

ترخینه منبع باکتری‌های اسید لاکتیک پروبیوتیک

مریم تاج‌آبادی ابراهیمی^۱، هدی بهرامی^۱، زهرا زیاری^۲

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، استادیار گروه میکروبیولوژی، تهران- ایران. m.tajabadi@iauctb.ac.ir
۲- عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، تهران- ایران.

تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۷ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۰/۹

چکیده

ترخینه ماده اولیه در تهیه سوپ سنتی در نواحی کوهستانی غرب ایران است. این ماده متشکل از بلغور گندم خیسانده در دوغ گوسفندی است. بومیان منطقه از ترخینه به دلیل خواص درمانی استفاده می‌کنند. با توجه به مراحل عمل آوری ترخینه به نظر می‌رسد منبع مناسبی از باکتری‌های اسید لاکتیک مفید با خواص پروبیوتیکی باشد. هدف از این تحقیق جدا کردن باکتری‌های اسید لاکتیک از ترخینه و بررسی امکان کلونیزاسیون آن‌ها در سیستم گوارشی و توانایی کاهش کلسترول محیط کشت است. نمونه‌های ترخینه در محیط MRS broth کشت و کلنی باکتری‌های اسید لاکتیک با روش کشت خطی ایزوله شدند. جهت بررسی امکان کلونیزاسیون ایزوله‌ها در سیستم گوارشی، مقاومت در شرایط اسیدی $\text{pH}=2/5$ ، املاح صفاوی ۳٪، جذب و کاهش کلسترول محیط کشت حاوی ۳۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر کلسترول با روش o-phthalaldehyd تعیین شد. ۲۶ سویه لاکتوباسیلوس از ترخینه تازه (T۱-T۶) جدا و سویه‌های T۱، T۵، T۴ توانایی بقاء در شرایط اسیدی و رشد در حضور املاح صفاوی را داشتند. تنها سویه T۴ توانایی جذب بالای ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر کلسترول محیط کشت را نشان داد. اگر چه سویه‌های T۷، T۲۳ به املاح صفاوی بوده و از توانایی جذب کلسترول محیط کشت به ترتیب ۲۹۷ و ۲۱۷ میکروگرم بر میلی لیتر کلسترول برخوردار می‌باشند. مقاومت این دو ایزوله در شرایط اسیدی کمتر از حد آستانه است. نتایج نشان می‌دهد ترخینه منبع غنی از باکتری‌های اسید لاکتیک مفید می‌باشد. این باکتری‌ها بنا بر ویژگی‌های رشدی و مقاومت در شرایط گوناگون می‌توانند در صنایع غذایی مختلف استفاده شوند. کلید واژه: ترخینه، باکتری‌های اسید لاکتیک، پروبیوتیک، کلونیزاسیون، کلسترول.

مقدمه

در انسان از خانواده باکتری‌های اسید لاکتیک می‌باشند اما این امر نباید منجر به این اشتباه گردد که هر باکتری از این گروه یک پروبیوتیک است، چرا که توانایی بقاء و کلونیزاسیون در سیستم گوارشی شرط لازم در انتخاب باکتری پروبیوتیک می‌باشد. اثرات مفید و خصوصیات بیوشیمیایی باکتری‌های اسید لاکتیک در حد سویه متفاوت بوده و حتی در سویه‌های یک گونه خصوصیات عملکردی متفاوت دیده می‌شود (۲، ۹). سیستم تغذیه

بر اساس تعریف سازمان جهانی غذا و کشاورزی (FAO) و سازمان بهداشت جهانی (WHO) در سال ۲۰۰۱ «پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که تجویز مقادیر کافی آن موجب بروز اثرات مفید بر سلامت میزبان خواهد بود». بر اساس این تعریف سه عامل زنده بودن میکروارگانیسم، تجویز به مقدار کافی و ایجاد حداقل یک اثر مفید سه شرط لازم برای انتخاب میکروب پروبیوتیک است (۱، ۱۲). اگرچه بیشتر پروبیوتیک‌های مورد استفاده

سوسپانسیون یکنواخت، تحت شرایط استریل، ترکیب فوق به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه استومکر با سرعت ۲۳۰ rpm مخلوط و سپس به یک لیتر محیط MRS broth منتقل شدند. مشکلی برای انحلال نمونه‌های دوغ در MRS broth وجود نداشت لذا ۲۰ میلی لیتر از هر نمونه دوغ به یک لیتر محیط MRS broth اضافه گردید (۱۴). نمونه‌های انتقال یافته به محیط مغذی به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور CO_۲ دار (۱۰٪ دی‌اکسید کربن) و دمای ۳۷ سانتی گراد گرم‌خانه گذاری شدند.

جداسازی و خالص سازی پرگنه‌ها

برای جداسازی، نمونه‌ها به صورت سری رقیق و بر روی MRS آگار کشت شدند. کلنی‌های رشد کرده روی محیط پس از ۳ تا ۵ بار کشت خطی خالص گردید. نمونه‌های خالص شده از نظر واکنش گرم، تولید گاز و تست کاتالاز مورد بررسی قرار گرفتند. در طی مراحل خالص سازی جهت کاهش مخمرهای موجود در محیط از ۵۰ ml / U نیستاتین استفاده شد (۴). پس از اتمام مدت زمان گرماگذاری، کلنی باکتری‌های جدا شده به لحاظ خصوصیات اولیه کلنی همانند قطر، رنگ، حاشیه و سطح با یکدیگر مقایسه شدند (۱۱).

بررسی میزان تحمل به اسید در سویه‌های ایزوله شده از کشت ۲۴ ساعته هر یک از سویه‌ها بعد از تهیه سریال رقت و تعیین جمعیت ۱ میلی لیتر به ۲۰ میلی لیتر بافر نمک فسفات اسیدی (pH=۲/۵) تلقیح و بعد از ۲ ساعت گرمخانه گذاری، از هر نمونه سریال رقت تهیه گردید و برای بار دوم تعیین جمعیت صورت گرفت. نتایج جهت تعیین تاثیر محیط اسیدی در کاهش جمعیت سویه‌های جداسازی شده مقایسه شدند (۱۴).

بررسی میزان تحمل به نمک‌های صفراوی در سویه‌های ایزوله شده

از کشت ۲۴ ساعته هر یک از سویه‌ها به میزان ۱٪ به محیط MRS broth حاوی ۳٪ نمک‌های صفراوی (Oxgall) تلقیح شد. هم چنین تلقیح مشابهی به محیط

سنتی ایرانی که ریشه در روستاها دارد، امروزه سرمشق بسیاری از تولیدکنندگان مواد غذایی و محققان غذای بیو و سالم جهان است. اگرچه عواملی متعددی در برتری سلامت روستاییان نسبت به شهرنشینان دخالت دارد. اما بررسی سیستم تغذیه‌ای روستاییان که بدون شک یکی از علل برتری سلامت این افراد بوده که می‌توان راه کاری مناسب جهت تصحیح و ارتقاء تغذیه شهری و بهبود سطح سلامت جامعه شهری باشد. ترخینه ماده اولیه سوپ سنتی در بخش‌های کوهستانی غرب کشور، متشکل از بلغور گندم خیس شده در دوغ گوسفندی حاوی ادویه‌های مخصوص از قبیل فلفل، رازیانه، زیره، زنجبیل، پونه و سایر گیاهان بومی است. طبخ و مصرف این سوپ بین دام داران و کوچ نشینان قدمتی تاریخی داشته و شهرت اعتبارش به دلیل خواص درمانی مشاهده شده ی آن می‌باشد. ترخینه در فصل سرما برای درمان زکام و کاهش علائم آنفولانزا طبخ و مصرف می‌گردد. هدف ما از این تحقیق جدا کردن باکتری‌های اسید لاکتیک از ترخینه و بررسی امکان زنده‌مانی و کلونیزاسیون آن‌ها در سیستم گوارشی است. لذا مقاومت ایزوله‌ها در شرایط اسیدی، املاح صفراوی و توانایی جذب و کاهش دسترسی کلستروول در محیط کشت بررسی شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری

برای تهیه نمونه‌های ترخینه به منطقه ليقوان در استان آذربایجان شرقی مراجعه و از کارگاه‌های سنتی این منطقه نمونه‌ها تهیه و طی ۲۴ ساعت به آزمایشگاه میکروبیولوژی منتقل و در تمام مدت انتقال در دمای ۴ درجه سانتی گراد محافظت شدند.

جداسازی و خالص سازی باکتری‌های اسید لاکتیک

غنی سازی نمونه‌ها

نمونه‌های ترخینه بافت سخت داشته و به راحتی با محیط کشت مخلوط نمی‌شوند. از این رو ابتدا ۲۰ گرم از هر نمونه در ۲۰ میلی لیتر سیرتات سدیم ۲٪ حل و به منظور ایجاد

لایه هگزان به لوله شیشه‌ای منتقل و زیر گاز نیتروژن تبخیر شد. باقی مانده به سرعت با معرف o-phthalaldehyde مخلوط سپس نیم میلی لیتر اسید سولفوریک اضافه گردید. بعد از ۱۰ دقیقه جذب نوری در طول موج ۵۵۰ نانومتر بررسی شد (۷۸). بین کستروال باقی مانده در محیط کشت و افزایش کدورت محیط ارتباط خطی وجود دارد. از این رو برای تعیین میزان کستروال باقی مانده در محیط کشت از فرمول زیر استفاده گردید:

$$M_1 = OD_S \cdot M / OD_C$$

OD_S = جذب نوری نمونه

OD_C = جذب نوری کنترل (استاندارد)

M_1 = مقدار کستروال اضافه شده به محیط کشت

M_2 = مقدار کستروال باقی مانده در محیط کشت

و به منظور تعیین میزان کستروال جذب شده توسط باکتری از فرمول زیر استفاده گردید:

$$X = M_1 - M_2$$

نتایج

کلنی باکتری‌های اسید لاکتیک بعد از ۴-۶ بار کشت خطی روی محیط MRS agar جداسازی و ایزوله‌های جدا شده از ترخینه از T1 تا T26 کدگذاری شدند. در طی مراحل خالص سازی جهت کاهش مخمرهای موجود در محیط از U/ 50 ml نیستاتین استفاده شد (شکل ۱). در مجموع ۲۶ ایزوله خالص و زیر ۲۵٪ گلیسرول در محیط

MRS broth فاقد نمک‌های صفراوی به عنوان شاهد صورت گرفت. بعد از تلقیح تا ۸ ساعت هر ۳۰ دقیقه و بعد از ۲۴ ساعت، میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین شد. تفاوت زمانی بر اساس دقیقه بین افزایش کدورت ۰/۳ واحدی در دو محیط مذکور به عنوان زمان تاخیر رشد تعیین شد (۳).

بررسی میزان جذب کستروال

جهت بررسی میزان جذب کستروال از روش o-phthalaldehyde استفاده شد. به این منظور محیط کشت MRS مایع به صورت جداگانه آماده و استریل گردید. کستروال قابل حل در آب به صورت فیلتر استریل و با غلظت ۳۰۰ میلی لیتر بر میکرو گرم به محیط‌های استریل اضافه و پس از تلقیح سویه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و در انکوباتور CO₂ دار به مدت ۲۰ ساعت گرمخانه گذاری و به عنوان استاندارد یک محیط حاوی کستروال اما بدون باکتری و یک محیط فاقد کستروال در نظر گرفته شد. پس از این دوره، سلول‌ها به کمک سانتریفوژ از محیط کشت جدا شدند. یک میلی لیتر از مایع روئی جدا و با یک میلی لیتر KOH ۳۳٪ و ۲ میلی لیتر اتانول مخلوط و به مدت یک دقیقه ورتکس و سپس در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه نگه‌داری شدند. پس از خنک شدن ۲ میلی لیتر آب مقطر و ۳ میلی لیتر هگزان به محیط‌ها اضافه و ۱ دقیقه ورتکس و سپس ۱ میلی لیتر از



شکل ۱- تاثیر نیستاتین در کاهش تداخل مخمرها

می‌باشند. که در مقایسه با سویه‌های تجاری از میزان جذب نسبتاً بالاتری برخوردار هستند (نمودار ۱). بررسی مقاومت و زنده مانی در شرایط اسیدی و توانایی رشد در حضور املاح صفرای ایزوله‌ها نشان می‌دهد ایزوله‌های T۴، T۵، T۱۱ نه تنها با زمان تاخیر رشد کمتر از ۶۰ دقیقه جزء گروه مقاوم به املاح صفرای هستند بلکه بعد از ۲ ساعت گرمخانه گذاری در شرایط اسیدی با جمعیتی بالای ۱۰^۷ مقاوم ترین ایزوله‌ها به شرایط اسیدی نیز می‌باشند. از این رو به نظر می‌رسد این ایزوله‌ها تحمل شرایط فیزیکی شیمیایی سیستم گوارشی را داشته و پس از مصرف در سیستم گوارشی زنده بمانند. اگرچه بین این سه ایزوله تنها سویه T۴ توانایی جذب بالای ۲۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر کلسترول محیط کشت را دارد. از سوی دیگر ایزوله‌های T۷، T۲۳ با زمان تاخیر رشد کمتر از ۶۰ دقیقه جزء گروه مقاوم به املاح صفرای بوده و از توانایی بالایی در جذب کلسترول محیط کشت به ترتیب ۲۹۷ و ۲۱۷ میکرو گرم بر میلی لیتر کلسترول برخوردار می‌باشند. اگر چه مقاومت این دو ایزوله در شرایط اسیدی کمتر از حد آستانه کمتر و به ترتیب ۱/۷×۱۰^۶ و ۱/۲×۱۰^۶ است.

MRS broth و دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. بررسی واکنش گرم ایزوله‌ها نشان داد که تمامی ایزوله‌ها گرم مثبت و ساختار میله‌ای داشتند. پس از آزمون کاتالاز ایزوله‌های کاتالاز مثبت جنس لاکتوباسیل شناسایی و میزان زنده مانی آن‌ها در pH=۲/۵ سنجیده شد (جدول ۱).

بررسی مقاومت به اسید روی ۲۶ ایزوله لاکتوباسیل نشان داد بیشترین مقاومت در ایزوله T۴ و کمترین مقاومت در ایزوله T۲۱ دیده می‌شود. ۱۱ ایزوله T۲، T۳، T۴، T۵، T۹، T۱۱، T۱۳، T۱۴، T۱۷، T۱۸، T۱۹، T۲۶ بعد از ۲ ساعت گرمخانه گذاری در شرایط اسیدی با جمعیتی بالای ۱۰^۷ مقاوم ترین ایزوله‌ها به شرایط اسیدی گزارش شدند. در این مطالعه بررسی جذب کلسترول با روش o-phthalaldehyde انجام گرفت. توانایی جذب کلسترول توسط این سویه‌ها بین ۲۹۷-۱۱۴ میکروگرم بر میلی لیتر کلسترول یا (۳۸٪-۹۹٪) متغیر بود. نتایج نشان می‌دهد که سویه‌های T۴، T۷، T۸، T۱۰، T۱۳، T۱۶، T۱۷، T۱۹، T۲۰، T۲۳، T۲۴، T۲۵ با جذب کلسترول بالا ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از بهترین سویه‌های پروبیوتیک جهت کاهش جذب کلسترول در این مطالعه

جدول ۱- نتایج آزمون‌های، تولید گاز، pH، تحمل اسید و نمک‌های صفراوی ایزوله‌های جدا شده از ترخینه

ایزوله‌ها	pH	گاز	مقاومت به اسید (cfu mL ⁻¹) ^b	رشد روزانه ۰/۳/۰ (min) bile	جذب کلسترول (μg L ⁻¹)
T ₁	۴/۹۵	-	۱/۱×۱۰ ^۶ ±۰/۳۱	۱۲۰±۲/۳۱	۱۶۴±۵/۰۸
T ₂	۵/۳۶	-	۱/۸×۱۰ ^۷ ±۰/۰۸	۱۰۵±۱/۲۲	۱۷۲±۴/۴۱
T ₃	۵/۲۸	+	۱/۳×۱۰ ^۷ ±۰/۴۴	۸۵±۱/۳۶	۱۹۹±۳/۰۶
T ₄	۵/۲۹	-	۴/۱×۱۰ ^۸ ±۰/۱۲	۴۵±۲/۲۱	۲۷۷±۱/۸۱
T ₅	۵/۳۳	-	۱/۶×۱۰ ^۷ ±۰/۳۳	۶۰±۲/۰۲	۱۷۹±۵/۰۶
T ₆	۴/۹۴	-	۲/۱×۱۰ ^۶ ±۰/۱۵	۱۵۰±۲/۵۵	۱۲۲±۱/۰۶
T ₇	۵/۳۴	-	۱/۲×۱۰ ^۶ ±۰/۱۸	۵۵±۴/۲۱	۲۹۷±۴/۵۵
T ₈	۵/۲۱	-	۱/۲×۱۰ ^۶ ±۰/۲۱	۱۰۵±۳/۱۸	۲۴۷±۲/۱۵
T ₉	۴/۸۹	+	۱/۷×۱۰ ^۷ ±۰/۱۱	۸۵±۱/۴۴	۱۸۸±۳/۳۳
T ₁₀	۵/۳۶	-	۳/۴×۱۰ ^۶ ±۰/۰۷	۷۵±۲/۲۵	۲۱۷±۴/۱۶
T ₁₁	۵/۲۸	-	۲/۵×۱۰ ^۷ ±۰/۲۶	۶۰±۳/۴	ND
T ₁₂	۴/۱۳	-	۳/۶×۱۰ ^۶ ±۰/۰۹	>۱۵۰	۱۸۴±۱/۸۵
T ₁₃	۵/۳۹	-	۴/۱×۱۰ ^۷ ±۰/۳۸	۱۲۰±۳/۳۵	۲۰۲±۴/۸۱
T ₁₄	۴/۷۱	-	۱/۵×۱۰ ^۷ ±۰/۲۱	۱۲۰±۲/۵۵	۱۱۴±۲/۰۳
T ₁₅	۵/۳۳	-	۳/۱×۱۰ ^۶ ±۰/۵۸	>۱۵۰	۱۷۳±۲/۲۷
T ₁₆	۵/۲۵	+	۲/۵×۱۰ ^۶ ±۰/۱۳	>۱۵۰	۲۱۳±۵/۵۱
T ₁₇	۵/۲۸	-	۱/۳×۱۰ ^۷ ±۰/۱۲	۱۰۵±۴/۳۳	۲۱۹±۱/۱۲
T ₁₈	۴/۱۲	-	۱/۴×۱۰ ^۶ ±۰/۵۱	>۱۵۰	۱۹۹±۲/۸۴
T ₁₉	۵/۳۱	+	۱/۹×۱۰ ^۷ ±۰/۲۲	۱۲۰±۵/۲۲	۲۲۵±۴/۲۶
T ₂₀	۵/۲۳	+	۱/۱×۱۰ ^۶ ±۰/۱۴	>۱۵۰	۲۷۱±۳/۵۴
T ₂₁	۵/۳۵	-	۱/۲×۱۰ ^۶ ±۰/۲۴	۱۲۰±۳/۵۲	۱۴۳±۲/۲۵

T22	۴/۹۴	-	$1/4 \times 10^6 \pm 0/13$	$135 \pm 1/08$	ND
T23	۵/۳۱	-	$1/7 \times 10^6 \pm 0/25$	$60 \pm 4/05$	$217 \pm 2/18$
T24	۵/۱۸	+	$1/5 \times 10^6 \pm 0/33$	$75 \pm 3/03$	$294 \pm 3/06$
T25	۴/۱۷	-	$2/4 \times 10^6 \pm 0/41$	$90 \pm 4/18$	$258 \pm 1/56$
T26	۵/۲۲	-	$2/1 \times 10^7 \pm 0/21$	$105 \pm 1/52$	$144 \pm 4/91$

نتایج بر اساس SD±SEM گزارش و تمام آزمون‌ها سه بار تکرار شده است.

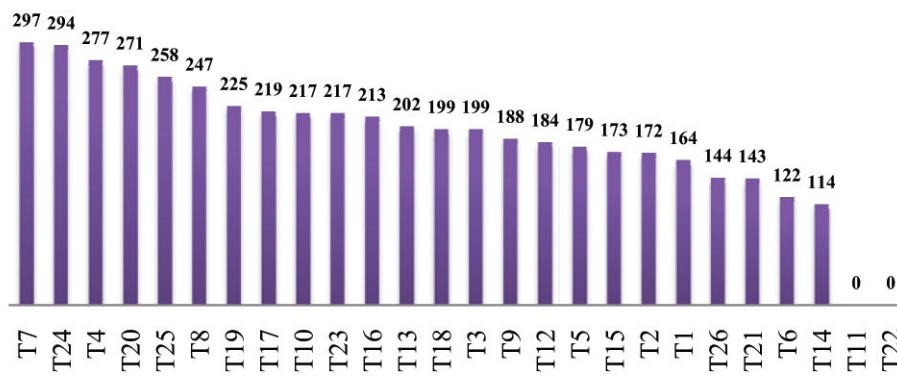
bulgaricus, *Lb. casei*, *Lb. gasseri*, *Lb. amylovorus* توسط دانشمندان مختلف به اثبات رسیده است (۱۵، ۶، ۵). در مطالعه‌ای که توسط Malgorzata Ziaron و همکارانش (۲۰۰۷) صورت گرفت توانایی جذب کلسترول آغازگرهای لبنی تجاری مانند *Streptococcus salivarius* و *Lactobacillus delbrueckii* بررسی شد، نتایج نشان داد، جذب کلسترول هیچ کدام از این سویه‌ها از ۲۷٪ تجاوز نکرد. در حالی که افزودن سویه‌های پروبیوتیک *Lactobacillus acidophilus*، *Bifidobacterium* موجب افزایش جذب کلسترول تا ۳۸٪ گردید (۱۶). Preira و همکاران (۲۰۰۲) در مقایسه‌ای که روی دامنه جذب کلسترول

بحث و نتیجه‌گیری

تفاوت زمانی بر اساس دقیقه بین افزایش کدورت ۰/۳ واحدی در دو محیط حاوی املاح صفراوی و محیط کنترل به عنوان زمان تاخیر رشد (D) تعیین شد (۱۴). ایزوله‌های مورد بررسی بر اساس زمان تاخیر رشد در ۵ گروه بسیار مقاوم (D=۰-۳۰)، مقاوم (D=۳۰-۶۰)، متحمل (D=۶۰-۹۰)، حساس (D=۹۰-۱۵۰) و بسیار حساس (D≥۱۵۰) قرار گرفتند. ایزوله‌های T23، T11، TV، T5، T4، T23 ایزوله‌های مقاوم و T3، T9، T10، T24، T25 در دسته ایزوله‌های متحمل قرار گرفتند. توانایی جذب کلسترول محیط کشت توسط گونه‌های مختلف باکتری‌های اسید لاکتیک مانند *Lb. acidophilus*، *Lb. delbrueckii* subsp.

Cholesterol assimilation (µg.L⁻¹)

■ Cholesterol assimilation (µg.L⁻¹)



نمودار ۱-مقایسه و ارزیابی کاهش کلسترول محیط کشت در لاکتوباسیل‌های جدا شده از ترخینه

فسفات اسیدی (pH=۲/۵) جهت تعیین مقاومت ایزوله‌ها در برابر شرایط اسیدی معده استفاده شد. لذا می‌توان با استفاده از حامل‌های لبنی و یا تکنیک انکپسوله مقاومت اسیدی ایزوله‌ها را افزایش داد. در این بررسی ایزوله T۴ به علت مقاومت بالا در برابر شرایط اسیدی و املاح صفراوی و توانایی کاهش کلسترول بالای ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر یک پروبیوتیک بومی ایران معرفی می‌شود که نسبت به سویه‌های تجاری از توانایی بالاتری برخوردار است. اگرچه بررسی‌های تکمیلی و مطالعات *in vivo* جهت اثبات این مدعا الزامی است. از سوی دیگر از آن جا که توانایی کاهش کسترول یکی از فاکتورهایی کلیدی در عملکرد باکتری‌های پروبیوتیک است. به نظر می‌رسد افزودن ایزوله‌هایی مانند T۷، T۲۳ به محصولات لبنی و هم چنین کاربرد تکنیک‌های انکپسولاسیون سبب افزایش مقاومت به اسیدایزوله‌های مذکور شود. بررسی‌های تکمیلی روی سویه‌های اسید لاکتیک مقاوم به شرایط اسیدی و املاح صفراوی جدا شده از محصولات لبنی تخمیری سنتی ایران می‌تواند منجر به انتخاب سویه‌های پروبیوتیک مناسب جهت کاربرد توأم با آغازگرهای تجاری به منظور افزایش سطح سلامت محصولات لبنی باشند.

منابع

1. Araya, M., Morelli, L., Reid, G., Sanders, M.E., Stanton, C., Pineiro, M. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, London, 30; 1-11.
2. Collado, M.C., Meriluoto, J., Salminen, S. (2007). In vitro analysis of probiotic strain combinations to inhibit pathogen adhesion to human intestinal mucus. Food Research

باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از روده انسان و سویه‌های پروبیوتیک تجاری داشتند، نشان دادند، میزان جذب در بین سویه‌های جدا شده از روده انسان مورد مطالعه بین ۴۷٪-۴٪ و در بین سویه‌های پروبیوتیک تجاری بین ۱۴٪-۲٪ متغیر است. برخلاف انتظار بیشترین جذب کلسترول در سویه‌های غیر تجاری دیده می‌شود (۱۳). مطالعات نشان می‌دهد افزایش سطح کلسترول سرمی با حمله‌های قلبی ارتباط مستقیم دارد. با افزایش هر میکرومول کلسترول (بالای حد طبیعی) احتمال بیماری‌های قلبی ۳۵٪ و احتمال مرگ ناشی از حملات قلبی ۴۵٪ افزایش می‌یابد. کاهش مقدار جزئی کلسترول سرمی ۱٪ می‌تواند منجر به کاهش ۲-۳٪ حملات قلبی شود (۱۰). Ulrich Schillinger و همکاران (۲۰۰۵) اثر شیر UHT در مقاومت اسیدی سه سویه لاکتوباسیلوس (*L. paracasei*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*) را بررسی و نشان دادند شیر باعث افزایش مقاومت لاکتوباسیل‌ها در برابر شرایط اسیدی می‌شود. هم چنین در بررسی‌های مشابه از pH=۲/۵ در محیط‌های Skim milk و MRS broth استفاده شده است که باعث حفاظت سلول در برابر شرایط اسیدی می‌شود. در این بررسی به منظور افزایش دقت و در نظر گرفتن معده خالی از بافر

International, 40(5); 629-636.

3. Erkkilä, S., Petäjä, E. (2000). Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use. Meat science, 55(3); 297-300.

4. Gardiner, G., Casey, P., Casey, G., Ross, P. (2004). Relative ability of orally administered lactobacillus murinus to predominate and persist in the porcine gastrointestinal tract. Applied and Environmental Microbiol-

ogy, 70; 1895-1906.

5. Grill, J.P., Cayuela, C., Antoine, J.M. (2000). Effects of *Lactobacillus amylovorus* and *Bifidobacterium breve* on cholesterol, 31; 154-156.

6. Hosono, A., Otani, H., Yasui, H. (2002). Impact of fermented milk on human health: Cholesterol-lowering and immunomodulatory properties of fermented milk. *Animal Sci.*, 73; 241-256.

7. Liong, M.T. (2005). Acid and bile tolerance and cholesterol removal ability of lactobacilli strains. *J. Dairy Sci*, 88; 55-6670.

8. Liong, M.T., Shah, N.P. (2005). Optimization of cholesterol removal by probiotics in the presence of prebiotics by using a response surface method. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(4); 1745-1753.

9. Maassen, C., Claassen, E. (2008). Strain-dependent effects of probiotic lactobacilli on EAE autoimmunity. *Vaccine*, 26(17); 2056-2057.

10. Manson, J. E., Tosteson, H., Ridker, P. M., Satterfield, S. (1992). The primary prevention of myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 326; 1406-1416.

11. Muyanja, C., Narvhus, J.A., Treimo, J., Langsrud, T. (2003). Isolation, characteri-

sation and identification of lactic acid bacteria from bushera: a Ugandan traditional fermented beverage. *International journal of food microbiology*, 80(3); 201-210.

12. Oelschlaeger, T.A. (2000). Mechanisms of probiotic actions-A review. *International Journal of Medical Microbiology*, 300(1); 57-62.

13. Pereira, D.I.A., Gibson, R. (2002). Cholesterol assimilation by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from the human gut. *Applied and environmental microbiology.*, 68; 4689-4693.

14. Saavedra, L., Taranto, M.P., Sesma, F., de Valdez, G.F. (2003). Homemade traditional cheeses for the isolation of probiotic *Enterococcus faecium* strains. *International journal of food microbiology*, 88(2-3); 241-245.

15. Walker, D.R. (1993). Relationship among bile tolerance, bile salt deconjugation, and assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Dairy Science*, 76; 956-961.

16. Ziarno, M., Sekul, E. (2007). Cholesterol assimilation by commercial yoghurt starter cultures. *Acta Sci. Pol., Technol.*, 6(1); 83-94.

