Applied Biology
Online ISSN: 2538-3434
Homepage: http://sjoapb.journal.qom-iau.ac.ir

Investigating the essential oil of the medicinal plant Thymus (*Thymus vulgaris* L.) in the production of probiotic dairy products by determining the viability of bacteria

Farah Farahani | Associate Professor, Department of Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran **(Corresponding author)**. farahfarahani2000@yahoo.com
Ali Reza Tamimi | Master's Degree, Department of Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran. talireza2014@gmail.com
Mohammad Reza Khatami Nejad | Associate Professor, Department of Microbiology, Tonkabon Branch, Islamic Azad University, Tonkabon, Iran. mr_khataminezhad@yahoo.com

Abstract

Purpose: The purpose of the present study was to investigate the essential oil of the medicinal plant Thymus vulgaris L. in the production of probiotic dairy products by determining the viability.

Materials and methods: Thyme essential oil is used as a flavoring agent in the production of traditional and industrial dairy products (yogurt, buttermilk, and curd). To produce probiotic products and pasteurized dairy products, bacteria are inoculated and different concentrations of thyme essential oil (0, 25, 40, 70, 100 and 130 micrograms/ liter) are added to dairy products. The viability of bacteria in dairy products is checked at specific time intervals (0, 4, 8, 12 and 20 days).

Findings: By increasing the concentration of thyme in traditional and industrial dairy products, there is a significant decrease in the logarithm of Lactobacillus and Bifidobacterium bacteria ($P<0.05$). The highest viability of bacteria was observed with low concentrations of thyme in traditional yogurt, and with moderate amounts of essential oil in buttermilk and traditional curd, within 20 days. The highest viability of bacteria is in yogurt and industrial butter with high concentration and in industrial curd with a decrease in the amount of essential oil. The highest viability of Bifidobacterium bacteria is found with high concentrations of thyme in yogurt, buttermilk and traditional curd ($P<0.05$), also with low concentrations of thyme in industrial yogurt and buttermilk, and with high concentrations in industrial curd.

Conclusion: In industrial dairy products with thyme, the viability of Bifidobacterium bacteria is longer, and in traditional dairy products, the shelf life of Lactobacillus bacteria is longer.

Keywords: Thyme, Probiotic, Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium, Medicinal plants, Dairy products, Viability, Bacteria.

Received: 2023/03/27 ; **Revised:** 2023/04/14 ; **Accepted:** 2023/05/02 ; **Published online:** 2023/05/05
Article type: Research Article © the authors **Publisher:** Qom Islamic Azad University

بیولوژی کاربردی
شاپا الکترونیکی: ۲۵۳۸-۳۴۳۴
Homepage: http://sjoapb.journal.qom-iau.ac.ir

بررسی اسانس گیاه دارویی آویشن (*Thymus vulgaris* L.) در تولید فرآورده‌های لبنی پروبیوتیک با تعیین قابلیت زنده‌مانی باکتری‌ها

فرح فراهانی | دانشیار، گروه میکروبیولوژی، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران (نویسنده مسئول). farahfarahani2000@yahoo.com
علیرضا تمیمی | کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران. talireza2014@gmail.com
محمدرضا خاتمی‌نژاد | دانشیار، گروه میکروبیولوژی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران. mr_khataminezhad@yahoo.com

چکیده

هدف: هدف پژوهش حاضر بررسی اسانس گیاه دارویی آویشن (*Thymus vulgaris* L.) در تولید فرآورده‌های لبنی پروبیوتیک با تعیین قابلیت زنده‌مانی بود.

مواد و روش‌ها: اسانس آویشن به عنوان طعم‌دهنده در تولید فرآورده‌های لبنی (ماست، دوغ و کشک) سنّتی و صنعتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای تولید فرآورده‌های پروبیوتیک، و مواد لبنی پاستوریزه، باکتری‌ها تلقیح شده و غلظت‌های مختلف اسانس آویشن (۰، ۲۵، ۴۰، ۷۰، ۱۰۰ و ۱۳۰ میکروگرم بر لیتر) به مواد لبنی افزوده می‌شوند. قابلیت زنده‌مانی باکتری‌ها در مواد لبنی طی فواصل زمانی مشخص (۰، ۴، ۸، ۱۲ و ۲۰ روز) بررسی می‌گردند.

یافته‌ها: با افزایش غلظت آویشن در فرآورده‌های لبنی سنتی و صنعتی، کاهش معنی‌داری در لگاریتم تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم رخ می‌دهد ($P<0.05$). بالاترین قابلیت زنده‌مانی باکتری با غلظت‌های کم آویشن در ماست سنتی، و با مقادیر متوسط اسانس در دوغ و کشک سنّتی، طی ۲۰ روز مشاهده گردید. بالاترین قابلیت زنده‌مانی باکتری در ماست و دوغ صنعتی با غلظت زیاد و در کشک صنعتی همراه با کاهش مقدار اسانس است. بالاترین قابلیت زنده‌مانی باکتری بیفیدوباکتریوم با غلظت‌های زیاد آویشن در ماست، دوغ و کشک سنّتی ($P<0.05$)، همچنین با غلظت‌های کم آویشن در ماست و دوغ صنعتی، و با غلظت‌های زیاد در کشک صنعتی می‌باشد.

نتیجه‌گیری: در فرآورده‌های لبنی صنعتی دارای آویشن، قابلیت بقای باکتری بیفیدوباکتریوم و در فرآورده‌های لبنی سنّتی، مدت ماندگاری باکتری لاکتوباسیلوس بیشتر است.

کلیدواژه‌ها: آویشن، پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، بیفیدوباکتریوم، گیاهان دارویی، فرآورده‌های لبنی، قابلیت زنده‌مانی، باکتری‌ها.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۰۷ ؛ **تاریخ بازنگری:** ۱۴۰۲/۰۱/۲۵ ؛ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۲/۰۲/۱۲ ؛ **تاریخ انتشار:** ۱۴۰۲/۰۲/۱۵

ناشر: دانشگاه قم
© نویسندگان
نوع مقاله: پژوهشی

۱. مقدمه

براساس تکنولوژی هاردل در زمینه نگهداری مواد غذایی، استفاده ترکیبی از نگهدارنده‌های طبیعی شامل اسانس‌های گیاهی و پروبیوتیک‌ها جهت دستیابی به سطح بالایی از سلامت، بهداشت و ماندگاری محصولات غذایی، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. در سال‌های اخیر مصرف‌کنندگان به مسأله سلامتی اهمیت بیشتری داده و به دنبال مصرف مواد غذایی با خاصیت فراسودمندی بالاتر، افزون بر ارزش تغذیه‌ای می‌باشند (۱). غذای فراسودمند اصطلاحی برای معرفی غذاهایی است که ترکیبات بیواکتیو طبیعی را برای رژیم غذایی انسان به منظور تأمین مواد مغذی پایه تولید می‌کنند. این مواد مغذی اغلب برای تأمین سلامتی و جلوگیری از بروز بیماری‌ها مفید هستند (۲). غذاهای حاوی پروبیوتیک در این گروه طبقه‌بندی می‌شوند. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که اگر به تعداد کافی مصرف شوند، موجب سلامت مصرف‌کننده می‌شوند (۳). برای این منظور باید تعداد پروبیوتیک‌های زنده مانده، حداقل در حدود 10^6 (۴) 10^7 یا 10^8 کلنی در گرم محصول (۵) باشند.

از میان پروبیوتیک‌ها، لاکتوباسیل‌ها به‌طور وسیعی در محصولات لبنی استفاده شده و به دلیل تأثیرات مفیدشان بر سلامتی، در خور توجه هستند (۴). لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکتریوم‌ها باکتری‌های پروبیوتیك متداولی هستند که به عنوان ترکیبات ایمن و بی‌خطر شناخته شده‌اند (6a، ۷، ۸). همگام با کشف اثرات مفید پروبیوتیك‌ها، تلاش‌های فراوانی برای تولید و فراوری محصولات تخمیری و حامل حاوی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیك آغاز گردید، به‌طوری‌که امروزه بیش از ۹۰ فرآورده پروبیوتیك حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در سرتاسر جهان تولید می‌شود (۴، ۶، ۹).

یکی از مهم‌ترین معیارهای تاثیرگذار روی گسترش استفاده از پرو بیوتیک‌ها در مواد غذایی، زنده‌مانی سلول‌های پروبیوتیک است که به فاکتورهای متعددی بستگی دارد؛ ازجمله می‌توان به رشد بهینه زنده‌مانی طی تهیه غذا، ذخیره، انتقال از مسیر گوارشی، چسبیدن به اپیتلیوم روده‌ای و مقاومت آنتی‌بیوتیکی اشاره کرد. قابلیت زنده‌مانی پر بیوتیک‌ها عمدتاً بوسیله رقابت با سایر میکروارگانیسم‌های آلوده‌کننده تحت تاثیر قرار می‌گیرد. بنابراین، غیرفعال نمودن میکروارگانیسم‌های مضرّ بدن، اثر نامناسبی بر روی رشد باکتری‌های مفید دارد. بهبود افزایش ماندگاری مواد غذایی در نتیجه اضافه نمودن اسانس‌های گیاهی، از طریق مهار فعالیت میکروارگانیسم‌های عامل فساد، امروزه رو به گسترش می‌باشد، اگرچه اضافه کردن این اسانس‌ها ممکن است روی غذاهای

پروبیوتیک اثر منفی بگذارد (۱۰، ۱۱). بدن انسان به علت فقدان برخی از آنزیم‌ها، قادر به هضم برخی ترکیبات کربوهیدراته نبوده و این امر می‌تواند سبب اختلالات گوارشی، و نفخ گردد. در این راستا، به‌کارگیری باکتری‌های پروبیوتیک در مواد غذایی می‌تواند در جهت تخمیر این ترکیبات و جلوگیری از اختلالات گوارشی، بسیار موثر باشد. این کربوهیدرات‌ها به اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه مانند بوتیریک اسید، لاکتیک اسید یا استیک اسید تخمیر می‌شوند. این اسیدها به سرعت توسط سلول‌های انسان برای متابولیسم ATP مصرف شده و تولید انرژی می‌کنند (۱۲). در مجموع مهم‌ترین اثر درمانی باکتری‌های پروبیوتیک، تاثیر مثبتی است که بر روی فلور میکروبی روده‌ای می‌گذارند؛ به این صورت که با حفظ تعادل میکروبی فلور طبیعی روده، اثرات مطلوبی را بر سلامت مصرف‌کننده می‌گذارند (۱۲، ۱۳).

آویشن گیاهی متعلق به تیره نعناعیان می‌باشد. خصوصیات ضدعفونی‌کننده این گیاه از دیرباز شناخته شده بود و روغن گیاه یا جوشانده آن را در بیماری‌های جلدی، پانسمان و شستشوی زخم‌ها و جراحات، برخی بیماری‌های دستگاه گوارش مثل اسهال و حتی برای رفع کرم‌های انگلی تجویز می‌کردند (۱۴، ۱۵). یکی از مهم‌ترین محصولاتی که از این گیاه بدست می‌آید، اسانس آویشن است که مصرف زیادی در طب سنتی و عطرسازی و داروسازی دارد (۱۴، ۱۶). اسانس و عصاره آویشن دارای اثرات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی است (۱۷). در بسیاری از مناطق ایران از گیاه آویشن به عنوان چاشنی به همراه ماست و سایر فرآورده‌های لبنی استفاده می‌شود.

از سوی دیگر، فرآورده‌های لبنی تخمیری و میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک، اثرات مثبت بسیار زیادی از نظر تأمین سلامتی دارند که می‌توان به کاهش خطر حملات قلبی و بهبود فلور مطلوب میکروبی مسیر دستگاه گوارش و... اشاره کرد (۱۸). یکی از مهم‌ترین این فرآورده‌ها، ماست غنی شده با لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس می‌باشد.

۲. خواص بیولوژیکی مکانیسم‌های عمل اسانس‌های گیاهی

مهم‌ترین اجزای فعال اسانس‌های گیاهی شامل ترپنوئیدها (مونوترپنوئیدها، سس کویترپنوئیدها) و فنیل پروپانوئیدها هستند. ترپنوئیدها با تاثیر روی دیواره سلولی، فعالیت ضد باکتریایی خود را نشان می‌دهند. این فعالیت به علت طبیعت آبگریزی هیدروکربن‌های حلقوی است که باعث می‌شود با غشای سلولی واکنش داده و در دو لایه لیپیدی باکتری تجمع یابند، و فضای بین اسیدهای چرب اشغال شود. این تداخل باعث تغییرات ساختاری در غشاء می‌شود که در نتیجه

باکتری سیال شده، و از هم می‌پاشد. این مکانیسم عمل ضدّباکتریایی اسانس‌های گیاهی، علیه باکتری‌های گرم مثبت موثر است. در مقابل، دیواره سلولی خارجی پیرامون غشای سلولی باکتری‌های گرم منفی آب‌دوست است و اجازه ورود مواد چربی‌دوست را نمی‌دهد. بیشتر ترکیبات اسانس‌های گیاهی آبگریز هستند و نمی‌توانند به داخل غشای باکتری‌های گرم منفی نفوذ کنند. اگرچه غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی به‌طور کامل نسبت به مواد آبگریز نفوذناپذیر نیست، اما مولکول‌های با وزن مولکولی پایین می‌توانند با آب واکنش دهند و با انتشار، به آرامی از دیواره سلولی، و از میان لایه‌های لیپوپلی ساکاریدی یا از میان پروتئین‌های غشایی دیواره سلولی عبور کنند و با دو لایه سلولی واکنش دهند (۱۹).

۳. مواد و روش‌ها

ابتدا فرآورده‌های لبنی (ماست، دوغ و کشک) تهیه شده از تولیدکنندگان سنتی و صنعتی در دمای ۹۰-۸۵ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه پاستوریزه شدند (۲۰). نمونه‌های حاوی اسانس (۰، ۲۵، ۴۰، ۷۰، ۱۰۰ و ۱۳۰ میکروگرم بر لیتر) و نمونه شاهد در ظروف استریل مخصوص نمونه‌گیری که قبلاً کدگذاری شده بود، تقسیم شده و پس از درب‌بندی، به دمای ۴ درجه سانتیگراد منتقل شدند.

۳-۱. بررسی تغییرات تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (PTCC1643) و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (PTCC1644) در نمونه‌های ماست، دوغ و کشک

روند تغییرات تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (PTCC1643) و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (PTCC1644) در نمونه‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسانس آویشن و نمونه شاهد (فاقد اسانس) به مدت ۲۰ روز (در روزهای صفر، ۴، ۸، ۱۲ و ۲۰) مورد بررسی قرار گرفتند. بدین منظور ۱ گرم از هر نمونه ماست، دوغ و کشک با ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی مخلوط و کاملاً یکنواخت گردید. نمونه‌های سوسپانسیون شده رقیق شده و ۰/۱ میلی لیتر از آن به پلیت‌های حاوی محیط کشت MRS منتقل شد. همه پلیت‌ها در ۴۲ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری شده و سپس تعداد کلنی‌ها در هر پلیت شمارش گردید.

۳-۲. تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش در قالب فاکتوریل، با طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. اختلاف میانگین‌ها با استفاده از

آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۰/۰۵ مقایسه شده و براساس آن نمودار مربوطه بوسیله نرم‌افزار EXCEL رسم گردید.

٤. نتایج

٤-١. بررسی قابلیت بقای باکتری در فرآورده‌های لبنی و اثر اسانس آویشن بر آن

در این مطالعه اثر اسانس آویشن در شش غلظت (۰، ۲۵، ۴۰، ۷۰، ۱۰۰ و ۱۳۰ میکروگرم بر لیتر) بر قابلیت بقای باکتری‌های پروبیوتیك لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (PTCC1643) و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (PTCC1644) در فرآورده‌های لبنی ماست، دوغ و کشك سنّتی و صنعتی در دمای ۴ درجه سانتیگراد و در روزهای۰، ۴، ۸، ۱۲ و ۲۰ بررسی شدند. به دلیل تفاوت در تحمّل ذاتی میکروارگانیسم‌های مختلف در برابر ترکیبات گیاهی و همچنین ماهیت و ساختار این مواد، قابلیت بقای میکروارگانیسم‌ها طی قرارگیری در معرض ترکیبات یاد شده ممکن است متفاوت باشد (21).

الف) باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (PTCC1643)

نتایج تجزیه و تحلیل آماری حاکی از معنی‌دار بودن اختلاف میانگین بقای باکتری در فرآورده‌های لبنی معمولی و حاوی اسانس آویشن در سطح احتمال ($P<0.05$) هستند. بررسی مقایسه میانگین آزمون چند دامنه‌ای دانکن (α=۰/۰۵) نشان داد که میانگین بقای باکتری فوق در فرآورده‌های لبنی حاوی اسانس آویشن، بالاتر از فرآورده‌های معمولی است.

حساسیت میکروارگانیسم‌ها نسبت به اسانس‌ها، به ویژگی‌های خود اسانس و میکروارگانیسم بستگی دارد. بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها به دلیل فرّاریت آنها، غیرمحلول بودن در آب و پیچیدگی ساختار شیمیایی‌شان با مشکل روبرو است (۲۲). به طور کلی اثرات ضد باکتریایی عصاره و اسانس تیره نعناع بر میکروارگانیسم‌های مختلف، به غلظت گیاهان تیره نعناع، ترکیب ماده غذایی، درجه حرارت نگهداری ماده غذایی و سرشت و طبیعت متابولیت‌های ارگانیسم بستگی دارد (۲۳، ۲۴).

همان‌طور که در جداول (۱ و ۲) مشاهده می‌شود، با افزودن و افزایش غلظت اسانس آویشن در فرآورده‌های لبنی (ماست، دوغ و کشک) سنتی و صنعتی، کاهش معناداری در لگاریتم تعداد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (PTCC1643) رخ می‌دهد ($P<0.05$). وثوق و همکاران (۱۳۸۸) و سیمسک و همکاران (۲۰۰۷) مشاهده کردند که اسانس نعناع طی مدت زمان

نگهداری، اثر معناداری بر قابلیت بقای باکتری‌های ماست سنتی ندارد (۲۵، ۶)؛ به نحوی که میزان رشد باکتری در تمامی روزها در غلظت‌های ۲۵، ۴۰ و ۷۰ میکروگرم بر لیتر اسانس آویشن در ماست سنتی، بالاتر از نمونه کنترل بوده است. روند کاهش لگاریتم تعداد باکتری در همه غلظت‌های اسانس در روز چهارم دیده شد (افزایش در روزهای هشتم و دوازدهم، غلظت ۲۵ میکروگرم بر لیتر اسانس) که در کلیه تیمارهای اسانس، نسبت به هم معنادار است ($p<0.05$). در تحقیق سرابی و نیازمند (۲۰۰۹)، قابلیت بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در بیوماست حاوی غلظت‌های مختلفی از منتا پیپریتا[1] و کاکوتی[2] موجود در خانواده نعناعیان، بعد از ۷ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد به طور قابل توجهی کاهش یافت (۲۶).

همچنین بالاترین قابلیت زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (PTCC1643)، در غلظت‌های ۷۰ و ۴۰ میکروگرم بر لیتر اسانس آویشن در ماست سنتی طی ۲۰ روز مشاهده شده است.

سرابی جماب و همکاران (۱۳۸۷) نتایج تأثیر اسانس آویشن با غلظت‌های مشابه (۲۵، ۴۰، ۷۰، ۱۰۰ و ۱۳۰ میلی گرم بر لیتر) را بر فعالیت لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نشان دادند که تعداد باکتری پس از ۷ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد، به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد، این نتیجه با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد (۲۶).

مطابق با جدول شماره (۱) میزان رشد باکتری در تمامی روزها در غلظت ۲۵ میکروگرم بر لیتر در دوغ سنتی، غلظت‌های ۴۰، ۷۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر اسانس آویشن در کشک سنتی، بالاتر از نمونه کنترل با سطح احتمال ($P<0.05$) معنادار بوده است. همچنین بالاترین قابلیت زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (PTCC1643) به ترتیب در غلظت‌های ۴۰ و۱۰۰ میکروگرم بر لیتر در دوغ سنتی و غلظت‌های ۷۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر اسانس آویشن در کشک سنتی طی ۲۰ روز مشاهده شده است.

جهانفر و همکاران (۱۳۹۵) نیز نشان دادند که تعداد باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس با غلظت (۱% تا ۳%) اسانس گلپر در دوغ طی ۱۰ روز نگهداری کاهش می‌یابد که طبق آزمایش‌های حاضر، تاثیر اسانس‌های گیاهی را بر باکتری‌های پروبیوتیک تایید می‌کند (۲۷).

1. Mentha piperita
2. Ziziphora clinopodioides

نتایج آزمایشات کیوانس و همکاران (۱۹۹۱) نیز نشان داد که دوغ حاوی اسانس زیره سبز و پونه کوهی در غلظت‌های پایین، باعث تحریک رشد و تولید اسید، و در غلظت‌های بالا باعث جلوگیری از رشد باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم می‌شود، به طوری که این نتایج تا حد زیادی داده‌های به دست آمده از آزمایشات حاضر را تایید می‌کند (۲۸).

با افزایش مقدار اسانس آویشن در فرآورده‌های لبنی (ماست، دوغ و کشک) سنتی و صنعتی، ماندگاری باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (PTCC1643) کاهش معناداری ($P<0.05$) نشان دادند.

قابلیت بقای باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (PTCC1643) در ماست سنتی با غلظت‌های ۲۵، ۴۰ و ۷۰ میکروگرم بر لیتر اسانس آویشن، بیشتر از دوغ و کشک سنتی بوده، و در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۳۰ دوغ سنتی بیشتر از ماست و کشک سنتی در سطح احتمال ($P<0.05$) مشاهده شده است. قابلیت بقای باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (PTCC1643) در دوغ صنعتی با غلظت‌های ۲۵ و ۴۰ میکروگرم بر لیتر اسانس آویشن بیشتر از ماست و کشک صنعتی، در غلظت ۷۰ میکروگرم بر لیتر اسانس ماست بیشتر از دوغ و کشک صنعتی و در غلظت‌های ۱۰۰ و۱۳۰ میکروگرم بر لیتر اسانس کشک صنعتی بیشتر از ماست و دوغ صنعتی در سطح احتمال ($P<0.05$) قابل مشاهده بوده است.

در جدول شماره (۲) مشاهده می‌شود که میزان بازدارنگی رشد باکتری در تمامی روزها در کلیه غلظت‌های اسانس آویشن در ماست صنعتی بالاتر از نمونه کنترل بوده است. روند ثابت لگاریتم تعداد باکتری در روزهای صفر، هشتم و دوازدهم، غلظت اسانس ۲۵ میکروگرم بر لیتر مشاهده شد که در کلیه تیمارهای اسانس نسبت به هم معنادار است ($p<0.05$). همچنین بالاترین قابلیت زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (PTCC1643) در ماست صنعتی به ترتیب در غلظت‌های ۴۰، ۷۰، ۱۰۰، ۲۵ و ۱۳۰ میکروگرم بر لیتر اسانس آویشن طی ۲۰ روز مشاهده شده است.

مطابق با جدول شماره (۲) میزان بازدارندگی رشد باکتری در تمامی روزها در غلظت‌های بیشتر اسانس آویشن در دوغ و کشک صنعتی، همه غلظت‌ها به استثنای ۱۳۰ میکروگرم بر لیتر، بالاتر از نمونه کنترل بوده است. همچنین بالاترین قابلیت زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (PTCC1643) به ترتیب در غلظت‌های ۴۰، ۲۵، ۱۳۰، ۱۰۰ و ۷۰ میکروگرم بر لیتر اسانس آویشن در دوغ صنعتی با غلظت‌های بیشتر تا کمتر اسانس آویشن در کشک صنعتی طی ۲۰ روز مشاهده شده است.

سیدیوسفی و همکاران (۱۳۹۲)، اثر بازدارندگی اسانس سرسم[1] از رشد باکتری‌ها در تمامی روزها در غلظت ppm ۲۵۰۰ بیشتر از ppm ۱۵۰۰ و آن هم بیشتر از نمونه کنترل را گزارش کرده است. بر اساس نتایج این بررسی کاهش اندکی در لگاریتم تعداد باکتری‌ها طی روزهای مختلف دیده شد. در مقایسه با نمونه کنترل، باکتری لاکتوباسیلوس در هر دو غلظت اسانس، حساس‌تر از بیفیدوباکتریوم بود (۲۹).

ب) باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (PTCC1644)

در جدول‌های (۳ و ۴) مشاهده می‌شود که با افزودن و افزایش غلظت اسانس آویشن در فرآورده‌های لبنی (ماست، دوغ و کشک) سنتی و صنعتی، کاهش معناداری در لگاریتم تعداد باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (PTCC1644) رخ می‌دهد ($P<0.05$).

میزان رشد باکتری در تمامی روزها در غلظت‌های۴۰ و ۱۳۰ میکروگرم بر لیتر اسانس آویشن در ماست و دوغ سنتی و غلظت‌های کم اسانس آویشن در کشک سنتی، بالاتر از نمونه کنترل بوده است. روند افزایش لگاریتم تعداد باکتری در روزهای هشتم و دوازدهم غلظت اسانس ۲۵ میکروگرم بر لیتر مشاهده شد که در کلیه تیمارهای اسانس نسبت به هم معنادار است ($p<0.05$). همچنین بالاترین قابلیت زنده‌مانی باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (PTCC1644) در ماست و کشک سنتی به ترتیب در غلظت‌های ۴۰، ۱۳۰، ۲۵، ۷۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر و در غلظت‌های ۴۰، ۲۵، ۱۳۰، ۱۰۰ و ۷۰ میکروگرم بر لیتر در دوغ سنتی اسانس آویشن طی ۲۰ روز مشاهده شده است.

وثوق و همکاران (۱۳۸۸) نیز نشان دادند که در دوغ حاوی اسانس کاکوتی طی دوره نگهداری، تعداد باکتری بیفیدوباکتریوم نسبت به تعداد اولیه، به طور متوسط سیکل لگاریتمی کاهش داشت؛ این در حالی است که تعداد باکتری لاکتوباسیلوس در هفته هشتم نگهداری به صفر رسید ($P<0.05$) (۶b).

در جدول شماره (۴) مشاهده می‌شود که میزان رشد باکتری در تمامی روزها در غلظت‌های ۷۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر در ماست صنعتی و دوغ صنعتی و همه غلظت‌های اسانس آویشن در کشک صنعتی، پایین‌تر از نمونه کنترل بوده است. همچنین بالاترین قابلیت زنده‌مانی باکتری

1. Mentha spicata

بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (PTCC1644) به ترتیب در غلظت‌های ۴۰، ۱۳۰، ۲۵، ۷۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر اسانس آویشن در ماست و دوغ صنعتی با غلظت‌های ۱۳۰، ۲۵، ۷۰، ۱۰۰ و ۴۰ میکروگرم بر لیتر اسانس در کشک صنعتی، طی ۲۰ روز مشاهده شده است.

در تحقیقی رولدان و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که اسانس منتا اسپیکاتا نسبت به اسانس پیپریتا، بر روی بیفیدوباکتریوم برو (ATCC15700) اثر بازدارندگی بیشتری داشت و اسانس‌های مرزنجوش و آویشن، بیشترین اثر بازدارندگی را بر روی باکتری‌های مفید لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم برو از خود نشان دادند (۳۰).

٤-۲. مقایسه قابلیت بقای باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در انواع فرآورده‌های لبنی

قابلیت بقای باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در کشک سنتی با غلظت‌های پایین اسانس آویشن، بیشتر از ماست و دوغ سنتی بوده و در غلظت‌های بالا، ماست سنتی بیشتر از دوغ و کشک سنتی در سطح احتمال ($P<0.05$) مشاهده شده است.

قابلیت بقای باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در کشک صنعتی با غلظت اولیه اسانس آویشن بیشتر از ماست و کشک صنعتی و در سایر غلظت‌های اسانس، ماست بیشتر از دوغ و کشک صنعتی در سطح احتمال ($P<0.05$) قابل مشاهده بوده است.

در فرآورده‌های لبنی صنعتی در حضور اسانس آویشن، قابلیت بقای باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم بیش از باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و در فرآورده‌های لبنی سنتی، مدت ماندگاری باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بیش از باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم است، که با نتایج تحقیق وثوق و همکاران (۱۳۸۸)، مبنی بر تاثیر عرق نعناع در مدت زمان سه هفته نگهداری و با قابلیت بقای بهتر بیفیدوباکتریوم نسبت به لاکتوباسیلوس همخوانی دارد (۶).

در مطالعات مختلفی اثر اسانس گیاهان دیگری نیز بر ماندگاری باکتری‌های پروبیوتیك مورد آزمایش قرار گرفته است، ازجمله اووهند و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه باکتری بیفیدوباکتریوم برو (DSMZ20213) نسبت به اسانس‌های آویشن و رزماری، باکتری بیفیدوباکتریوم لانگوم (DSMZ20219) نسبت به غلظت بالای اسانس‌های آویشن و مرزنجوش و باکتری لاکتوباسیلوس فرمنتوم (ATCC14931) نسبت به اسانس‌های آویشن و مرزنجوش حساس بودند (۳۱).

براساس نتایج پژوهش سیدیوسفی و همکاران (۱۳۹۲)، اثر بازدارندگی اسانس سرسم در رشد

باکتری‌ها در تمامی روزها در غلظت ppm ۲۵۰۰ بیشتر از ppm ۱۵۰۰ بوده و در مقایسه با نمونه کنترل، باکتری لاکتوباسیلوس در هر دو غلظت اسانس حساس‌تر از بیفیدوباکتریوم بود (۲۹).

۵. نتیجه‌گیری

قابلیت ماندگاری باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوبیفیدوم در ماست، دوغ و کشک سنتی حاوی غلظت‌های کم اسانس گیاه آویشن، ریحان و مرزه، به ترتیب طی روزهای ۸-۴ و صفر مشاهده می‌شوند. قابلیت ماندگاری باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماست، دوغ و کشک صنعتی حاوی غلظت‌های ۲۵، ۴۰ و ۷۰ میکروگرم بر لیتر و نیز باکتری بیفیدوباکتریوبیفیدوم در غلظت ۴۰ میکروگرم بر لیتر اسانس آویشن، ریحان و مرزه، در روز صفر مشاهده می‌شوند. بنابراین، با کاربرد توأم ترکیبات محافظت‌کننده زیستی مختلف، بویژه اسانس‌های گیاهی و پروبیوتیک‌ها، می‌توان از غلظت‌های پایین‌تری 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.

جدول ۱- اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن بر قابلیت بقاء باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه‌های ماست، دوغ و کشک سنتی (۱: ماست، ۲: دوغ، ۳: کشک)

غلظت اسانس (میکروگرم بر لیتر)	فرآورده لبنی	میانگین تعداد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ± انحراف معیار (برحسب نیم مک فارلند $\times 10^8$) در روزهای شمارش				
		0	4	8	12	20
control	۱	1.82 ± .00b	1.806 ± .00b	1.12 ± .061a	1.03 ± .036a	.62 ± .00a
	۲	1.8 ± .00c	1.62 ± .00c	1.44 ± .00c	1.17 ± .048b	.594 ± .00a
	۳	1.39 ± .00c	1.15 ± .07b	1.17 ± .032b	1.05 ± .03b	.756 ± .035a
25	۱	1.87 ± .00b	1.67 ± .00b	1.96 ± .00b	1.89 ± .00b	.38 ± .00a
	۲	1.37 ± .095b	1.29 ±.00b	1.1 ± .06b	1.1 ± .06b	.686 ± .00a
	۳	1.37 ± .071b	1.17 ± .031b	1.15 ± .029b	1.04 ± .043b	.51 ± .00a
40	۱	1.92 ± .00b	1.73 ± .00b	1.43 ± .00b	1.27 ± .07b	.57 ± .00a
	۲	1.64 ± .00c	1.41 ± .00c	1.13 ± .005b	1.026 ± .032b	.487 ± .00a
	۳	1.43 ± .066d	1.8 ± .076c	1.09 ± .04b	1.04 ± .065b	.226 ± .00a
70	۱	1.93 ± .00c	1.49 ± .00bc	1.3 ± .00b	.34 ± .00a	.0737 ± .012a
	۲	1.36 ± .00c	1.25 ± .00c	1.1 ± .031c	.607 ± .00b	.083 ± .001a
	۳	1.56 ± .04d	1.35 ± .018d	1.08 ± .055c	.5611 ± .00b	.091 ± .004a

غلظت اسانس (میکروگرم بر لیتر)	فرآورده لبنی	میانگین تعداد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ± انحراف معیار (برحسب نیم مک فارلند × 10^8) در روزهای شمارش				
		0	4	8	12	20
100	۱	1.47 ± .088d	1.18 ± .07c	.743 ± .023b	.0603 ± .025a	.0006 ± .00004a
	۲	1.58 ± .02d	1.22 ± .016c	.739 ± .065b	.058 ± .003a	.0008 ± .00003a
	۳	1.55 ± .033c	1.41 ± .029c	.305 ± .00b	.091 ± .002b	.00037 ± .000036a
130	۱	1.26 ± .037d	1.12 ± .061c	.81 ± .04b	.0453 ± .002a	.0008 ± .00005a
	۲	1.36 ± .023d	1.14 ± .031c	.77 ± .066b	.069 ± .007a	.00041 ± .00004a
	۳	1.14 ± .021d	1.04 ± .023c	.45 ± .011b	.027 ± .009a	.000702 ± .00004a

جدول ۲- اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن بر قابلیت بقاء باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه‌های ماست، دوغ و کشک صنعتی (۱: ماست، ۲: دوغ، ۳: کشک)

غلظت اسانس (میکروگرم بر لیتر)	فرآورده لبنی	میانگین تعداد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ± انحراف معیار (برحسب نیم مک فارلند × 10^8) در روزهای شمارش				
		0	4	8	12	20
control	۱	1.67 ± .00a	1.7 ± .00a	1.44 ± .00a	1.41 ± .00a	.79 ± .061a
	۲	1.91 ± .00a	1.87 ± .00a	1.8 ± .00a	1.1 ± .00a	.85 ± .093a
	۳	1.48 ± .036d	1.32 ± .06c	1.27 ± .039c	.96 ± .038b	.093 ± .003a
25	۱	1.43 ± .00b	1.43 ± .00b	1.4 ± .00b	1.046 ± .026b	.84 ± .03a
	۲	2.17 ± .035b	1.74 ± .00b	1.7 ± .00b	1.47 ± .00b	.7 ± .00a
	۳	1.33 ± .078c	1.26 ± .00c	1.21 ± .093c	.993 ± .064b	.098 ± .006a
40	۱	1.67 ± .00c	1.54 ± .066c	1.29 ± .00b	1.28 ± .065b	.85 ± .073a
	۲	3.13 ± 1.00a	2.76 ± 1.00a	2.73 ± 1.00a	5.09 ± 2.00a	.63 ± .00a
	۳	1.24 ± .084b	1.05 ± .017b	1.00 ±.00b	.863 ± .027b	.343 ± .00a
70	۱	1.48 ± .00c	1.3 ± .08c	1.23 ± .08c	.55 ± .00b	.0737 ± .012a
	۲	1.34 ± .037d	1.25 ± .028d	1.06 ± .033c	.707 ± .031b	.037 ± .004a
	۳	1.25 ± .028d	1.14 ± .086d	.98 ± .055c	.078 ± .007b	.06 ± .026a
100	۱	1.47 ± .017d	1.23 ± .055c	.846 ± .026b	.0463±.0006a	.00087±.00003a
	۲	1.64 ± .066d	1.123 ± .03c	.82 ± .025b	.07 ± .002a	.037 ± .004a
	۳	1.41 ± .00b	1.39 ± .080b	.113 ± .007b	.0804±.0084a	.000058 ± .00001a
130	۱	1.19 ± .064c	1.16 ± .086c	.42 ± .081b	.084 ± .004a	.00017 ± .00003a
	۲	1.86 ± .031d	1.38 ± .049c	.221 ± .046b	.051 ± .003a	.00032 ± .00002a
	۳	1.83 ± .042d	1.47 ± .081c	.61 ± .054b	.05 ± .0058a	.000018 ± .000005a

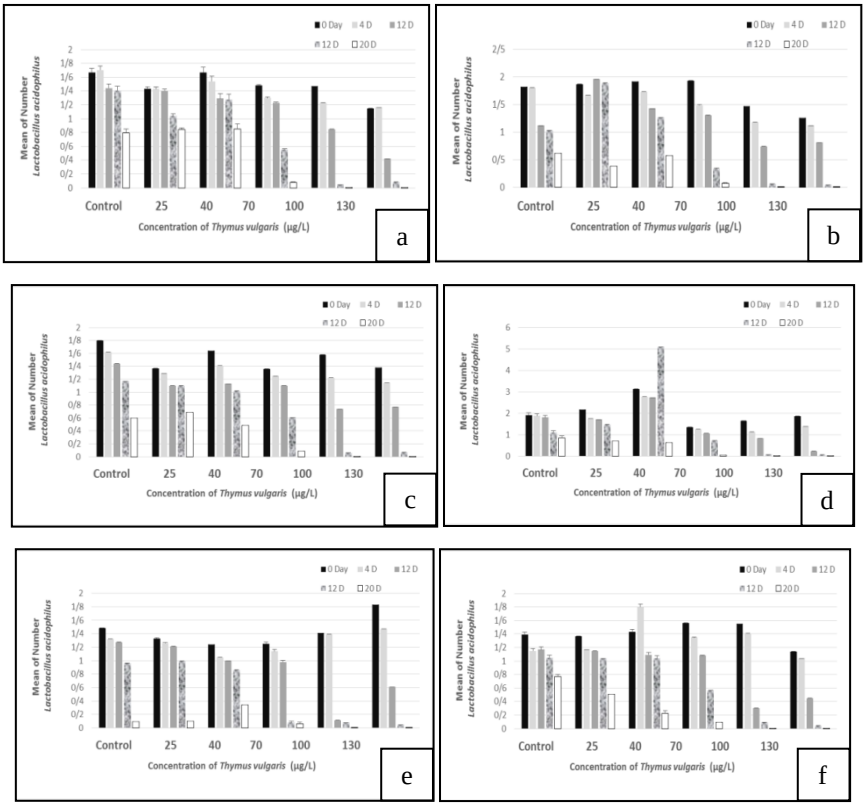
جدول ۳- اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن بر قابلیت بقاء باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در نمونه‌های ماست، دوغ و کشک سنتی (۱: ماست، ۲: دوغ، ۳: کشک)

غلظت اسانس (میکروگرم بر لیتر)	فرآورده لبنی	میانگین تعداد باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم ± انحراف معیار (برحسب نیم مک فارلند × 10^8) در روزهای شمارش				
		0	4	8	12	20
control	۱	1.56 ± .00c	1.316 ± .016b	1.25 ± .028b	1.18 ± .044b	.7 ± .00a
	۲	1.58 ± .00d	1.31 ± .016c	1.183± .016c	1.11 ± .033b	.72 ± .087a
	۳	1.43 ± .044d	1.31 ± .016c	1.28 ± .015c	1.17 ± .014b	.64 ± .058a
25	۱	1.44 ± .03d	0.96 ± .023d	1.21 ± .04c	1.05 ± .028b	.803 ± .084a
	۲	1.53 ± .044d	1.28 ± .016d	1.2 ± .044c	1.1 ± .028b	.801 ± .098a
	۳	1.58 ± .033e	1.31 ± .044d	1.2 ± .028c	1.06 ± .016b	.84 ± .031a
40	۱	1.98 ± .016c	1.66 ± .00c	1.23 ± .015b	1.03 ± .016b	.86 ± .023a
	۲	1.98 ± .066d	1.116 ± .076d	1.18 ± .033c	1.05 ± .06b	.801 ± .098a
	۳	1.73 ± .066d	1.55 ± .076c	1.28 ± .016b	1.48 ± .028b	.75 ± .046a
70	۱	1.38 ± .044d	1.25 ± .028d	.85 ± .046c	.49 ± .097b	.0043 ± .0008a
	۲	1.41 ± .00e	1.38 ± .033d	.78 ± .049c	.443 ± .017b	.0027 ± .00005a
	۳	1.35 ± .028e	1.25 ± .028d	.8 ± .026c	.59 ± .0088b	.0037 ± .0001a
100	۱	1.34 ± .029e	1.1 ± .057d	.45 ± .065c	.175 ± .027b	.0022 ± .0004a
	۲	1.25 ± .00d	1.116 ± .033c	.53 ± .058b	.28 ± .046b	.001 ± .00025a
	۳	1.28 ± .044d	1.15 ± .086d	.72 ± .05c	.47 ± .051b	.002 ± .0003a
130	۱	1.76 ± .033d	.803 ± .061c	.376 ± .031b	.026 ± .003a	.00341 ± .003a
	۲	1.66 ± .088d	.68 ± .05c	.31 ± .038b	.025 ± .004a	.00041 ± .00002a
	۳	1.63 ± .00c	.803 ± .068b	.6 ± .096b	.074 ± .003a	.0005 ± .00009a

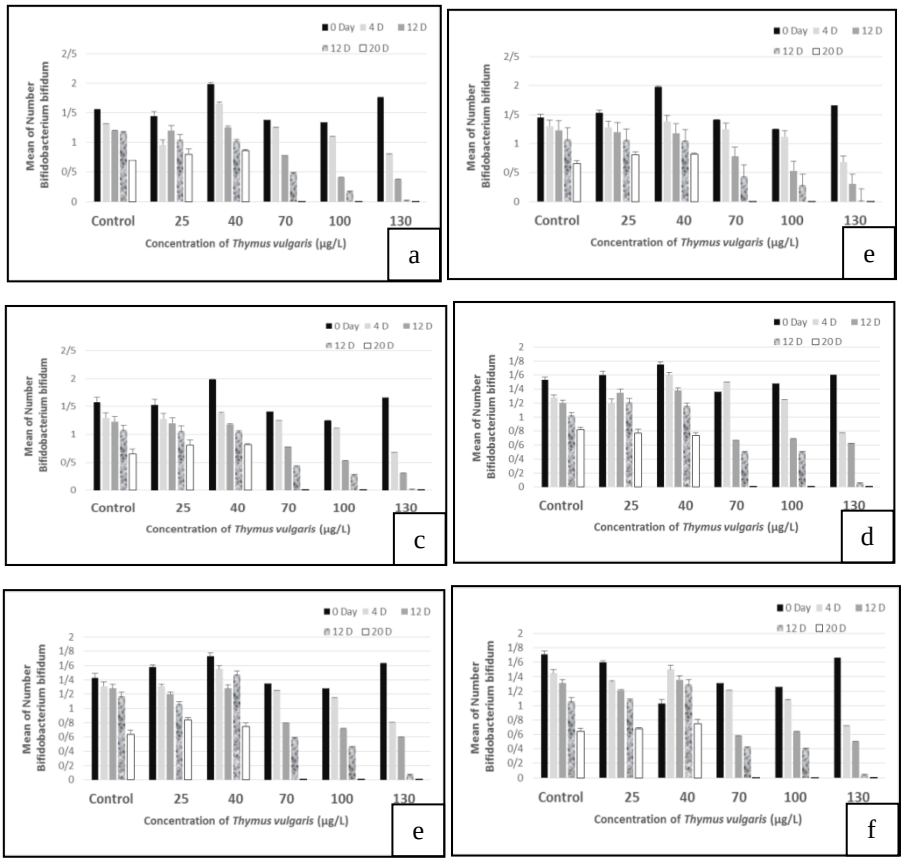
جدول ٤- اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن بر قابلیت بقاء باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در نمونه‌های ماست، دوغ و کشک صنعتی (۱: ماست، ۲: دوغ، ۳: کشک)

غلظت اسانس (میکروگرم بر لیتر)	فرآورده لبنی	میانگین تعداد باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم ± انحراف معیار (برحسب نیم مک فارلند × 10^8) در روزهای شمارش				
		0	4	8	12	20
control	۱	1.45 ± .076d	1.3 ± .00c	1.23 ± .016c	1.08 ± .044b	.65 ± .052a
	۲	1.53 ± .00d	1.28 ± .044c	1.2 ± .028c	1.03 ± .016b	.82 ± .037a
	۳	1.71 ± .072d	1.45 ± .076c	1.31 ± .06c	1.06 ± .033b	.64 ± .048a
25	۱	1.53 ± .00c	1.28 ± .044b	1.2 ± .028b	1.06 ± .028b	.802 ± .051a
	۲	1.6 ± .076d	1.2 ± .05d	1.35 ± .028c	1.21 ± .016b	.77 ± .055a
	۳	1.6 ± .028d	1.33 ± .06c	1.21 ± .044c	1.08 ± .044b	.68 ±.017a
40	۱	1.98 ±.044e	1.38 ± .06d	1.18 ± .016c	1.05 ± .028b	.82 ± .012a
	۲	1.75 ± .028d	1.6 ± .057d	1.38 ± .016c	1.16 ± .044b	.72 ± .035a
	۳	1.03 ±.057d	1.5 ± .057d	1.36 ± .00c	1.3 ± .00b	.73 ± .057a

غلظت اسانس (میکروگرم بر لیتر)	فرآورده لبنی	میانگین تعداد باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم ± انحراف معیار (برحسب نیم مک فارلند × 10^8) در روزهای شمارش				
		0	4	8	12	20
70	۱	1.41 ± .06e	1.25 ± .028d	.78 ± .084c	.44 ± .038b	.002 ± .0003a
	۲	1.36 ± .016c	1.5 ± .00c	.67 ± .04b	.506 ±.043b	.003 ± .0001a
	۳	1.31 ± .016d	1.21 ± .016d	.58 ± .054c	.43 ± .052b	.006 ± .0006a
100	۱	1.25 ± .028e	1.116 ± .016d	.53 ± .04c	.28 ± .038b	.0016 ± .0001a
	۲	1.48 ± .092d	1.25 ± .028c	.69 ± .028b	.506 ± .076b	.0019 ± .00008a
	۳	1.26 ± .033e	1.08 ± .06d	.64 ± .046c	.41 ± .063b	.004 ± .001a
130	۱	1.66 ± .033d	.68 ± .031c	.31 ± .011b	.025 ± .002a	.00041 ± .0002a
	۲	1.6 ± .057c	.776 ± .024b	.63 ± .085b	.065 ± .013a	.0003 ± .00002a
	۳	1.66 ± .033d	.72 ± .031c	.503 ± .037b	.049 ± .012a	.0003 ± .00006a



نمودار ۱- مقایسه غلظت‌های متفاوت اسانس گیاه آویشن بر تعداد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در فرآورده‌های لبنی: a) ماست سنتی، b) ماست صنعتی، c) دوغ سنتی، d) دوغ صنعتی، e) کشک سنّتی، f) کشک صنعتی



نمودار ۲- مقایسه غلظت‌های متفاوت اسانس گیاه آویشن بر تعداد باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در فرآورده‌های لبنی: a) ماست سنّتی، b) ماست صنعتی، c) دوغ سنّتی، d) دوغ صنعتی، e) کشک سنّتی، f) کشک صنعتی

References

1. Chiquette J. The Role of Probiotics in Promoting Dairy Production. *WCDS Advances in Dairy Technology*. 2009; 21(4): 143-157.
2. Kris-Etherton PM, Lefevre M, Beecher GR, Gross MD, Keen CL & Etherton TD. Bioactive compounds in nutrition and health-research methodologies for establishing biological function: the antioxidant and anti-inflammatory effects of flavonoids on atherosclerosis. *Annual Reviews of Nutrition*. 2004; 24: 511-538.
3. FAO/WHO Experts' Report. *Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria*. 2001.
4. Shah NP. Functional foods, probiotics and prebiotics. *Food Tech*. 2001; 55: 46-53.
5. Lourens-Hattingh A & Viljeon CB. Yoghurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*. 2001; 11: 1–17.

6a. Vosogh AS, Khamiri M, Kashani Nejad M & Jafari SM. The effect of mint sweat on the survival of probiotic bacteria in Iranian traditional drink (Doogh). *Journal of Agricultural Science and Natural Resources*. 2009; 1(16): 154-164.

6b. Vosogh AS, Khamiri M, Kashani Nejad M & Jafari SM. Duration of Bifidobacterium lactis and Lactobacillus acidophilus in dough containing Kakoty extract. *Quarterly Journal of Food Science & Technology*. 2009; 6(4): 77-85.

7. Hori T. Probiotics: Recent Human Studies Using Lactobacillus casei strain Shirota. vol. 9. In: *Handbook of prebiotics and probiotics ingredients Health Benefits and Food Applications.* S. Sungsoo Cho & E.T. Finocchiaro (eds.). Boca, Raton, London, New York: CRC Press Taylor & Francis Group, LLC; 2010: 194.
8. Kizil S, Hasimi N, Tolan V, Kilinc E & Yukse U. Mineral content, essential oils components and biological activity of two menthe species (*M. piperita* L., *M. spicata* L.). *Turkish Journal of Field Crops.* 2010; 15(2): 148-153.
9. Hajlaoui H, Snoussi M, Ben Jannet H, Mighri Z & Bakhrouf A. Comparison of chemical composition and antimicrobial activities of *Mentha longifolia L.* ssp. *longifolia* essential oil from two Tunisian localities (Gabes and Sidi Bouzid). *Annals of Microbiology*. 2008; 58(3): 513-520.
10. Vinderola CG, Reinheimer JA. Enumeration of *L.case* in presence of *L.acidophilus*, *bifidobacterium* and Lactic starter bacteria in fermented dairy product. *International Dairy J*. 2000; 10(3): 271-275.
11. Shipradeep Karmakar S, Sahay Khare R, Ojha S, Kundu K & Kundu S. Development of probiotic candidate in combination with essential oils from medicinal plant and their effect on enteric pathogens: A review. *Gastroenterol Res Pract*. 2012; 1-6.
    DOI: 10.1155/2012/457150
12. Brown AZ & Valiere A. Probiotics and Medical Nutrition Therapy. *Nutr Clin Care*. 2004; 7(2): 56-68.
13. Das JK, Mishra D, Ray P, Tripathy P, Beuria TK, Singh N & et al. In vitro evaluation of anti-infective activity of a Lactobacillus plantarum strain against Salmonella enterica

serovar Enteritidis. *Gut Pathog*. 2013; 5(1): 11.

14. Rezai MB & Rasouli A. Biological Activity and Chemical Composition of Thymus X-prolock Essential Oil and Mentha Longifolia. *Journal of Shahed University*. 2000; 8(1): 8-31.
15. Mozafarrian V. *Dictionary of Iranian plants names*. Tehran: Farhange moaser publication; 1996.
16. Rad S, Mortazavi E & Maskoki A. *Increasing the shelf life of garden products using the antifungal effects of essential oils.* Master's Thesis, Faculty of Agriculture, Ferdosi University; 1999.
17. Golluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokmen A, Polissiou M, Adiguzel A & Ozken H. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from MenthalongifoliaL.ssp.longifolia. *Food Chemistry*. 2007; 103: 1449-1456.
18. Shakeri M. *Study on the effect of butter waste on physicochemical, microbial and organoleptic properties of probiotic yogurt*. Master's thesis. Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad; 2003.
19. Marhamatizadeh MH, Rezazadeh S, Nezafat kazerooni Z & Jafari E. Production of probiotic traditional ice cream by Lactobacilous acidophilous and Bifidobacteriom bifidum culture. *Journal of Veterinary Pathobiology*. 2011; 3(2): 37-43.
20. Tamime AY, Kalab M & Davies G. Microstructure of set-style yoghurt manufacture from cow milk fortified by various methods. *Food Microstructure.* 1984; 3: 83-92.
21. Ozturk S & Ercisli S. Antibacterial activity and chemical constitutions of *Ziziphora clinopodioides.* Food Control. 2007; 18: 535-540.
22. Kalemba D & Kunicka A. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. *Current Medicinal Chemistry*. 2003; 10: 813-829.
23. Imai H, Osawa K, Yasuda H, Hamashima H, Arai T & Sasatsu M. Inhibition by the essential oils of peppermint and spearmint of the growth on pathogenic bacteria. *Microbes Journal*. 2001; 106(1): 31-39.
24. Moshtaghi HV & Bonyadian M. Anti-Listeria Effects of Extract in a Food Model. (Mentha spicata L.) peppermint oil Scientific-Research. *Journal of Iranian Medicinal and Aromatic Plants*. 2008; 3(24): 326-332.
25. Simsek B, Sagdic O & Ozcelik S. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 during the storage of ayran produced with different spices. *Journal of Food Engineering*. 2007; 79(2): 679-680.
26. Sarabi-Jamab M & Niazmand R. Effect of Essential Oil of Mentha piperita and Ziziphora clinopodioides on Lactobacillus acidophilus Activity as Bioyogurt Starter Culture. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sci*. 2009; 6(2): 129-131.
27. Jahanfar S, Bigmohammadi M & Sharifan A. Effect of Angelica Essence on Bactactic Stability of Lactobacillus Saltarum 8554 (PTCC) (in probiotic dough). *Quarterly Journal of Applied Microbiology in Food Industry*. 2015; 3(2): 75-84.
28. Kivanc M & Akgule A. Dogan A. Inhibitory and stimulatory effects of cumin, oregano and their essential oil on gowth and acid production of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc*

mesenteroides. *International Journal of Food Microbiology*. 1991; 13(1): 81-85.

29. Seyed Yousefi L, Golestan L & Kabousi H. The inhibitory effect of Mentha spicata on the survival of probiotic bacteria in industrial liquid cavity. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*. 2013; 5(2): 13-22.
30. Roldan LP, Diaz GJ & Duringer JM. Composition and antibacterial activity of essential oils obtained from plants of the *Lamiaceae* family against pathogenic and beneficial bacteria. *Rev Colomb Cienc Pecu*. 2010; 23: 451-461.
31. Ouwehand AC, Tiihonen K, Kettunen H, Peuranen S, Schulze H & Rautonen N. In vitro effects of essential oils on potential pathogens and beneficial members of the normal microbiota. *Veterinarni Medicina*. 2010; 55(2): 71-78.