Archive of SID

مجله پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد 3/ 20 شماره 1/ سال 1389

اثر ضد میکروبی اسانس پونه کوهی و *لاکتوباسیلوس کازئی* بر *استافیلوکوکوس اورئوس* در پنیر سفید ایرانی

رزاق محمودی[1]، علی احسانی[*2]، حسین تاجیک[3]، افشین آخوندزاده بستی[4]، اصغر خسرو شاهی اصل [5]

تاریخ دریافت:89/01/16 تاریخ پذیرش:89/04/16

1- دستیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
2- استادیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
3- دانشیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
4- استاد گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
5- استاد گروه علوم وصنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
*مسئول مکاتبه Email:ehsani@urmia.ac.ir.com

چکیده

تقاضای مصرف کنندگان سبب ایجاد زمینه های جدید در راستای استفاده از ترکیبات ضد میکروبی طبیعی در صنعت غذا شده است. بر اساس تکنولولوژی هاردل در زمینه نگهداری مواد غذایی، استفاده ترکیبی از نگهدارنده های طبیعی شامل اسانس های گیاهی و پروبیوتیک ها جهت دستیابی به سطح بالایی از سلامت، بهداشت و ماندگاری محصولات غذایی، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. این مطالعه به منظور ارزیابی اثرات ضدمیکروبی اسانس پونه کوهی و *لاکتوباسیلوس کازئی* به عنوان باکتری پروبیوتیک بر *استافیلوکوکوس اورئوس* در پنیر سفید ایرانی انجام شد. اسانس گیاه مذکور به روش تقطیر با بخار آب استخراج و ترکیب آن با دستگاه گازکروماتوگرافی طیف سنج جرمی GC/MS تعیین گردید. سپس رفتار رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* تحت تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس و پروبیوتیک (به تنهایی و توام) در زمان‌های مختلف تولید، رسیدن و نگهداری پنیر مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اسانس مذکور در دو غلظت 0/015 و 0/03 درصد در تیمار توام با پروبیوتیک از بالاترین تاثیر بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* بر خوردار بوده و میزان کاهش آن در انتهای دوره نگهداری در تیمار های فوق به ترتیب 1/89 و 2/32 لگاریتم بیش از گروه کنترل بود. همچنین بهترین غلظت اسانس از نظر ممانعت رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و نیز از نظر تولید پنیر با خواص طعمی مطلوب غلظت 0/015 درصد در تیمار توام با باکتری پروبیوتیک بود. اثر سینرژیستی بین حالت‌های مختلف اسانس و پروبیوتیک در مقایسه با تیمار کنترل و تیمارهای دارای اسانس و فاقد پروبیوتیک معنی دار بود. در صورت استفاده توام اسانس با پروبیوتیک می‌توان از غلظت‌های پایین تری از اسانس برای اثر مهارکنندگی مشهود، استفاده کرد.

واژه های کلیدی: پنیر سفید ایرانی، *لاکتوباسیلوس کازئی*، پونه کوهی، *استافیلوکوکوس اورئوس*.

www.SID.ir

Archive of SID

Antimicrobial effects of *Mentha Longifolia L.* Essential oil and *Lactobacillus casei* against *Staphylococcus aureus* in Iranian White Cheese

R Mahmoudi[1], A Ehsani[2*], H Tajik[3], A Akhonzade Basti[4] and A Khosrowshahi[5]

Received 5 April 2010; Accepted 7 July 2010

[1]Assistance of Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Iran
[2]Assistance Professor of Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Iran
[3]Associated Professor of Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Iran
[4]Professor of Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of University of Tehran, Iran
[5]Professor of Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Iran
*Corresponding author, Email: ehsani@urmia.ac.ir.com

Abstract

Consumer demands have led to a renewed interest in using natural antimicrobial for food products. Biopreservatives such as essential oils and Probiotics have recently gained an increased attention to achieve an enhanced level of product safety and stability in food preservation industry. The study was designed to evaluate the antimicrobial effect of *Mentha Longifolia L*. essential oil in combination with *Lactobacillus casei* on *Staphylococcus aurous* in Iranian white cheese. The essential oil of this plant was obtained by steam distillation and analyzed by GC/MS. Effect of different concentrations of this essential oil and *Lactobacillus casei* on *Staphylococcus aurous* were determined by the growth culture on the selective media at different intervals of production, ripening and storage of Iranian white cheese. It was demonstrated that 0.03% and 0.015% of this essential oil had the highest inhibitory effect on the growth of *Staphylococcus aurous* when it was used in combination with *Lactobacillus casei*, and its reduction rate at the end of the storage period in experimental treatments were 1.89 and 2.32 Log more than the control group respectively. Furthermore, 0.015% of this essential oil combined with *Lactobacillus casei* has not only had the inhibitory effect on the growth *Staphylococcus aureus* but it also maintained concentration of the acceptable range. The synergistic effects between the above mentioned concentration levels of the essential oil and *lactobacillus casei* compared to the control and only essential oil was significant. Thus, the lower concentrations of essential oil can be used when it is combined with the probiotic to exert an inhibitory effect against *Staphylococcus aureus*.

Keyword: Iranian White Cheese, *Lactobacillus casei*, *Mentha Longifolia L*, *Staphylococcus aureus*.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

علی‌رغم پیشرفت‌های نوین در روش های تهیه و تولید مواد غذایی، سلامت و ایمنی مصرف کننده به‌طور روز افزون در بهداشت عمومی اهمیت می یابد. تخمین زده شده است که 30 درصد از مردم در کشورهای صنعتی، یکبار در سال از بیماری‌های غذایی رنج می‌برند. بنابراین هنوز هم نیاز به کاهش یا حذف میکروارگانیسم های پاتوژن غذازاد با استفاده از روش‌های مختلف احساس می‌شود (بورت 2004، اولتی و همکاران 2002). بیماریها و مسمومیتهای مرتبط با مصرف مواد غذایی همواره از مشکلات عمده جهانی بوده و گزارشهای اخیر حاکی از آنست که باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*[1] در زمره عوامل بیماریزای حائز اهمیت در صنعت شیر می باشد. بقای این میکروارگانیسم در انواع مختلف پنیر و مسمومیتهای ناشی از مصرف آنها بخوبی به ثبت رسیده است (تاسو و نیچاس 1994، رادولف و اسچرر 2001، نونز و همکاران 1997). مسمومیت غذایی استافیلوکوکی از مهمترین مسمومیت‌های غذایی به شمار می‌آید بطوریکه ازمجموع حدود 24 میلیون مورد کل مسمومیت های غذایی گزارش شده در کشور ایالات متحده امریکا 8/9 میلیون مورد آن مربوط به *استافیلوکوکوس اورئوس* بوده که بیش از یک سوم موارد کل مسمومیت‌های غذایی در این کشور است (جی 2005، نورمانو 2005). بطور کلی، گزارشهای اخیر حاکی از آنست که این میکروارگانیسم همراه با باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* از مهمترین باکتریهای بیماریزا در ارتباط با صنایع فرآورده های شیر می باشد و بقای آنها در انواع مختلف پنیر های دنیا بخوبی اثبات شده، که خود می تواند عامل ایجاد مسمومیت در مصرف کنندگان محسوب گردد (ژگنز و همکاران، نونز و همکاران 1997). ازآنجا که *استافیلوکوکوس اورئوس* توزیع بسیار گسترده‌ای دارد و حذف کامل آن در بعضی غذاها غیر ممکن است، کنترل رشد آن در غذا ضروری است. بنابراین تلاش برای یافتن نگهدارنده مناسب جهت جلوگیری از رشد این باکتری دارای اهمیت خواهد بود (بلاکبرن و پیتر 2002). امروزه مصرف کنندگان با توجه به اثرات مضر نگهدارنده‌های غذایی شیمیایی و سنتتیک خواهان استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی مشتق از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی هستند تا علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا از اثرات مضر نگهدارنده‌های غذایی شیمیایی مصون باشند (رولر 1995). خصوصیات ضدمیکروبی اسانسهای[2] گیاهی علیه طیف وسیعی از میکروبها، شامل باکتریها، مخمرها و کپکها به اثبات رسیده است (اسمیت و همکاران 2001). گیاه پونه کوهی[3] از اعضاء خانواده *Laminacea* بوده و به صورت یک گیاه چند ساله می باشد. این جنس شامل بیش از 25 گونه است و به صورت وحشی در مناطق مرطوب نواحی مرکزی و جنوب اروپا، جنوب غربی آسیا و شمال آفریقا می روید. ساقه های این گیاه بصورت چند ساله بر افراشته بوده، که در مراحل نهایی بلوغ گیاه به طول 1/5 متر می رسد. برگ های آن به صورت ساده و چسبیده (بدون پایه) به ساقه، به طول 99 میلی متر و عرض 22 میلی متر می باشد. همچنین این گیاه واجد گل های کوچک (به طول 3 میلی متر) به رنگ سفید متمایل به ارغوانی روشن می باشد. از قسمتهای مختلف این گیاه در ترکیب ادویه تجاری به عنوان طعم دهنده در غذا استفاده می شود. خصوصیات درمانی این گیاه در برطرف کردن اختلالات گوارشی، استفراغ، بی اشتهایی، کولیت اولسراتیو و اختلالات کبدی به اثبات رسیده است. همچنین خصوصیات ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی گونه های متعدد این گیاه به خوبی مشخص

[1] Staphylococcus aureus

[2] Essential Oils

[3] *Mentha longifolia* L.

www.SID.ir

Archive of SID

شده است (گولوس و همکاران 2007، کود 1985). پروبیوتیک ها (باکتریهای اسید لاکتیک تولید کننده باکتریوسین از جمله *لاکتوباسیلوس کازئی*[1] وسایر گونه های *لاکتوباسیلوس* ها) به طور گسترده در محصولات لبنی تخمیری از جمله پنیر، ماست و سایر نوشیدنیهای شیر مورد استفاده قرار می گیرند (فیلیپ و همکاران 2006). تاثیرات مطلوب فراوان باکتری های پروبیوتیک در بهبود تعادل میکروفلور دستگاه گوارش، تقویت سیستم دفاعی موکوسی علیه پاتوژنها، افزایش پاسخهای ایمنی، کاهش کلسترول خون و فعالیت ضدسرطانی و ضدمیکروبی آنها، سبب افزایش کاربرد آنها در دسته ای از مواد غذایی موسوم به غذاهای عملگر گردیده و مقبولیت مصرف غذاهای پروبیوتیکی در سراسر جهان را افزایش داده است (اونق و همکاران 2006). اغلب تحقیقات در زمینه اثرات ضد میکروبی اسانس‌ها در محیط آزمایشگاهی انجام گرفته و بدین ترتیب مطالب کمی پیرامون تاثیر آنها در مدل های غذایی، گزارش شده است. لزوم بکارگیری غلظت های بالاتر اسانس در غذا در مقایسه با شرایط آزمایشگاهی نشان دهنده پیچیده بودن شرایط رشد در غذا است که می تواند اثرات محافظتی روی سلول های میکروبی در مقابل ترکیبات ضد میکروبی داشته باشد، این امر از یک طرف به دلیل تاثیرات نامطلوب ارگانولپتیکی در غذا و از سوی دیگر به علت اقتصادی نبودن استفاده از یک نگاهدارنده به تنهایی در مقایر زیاد، موجب محدود شدن کاربرد اسانس های گیاهی به تنهایی در مواد غذایی شده است (زانگ و همکاران 2004، آرکوز و همکاران 2005). با توجه به عدم کفایت باکتریوسین های تولید شده توسط باکتری های اسید لاکتیک علیه باکتری های گرم منفی و مخمرها، موارد استفاده آنها نیز به تنهایی به عنوان ترکیبات ضدمیکروبی دارای محدودیت می باشد (پول و همکاران 1998). جهت بهبود عملکرد خصوصیات ضد میکروبی اسانس های گیاهی و پروبیوتیک ها و به جهت اینکه شیر استفاده شده برای تهیه محصولات لبنی ممکن است بعد از فرآیند حرارتی دچار آلودگی ثانویه گردد، تیمار ترکیبی محافظت کننده های زیستی[2] مذکور در غلظت های کمتر (با هدف استفاده از تکنولوژی هاردل در نگهداری مواد غذایی) یک راهکار مناسب جهت کنترل رشد پاتوژن هایی از قبیل *لیستریا مونوسیتوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* می باشد (آرکوز و همکاران 2008). هدف از این مطالعه بررسی رفتار رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* تحت تأثیر غلظت های مختلف اسانس پونه کوهی و باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* (به تنهایی و توأم) طی زمان های مختلف تولید، نگهداری و رسیدن پنیر سفید ایرانی می باشد.

مواد و روش کار

تهیه اسانس وآنالیز آن: گیاه پونه کوهی (*Mentha longifolia* L.) پس از جمع آوری توسط گروه گیاه‌شناسی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی از نظر صحت نام علمی تایید شد. چون اسانس گیاه در مقایسه با پودر و عصاره خاصیت ضدمیکروبی بیشتری دارد، اقدام به تهیه اسانس این گیاه به روش تقطیر با بخار آب گردید. در این مطالعه دستگاه گازکروماتوگراف[3] از نوع Agilent 6890 با ستون موئینه به طول 30 متر، قطر داخلی 0/25 میلیمتر و ضخامت لایه داخلی 0/25 میکرومتر از نوع HP-5MS با برنامه دمایی ستون در ابتدا بصورت 50 درجه سانتیگراد با توقف 5 دقیقه در این دما سپس افزایش دما تا 240

[1] *Lactobacillus Casei*

[2] Biopreservatives

[3] Gas Chromatography/ Mass Spectrophotometer (GC/MS)

www.SID.ir

Archive of SID

درجه سانتیگراد با سرعت 15 درجه در هر دقیقه، و افزایش دمای ستون تا 300 درجه سانتیگراد به مدت 3 دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق 290 درجه سانتیگراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان 0/8 میلی لیتر در دقیقه استفاده گردید. طیف نگار جرمی مورد استفاده مدل Agilent 5973 با انرژی یونیزاسیون 70 الکترون ولت و شناساگر EI و دمای منبع یونیزاسیون 220 درجه سانتیگراد بود (بستی و همکاران 2007). پس از تهیه اسانس تا زمان بکارگیری آن، در شیشه های استریل و تیره رنگ در دمای 4 درجه سانتیگراد نگهداری شد.

آماده سازی ومحاسبه میزان تلقیح باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

در مطالعه حاضر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 6538 تهیه شده از بخش بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران مورد استفاده قرار گرفت. باکتری لیوفلیزه در محیط BHI Broth[1] (شرکت مرک آلمان) به مدت 18 ساعت در دمای 37 درجه سانتیگراد تلقیح گردیده و برای حداقل دو مرتبه به طور متوالی تجدید کشت شد. سپس از کشت دوم باکتری به نسبت 1 به 5 با گلیسیرین استریل مخلوط و در حجمهای 500 میکرولیتری در میکروتیوب‌های اپندروف در 20- درجه سانتیگراد نگهداری شد. در ادامه، باکتری نگهداری شده در لوله های اپندورف دو بار متوالی در محیط آبگوشت BHI به مدت 18 ساعت در دمای 37 درجه سانتیگراد کشت داده شد. به منظور محاسبه میزان باکتری لازم (10^3 CFU/ml) جهت تلقیح در شیر از دستگاه اسپکتروفتومتر (ساخت شرکت Pharmacia انگلستان) در طول موج 600 نانومتر و شمارش باکتریایی به کمک کشت سطحی استفاده گردید (بستی و همکاران 2007).

آماده سازی و محاسبه میزان تلقیح باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی

باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* ATCC 3939 تهیه شده از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، بعنوان پروبیوتیک استفاده شد. محتویات آمپول لیوفیلیزه حاوی باکتری *لاکتو باسیلوس کازئی* در شرایط استریل به لوله آزمایش حاوی 10 میلی لیتر محیط کشت مایع MRS(شرکت مرک آلمان) منتقل گردید و مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شد. سپس به ارلن حاوی 95 میلی لیتر از محیط کشت فوق منتقل شد و تحت شرایط ذکر شده در بالا، انکوبه گردید. این عمل 2 تا 3 بار تکرار شد تا تعداد باکتریها به مقدار لازم (10^8 -10^9 cfu/ml) برسد. سپس سلولهای میکروبی توسط سانتریفوژ یخچال دار (اپندورف آلمان) با دور 1500*g* و دمای 25 درجه سانتیگراد به مدت 15 دقیقه برداشت شد. باکتریهای برداشت شده دو بار با آب پپتون 0/1 درصد استریل شستشو داده شد و جهت تلقیح در شیر مورد استفاده قرار گرفت (کراسااکوپت و همکاران 2004).

آماده سازی استارتر جهت تلقیح در شیر

استارتر پنیر Chr. Hansen R 704 (استارتر مزوفیل شامل لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه کرموریس و لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه دی استیلاکتیس تهیه شده از شرکت کریستین هانسن دانمارک) استفاده شد.

تولید پنیر سفید ایرانی: برای تهیه پنیر سفید، شیر تازه گاو (تهیه شده از گاوداری دانشگاه ارومیه) که در دمای 65 درجه سانتیگراد به مدت 30 دقیقه پاستوریزه

[1] Brain Heart Infusion Broth

www.SID.ir

Archive of SID

شده بود، استفاده گردید. قبل از شروع به انجام مراحل مختلف پنیرسازی، دمای شیر پاستوریزه را به 35 درجه سانتیگراد رسانده و در هریک از ظروف استریل مخصوص تهیه پنیر مقدار 5 لیتر از شیر ریخته شد. سپس باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با دوز مورد نظر (10^3 cfu/ml) به نمونه های شیر آماده شده تلقیح گردید. پس از آن، استارتر بمقدار 0/5 درصد (حجمی / حجمی) و باکتری پروبیوتیک *لاکتو باسیلوس کازئی* به میزان 10^8 - 10^9 cfu/ml همزمان به نمونه های شیر اضافه شدند، و پس از گذشت نیم ساعت مقدار 0/02 درصد (وزنی/ حجمی) از کلرور کلسیم اضافه گردید. نهایتاً پس از آنکه pH شیر به 5/6 رسید، رنت میکروبی (تهیه شده از شرکت سانجیو میتو ژاپن) بمقدار 0/001 درصد (وزنی / حجمی) پس از حل نمودن آن در آب مقطر استریل به شیر افزوده شده و در همین زمان اسانس پونه کوهی نیز در غلظتهای (صفر، 0/005، 0/015 و 0/03 درصد) اضافه شد. به منظور کارایی بهتر رنت، دمای شیر در مدت زمان تشکیل لخته در حدود 35 درجه سانتیگراد حفظ شد. پس از گذشت یک ساعت، لخته تشکیل شده به قطعات 2-1 سانتی‌مترمکعبی برش داده شده و جهت آبگیری بمدت شش ساعت تحت فشار وزنه استریل قرار گرفت. سپس قطعات لخته آبگیری شده در آب نمک 20 درصد (وزنی / حجمی) استریل بمدت 8 ساعت قرارگرفت. بعد از آن، نمونه های پنیر ضمن انتقال به آب نمک 8 درصد استریل، تا 15 روز در دمای 14-12 درجه سانتیگراد و پس از طی دوره رسیدن اولیه جهت دوره رسیدن نهایی نمونه ها به مدت 45 روز در دمای 4 درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

تفسیر میکروبی: به منظور شمارش باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* از محیط اختصاصی بیرد پارکر آگار [1] (شرکت مرک آلمان) و به روش کشت سطحی (گرمخانه گذاری در دمای 37 درجه سانتیگراد بمدت 48 ساعت) و در آزمایشهای شیمیایی نیز اندازه گیری pH توسط دستگاه pH متر دیجیتال (ساخت کارخانه Metrohm Herisua سوئیس) و طی مراحل زیر صورت گرفت:

- ساعت صفر (بلافاصله پس از تلقیح *استافیلوکوکوس اورئوس* در شیر)، نمونه برداری از لخته تشکیل شده در ساعت 1/5 و 7، نمونه برداری از پنیر در روزهای 7، 15 (متعاقب اتمام دوره رسیدن اولیه پنیر در انبار سبز با دمای 16-14 درجه سانتیگراد)، 30، 45 و 60.

آماده سازی نمونه های پنیر جهت شمارش باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی*

ابتدا یک قطعه پنیر پس از خارج ساختن از آب نمک و خشک شدن نسبی سطح آن با اسکالپل به قطعات کوچکتر تقسیم و به یک فلاسک شیشه ای استریل منتقل گردید. سپس تحت شرایط استریل 10 گرم از هر نمونه پنیر را در کیسه های استریل مخصوص دستگاه استوماکر قرار داده و با افزودن 90 میلی لیتر محلول استریل سیترات سدیم و قرار دادن در دستگاه استوماکر (ساخت کارخانه Seward انگلستان) به مدت دو دقیقه همگن سازی انجام شد. تهیه رقت های سریالی از طریق افزودن یک میلی لیتر از محتویات استریل کیسه های دستگاه استوماکر به لوله های حاوی 9 میلی لیتر آب پپتونه یک دهم درصد استریل صورت گرفت. جهت شمارش باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی*، از روش پورپلیت و با انتقال یک میلی لیتر از رقت های تهیه شده به محیط کشت MRSآگار (شرکت مرک آلمان) و گرمخانه گذاری 37 درجه سانتیگراد در شرایط هوازی به مدت 48 ساعت، استفاده گردید (کراسااکوپت و همکاران 2004).

ارزیابی حسی:

[1] Baird Parker Agar

www.SID.ir

Archive of SID

برای ارزیابی ویژگی های حسی ناشی از افزودن اسانس پونه کوهی وپروبیوتیک به پنیر سفید ایرانی از تست پذیرش حسی استفاده گردید. برای این منظور پنیر سفید فاقد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، آماده شده با غلظت های مختلف اسانس و پروبیوتیک به هفت قسمت (هر قسمت شامل 500 گرم پنیر در ظروف سفید و تمیز) تقسیم گردید. ارزیابی حسی بوسیله یک پانل هفت نفره که عمدتاً از کارکنان و اعضای گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه بودند، صورت پذیرفت. بعد از اتمام ارزیابی هر تیمار، وقبل از ارزیابی تیمار جدید جهت شتشوی دهان از آب استفاده شد. اعضای پانل معیار خود از ارزیابی حسی پنیر سفید حاوی اسانس و پروبیوتیک را با استفاده از یک مقیاس حسی 9 نمره ای (9-point hedonic scale) مشخص نمودند. در این مقیاس نمره 9 خیلی عالی، نمره 8 عالی، نمره 7 خوب، نمره 6 نسبتاً خوب، نمره 5 نه خوب نه بد، نمره 4 نسبتاً بد، نمره 3 بد، نمره 2 خیلی بد و نهایتاً نمره 1 فوق العاده بد، لحاظ گردید (میلگارد و همکاران 1991).

تحلیل آماری: برای هر تیمار، تولید پنیر جداگانه و در 3 تکرار صورت پذیرفت، در ضمن برای تمامی تیمارها از یک نوع شیر استفاده گردید. اثر اسانس به تنهایی و تداخل اسانس با پروبیوتیک بر روی شمارش باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* توسط آنالیز واریانس (ANOVA) صورت گرفت . تفاوت در بررسی های ارگانولپتیک مورد نظر با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) و LSD[1] انجام شد، لازم به ذکر است تمام تحلیل های آماری با نرم افزار SPSS17 مورد بررسی قرارگرفت. نتایج معنی دار در $p< 0/05$ مد نظر قرار گرفت.

نتایج:

نتیجه آنالیز ترکیبات اسانس پونه کوهی استفاده شده در این مطالعه با استفاده از GC/MS در جدول 1 نشان داده شده است. در این میان پولگون[2] با 31/54 درصد و سینولئون[3] با 15/89 درصد بیشترین و اسپاتولنول[4] با 0/52 درصد، کمترین ترکیبات موجود در اسانس بودند. نتایج حاصل از بررسی میزان رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در طی مراحل مختلف تولید و نگهداری پنیر تحت تاثیر غلظت های مختلف اسانس پونه کوهی و باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* در شکل های 1، 2 و 3 نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بهترین غلظت اسانس مذکور از نظر ممانعت رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و نیز از نظر تولید پنیر با خواص طعمی مطلوب غلظت 0/015 درصد در تیمار توام با باکتری پروبیوتیک بود. شکل های 2و3 نشان داد که اسانس مذکور در دو غلظت 0/015 و 0/03درصد در تیمار توام با پروبیوتیک از بالاترین تاثیر بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* برخوردار است. به عبارت دیگر اثر سینرژیستی بین غلظت های مختلف اسانس (بویژه دو غلظت 0/015 و 0/03درصد) و باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* در مقایسه با نمونه کنترل و نمونه های دارای اسانس فاقد پروبیوتیک، معنی دار بود ($p<0/05$). همچنین افزایش غلظت اسانس، به طور معنی داری بر کاهش تعداد *استافیلوکوکوس اورئوس* موثر بود ($p<0/05$). نتایج حاصل از ارزیابی خصوصیات ارگانولپتیکی پنیر در جدول 2 نشان داده شده است. غلظت 0/015 درصد اسانس مذکور در ترکیب با پروبیوتیک بهترین تیمار از لحاظ خصوصیات حسی بود. ماندگاری باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* در کلیه تیمارها

[1] least significant difference procedure

[2] Pulegone
[3] 1,8- Cineole
[4] Spathulenol

www.SID.ir

Archive of SID

در پایان مرحله رسیدن پنیر سفید ایرانی مورد ارزیابی قرار گرفت. در تمامی موارد شمارش باکتری پروبیوتیک مذکور بیش از 10^7 cfu/g پنیر بود. با توجه به نتایج به دست آمده از شمارش باکتری پروبیوتیک و در تأیید یافته های سایر محققین، پنیر سفید ایرانی نیز می تواند به عنوان یک مدل غذایی مناسب حامل پروبیوتیک مطرح باشد.

نتایج حاصل از ارزیابی تغییرات pH پنیر در مراحل مختلف تهیه و نگهداری آن نشان دهنده فقدان تاثیر اسانس پونه کوهی بود (جدول 3). به گونه ای که تغییرات pH طی تولید پنیر تحت تاثیر غلظت های مختلف اسانس پونه کوهی (صفر، 0/005، 0/015 و 0/03 درصد) در دوره های زمانی مشابه، اختلاف آماری معنی داری را نشان نداد (p<0/05).

جدول 1- نتایج آنالیز اسانس پونه کوهی مورد بررسی با استفاده از GC/MS

ترکیب	شاخص بازداری	درصد
α - Pinene	939	1/86
2- β- Pinene	980	3/07
1,8- Cineole	1031	15/89
P- Mentha- 3,8- Diene	1068	0/54
Iso pentyl 2- Menthyl Butanoate	1099	0/91
P- Menth- 3- En- 8- ol	1149	7
Menthofuran	1163	11/8
Cis- Iso Pulegone	1175	9/74
Borneol	1190	1/01
(Neo- Iso) Dihydrocarveol	1220	1/78
Pulegone	1245	31/54
2- Cyclohexan- 1- one	1342	3/08
1- Decene	1350	1/58
Spathulenol	1575	0/52
Caryophyllene oxide	1580	1/60
مجموع		92/02

جدول 2- میزان میانگین پذیرش حسی پنیر سفید حاوی غلظت های مختلف اسانس پونه کوهی و پروبیوتیک

اسانس($\mu l\ 100\ ml^{-1}$)	پروبیوتیک (10^8-10^9 cfu/ml^{-1})	میانگین± انحراف استاندارد
0	-	8,00± .00[a]
5	-	7,12 ± 014 [a]
15	-	7,68 ± .21 [a]
30	-	6,05 ± .42 [b]
45	-	4,96 ± . 33[d]
60	-	3,02 ± .41[e]
0	+	8,25 ± .11[a]
5	+	7,29 ± .25[a]
15	+	7,89 ±.32 [c]
30	+	6,14 ± .42 [e]
45	+	5,23 ± .28[d]
60	+	3,43 ± .19[e]

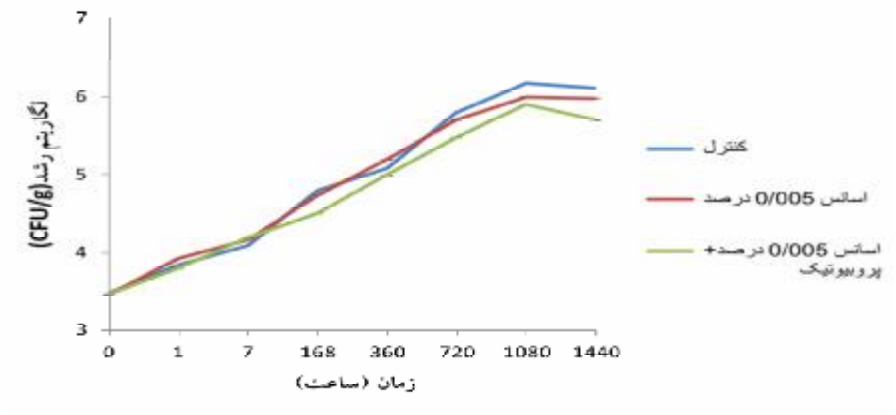
a و b و c و d و e : حروف غیر مشابه در یک ستون مبین وجود اختلاف معنی دار (P<0/05) است.

www.SID.ir

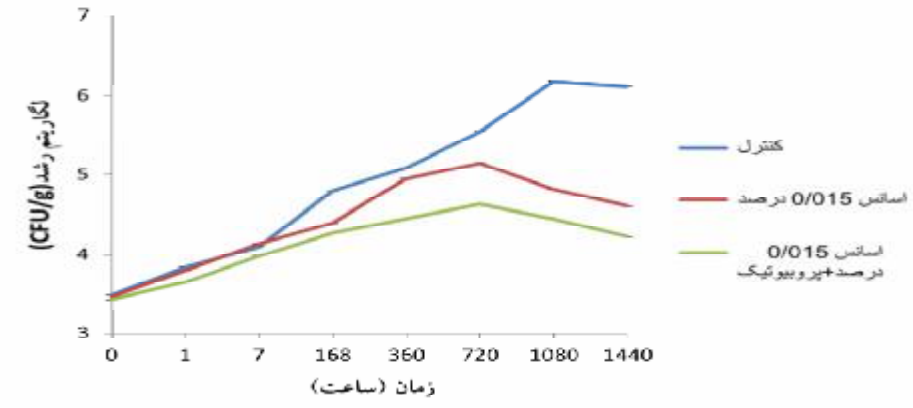
Archive of SID

جدول شماره 3- تغییرات میزان pH در طی مرحل مختلف تولید و نگهداری در پنیر سفید ایرانی.

نمونه	ساعت 0	ساعت 1	ساعت 7	ساعت 168	ساعت 360	ساعت 720	ساعت 1080	ساعت 1440
A_1	6/77	6/6	5/56	5/27	5	4/85	4/81	4/80
A_2	6/77	6/62	5/61	5/21	4/96	4/83	4/80	4/76
A_3	6/77	6/61	5/56	5/17	4/91	4/80	4/75	4/73
A_4	6/77	6/63	5/55	5/1	4/90	4/77	4/71	4/69
B_1	6/77	6/58	5/65	5/28	4/99	4/85	4/89	4/83
B_2	6/77	6/60	5/63	5/20	4/97	4/80	4/83	4/81
B_3	6/77	6/59	5/60	5/19	4/90	4/80	4/80	4/74
B_4	6/77	6/63	5/57	5/08	4/86	4/77	4/74	4/7



شکل 1- لگاریتم رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های کنترل، غلظت 0/005 درصد اسانس و پروبیوتیک با اسانس 005/ 0درصد پنیر در طی زمان تولید و نگهداری.



شکل 2- لگاریتم رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های کنترل، غلظت 0/015 درصد اسانس و پروبیوتیک با اسانس 015/ 0درصد پنیر در طی زمان تولید و نگهداری.

www.SID.ir

Archive of SID

شکل 3- لگاریتم رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های کنترل، غلظت 0/03 درصد اسانس و پروبیوتیک با اسانس 0/03درصد پنیر در طی زمان تولید و نگهداری

بحث

افزایش بیماری ها و مسمومیت های ناشی از غذا به همراه مشکلات اقتصادی و اجتماعی حاصل از آن سبب گسترش مطالعات در زمینه تولید غذای سالم و بکارگیری ترکیبات ضدمیکروبی جدید شده است. اسانس های حاصل از گیاهان و باکتریوسین های حاصل از باکتری های پروبیوتیک (بویژه گونه های مختلف *لاکتوباسیلوس* ها) واجد اثرات ضدمیکروبی شناخته شده ای هستند که می توانند در جهت کنترل و جلوگیری از رشد باکتری های پاتوژن و عامل فساد منتقله از مواد غذایی به جای نگاهدارنده های شیمیایی وسنتتیک مورد استفاده قرار گیرند (اسمیت و همکاران 2001). اسانس حاصل از گونه های مختلف گیاه *M. lonifolia* علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها شامل باکتری ها و قارچ ها دارای فعالیت ضد میکروبی قابل مقایسه با داروهای استاندارد می باشد، اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی برخی از اجزاء اسانس گونه های مختلف *M. lonifolia* (شامل *pulegon*، *piperitenon oxide* و *cis- piperitoe epoxide*) در بسیاری از مطالعات گزارش شده است، بالاترین ترکیب موجود در اسانس پونه کوهی به کار رفته در این مطالعه نیز *pulegon* بوده، که اثرات ضد میکروبی آن در مطالعات قبلی گزارش شده است (کارامان و همکاران 2003). توانایی باکتری های اسید لاکتیک تولید کننده باکتریوسین در زمینه کنترل میکروارگانیسم های نامطلوب در پنبر به خوبی مشخص شده است (برناردز و همکاران 2008). وازکوئز و همکاران (2005) فعالیت ضد میکروبی باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* را مرتبط با تولید باکتریوسین گزارش نمودند . نتایج حاصل از ارزیابی تغییرات pH پنیر در مراحل مختلف تهیه و نگهداری آن در این مطالعه نشان دهنده فقدان تاثیر اسانس پونه کوهی بود. به عبارت دیگر غلظت های مختلف اسانس پونه کوهی تاثیر معنی داری بر رشد و فعالیت پروبیوتیک و باکتری های مولد اسید لاکتیک موجود در استارتر بکار رفته در این مطالعه نداشت. زایکا و همکاران (1983) نیز در مطالعه مشابهی هیچ گونه اثر مهاری در غلظت های مختلف اسانس پونه کوهی (ppm 200-40) بر باکتری های مولد اسید لاکتیک نظیر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *پدیوکوکوس اسیدولاکتیس* در محیط کشت مایع مشاهده ننمودند. مواد غذایی عملگر[1] باید حداقل دارای 10^7 cfu/g باکتری

[1] Functional foods

www.SID.ir

Archive of SID

پروبیوتیک باشند تا بتوانند اثرات مفید سلامتی را در مصرف کننده ایجاد نمایند (کاسیموقلو و همکاران 2004). در این مطالعه نیز در پایان دوره رسیدن پنیر سفید، شمار باکتری پروبیوتیک مذکور بالاتر از این میزان بود. در مجموع نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که پنیر سفید ایرانی می تواند به عنوان یک مدل غذایی مناسب حامل باکتری های پروبیوتیک مطرح باشد. در مطالعه انجام شده توسط بوریندر و همکاران در سال (2001) اثر سینرژیک عصاره آلی سیر[1] (AGE) و نیسین[2] بر روی 6 سویه *لیستریا* منوسیتوژنز در یک مدل محیط کشت مایع[3] مورد بررسی قرار گرفت و یک تاثیر سینرژیک ضد باکتریایی بر روی سویه های *لیستریا* در هنگام استفاده این دو ماده با هم مشاهده شد. علاوه بر این، تاثیر سایر فاکتورهای رشدی از قبیل pH و دماهای 4 و 20 درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفت و نشان داد که افزایش pH باعث کاهش تأثیر هر دو ماده شد. در ضمن تأثیر هر دو ماده در دمای 4 درجه سانتی گراد بیشتر از 20 درجه سانتی گراد بود. اسمیت و همکاران (2001) اثر ضدمیکروبی اسانس های برگ بو، میخک، دارچین و آویشن را به عنوان محافظت کننده های طبیعی غذایی در غلظت های 0/5 و 1 درصد در پنیرهای نرم با چربی کم و زیاد علیه *لیستریا* مونوسیتوژنز و *سالمونلا انتریتیدیس* در دو دمای 4 و 10 درجه سانتیگراد در طی 14 روز مورد مطالعه قرار دادند. هر چهار اسانس طبیعی در غلظت 1% در پنیر با چربی کم باعث کاهش *لیستریا* مونوسیتوژنز تا کمتر از یک کلنی در هر گرم شدند. در مقابل در پنیر با چربی زیاد اسانس میخک تنها اسانسی بود که باعث کاهش مشابه گردید. در مطالعه انجام شده توسط موسوی و همکاران (2008) که اثر اسانس گیاه آویشن و نیسین روی *سالمونلا تایفی موریوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در یک سیستم مدل غذایی مورد بررسی قرار گرفت، مشخص شد که غلظت هایی از اسانس گیاه آویشن در ترکیب با غلظت هایی از نیسین در دمای 8 درجه سانتیگراد بطور معنی داری مانع از رشد سالمونلا تایفی موریوم می شود. همچنین تحت همین شرایط در هر دو دمای انکوباسیون (8 و 25 درجه سانتیگراد) از رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* ممانعت گردید. آرکوز وهمکاران (2005) اثر ترکیبی تیمار با فشار بالا و باکتریهای اسیدلاکتیک مولد باکتریوسین را بر روی بقای *لیستریا* مونوسیتوژنز در لگاریتم cfu/mL 4/8 همراه با استارتر تجاری و یکی از هفت سویه BP-LAB[4] در پنیر حاصل از شیر خام بررسی کردند. در روز سوم شمار *لیستریا* مونوسیتوژنز در پنیر کنترل (بدون BP-LAB و تیمار با HP) به 7/03log cfu/g، در پنیرهای حاوی BP-LAB به log cfu /g 47/ 6- 6/06، در یک پنیر فاقد BP-LAB که در روز دوم با فشار 300 MPa[5] تیمار شده بود به 6/13 log cfu/g، در نمونه دیگر با فشار 500 MPa به 2/01log cfu/g، در پنیرهای حاوی BP-LAB که در روز دوم با فشار300 MPa تیمار شده بودند به log cfu/g5/43-3/83 و در نمونه های مشابهی که با فشار 500 MPa تیمار شدند به 1/18log cfu/g یا کمتر رسید. در مطالعه صورت گرفته توسط منون و همکاران (2001) اثر ضد لیستریایی روغن میخک در مدل‌های غذایی گوشت و پنیر در دو درجه حرارت 30 و 7 درجه سانتیگراد مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصله نشان داد که غلظت 1 درصد اسانس میخک سبب جلوگیری از رشد *لیستریا* منوسیتوژنز در هر دو درجه حرارت در هر دو مدل غذایی می شود. چنین بیان شد که اسانس میخک می تواند به عنوان یک محافظت‌کننده طبیعی در گوشت و پنیر مورد استفاده قرار گیرد. در مطالعه صورت گرفته

[1] Aoreous Garlic Exteract (AGE)
[2] Nisin
[3] Triptose phosphate Broth
[4] Bacteriocin Producing-Lactic Acid Bacteria
[5] Mega Pascal Atmospheric

www.SID.ir

Archive of SID

توسط عباسی فر و همکاران (2009) اثر اسانس آویشن شیرازی و استارتر علیه باکتریهای *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا* مونوسیتوژنز در طول مدت تهیه، رسیدن و نگهداری پنیر سفید ایرانی ارزیابی گردید، علاوه بر مقاومت باکتری های استارتر به اسانس مذکور، رشد باکتری های پاتوژن مذکور در غلظت های بالاتر از 0/005 درصد اسانس، و استارتر و در تیمارهای توام تحت تاثیر قرار گرفت، بنابراین اثرات سینرژیستی بین اسانس مدکور و استارتر مشاهده گردید. در این مطالعه بهترین غلظت اسانس از نظر ممانعت رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و نیز از نظر تولید پنیر با خواص طعمی مطلوب غلظت 0/015 درصد در تیمار توام با باکتری پروبیوتیک بود. همچنین اسانس مذکور در دو غلظت 0/015 و 0/03 درصد به ترتیب از بالاترین تاثیر بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* بر خودار بوده و در تیمار توام با پروبیوتیک به طور معنی داری از رسیدن شمارش این باکتری به دز مسمومیت زایی خود در فرآورده مورد بررسی کاملا جلوگیری کرد. چون باکتری های پروبیوتیک با تولید باکتریوسین ها و افزایش اسیدیته محیط و رقابت میکروبی می توانند تا حدودی از رشد بسیاری از باکتری های پاتوژن جلوگیری نمایند.

نتیجه گیری

بنابراین با کاربرد توام ترکیبات محافظت کننده زیستی مختلف بویژه اسانس های گیاهی و پروبیوتیک ها، می توان از غلظت های پائین تری از اسانس ها جهت کنترل و ممانعت از رشد ارگانیسم های پاتوژن و عامل فساد در مواد غذایی جهت کاهش هزینه های اقتصادی و اثرات نامطلوب غلظت های بالاتر اسانس ها بر خصوصیات ارگانولپتیکی مواد غذایی بهره جست.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه و از همکاری آقایان پروفسور سید مهدی رضوی روحانی، دکتر امیر تکمه چی و دکتر محمدرضا پژوهی تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

Abbasifar A, Basti AA, Karim G, Bokaie S, Abbasifar R, Villa AA, Misaghi A, Jamshidi AH, Gandomi H and Javan AJ, 2009. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and starter culture on *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* during the manufacture, ripening, and storage of white brined cheese. Milchwissenschaft, 64 (4): 438-442.

Arques JL, Rodriquez E, Gaya P, Medina M and Nunez M, 2005. Effect of combinations of high pressure Treatment and bacteriocin producing lactic acid bacteria on survival of *listeria monocytogenes* in raw milk cheese. International Dairy Journal, 15: 898-900.

Arques JL, Rodriguez M, Nunez M and Medina M, 2008. Antimicrobial Activity of Nisin, Reuterin, and the Lactoperoxidase System on *Listeria monocytogenes* an *Staphylococcus*

www.SID.ir

Archive of SID

aureus in Cuajada, a Semisolid Dairy Product Manufactured in Spain. Journal Dairy Science, 91: 70-75.

Basti, AA, Misaghi A and Khaschabi D, 2007. Growth response and modelling of the effects of Zataria multiflora Boiss. essential oil, pH and temperature on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. LWT- Food Science and Tecnology, 40(6): 973-981.

Bernardez PF, Amado IR, Castro LP and Guerra NP,2008. Production of a potentially probiotic culture of *Lactobacillus casei subsp. Casei* CECT 4043 in whey. International Dairy Journal, 18: 1057–1065.

Bhurinder S, Bernadette F and Martin R, 2001. Synergistic hnhibition of *listeria monosytogenes* by nisin and garlic exteract . Food Microbiology, 18: 133-139.

Blackburn CW and Peter JM, 2002. Foodborne Pathogens, Hazard, risk analyses and control, CRC Press, pp: 385-390.

Burt S, 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods-a review. International Journal of Food Microbiol, 94(3): 223-253.

Codd LE, 1985. The genus *Mentha*. Flora of Southern Africa, 28(4): 107-11.

Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokmen A, Polissiou M, Adiguzel A and Ozkan H, 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha L. ssp*. Longifolia. Food chemistry, 103: 1449-1456.

Jay MJ, 2005. Modern Food Microbiology. 7th ed. An Aspen Publication, pp: 323,441-6.

Jorgensen HJ, Mork T and Rovik LM, 2005. Occurrence of *Staphylococcus aureus* on a farm with small-scale production of raw milk cheese. Journal of Dairy Science, 88: 3810-3817.

Karaman I, Sahin F, Gulluce M, Ogutcu H, Sengul M and Adiguzel A, 2003. Antimicrobial activity of aqueous and methanol exteracts of Juniperus L. Journal Ethnopharmacology, 85,231-235.

Kasimoglu A, Goncuoglu M and Akgun S, 2004. Probiotic With cheese *Lactobacillus acidophilus*. International Dairy Journal, 14: 1067-73.

Krasaekoopt W, Bhandari B and Deeth H, 2004. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. International Dairy Journal, 14(8): 737-43.

Meilgaard MC, Civille GV and Carr BT, 1991. Sensory evalution techniques. 2nd edition. Crc prees, inc. bocaration, florida. pp: 345-386.

Menon VK and Grag SR, 2001. Inhibitory effect of clove oil on *Listeria monositogens* in meat and Cheese. Food Microbiology, 18: 647-670.

www.SID.ir

Archive of SID

Moosavi MH, Basti AA, Misaghi A, Salehi ZT, Abbasifar R, Mousavi HA, Alipour M, Emami Razavi N, Gandomi H and Noori N, 2008.Effect of Zataria multiflora Boiss. essential oil and nisin on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in a food model system and on the bacterial cell membranes. Food Research International. 41: 1050–1057.

Normanno G , 2005. Coagulase-positive Staphylococci and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. International Journal of Food Microbiology, 98: 73-79.

Nunez M, Rodriguez JL, Garcia E, Gaya P and Medina M, 1997. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by enterocin 4 during the manufacture and ripening of Manchego cheese. Journal of Applied Microbiology, 83: 671-677.

Nunez M, Rodriguez JL, Garcia E, Gaya P and Medina M. 1997. *Staphylococcus aureus* in Dairy products in the Bologna area. International Journal of Food Microbiol, 35: 267-270.

Ong L, Henriksson A and Shah NP, 2006. Development of probiotic Cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus, Lb. casei, Lb. paracasei* and *Bifidobacterium spp*. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. International Dairy Journal, 16: 446–456.

Phillip SM, Kailasapathy K and Tran L, 2006. Viability of comrcial probiotic cultures (*L. aciduphillus, Bifidobacterium spp. , l. casei, l. paracasei* and *L. rhamnosus*) in cheddar cheese. International Journal of Food Microbiology, 108: 276-280.

Powell MN, Armynot AM, Vinas M and DeBuochberg SM, 1998. Interactions between pairs of bacteriocins from *lactic acid bacteria*. Journal of Food Protection, 61:1210-1212.

Roler S, 1995. The Quest for Natural Antimicrobials as Novel Means of Food Preservation: Status Reports on a European Research Project. Int. Biodeterioration and Biodegradation, 333- 345.

Rudolf M and Scherer S, 2001. High incidence of *Listeria monocytogenes* in European red smear cheese. International Journal of Food Microbiology, 63: 91-98.

Smith p, Stewart J and Fyfe L, 2001.The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. Food Microbiology, 18: 463-470.

Tassou CC and Nychas GJ, 1994. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by Olive Phenolics in Broth and in a Model Food System. Journal of Food Protection, 57: 120-124.

Ultee A, Bennik HJ and Moezelaar R, 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus.* Applied And Environmental Microbiology, 68: 1561-1568.

Vazquez JA, Gonzalez MP and Murado MA, 2005. Stimulation of bacteriocin production by dialyzed culture media from different lactic acid bacteria. Current Microbiology, 50: 208–211.

www.SID.ir

Archive of SID

Zaika LL, Kissinger JC and Wasserman AE, . 1983. Inhibition of Lactic Acid Bacteria by Herb. Journal of Food Science, 48: 1445-9.

Zhang CY, Yam KL and Chikindas ML, 2004. Effective control of Listeria monocytogenes by combination of nisin formulated and slowly released in to a broth system. International Journal of Food Microbiology, 90:25-22.

www.SID.ir