	۶/۰±۸۶/۰۴	۵/۰۹±۰/۰۳	۵/۰±۱۱/۰۳	۵/۰±۲۳/۰۲	۵/۱۵±۰/۰۲
۶	aC	aC	aC	aC	aC
	۷/۱۲±۰/۰۹	۵/۹۴±۰/۰۸	۵/۹۰±۰/۰۵	۵/۹۷±۰/۰۲	۵/۸۳±۰/۰۳
۹	aB	bA	bB	bB	bB
	۹/۱۶±۰/۰۲	۷/۳۰±۰/۰۵	۷/۲۹±۰/۰۴	۷/۱۲±۰/۰۷	۷/۰±۱۰/۰۷
۱۲	aA	bA	bA	bA	cA
	۱۰/۰±۹۶/۰۴	۷/۹۴±۰/۰۳	۷/۷۹±۸۸/۰۵	۷/۴۲±۰/۰۳	۷/۰±۰/۰۶

میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار از ۳ تکرار. حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار ($P < ۰/۰۵$) یک تیمار در روزهای مختلف می باشد. حروف کوچک متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار ($P < ۰/۰۵$) در یک روز برای تیمارهای مختلف می باشد.

مطابق نتایج **جدول ۳**، مقدار LAB در تمامی تیمارهای مورد مطالعه، در روز ۱۲ در بیشترین میزان و در روز سوم در کمترین میزان خود بوده است و بین زمانهای مختلف آزمایش در همه تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی دار مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$). میزان LAB در طی زمان نگهداری در تمامی تیمارها روند صعودی داشته ولی تغییرات این روند افزایشی در تیمارهای دارای فرم معمولی اسفرزه بیشتر از دو تیمار دارای فرم نانو کپسوله بود ولی از نظر آماری اختلاف معناداری در اکثر مراحل زمانی مورد مطالعه بین آنها مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$).

جدول ۳. تاثیر اشکال معمولی و نانو کپسوله اسفرزه بر شاخص LAB در تیمارهای مختلف فیله ماهی کپور نقره‌ای در طی نگهداری در یخچال

روز	شاهد	فرم معمولی اسفرزه %۰/۱	فرم معمولی اسفرزه %۰/۳	فرم نانو کپسوله اسفرزه %۰/۱	فرم نانو کپسوله اسفرزه %۰/۳
۳	aD	cD	bD	bD	bD
	۳/۰±۳۷/۱۰	۲/۱۹±۰/۰۷	۲/۳۳±۰/۰۵	۲/۳۸±۰/۰۱	۲/۴۲±۰/۰۱
۶	aC	bC	bC	bC	cC
	۴/۶۹±۰/۱۲	۳/۵۶±۰/۰۸	۳/۵۳±۰/۰۳	۳/۴۷±۰/۰۲	۳/۳۸±۰/۰۲
۹	aB	cB	cB	bB	cB
	۵/۸۹±۰/۱۶	۴/۲۸±۰/۱۱	۴/۳۴±۰/۰۱	۴/۵۰±۰/۰۲	۴/۲۱±۰/۰۱
۱۲	aA	bA	bA	bA	bA
	۷/۰±۰۶/۱۷	۴/۹۴±۰/۰۳	۴/۸۹±۰/۰۲	۴/۸۲±۰/۰۴	۴/۸۱±۰/۰۵

میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار از ۳ تکرار. حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار ($P < ۰/۰۵$) یک تیمار در روزهای مختلف می باشد. حروف کوچک متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار ($P < ۰/۰۵$) در یک روز برای تیمارهای مختلف می باشد.

بر طبق نتایج (جدول ۴) جمعیت باکتری استرپتوکوکوس اینیایی در تمامی تیمارها در طی آزمایش روندی افزایشی داشته به طوریکه بین زمانهای مختلف آزمایش در بیشتر تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی دار مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$). تعداد باکتری استرپتوکوکوس اینیایی در کلیه تیمارها در زمان ۳ تفاوت معنی داری با هم نداشت ($P > ۰/۰۵$). نتایج حاصل نشان دهنده آن است که در روز پایانی آزمایشات میزان رشد جمعیت باکتری استرپتوکوکوس اینیایی در تیمارهای آزمایشی به طور معنی داری کمتر از تیمار شاهد بود و میزان این باکتری در تیمار ۳/۰% فرم نانو کپسوله به طور معنی داری کمتر از سایر تیمارها بود ($P < ۰/۰۵$).

جدول ۴. تغییرات تعداد باکتری استرپتوکوکوس اینیایی در تیمارهای مختلف ماهی کپور نقره‌ای در زمانهای مختلف نگهداری در یخچال

تیمار	شاهد	فرم معمولی اسفرزه %۰/۱	فرم معمولی اسفرزه %۰/۳	فرم نانو کپسوله اسفرزه %۰/۱	فرم نانو کپسوله اسفرزه %۰/۳
۳	aD ۶/۲۳±۰/۰۵۲	۵/۷۷±۰/۰۳۶bD	۵/۷۲±۰/۰۳۸bD	۵/۸۱±۰/۰۴۱bD	۵/۶۹±۰/۰۳۹bD
۶	aC ۷/۵۹±۰/۰۶۸	۶/۱۵±۰/۰۸۷cC	۶/۱۸±۰/۰۹۲cC	۶/۳۷±۰/۰۷۶bC	۶/۱۴±۰/۰۷۹cbC
۹	aB ۸/۱۱±۰/۰۸۴	۶/۸۷±۰/۰۴۶bB	۶/۸۴±۰/۰۵۸bB	۷/۰۷±۰/۰۶aB	۶/۸۱±۰/۰۸۴bB
۱۲	aA ۹/۴۹±۰/۱۲۸	۷/۳۵±۰/۰۹۳bA	۷/۴۳±۰/۰۸۳bA	۷/۳۰±۰/۰۵۵bA	۷/۰۶±۰/۰۳۴cA

میانگین هر تیمار و تکرار آن $\pm$ انحراف معیار از هر تیمار و تکرار آن حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) در روز های مختلف نمونه برداری برای یک تیمار مشخص و حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) در یک روز برای تیمار های مختلف می باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

عصاره‌های گیاهی به عنوان ترکیبات ضد میکروبی یکی از منابع بالقوه مفید به عنوان ماده بازدارنده از رشد میکروب‌ها می‌باشند (رومیانی، ۱۳۹۱). با توجه به نگرانی‌های بوجود آمده در مورد استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی و اثرات مضر احتمالی آنها، گرایش به استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی روندی رو به رشد داشته است (Sani et al., 2024). نگهدارنده‌های مورد استفاده در مواد غذایی با ترکیبات مختلف از جمله پروتئین‌ها، چربی‌ها و آنزیم‌ها واکنش داده و از اثرات آنها کاسته می‌شود. یکی از روش‌های پایداری مواد نگهدارنده استفاده از روش ریزپوشانی کردن می‌باشد. از مزایای ریزپوشانی کردن می‌توان به افزایش پایداری مواد ریزپوشانی شده به وسیله محافظت آنها از تغییرات محیطی، آنزیمی، شیمیایی، فراهم کردن حالت بافری، پوشش بوهای ناخوشایند، حفظ عصاره و اسانس‌های گیاهی بعنوان مواد نگهدارنده، کاهش و جلوگیری از تمایل ماده ریزپوشانی شده با اجزا ماده غذایی اشاره کرد (Shamloofar et al., 2015; Hasanvand et al., 2021). حقیقات اخیر نشان داده است که نانو کپسوله کردن ترکیبات گیاهی می‌تولند پایداری و اثر ضد میکروبی آنها را در ماتریکس غذایی به طور معنی‌داری افزایش دهد (Soleimanifar et al., 2024).

در این مطالعه برای اولین بار در یک مدل غذایی (گوشت ماهی فیتوفاگ) با استفاده از تکنولوژی ممانعتی سعی به بررسی اثر فرم معمولی و ریزپوشانی شده عصاره گیاه اسفرزه در کنترل باکتری استرپتوکوکوس اینیایی شده است.

تغییرات TVC گوشت ماهی کپور نقره‌ای در طول دوره نگهداری (۱۲ روز) در نمودار و جدول ۱ نشان داده شده است. با توجه به این اصل که بار میکروبی اولیه ماهیان آب شیرین بسته به دما و وضعیت آب تغییر می‌کند، محققین محدوده بین ۲ تا ۶ log cfu/g را برای شمارش کل باکتری های اولیه در گونه های مختلف آب شیرین پیشنهاد داده اند (Ebrahimi Valdani et al., 2023). در این تحقیق میزان TVC اولیه فیلدها در روز سوم ۵/۳۰ log cfu/g محاسبه شد. طبق نتایج حاصله، میزان TVC در تمامی تیمارها در طول زمان روندی افزایشی داشت؛ به‌طوری‌که در روز ۳ کمترین و در روز ۱۲ بیشترین مقدار را داشت. همچنین اختلاف معنی‌داری بین زمان‌های مختلف آزمایشات مشاهده شد، ولی

این روند افزایشی در تیمارهای فرم معمولی اسفرزه کندتر از تیمارهای نانوکپسوله بوده است ($P < 0.05$). نتایج سایر محققان از جمله Ojagh و همکاران (۲۰۱۰) و Ebrahimi Valdani و همکاران (۲۰۲۳) نیز نشان‌دهنده افزایش شاخص TVC در طول دوره نگهداری ماهی در دمای یخچال بود. بیشترین حد پیشنهاد شده برای TVC در فیله ماهیان $7 \log \text{CFU/g}$ است که در مطالعه حاضر پس از ۶ تا ۹ روز نگهداری فیله کپور نقره‌ای در دمای ۴ درجه یخچال به محدوده استاندارد پیشنهادی خود رسید. کاویانی چراتی و همکاران (۱۳۹۷) در مطالعه بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در دمای $14 \pm$ درجه سانتی‌گراد بعد از ۶ تا ۹ روز، شیخی کوهسار و همکاران (۱۳۹۷) در مطالعه بر روی ماهی کپور نقره‌ای در شرایط نگهداری در یخچال پس از ۹ روز نگهداری، Shamloofar و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان بسته‌بندی شده با اتمسفر تغییر یافته پس از ۱۶ روز نگهداری در یخچال به محدوده حداکثر پیشنهاد شده برای TVC رسیدند. نتایج مطالعه حاضر نشان‌دهنده آن است که استفاده از فرم نانوکپسوله گیاه اسفرزه تفاوت معنی‌داری نسبت به فرم معمولی آن در کاهش تعداد باکتری کل نداشته است. این در حالی است که استفاده از مواد ضد میکروبی طبیعی برای به تعویق انداختن زمان رسیدن TVC در مطالعات محققین مختلف گزارش گردیده است. در پژوهش کاویانی چراتی و همکاران (۱۳۹۷) روند افزایشی در تیمارهای انکپسوله کندتر بوده، به‌طوری‌که تفاوت بین تیمارهای انکپسوله رازیانه به‌ویژه در غلظت ۰/۳ درصد با تیمارهای فرم معمولی در طی نمونه‌گیری معنی‌دار بوده است ($P < 0.05$) دلیل این امر را آزادسازی تدریجی پلی‌فنول‌های فرم انکپسوله رازیانه دانسته‌اند که احتمالاً تأثیر باکتریواستاتیک بر فلور باکتری‌های کلی داشته، ولی با این وجود اثر مذکور تا دوام داشته و باکتری فرصت رشد مجدد پیدا نمی‌کند. در حالی که در فرم معمولی رازیانه به دلیل آن که تأثیر باکتریواستاتیک عصاره موقتی بوده و عصاره در طولانی‌مدت قادر به حفظ این اثر نمی‌باشد، فلور کلی باکتری‌ها مجدداً رشد کرده و منجر به تسریع در فرایند فساد می‌گردد. لازم به ذکر است که قدرت ضد میکروبی عصاره‌ها به محل و تعداد گروه‌های هیدروکسی روی حلقه فنلی بستگی دارد (Shan et al., 2007). انکپسوله کردن عصاره در پژوهش حاضر جهت محافظت عصاره در ترکیب با محتویات غذایی و همچنین جهت رهاسازی طولانی‌مدت‌تر عوامل ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی مؤثر موجود در عصاره در طول زمان ماندگاری و حفظ هر چه بیشتر ارزش غذایی فیله ماهی انجام شد.

باکتری‌های سرمادوست گرم‌منفی از جمله عوامل عمده ایجاد فساد در محصولات غذایی هستند. این باکتری‌ها قادرند در صفر درجه و بیشتر فعالیت نموده و پس از گذراندن مرحله سکون یا فاز تأخیری و مطابقت با محیط به سرعت وارد فاز لگاریتمی شده و در شرایط بی‌هوازی تکثیر پیدا می‌کنند و مسئول اصلی فساد ماهی تازه نگهداری شده به صورت سرد هستند (Ojagh et al., 2010; Hasanvand et al., 2021; Baptista et al., 2024). تغییرات PTC فیله ماهی کپور نقره‌ای در طول دوره نگهداری (۱۲ روز) در جدول ۲ آمده است. میزان اولیه فیله‌های کپور نقره‌ای در این تحقیق در تمامی تیمارها تقریباً یکسان و برابر $5.0 \pm 1.1/0.8$ بود که نشان‌دهنده تازگی این ماهی است. در تحقیق Ojagh و همکاران (۲۰۱۰) بر روی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در دمای یخچال میزان PTC اولیه برابر با $3.85 \log \text{CFU/g}$ و در تحقیق کاویانی چراتی و همکاران (۱۳۹۷) بر تأثیر عصاره رازیانه بر فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان میزان PTC اولیه $4.4 \log \text{CFU/g}$ گزارش شد. الگوی افزایش مقادیر PTC مشابه با الگوی تغییرات TVC بوده ولی PTC مقادیر پائین‌تری از TVC داشت. طبق نتایج حاصله، میزان PTC در تمامی تیمارها در طول زمان نگهداری روندی افزایشی داشت؛ به‌طوری‌که در روز ۳ کمترین و در روز ۱۲ بیشترین مقدار را داشت. همچنین اختلاف معنی‌داری بین زمان‌های مختلف آزمایشات مشاهده شد ($P < 0.05$) که با نتایج بدست آمده توسط Shamloofar و همکاران (۲۰۱۵) و Ebrahimi Valdani و همکاران (۲۰۲۳) مطابقت داشت. بیشترین حد پیشنهاد شده برای PTC نیز در فیله ماهیان $7 \log \text{CFU/g}$ است که در مطالعه حاضر پس از ۶ تا ۹ روز نگهداری فیله کپور نقره‌ای در دمای ۴ درجه یخچال به محدوده استاندارد پیشنهادی خود رسید (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۲; Tukmechi et al., 2010). در پایان دوره (روز ۱۲) همه تیمارها خارج از محدوده استاندارد خود قرار داشتند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که نانوکپسوله کردن اسفرزه تأثیر معنی‌داری در کاهش مقادیر PTC در مقایسه با فرم معمولی نداشت، هرچند که این روند افزایشی در تیمارهای دارای فرم نانوکپسوله کمتر از دو تیمار دیگر فرم معمولی اسفرزه بود (Tukmechi et al., 2010; Tajkarimi et al., 2010) فعالیت آنتی‌میکروبی و آنتی‌باکتریایی عصاره‌های بره‌موم را به حضور ترکیباتی همچون کافئیک اسید،

استرهای کافتات و فلاونوئیدها نسبت دادند. Frangos و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که باکتری‌های سرماگرا در فیله‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان تیمار شده با ترکیب نمک‌سود و بسته‌بندی شده تحت خلا و اسانس پونه کوهی ۰/۴٪ و ۰/۲٪ طی ۱۸ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به محدوده حداکثر پیشنهاد شده نرسیدند، در حالی که فیله‌های بسته‌بندی شده با هوا و نمک‌سود شده در روز ۹ به $\log \text{CFU/g}$ ۸/۳۸ و فیله‌های بسته‌بندی شده با هوا بدون نمک‌سود در روز ۹ به $\log \text{CFU/g}$ ۸/۹۸ رسیدند که نشان‌دهنده ویژگی ضد میکروبی اسانس پونه کوهی می‌باشد.

تغییرات LAB فیله ماهی کپور نقره‌ای در طول دوره نگهداری (۱۲ روز) در جدول ۳ نشان داده شده است. میزان LAB اولیه گوشت فیله‌های ماهی کپور نقره‌ای در این مطالعه در تمامی تیمارها تقریباً برابر $2/0 \pm 33/2$ بود و تفاوت معنی‌داری میان تیمارها مشاهده نشد ($P > 0/05$) با توجه جدول ۳ می‌توان مشاهده کرد که شاخص LAB در طی دوره نگهداری برای تمامی تیمارها افزایش معنی‌داری ($P > 0/05$) داشت. در پایان دوره بیشترین میزان LAB برای تیمار فرم معمولی اسفرزه با غلظت ۰/۱٪ و کمترین میزان برای تیمار فرم نانوکپسوله اسفرزه با غلظت ۰/۳٪ بود. البته میزان نهایی LAB در تمامی تیمارهای مورد مطالعه نزدیک به هم بود و اختلاف معنی‌داری مابین آنها مشاهده نشد ($P > 0/05$). در این مطالعه نانوکپسوله کردن گیاه اسفرزه باعث کندتر شدن روند افزایشی تعداد LAB فیله‌های کپور نقره‌ای در مقایسه با فرم معمولی آن گردید که با نتایج محققین زیر نیز سازگار می‌باشد. اعتمادی و همکاران (۱۳۷۸) گزارش کردند که ماهی قزل‌آلای تیمار شده با عصاره رزماری (۰/۱٪) مقادیر کمتری از باکتری‌های اسید لاکتیک را در مقایسه با نمونه‌های شاهد در طی دوره نگهداری در دمای 1 ± 2 نشان دادند. Atrea و همکاران (۲۰۰۹) بیان نمودند که میزان پائین‌تری از باکتری‌های اسید لاکتیک در نمونه‌های هشت‌پای تیمار شده با اسانس پونه کوهی بسته‌بندی تحت خلا نسبت به نمونه‌های شاهد در طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد وجود دارد. Frangos و همکاران (۲۰۰۹) بیان داشتند که فیله‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان تیمار شده با ترکیب اسانس پونه کوهی و نمک‌سود شده و بسته‌بندی تحت خلا مقدار کمتری از باکتری‌های اسید لاکتیک را نسبت به فیله‌های شاهد طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نشان دادند. بیشترین حد پیشنهاد شده برای LAB نیز در فیله ماهیان $\log \text{CFU/g}$ ۷ است (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۲؛ Tukmechi et al., 2010). در این آزمایش تا روز ۱۲ آزمایشات میزان LAB در هیچ‌یک از تیمارها به حد $\log \text{CFU/g}$ ۷ نرسید. این نشان می‌دهد که عمر ماندگاری فیله‌ها در دو تیمار نانوکپسوله و فرم معمولی اسفرزه در دمای یخچال از نظر شاخص LAB برابر ۱۲ روز می‌باشد.

در این مطالعه برای اولین بار در یک مدل غذایی (فیله کپور نقره‌ای) با استفاده از تکنولوژی ممانعتی سعی به بررسی اثر فرم معمولی و نانوکپسوله در کنترل باکتری استرپتوکوکوس اینیایی، باکتری نوظهور مواد غذایی شده است. تغییرات باکتری استرپتوکوکوس اینیایی فیله‌های ماهی کپور نقره‌ای در تیمارهای مختلف، طی ۱۲ روز نگهداری در جدول ۴ آمده است. از آنجاکه میزان تلقیح باکتری به فیله ماهیان در ابتدای آزمایشات $\log \text{cfu/g}$ ۵ بود، شمارش اولیه باکتری استرپتوکوکوس اینیایی در زمان ۳ آزمایشات $5/69 \pm 0/17$ بود و تعداد باکتری استرپتوکوکوس اینیایی در کلیه تیمارها به غیر از تیمار شاهد در زمان ۳ تفاوت معنی‌داری با هم نداشت تعداد باکتری استرپتوکوکوس اینیایی در تمامی تیمارها در طی آزمایش روندی افزایشی داشت، به‌طوری‌که بین زمان‌های مختلف آزمایش در بیشتر تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P < 0/05$). Chobkar و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیقی میزان رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس را در فیله‌های ماهی کپور نقره‌ای فرآوری شده با نمک و نیسین بررسی کردند. طبق نتایج چوبکار، در روز صفر تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف از نظر لگاریتم تعداد باکتری‌ها مشاهده نشد اما در روز یک افزایش معنی‌داری در میزان باکتری در تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد، ولی بین تیمارهای غلظت‌های مختلف نمک و نیسین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان‌دهنده آن است که روند افزایش تعداد باکتری استرپتوکوکوس اینیایی در تیمارهای نانوکپسوله اسفرزه نسبت به فرم معمولی آن، بطی‌تر بوده است. مشابه مطالعه حاضر، رومیانی (1392) به بررسی اثرات ضد باکتریایی غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز و نیسین در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان به منظور مهار باکتری استرپتوکوکوس اینیایی در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد پرداخت. نتایج نشان داد که استفاده توأم از اسانس زیره سبز و نیسین تاثیر معنی‌داری در

کنترل و کاهش باکتری فوق در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان داشته است. تحقیقات جدید نیز نشان داده‌اند که استفاده از نانوکپسول‌های حاوی عصاره‌های گیاهی می‌تواند اثر ضد میکروبی مؤثرتری علیه پاتوژن‌های غذایی در محصولات شیلاتی داشته باشد (Hamad et al., 2026; Mahmoodabad et al., 2025).

مطابق نتایج ذکر شده در جدول ۴، مقدار باکتری استرپتوکوکوس اینیایی در تمامی تیمارهای این آزمایش در روز ۱۲ بیشترین میزان و در روز ۳ کمترین میزان بود و بین زمان‌های مختلف آزمایش در بیشتر تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P < 0.05$) این نتایج نیز با نتایج کلی چوبکار و همکاران (۲۰۱۰) بر روی میزان رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در فیله‌های ماهی کپور نقره‌ای فرآوری شده با نمک و نیسین و نتایج رومیانی (۱۳۹۱) و رومیانی (۱۳۹۲) بر روی میزان رشد باکتری استرپتوکوکوس اینیایی در فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان فرآوری شده با زیره سبز و نیسین و رزماری و نیسین همخوانی دارد. زیرا نتایج آنها نشان داد که در تمامی تیمارهای مختلف زیره سبز و نیسین و رزماری و نیسین میزان رشد باکتری استرپتوکوکوس اینیایی همواره در طول زمان آزمایشات روند افزایشی داشت. نتایج تحقیقات مختلف نشان‌دهنده آن است که استفاده از ترکیبات و نگهدارنده‌های گیاهی منجر به کند شدن روند افزایشی میکروب‌های بیماری‌زای غذایی می‌شود، به عنوان مثال می‌توان به تحقیقات زیر اشاره داشت (Hasanvand et al., 2021; Soleimanifar et al., 2024). محمودی (۱۳۹۱) تاثیر اسانس آویشن شیرازی و نیسین به تنهایی و به صورت ترکیبی با هم در مدل غذایی برای مهار لاکتوکوکوس گارویه در یک دوره ۹ روزه را مورد مطالعه قرار داد. نتایج حاصله نشان داد استفاده توأم از این دو ترکیب بیشترین اثر علیه باکتری لاکتوکوکوس گارویه داشته است. با توجه به نتایج جدول ۴، در روز ۱۲ تیمار نانوکپسوله با غلظت ۰/۳٪ بیشترین توان را در کاهش تعداد باکتری و تیمار فرم معمولی اسفرزه با غلظت ۰/۱٪ کمترین توان را در کاهش تعداد باکتری استرپتوکوکوس اینیایی دارا بود. نتایج رومیانی (۱۳۹۱) و رومیانی (۱۳۹۲) مؤید تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای رزماری و نیسین و زیره سبز و نیسین (مخصوصاً در غلظت‌های بیشتر) در کاهش معنی‌دار رشد باکتری استرپتوکوکوس اینیایی در مقایسه با تیمار شاهد در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان در طی مدت ۱۵ روز نگهداری در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد بود، که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد، به‌طوری‌که غلظت‌های ۰/۳٪ اسفرزه در هر دو فرم معمولی و نانوکپسوله قدرت بیشتری در کاهش تعداد باکتری استرپتوکوکوس اینیایی در مقایسه با غلظت ۰/۱٪ از خود نشان داد. در مطالعه حاضر هر دو فرم نانوکپسوله و معمولی اسفرزه توانستند که تا ۹ روز تعداد باکتری استرپتوکوکوس اینیایی را کمتر از محدوده استاندارد (۷ log cfu/g) نگهدارند.

در پژوهشی که انجام شد معلوم گردید که اثر افزایش عصاره معمولی اسفرزه در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان حاوی جمعیت میکروبی استرپتوکوکوس اینیایی، در مقایسه با افزودن این ترکیب آنتی باکتریال فرم انکپسوله کاملاً مشهود است ($P > 0.05$). این روند نشانگر تأثیر حفاظتی فرم انکپسوله و تضمین پایداری آن در طول نگهداری، جلوگیری از واکنش با سایر ترکیبات موجود در محیط در طی زمان و در نتیجه ممانعت از کاهش فعالیت عصاره اسفرزه بود.

References

۱. ابراهیمی ولدانی، م.، یوسف‌پور، م.، شاملوfer، م.، و مهدیخانی، ش. (۱۴۰۳). بررسی تأثیر پوشش کیتوزان-صمغ دانه چیا بر برخی از خواص شیمیایی، میکروبی و حسی ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) طی مدت نگهداری در دمای یخچال. مجله علوم و صنایع غذایی ایران، 21(153).
۲. اعتمادی، ح.، رضایی، م.، عابدیان، ع. ۱۳۸۷. پتانسیل آنتی باکتریایی و آنتی اکسیدانی عصاره رزماری *Rosmarinus officinalis* در افزایش عمر ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss*. فصلنامه علوم و صنایع غذایی. ۴: ۶۷-۷۷.
۳. ربیعی، ث.، حسینی، ه.، رضایی، م.، & موسوی، ط. (۱۳۹۲). بررسی اثر بازدارندگی اسانس زنیان بر رشد باکتری *Listeria monocytogenes* در محیط عصاره و گوشت ماهی سفید دریای خزر. (*Rutilus frisii kutum*). نشریه علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، (پیاپی ۳۱)، تابستان.

۴. رومیانی، ل.، ۱۳۹۱. مطالعه تاثیر اسانس رزماری و نیسین بر رفتار رشد باکتری استرپتوکوکوس اینیایی در شرایط آزمایشگاهی و بر روی فیله ماهی قزل آلاي رنگين کمان. پایان نامه دکتری شیلات، دانشگاه معمولی اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، ۱۶۰ ص.
۵. رومیانی، ل.، ۱۳۹۲. فعالیت ضد باکتریایی اسانس زیره سبز و نیسین در مهار باکتری *Streptococcus iniae* در محیط آزمایشگاه و فیله ماهی. مجله علمی شیلات ایران، ۳۲(۳): ۵۹-۵۰.
۶. شرفخانی، س.، & قره‌خانی، ا. (۱۴۰۰). جداسازی فاژ مؤثر بر آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophila*) از فاضلاب و استفاده از آن به منظور مهار رشد باکتری در گوشت چرخ‌شده ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی شیلات ایران، ۳۰(۴): ۱۳-۲۵.
۷. شیخی کوهسار، ع. ا. سیدالنگی، س. ز. شاملوفر، م. شریفیان، ص. ۱۳۹۷. اثر عصاره های مختلف بره موم بر ماندگاری فیله ماهی کپور نقره‌ای در شرایط یخچال: ترکیبات شیمیایی، ارزیابی میکروبی و حسی. علوم و صنایع غذایی شماره ۷۶، دوره ۱۵، ۵۱-۶۵.
۸. کاویانی چراتی، ه. شاملوفر، م. سیدالنگی، س. ز. ۱۳۹۷. تأثیر عصاره معمولی و انکپسوله رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بر رفتار استافیلوکوکوس اورئوس و برخی پارامترهای میکروبی و شیمیایی در فیله ماهی قزل آلاي رنگين کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نگهداری شده در ۴ درجه سانتی گراد. نشریه فن آوری های نوین در توسعه آبی پروری، سال دوازدهم، شماره چهارم. ۶۱-۷۲.
۹. محمدی، ی.، زنده‌بودی، ج.، و کیوان‌فر، ن. (۱۴۰۱). بررسی اثر واکسن‌های تکی و ترکیبی استرپتوکوکوس اینیایی و ویرو هارویی روی آنزیم‌های گوارشی بچه ماهیان آسیایی (*Lates calcarifer*). مجله زیست‌شناسی دریا (دانشگاه معمولی اهواز)، ۱۴(۴): ۱-۱۴.
۱۰. محمودی، آ. ۱۳۹۱. مطالعه تاثیر اسانس آویشن شیرازی و نیسین بر رفتار رشد لاکتوکوکوس گارویه روی فیله ماهی قزل آلاي رنگين کمان. پایان نامه دکتری شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی. ۱۴۶ صفحه.
۱۱. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. ۱۳۸۲. میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - شمارش میکروارگانیسم‌های سرما دوست (کریوفیلیک) - روش آزمون. استاندارد ملی ایران، شماره ۲۶۲۹.
12. Abdollahi, M., Rezaei, M., & Farahmandfar, R. (2023). A comprehensive review on natural preservatives for seafood: Current status and future perspectives. Trends in Food Science & Technology, 135, 45-62.
13. AHPA. (2014). Plantago ovata (seed husk). In AHPA Botanical Identity References Compendium. American Herbal Products Association.
14. Atrea, I., Papavergou, A., Amvrosiadis, I., Savvaidis, I. N. 2009. Combined effect of vacuum-packaging and oregano essential oil on the shelf-life of Mediterranean octopus (*Octopus vulgaris*) from the Aegean Sea stored at 4 °C. Food Microbiology 26 : 166–172.
15. Baptista, R.C., et al. (2024). Chilled Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) fillets: Modeling Pseudomonas spp. and psychrotrophic bacteria growth and monitoring spoilage indicators by 1H NMR and GC-MS during storage. International Journal of Food Microbiology, 415, 110645. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2024.110645.
16. Beyki, M., Zhavah, S., Khalili, S.T., Rahmani-Cherati, T., Abollahi, A., Tabatabaei, M. and Mohsenifar, A., 2014. Encapsulation of Mentha piperita essential oils in chitosan-cinnamic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against Aspergillus flavus. Industrial Crop Product, 2014: 54 (1): 310–319.
17. Cao, R., Liu, Q., Chen, S., Yang, X., & Li, L. (2015). Application of Lactic Acid Bacteria (LAB) in freshness keeping of tilapia fillets as sashimi. Journal of Ocean University of China, 14(4), 675-680.
18. Choobkar, N., Soltani, M., Ebrahimzadeh Mousavi, H. A., Akhonzadeh Basti, A. and Matinfar, A., 2010. Effect of Zataria multiflora Boiss essential oil on the growth of *Staphylococcus aureus* in the light salted fillets of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). Iranian Journal of Fisheries Sciences, 9(3): 352-359.

19. Ebrahimi valdani, M., Yousefpour, M., M, Shamloofar., Shadi Mehdikhani. 2023. Evaluation Of Some Chemical, Microbial And Sensory Properties Of Silver Carp Fillets (*Hypophthalmichthys Molitrix*) Coated By Chitosan-Chia Gum Enriched With Nanoencapsulated Bay Leaf Essential Oil: Stored At Refrigerator Temperature. PERIODICO di MINERALOGIA, 92:6 .439-462.
20. Frangos, L., Pyrgotou, N., Giatrakou, V., Ntzimani, A., & Savvaidis, I. N. (2010). Effect of salting and vacuum-packaging on the quality and shelf-life of rainbow trout fillets with oregano essential oil. Food Microbiology, 27(5), 637-644.
21. Hamad, G. M., Abushaala, N. M., Elshamandy, N. K. F., & Ibrahim, D. R. K. (2026). Protective efficacy of nanoencapsulation of algal extract for preventing and controlling Clostridium botulinum in fish products. Food Microbiology, 133, 104889.
22. Hasanvand, E., Fathi, M., & Bassiri, A. (2021). Nanoencapsulation of Zataria multiflora essential oil: Preparation, characterization, and its antibacterial effect on rainbow trout fillet during refrigerated storage. Food Science & Nutrition, 9(8), 4245-4256.
23. Jamilah, M. B., Patel, A. K., & Singh, M. (2022). Phytochemical profiling and antibacterial mechanism of Plantago ovata seed extract against foodborne pathogens. LWT - Food Science and Technology, 165, 113742.
24. Mexis, S.F. Chouliara, E. Kontominas, M.G. 2009. Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf life extension of rainbow trout fillets stored at 4 °C. Food Microbiology 26 : 598–605.
25. Mahmodabad, F. P., Ahari, H., Moslemi, M., & Anvar, A. (2025). Enhanced preservation of green tiger shrimps (*Fenneropenaeus semisulcatus*) using polylactic acid films with nettle-extract-based silver nanoparticles: a study of photo-assisted and ultrasonic-assisted synthesis methods. Food Chemistry: X, 31, 103034.
26. Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H. and Hosseini, S.M.H., 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry, 120: 193–198.
27. Podineh, A., Alizadeh Doughikollae, E., Shahriari Moghadam, M., & Ahmadifar, E. (2020). Effect of Zataria multiflora essential oil with absorbent pad on the quality and shelflife of Hypophthalmichthys molitrix fillet during refrigerated storage. Iranian Scientific Fisheries Journal, 29(5), 1-14.
28. Özyurt, G., Kuley, E., Özkütük, S. and Özogul, F., 2009. Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbatus*) and goldband goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. Food Chemistry, Vol.114, pp.505-510.
29. Sani, I. K., Ehsani, A., & Hashemi, M. (2024). Nanophytosome-functionalized active packaging films for preservation of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry: X, 29, 102708.
30. Soleimanifar, M., Jafari, S. M., & Assadpour, E. (2024). Evaluating shelf life and anti-browning of shrimp by chitosan-coated nanoliposome loaded with licorice root extract. Food Chemistry: X, 23, 101532.
31. Shamloofar, M., Hoseini, E., Kamali, A., Motalebi Moghanjoghi, A. A. and Poorgholm, R., 2015. Antibacterial activities of nisin encapsulated in zein and modified atmosphere packaging on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet during chilled storage (4°C). Iranian Journal of Fisheries Sciences, 14(2), 369–381.
32. Shan, B., et al., 2007. Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against foodborne pathogenic bacteria, J. Agric. Food Chem. 55 (14), 5484-90.
34. Shoemaker, C. A., Klesius, P. H., & Evans, J. J. (2021). *Streptococcus iniae*: An emerging zoonotic pathogen in aquaculture. Annual Review of Animal Biosciences, 9, 315-338.

35. Tajkarimi, M., Ibrahim, S., and Cliver, D. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food control, 21(9):1199-1218.
36. Tukmechi, A., Ownagh, A., and Mohebbat, A. 2010. *In vitro* antibacterial activities of ethanol extract of iranian propolis (EEIP) against fish pathogenic bacteria (*Aeromonas hydrophila*, *Yersinia ruckeri* & *Streptococcus iniae*). Brazilian Journal of Microbiology, 41(4):1086-1092.
37. Weinstein, M. R., Litt, M., & Kertesz, D. A. (2022). Invasive infections due to *Streptococcus iniae* in North American aquaculturists: A 20-year retrospective. Clinical Infectious Diseases, 74(3), 411-418.
38. World Health Organization (WHO). (2022). WHO estimates of the global burden of foodborne diseases. Geneva: WHO Press.
39. Yousefi, M., Khorshidian, N., & Hosseini, H. (2024). Recent advances in nanoencapsulation of plant-derived antimicrobials for food preservation: A review. Food Chemistry, 435, 137558.