بررسی فعالیت ضدمیکروبی اسانس پونه کوهی و باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی بر رشد لیستریا مونوسیتوژنز در روند تولید، رسیدن و نگهداری پنیر سفید ایرانی

رزاق محمودی[1]، علی احسانی[2]*، حسین تاجیک[3]، افشین آخوندزاده‌بستی[4]

۱- استادیار، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز
۲- استادیار، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه
۳- دانشیار، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه
٤- استاد، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران
*آدرس مکاتبه: ارومیه، کیلومتر ۱۱ جاده سرو، پردیس نازلو، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، تلفن: ۲۷۷۰۵۰۸ (۰٤٤۱)، نمابر: ۲۷۷۱۹۲٦ (۰٤٤۱)
پست الکترونیک: a.ehsani@urmia.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۲/۹ **تاریخ تصویب:** ۸۹/٤/۲۸

چکیده

مقدمه: نگهداری مواد غذایی در برگیرنده روش‌هایی است که سلامت، بهداشت و ماندگاری بهینه غذا در آن تامین شود، در جهت تحقق این امر استفاده ترکیبی از محافظت‌کننده‌های زیستی، مانند اسانس‌های گیاهی و پروبیوتیک‌ها توجه زیادی را به خود جلب کرده است.

هدف: این مطالعه به منظور ارزیابی اثرات ضدمیکروبی اسانس پونه کوهی و باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی علیه لیستریا مونوسیتوژنز در پنیر سفید ایرانی طراحی و به اجرا گذارده شده است.

روش بررسی: اسانس گیاه مذکور به روش تقطیر با بخار آب استخراج و ترکیب آن با دستگاه گازکروماتوگرافی طیف سنج جرمی GC/MS تعیین شد. در ادامه رشد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز تحت تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس و پروبیوتیک (به تنهایی و توام) در زمان‌های مختلف نگهداری پنیر مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: نتایج نشان داد که اسانس پونه کوهی در دو غلظت ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد در تیمار توام با پروبیوتیک از بالاترین تاثیر بر رشد لیستریا مونوسیتوژنز برخوردار بوده است. همچنین بهترین غلظت اسانس از نظر ممانعت از رشد لیستریا مونوسیتوژنز و تولید پنیر با خواص طعمی مطلوب غلظت ۰/۰۱۵ درصد در تیمار توام با پروبیوتیک بود.

نتیجه‌گیری: اثر سینرژیستی بین حالت‌های مختلف اسانس و پروبیوتیک در مقایسه با تیمار کنترل و تیمارهای دارای اسانس و فاقد پروبیوتیک کنترل، معنی‌دار بود که این بیانگر تاثیر مهاری اسانس و باکتری پروبیوتیک بر روی لیستریا مونوسیوژنز بوده و در صورت به کارگیری توام با پروبیوتیک می‌توان از غلظت‌های پایین‌تری از اسانس برای اثر مهاری مشهود، استفاده کرد.

گل‌واژگان: پونه کوهی، لاکتوباسیلوس کازئی، لیستریا مونوسیتوژنز، پنیر سفید ایرانی

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.13.8]

مقدمه

سلامت غذا یک ضروت اساسی از دیدگاه مصرف‌کننده و دست‌اندرکاران صنعت غذا می‌باشد، به ویژه آنکه گزارش موارد عفونت‌های حاصل از غذا رو به گسترش است [۱]. افزایش بیماری‌های غذایی، همراه با مشکلات اجتماعی و اقتصادی حاصل از آن، سبب انجام تحقیقات گسترده‌ای برای تولید غذای سالم و توسعه عوامل ضدمیکروبی جدید شده است [۲]. لیستریا مونوسیتوژنز (*Listeria Monocytogenes*) یک باکتری بیماریزای غذایی است که باعث مسمومیت می‌شود. مسمومیت‌های حاصل از این باکتری بیشتر در اثر مصرف شیر و فرآورده‌های آن به ویژه پنیر عارض می‌شود [۳،٤]. ویژگی‌هایی همچون پراکندگی گسترده در محیط، توانایی رشد در دامنه وسیعی از pH، شرایط یخچال و تحمل مقادیر بالای نمک، این باکتری را به عنوان پاتوژن بسیار خطرناک در مواد غذایی مطرح نموده است. توجه به سلامت برخی نگاهدارنده‌های شیمیایی و عکس‌العمل منفی مصرف‌کنندگان به نگاهدارنده‌های شیمیایی، باعث افزایش تمایل به ترکیبات طبیعی گردیده است. خصوصیات ضدمیکروبی اسانس‌های (Essential Oils) گیاهی علیه طیف وسیعی از میکروب‌ها، شامل باکتری‌ها، مخمرها و کپک‌ها به اثبات رسیده است [۳،۲]. گیاه پونه کوهی (*Mentha longifolia* L.) از اعضاء خانواده *Laminacea* بوده و به صورت یک گیاه چند ساله می‌باشد. این جنس شامل بیش از ۲۵ گونه است و به صورت وحشی در مناطق مرطوب نواحی مرکزی و جنوب اروپا، جنوب غربی آسیا و شمال آفریقا می‌روید. ساقه‌های این گیاه به صورت چند ساله و بر افراشته بوده، که در مراحل نهایی بلوغ گیاه به طول ۱/۵ متر می‌رسد. برگ‌های آن به صورت ساده، و چسبیده (بدون پایه) به ساقه، به طول ۹۹ میلی‌متر و عرض ۲۲ میلی‌متر می‌باشد. همچنین این گیاه واجد گل‌های کوچک (به طول ۳ میلی‌متر) به رنگ سفید متمایل به ارغوانی روشن می‌باشد. از قسمت‌های مختلف این گیاه در ترکیب ادویه‌جات تجاری به عنوان طعم‌دهنده در غذا استفاده می‌شود. خصوصیات درمانی این گیاه در برطرف کردن اختلالات گوارشی، استفراغ، بی‌اشتهایی، کولیت اولسراتیو و اختلالات کبدی به اثبات رسیده است. همچنین خصوصیات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی گونه‌های متعدد این گیاه به خوبی مشخص شده است [۵،٦]. پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که در صورت مصرف در مقادیر کافی دارای اثرات مفید سلامتی می‌باشند، باکتری‌های اسید لاکتیک و بیفیدوباکترها معمول‌ترین پروبیوتیک‌هایی هستند که در فرآورده‌های لبنی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۷]. تاثیرات مطلوب فراوان باکتری‌های پروبیوتیک در بهبود تعادل میکروفلور دستگاه گوارش، تقویت سیستم دفاعی موکوسی علیه پاتوژن‌ها، افزایش پاسخ‌های ایمنی، کاهش کلسترول خون و فعالیت ضدسرطانی و ضدمیکروبی‌شان، سبب افزایش کاربرد آنها در دسته‌ای از مواد غذایی موسوم به غذاهای عملگر شده و مقبولیت مصرف غذاهای پروبیوتیکی در سراسر جهان را افزایش داده است [۸]. اغلب تحقیقات در زمینه اثر ضدمیکروبی اسانس‌ها در محیط آزمایشگاهی انجام گرفته و بدین‌ترتیب مطالب کمی پیرامون تاثیر آنها در مدل‌های غذایی، گزارش شده است [۲]. لزوم به کارگیری غلظت‌های بالاتر اسانس در غذا در مقایسه با شرایط آزمایشگاهی نشان‌دهنده پیچیده بودن شرایط رشد در غذا بوده که می‌تواند اثرات محافظتی روی سلول‌های میکروبی در مقابل ترکیبات ضدمیکروبی 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 اسانس‌های گیاهی به تنهایی در مواد غذایی شده است [۹،۱۰]. با توجه به عدم کفایت باکتریوسین‌های تولید شده توسط باکتری‌های اسید لاکتیک علیه باکتری‌های گرم منفی و مخمرها، موارد استفاده آنها نیز به تنهایی به عنوان ترکیبات ضدمیکروبی دارای محدودیت می‌باشد [۱۱]. استفاده توام از اسانس‌های گیاهی و پروبیوتیک‌ها جهت بهبود عملکرد خصوصیات ضدمیکروبی آنها پیشنهاد شده است [۱۲]. هدف از این مطالعه بررسی رشد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در پنیر سفید ایرانی تحت تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس پونه کوهی و باکتری لاکتوباسیلوس کازئی در طی زمان‌های مختلف تولید و نگهداری و رسیدن

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.13.8]

پنیر سفید می‌باشد.

مواد و روش‌ها

طراحی آزمایش

این مطالعه شامل ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف اسانس پونه کوهی (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد) و باکتری پروبیوتیک لاکتوکوباسیلوس کازئی به تنهایی و در تیمار توام بر روی باکتری بیماری‌زای مهم با منشا غذایی، *Listeria monocytogenes* در روند تهیه، رسیدن و نگهداری پنیر سفید ایرانی می‌باشد.

تهیه اسانس وآنالیز آن

گیاه پونه کوهی پس از جمع‌آوری توسط گروه گیاه‌شناسی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی 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. آنالیز اسانس توسط دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) انجام شد. دستگاه GC/MS از نوع Agilent 6890 با ستون مویینه به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS با برنامه دمایی ستون در ابتدا به صورت ۵۰ درجه سانتی‌گراد با توقف ۵ دقیقه در این دما سپس افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه و افزایش دمای ستون تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. شناساگر EI با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. پس از تهیه اسانس تا زمان به کارگیری آن، در شیشه‌های استریل و تیره‌رنگ در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

آماده‌سازی و محاسبه میزان تلقیح باکتری لیستریا مونوسیتوژنز

در این مطالعه باکتری لیستریا مونوسیتوژنز ATCC 19118 تهیه شده از بخش بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران استفاده شد. ابتدا کشت لیوفلیزه باکتری مذکور دو مرتبه متوالی در محیط BHI Broth (Brain Heart Infusion Broth) به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شد. سپس جهت تهیه میزان تلقیح باکتری لازم ($۱۰^{۳}$ CFU/ml)، مقادیر مختلفی از کشت مرحله دوم انتخاب و به کووت‌های حاوی ۵ میلی‌لیتر BHI Broth منتقل شده و با استفاده از خواندن جذب نوری کووت های مذکور (در طول موج ٦۰۰ نانومتر) و شمارش باکتریایی به کمک کشت سطحی، کووت حاوی تعداد مناسب باکتری جهت تلقیح به نمونه‌های شیر مشخص شد [۱۳].

آماده‌سازی و محاسبه میزان تلقیح باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی

در این مطالعه باکتری لاکتوباسیلوس کازئی ATCC 3939 تهیه شده از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، به عنوان پروبیوتیک استفاده شد. محتویات آمپول لیوفیلیزه حاوی باکتری لاکتو باسیلوس کازئی در شرایط استریل به لوله آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع MRS منتقل و مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس به ارلن حاوی ۹۵ میلی‌لیتر از محیط کشت فوق منتقل و تحت شرایط ذکر شده در بالا، انکوبه شد. این عمل ۲ تا ۳ بار تکرار شد تا تعداد باکتری‌ها به مقدار لازم ($۱۰^{۹}$cfu/ml – $۱۰^{۸}$) برسد. سپس سلول‌های میکروبی توسط سانتریفوژ یخچال‌دار با دور ۱۵۰۰ گرم و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه برداشت شد. باکتری‌های برداشت شده دو بار با آب پپتون ۰/۱ درصد استریل شستشو داده شد و جهت تلقیح در شیر مورد استفاده قرار گرفت [١٤].

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.13.8]

آماده‌سازی استارتر جهت تلقیح در شیر

در این مطالعه از استارتر پنیر Chr. Hansen R 704 (استارتر مزوفیل شامل لاکتوکوکوس لاکتیس تحت گونه کرموریس و لاکتوکوکوس لاکتیس تحت گونه دی استیلاکتیس تهیه شده از شرکت کریستین هانس دانمارک) استفاده شد.

تولید پنیر سفید ایرانی

برای تهیه پنیر سفید، شیر تازه و کامل گاو که در دمای ٦٣ درجه سانتی‌گراد به مدت ٣٠ درجه پاستوریزه شده بود، استفاده شد. قبل از شروع به انجام مراحل مختلف پنیرسازی، دمای شیر را به ٣٥ درجه سانتی‌گراد رسانده و در هریک از ظروف استریل مخصوص تهیه پنیر مقدار ٥ لیتر از شیر ریخته شد. سپس باکتری لیستریا مونوسیتوژنز با دوز مورد نظر (10^3cfu/ml) به نمونه‌های شیر آماده شده تلقیح شد. پس از آن، استارتر به مقدار ٠/٥ درصد (حجمی/ حجمی) و باکتری پروبیوتیک لاکتو باسیلوس کازئی به میزان 10^9 cfu/ml – 10^8 همزمان به نمونه‌های شیر اضافه شدند، و پس از گذشت نیم ساعت مقدار ٠/٠٢ درصد (وزن به حجم) از کلرور کلسیم (CaCl2) اضافه شد. نهایتاً پس از آنکه pH شیر به ٥/٦ رسید، رنت (Rennet) به مقدار ٠/٠٠١ درصد (وزن به حجم) پس از حل نمودن آن در آب مقطر استریل به شیر افزوده شده و در همین زمان اسانس پونه کوهی نیز در غلظت‌های (صفر، ٠/٠٠٥، ٠/٠١٥ و ٠/٠٣ درصد) اضافه شد. به منظور کارایی بهتر رنت، دمای شیر در مدت زمان تشکیل لخته در حدود ٣٥ درجه سانتی‌گراد حفظ شد. پس از گذشت مدت زمان یک ساعت، لخته تشکیل شده به قطعات ٢ – ١ سانتی‌متر مکعبی برش داده شده و جهت آبگیری به مدت شش ساعت تحت فشار وزنه استریل قرار گرفت. سپس قطعات لخته آبگیری شده در آب نمک ٢٠ درصد (وزن به حجم) استریل به مدت ٨ ساعت قرارگرفت. بعد از آن، نمونه‌های پنیر ضمن انتقال به آب نمک ٨ درصد استریل، تا ١٥ روز در دمای ١٤ – ١٢ درجه سانتی‌گراد و پس از طی دوره رسیدن اولیه جهت دوره رسیدن نهایی نمونه‌ها به مدت ٤٥ روز در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

به منظور شمارش باکتری لیستریا مونوسیتوژنز از محیط آگار انتخابی لیستریا (پالکام) (PALCAM) Listeria (Selective Agar به روش کشت سطحی (دمای ٣٧ درجه سانتی‌گراد و نگهداری به مدت ٢٤ الی ٤٨) و در آزمایش‌های شیمیایی نیز اندازه‌گیری pH توسط دستگاه pH متر دیجیتال (ساخت کارخانه Metrohm Herisua سوئیس)، در طی مراحل زیر صورت گرفت.

– ساعت صفر (بلافاصله پس از تلقیح لیستریا مونوسیتوژنز در شیر)، نمونه‌برداری از لخته تشکیل شده در ساعت ١/٥ و ٧، نمونه برداری از پنیر در روزهای ٧، ١٥ (متعاقب اتمام دوره رسیدن اولیه پنیر در انبار سبز با دمای ١٦ – ١٤ درجه سانتی‌گراد)، ٣٠، ٤٥ و ٦٠.

آماده‌سازی نمونه‌های 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 شیشه‌ای استریل منتقل شد. سپس تحت شرایط استریل ١٠ گرم از هر نمونه پنیر را در کیسه‌های استریل مخصوص دستگاه استوماکر قرار داده و با افزودن ٩٠ میلی‌لیتر محلول استریل سیترات سدیم و قرار دادن در دستگاه استوماکر (Bag mixer) به مدت دو دقیقه همگن‌سازی انجام شد. تهیه رقت‌های سریالی از طریق افزودن یک میلی‌لیتر از محتویات استریل کیسه‌های دستگاه استوماکر به لوله‌های حاوی ٩ میلی‌لیتر آب پپتونه یک دهم درصد استریل صورت گرفت. جهت شمارش باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی، از روش پورپلیت و با انتقال یک میلی‌لیتر از رقت‌های تهیه شده به محیط کشت MRS آگار و گرمخانه‌گذاری ٣٧ درجه سانتی‌گراد در شرایط هوازی به مدت ٤٨ ساعت استفاده شد [١٤].

ارزیابی حسی

برای ارزیابی ویژگی‌های حسی ناشی از افزودن اسانس پونه کوهی و پروبیوتیک به پنیر سفید ایرانی از تست پذیرش حسی استفاده شد. برای این منظور پنیر سفید آماده شده با

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.13.8]

غلظت‌های مختلف اسانس و پروبیوتیک به هفت قسمت (هر قسمت شامل ۵۰۰ گرم پنیر در ظروف سفید و تمیز) تقسیم شد. ارزیابی حسی به وسیله 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 ۹ نمره‌ای (9-point hedonic scale) مشخص نمودند. در این مقیاس نمره ۹ خیلی عالی، نمره ۸ عالی، نمره ۷ خوب، نمره ٦ نسبتاً خوب، نمره ۵ نه خوب نه بد، نمره ٤ نسبتاً بد، نمره ۳ بد، نمره ۲ خیلی بد و نهایتاً نمره ۱ فوق‌العاده بد، لحاظ شد [۱۵].

تحلیل آماری: کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. اثر اسانس به تنهایی و تداخل اسانس با پروبیوتیک بر روی شمارش باکتری لیستریا مونوسیتوژنز توسط آنالیز واریانس (ANOVA) انجام گرفت. تفاوت در بررسی‌های ارگانولپتیک مورد نظر با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) و least significant difference procedure (LSD) صورت گرفت، لازم به ذکر است تمام تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS۱۷ انجام شد. نتایج معنی‌دار در $p< ۰/۰۵$ مدنظر قرار گرفت.

نتایج

نتیجه آنالیز ترکیبات اسانس پونه کوهی استفاده شده در این مطالعه با استفاده از GC/MS در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. در این میان پولگون (Pulegone) با ۳۱/٥٤ درصد و سینولئون (1,8- Cineole) با ۱۵/۸۹ درصد بیشترین ترکیبات موجود در اسانس بودند. نتایج حاصل از ارزیابی خصوصیات ارگانولپتیکی پنیر در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. غلظت ۰/۰۱۵ درصد اسانس در ترکیب با پروبیوتیک بهترین تیمار از لحاظ خصوصیات حسی بود. نتایج حاصل از ارزیابی تغییرات pH پنیر در مراحل مختلف تهیه و نگهداری آن نشان‌دهنده فقدان تاثیر اسانس پونه کوهی بود (جدول شماره ۳). به گونه‌ای که تغییرات pH در طی تولید پنیرها تحت تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس پونه کوهی (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد) در دوره‌های زمانی مشابه، اختلاف آماری معنی‌داری را نشان نداد ($p<۰/۰۵$).

جدول شماره۱- نتایج آنالیز اسانس پونه کوهی مورد بررسی با استفاده از GC/MS

ترکیب	شاخص بازداری	درصد
α - Pinene	۹۳۹	۱/۸٦
2- β- Pinene	۹۸۰	۳/۰۷
1,8- Cineole	۱۰۳۱	۱۵/۸۹
P- Mentha- 3,8- Diene	۱۰٦۸	۰/٥٤
Iso pentyl 2- Menthyl Butanoate	۱۰۹۹	۰/۹۱
P- Menth- 3- En- 8- ol	۱۱٤۹	۷
Menthofuran	۱۱٦۳	۱۱/۸
Cis- Iso Pulegone	۱۱۷۵	۹/۷٤
Borneol	۱۱۹۰	۱/۰۱
(Neo- Iso) Dihydrocarveol	۱۲۲۰	۱/۷۸
Pulegone	۱۲٤۵	۳۱/٥٤
2- Cyclohexan- 1- one	۱۳٤۲	۳/۰۸
1- Decene	۱۳۵۰	۱/۵۸
Spathulenol	۱۵۷۵	۰/۵۲
Caryophyllene oxide	۱۵۸۰	۱/٦۰
مجموع		**۹۲/۰۲**

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.13.8]

جدول شماره ۲- میزان میانگین پذیرش حسی پنیر سفید حاوی غلظت‌های مختلف اسانس پونه کوهی و پروبیوتیک

EO (µl 100 ml^{-1})	Probiotic (۱۰^{۸}- ۱۰^{۹} cfu/ml^{-1})	Mean rating ± SD
۰	-	۸/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{a}
۵	-	۷/۱۲ ± ۰/۱٤ ^{a}
۱۵	-	۷/٦۸ ± ۰/۲۱ ^{a}
۳۰	-	٦/۰۵ ± ۰/٤۲ ^{b}
٤۵	-	٤/۹٦ ± ۰/۳۳ ^{d}
٦۰	-	۳/۰۲ ± ۰/٤۱ ^{e}
۰	+	۸/۲۵ ± ۰/۱۱ ^{a}
۵	+	۷/۲۹ ± ۰/۲۵ ^{a}
۱۵	+	۷/۸۹ ± ۰/۳۲ ^{c}
۳۰	+	٦/۱٤ ± ۰/٤۲ ^{e}
٤۵	+	۵/۲۳ ± ۰/۲۸ ^{d}
٦۰	+	۳/٤۳ ± ۰/۱۹ ^{e}

(- : فاقد پروبیوتیک، + : واجد پروبیوتیک)

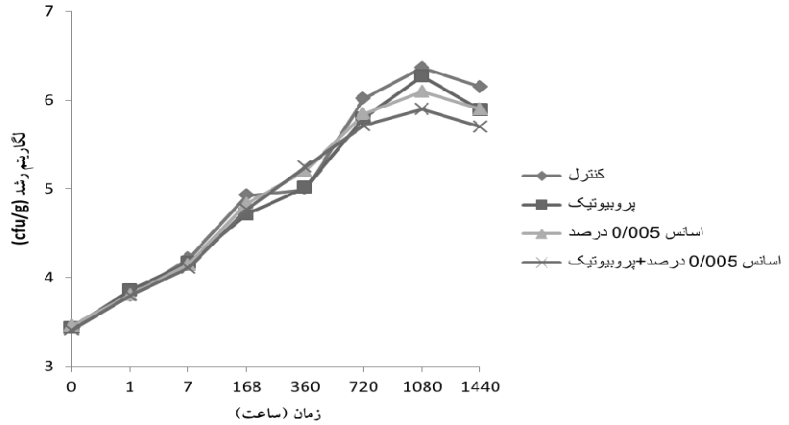
جدول شماره ۳- تغییرات میزان pH در طی مرحل مختلف تولید و نگهداری در پنیر سفید ایرانی. A: دارای پروبیوتیک، B: فاقد پروبیوتیک، ۱: بدون اسانس، ۲: غلظت ۰/۰۰۵ درصد اسانس، ۳: غلظت ۰/۰۱۵ درصد اسانس، ٤: غلظت۰/۰۳ درصد اسانس

نمونه	ساعت ۰	ساعت ۱	ساعت ۷	ساعت ۱٦۸	ساعت ۳٦۰	ساعت ۷۲۰	ساعت ۱۰۸۰	ساعت ۱٤٤۰
A_1	٦/۷۷	٦/٦	۵/۵٦	۵/۲۷	۵	٤/۸۵	٤/۸۱	٤/۸۰
A_2	٦/۷۷	٦/٦۲	۵/٦۱	۵/۲۱	٤/۹٦	٤/۸۳	٤/۸۰	٤/۷٦
A_3	٦/۷۷	٦/٦۱	۵/۵٦	۵/۱۷	٤/۹۱	٤/۸۰	٤/۷۵	٤/۷۳
A_4	٦/۷۷	٦/٦۳	۵/۵۵	۵/۱	٤/۹۰	٤/۷۷	٤/۷۱	٤/٦۹
B_1	٦/۷۷	٦/۵۸	۵/٦۵	۵/۲۸	٤/۹۹	٤/۸۵	٤/۸۹	٤/۸۳
B_2	٦/۷۷	٦/٦۰	۵/٦۳	۵/۲۰	٤/۹۷	٤/۸۰	٤/۸۳	٤/۸۱
B_3	٦/۷۷	٦/۵۹	۵/٦۰	۵/۱۹	٤/۹۰	٤/۸۰	٤/۸۰	٤/۷٤
B_4	٦/۷۷	٦/٦۳	۵/۵۷	۵/۰۸	٤/۸٦	٤/۷۷	٤/۷٤	٤/۷

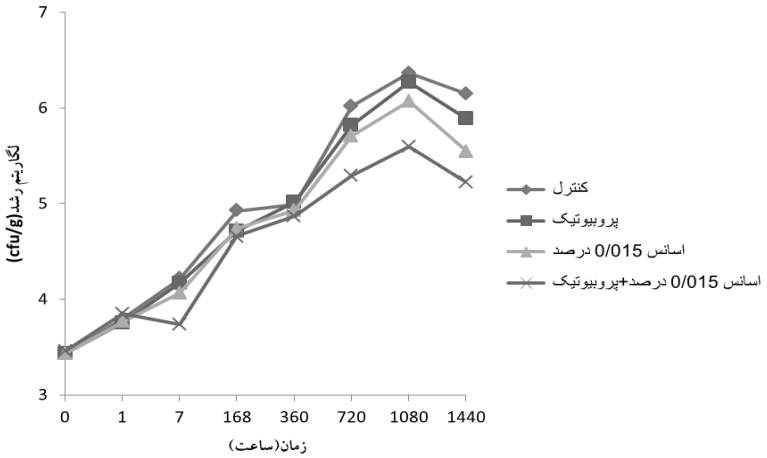
نتایج حاصل از بررسی میزان رشد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در طی مراحل مختلف تولید و نگهداری پنیر تحت تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس پونه کوهی و باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی در نمودارهای شماره ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که اثر اسانس مذکور در غلظت‌های مختلف و پروبیوتیک هر کدام به تنهایی در ممانعت از رشد این باکتری در مقایسه با تیمار کنترل معنی‌دار بود. نمودارهای شماره ۲ و ۳ نشان داد که اسانس مذکور در دو غلظت ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد در تیمار توام با پروبیوتیک از بالاترین تاثیر بر رشد لیستریا مونوسیتوژنز برخورداربود، به عبارت دیگر اثر سینرژیستی بین غلظت‌های مختلف اسانس (به ویژه دو غلظت ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳درصد) و باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی در مقایسه با نمونه کنترل و نمونه‌های دارای اسانس فاقد پروبیوتیک، معنی‌دار می‌باشد. بهترین غلظت اسانس از نظر ممانعت رشد لیستریا مونوسیتوژنز و نیز از نظر تولید پنیر با خواص طعمی مطلوب غلظت ۰/۰۱۵ درصد در تیمار توام با باکتری پروبیوتیک بود. همچنین افزایش غلظت اسانس، بر کاهش لگاریتم تعداد باکتری به طور معنی‌داری موثر بود ($p<۰/۰۵$).

ماندگاری لاکتوباسیلوس کازئی در کلیه تیمارها در پایان مرحله رسیدن پنیر سفید ایرانی مورد ارزیابی قرار گرفت. در تمامی موارد شمارش باکتری پروبیوتیک مذکور بیش از ۱۰^{۷}cfu/g پنیر بود.

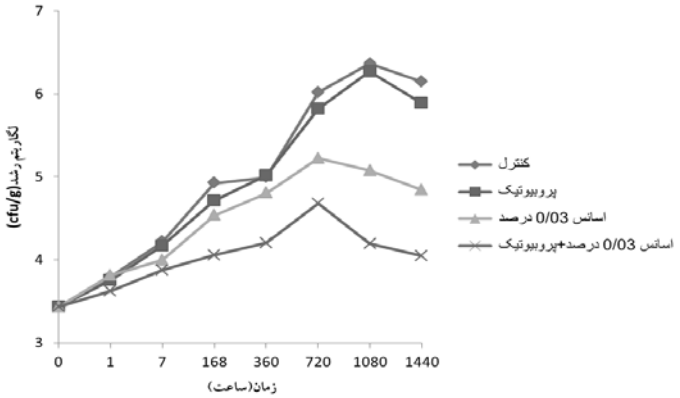
[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.13.8]



نمودار شماره ۱- لگاریتم رشد لیستریا در نمونه‌های کنترل، پروبیوتیک، غلظت ۰/۰۰۵ درصد اسانس و پروبیوتیک با اسانس ۰/۰۰۵ درصد پنیر در طی زمان تولید و نگهداری



نمودار شماره ۲- لگاریتم رشد لیستریا در نمونه‌های کنترل، پروبیوتیک، غلظت ۰/۰۱۵ درصد اسانس و پروبیوتیک با اسانس ۰/۰۱۵ درصد پنیر در طی زمان تولید و نگهداری



نمودار شماره ۳- لگاریتم رشد لیستریا در نمونه‌های کنترل، پروبیوتیک، غلظت ۰/۰۳ درصد اسانس و پروبیوتیک با اسانس ۰/۰۳ درصد پنیر در طی زمان تولید و نگهداری

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.13.8]

بحث

افزایش بیماری‌ها و مسمومیت‌های ناشی از غذا به همراه مشکلات اقتصادی و اجتماعی حاصل از آن سبب گسترش مطالعات در زمینه تولید غذای سالم و به کارگیری ترکیبات ضدمیکروبی جدید شده است [۲]. اسانس‌های حاصل از گیاهان و باکتریوسین‌های حاصل از باکتری‌های پروبیوتیک (به ویژه گونه‌های مختلف لاکتوباسیلوس‌ها) واجد اثرات ضدمیکروبی شناخته شده‌ای هستند که می‌توانند در جهت کنترل و جلوگیری از رشد باکتری‌های پاتوژن و عامل فساد منتقله از مواد غذایی به جای نگاهدارنده‌های شیمیایی و سنتتیک مورد استفاده قرار گیرند [۲،۱۶]. اسانس حاصل از گونه‌های مختلف گیاه *M. lonifolia* علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌ها و قارچ‌ها دارای فعالیت ضدمیکروبی قابل مقایسه با داروهای استاندارد می‌باشد [۵]. اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی برخی از اجزای اسانس گونه‌های مختلف *M. lonifolia* (شامل *pulegon*، *piperitenon oxide* و *cis- piperitoe epoxide*) در بسیاری از مطالعات گزارش شده است [۱۷،۱۸]. در مطالعه حاضر نیز بالاترین ترکیب موجود در اسانس پونه کوهی مورد استفاده *pulegon* بوده که اثرات ضدمیکروبی آن در مطالعات قبلی گزارش شده است. توانایی باکتری‌های اسید لاکتیک تولید کننده باکتریوسین در زمینه کنترل میکروارگانیسم‌های نامطلوب در پنبر به خوبی مشخص شده است [۱۹]. وازکوئز و همکاران (۲۰۰۵) فعالیت ضدمیکروبی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی را مرتبط با تولید باکتریوسین گزارش نمودند [۲۰]. در این مطالعه نیز اثرات ضدمیکروبی لاکتوباسیلوس کازئی علیه لیستریا مونوسیتوژنز مشهود بود. نتایج حاصل از ارزیابی تغییرات pH پنیر در مراحل مختلف تهیه و نگهداری آن در این مطالعه نشان‌دهنده فقدان تاثیر اسانس پونه کوهی بود. به عبارت دیگر غلظت‌های مختلف پونه کوهی تاثیر معنی‌داری بر رشد و فعالیت پروبیوتیک و باکتری‌های مولد اسید لاکتیک موجود در استارتر به کار رفته در این مطالعه نداشت. زایکا و همکاران (۱۹۸۳) نیز در مطالعه مشابهی هیچ‌گونه اثر مهاری در غلظت‌های مختلف اسانس پونه کوهی (۲۰۰ppm-۴۰) بر باکتری‌های مولد اسید لاکتیک نظیر لاکتوباسیلوس پلانتاروم و پدیکوکوس اسیدولاکتیس در محیط کشت مایع مشاهده ننمودند [۲۱]. مواد غذایی عملگر (Functional foods) باید حداقل دارای 10^7 cfu/g باکتری پروبیوتیک باشند تا بتوانند اثرات مفید سلامتی را در مصرف‌کننده ایجاد نمایند [۲۲]. در این مطالعه نیز در پایان دوره رسیدن پنیر سفید، شمار باکتری پروبیوتیک مذکور بالاتر از این میزان بوده و پنیر سفید ایرانی می‌تواند به عنوان یک مدل غذایی مناسب حامل باکتری‌های پروبیوتیک مطرح باشد. در مطالعه صورت گرفته توسط منون و همکاران (۲۰۰۱) اثر ضدلیستریایی روغن میخک در مدل‌های غذایی گوشت و پنیر در دو درجه حرارت ۳۰ و ۷ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به دست آمده نشان داد که غلظت ۱ درصد اسانس میخک سبب جلوگیری از رشد لیستریا منوسیتوژنز در هر دو درجه حرارت در هر دو مدل غذایی می‌شود. چنین بیان شد که اسانس میخک می‌تواند به عنوان یک محافظت‌کننده طبیعی در گوشت و پنیر مورد استفاده قرار گیرد [۲۳]. فعالیت ضدمیکروبی چند اسانس گیاهی علیه *E. coli* O157:H7 توسط بورت و ریندرس (۲۰۰۳) ارزیابی شد. آنها نشان دادند که اسانس‌های پونه کوهی و آویشن در محیط براث اثر ممانعت‌کنندگی بالایی در طیف وسیعی از دما روی *E. coli* O157:H7 دارند [۲۴]. اسمیت و همکاران (۲۰۰۱) اثرات ضدمیکروبی اسانس‌های برگ بو، میخک، دارچین و آویشن را به عنوان محافظت‌کننده‌های طبیعی غذایی در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد در پنیرهای نرم با چربی کم و زیاد علیه لیستریا مونوسیتوژنز و سالمونلا انتریتیدیس در دو دمای ۴ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد در طی ۱۴ روز مورد مطالعه قرار دادند. هر چهار اسانس طبیعی در غلظت ۱ درصد 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 شد [۲]. در مطالعه صورت گرفته توسط عباسی‌فر و همکاران (۲۰۰۹) اثر اسانس آویشن شیرازی و استارتر علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوژنز در طول مدت تهیه، رسیدن و نگهداری

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.13.8]

پنیر سفید ایرانی ارزیابی شد، علاوه بر مقاومت باکتری‌های استارتر به اسانس مذکور، رشد باکتری‌های پاتوژن مذکور در غلظت‌های بالاتر از ۰/۰۰۵ درصد اسانس، و استارتر و در تیمارهای توام تحت تاثیر قرار گرفت، بنابراین اثرات سینرژیستی بین اسانس مدکور و استارتر مشاهده شد [۲۵]. آرکوز وهمکاران (۲۰۰۵) اثر ترکیبی تیمار با فشار بالا و باکتری‌های اسیدلاکتیک مولد باکتریوسین را بر روی بقای لیستریا مونوسیتوژنز در لگاریتم ٤/٨ cfu/mL همراه با استارتر تجاری و یکی از هفت سویه BP-LAB (Bacteriocin Producing-Lactic Acid Bacteria) 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 log cfu/g ۷/۰۳، در پنیرهای حاوی BP-LAB به log cfu/g ٤٧/ ٦– ٦/٠٦، در یک پنیر فاقد BP-LAB که در روز دوم با فشار MPa (Mega Pascal Atmospheric) ۳۰۰ تیمار شده بود به log cfu/g ٦/١٣، در نمونه دیگر با فشار MPa ۵۰۰ به log cfu/g ۲/۰۱، در پنیرهای حاوی BP-LAB که در روز دوم با فشار MPa ۳۰۰ تیمار شده بودند به log cfu/g ۳/۸۳ – ۵/٤٣ و در نمونه‌های مشابهی که با فشار MPa ۵۰۰ تیمار شدند به log cfu/g ۱/۱۸ یا کمتر رسید [۱۰]. در مطالعه انجام شده توسط بوریندر و همکاران (۲۰۰۱) اثر سینرژیک عصاره آلی سیر و نیسین به صورت تغییرات حداقل غلظت نگهدارنده بر روی ٦ سویه لیستریا مونوسیتوژنز در یک مدل محیط کشت مایع Triptose phosphate broth بررسی شد و یک تاثیر سینرژیک ضدباکتریایی بر روی سویه‌های لیستریا در هنگام استفاده این دو ماده با هم مشاهده شد. علاوه‌بر این، تاثیر سایر فاکتورهای رشدی از قبیل pH و دماهای ٤ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد 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 ٤ درجه سانتی‌گراد بیشتر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد بود [۲٦]. در این مطالعه، غلظت ۰/۰۳ درصد اسانس پونه کوهی از بالاترین تاثیر ممانعت‌کنندگی بر روی رشد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز برخوردار بود، به گونه‌ای که در تیمار توام با پروبیوتیک به طور سینرژیک از بالاترین اثر ضدمیکروبی برخوردار بودند، زیرا باکتری‌های پروبیوتیک نیز قادرند با تولید باکتریوسین‌ها و افزایش اسیدیته و رقابت میکروبی تا حدودی از رشد بسیاری از باکتری‌های پاتوژن جلوگیری نمایند. بهترین غلظت اسانس از نظر ممانعت رشد لیستریا مونوسیتوژنز و نیز از نظر تولید پنیر با خواص طعمی مطلوب غلظت ۰/۰۱۵ درصد در تیمار توام با باکتری پروبیوتیک بود. بنابراین با کاربرد توام ترکیبات محافظت‌کننده زیستی مختلف به ویژه اسانس‌های گیاهی و پروبیوتیک‌ها، می‌توان از غلظت‌های پائین‌تری از اسانس‌ها جهت کنترل و ممانعت از رشد ارگانیسم‌های پاتوژن و عامل فساد در مواد غذایی جهت کاهش هزینه‌های اقتصادی و اثرات نامطلوب غلظت‌های بالاتر اسانس‌ها بر خصوصیات ارگانولپتیکی مواد غذایی بهره جست.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه و از همکاری آقایان پروفسور سید مهدی رضوی روحانی، دکتر امیر تکمه‌چی و دکتر محمدرضا پژوهی تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1.Sacchetti G, Maietti S, Muzzoli M, Scaglianti M, Manfredini S, Radice M and Bruni R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chem*. 2005; 91: 621 - 32.

2.Smith P, Stewart J and Fyfe L. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiol*. 2001; 18: 463 - 70.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.13.8]

3.Grriffiths MV. *Listeria monocytogenes*: its important in the dairy industry. *J. of the Sci. Food and Agric*. 1989; 47: 133 - 58.

4.Bille J. Epidemiology of human *listeriosis* in Europe, with special to the swiss outbreak. In A. J. Miller, J. Miller, J. L. Smith and G. A. Somkuti (Eds.), *Foodborn listeriosis*. pp: 31-39. Amsterdam: Elsevier Science Publishers.

5.Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokmen A, Polissiou M, Adiguzel A and Ozkan H. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha Longifolia* L. ssp. *Food Chem*. 2007; 103: 1449 - 56.

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

7.Phillip SM, Kailasapathy K and Tran L. Viability of comrcial probiotic cultures (*L. aciduphillus*, *Bifidobacterium spp*., *L. casei*, *L. paracasei* and *L. rhamnosus*) in cheddar cheese. *Int. J. of Food Microbiol*. 2006; 108: 276 - 80.

8.Ong L, Henriksson A and Shah NP. Development of probiotic Cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. paracasei* and *Bifidobacterium spp*. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. *Int. Dairy J.* 2006; 16: 446 – 56.

9.Zhang CY, Yam kl and Chikindas ML. Effective control of *Listeria monocytogenes* by combination of nisin formulated and slowly released in to a broth system. *Int. J. of Food Microbiol*. 2004; 90: 22 - 25.

10. Arques JL, Rodriquez E, Gaya P, Medina M and Nunez M. Effect of combinations of high pressure treatment and bacteriocin producing lactic acid bacteria on survival of *Listeria monocytogenes* in raw milk cheese. *Int. Dairy J*. 2005; 15: 898 - 900.

11. Powell MN, Armynot AM, Vinas M and DeBuochberg SM. Interactions between pairs of bacteriocins from *Lactic acid bacteria*. *J. Food Prot*. 1998; 61: 1210 - 2.

12. Amuna MB, Abusha ST and Jeevaratnam K. Inhibitory efficacy of nisin and bacteriocin fro *Lactobacillus* isolates against food spoilage and pathogenic organisms in model and food systems. *Food Microbiol*. 2005; 22: 449 - 54.

13. Basti AA, Misaghi A and Khaschabi D. Growth response and modelling of the effects of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil, pH and temperature on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. *LWT.* 2007; 40 (6): 973 - 81.

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

15. Meilgaard M.C, Civille G.V, Carr B.T. Sensory evalution techniques. 2nd edition. Crc prees, inc. bocaration, florida. 1991, pp: 123 - 30.

16. Burt S. Essential: their antibacterial propertied application in foods-a review. *Int. Food Microbiol*. 2004; 94 (3): 223 - 53.

17. Karaman I,sahin F, Gulluce M, Ogutcu H, Sengul M and Adiguzel A. Antimicrobial activity of aqueous and methanol exteracts of *Juniperus* L. *J. Ethnopharmacol*. 2003; 85: 231 - 5.

18. Sahin F, Karaman I, Gulluce M, Ogutcu H, Sengul M, Adiguzel A, et al. Evaluation of antimicrobial activities *Satureja hortensis* L. *J. of Ethnopharmacol*. 2002; 14 (2): 141 - 6.

19. Bernardez PF, Amado IR, Castro LP and Guerra NP. Production of a potentially probiotic culture of *Lactobacillus casei subsp. casei* CECT 4043 in whey. *Int. Dairy J*. 2008; 18: 1057 – 65.

20. Vazquez JA, Gonzalez MP and Murado MA. Stimulation of bacteriocin production by dialyzed culture media from different lactic acid bacteria. *Current Microbiol*. 2005; 50: 208 – 11.

21. Zaika LL, Kissinger JC and Wasserman AE. Inhibition of Lactic Acid Bacteria by Herbs. *J. of Food Sci*. 1983; 48: 1445 - 9.

22. Kasimoglu A, Goncuoglu M and Akgun S.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.13.8]

Probiotic With cheese *Lactobacillus acidophilus*. *Int. Dairy J.* 2004; 14: 1067 - 73.

23. MenonVK and Grag SR. Inhibitory effect of clove oil on *Listeria monocitogens* in meat and cheese. *Food Microbiol*. 2001; 18: 647 - 70.

24. Burt S A and Reinders RD. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli O157: H7*. *J. Apll. Microbiol*. 2003; 36: 162 - 7.

25. Abbasifar A, Basti AA, Karim G, Bokaie S, Abbasifar R, Villa AA, Misaghi A, Jamshidi AH, Gandomi H and Javan AJ. 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*. 2009; 64 (4): 438 - 42.

26. Bhurinder S, Bernadette F, Martin R. Synergistic inhibition of *Listeria monocytogenes* by nisin and garlic extract. *J. of Food Microbiol*. 2001; 18: 133 - 9.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.13.8]

The Antimicrobial Activity of *Mentha longifolia* L. Essential Oil and *Lactobacillus casei* on Growth of *Listeria monocytogenes* During the Manufacture, Ripening, and Storage of Iranian white Cheese

Mahmoudi R (Ph.D. Student)[1], Ehsani A (Ph.D.)[1*], Tajik H (Ph.D.)[1], Akhondzade Basti A (Ph.D.)[2]

1- Department of Food Hygiene & Aquatics, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran
2- Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
*Corresponding author: Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Iran. P.O.Box: 571531177
Tel: +98 - 441 - 2770508, Fax: +98 – 441 - 2771926
E-mail: a.ehsani@urmia.ac.ir

Abstract

Background: Food preservation includes procedures to assure higher level of food safety, hygiene and stability. To achieve this goal, the use of combination biopreservatives, such as Essential oils and Probiotics, has gained increased attention.

Objective: The aim of this study was to evaluate the antimicrobial effects of *Mentha longifolia* L. esential oil and *Lactobacillus casei* aginst *Listeria monocytogenes* in Iranian white cheese.

Methods: The essential oil of this plant was prepared by steam distillation and analyzed by GC/MS method. The inhibitory effect of different concentrations of this essential oil and *Lactobacillus casei* against *Listeria monocytogenes* were determined by the method of viable colony count on the selective media in different interval of production and storage of Iranian white cheese.

Results: The results showed that 0.03 and 0.015 % of this essential oil when used in combination with *Lactobacillus casei* had the highest inhibitory effect on the growth of *Listeria monocytogenes*, Furthermore, 0.015% of this essential oil combined with *Lactobacillus casei* had not only inhibitory effect on growth of *Listeria monocytogenes* but also maintained optimum taste quality of the cheese.

Conclusion: The effects of used concentrations of *Mentha longifolia* L. essential oil and *Lactobacillus casei* showed significantly higher antibacterial activity compared to the control and treatments containing essential oil without probiotic bacteria. This reveals inhibitory effect of essential oil of *Mentha longifolia* L. and *Lactobacillus casei* against *Listeria monocytogenes*. It was concluded that lower concentrations of *Mentha longifolia* L. essential oil could be used for inhibitory activity combined with probiotic bacteria.

Keywords: *Mentha longifolia* L., *Lactobacillus casei*, *Listeria monocytogenes*, Iranian White Cheese

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.39.13.8]