مجله علمی- پژوهشی زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی
بهار ۱۳۹۰، دوره سوم، شماره هشتم،صفحه ۵۶-۴۹

(مقاله مروری) انتخاب گونه پروبیوتیکی مناسب برای استفاده در تولید بستنی فراسودمند

عزیز همایونی[۱]

۱. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

نویسنده مسؤول: دکتر عزیز همایونی. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
Homayounia@tbzmed.ac.ir

دریافت: ۹۰/۱/۱۶ پذیرش: ۹۰/۳/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: در بستنی از میان عوامل متعددی که در طول فرآیند و نگهداری (فشار اسمزی ناشی از غلظت بالای ساکارز، دمای انجماد و وجود اکسیژن هوا) و نیز مصرف (**pH** اسیدی معده و **pH** قلیایی روده)، زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند، عوامل مهم و اصلی انتخاب گردیده و مورد شبیه‌سازی قرار گرفت.

روش بررسی: برای ارزیابی رشد و زنده‌مانی چهار گونه پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی*، *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و *بیفیدوباکتریوم لانگوم* در معرض **pH** شبیه‌سازی شده معده و روده و نیز **pH** واسطی که طی گذر از حالت اسیدی به قلیایی به طور موقت در ابتدای روده کوچک ایجاد می‌شود قرار گرفته و مقاوم‌ترین گونه‌ها مشخص شدند. همچنین به منظور شبیه‌سازی شرایط بستنی، اثر غلظت‌های مختلف ساکارز وجود و عدم وجود اکسیژن و دمای پایین بر زنده‌مانی و رشد چهار گونه مذکور مورد آزمایش قرار گرفت و در نهایت مقاوم‌ترین گونه‌ها مشخص شدند.

یافته‌ها: نتایج حاصل از بررسی اثر **pH** اسیدی و قلیایی، بر شاخص رشد چهار گونه پروبیوتیکی نشان داد که بین باکتری‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. در غلظت‌های مختلف ساکارز، بیشترین رشد مربوط به *لاکتوباسیلوس کازئی* در غلظت‌های ۱۰٪ و ۲۰٪ می‌باشد. همچنین در محیط کشت حاوی سیستئین، بیشترین رشد مربوط به *لاکتوباسیلوس کازئی* بود. از میان چهار گونه پروبیوتیکی مورد آزمایش، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* نسبت به بقیه از مقاومت خوبی در برابر سرما برخوردار بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که *لاکتوباسیلوس کازئی* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* نسبت به بقیه هم از سرعت رشد بالایی برخوردار بودند و هم مقاومت خوبی در **pH** شبیه‌سازی شده دستگاه گوارشی و شرایط شبیه‌سازی شده بستنی داشتند.

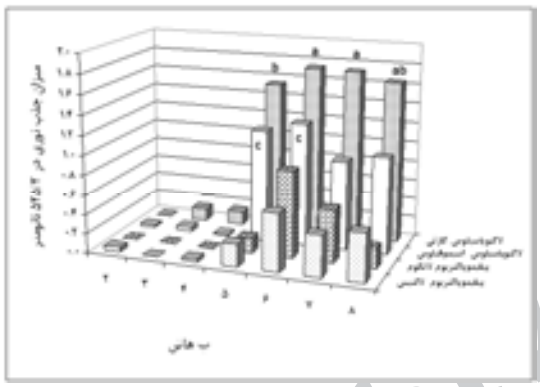
واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، بستنی، غذای فراسودمند

www.SID.ir

مقدمه

از آنجا که در طول مراحل تولید، نگهداری و مصرف بستنی فراسودمند، زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها تحت تاثیر قرار می‌گیرد و pH سیستم گوارشی و نیز شرایط تولید مانند دمای انجماد اثر مخرب بر میکروب‌های پروبیوتیک دارد، منطقی است که قبل از افزودن باکتری‌های پروبیوتیک به فرآورده نهایی، قابلیت زنده‌مانی آنها را در شرایط نامساعد فرآیند و مصرف مورد بررسی قرار داده و از این طریق مقاوم‌ترین گونه را از میان گونه‌های موجود انتخاب نموده و به بستنی فراسودمند اضافه نماییم. در این راستا از میان عوامل متعددی که در طول فرآیند، نگهداری و مصرف، زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند، عوامل مهم و اصلی انتخاب گردیده و به عنوان شاخص فرآیند و مصرف مورد مطالعه واقع شدند. بدین منظور pH سیستم گوارشی به ویژه pH اسیدی معده که محدود کننده‌ترین عامل است و نیز شرایط نامساعد خود فرآورده (فشار اسمزی ناشی از غلظت بالای ساکارز، دمای انجماد و وجود اکسیژن هوا) مورد شبیه‌سازی قرار گرفت. از سوی دیگر چون اطلاعات جامع در مورد رشد و زنده‌مانی گونه‌های پروبیوتیک مورد مطالعه در pH اسیدی و قلیایی در منابع کمتر یافت می‌شد و نیز با توجه به محدوده تغییر pH از دهان تا روده، چهار گونه پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی، بیفیدوباکتریوم لاکتیس و بیفیدوباکتریوم لانگوم* در معرض pH شبیه‌سازی شده معده (۳-۲) و روده (۸-۷) و نیز pH واسطی که طی گذر از حالت اسیدی به قلیایی به طور موقت در ابتدای روده کوچک ایجاد می‌شود (۶-۴) قرار گرفته و مقاوم‌ترین گونه‌ها مشخص شدند. همچنین به منظور شبیه‌سازی شرایط بستنی، اثر غلظت‌های مختلف ساکارز (۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد)، وجود و عدم وجود اکسیژن (تزریق هوا برای رسیدن به ضریب انبساط ۱۰۰ درصد) و دمای پایین یخچالی (چهار درجه سانتی گراد برای رسانیدن مخلوط بستنی) و انجمادی (۲۰- درجه سانتیگراد طی انجماد و نگهداری محصول نهایی) بر زنده‌مانی و رشد چهار گونه مذکور مورد آزمایش قرار گرفت و در نهایت مقاوم‌ترین گونه‌ها مشخص شدند.

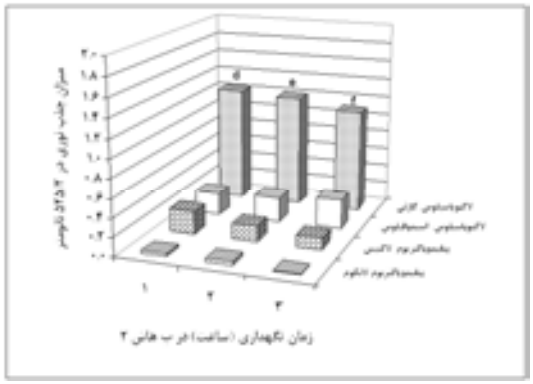
اثر pH محیط کشت بر شاخص رشد و زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها : گونه پروبیوتیکی مناسب برای آنکه بتواند اثرات مفید خود را در دستگاه گوارشی از خود بروز دهد، علاوه بر تحمل شرایط بستنی بایستی بتواند بر اسیدیته بالای معده فائق آید. pH دستگاه گوارشی در قسمت‌های مختلف آن متغیر است به طوری که ممکن است در معده تا حد دو پایین آید (۱۴). به منظور ارزیابی زنده‌مانی گونه‌های پروبیوتیکی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی، بیفیدوباکتریوم لاکتیس و بیفیدوباکتریوم لانگوم*، این باکتری‌ها در معرضpH اسیدی و قلیایی، غلظت‌های مختلف ساکارز، غلظت‌های مختلف اکسیژن و دماهای پایین قرار داده شدند. نتایج حاصل از بررسی اثر pH اسیدی و قلیایی (۲-۸)، بر شاخص رشد چهار گونه پروبیوتیکی نشان داد که بین باکتری‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (۱۷). یعنی باکتری‌ها در pH مختلف، رشد متفاوتی داشته‌اند. مقایسات میانگین در این مورد به روش دانکن در سطح احتمال یک درصد نشان داد که بیشترین رشد مربوط به *لاکتوباسیلوس کازئی* در pH ۶ و ۷ می‌باشد (نمودار ۱).



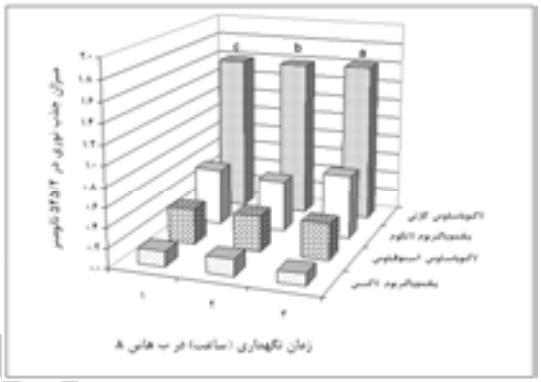
نمودار ۱. اثر pH اسیدی و قلیایی بر شاخص رشد چهار باکتری پروبیوتیک

همچنین زنده‌مانی این باکتری‌ها پس از سپری شدن سه ساعت در pH ۲ و ۸ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی زنده‌مانی این باکتری‌ها پس از سپری شدن سه ساعت در pH ۲ و ۸، بر شاخص زنده‌مانی چهار گونه پروبیوتیکی نشان داد که بین باکتری‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. یعنی مقاومت باکتری‌ها در برابر pH مختلف، متفاوت بود. بیشترین رشد مربوط به لاکتوباسیلوس کازئی در pH=۸ است (نمودار ۲ و ۳).

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار۲. اثر زمان نگهداری بر زنده‌مانی چهار گونه پروبیوتیک در pH =۲



نمودار ۴. اثر زمان نگهداری بر زنده‌مانی چهار گونه پروبیوتیک در p =۸

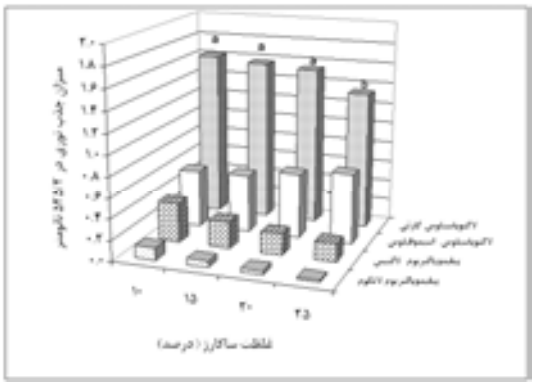
نتایج نشان داد که گونه‌های متعلق به جنس لاکتوباسیلوس از مقاومت نسبی بیشتری نسبت به جنس بیفیدوباکتریوم برخوردار بودند. این نتیجه با نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده قبلی مطابقت دارد (۱۶). گزارش شده که گونه‌های متعلق به جنس لاکتوباسیلوس در pH=۲ به میزان چهار سیکل لگاریتمی و گونه‌های متعلق به جنس بیفیدوباکتریوم به میزان پنج سیکل لگاریتمی کاهش پیدا می‌کنند. البته شاخص زنده‌مانی بیفیدوباکترها در pH پایین بستگی به گونه آنها دارد (۶ و ۱۸). هر چند که برخی معتقدند مدت زمان ۹۰ دقیقه‌ای برای مطالعه زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها کافی است، در این مطالعه مدت زمان سه ساعت مبنای آزمایشات در نظر گرفته شد و نیز از اثرات بافری پروتئین‌های شیر و محصولات لبنی صرف‌نظر گردید تا شاخص زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در سخت‌ترین شرایط ممکن مورد بررسی قرار گیرد. بنابراین انتظار می‌رود گونه‌های مقاوم به شرایط این مطالعه، در شرایط واقعی محصولات لبنی و دستگاه گوارش از مقاومت بهتری برخوردار باشند. ظرفیت بافری بالای پروتئین‌های شیر در محصولات لبنی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها را طی گذر از pH پایین معده افزایش می‌دهد (۹). گزارش شده که فرآورده‌های لبنی pH معده را تا حد سه افزایش می‌دهند (۱۶). از آنجا که pH اکثر محصولات لبنی در محدوده اسیدی قرار دارد و نیز پروبیوتیک‌ها به هنگام مصرف در ابتدا با شرایط اسیدی معده مواجه می‌شوند، بنابراین زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در شرایط اسیدی از اهمیت زیادی نسبت به شرایط قلیایی برخوردار است. بنابراین زنده‌مانی در شرایط قلیایی به تنهایی فاقد ارزش است. چرا که ممکن است گونه پروبیوتیکی قبل از رسیدن به شرایط قلیایی روده از بین رفته باشد. از سوی دیگر شرایط اسیدی و قلیایی نه تنها بر رشد و زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها اثر می‌گذارند، بلکه می‌توانند با یکدیگر اثر متقابل بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها از خود بروز دهند (۵).

اثر غلظت‌های مختلف ساکارز بر شاخص رشد و زنده مانی باکتری‌ها در محیط کشت: برخی از محصولات لبنی مثل بستنی در فرمولاسیون خود دارای مقادیر مختلفی شکر (ساکارز) هستند. زنده‌مانی گونه‌های پروبیوتیکی مورد استفاده در این محصولات ممکن است تحت تاثیر فشار اسمزی ناشی از ساکارز واقع شود (۱۵ و ۲۲). در پاسخ به این سوال که فشار اسمزی ناشی از غلظت‌های بالای ساکارز چه اثری بر رشد و زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها دارد، اثر غلظت‌های مختلف ساکارز (۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد) بر شاخص رشد چهار گونه پروبیوتیک تجاری، به صورت فاکتوریل (دو فاکتوره ۴×۴) در قالب طرح کاملا تصادفی آزمایش شده و داده‌های به دست آمده به وسیله نرم‌افزار اِس- آ- اِس آنالیز گردید. نتایج حاصله نشان داد که بین باکتری‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. یعنی باکتری‌ها در غلظت‌های مختلف ساکارز، رشد متفاوتی داشته‌اند. مقایسات میانگین در این مورد به روش دانکن در سطح احتمال یک درصد نشان داد که بیشترین رشد مربوط به لاکتوباسیلوس کازئی در غلظت‌های ۱۰٪ و ۲۰٪ می‌باشد (نمودار ۴-۴). در مورد ساکارز نیز مقاومت گونه‌های متعلق به جنس لاکتوباسیلوس بیشتر از گونه‌های متعلق به جنس بیفیدوباکتریوم بود. این نتیجه با نتایج به دست آمده از مطالعه حکمت و مک‌ماهون هم‌خوانی نداشت (۱۱). مشخص شده که قندهای احیاکننده مثل مالتوز، قابلیت رشد و بقای (زنده‌مانی یا قابلیت زیستی) پروبیوتیک‌هایی همچون *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس رئوتری* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* را افزایش می‌دهد (۴). نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که هر چند ساکارز، احیا کننده

Archive of SID

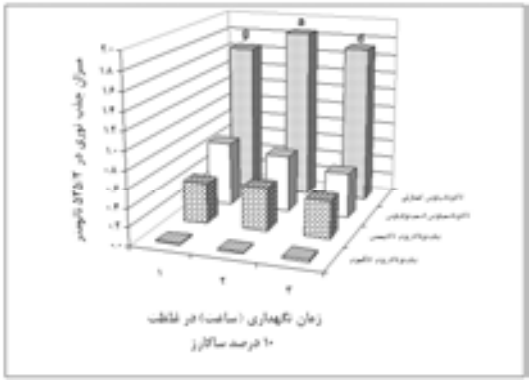
www.SID.ir

نیست با این حال قابلیت رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* را افزایش می‌دهد.



نمودار۴. اثر غلظت‌های مختلف ساکارز بر شاخص رشد چهار باکتری پروبیوتیک

زنده‌مانی این باکتری‌ها پس از سپری شدن سه ساعت در غلظت‌های مختلف ساکارز (۱۰٪، ۱۵٪، ۲۰٪ و ۲۵٪) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصله نشان داد که بین باکتری‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. همچنین بین سطوح مختلف زمانی (۱، ۲ و ۳ ساعت) در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد. مقایسات میانگین در این مورد به روش دانکن در سطح احتمال یک درصد نشان داد که بیشترین مقاومت مربوط به ساعت دو برای *لاکتوباسیلوس کازئی* است. بهترین ترکیب ساکارز×باکتری×زمان، *لاکتوباسیلوس کازئی* در غلظت ۱۵٪ و زمان دو ساعت می‌باشد (نمودارهای ۵، ۶، ۷ و ۸). آلامپرس و همکارانش نیز نشان دادند که غلظت‌های ۱۵ و ۱۷ درصد ساکارز در بستنی، تاثیری بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس جانسونی* ندارد (۳).



نمودار ۵. اثر زمان نگهداری در ۱۰ درصد ساکارز بر شاخص زنده‌مانی چهار باکتری پروبیوتیک

نمودار۶. اثر زمان نگهداری در ۱۵ درصد ساکارز بر شاخص زنده‌مانی چهار باکتری پروبیوتیک

نمودار ۷. اثر زمان نگهداری در ۲۰ درصد ساکارز بر شاخص زنده‌مانی چهار باکتری پروبیوتیک

نمودار ۸. اثر زمان نگهداری در ۲۵ درصد ساکارز بر شاخص زنده‌مانی چهار باکتری پروبیوتیک

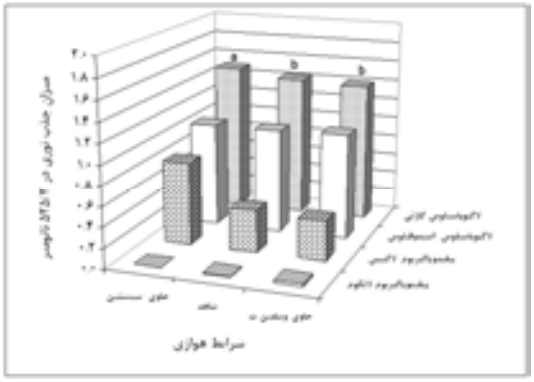
Archive of SID

www.SID.ir

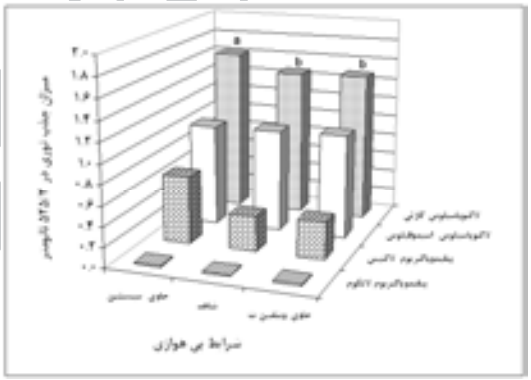
اثر ترکیبات جاذب اکسیژن بر شاخص رشد پروبیوتیکها در محیط کشت: در مرحله انجماد بستنی به اندازه حجم مخلوط، هوا در محصول تزریق می‌شود. بنابراین ضریب انبساط بستنی معمولی در حدود ۱۰۰ درصد است. یعنی حجم مخلوط در حین انجماد دو برابر می‌شود. در حدود ۲۱ درصد از هوا را گاز اکسیژن تشکیل می‌دهد. از سوی دیگر باکتری‌های پروبیوتیک اغلب متعلق به گروه بی‌هوازی تا میکروائروفیل هستند و اکسیژن مولکولی بر این باکتری‌ها اثر سمی و کشنده دارد. استفاده از ترکیبات جاذب اکسیژن مثل اسید اسکوربیک و بسته‌بندی محصولات لبنی در ظروف غیر نفوذپذیر نسبت به اکسیژن، از جمله راههای کاهش مقدار اکسیژن در این محصولات است (۷، ۱۸ و ۲۰). اسید اسکوربیک تاثیر چندانی بر pH فرآورده لبنی ندارد ولی قادر به کاهش مقدار اکسیژن و پتانسیل اکسید و احیای آن می‌باشد. با کاهش مقدار اکسیژن محلول، زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها افزایش می‌یابد (۷). پراکسید هیدروژن تولید شده توسط باکتری‌های اسید لاکتیک نیز می‌تواند پتانسیل اکسید و احیای محصولات لبنی را کاهش دهد. این عمل با جذب اکسیژن آزاد و تبدیل پراکسید هیدروژن به آب همراه است (۲۱). افزودن سیستئین و ترکیبات حاوی گروههای تیول با کاهش پتانسیل اکسید و احیای محیط، رشد و زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها را افزایش می‌دهد (۱). از سوی دیگر ال‌سیستئین یک اسید آمینه ضروری برای پروبیوتیک‌ها به شمار می‌رود و به عنوان ترکیب آمینو-نیتروژن توسط پروبیوتیک‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۸ و ۱۸). از آنجا که در میان باکتری‌های پروبیوتیک، بیفیدوباکترها نسبت به لاکتوباسیل‌ها پرتوقع‌ترند (۱۰)، افزودن سیستئین برای رشد این باکتری‌ها ضروری به نظر می‌رسد. میزان بهینه مصرف سیستئین با در نظر گرفتن صرفه اقتصادی و قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها، ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر محصول لبنی توصیه شده است (۱ و ۷). هر چند که زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* تحت تاثیر سیستئین قرار نمی‌گیرد (۱۲). در این مطالعه اثر وجود و عدم وجود هوا و نیز اثر وجود و عدم وجود سیستئین و ویتامین‌ث به عنوان ترکیبات جاذب اکسیژن از محیط کشت، بر روی شاخص رشد چهار گونه پروبیوتیکی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که سیستئین بر رشد گونه‌های مورد آزمایش اثر مثبت داشته و رشد *لاکتوباسیلوس کازئی* در حضور سیستئین نسبت به بقیه گونه‌ها بیشتر افزایش می‌یابد. اثر محتوای اکسیژن محیط کشت بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها بستگی به گونه آنها دارد. اثر کشندگی اکسیژن بر باکتری‌های اسید لاکتیک، ممکن است یک اثر غیر مستقیم باشد. به این ترتیب که پراکسید هیدروژن در حضور اکسیژن به وسیله آنزیم فلاووپروتئین اکسیداز موجود در باکتری‌های اسید لاکتیک تولید می‌شود که یک متابولیت ثانویه کشنده محسوب می‌شود (۱۹). برای بررسی اثر وجود و عدم وجود هوا و ترکیبات جاذب اکسیژن بر شاخص رشد چهار گونه پروبیوتیک تجاری، آزمایش به صورت فاکتوریل (سه فاکتوره ۴×۲×۳) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام گرفت و داده‌های به دست آمده به وسیله نرم‌افزار اِس- آ- اِس آنالیز گردید. نتایج حاصله نشان داد که سیستئین بر رشد باکتری‌ها اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشته است. به عبارت دیگر باکتری‌ها در غلظت‌های مختلف در حضور و عدم حضور هوا و ترکیبات جاذب اکسیژن، رشد متفاوتی داشته‌اند. مقایسات میانگین در مورد اثر متقابل سیستئین × ویتامین‌ث به روش دانکن در سطح احتمال یک درصد نشان داد که سیستئین بر رشد پروبیوتیک‌ها اثر مثبت داشته ولی ویتامین‌ث تاثیری بر رشد پروبیوتیک‌ها ندارد. در این مطالعه، بیشترین رشد مربوط به *لاکتوباسیلوس کازئی* در محیط کشت حاوی سیستئین بود. همچنین اثر وجود و عدم وجود سیستئین بر شاخص رشد چهار گونه پروبیوتیک در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است. یعنی وجود سیستئین نسبت به عدم وجود آن، اثر متفاوت دارد. مقایسات میانگین به روش دانکن در سطح احتمال یک درصد نشان داد که سیستئین در مقایسه با ویتامین‌ث، شاخص رشد را افزایش می‌دهد. در حالی که رشد باکتری‌ها در حضور و عدم حضور ویتامین‌ث یکسان بود و تفاوتی با نمونه شاهد نداشت. از سوی دیگر وجود و عدم وجود هوا بر شاخص رشد باکتری‌ها در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری ندارد. اما اثر متقابل بین گونه باکتری و وجود و عدم وجود هوا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است. مقایسات میانگین در این مورد به روش دانکن در سطح احتمال یک درصد نشان داد که بیشترین رشد مربوط به *لاکتوباسیلوس کازئی* در محیط کشت فاقد هوا است. همچنین بین سطوح مختلف باکتری و وجود و عدم وجود ترکیبات جاذب اکسیژن اثر متقابل معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. نتایج تحقیق ما نشان داد که سیستئین بیشتر از ویتامین‌ث قابلیت رشد *لاکتوباسیلوس کازئی* را افزایش می‌دهد (نمودارهای ۹ و ۱۰). افزودن بی‌کربنات سدیم حتی بیشتر از سیستئین، رشد گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم را افزایش می‌دهد (۷).

Archive of SID

www.SID.ir

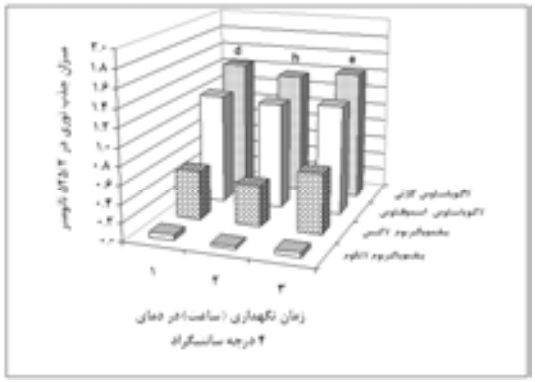


نمودار ۹. اثر سیستئین و ویتامین‌ث بر شاخص رشد چهار باکتری پروبیوتیک در حضور اکسیژن



نمودار ۱۰. اثر سیستئین و ویتامین‌ث بر شاخص رشد چهار باکتری پروبیوتیک در عدم حضور اکسیژن

اثر دماهای مختلف فرآوری بر شاخص زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در محیط کشت: باکتری‌های پروبیوتیک به عنوان جزئی از محصولات لبنی بایستی قادر به تحمل دماهای پایین (یخچال و فریزر) باشند. در این تحقیق دماهای پایین (چهار درجه سانتی گراد و ۲۰- درجه سانتی گراد) بر زنده‌مانی چهار گونه پروبیوتیک تجاری در طول سه ساعت نگهداری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که بین باکتری‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. یعنی مقاومت باکتری‌ها در برابر دماهای مختلف، متفاوت بود. مقایسات میانگین در این مورد به روش دانکن در سطح احتمال یک درصد نشان داد که بیشترین مقاومت، مربوط به *لاکتوباسیلوس کازئی* در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد می‌باشد. به عبارت دیگر، باکتری‌ها در دمای نزدیک انجماد با سرعت بیشتری نسبت به دمای پایین‌تر از انجماد از بین می‌روند. همچنین بین سطوح مختلف زمانی (۱، ۲ و ۳ ساعت) در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد. مقایسات میانگین در این مورد به روش دانکن در سطح احتمال یک درصد نشان داد که بیشترین مقاومت مربوط به ساعت اول برای لاکتوباسیلوس کازئی است (نمودارهای ۱۱ و ۱۲).



نمودار ۱۱ اثر زمان نگهداری (ساعت) در چهار درجه سانتیگراد بر شاخص زنده‌مانی چهار باکتری پروبیوتیک

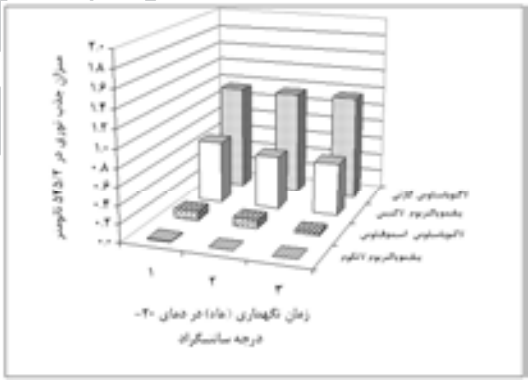
نمودار ۱۲. اثر زمان نگهداری (ساعت) در ۲۰- درجه سانتیگراد بر شاخص زنده‌مانی چهار باکتری پروبیوتیک

همچنین در این تحقیق اثر دماهای پایین (چهار درجه سانتی گراد و ۲۰- درجه سانتی گراد) بر روی زنده‌مانی چهار گونه پروبیوتیک تجاری در طول سه ماه نگهداری مورد بررسی قرار گرفت نتایج حاصل نشان داد که بین باکتری‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. یعنی مقاومت باکتری‌ها در طول سه ماه نگهداری، متفاوت بود. مقایسات میانگین در این مورد به روش دانکن در سطح احتمال یک درصد نشان داد که بیشترین مقاومت مربوط به *لاکتوباسیلوس کازئی* در دمای چهار درجه سانتی گراد می‌باشد. همچنین بین سطوح مختلف زمانی (۱، ۲ و ۳ ماه) در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد. مقایسات میانگین در این مورد به روش دانکن در سطح احتمال یک

www.SID.ir

درصد نشان داد که بیشترین مقاومت مربوط به ماه اول برای *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* است (نمودارهای ۱۳ و ۱۴).

نمودار ۱۳. اثر زمان نگهداری (ماه) در چهار درجه سانتی گراد بر شاخص زنده‌مانی چهار باکتری پروبیوتیک



نمودار ۱۴. اثر زمان نگهداری (ماه) در ۲۰- درجه سانتی گراد بر شاخص زنده‌مانی چهار باکتری پروبیوتیک

همان طور که در نمودارهای (۱۳) و (۱۴) مشاهده می‌شود، از میان چهار گونه پروبیوتیکی مورد آزمایش، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* نسبت به بقیه از مقاومت خوبی در برابر سرما برخوردار بودند و طی سه ماه نگهداری در دمای ۴ و ۲۰- درجه سانتی گراد زنده‌مانی خوبی از خود نشان دادند. این نتایج تا حدی نتایج مطالعات قبلی را تایید می‌کند. گزارش شده که مقاومت بیفیدوباکترها نسبت به لاکتوباسیلوس‌ها در برابر دماهای پایین نگهداری کمتر است (۱۰ و ۱۳). با این حال *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* توانست زنده‌مانی خوبی در شرایط یاد شده از خود نشان دهد. در مطالعات قبلی اثر دماهای پایین نگهداری بر زنده‌مانی برخی گونه‌های پروبیوتیک در طول چند هفته یا ماه مورد بررسی قرار گرفته و مشخص شده که نگهداری در دمای انجماد، اثری بر زنده‌مانی این گونه‌ها ندارد (۲، ۳ و ۱۱). مشکل اساسی این مطالعات در این است که همه این مطالعات در بستنی، طی نگهداری یخچالی یا تحت انجماد انجام شده‌اند و در این شرایط، دما تنها عامل اثرگذار بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها نبوده و زنده‌مانی تحت تاثیر فاکتورهای مختلف واقع می‌شود. هر چند که مطالعات دراز مدت در دماهای پایین در طول ماندگاری محصولات لبنی برای شناسایی گونه‌های مناسب ضروری است، یک هدف مهم در این آزمایشات، یافتن روشی سریع برای انتخاب گونه پروبیوتیک مقاوم در برابر دماهای پایین بود. بدون اینکه فاکتورهای مختلف در نتیجه آزمایش دخالت کنند. بنابراین در این پژوهش، پروبیوتیک‌ها در محیط کشت MRS-broth کشت داده شدند.

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از تیمارها بر هر یک از گونه‌های پروبیوتیکی مورد مقایسه واقع شده و گونه‌هایی که نسبت به ترکیب تیمارها پاسخ مناسب داده و شاخص رشد و زنده‌مانی بالایی را دارا بودند، برای کاربرد در بستنی انتخاب شدند. نتایج حاصل نشان داد که *لاکتوباسیلوس کازئی* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* نسبت به بقیه هم از سرعت رشد بالایی برخوردار بودند و هم مقاومت خوبی در pH شبیه‌سازی شده دستگاه گوارشی و شرایط شبیه‌سازی شده بستنی داشتند. این نتایج نشان می‌دهد که *لاکتوباسیلوس کازئی* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در میان چهار گونه مورد آزمایش برای کاربرد در بستنی فراسودمند مناسب‌ترند.

References

1- Guler-Akın, MB, Akin MS. *Effects of cysteine* and different *incubation temperatures on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio-yogurt made from goats milk.* Food Chemistry. 2007; 100:2:788-793.
2- Akin MB, Akin MS, Kirmaci Z. *Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice cream*. Food Chemistry. 2007; 104: 93-99.
3- Alamprese C, Foschino R, Rossi M, Pompei C, Savani L. *Survival of Lactobacillus johnsonii La1 and influence of its addition in retail-manufactured ice cream produced with different sugar and fat concentrations*. International Dairy Journal. 2002; 12: 201-208.

www.SID.ir
Archive of SID

4- Charalampopoulos D, Wang R, Pandiella SS, Webb C. *Application of cereals and cereal components in functional foods: a review*. International Journal of Food Microbiology. 2002; 79: 131- 141.
5- Chou LS, Weimer B. *Isolation and characterization of acid- and bile-tolerant isolates from strains of Lactobacillus acidophilus*. Journal of Dairy Science. 1999; 82: 23-31.
6- Chung HS, Kim YB, Chun SL, Ji GE. *Screening and selection of acid and bile resistant bifidobacteria*. International Journal of Food Microbiology. 1999; 47: 25-32.
7- Dave RI, Shah NP. *Effect of Cysteine on the viability of yoghurt and probiotic bacteria in yogurts made with commercial starter cultures*. International Dairy Journal. 1997; 7: 537-545.
8- Dave RI, Shah NP. *Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt.* Journal of Dairy Science. 1998; 81: 2804-2816.
9- Gardiner GE, Ross RP, Wallace JM, Scanlan FP, Jagers PP, Fitzgerald GF, Collins JK, Stanton C. *Influence of a probiotic adjunct culture of Enterococcus faecium on the quality of Cheddar cheese*. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 1999; 47: 4907-4916.
10- Gomes AMP, Malcata FX, Klaver FAM. *Growth enhancement of Bifidobacterium lactis BO and Lactobacillus acidophilus Ki by milk hydrolyzates*. Journal of Dairy Science. 1998; 81: 2817-2825.
11- Hekmat S, MeMahon DJ. *Survival of Lactobacillus and Bifidobacterium bifidum in ice cream for use as a probiotic food*. Journal of Dairy Science. 1992; 75: 1415-1422.
12- Ishibashi N, Shimamura S. *Bifidobacteria: Research and Development in Japan.* Food Technology. 1993; 47: 29-34.
13- Kailasapathy K, Rybka S. *L. acidophilus and Bifidobacterium spp. their therapeutic potential and survival in yoghurt*. The Australian Journal of Dairy Technology. 1997; 52: 28-35.
14- Lankaputhra WEV, shah NP. *Improving viability of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacteria in yogurt using two step fermentation and neutralized mix*. Food Australia. 1997; 49: 363-366.
15- Medici M, Vinderola CG, Perdigon G. *Gut mucosal immunomodulation by probiotic fresh cheese*, International Dairy Journal. 2004; 14: 611-618.
16- Mishra V, Prasad DN. *Application of in vitro methods for selection of Lactobacillus casei strains as potential probiotics*. International Journal of Food Microbiology. 2005; 103: 109-115.
17- SAS User's Guide: Basic and Statistics, Version 8.02 edn. SAS Institute Inc., SAS Campus Drive, Cary, NC, United States. 2001; pp: 686.
18- Shah NP. *Probiotic Bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods*. Journal of Dairy Science. 2000; 83: 894-907.
19- Shimamura S, Abe F, Ishibashi N, Miyakawa H, Yaeshima T, Tomita M. *Relationship between oxygen sensitivity and oxygen metabolism of Bifidobacterium species.* Journal of Dairy Science. 1992; 75: 3296-3306.
20- Talwalkar A, Kailasapathy K. *Effect of microencapsulation on oxygen toxicity in probiotic bacteria*. The Australian Journal of Dairy Technology. 2003; 58: 36-39.
21- Varnam AH, Sutherland JP. In: Milk and milk products: Technology, Chemistry and Microbiology. Chapman and Hall, London. 1994; pp: 25-29.
22- Ziemer CJ, Gibson GR. *An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept*: *Perspectives and future strategies*. International Dairy Journal. 1998; 8: 473-479.

Archive of SID

www.SID.ir