

ارزیابی بقاء لیستریا منوسیتوژنز طی فرآیند تولید، رسیدن و نگهداری پنیر سفید پروبیوتیک‌دار ایرانی

رزاق محمودی^۱، علی احسانی^{۲*}

(۱) گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز
(۲) گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
نویسنده رابط: علی احسانی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
تلفن: ۰۴۴۱-۲۷۷۰۵۰۸ aehsani@urmia.ac.ir

تاریخ ارسال مقاله: ۸۹/۲/۱۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۹/۹/۲۶

چکیده :

زمینه و اهداف: افزایش بیماری‌های غذازاد، همراه با مشکلات اجتماعی و اقتصادی حاصل از آن، سبب انجام تحقیقات گسترده برای تولید غذای سالم و توسعه عوامل ضد میکربی جدید شد. کاربرد پروبیوتیک‌ها و باکتریوسین‌ها، به عنوان افزودنی‌های بیولوژیک گسترده، حائز اهمیت می‌باشد. هدف از این مطالعه ارزیابی رفتار رشد لیستریا منوسیتوژنز و تعیین ماندگاری لاکتوباسیلوس کازئی در پنیر سفید پروبیوتیک ایرانی بود.

روش بررسی: رشد لیستریا منوسیتوژنز و ماندگاری باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی در مراحل مختلف تولید، رسیدن و نگهداری پنیر سفید ایرانی با استفاده از محیط‌های کشت اختصاصی (PALCAM Listeria agar، MRS agar) ارزیابی شد.

یافته‌ها: تیمار پنیر دارای پروبیوتیک و فاقد آغازگر (استارتر) از بیشترین تاثیر بر رشد لیستریا منوسیتوژنز در مقایسه با سایر تیمارها برخوردار بود. میزان کاهش آن در این تیمار در انتهای دوره نگهداری ۲/۹۶ لگاریتم بیش از گروه کنترل بود. همچنین در تیمار پنیر شاهد در مقایسه با تیمار پنیر حاوی لیستریا منوسیتوژنز ماندگاری باکتری پروبیوتیک به میزان ۰/۳۵ لگاریتم بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: شمارش لیستریا منوسیتوژنز در طول دوره رسیدن پنیر سفید پروبیوتیک‌دار کاهش یافت، اما در پنیر سفید پروبیوتیک‌دار بقاء می‌یابد. شمارش باکتری پروبیوتیک در طول دوره رسیدن پنیر سفید تنزل یافت اما میزان آن در انتهای دوره رسیدن و نگهداری به کمتر از 10^6 cfu/g نرسید، که مطابق با میزان توصیه شده برای مواد غذایی عملگرا (Functional Foods) می‌باشد.

کلید واژه‌ها: پنیر سفید ایرانی، لیستریا منوسیتوژنز، پروبیوتیک، آغازگر، لاکتوباسیلوس کازئی

مقدمه:

بخشی از میکروفلور دستگاه گوارش هستند که در مقاومت میزبان نقش بسیار مهمی را ایفا می نمایند. این میکروارگانیسم ها از طریق رقابت در مکان های چسبندگی در دستگاه گوارش، رقابت در جذب مواد مغذی و نیز از طریق تولید ترکیبات ضد میکربی مانند باکتریوسین ها و اسیدهای چرب زنجیر کوتاه مانع از رشد و کلنیزاسیون ارگانیسم های پاتوژن در دستگاه گوارش می گردند (۶). باکتری های لاکتیک تولید کننده باکتریوسین (از جمله لاکتوباسیلوس کازئی و سایر گونه های لاکتوباسیلوس ها) و باکتریوسین ها می توانند به عنوان محافظت کننده های زیستی جهت مهار رشد لیستریا منوسیتوژنز در انواع مختلف مواد غذایی به ویژه فرآورده های لبنی تخمیری همچون پنیر و ماست استفاده شوند (۷، ۸). هدف از این مطالعه ارزیابی رفتار رشد لیستریا منوسیتوژنز و تعیین ماندگاری لاکتوباسیلوس کازئی در مراحل مختلف تولید، رسیدن و نگهداری پنیر سفید پروبیوتیک ایرانی بود.

مواد و روش کار:

آماده سازی و محاسبه میزان تلقیح لیستریا منوسیتوژنز: لیستریا منوسیتوژنز ATCC 19118 از گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شد. برای محاسبه میزان باکتری لازم (10^3 CFU/ml) جهت تلقیح در شیر از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر و شمارش باکتریایی به کمک کشت سطحی استفاده شد (۹).

آماده سازی آغازگر (استارتر) پنیر و باکتری پروبیوتیک: آغازگر پنیر Chr. Hansen R 704 استفاده شد (آغازگر مزوفیل شامل *Lactococcus lactis sub sp. cremoris* و *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis* از شرکت کریستین هانس دانمارک). لاکتوباسیلوس کازئی به عنوان پروبیوتیک از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، تهیه شد. محاسبه میزان باکتری پروبیوتیک لازم جهت تلقیح در شیر (CFU/ml) $10^8 - 10^9$ طبق روش استاندارد انجام گرفت (۷).

لیستریا منوسیتوژنز یک باکتری بیماری زای غذازاد (Food born pathogen) است. مسمومیت های حاصل از آن بیشتر در اثر مصرف شیر و فرآورده های آن به ویژه پنیر اتفاق می افتد (۱). در ایالت متحده آمریکا بیش از ۲۵٪ مرگ و میر حاصل از بیماری های ناشی از غذا (Food born disease) را لیستریوز به خود اختصاص می دهد، که در این میان شیر و محصولات لبنی بسیار حائز اهمیت می باشند (۲). ویژگی هایی همچون پراکندگی گسترده در محیط، توانایی رشد در دامنه وسیعی از pH و شرایط یخچال و تحمل مقادیر زیاد نمک، این باکتری را به عنوان بیماری زای بسیار خطرناک در صنعت مواد غذایی مطرح نموده است. توجه به مضرات برخی نگاهدارنده های شیمیایی و عکس العمل منفی مصرف کنندگان به نگاهدارنده های شیمیایی، باعث افزایش تمایل به ترکیبات محافظت کننده طبیعی با منشأ میکربی و گیاهی شده است (۱). در همین راستا، راهکارهای مختلفی جهت کنترل این بیماری را در صنایع لبنی پیشنهاد شده است. در این میان کاربرد پروبیوتیک ها و باکتریوسین ها، به عنوان افزودنی های بیولوژیک به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است (۳). باکتری های لاکتیک و بیفیدوباکترها متداول ترین پروبیوتیک هایی هستند که در فرآورده های لبنی مورد استفاده قرار می گیرند. ویژگی هایی از قبیل مقاومت به شرایط اسیدی معده، فعالیت باکتریسیدی املاح صفراوی و نیز تولید اسید لاکتیک سبب بقا آنها در دستگاه گوارش می گردد. از جمله مزایای بالقوه غذاهای پروبیوتیک در سلامتی انسان می توان به مواردی همچون: بهبود تعادل میکروفلور دستگاه گوارش، ممانعت از رشد میکروارگانیسم های بیماریزا، تقویت سیستم ایمنی، بر طرف کردن اختلالات گوارشی، بهبود سندرم روده تحریک پذیر، سم زدایی و محافظت در مقابل سموم اشاره نمود. فعالیت ضد میکربی باکتری های پروبیوتیک، سبب گسترش استفاده آنها در تولید محصولات غذایی عملگرا (Functional Foods) در جهت بهبود سلامتی مصرف کنندگان شده است (۴، ۵). باکتری های لاکتیک تولید کننده باکتریوسین

آبگیری و روزهای ۷، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ طبق روش استاندارد انجام گرفت (۷).

ارزیابی حسی: پنیر سفید تهیه شده (تیمار واجد پروبیوتیک و فاقد لیستریا و تیمار کنترل) به هفت قسمت (هر قسمت شامل ۵۰۰ گرم پنیر در ظروف سفید و تمیز) تقسیم شد. ارزیابی حسی به وسیله یک گروه هفت نفره که عمدتاً از کارکنان و اعضای گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه بودند، صورت پذیرفت. برای ارزیابی ویژگی‌های حسی ناشی از افزودن پروبیوتیک به پنیر سفید ایرانی از آزمایش پذیرش حسی استفاده شد (۱۰).

تحلیل آماری: کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار انجام گردید. ارزیابی رفتار رشد لیستریا منوسیتوژنز و ماندگاری باکتری پروبیوتیک مورد مطالعه با آنالیز واریانس (ANOVA) و تفاوت در بررسی‌های ارگانولپتیک مورد نظر با آنالیز واریانس (ANOVA) و (Least Significant Difference Procedure) LSD صورت گرفت. تمام تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS۱۷ انجام شد. نتایج معنی‌دار در $p < 0.05$ مد نظر قرار گرفت.

یافته‌ها:

شمارش لیستریا منوسیتوژنز در کلیه تیمارها طی دوره رسیدن پنیر در نمودار ۱ نشان داده شده است. بیشترین کاهش شمارش لیستریا منوسیتوژنز، در تیمار پنیر دارای پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی و فاقد آغازگر در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد ($p < 0.05$). در تیمار مذکور در پایان دوره رسیدن پنیر سفید میزان کاهش لیستریا منوسیتوژنز در مقایسه با گروه کنترل $\log 2.96$ در هر گرم پنیر بود. در تیمارهای دارای آغازگر و پروبیوتیک و پنیر دارای آغازگر میزان کاهش لیستریا منوسیتوژنز در مقایسه با تیمار کنترل به ترتیب $\log 2.58$ ، $\log 1.88$ در هر گرم پنیر بود.

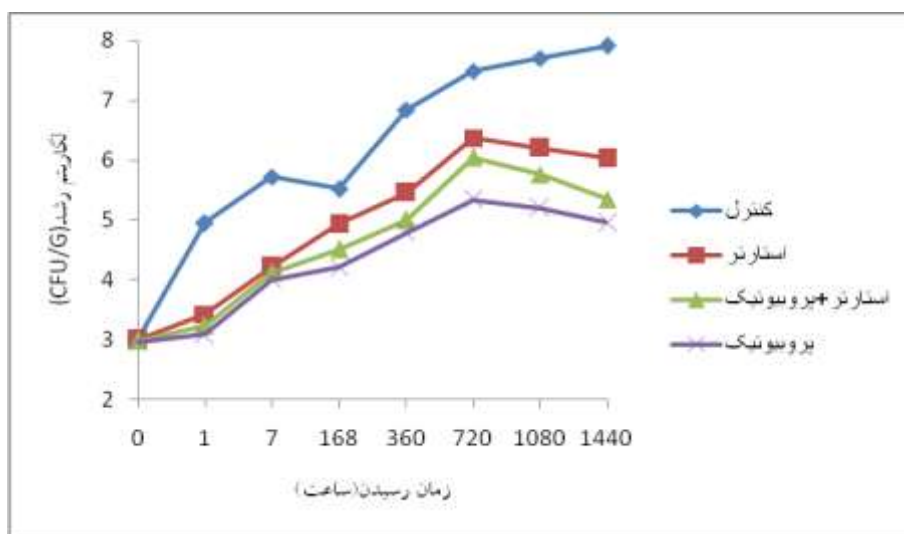
ماندگاری باکتری پروبیوتیک در کلیه تیمارها در مراحل مختلف رسیدن پنیر سفید ایرانی ارزیابی شد (نمودار ۲). در تیمار پنیر کنترل در مقایسه با تیمار پنیر حاوی لیستریا

تولید پنیر سفید ایرانی: شیر تازه و کامل گاو (تهیه شده از دامداری صنعتی دانشگاه ارومیه) پاستوریزه شد. سپس دمای شیر را به ۳۵ درجه سانتی‌گراد رسانده و در هر یک از ظروف استریل مخصوص تهیه پنیر ۵ لیتر شیر ریخته شد. سپس لیستریا منوسیتوژنز با دوز مورد نظر (10^3 cfu/ml) به نمونه‌های شیر تلقیح گردید. سپس، آغازگر به مقدار ۰/۵ درصد (حجمی/حجمی) و لاکتوباسیلوس کازئی به میزان $10^9 - 10^8 \text{ cfu/ml}$ همزمان به نمونه‌های شیر اضافه شدند. پس از نیم ساعت ۰/۰۲ درصد (وزنی/حجمی) کلرید کلسیم اضافه گردید. پس از آنکه pH شیر به ۵/۶ رسید، رنت میکربی (میتو، ژاپن) به مقدار ۰/۰۰۱ درصد (وزنی/حجمی) پس از حل نمودن در آب مقطر استریل به شیر افزوده شد. به منظور کارایی بهتر رنت میکربی (Meito, Sangyo., Japon)، دمای شیر در مدت زمان تشکیل لخته در حدود ۳۵ درجه سانتی‌گراد حفظ شد. پس از یک ساعت، لخته تشکیل شده، برش داده شد و طبق دستورالعمل پنیر سفید ایرانی آبگیری شد. قطعات لخته آبگیری شده در آب نمک ۲۰ درصد (وزنی/حجمی) استریل به مدت ۸ ساعت قرار گرفت. بعد از آن، نمونه‌های پنیر ضمن انتقال به آب نمک ۸ درصد استریل، تا ۱۵ روز در دمای ۱۴-۱۲ درجه سانتی‌گراد و پس از طی دوره رسیدن اولیه جهت دوره رسیدن نهایی به مدت ۴۵ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

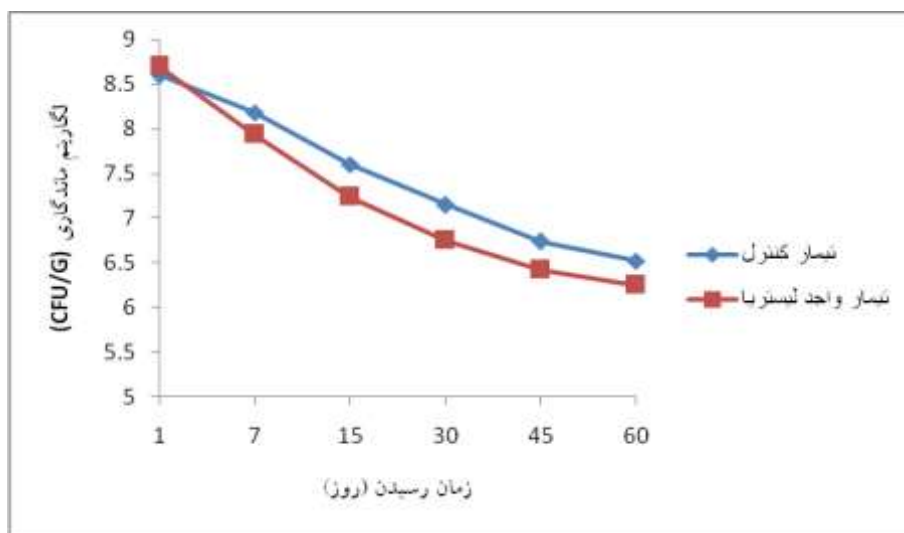
ارزیابی رفتار رشد لیستریا منوسیتوژنز: برای شمارش لیستریا منوسیتوژنز در طی مراحل مختلف تولید و رسیدن پنیر سفید (بلافاصله پس از تلقیح، در انتهای مرحله آبگیری و روزهای ۷، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰) از محیط آگار انتخابی لیستریا پالکام (PALCAM Listeria agar) به روش کشت سطحی و گرمخانه‌گذاری به مدت ۲۴ الی ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد استفاده شد (۹).

ارزیابی ماندگاری باکتری پروبیوتیک: ارزیابی ماندگاری باکتری پروبیوتیک در طی مراحل مختلف تولید و رسیدن پنیر سفید (بلافاصله پس از تلقیح، در انتهای مرحله

منوسیتوزنر میزان شمارش باکتری پروبیوتیک زیاده بود. منوسیتوزنر میزان شمارش باکتری پروبیوتیک بیش از در تمام موارد



نمودار ۱- لگاریتم رشد لیستریا منوسیتوزنر طی دوره رسیدن پنیر سفید ایرانی در تیمارهای مختلف (تیمار کنترل: فاقد آغازگر (استارتر) و پروبیوتیک)



نمودار ۲- لگاریتم ماندگاری باکتری پروبیوتیک در دوره رسیدن پنیر سفید در تیمارهای مورد مطالعه (تیمار کنترل: دارای پروبیوتیک و فاقد لیستریا)

لاکتوباسیلوس کازئی دارای آغازگر و پنیر سفید فاقد آغازگر و پروبیوتیک بود.

ارزیابی خصوصیات حسی تیمارهای مختلف پنیر سفید در جدول ۱ نشان داده شده است. بیشترین و کمترین قابلیت پذیرش حسی به ترتیب مربوط به پنیر سفید حاوی

جدول ۱- میانگین پذیرش حسی تیمارهای مختلف پنیر سفید

(A: دارای پروبیوتیک، B: دارای پروبیوتیک و آغازگر، C: کنترل، بدون پروبیوتیک و واجد آغازگر)

تیمارها	میانگین پذیرش $\pm$ انحراف استاندارد
A	$8,1 \pm 0,00$
B	$8,64 \pm 0,14$
C	$7,54 \pm 0,11$

بحث:

لیستریا منوسیتوژنز در طی مراحل مختلف تولید و نگهداری محصولات لبنی از قبیل ماست و پنیر تولید شده با کشت‌های آغازگر به‌خوبی بقا می‌یابد (۱۱). در مطالعه دویسر و همکاران (۲۰۰۱) ۱۰ مورد از ۶۴ مورد شیوع بیماری ناشی از مصرف فرآورده‌های لبنی در اثر لیستریوز بود، که ۳۲/۸ درصد این محصولات از شیر پاستوریزه تهیه شده بودند (۱۱). حضور این باکتری بیمارزا در فرآورده‌های لبنی تخمیری به‌دلیل سازگاری آن با شرایط محیط اسیدی، بسیار محتمل می‌باشد (۱۲). مطالعات انجام شده بر روی پنیرهای تولید شده از شیر آلوده به لیستریا منوسیتوژنز نشان داد که رفتار این باکتری (رشد، بقا و مهار) در پنیر اساساً به‌عواملی همچون طبیعت و فعالیت آغازگر، میزان کاهش pH و شرایط دما و رطوبت در طی مراحل مختلف تولید، نگهداری و رسیدن وابسته می‌باشد (۱۳).

نتایج این مطالعه نشان داد لیستریا منوسیتوژنز در نمونه تیمار دارای پروبیوتیک بیشترین کاهش را دارد. در مرحله رسیدن پنیر چدار (cheddar) و مرحله ذخیره سازی پنیر کلبی (Colby) شمار لیستریا منوسیتوژنز به‌تدریج از $\log 3/5$ به $\log 1/5$ در هر گرم پنیر کاهش یافت (۱۴). در حالیکه در پنیر آبی (blue) پس از گذشت مدت کوتاهی از تولید آن و در مراحل اولیه رسیدن، شمار آن کاهش یافت و سپس ثابت باقی ماند (۱۵). در طی تولید پنیر

کممبرت (Camembert) شمار این باکتری به‌میزان ۱۰ برابر افزایش یافت و در طی مدت ۱۸ روز نخست رسیدن کاهش یافت و در نهایت به‌دلیل افزایش میزان اسیدیته رشد این باکتری مهار شد (۱۶). در زمینه فعالیت ضد میکربی آغازگر تولید کننده نیسین بر علیه لیستریا منوسیتوژنز در پنیر مانچگو (Manchego) تولید شده از شیر خام بز، نشان داده شد که در تیمار دارای آغازگر مولد نیسین کاهش لیستریا در پایان روز ۶۰ نگهداری پنیر، $\log 4/62$ و در تیمار دارای آغازگر فاقد خصوصیت تولید نیسین $\log 1/66$ و در تیمار ترکیبی دو حالت قبلی $\log 3/31$ در هر گرم پنیر بود (۱۷). در مطالعه حاضر بیشترین میزان کاهش لیستریا منوسیتوژنز در تیمار دارای پروبیوتیک و سپس در تیمار ترکیبی پروبیوتیک و آغازگر بود. این یافته با گزارشات موجود در این زمینه تطابق دارد (۱۴، ۱۳، ۱۷).

ارزیابی ماندگاری لیستریا منوسیتوژنز در مراحل مختلف تولید، رسیدن و نگهداری پنیر نرم لاکتیکی (soft lactic) تهیه شده از شیر میش آلوده شده به این باکتری نشان داد که در طی مرحله رسیدن شمار این باکتری کاهش یافته ولی همچنان در انتهای دوره رسیدن پنیر نرم لاکتیکی قابل جداسازی می‌باشد (۱۸). در مطالعه حاضر شمار لیستریا منوسیتوژنز در انتهای دوره رسیدن کاهش یافت ولی همچنان در پنیر بقاء دارد. یافته مذکور با گزارشات موجود در این زمینه مطابقت دارد (۱۵، ۱۸).

شمارش باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* در طی دوره رسیدن پنیر سفید تنزل یافت، اما میزان آن در انتهای دوره رسیدن و نگهداری به کمتر از 10^6 cfu/g نرسید که مطابق با میزان توصیه شده برای مواد غذایی عملگر می باشد.

نتیجه گیری:

کاهش در میزان شمارش لیستریا منوسیترنر طی دوره رسیدن و نگهداری پنیر سفید پروبیوتیک می تواند در نتیجه اثر ترکیبی کاهش pH و فعالیت ضد میکربی باکتری پروبیوتیک و آغازگر مورد استفاده در این مطالعه باشد. با این وجود، شرایط محیطی ایجاد شده جهت حذف کامل این بیماری زا در پنیر سفید کافی نیست. بنابراین، دست اندرکاران صنعت مواد غذایی جهت اطمینان از سلامتی و پایداری میکربی محصولات لبنی تخمیری، به ویژه پنیر سفید، نباید فقط به پاستوریزاسیون و تخمیر اکتفا کنند. بلکه، جهت ایجاد شرایط مطلوب در مراحل مختلف تولید و ذخیره سازی، از افزودنی های مجاز هم باید استفاده شود. ماندگاری پروبیوتیک مورد مطالعه در انتهای دوره رسیدن پنیر، جهت ایجاد اثرات مفید سلامتی، بیشتر از حد لازم بود. همچنین باکتری مذکور بر روی خصوصیات حسی پنیر تأثیرات مثبت نشان داد. بنابراین، پنیر سفید ایرانی به عنوان یک ماده غذایی، حامل باکتری های پروبیوتیک بسیار مناسب است.

باکتری های لاکتیک مولد باکتریوسین در زمینه تولید غذاهای تخمیری، جهت بهبود خصوصیات حسی و همچنین ممانعت از فساد به طور گسترده استفاده می شود. در این میان *لاکتوباسیل ها* به علت داشتن خصوصیات از قبیل بهبود و ارتقاء سلامتی میزان توجه زیادی را به خود جلب کرده اند (۴). جهت استفاده از پروبیوتیک ها در غذاهای عملگر (Functional Foods)، این ارگانسم ها باید به هنگام عبور از دستگاه گوارش باقی مانده و همچنین توانایی تکثیر در آن را نیز داشته باشند. *لاکتوباسیل ها* به عنوان باکتری های پروبیوتیک توانایی ماندگاری در دستگاه گوارش و همچنین توانایی بهبود تعادل میکروفلور آن را دارند (۴). کاربرد *لاکتوباسیلوس کازئی* در ترکیب با سایر آغازگرهای تجاری رایج در صنعت فرآورده های لبنی واجد اثرات ضد میکربی، ضد توموری و محرک سیستم ایمنی است (۱۹). تجویز خوراکی *لاکتوباسیلوس کازئی* در موش های رت آلوده شده با لیستریا منوسیترنر سبب افزایش ایمنی سلولی شد (۲۰). همچنین تجویز این باکتری پروبیوتیک در موش های آلوده شده با *E.coli*، سبب ممانعت از رشد این باکتری بیماریزا و کاهش عفونت گردید (۲۱، ۲۲). شمارش *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در طی ۱۵ روز ابتدایی دوره رسیدن پنیر سفید در مقایسه با سایر روزهای دوره رسیدن کاهش بیشتری نشان می دهد. علت آن را کاهش میزان رطوبت، افزایش میزان نمک و کاهش دمای نگهداری گزارش می کنند (۲۲). در مطالعه حاضر نیز هر چند میزان

فهرست مراجع:

- 1- Smith p, Stewart J and Fyfe L. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *J Food Microbiol* 2001; **18**: 463-70.
- 2- Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, et al. Food-related illness and death in the United states. *Emerg Inf Dis* 1999; **5**: 607-25.
- 3- Benkerroum N, Oubel H, Zahar M, Dlia S, Filali-Maltouf A. Isolation of a bacteriocin-producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and application to control

- Listeria monocytogenes* in Moroccan Jben. *J Appl Microbiol* 2000; **89**: 960-9.
- 4- Food and Agriculture Organization of United Nations; World Health Organization. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria, FAO/WHO (2001). Report of a joint FAO/WHO expert consultation, Co'rdoba, Argentina. ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf

- 5- Gomes da Cruz A, Buriti FA, Batista de Souza CH, Fonseca Faria JA, Isay Saad SM. Probiotic cheese: health benefits, technological and stability aspects. *J Food Science Technol* 2009; **20**: 344-54.
- 6- Bernbom N, Licht TR, Saadbye P, Vogensen FK and Nørrung B. *Lactobacillus plantarum* inhibits growth of *Listeria monocytogenes* in an in vitro continuous flow gut model, but promotes invasion of *Listeria monocytogenes* in the gut of gnotobiotic rats. *Int J Food Microbiol* 2006; **108**: 10 – 14.
- 7- Phillip SM, Kailasapathy K and Tran L. Viability of commercial probiotic cultures (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium spp.*, *L. casei*, *L. paracasei* and *L. rhamnosus*) in cheddar cheese. *Int J Food Microbiol* 2006; **108**: 276-80.
- 8- Ong L, Henriksson A and Shah NP. 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. *Int Dairy J* 2006; **16**: 446–56.
- 9- 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- Food Science Technol* 2007; **40**(6): 973-81.
- 10- Meilgaard MC, Civille GV, Carr BT.. *Sensory evaluation techniques*. 2nd edition. Crc prees, inc. bocaration, florida 1991; PP: 123-130.
- 11- De Buyser ML, Dufour B, Maire M, Lafarge V. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialized countries, *Int J Food Microbiol* 2001; **67**: 1-17.
- 12- Mazzotta AS. Thermal inactivation of stationary-phase and acid-adapted *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* in fruit juice *J Food Prot* 2001; **64**: 315-20.
- 13- Maisnier-Patin S, Deschamps N, Tatini SR and Richard J. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in Camembert cheese made with a nisin-producing starter. *Lait* 1992; **72**: 249-63.
- 14- Yousef AE, Marth EH. Behavior of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and storage of Colby cheese. *J Food Prot* 1988; **51**: 12-15.
- 15- Papageorgiou DK, Marth EH. Fate of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of blue cheese. *J Food Prot* 1989; **52**: 459-65.
- 16- Ryser ET, Marth EH. Behavior of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of cheddar cheese. *J Food Pro* 1987a; **50**: 7-13.
- 17- Rodriguez E, Gaya P, Nunez M, Medina M. Inhibitory activity of a nisin-producing starter culture on *Listeria innocua* in raw ewes milk Manchego cheese. *Int J of Food Microbiol* 1998; **39**: 129–32.
- 18- Morgan F, Bonnin V, Mallereau MP and Perrin G. Survival of *Listeria monocytogenes* during manufacture, ripening and storage of soft lactic cheese made from raw goat milk. *Int J of Food Microbiol* 2001; **64**: 217–21.
- 19- Matsuzaki, TR, Yamazaki S, Hashimoto o, Yokokura T.. The effect of oral feeding of *Lactobacillus casei* strain Shirota on immunoglobulin E production in mice. *J Dairy Sci* 1998; **81**: 48-53.
- 20- de Waard RJ, Garssen GC, Bokken, and Vos JG. Antagonistic activity of *Lactobacillus casei* strain Shirota against gastrointestinal *Listeria monocytogenes* infection in rats. *Int J Food Microbiol* 2002; **73**: 93-100.
- 21- Ogawa M, Shimizu K, Nomoto K, Takahashi M, Watanuki M, Tanaka R, et al.. Protective effect of *Lactobacillus casei* strain Shirota on Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 infection in infant rabbits. *Infect Immun* 2001; **69**: 1101-8.
- 22- Asahara T, Nomoto K, Watanuki M, Yokokura T. Antimicrobial activity of intraurethrally administered probiotic *Lactobacillus casei* in a murine model of *Escherichia coli* urinary tract infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; **45**: 1751-60.