

# مطالعه رشد و متابولیسم گونه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 در شیر استریلیزه

هیوا کریمی دره‌آبی<sup>۱\*</sup>، گیتی کریم<sup>۲</sup>، حمید میرزایی<sup>۳</sup>

## چکیده

فعالیت بیولوژیکی پروبیوتیکها تحت تاثیر فاکتورهای مختلف محیطی قرار گیرد که هر کدام از این عوامل می‌تواند بر عملکرد و نیز میزان رشد آنها در تولید فرآورده‌های پروبیوتیکی موثر باشد. هدف از مطالعه حاضر تعیین تاثیر فروکتوز، دوزهای ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد مایه کشت اولیه و دماهای ۳۵، ۳۸، ۴۱ و ۴۴ درجه سانتی‌گراد بر سرعت رشد و متابولیسم لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 در شیر استریلیزه بوده است. برای این منظور از شیر تخمیر شده با لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 بعنوان مایه کشت جهت تلقیح در نمونه‌های شیر استفاده شد. برای انتخاب دمای مناسب از دماهای متفاوت استفاده شد. اسیدیته و pH نمونه‌های شیر در طی ساعت متفاوت اندازه‌گیری و تعداد لاکتوباسیلوس در زمان‌های صفر، ۴ و ۸ ساعت بعد از گرمخانه‌گذاری شمارش گردید برای ارزیابی تاثیر فروکتوز ۰/۷۵ درصد به نمونه شیر اضافه گردید سپس نمونه‌های شیر همراه با نمونه شاهد در دمای ۴۱ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد و اسیدیته، pH و تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس طبق برنامه زمانی فوق‌الذکر مورد سنجش قرار گرفتند. هر کدام از اعمال فوق ۱۰ بار تکرار و اطلاعات توسط آزمونهای آماری با هم مقایسه شدند. نتایج نشان داد که تعداد لاکتوباسیلوس و اسیدیته در نمونه‌های شیر گرمخانه‌گذاری شده در ۴۱ و ۴۴ درجه سانتی‌گراد بطور معنی‌داری بیشتر از دماهای دیگر بود ( $P < 0/05$ ). سرعت افزایش تعداد لاکتوباسیلوس در نمونه‌های حاوی ۲ درصد مایه کشت در ساعت چهارم گرمخانه‌گذاری بطور معنی‌داری بیشتر از نمونه‌های دیگر بود ( $P < 0/05$ ). ولی این تفاوت در ساعت ۸ بعد از گرمخانه‌گذاری معنی‌دار نبود. تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و اسیدیته در نمونه‌های شیر حاوی فروکتوز بطور معنی‌داری بیشتر از نمونه‌های کنترل بود ( $P < 0/05$ ). نتایج تحقیق نشان می‌دهد که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 در ۴۱ درجه سانتی‌گراد بهتر از سایر دماها رشد کرده و اضافه کردن فروکتوز به شیر سرعت رشد و متابولیسم آنرا افزایش می‌دهد.

**واژگان کلیدی:** پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، فروکتوز، دما، رشد

۱ - گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سمنان

۲ - گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران

۳ - گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز

\*-نویسنده مسئول hiva60iran@yahoo.com

## مقدمه

پروبیوتیکها در محصولات پروبیوتیکی استفاده می‌گردد. محصولات پروبیوتیکی همراه با پری بیوتیکها نقش مهمی در ایجاد تعادل میکروفلور روده دارد (۹ و ۱۷). یکی از عواملی که می‌تواند بسیار موثر بر سرعت رشد این باکتریها باشد مطالعه بهترین دما و بهترین دوز برای رشد و فعالیت متابولیسمی این میکروبها است (۱، ۲، ۳ و ۴). هدف از اجرای این تحقیق تعیین تاثیر دماهای ۳۵، ۳۸، ۴۱ و ۴۴ درجه سانتی‌گراد و انتخاب بهترین دما، تعیین تاثیر بهترین دوز و مطالعه استفاده از غلظت ۰/۷۵ درصد فروکتوز بر سرعت رشد و متابولیسم لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 در شیر استریلیزه است.

## مواد و روش کار

### الف: مواد

شیر استریلیزه UHT حاوی ۱/۵ درصد چربی، فروکتوز، پرولین و محیط کشت لاکتوز براث و MRS آگار ساخت شرکت MERCK، سود سوزآور ساخت شرکت ASIA و سویه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 از شرکت دانمارکی Cher-hansen

### ب: روش کار:

۱- آماده‌سازی مایه کشت حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5:

طبق پیشنهاد شرکت دانمارکی cher-hansen، در شرایط استریل ۲ گرم از سویه پروبیوتیکی به ارلن مایر حاوی ۱۰۰ میلی لیتر لاکتوز براث منتقل گردید و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد. سپس از محیط آماده شده ۵ میلی لیتر برداشته و به ۱۰۰۰ میلی لیتر شیر استریلیزه ۱/۵ درصد با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تلقیح و نمونه شیر حاصله بعد از همگن سازی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد تا اسیدیته شیر به حدود ۸۰ درجه دورنیک برسد. این عملیات ۳ بار تکرار گردید

بکارگیری پروبیوتیکها در پیشگیری از بیماریها و بهبود وضعیت سلامتی انسان و دام پیشینه ای چندین هزار ساله دارد. پروبیوتیکها یا مواد حیات بخش در مقابل آنتی بیوتیکها یا پادزیست قرار می‌گیرند. این مواد میکروارگانیزمهای زنده‌ای هستند که نه از طریق نابود سازی میکروارگانیزمهای موجود، بلکه با ایجاد و یا تقویت میکروارگانیزمهای مفید موجود در دستگاه گوارش موجبات حفظ سلامتی یا افزایش میزان رشد دام و انسان را فراهم می‌آورند. امروزه پروبیوتیکها نه تنها به عنوان محرک رشد بلکه برای تحریک دستگاه ایمنی و پیشگیری از ابتلاء به بسیاری از بیماریها در تولید انواع مواد غذایی پروبیوتیکی به کار گرفته می‌شوند. چنین تاثیر سودمندی به صورت فرضیه‌ای می‌تواند ناشی از یکی از مکانیسمهای ذیل باشد، ۱- تضعیف واکنشهایی که موجب تولید متابولیت‌های سمی و سرطان می‌گردند. ۲- تحریک واکنشهای آنزیمی دخیل در سم زدایی مواد بالقوه سمی که بلع شده یا در داخل بدن تولید می‌شود. ۳- تحریک آنزیمهای پستانداران در هضم مواد غذایی پیچیده و یا فراهم آوردن آنزیمها توسط منبع باکتریایی. ۴- ساخت ویتامینها و سایر مواد غذایی ضروری که در جیره غذایی به مقادیر کافی وجود ندارد (۵، ۸ و ۹). از عمده‌ترین پروبیوتیکها در دو دهه اخیر که به وفور در محصولات پروبیوتیکی استفاده می‌شود سویه‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم می‌باشد (۴، ۱۳ و ۲۰). نخستین قدم در تولید فراورده‌های تخمیری و از جمله فراورده‌های پروبیوتیک شناسایی ویژگیهای تکنولوژی و نیازهای ضروری میکروارگانیزمها مورد استفاده است. از آنجا که در فراورده‌های شیر میزان رشد و ماندگاری پروبیوتیکها پایین است برای افزایش زمان ماندگاری و افزایش میزان کیفیت محصول پروبیوتیکی از پپتیدها، اسیدهای آمینه و اولیگو ساکاریدهای غیر قابل هضم همراه

ساعات صفر، ۴ و ۸ گرمخانه گذاری با روش کشت سطحی در محیط MRS آگار شمارش گردید (۶، ۱۲).

#### ۴- تعیین تاثیر فروکتوز و پرولین بر سرعت رشد و متابولیسم لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5:

برای این منظور ابتدا مقدار  $750^{ml}$  شیر استریلیزه ۱/۵ درصد چربی به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد حرارت داده شد سپس با استفاده از آب سرد دمای آن به حدود ۴۰ درجه سانتی گراد کاهش یافت. سپس در کنار شعله در دو ارلن مایر ۵۰۰ میلی لیتر به صورت مساوی توزیع گردید و از مایه کشت اولیه به میزان دوز اپتیموم که در مرحله قبل برآورد شد به هر کدام از ارلن مایرها اضافه و بعد از همگن سازی به داخل یکی از ارلن مایرها ۰/۷۵ درصد فروکتوز، و در دومی فروکتوز اضافه نمی شود که این ارلن مایر را به عنوان کنترل در آزمایش مورد بررسی قرار گرفت. سپس ارلن ها در درجه حرارت مطلوب گرمخانه گذاری شده و اسیدیته و pH در ساعات صفر، ۲، ۴، ۶ و ۸ سنجیده شده و تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ساعات صفر، ۴ و ۸ گرمخانه گذاری با استفاده از روش کشت سطحی در محیط کشت MRS آگار شمارش گردید (۷ و ۱۲).

### نتایج

نتایج حاصل از آزمایش های انجام شده جهت تعیین دمای مطلوب رشد میکروارگانیسم تاثیر دوز اولیه بر میزان رشد آن و تاثیر افزودن فروکتوز و پرولین در نمودارهای زیر آمده است.

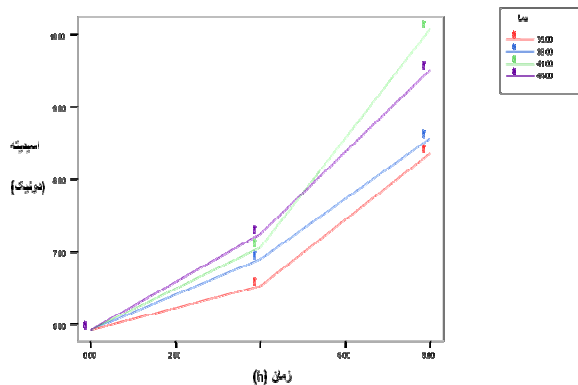
تا سویه پروبیوتیکی شرایط مطلوب را برای رشد پیدا کند و از آخرین نمونه شیر تخمیر شده، به عنوان مایه کشت اولیه در آزمایش های مختلف استفاده گردید.

#### ۲- تعیین دمای مطلوب رشد:

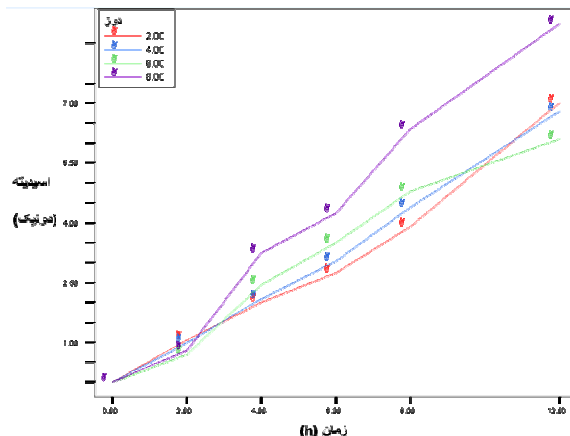
برای تعیین دمای مطلوب رشد، ابتدا یک لیتر شیر سترون کم چرب در داخل یک ارلن مایر به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد و سپس با استفاده از آب سرد دمای آن تا حدود ۴۰ درجه سانتی گراد کاهش داده شد، سپس از مایه کشت اولیه مقدار ۵ میلی لیتر تحت شرایط سترونی به آن تلقیح و همگن گردید. شیر حاصله در مجاورت شعله در چهار ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتر به طور مساوی توزیع و به ترتیب در دماهای ۳۵، ۳۸، ۴۱ و ۴۴ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری و در ساعات صفر، ۲، ۴، ۶ و ۸ گرمخانه گذاری میزان pH با استفاده از pH متر مدل testo 230 و اسیدیته با روش دورنیک سنجیده شد و تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ساعات صفر، ۴ و ۸ گرمخانه گذاری با روش کشت سطحی در محیط MRS آگار شمارش گردید و این عملیات ۱۰ بار تکرار شد (۷ و ۱۲).

#### ۳- تعیین تاثیر میزان دوز اولیه بر میزان رشد و متابولیسم لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5:

برای این منظور مراحل آماده سازی روی یک لیتر شیر استریلیزه ۱/۵ درصد چربی طبق روش فوق الذکر آماده سازی و سپس در کنار شعله در چهار ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری به صورت مساوی توزیع گردید و به ارلن های اول، دوم، سوم و چهارم به ترتیب ۲، ۴، ۶ و ۸ میلی لیتر از مایه کشت اولیه تلقیح شد. سپس در درجه اپتیموم که در مرحله اول حاصل شده بود (۴۱ درجه سانتیگراد) گرمخانه گذاری گردید و در ساعات صفر، ۲، ۴، ۶ و ۸ به ترتیب میزان اسیدیته و pH سنجیده شد و تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در



نمودار شماره ۲- شمارش کلی میکروبی نمونه های شیر گرمخانه گذاری شده در دماهای ۳۵، ۳۸، ۴۱ و ۴۴ درجه سانتی گراد در طول مدت گرمخانه گذاری



نمودار شماره ۱- اسیدیته نمونه شیر حاوی دوزهای مختلف سویه پروبیوتیکی در طول مدت گرمخانه گذاری

جدول شماره ۱- میانگین اسیدیته نمونه های شیر گرمخانه گذاری در دماهای ۳۵، ۳۸، ۴۱ و ۴۴ درجه سانتی گراد در زمانهای مختلف

a و b : تفاوت بین میانگین هایی که دارای حروف مشترک نیستند معنی دار می باشد.

زمان گرمخانه گذاری (h)					دما به درجه حرارت سانتیگراد
۸	۶	۴	۲	۰	
۲۱/۴۰±۰/۹۹ <sup>a</sup>	۱۹/۳۵±۰/۴۷ <sup>a</sup>	۱۸/۰۰±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۱۷/۶۰±۰/۵۳ <sup>a</sup>	۱۵/۹±۰/۳۱ <sup>a</sup>	۳۵
۲۲/۳۵±۰/۸۱ <sup>a</sup>	۲۰/۵±۰/۴۷ <sup>a</sup>	۱۸/۷۰±۰/۴۲ <sup>a</sup>	۱۷/۷۵±۰/۵۴ <sup>a</sup>	۱۶/۰۰±۰/۲۳ <sup>a</sup>	۳۷
۳۰/۹۰±۴/۳ <sup>b</sup>	۲۳/۴۰±۱/۱۷ <sup>b</sup>	۱۹/۹۵±۱/۱۵ <sup>b</sup>	۱۸/۱۰±۰/۶۱ <sup>a</sup>	۱۵/۹۵±۰/۱۵ <sup>a</sup>	۴۱
۲۷/۵۰±۳/۹ <sup>b</sup>	۲۱±۲/۰۱ <sup>b</sup>	۲۰/۳۰±۱/۰۳ <sup>b</sup>	۱۸/۰۵±۰/۶۴ <sup>a</sup>	۱۶/۰۰±۰۰ <sup>a</sup>	۴۴

همانطور که در جدول شماره یک مشاهده می شود براساس آزمون انالیز آماری یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح  $\alpha=0/05$  میانگین اسیدیته در نمونه های گرمخانه گذاری در ۴۱ و ۴۴ درجه سانتی گراد در زمانهای ۴، ۶ و ۸ ساعت و ۳۷ درجه سانتی گراد در زمان ۴ و ۶ ساعت بعد از گرمخانه گذاری به طور معنی داری بیشتر از نمونه های دیگر می باشد ( $P<0/05$ ).

جدول شماره ۲- میانگین لگاریتم تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس CFU/m در نمونه های گرمخانه گذاری شده در دماهای ۳۵، ۳۸، ۴۱ و ۴۴ درجه سانتی گراد در زمانهای مختلف گرمخانه گذاری. a و b : تفاوت بین میانگین هایی که دارای حروف مشترک نیستند معنی دار می باشد.

زمان گرمخانه گذاری (h)			دوز اولیه مایه کشت اولیه
۸	۴	۰	
۸/۳۶±۰/۵۷ <sup>a</sup>	۶/۵۳±۰/۳۸ <sup>a</sup>	۵/۷۸±۰/۷۲ <sup>a</sup>	۳۵
۸/۶±۰/۷۶ <sup>a</sup>	۶/۹۰±۱ <sup>a</sup>	۵/۵۲±۰/۶۶ <sup>a</sup>	۳۷
۱۰/۰±۰/۴۹ <sup>b</sup>	۷/۰۴±۰/۹۴ <sup>a</sup>	۶/۱±۰/۵۰ <sup>a</sup>	۴۱
۹/۵±۰/۲۶ <sup>b</sup>	۷/۲±۰/۹۵ <sup>a</sup>	۶/۲±۰/۷۰ <sup>a</sup>	۴۴

همانطور که در جدول شماره دو مشاهده می شود براساس آزمون انالیز آماری یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح  $\alpha=0/05$  میانگین لگاریتم تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه های شیر گرمخانه گذاری در ۴۱ و ۴۴ درجه سانتی گراد در زمان ۸ ساعت بعد از گرمخانه گذاری بطور معنی داری بیشتر از نمونه های دیگر می باشد ( $P<0/05$ ).

جدول ۳ شماره - میانگین افزایش اسیدیته نمونه های حاوی دوزهای ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد مایه کشت لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در زمانهای مختلف گرمخانه گذاری  
**a و b :** تفاوت بین میانگین هایی که دارای حروف مشترک نیستند معنی دار می باشد.

زمان گرمخانه گذاری (h)					دوز اولیه مایه کشت اولیه
۱۲	۸	۶	۴	۲	
۷/۰۰ ± ۰/۵۰a	۳/۹۰ ± ۰/۸۰a	۲/۷۵ ± ۰/۴۸a	۲/۰۰ ± ۰/۶۶a	۱/۰۵ ± ۰/۴۹a	۰/۵%
۶/۸۰ ± ۰/۷۵ab	۴/۴۰ ± ۰/۹۹a	۳/۰۵ ± ۰/۶۴ab	۲/۱۰ ± ۰/۷۳a	۱/۰۰ ± ۰/۵۲a	۱%
۶/۱۰ ± ۰/۸۹ab	۴/۸۰ ± ۱/۱a	۳/۵۰ ± ۱/۲۶ab	۲/۴۵ ± ۰/۱۵a	۰/۷۰ ± ۰/۵۸a	۱/۵%
۷/۲۲ ± ۱/۷۵b	۶/۳۵ ± ۱/۷۱b	۴/۲۵ ± ۱/۵۶b	۳/۲۵ ± ۱/۳۳a	۰/۸۰ ± ۰/۶۷a	۲%

همانطور که در جدول شماره سه مشاهده می شود بر آزمون آنالیز آماری یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح  $\alpha = 0/05$  میانگین افزایش اسیدیته در نمونه های حاوی ۲ درصد مایه کشت لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در زمانهای ۶، ۸ و ۱۲ ساعت بعد از گرمخانه گذاری به طور معنی داری بیشتر از مقدار آن در نمونه حاوی ۰/۵ درصد مایه کشت لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس می باشد ( $P < 0/05$ ).

جدول شماره ۴ - میانگین لگاریتم تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس CFU/ml در نمونه های حاوی ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد مایه کشت لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در زمانهای مختلف گرمخانه گذاری..  
**a و b :** تفاوت بین میانگین هایی که دارای حروف مشترک نیستند معنی دار می باشد.

زمان گرمخانه گذاری			دوز اولیه مایه کشت اولیه
۸	۴	۰	
۹/۴۱ ± ۱/۲۱a	۷/۴۳ ± ۰/۷۷a	۶/۹۹ ± ۰/۶۱ a	۰/۵%
۹/۷۷ ± ۰/۸۲a	۸/۲۸ ± ۱/۰۷ab	۶/۹۲ ± ۰/۹۵a	۱%
۱۰/۰۹ ± ۰/۵۸a	۸/۷۴ ± ۰/۶۲b	۷/۲۰ ± ۰/۵۲a	۱/۵%
۱۰/۳۰ ± ۰/۱۱a	۹/۱۲ ± ۱/۱۱b	۷/۴۹ ± ۰/۹۴a	۲%

همانطور که در جدول شماره چهار مشاهده می شود بر آزمون آنالیز آماری یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح  $\alpha = 0/05$  میانگین لگاریتم تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه های حاوی ۱/۵ و ۲ درصد مایه کشت لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در زمان ۴ ساعت بعد از گرمخانه گذاری به طور معنی داری بیشتر از مقدار آن در نمونه های حاوی ۰/۵ و یک درصد مایه کشت می باشد ( $P < 0/05$ ).

جدول شماره ۵ - میانگین اسیدیته نمونه های شیر کنترل و حاوی فروکتوز در زمان های مختلف گرمخانه گذاری بر حسب درجه دورنیک

**a و b :** تفاوت بین میانگین هایی که دارای حروف مشترک نیستند معنی دار می باشد.

زمان گرمخانه گذاری					Prebiotic
۸	۶	۴	۲	صفر	
۳۰/۱۰ ± ۱/۹۹ b	۲۵/۷۰ ± ۰/۹۱ b	۲۳/۷۵ ± ۰/۹۷b	۲۱/۳۰ ± ۰/۷۱ b	۲۰/۲۰ ± ۰/۹۴ a	فروکتوز
۲۳/۹۵ ± ۰/۵۹ a	۲۲/۲۵ ± ۰/۴۲ a	۲۱/۷۵ ± ۰/۵۹a	۲۰/۴۰ ± ۰/۵ a	۱۹/۸۰ ± ۰/۷۸a	کنترل

همانطور که در جدول شماره چهار مشاهده می شود بر آزمون آنالیز آماری یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح  $\alpha = 0/05$  میانگین اسیدیته در نمونه های حاوی فروکتوز در زمانهای ۲، ۴، ۶ و ۸ ساعت بعد از گرمخانه گذاری بطور معنی داری بیشتر از مقدار آن در نمونه های کنترل بدست آمده است ( $P < 0/05$ ).

جدول شماره ۶ - میانگین لگاریتم تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس CFU/ml در نمونه های شاهد و حاوی فروکتوز در زمانهای مختلف گرمخانه گذاری..

a و b : تفاوت بین میانگین هایی که دارای حروف مشترک نیستند معنی دار می باشد.

زمان گرمخانه گذاری			Prebiotic
۸	۴	صفر	
۹/۶۷ ± ۰/۷۰ a	۸/۴۱ ± ۰/۵۷ a	۶/۹۹ ± ۱/۲۳ a	فروکتوز
۷/۹۱ ± ۰/۸۰ a	۷/۷۰ ± ۰/۶۰ a	۶/۶۰ ± ۰/۹۳ a	کنترل

همانطور که در جدول شماره چهار مشاهده می شود براساس آزمون انالیز آماری یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح  $\alpha=0/05$  میانگین لگاریتم تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 در نمونه های حاوی فروکتوز در ۴ و ۸ ساعت بعد از گرمخانه گذاری بطور معنی داری بیشتر از تعداد آن در نمونه های کنترل بدست آمده است ( $P<0/05$ ).

(۲۰۰۵) در یک مطالعه که بر روی تعدادی از سویه های پروبیوتیکی از جمله لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ۱۷۴۸ و رامنوسوس GG داشت نشان داد که در بین دماهای ۲۰، ۳۰، ۳۷ و ۴۵ درجه سانتی گراد مورد مطالعه بهترین دما برای رشد سویه ها ۳۷ درجه سانتی گراد است. نتایج حاصل از مطالعه بهترین دوز میکروبی برای رشد و متابولیسم لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 نشان داد که هر چه میزان دوز پروبیوتیکی در گام اول بیشتر باشد به زمان گرمخانه گذاری کمتری نیاز است در نتیجه فرآورده زودتر به pH مورد نظر که برای تولید فرآورده پروبیوتیکی نیاز است دست پیدا می کند، ولی لازم به ذکر است که استفاده از دوز بالا باید هم توجه اقتصادی لازم داشته باشد و هم اینکه آیا این افزایش دوز و کاهش زمان گرمخانه گذاری تاثیری بر روی خواص ارگانولپتیکی محصولات دارد یا ندارد. طبق نتایج حاصل از این تحقیق نشان داده شد که در مدت زمان ۴ ساعت بعد از گرمخانه گذاری تعداد باکتریها در نمونه های حاوی ۱/۵ و ۲ درصد به طور معنی داری بیشتر از نمونه حاوی نیم درصد مایه کشت اولیه بدست آمد در صورتیکه این تفاوت در زمان ۸ ساعت بعد از گرمخانه گذاری معنی دار نبود (جدول ۳ و ۴- نمودار ۱). این نشان داد که مقدار دوز اولیه مایه کشت اولیه در مراحل اولیه گرمخانه گذاری می تواند روی تعداد باکتریها و اسیدیته نمونه های کشت داده شده تاثیر بگذارد ولی در دراز مدت این اثر رفته رفته

## بحث

از عوامل برون گرا بر میزان رشد و متابولیسم و تکثیر هر باکتری تعیین محدوده دمای مطلوب و نیز مناسب ترین دما جهت رشد می باشد که این مسئله به ویژه در تهیه محصولات پروبیوتیکی و رشد همزمان باکتریها از اهمیت بالایی برخوردار است. طبق تعریف در فرآورده های پروبیوتیکی باید حداقل  $10^6$  CFU/ml باکتری وجود داشته باشد تا این فرآورده های پروبیوتیکی بتواند تاثیرات مفیدی را در روی مصرف کننده داشته باشد (۱۰، ۱۱، ۱۳ و ۱۹). نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که متابولیسم و سرعت رشد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 در دماهای ۴۱ و ۴۴ درجه سانتی گراد به طور معنی دار بیشتر از دماهای ۳۵ و ۳۸ درجه سانتی گراد می باشد ( $P<0/05$ ). (جدول ۲ و نمودار ۲)

Guler و همکاران (۲۰۰۷) در بین دماهای مختلف مورد آزمون، ۳۷ درجه سانتی گراد را به عنوان بهترین دما برای رشد و متابولیسم تعدادی از سویه های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس برای تولید ماست پروبیوتیکی گزارش داد.

Tamime & robinson (۲۰۰۲) در یک تحقیق نشان دادند که گرمخانه گذاری در دمای بین ۴۰-۳۷ درجه سانتی گراد بهترین محدوده دمایی برای افزایش رشد سویه های پروبیوتیک می باشد. Qstlie و همکاران

## منابع

- 1- Adnan Tamime (2005): Probiotic Dairy Products, First edition published 2005 by Black well publishing press, pp 121- 135.
  - 2- Dave, R. I, & Shah, N. P. (1997): Viability of yogurt and probiotic bacteria in yogurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7, 31-41.
  - 3- Farkhondeh, A. (1992): Methods laboratory milk and dairy products, Third edition. Tehran university publication press, pp 162 – 163.
  - 4- Fuller, Roy (1993). Probiotic and practical their diet livestock and poultry. Translate by Nadir Afshar Masandaran , Abolfasle Rajab , Second edition , Tehran , Norbakhsh publication press, 2002, pp 9 -41.
  - 5- Gims,M.G. (1998): Modern food microbiology, translate by mortasavy, Ali .Motamedsadegan, Ali.Ssami, Mehran. Naabsadegan, First edition. Mashahad university publication press.pp484-489.
  - 6- Hild M. Ostlie, Anneke Treimo( 2005): Effect of temperature on growth and metabolism of probiotic bacteria in milk. *International Dairy Journal*, 5:989 – 997.
  - 7- Hild M. Ostlie, Merete H.Heland (2003): Growth and metabolism of select strains of probiotic bacteria in milk: *International Journal Food Microbiology*, 87: 17 – 72.
  - 8- J. Huebner, .L. Wehling (2007): Function activity of commercial preiotics. *International Dairy Journal*, 17: 770 –775.
  - 9- karim. Guity (2003). Microbial Examination of Food, Fourth edition. Tehran university publication press, pp 41– 401.
  - 10- Kurmann, J. A.(1998): Starters for fermented milks, Bulletin of *International Dairy Fedration*, 277: 41-55.
  - 11- Lourens – Hattingh , A.,& Viljoen , B, C, (2001). Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, 11, 1-17.
  - 12- Merete H.Heland ,Trude Wicklund (2004) : Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk and water –
- کم رنگ تر می گردد که این می تواند به دلیل تولید متابولیت‌های مهاری از جمله انواع اسیدهای آلی و کاهش شدید pH باشد که این روند باعث کاهش میزان رشد صعودی سویه پروبیوتیکی می گردد. Heland و همکاران در سال ( ۲۰۰۴ ) نشان دادند که در فراورده های پروبیوتیکی اگر pH به حدود ۴/۱ تا ۴/۴ برسد در این حالت میزان رشد سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ۱۷۴۸ و بیفیدوباکتریوم بیفیدیوم به علت تولید متابولیت‌های اسیدی و کاهش شدید pH به طور معنی داری کاهش می یابد. نتایج حاصل از ارزیابی تاثیر فروکتوز بر سرعت رشد و متابولیسم لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 نشان داد که با افزودن ۰/۷۵ درصد فروکتوز به نمونه های شیر استریلیزه حاوی سویه پروبیوتیکی تغییر معنی داری بر میزان افزایش اسیدیته ، بار کلی میکروبی و کاهش pH نسبت به نمونه کنترل مشاهده شد (جداول شماره ۵ و ۶). Treimo (۲۰۰۵) در یک تحقیق نشان داد که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 و رامنوسوس در شیری که با تریپتون و یا سایر پری بیوتیکها غنی سازی نشده اند خوب رشد نمی کنند. Lourens و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که فروکتوز و ترکیبات پروتئینی باعث تحریک رشد لاکتوباسیلوسها می‌گردد. Heland و همکاران (۲۰۰۴) و Qstlie در (۲۰۰۳) برای تحریک رشد و افزایش متابولیسم سویه های مختلف پروبیوتیکی از فروکتوز استفاده کردند. Gibson و همکاران (۱۹۹۵) نشان دادند که فروکتواولیگوساکاریدها باعث افزایش میزان رشد سویه‌های بیفیدوباکتریوم شد و در روده به واسطه تخمیر و تولید اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه و متابولیت‌های دیگر مانع از رشد میکروبیهای پاتوژن مثل کلستریدیوم و ای کولای می‌گردد.

- based cereal puddings. *International Dairy Journal*, 14: 957 – 965.
- 13- Maleksadeh, F. (2003): Microbiology, Second edition, Tehran university publication press. pp 507 -508.
- 14- M.B.Akin, Z. kirmaci (2007): 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*, 104: 93 – 99.
- 15- Mirzaii, H, karim, G and Sody, M. (2006): Study on the effect of dextrose, valine, glycine, thiamine and different temperatures on growth rate of *Lactobacillus casei* in mil . Magazine Food Science iran , number 2, 51 -59.
- 16- Mirzaii, H. (2005): Probiotic and introduction on there use on people health, First edition, Tabriz azad university publication press, pp 1 – 2.
- 17- Mutlu B. Guler – Akin (2007): Effect of cysteine and different incubation temperature on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio – yogurt made from goat milk. *Food Chemistry* 100, 788-793.
- 18- Rasavilar. Vadoor (2003): Harmful microbial in food and epidemiology food poison, Second edition, Tehran university publication press. pp 84- 95.
- 19- Saarela, M., Mogensen , G., Fonden, R., Matto , j., Mattila-Sandholm, T., (2000): Probiotic bacteria: safty , functional and technological properties .j. *Biotechnol.* 84, 197 – 215.
- 20- Vinderola, C, G., Bailo, N., Reinheimer, J. A., (2000): Survival of probiotic microflora in Argentinean Yoghurts during refrigerated Storage. *Food Research International*, 33, 97 – 102.