

بررسی تاثیر دود مایع و اسانس شیره درخت بنه (*Pistacia atlantica* Subsp. *Kurdica*) بر

لاکتوباسیلوس بولگاریکوس

غزال رحیم زاده^{۱*}، اسعد رخزادی^۲، سمیرا بهرامیان^۳

۱. گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲. گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران.

۳. گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران.

* نویسنده مسئول: rahimzadeghazal@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۳/۲۰

چکیده

در منطقه کردستان دود دودی و دود طعم دار شده با بنه مقبولیت ویژه‌ای دارد. تاثیر ضد پاتوژنی این اسانس‌ها در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است با این حال تاثیر آنها بر باکتری‌های اسید لاکتیک در محصولات لبنی هیچ‌گاه بررسی نشده است. لذا هدف از این مطالعه، بررسی میزان تاثیر این اسانس‌ها بر باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس می‌باشد. به این منظور، پس از جداسازی و خالص سازی لاکتوباسیلوس بولگاریکوس از دود، محیط کشت مولر هینتون آگار در روش دیسک دیفیوژن برای بررسی حساسیت باکتری به اسانس‌ها استفاده شد. در این روش تاثیر غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴، ۰/۵، ۰/۶، ۰/۷، ۰/۸، ۰/۹، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۱۰۰ درصد اسانس شیره درخت بنه و دود مایع بر باکتری مذکور بررسی گردید. بر این اساس کمترین قطر هاله عدم رشد باکتری برای اسانس بنه در غلظت ۰/۱ درصد برابر ۱۱ میلی‌متر بود. همچنین در غلظت ۰/۹ درصد دود مایع قطر هاله عدم رشد ۶/۵ میلی‌متر مشاهده شد. یافته‌ها نشان داد که در هر دو اسانس با افزایش غلظت اسانس قطر هاله عدم رشد افزایش یافت. نتایج نشان می‌دهد که لاکتوباسیلوس بولگاریکوس به اسانس شیره درخت بنه بسیار حساس می‌باشد. لذا توصیه می‌شود در محصولات تخمیری حاوی این باکتری از اسانس بنه استفاده نشود. همچنین در غلظت‌های کمتر از ۰/۹ درصد مانعی برای استفاده از دود مایع در محصولات حاوی لاکتوباسیلوس بولگاریکوس وجود ندارد.

واژگان کلیدی: دود مایع، بنه، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس.

مقدمه

سرطان‌زا در بدن میزبان می‌شوند (Goldin, 1994). درحالی‌که لاکتوباسیلوس‌ها از رشد میکروارگانیسم‌های مضر در دستگاه گوارش جلوگیری می‌نمایند (Petti et al., 2008). دود علاوه بر مزایای تغذیه‌ای، حاوی باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک (لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس) می‌باشد که اثرات آن بر سلامت مصرف کننده را می‌توان به متابولیت‌های حاصل از این باکتری‌ها نسبت داد. امروزه، دود طعم‌دار مقبولیت ویژه‌ای بین مصرف کنندگان پیدا کرده است و در ایران نیز جهت بهتر شدن طعم دود از اسانس سبزیجاتی همچون پونه، نعنا و کاکوتی استفاده می‌شود (عباسی و همکاران، ۱۳۸۸). یکی از انواع دود طعم‌دار دود دودی است که در مناطق کردستان (غرب ایران) تولید و مصرف می‌شود. دودی کردن، فرایندی

عمده‌ترین اسید لاکتیک باکتری موجود در ماست و دود لاکتوباسیلوس بولگاریکوس می‌باشد که به عنوان پروبیوتیک شناخته می‌شود (Guglielmotti et al., 2007). باکتری‌های اسید لاکتیک برخی ترکیبات ضروری بدن مانند ویتامین‌ها و اسیدهای آلی را تولید می‌کنند (Kneifel et al., 1991; Le Blanc et al., 2010). محققان نشان داده‌اند که باکتری‌های اسید لاکتیک قادر به تولید فولات در ماست هستند (Crittenden et al., 2003; Lin and Young, 2000). همچنین این باکتری‌ها در جلوگیری از برخی بیماری‌ها نقش سودمندی ایفا می‌کنند (Guarner et al., 2005). یافته‌ها نشان داده است که باکتری‌های پاتوژن در دستگاه گوارش ترکیباتی تولید می‌نمایند که موجب بروز مشکلاتی از قبیل تولید سم و ترکیبات

و میوه درخت بنه نیز به دوغ و ماست در کردستان رواج زیادی دارد. نتایج بررسی‌ها نشان داد که رزین گونه های پیستاسیا بر روی باکتری‌های کلبسیلا پنومونیه، باسیلوس سوبتیلیس، سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اپیدرمیس، استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی اثر مهارکنندگی داشت به طوری که بیشترین اثر مهارکنندگی بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا بود (مهدوی و همکاران، ۱۳۸۸). سایر محققین نیز نشان داده‌اند که بنه بر استریتوکوکوس موتانس، کلستریدیوم بوتولینوم، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا انترتیدیس، باسیلوس سرئوس، اشرشیا کلی، هلیکوباکتر پیلوری و کپک و مخمر اثر کشندگی دارد (Dophne et al., 2004; Ghalem et al., 2008). با وجود آنکه اثر ضد میکروبی این دو اسانس (بنه و دود) بر بسیاری از باکتری‌های گرم مثبت و منفی در مطالعات پیشین نشان داده شده است، با این وجود تاکنون هیچ مطالعه‌ای در مورد اثر این اسانس‌ها بر لاکتو باسیلوس بولگاریکوس موجود در محصولات لبنی حاوی این اسانس‌ها انجام نگرفته است. بر این اساس با توجه به اهمیت لاکتوباسیلوس‌ها، هدف مطالعه حاضر تعیین میزان مصرف این اسانس‌ها در فرآورده‌های لبنی به ویژه دوغ و ماست جهت جلوگیری از کاهش و مهار باکتری‌های اسید لاکتیک می‌باشد.

مواد و روش کار

روش بررسی

این مطالعه در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج انجام شد. برای تعیین میزان حساسیت باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس موجود در دوغ نسبت به اسانس شیره درخت بنه و دود مایع از روش دیسک گذاری Kirby Bauer استفاده گردید. دود مایع و اسانس شیره بنه به ترتیب از شرکت‌های Try me® (New Orleans, USA) و سقز سازی ون (سنندج، ایران) خریداری شد. جداسازی باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس از دوغ

است که به منظور پختن، مزه دار کردن و نگهداری طولانی مدت از مواد غذایی صورت می‌گیرد که در این فرایند، ماده غذایی را در معرض دود (معمولاً دود ناشی از سوختن چوب) قرار می‌دهند (Milly, 2003). فعالیت ضد میکروبی دود مایع به ترکیباتی مانند فنل-ها، کربونیل‌ها و اسیدهای الی نسبت داده شده است (Vitt et al., 2001). دود مایع حاوی اسید استیک است که این ترکیب مسئول بخش بزرگی از خواص باکتریواستاتیکی آن می‌باشد. بیشترین فعالیت مهارکنندگی اغلب دودهای مایع به علت غلظت بالای ترکیبات قطبی موجود در آن‌ها است و از آنجایی که دود مایع حلالیت زیادی در آب دارد بنابراین فنل‌های قطبی فرصت بیشتری برای تماس و واکنش با میکروارگانیسم‌های هدف و مهار بهتر آن‌ها را دارند (Messina et al., 1988). بنابراین وجود فنل‌ها به خصوص فنل‌هایی با نقطه جوش بالا خاصیت ضد میکروبی قوی در دود ایجاد می‌کنند. وجود ترکیباتی مانند آلدئید فرمیک و اسید استیک در سطح محصول مانع از رشد اسپورها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها می‌شود. دود مایع به دلیل خواص ضد میکروبی علیه انواع باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، کپک و مخمر می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. به این صورت که فاز تاخیر باکتری‌های گرم مثبت و منفی و مخمر را افزایش می‌دهد و رشد کپک را کاهش می‌دهد. در مقایسه با روش سنتی دود دهی، اسانس دود بیشترین پتانسیل ضد باکتریایی را در کاربردهای صنعتی دارد (Shakeel et al., 2003).

میوه و شیره ی درخت بنه (*Pistacia atlantica* Subsp. *Kurdica*) کاربردهای صنعتی و پزشکی فراوان دارد. مشخص شده است که شیره ی درخت بنه در برطرف کردن مشکلات گوارشی مانند زخم معده، سوء هاضمه، دردهای معده و شکم نقش مهمی ایفا می‌کند (Rasooli, 2006; Al-Said et al., 1986; Huwez and Al-Habbal, 1986). افزودن اسانس

برای اطمینان از صحت کار با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV/Vis (مدل Optima SP-3000 Plus، ژاپن) در طول موج ۶۲۵ نانو متر، جذب سوسپانسیون در محدوده ۰/۵ مک فارلند بدست آمد. سپس سوپ استریل به سوسپانسیون میکروبی آغشته گردید و به صورت کشت چمنی روی مولر هینتون کشت داده شد. دیسک‌های آغشته به غلظت‌های مختلف دود مایع و اسانس بنه روی محیط کشت مولر هینتون قرار داده شد و در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۸ ساعت گرم‌خانه گذاری گردید (Kirby, 1957; Bauer, 1959). بعد از این مدت زمان قطر هاله عدم رشد باکتری ثبت و حساسیت باکتری مذکور مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

داده‌های حاصل از قطر هاله عدم رشد دود مایع و اسانس شیره درخت بنه بر لاکتوباسیلوس بولگاریکوس در جدول ۱ ارائه شده است. این نتایج نشان می‌دهد که لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس از غلظت ۰/۹ درصد تحت تاثیر دود مایع قرار گرفته است و با افزایش غلظت دود مایع اثر مهارکنندگی آن نیز بیشتر شده است به طوری که در غلظت ۱۰۰ درصد دود مایع قطر هاله عدم رشد برابر ۲۴ میلی‌متر مشاهده شد. نتایج حاصل بیانگر حساسیت بالای لاکتوباسیلوس بولگاریکوس به اسانس شیره درخت بنه بود. به طوری که در کمترین غلظت شیره درخت بنه (۰/۱ درصد)، قطر هاله عدم رشد برابر ۱۱ میلی‌متر مشاهده شد. همچنین با افزایش غلظت این اسانس اثر مهارکنندگی آن بر باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس به شدت افزایش یافته است چنان که در غلظت ۱۰۰ درصد (خالص) قطر هاله عدم رشد ۵۴ میلی‌متر مشاهده گردید (نمودار ۱ و ۲). با توجه به این نتایج، می‌توان گفت که اسانس شیره درخت بنه اثر ضد لاکتوباسیلوس بیشتری نسبت به دود مایع دارد.

ماست محلی منطقه کردستان (چربی=۰/۵ و ماده خشک=۰/۱±۶ درصد) از فروشگاه عرضه لبنیات (سندج، کردستان) تهیه شد. سپس به نسبت مساوی با آب مخلوط و به میزان یک درصد نمک طعام به آن اضافه گردید. باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس موجود در دوغ با استفاده از روش Michael et al. (1939) جدا سازی شد به این صورت که یک دهم میلی لیتر از دوغ بر روی محیط کشت MRS آگار (مرک، آلمان) تلقیح شد و در دمای ۳۲ درجه سانتی-گراد به مدت ۷۲ ساعت در شرایط بی‌هوازی (GasPak System; BBL, Cockeysville, MD, USA) قرار داده شد و سپس سایر آزمون‌های تکمیلی (کاتالاز، اکسیداز، گرم و مورفولوژی) بر روی آن انجام گرفت (James et al., 1991). جهت خالص‌سازی و تهیه کلنی تک از این باکتری، کشت خطی ۴ مرحله ای انجام شد و سپس باکتری ۵ مرتبه پاساژ داده شد.

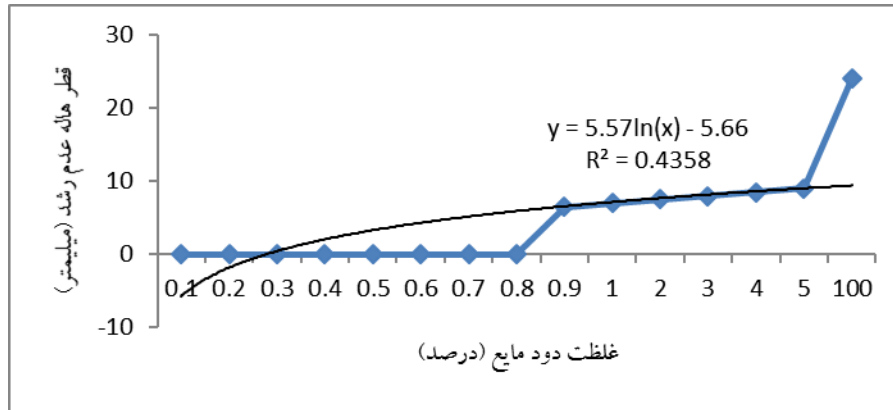
تهیه دیسک از اسانس‌ها و آزمون حساسیت

برای تهیه دیسک، ابتدا اسانس‌ها با استفاده از فیلتر سرنگی (CHM Lab, Spain) ۰/۴۵ میکرونی استریل شدند. سپس در لوله های آزمایش غلظت‌های مختلف ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴، ۰/۵، ۰/۶، ۰/۷، ۰/۸، ۰/۹، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۱۰۰ درصد دود مایع و اسانس شیره بنه به ترتیب در اب مقطر و محلول ۰/۰۵ درصد توئین ۸۰ تهیه شد، سپس ۲۰ میکرولیتر از هر غلظت روی دیسک بلانک (پادتن طب) ریخته شد و زیر لامپ UV به مدت نیم ساعت قرار گرفت تا کاملاً دیسک‌ها به اسانس آغشته شوند.

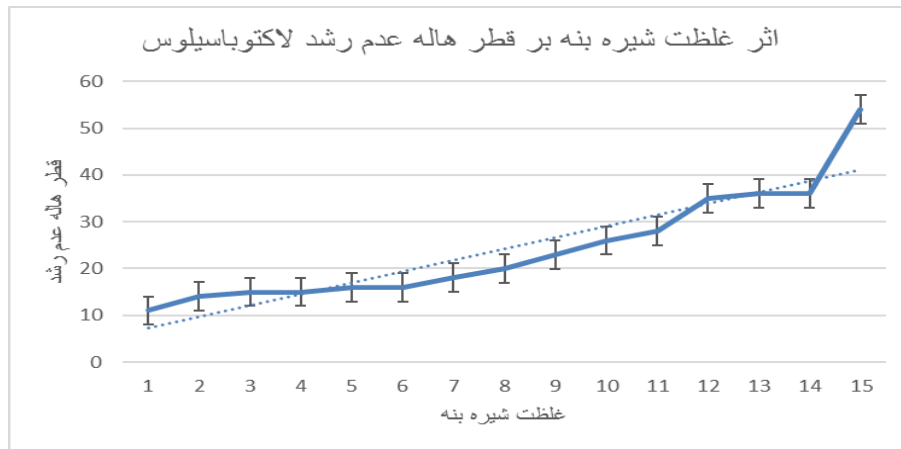
محیط کشت مولر هینتون آگار طبق دستور العمل شرکت سازنده (مرک، آلمان) تهیه و استریل شد و در پلیت‌های ۱۰ سانتی متری ریخته شد. از کشت خالص شبانه باکتری ۲ تا ۳ کلنی در محلول سالین استریل حل شد و سپس این سوسپانسیون با محلول استاندارد ۰/۵ مک فارلند (غلظت تقریبی $10^8 \times 1/5$ CFU/ml) با استفاده از Wickerham Card مقایسه شد و سپس

جدول ۱- قطر هاله عدم رشد باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس با اثر اسانس شیره درخت بنه و دود مایع

۱۰۰	۵	۴	۳	۲	۱	۰/۹	۰/۸	۰/۷	۰/۶	۰/۵	۰/۴	۰/۳	۰/۲	۰/۱
دود مایع	۲۴	۹	۸/۵	۸	۷/۵	۷	۶/۵	۶	۶	۶	۶	۶	۶	۶
شیره بنه	۵۴	۳۶	۳۶	۳۵	۲۸	۲۶	۲۳	۲۰	۱۸	۱۶	۱۶	۱۵	۱۵	۱۴



نمودار ۱- رابطه رگرسیونی بین غلظت دود مایع و قطر هاله عدم رشد باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس



نمودار ۲- اثر غلظت های مختلف شیره بنه بر قطر هاله عدم رشد باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس

بحث

لاکتو باسیلوس در غلظت های پایین (۰/۱ درصد)، استفاده از بنه در ماست و دوغ می تواند باعث کاهش چشم گیر این باکتری در محصول نهایی شود. محققان نشان داده اند که اسانس گونه های پیستاسیا اثر ضد میکروبی بسیار قویتری بر باکتری های گرم مثبت در مقایسه با انواع گرم منفی دارند (Tassou et al., 1995) بنابراین اثر ضد باکتریایی آن بر لاکتوباسیلوس

لاکتو باسیلوس موجود در دوغ اثرات سلامت زایی بر دستگاه گوارش دارد و یکی از دلایل ارجحیت دوغ نسبت به سایر نوشیدنی ها وجود باکتری های اسید لاکتیک در آن می باشد. تحقیق نشان داد که اسانس بنه اثر بیشتر و قوی تری نسبت به دود مایع در مهار لاکتوباسیلوس بولگاریکوس جدا شده از دوغ دارد. با توجه به اثرات مهارکنندگی بنه بر لاکتوباسیلوس

در مطالعه ای دیگر محققان (Sarabi and Niazmand, 2009) اثر اسانس‌های نعناع و پونه را بر باکتری لاکتوباسیلویس بولگاریکوس مورد مطالعه قرار دادند به طوری که اسانس‌ها را در غلظت‌های ۰، ۲۵، ۴۰، ۷۰، ۱۰۰ و ۱۳۰ میکروگرم در لیتر به شیر ماست سازی اضافه کردند و نتایج بعد از ۷ روز کاهش قابل ملاحظه‌ای در جمعیت استارتر کالچرها را نشان داد. این مطالعات نشان می‌دهند که اسانس‌های گیاهی هم در محیط *in vitro* و هم در محیط *in vivo* می‌توانند موجب مهار و کاهش رشد باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس شوند.

با توجه به اینکه لاکتوباسیلوس بولگاریکوس نسبت به اسانس شیره درخت بنه بسیار حساس می‌باشد لذا توصیه می‌شود در محصولات تخمیری حاوی این باکتری حدالمقدور از اسانس بنه استفاده نشود. همچنین در غلظت‌های کمتر از ۰/۹ درصد با رعایت خصوصیات مربوط به عطر و طعم غذا مانعی برای استفاده از دود مایع در محصولات حاوی لاکتوباسیلوس وجود ندارد. در نهایت باتوجه به مصرف روز افزون فرآورده‌های لبنی طعم‌دار و همچنین اثرات ضد میکروبی اسانس‌های مورد استفاده در صنایع لبنی، باید به این نکته توجه کرد که اسانس‌ها علاوه بر کاهش باکتری‌های پاتوژن، می‌توانند باعث کاهش چشمگیر باکتری‌های اسید لاکتیک شوند، بنابراین در استفاده از انواع اسانس‌ها علاوه بر در نظر گرفتن جنبه‌های حسی محصول، میزان اثر اسانس‌ها بر باکتری‌ها به ویژه باکتری‌های اسید لاکتیک باید مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدر دانی

بدین وسیله از سرکار خانم دکتر محمدی و آقای مهندس غفوری به خاطر کمک‌های بی دریغشان و همچنین شرکت سقز سازی استان کردستان به خاطر تهیه اسانس، کمال تشکر را داریم.

بولگاریکوس که یک باکتری گرم مثبت است نباید دور از انتظار باشد. از آنجایی که بیشترین ترکیب موجود در اسانس بنه آلفا پینن می‌باشد، می‌توان خواص ضد میکروبی قوی این اسانس را به وجود آلفا پینن نسبت داد. از طرفی محققان دریافتند که هیچ تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین اثرات ضد میکروبی آلفا پینن و اسانس بنه وجود ندارد (Sharifi and Hazell, 2011).

از طرفی دیگر، نتایج مطالعه‌ی انجام شده توسط Donnelly et al. (1982) نشان داد که اثر مهار کنندگی دود مایع بر روی باکتری‌های اسید لاکتیک با افزایش غلظت دود مایع افزایش می‌یابد که نتایج این مطالعه منطبق بر یافته‌های مطالعه حاضر می‌باشد. به طوری که با افزایش غلظت هر دو اسانس قطر هاله عدم رشد باکتری افزایش یافت. می‌توان گفت که فنل‌های موجود در دود اصلی ترین عامل برای اثرات ضد میکروبی آن هستند (Maga, 1988; Coronado et al., 2002; Suñen, 1998). علاوه بر این باتوجه به نتایج سایر محققان، کمترین غلظت مهارکنندگی دود مایع علیه باکتری لاکتوباسیلوس پلانناروم ۰/۷۵ درصد بوده است (Milly, 2003) که در مقایسه با نتایج کار تحقیق حاضر می‌توان بیان کرد که حساسیت گونه‌های مختلف لاکتوباسیلوس به دود مایع متفاوت می‌باشد به طوری که در مطالعه حاضر کمترین غلظت مهارکنندگی لاکتوباسیلوس در غلظت ۰/۹ درصد نمایان شده است.

در سایر مطالعات مربوط به اثر انواع اسانس‌ها بر باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس، پژوهشگران دریافتند که کمترین قطر هاله عدم رشد اسانس *Kedrostis Foetidissima* استخراج شده با هگزان، بر این باکتری برابر ۸ میلی متر بود (Elavazhagan and Balakrishnan, 2013). همچنین گزارش شده است که اسانس‌های میخک، دارچین و نعناع جمعیت نهایی باکتری‌های اسید لاکتیک را در ماست طعم دار ۱/۵ تا ۳ سیکل لگاریتمی کاهش داد (Bayoumi, 1992).

منابع

9. Elavazhagan, T., and Balakrishnan. V. 2013. Antibacterial activity of *Kedrostis foetidissima* (Jacq.) Cong. Int. J Curr Microbiol App Sci. 2: 104-107.
10. Ghalem, B.r., and Mohamed, B. 2008. Bacterial activity of *pistachio atlantica Desf* mastic gum against certain pathogens. Afr J Plant Sci. 3: 13-5.
11. Goldin, B.R., Lichtenstein, A.H., and Gorbach, S.L. 1994. The role of the intestinal flora. In: Shils, M.E., and Young, V.R. (ed.), Modern Nutrition in Health and Disease. Lea and Febriger, Philadelphia, pp. 500.
12. Guarner, F., Perdigon, G., Corthier, G., Salminen, S., Koletzko, B., and Morelli, L. 2005. Should yoghurt cultures be considered probiotic? Brit J Nutr. 93:783-786.
13. Guglielmotti, D.M., Marcó, M.B, Golowczyc, M., Reinheimer, J.A., and Quiberoni, A.L. 2007. Probiotic potential of *Lactobacillus delbrueckii* strains and their phage resistant mutants. Int Dairy J 17: 916-925.
14. Huwez, F.U., Al-Habbal, M.J. 1986. Mastic in treatment of benign gastric ulcers. Gastroenterol Jpn 21: 273-274.
15. James, R., Lazdunski, C., and Pattus, F. 1991. Bacteriocins, Microcins and Lantibiotics. NATO ASI series, Springer, New York, USA.
16. Kirby, W.M.M., Yoshihara, G.M., Sundsted, K.S., and Warren, J.H. 1957. Clinical usefulness of a single disc method for antibiotic sensitivity testing. Ant Ann. 8:92.
17. Kneifel, W., Erhard, F., and Jaros, D. 1991. Production and utilization of some water soluble vitamins by yogurt and yogurt-related starter cultures. Milchwissenschaft. 46: 685-690.
- 18.
1. مهدوی، زهرا، مصحفی، محمد حسن و فروتن فر، حمید. (۱۳۸۸). بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره متانولی ۱۲ گونه گیاه بر روی ۶ گونه میکروبی به روش سیلندر- پلیت. مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، دور هشتم، شماره ۳، صفحه ۲۲۷-۲۳۸.
۲. عباسی، اعظم، شیرازی، ندا و فرشادفر، شعله. (۱۳۸۸). اثر صمغ گوار بر بافت و فراربت آسان اسانس اضافه شده به دوغ ایرانی. مجله علوم و فناوری غذایی، سال اول، شماره ۳، صفحه ۳۱-۳۹.
3. Al-Said, M.S., Ageel, A.M, Parmar, N.S., and Tariq, M. 1986. Evaluation of mastic, a crude drug obtained from *Pistacia lentiscus* for gastric and duodenal anti-ulcer activity. J Ethnopharmacol. 15: 271-278.
4. Bauer, A.W., Perry, D.M., and Kirby, W.M.M. 1959. Single disc antibiotic sensitivity testing of *Staphylococci*. A.M.A. Arch Int Med. 104: 208-216.
5. Bayoumi, S. 1992. Bacteriostatic effect of some spices and their utilization in the manufacture of yoghurt. Chem. Mikrobiol Technol Lebensm.14: 21-26.
6. Coronado, A.S., Trout, G.R., Dunshea, F.R., and Shah, N.P. 2002. Effect of dietary vitamin E, fishmeal and wood and liquid smoke on the oxidative stability of bacon during 16 weeks' frozen storage. Meat Sci. 62: 51-60.
7. Crittenden, R.G, Martinez, N.R, and Playne, M.J. 2003. Synthesis and utilisation of folate by yoghurt starter cultures and probiotic bacteria. Int. J Food Microbiol 80: 217-222.
8. Dophne, P.D., James, P.S., Burke, B., Greg, S., John, W.A., and John, K. 2004. Effects of mastic resin and its essential oil on the growth of proteolytic *Clostridium botulinum*. Int J Food Microbiol. 94: 313-322.

19. Le Blanc, J.G., Taranto, M.P., Molina, V., and Sesma, F. 2010. B-group vitamins production by probiotic lactic acid bacteria. In biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications. In Mozzi, F., Raya, R., and Vignolo, G. (ed.), Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA, pp. 211-232.
20. Lin, M.Y., and Young, C.M. 2000. Folate levels in cultures of lactic acid bacteria. *Int Dairy J.* 10: 409-413
21. Maga, J.A. 1988. Smoke in food processing. CRC Press Inc, Boca Raton, USA.
22. Messina, M.C., Ahmad, H.A., Marchello, J.A., Gerba, C.P., and Paquette, M.W. 1988. The effect of liquid smoke on *Listeria monocytogenes*. *J Food Prot.* 51: 629-631.
23. Michael, H.W., and Frank, J.F. 1972. Standard methods for the examination of dairy products. American Public Health Association, Washington, DC, USA.
24. Milly, p. 2003. Antimicrobial properties of liquid smoke fractions. A Thesis Submitted to the Graduate Faculty of The University of Georgia in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Master of science. Athens, Georgia.
25. Petti, S., Tarsitani, G., and Simonetti D'Arca, A. 2008. Antibacterial activity of yoghurt against viridans streptococci in vitro. *Arch Oral Biol.* 53: 985-990.
26. Rasooli, B. 2006. Antibacterial activity studies of *Thymus Kotschyanus*, *Stachys inflata* (Labiatae), *Rhus coriaria* and *Pistacia atlantica* by invitro method. *Iranian Pistachio Res Ins.* 13: 1-2.
27. Sarabi, J., and Niazmand, R. 2009. Effect of essential oil of *Mentha piperita* and *Ziziphora clinopodioides* on *Lactobacillus acidophilus* activity as bio-yogurt starter culture. *American-Eurasian J Agric Environ Sci.* 6: 129-131.
28. Shakeel, U.R., Farkye, N.Y., and Drake M.A. 2003. The effect of application of cold natural smoke on the ripening of cheddar cheese. *J Dairy Sci.* 86:1910-191.
29. Sharifi, Sh.M and Hazell, L.S. 2011. GC-MS analysis and antimicrobial activity of the essential oil of the trunk exudates from *Pistacia atlantica kurdica*. *J Pharm Sci Res.* 3: 1364-1367.
30. Suñen, E. 1998. Minimum inhibitory concentration of smoke wood extracts against spoilage and pathogenic microorganisms associated with foods. *Lett Appl Microbiol.* 27: 45-48.
31. Tassou, C.C., and Nychas, G.J.E. 1995. Antimicrobial activity of the essential oil of mastic gum (*Pistacia Zentiscus var. chia*) on Gram-positive and Gram-negative bacteria in broth and in model food system. *Int Biodeter Biodegr.* 36: 411-420.
32. Vitt, S.M., Himelbloom, B.H., and Crapo, C.A. 2001. Inhibition of *Listeria inocula* and *Listeria monocytogenes* in a laboratory medium and cold-smoked salmon containing liquid smoke. *J Food Saf.* 2: 111-125.