



بررسی خشک کردن cfu پودر حاوی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

*فاطمه یونسی^۱ احسان درونه

* کارشناس ارشد مهندسی شیمی گرایش بیوشیمیایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ماهشهر، ایران
** استادیار گروه شیمی-دانشگاه آزاد اسلامی واحد دزفول، ایران.

چکیده

این پژوهش باهدف بررسی خشک کردن cfu پودر حاوی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس انجام شده است؛ محتوی رطوبت نمونه پودر ۳۱/۷۴ بود که این میزان در دامنه مطلوب برای ثبات پودر در طی نگهداری می باشد. میزان رطوبت پودر اثر مهمی روی پایداری فیزیکیوشیمیایی پودر در طی نگهداری و توزیع دارد و پایداری اکسیداتیو آن بسته به میزان رطوبت تغییر می نماید. همچنین ویژگی های تکنولوژیک پودر نظیر حلالیت و قابلیت خیس شدن تحت تأثیر میزان رطوبت می باشد. نگهداری میکروارگانیسم ها به صورت خشک شده ارجح ترین روش برای ذخیره سازی طولانی مدت کشت های میکروبی بدون کاهش در زنده ماندن بوده است. این فرآیندها باعث می شوند باکتری های پروبیوتیک در معرض تنش های مختلف از قبیل حرارت، سرما، اکسیژن و فشار اسمزی قرار گیرند که باعث افت زنده ماندن در طول خشک کردن و زنده ماندن خواهد شد. نتایج این پژوهش نشان داد؛ میزان زنده ماندن باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در زمان های مختلف و درجه حرارت های مختلف، کاهش پیدا می کند. کلیدواژه: خشک کن، پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، زمان تماس

۱. مقدمه

پروبیوتیک ها، میکروارگانیسم های زنده ای هستند که اگر در مقادیر مناسب تجویز شوند آثار مفیدی بر سلامت میزبان خواهند داشت [1] غذاهای پروبیوتیک غذاهایی هستند که حاوی میکروارگانیسم های زنده بوده و با خوردن آن ها سلامت مصرف کنندگان از طریق بهبود تعادل میکروفلور روده افزایش می یابد. لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس شناخته شده ترین باکتری است که به عنوان پروبیوتیک استفاده می شود و تعدادی از محققان کاربرد موفقیت آمیز آن را در بستنی گزارش کردند. توانایی زنده ماندن لاکتوباسیلوس ها با کاهش PH در معده و برخورد بانمک های صفاوی در بدن مصرف کنندگان تحت تأثیر قرار می گیرد. در مقابل، پروبیوتیک های باسیلوس مثل باسیلوس کواگولانس که برای مصرف طولانی مدت انسان بی خطر شناخته شده است، قادر است که شرایط معده را تحمل کرده و کل باکتری های خورده شده بدون تغییر به روده کوچک برسد [2]. باکتری کش ها ترکیباتی پروتئین دار هستند که باکتری ها را از بین برده یا موجب مهار آن ها می گردند. ارگانیسم های گوناگونی این ترکیبات را تولید می کنند مانند لاکتوکوکوس، لاکتوباسیلوس، کارنوباکتریوم، انتروکوکوس و باسیلوس که قادر به تولید ترکیبات مهارکننده هستند. پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس یک گونه از هشت جنس اصلی لاکتوباسیلوس است و شاید شناخته شده ترین گونه در بین لاکتوباسیلوس ها باشد. [3] خشک کردن، از چالش های مهم در فرآوری مواد غذایی محسوب می شود و مفاهیم دامنه داری را در تحقیقات صنایع غذایی دربر می گیرد. مهم ترین هدف خشک کردن، جدا نمودن آب از ماده غذایی، افزایش مدت زمان ماندگاری و جلوگیری از فساد است. علاوه بر این، به هنگام خشک کردن، وزن و حجم ماده غذایی کاهش پیدا کرده و در نتیجه باعث کاهش هزینه های بسته بندی، حمل و نقل، انبارداری و پخش می گردد. در حین خشک کردن، یکسری تغییرات فیزیکی و شیمیایی در بعضی خواص طبیعی مواد غذایی مانند بافت، رنگ، عطر و طعم و ارزش تغذیه ای رخ می دهد. از این رو، دومین هدف خشک کردن، بایستی تولید مواد غذایی خشک شده با کیفیت خوب از نظر ارگانولپتیکی و تغذیه ای باشد. امروزه، خشک کردن میوه های مختلف از جمله آلو مرسوم شده است و این محصولات در بازار باقیمت بالایی به فروش می رسند [4]. هدف ما از این پژوهش بررسی پارامترهای خشک کردن بر میزان cfu پودر حاوی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس می باشد.

۲. اهداف پژوهش

- ۱- بررسی پارامترهای خشک کردن در حضور باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس
- ۲- بررسی کاهش تعداد پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در فرآیند خشک کردن



۳- تعیین شرایط بهینه خشک کردن

۳.۴. مبانی نظری و پیشینه پژوهش

روستا و همکاران (۱۳۹۳) در مقاله ای با عنوان اثرات سطوح مختلف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بر فعالیت ضدباکتری و برخی شاخص های ایمنی موکوسی ماهی تایگر بارب را مورد بررسی قرار داد. نتایج این آزمایش نشان داد که موکوس ماهی تایگر بارب در برابر هر دو پاتوژن فعالیت ضدباکتریایی داشته و استفاده از سطوح مختلف پروبیوتیک سبب افزایش معنی دار در فعالیت ضدباکتریایی موکوس، پروتئین محلول و آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی این ماهی نسبت به تیمار شاهد شده است [2].

هاشمی و همکاران (۱۳۹۳) در مقاله ای با عنوان بررسی بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس سو باسیلوس کوآگولانس در بستنی های پروبیوتیک و سین بیوتیک کم چرب را مورد بررسی قرار دادند. میزان بقای باسیلوس کوآگولانس چه بعد از فرآیند انجماد و چه در انتهای دوره نگه داری بستنی در شرایط انجماد بالاتر از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بود. اینولین اثر محافظتی روی میکروارگانیسم های پروبیوتیک در دوره نگه داری داشت. با توجه به این که نسبت بالایی از میکروارگانیسم های پروبیوتیک برای یک دوره طولانی قادر به زنده ماندن در بستنی های تولیدی بودند، بنابراین می توان نتیجه گیری کرد که این فرآورده شیری منجمد پتانسیل بالایی برای استفاده به عنوان یک غذای فراسودمند دارد [7].

پایسان و همکاران در سال ۲۰۱۲ اثر خشک کردن لاکتوباسیلوس پاراکارش تهیه شده از بدن انسان را در یک خشک کن پاششی بررسی کرد نتیجه گرفتن بهترین شرایط برای خشک کردن این باکتری 80°C می باشد.

شکری و همکاران در سال ۲۰۱۵ فاکتورهای موثر بر طول عمر باکتری بیفیدر باکتریوم بینیدوم را در یک خشک کن پاششی بررسی کردند و مشخص کردند که بهترین شرایط برای خشک کردن این باکتری دمای $111/15$ درجه سانتیگراد و فشار $4/5 \text{ bar}$ و غلظت مالتودکستریم ۶ درصد می باشد در این شرایط رطوبت نهایی به $4/5$ درصد کاهش می یابد [8].

پروبیوتیک ها

اصطلاح پروبیوتیک اولین بار در سال ۱۹۵۳ توسط کولاس مطرح گردید. در سال ۱۹۸۹ روی فولر تعریفی را برای پروبیوتیک ها پیشنهاد کرد که به طور وسیعی مورد استفاده قرار گرفت، در این تعریف پروبیوتیک ها مکمل های میکروبی زنده ای هستند که به رژیم غذایی افزوده می شوند که با بهبود تعادل در میکروفلور روده اثرات مفیدی بر روی میزبان دارند. مهم ترین مکانیسم هایی که این باکتری ها به وسیله آن می توانند موجب ارتقای سلامت انسان شوند شامل تولید اسیدهای آلی، پر اکسیدها، ویتامین ها، اسیدهای آمینه آرژنین، سیستئین، گلوتامین و باکتریوسیدها و رقابت با باکتری های مضر و بیماری زای روده ای برای تصاحب جایگاه های اتصال روی موکوس می باشد.

پروبیوتیک ها، میکروارگانیسم های زنده ای هستند که اگر در مقادیر مناسب تجویز شوند آثار مفیدی بر سلامت میزبان خواهند داشت. غذاهای پروبیوتیک غذاهایی هستند که حاوی میکروارگانیسم های زنده بوده و با خوردن آن ها سلامت مصرف کنندگان از طریق بهبود تعادل میکروفلور روده افزایش می یابد شکی نیست که غذاهای شیری بهترین حامل های شناخته شده برای پروبیوتیک ها می باشند [9].

پروبیوتیک ها جزء زنده میکروبی در غذاها هستند که در صورتی که به مقدار کافی تجویز شوند اثرات مطلوبی بر سلامتی میزبان دارند. یک گروه مهم از پروبیوتیک ها، باکتری های اسیدلاکتیک جنس لاکتوباسیلوس می باشد. از میان لاکتوباسیلوس هایی که به عنوان پروبیوتیک مطرح هستند مهم ترین گونه مورد توجه، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس می باشد. در تحقیقات مختلف، مشخص شده مصرف این باکتری، دارای اثراتی از جمله کاهش کلسترول، بهبود علائم ناشی از عدم تحمل لاکتوز 3، تحریک و تقویت سیستم ایمنی و کاهش رخداد اسهال در انسان یا حیوانات می باشد [9].

خواص پروبیوتیک ها

- کمک به حفظ تعادل مابین باکتری های مضر و مفید روده و حفظ سلامتی دستگاه گوارش

- کمک به برطرف کردن گاز و تجزیه مواد زائد تولید شده

- داشتن اثرات مفید در افرادی که مدت زمان طولانی آنتی بیوتیک دریافت کرده اند

- تحریک سیستم ایمنی و کاهش عفونت ها

- مفید برای درمان انواع اسهال ها و سایر عفونت های گوارشی

- بهبود هضم لیپیدها، کربوهیدرات ها و پروتئین ها و همچنین بهبود هضم لاکتوز در عارضه عدم تحمل به لاکتوز

- کمک به پیشگیری از سرطان کولون و جلوگیری از تولید موادی که باعث ایجاد سرطان می گردند.

- کمک به پایین آوردن کلسترول و کاهش فشارخون در انسان

- کمک به بهبود جذب مواد معدنی و مغذی و کاهش التهاب



-کنترل رشد باکتری های مضر در شرایط استرس
-کمک به تعادل هورمون های جنسی در شرایط استرس
-مقابله با عفونت هایی مانند کاندیدیازیس پای ورزشکاران
-کنترل رشد ویروس ها و باکتری های بیماری زا
-شکستن توکسین ها، تولید آنتی بادی ها و مواد ضد سرطانی
-ضد آلرژی [9]

لاکتوباسیلوس ها

لاکتوباسیلوس ها رادهای گرم مثبت منظم و بلند هستند به طوری که طول آن ها به ۱۰ میکرون می رسد باکتری های این جنس بدون هاگ عمدتاً غیر متحرک اما پرنیاز هستند. پلی مرفیک، بی هوازی و اختیاری هستند. بعضی از گونه ها بی هوازی اجباری اند و دارای متابولیسم تخمیری که از طریق تخمیر قندها تولید انرژی می کنند که حداقل نیمی از فراورده های آن اسیدلاکتیک است [10].

محل رشد لاکتوباسیلوس ها

بهترین pH برای رشد لاکتوباسیلوس ۵ تا ۶/۵ است همچنین تراکم ۵ درصد کربن دی اکسید تأثیر بسزایی بر رشد آن ها دارد. لاکتوباسیلوس ها در شرایط بی هوازی یا حداقل اکسیژن رشد دارند برای مثال در بزاق دهان، واژن، آب سبزیجات، لبنیات وجود دارند و در محیط تیوگلیکولات از کوکسی به باسیل تغییر می کنند. گونه تیپ لاکتو باسیلوس دلبروکی که در جاهای مختلفی، از جمله دستگاه تناسلی پستانداران تا روی سطح فراورده های گیاهی وجود دارند نمونه بارزی از شرایط رشد مناسب برای لاکتوباسیلوس هستند.

موارد استفاده ها لاکتوباسیلوس ها

لاکتوباسیلوس ها باکتری های تخمیرکننده هستند و بیشتر محصولات آن ها اسیدلاکتیک است و همچنین دارای خاصیت پروبیوتیکی هستند بنابراین، لاکتوباسیلوس کازئی یکی از باکتری های پروبیوتیکی است که پتانسیل کاربردی ویژه ای در تولید فراورده های شیری پروبیوتیکی مانند ماست دارد. لاکتوباسیلوس ها اکثراً به عنوان عامل درمان عفونت استفاده می شود مثلاً در درمان اسهال ماست مصرف می کنند ماست پر از اسیدلاکتیک است و باکتری های بیماری زا را از بین می برد. لاکتوباسیل ها شناخته شده ترین فلور طبیعی واژن هستند و توانایی آن ها در تولید pH و حفظ محیط اسیدی است. مصرف این باکتری در ترکیبات دارویی توازن طبیعی باکتری و قارچ را در دستگاه گوارش تنظیم می کند. [10]

خشک کردن

خشک کردن، از چالش های مهم در فرآوری مواد غذایی محسوب می شود و مفاهیم دامنه داری را در تحقیقات صنایع غذایی دربر می گیرد. مهم ترین هدف خشک کردن، جدا نمودن آب از ماده غذایی، افزایش مدت زمان ماندگاری و جلوگیری از فساد است. علاوه بر این، به هنگام خشک کردن، وزن و حجم ماده غذایی کاهش پیدا کرده و در نتیجه باعث کاهش هزینه های بسته بندی، حمل و نقل، انبارداری و پخش می گردد. در حین خشک کردن، یکسری تغییرات فیزیکی و شیمیایی در بعضی خواص طبیعی مواد غذایی مانند بافت، رنگ، عطر و طعم و ارزش تغذیه ای رخ می دهد. از این رو، دومین هدف خشک کردن، بایستی تولید مواد غذایی خشک شده با کیفیت خوب از نظر ارگانولپتیکی و تغذیه ای باشد. امروزه، خشک کردن میوه های مختلف از جمله آلو مرسوم شده است و این محصولات در بازار باقیمت بالایی به فروش می رسند [11]

روش های خشک کردن

تعداد بسیار متنوع موادی که لازم است خشک شوند از نظر خواص شیمیایی و فیزیکی باهم کاملاً متفاوت اند و همچنین طرق مختلف حرارت دهی برای فرآیند خشک کردن وجود دارد بنابراین بسیار مشکل است که بتوان همه روش های ممکن برای خشک کردن را دسته بندی کرد. تعدادی از روش های معمول خشک کردن که در صنایع به کار می رود را می توان به صورت زیر دسته بندی کرد:

۱- خشک کردن از طریق جابجایی

در این روش حرارت محسوس محیط گازی از طریق انتقال حرارت جابه جایی به سطح ماده تر داده می شود. عامل خشک کننده (هوا) از روی ماده تر یا از درون آن عبور داده می شود تا رطوبت ماده را تبخیر کند. برای صرفه جویی در انرژی مقداری از هوای خروجی به سیستم برگشت داده می شود. معمولاً از هوای داغ به عنوان عامل خشک کردن استفاده می شود ولی از مواد دیگری مانند گازهای خروجی از دستگاه ها یا بخار داغ و ... نیز می توان به عنوان خشک کننده استفاده کرد. برای خشک کردن مواد قابل انفجار یا مواد اشباع از حلال های آلی، از گاز بی اثری مانند نیتروژن یا مخلوط نیتروژن - بخار آب به عنوان عامل خشک کردن در یک سیستم کاملاً بسته استفاده می شود. در چنین سیستمی رطوبت تبخیر شده از طریق میعان از سیستم جدا می شود [11].

۲- خشک کردن هدایتی



در این روش، حرارت لازم به طریق هدایتی از یک سطح داغ سوزی، صفحه‌ای استوانه‌ای یا دیواره خشک‌کن تأمین می‌شود. در این روش خشک کردن مقدار انتقال حرارت به بدنه مواد، نه فقط به هدایت حرارتی سطح داغ بلکه همچنین به ضریب حرارت بین منبع گرم‌کننده و سطح داغ بستگی دارد.

منبع گرم‌کننده سطح داغ معمولاً بخار داغ، مایعات آلی، فلزات گداخته یا ذوب‌شده یا حامل‌های دیگر انرژی‌اند که ضریب انتقال حرارت بالایی دارند. از آنجایی که همه حرارت لازم برای تبخیر رطوبت ماده از میان لایه‌های مواد عبور می‌کند، راندمان حرارتی این روش خشک کردن بیشتر از راندمان روش جابه‌جایی است زیرا در روش جابه‌جایی بیشتر حرارت عامل خشک‌کننده از بالای مواد به بیرون از خشک‌کن هدایت می‌شود [12].

۳- خشک‌کن تشعشی

در این روش، انرژی لازم برای تبخیر رطوبت ماده از طریق تشعشع الکترومغناطیسی در بانده طول موج $76/0$ تا 400 میکرومتر تأمین می‌شود. تشعشع این بانده از طول موج را مادون قرمز می‌نامند.

تشعشع از سطح ماده به درون آن نفوذ کرده و باعث ارتعاش مولکول‌های ماده و ایجاد حرارت در درون آن می‌شود. چون عمق نفوذ این اشعه نسبتاً کم است این روش برای خشک کردن مواد نازک مانند فیلم‌ها، پوشش‌ها و رنگ روی مواد مفید است. از منابع تولید اشعه مادون قرمز می‌توان مولدها یا اشعه در درجه حرارت‌های پایین و لامپ‌ها کوارتز در درجه حرارت‌های بالا را نام برد [12].

۴- خشک کردن در الکتریک

در این روش خشک کردن انرژی حرارتی در داخل ماده خشک‌شونده تولید می‌شود (دارای هدایت حرارتی پایین است مانند عایق‌ها) که در این میدان الکترومغناطیسی با فرکانسی بالا، در محدوده فرکانس رادیویی یا ریزموج، قرار داده می‌شود. به دلیل تغییرات سریع جهت میدان الکترومغناطیسی، دو قطبی‌های ماده قطبی یا مایعات قطبی تغییر کرده یعنی چرخشی در مولکول ایجاد می‌شود که این پدیده، به علت وجود اصطکاک باعث تولید انرژی حرارتی در داخل ماده می‌شود. اثر حرارتی جذب انرژی الکترومغناطیسی با ثابت دی‌الکتریک متناسب است. چون ثابت دی‌الکتریک آب بسیار بزرگتر از ثابت دی‌الکتریک بیشتر مواد جامد است، حرارت بیشتری در قسمت‌های تر ماده تولید می‌گردد. بایستی توجه داشت که جدای از مکانیزم‌های انتقال رطوبت عمومی در خشک کردن دی‌الکتریک، انتقال رطوبت به دلیل تغییرات فشار داخلی که در نتیجه تبخیر رطوبت در داخل ماده ایجاد می‌شود صورت می‌گیرد [11].

۵- خشک کردن از طریق انجماد

در این روش خشک کردن از تصعید رطوبت منجمد شده داخل ماده در محیط‌های با فشار زیر نقطه سه‌گانه آب استفاده می‌شود. حرارت لازم در این روش خشک کردن را معمولاً توسط تشعشع یا حرارت هدایتی از یک سینی گرم-به طوری که درجه حرارت ماده به بالای صفر درجه سانتی‌گراد صعود نکند- تأمین می‌کنند. رطوبت تصعید شده در روی صفحات سردی-که در داخل محفظه خشک‌کن جاسازی شده است- مایع شده و از اطراف ماده خارج می‌شود یا این بخارها را در یک میعان‌کننده مجزا به مایع تبدیل می‌کنند. [11]

۶- خشک کردن از طریق حلال (خشک‌کن تبخیری)

در این روش خشک کردن، ماده خشک‌شونده در تماس با بخار داغ حلال‌های آلی قرار می‌گیرد تا خشک شود. لذا به این روش، خشک کردن با بخار داغ حلال گویند. وقتی حلال داغ با ماده تماس پیدا می‌کند آب ماده را در خودش جذب می‌کند. برای زدودن بخار آب از حلال اشباع شده از رطوبت آن را در فشار معینی قرار می‌دهند تا بخار آب از آن خارج گردد. این روش در حالتی که ماده خشک‌شونده آغشته به یک مایع اشتعال‌پذیر است بسیار مفید می‌باشد [12].

۷- خشک کردن با بخار داغ

در ابتدا خشک کردن از هوای داغ پر شده و خشک شدن از طریق جابجایی معمولی صورت می‌گیرد. در طی عمل خشک شدن رطوبت بخار همراه با هوای داغ شروع به چرخش می‌کند. به سبب شیر کنترل فشار در سیستم با بالا رفتن فشار داخل سیستم (در اثر تبخیر آب) مقداری از گاز داخل سیستم خارج شده و بخار آب کم‌کم جایگزین هوا در داخل سیستم می‌گردد. در انتهای فرآیند خشک کردن، بخار آب به همراه مقدار کمی در سیستم جریان خواهد داشت [12].

۸- خشک کردن از طریق جانشین‌سازی

روشی برای جدا کردن آب است که در آن از یک سیال سنگین‌تر از آب و غیرقابل حل در آن برای جدا کردن آب از سطح ماده استفاده می‌شود. فرآیند جداسازی آب از ماده اصولاً به توانایی سیال جابجا شونده بستگی دارد. این سیال باعث می‌شود که آب از سطح جسم به صورت یک قطره خارج می‌شود. دو مکانیزم برای خارج شدن آب از ماده وجود دارد:



۱- مکانیزم غلظتی: وقتی که عامل فعال سطحی جذب فصل مشترک مایع-جامد می شود خاصیت تر شدن سطح ماده از آب کاهش یافته و در نتیجه سطح تماس خیلی کم می شود. این باعث جدا شدن قطره آب از سطح ماده می گردد.

۲- کاهش کشش سطحی در سطح مشترک مایع-مایع هنگامی رخ می دهد که ماده فعال سطحی مناسب جذب سطح مشترک مایع-مایع شده و کشش سطحی بین مایع و ماده جانشینی خیلی کم می شود. در نتیجه اثر اصطکاک بین آب و ماده جانشینی کم شده و آب مانند یک قطر جدا می شود. بدین صورت درصد زیادی از آب از ماده خارج می شود [12]

انرژی مصرفی نظری در خشک کردن از طریق ماده جانشینی بسیار پایین است زیرا این انرژی فقط شکستن نیروی چسبندگی بین آب و ماده می شود. در عمل مصرف انرژی به دلیل تبخیر ماده جانشینی کمی بیشتر است. از فرئون (فلوئور کربن) که معمولاً به عنوان ماده جانشینی استفاده می شود.

۹- خشک کردن از طریق فشار تراوایی

این نوع خشک کردن به طور موفقیت آمیزی در آب زدایی از مواد سلولزی مانند گوشت و سبزیجات و میوه کاربرد دارد. این روش شامل خارج کردن آب از ماده به سمت محلول غلیظی است که از نظر فشار تراوایی فعال است. نیروی محرکه این فرایند اختلاف فشار تراوایی در دو طرف دیواره ای است که خاصیت غشاهای نیمه نفوذپذیر را دارد. به دلیل وجود خواص مخصوص این غشای، مهاجرت آب و مولکول های سبک به طرف مایع فعال تراوایی امکان پذیر می شود. مقدار کمی از اجزای دیگر عصاره های موجود در مورد نیز غشای عبور می کند. بنابراین عصاره کمی غلیظ تر شده و باعث کم شدن فعالیت آب درون ماده می گردد. [11]

۴. روش کار

باکتری مورد استفاده در این بررسی بانام پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (با نام تجاری لاکتوفوم ساخت شرکت زیست تخمیر) از آزمایشگاه میکروبیولوژی پژوهشکدهی دانشگاه دزفول تهیه شد و در این بررسی از اشکال زنده (کشت تازه) و شکل کشته شده با حرارت باکتری استفاده می شود. جهت تهیه سوسپانسیون میکروبی ۱ گرم از باکتری خشک به ۱۰۰ میلی لیتر از محیط کشت MRSBrouTh استریل شد. اضافه می شود و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرما گذاری می شود. سپس سلول ها از طریق سانتریفیوژ از محیط کشت جدا می شوند و به کمک روش شست و شو با آب مقطر و سانتریفیوژ چند مرحله ایی و خشک کردن در آون وزن خشک معادل وزن تر آن ها مشخص می گردد و در آزمایشات خشک کردن و گرما گذاری از سلول تر به جای سلول خشک استفاده می شود.

۱-۴ روش اندازه گیری cfu

یک فویل آلومینیوم را قبل و بعد فرایند خشک کردن وزن می کنیم و با اندازه گیری اختلاف آن ها وزن خشک سلول محاسبه می شود سپس فویل را کامل در محیط کشت استریل شده به حجم مشخص مثلاً 100 cc غوطه ور می کنیم و خوب تکان می دهیم تا سلول ها وارد فاز مایع شوند سپس 1 cc از این مایع را بر سطح محیط کشت جامد موجود در یک پتری دیش پخش می کنیم و بعد از ۴۸ ساعت گرما گذاری کلنی های به وجود آمده را می شماریم تعداد کلنی در محدوده ۳۰ تا ۴۰ کلنی رقیق سازی مناسب را مشخص می کند.

$$cfu = \frac{cfu \text{ بعد از خشک کردن}}{cfu \text{ پودر پروبیوتیکی فریزداری}} \times 100$$

۵. یافته های پژوهش

باکتری مورد استفاده در این بررسی بانام پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (با نام تجاری لاکتوفوم ساخت شرکت زیست تخمیر) از آزمایشگاه میکروبیولوژی پژوهشکدهی دانشگاه دزفول تهیه شد و در این بررسی از اشکال زنده (کشت تازه) و شکل کشته شده با حرارت باکتری استفاده می شود. جهت تهیه سوسپانسیون میکروبی ۱ گرم از باکتری خشک به ۱۰۰ میلی لیتر از محیط کشت MRSBrouTh استریل شد. اضافه می شود و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرما گذاری می شود. سپس سلول ها از طریق سانتریفیوژ از محیط کشت جدا می شوند و به کمک روش شست و شو با آب مقطر و سانتریفیوژ چند مرحله ایی و خشک کردن در آون وزن خشک معادل وزن تر آن ها مشخص می گردد و در آزمایشات خشک کردن و گرما گذاری از سلول تر به جای سلول خشک استفاده می شود.

آزمایشات در زمان های مختلف ۱۰-۲۰-۳۰-۴۰-۵۰-۶۰ ثانیه و در درجه حرارت های ۷۰-۸۰-۹۰-۱۰۰-۱۱۰ درجه سانتی گراد و با غلظت ۲-۳-۴-۵ گرم بر لیتر صورت پذیرفت و نتایج آزمایش در جداول ۴-۲، ۴-۳، ۴-۴، ۴-۵، ۴-۶، ۴-۷ آورده شده است.

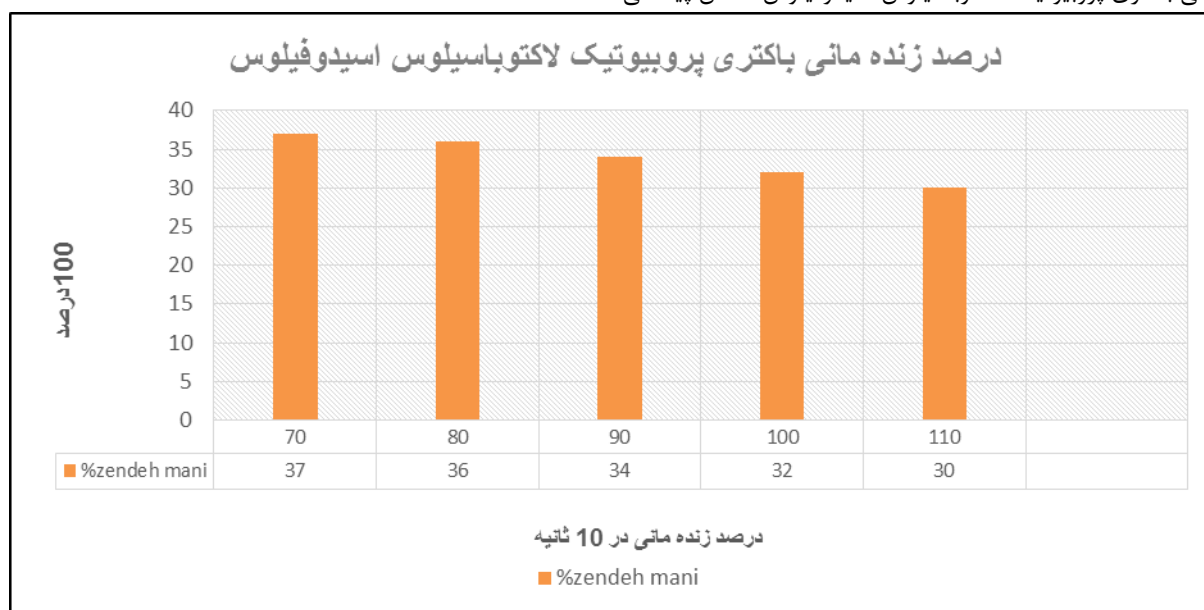


شمارش میکروارگانیسم های پروبیوتیک زنده در جدول (۱) تغییرات در شمارش لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بعد از فرآیند خشک کردن در زمان ۱۰ ثانیه نشان داده شده است.

جدول ۱: میزان زندهمانی cfu پودر حاوی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در دماهای مختلف خشک کردن در زمان ۱۰ ثانیه

میزان زندهمانی (درصد)	درصد زنده مانی آزمایشگاهی	درجه حرارت (سانتی گراد)	زمان	
۳۷	$10^7 \times 37$	۷۰°C	۱۰ ثانیه	پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس
۳۶	$10^7 \times 36$	۸۰°C		
۳۴	$10^7 \times 34$	۹۰°C		
۳۲	$10^7 \times 32$	۱۰۰°C		
۳۰	$10^7 \times 30$	۱۱۰°C		

با توجه به جدول فوق، میزان زندهمانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در زمان ۱۰ ثانیه، هرچقدر دما را افزایش دهیم میزان زندهمانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس کاهش پیدا می کند.



نمودار ۱: درصد زندهمانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ۱۰ ثانیه

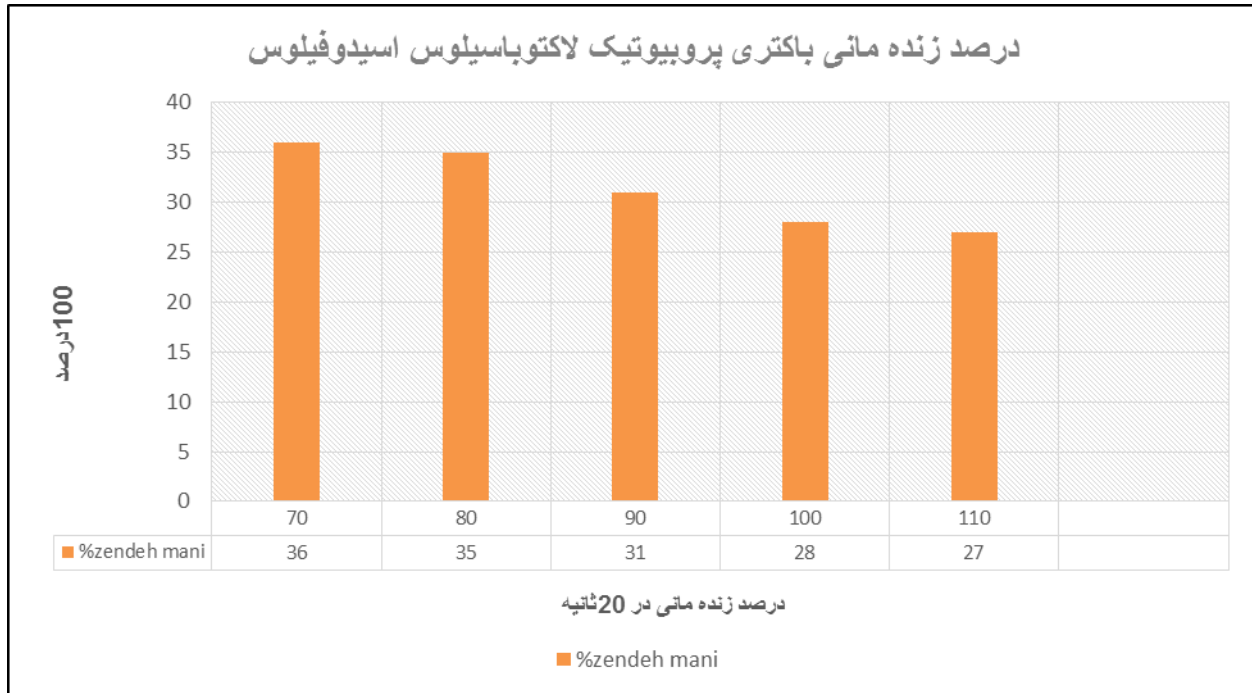
جدول ۲: میزان زندهمانی cfu پودر حاوی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در دماهای مختلف خشک کردن در زمان ۲۰ ثانیه

میزان زندهمانی (درصد)	درصد زنده مانی آزمایشگاهی	درجه حرارت (سانتی گراد)	زمان	
۳۶	$10^7 \times 36$	۷۰°C	۲۰ ثانیه	پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس
۳۵	$10^7 \times 35$	۸۰°C		
۳۱	$10^7 \times 31$	۹۰°C		
۲۸	$10^7 \times 28$	۱۰۰°C		



۲۷	10.7×27	110c°		
----	------------------	-------	--	--

با توجه به جدول فوق، میزان زندهمانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در زمان ۲۰ ثانیه، هرچقدر دما را افزایش دهیم میزان زندهمانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس کاهش پیدا می کند.

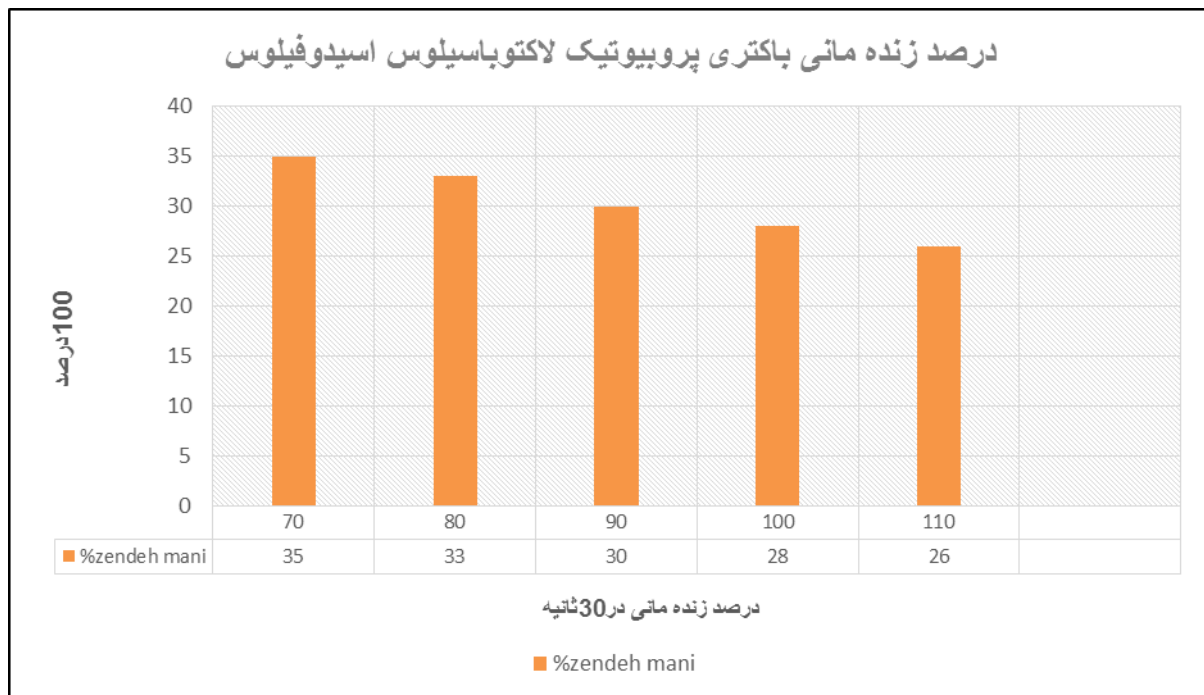


نمودار ۲: درصد زندهمانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ۲۰ ثانیه

جدول ۳: میزان زندهمانی cfu پودر حاوی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در دماهای مختلف خشک کردن در زمان ۳۰ ثانیه

میزان زندهمانی (درصد)	درصد زنده ماننی آزمایشگاهی	درجه حرارت (سانتیگراد)	زمان	
۳۵	10.7×35	70c°	۳۰ ثانیه	پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس
۳۳	10.7×33	80c°		
۳۰	10.7×30	90c°		
۲۸	10.7×28	100c°		
۲۶	10.7×26	110c°		

با توجه به جدول فوق، میزان زندهمانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در زمان ۳۰ ثانیه، هرچقدر دما را افزایش دهیم میزان زندهمانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس کاهش پیدا می کند.

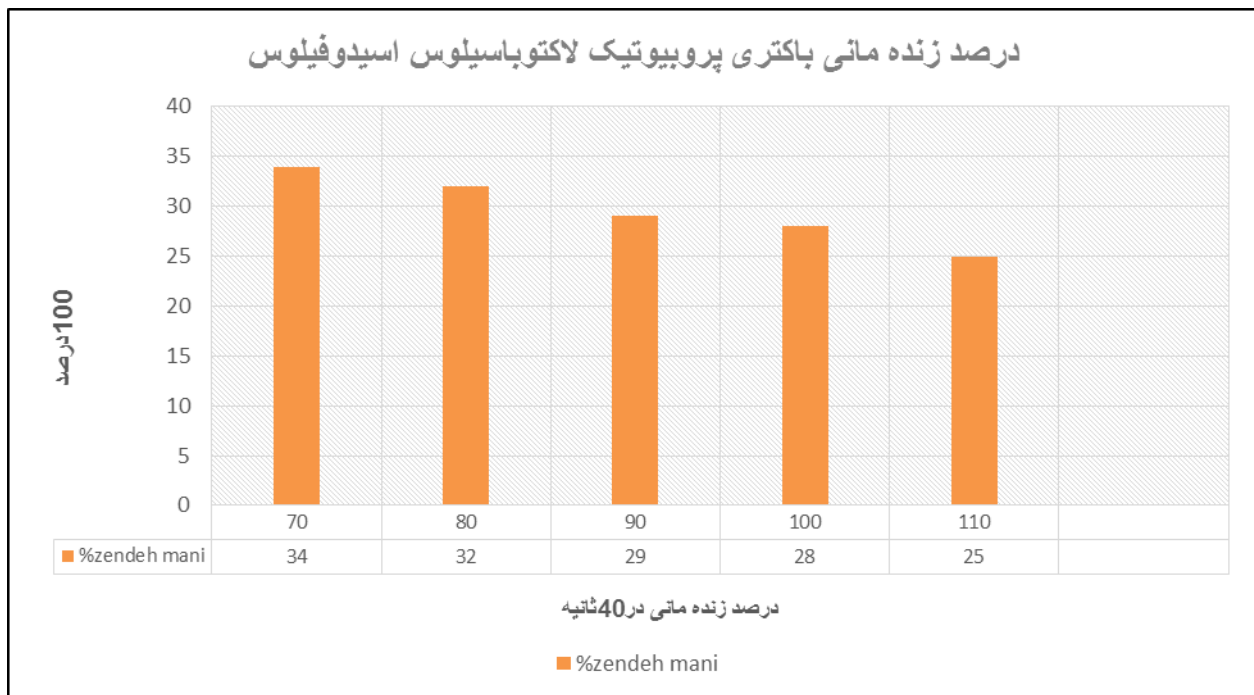


نمودار ۳: درصد زنده مانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ۳۰ ثانیه

جدول ۴: میزان زنده مانی cfu بودر حاوی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در دماهای مختلف خشک کردن در زمان ۴۰ ثانیه

میزان زنده مانی (درصد)	درصد زنده مانی آزمایشگاهی	درجه حرارت (سانتیگراد)	زمان	پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس
۳۴	$10^7 \times 34$	70°C	۴۰ ثانیه	
۳۲	$10^7 \times 32$	80°C		
۲۹	$10^7 \times 29$	90°C		
۲۷	$10^7 \times 27$	100°C		
۲۵	$10^7 \times 25$	110°C		

با توجه به جدول فوق، میزان زنده مانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در زمان ۴۰ ثانیه، هرچقدر دما را افزایش دهیم میزان زنده مانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس کاهش پیدا می کند.

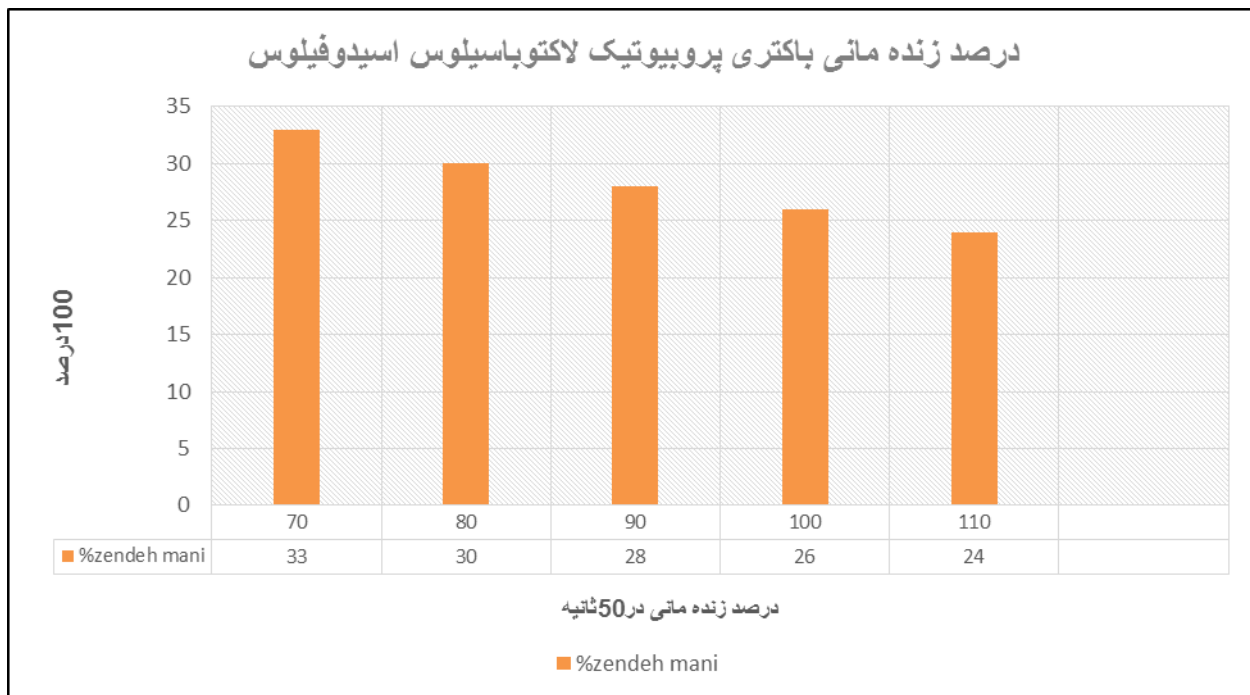


نمودار ۴: درصد زنده مانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ۴۰ ثانیه

جدول ۵: میزان زنده مانی cfu پودر حاوی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در دماهای مختلف خشک کردن در زمان ۵۰ ثانیه

میزان زنده مانی (درصد)	درصد زنده مانی آزمایشگاهی	درجه حرارت (سانتیگراد)	زمان	
۳۳	$10^7 \times 33$	۷۰c°	۵۰ ثانیه	پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس
۳۰	$10^7 \times 30$	۸۰c°		
۲۸	$10^7 \times 28$	۹۰c°		
۲۶	$10^7 \times 26$	۱۰۰c°		
۲۴	$10^7 \times 24$	110c°		

با توجه به جدول فوق، میزان زنده مانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در زمان ۵۰ ثانیه، هرچقدر دما را افزایش دهیم میزان زنده مانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس کاهش پیدا می کند.



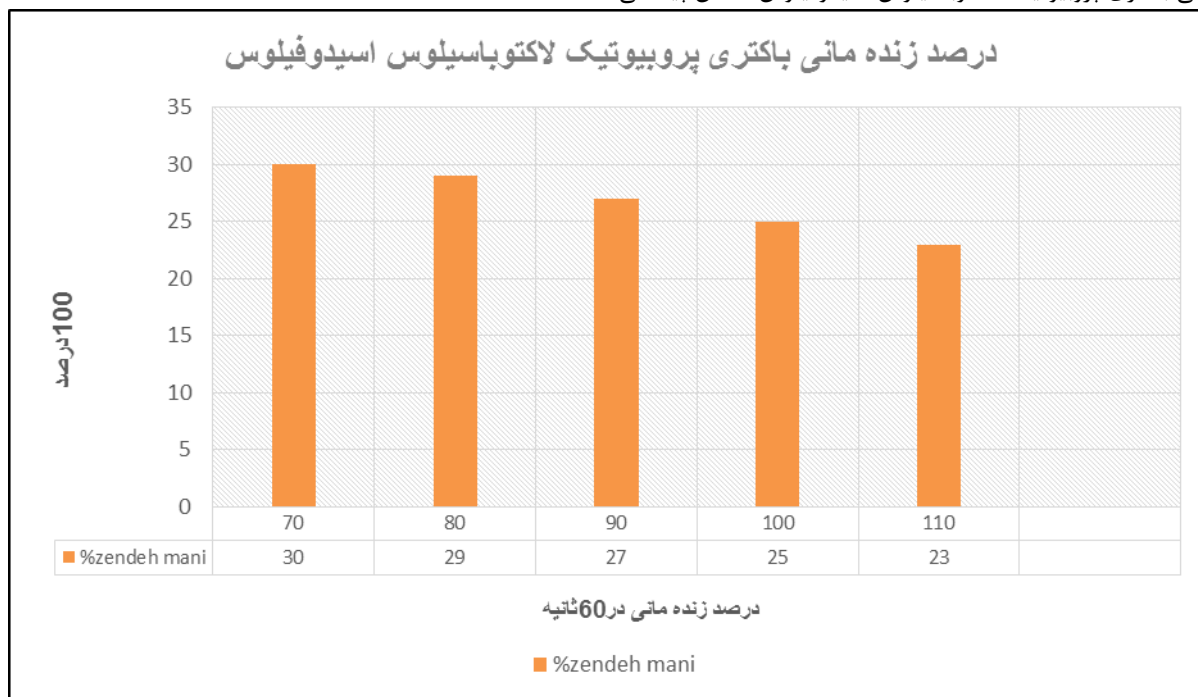
نمودار ۵: درصد زنده مانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ۵۰ ثانیه

جدول ۶: میزان زنده مانی cfu بودر حاوی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در دماهای مختلف خشک کردن در زمان ۶۰ ثانیه

میزان زنده مانی (درصد)	درصد زنده مانی آزمایشگاهی	درجه حرارت (سانتیگراد)	زمان	
۳۰	۱۰.۷ × ۳۰	۷۰c°	۶۰ ثانیه	پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس
۲۹	۱۰.۷ × ۲۹	۸۰c°		
۲۷	۱۰.۷ × ۲۷	۹۰c°		
۲۵	۱۰.۷ × ۲۵	۱۰۰c°		
۲۳	۱۰.۷ × ۲۳	110c°		



با توجه به جدول فوق، میزان زندهمانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در زمان ۶۰ ثانیه، هرچقدر دما را افزایش دهیم میزان زندهمانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس کاهش پیدا می کند.



نمودار ۶: درصد زندهمانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ۶۰ ثانیه

۶. بحث در مورد نتایج پژوهش

نتایج آزمایشات به صورت کامل ارائه شده است. در اینجا به بحث در مورد نتایج پرداخته می شود محتوی رطوبت تمامی نمونه ها پس از انجام آزمایشات خشک کردن در محدوده ۰ تا ۵ درصد متغیر بود که این میزان در محدوده مطلوب برای اثبات پودر در طی زمان نگهداری قرار دارد. بر اساس نتایج آزمایشات مشخص می شود دمای خشک کردن در محدوده ۷۰ تا ۸۰ درجه تأثیر زیادی بر تغییر CFU را کاهش می دهد. با توجه به اینکه در محدوده رطوبت مورد نیاز بهترین شرایط برای حفظ CFU در محدوده ۷۰ تا ۸۰ درجه سانتی گراد می باشد این محدوده به عنوان سوسپانسیون پروبیوتیک برای طراحی اسپری مورد نیاز جهت خشک کردن توصیه می شود.

دمای هوای گرم ورودی اسپری در ایر نیز در محدوده ۸۰ تا ۹۰ درجه کاهش زیادی بر CFU نخواهد داشت لذا اساس طراحی خشک کردن پاشش باید بر دمای هوای گرم ورودی حداکثر با دمای ۹۰ درجه و خروجی با دمای در محدوده ۷۰ تا ۸۰ درجه باشد. با توجه به اینکه دمای بهینه ی ورودی و خروجی به دلیل محدوده مناسب رطوبت خیلی به هم نزدیک می باشد استفاده از یک اتمایزر مناسب که مقدار زیادی هوای گرم را به مقدار کمی مایع به خوبی در هم می آمیزد برای ساخت یک خشک کن پاشش مناسب ضروری می باشد.

در این آزمایش به دلیل کوتاه بودن زمان خشک شدن در خشک کن پاشش از غلظت بسیار پایین سلول یعنی زیر ۰/۲ گرم بر لیتر استفاده می شود و فقط ۲ پارامتر زمان خشک شدن و دما بر اساس روش فولفکتور قرار می گیرد.

منابع

[۱] Desmond, C. Ross, R.P. O'Callaghan, E. Fitzgerald, G. Stanton, C. (2002). Improved survival of *Lactobacillus paracasei* NCFB 338 in spray-dried powders containing gum acacia. *J Appl Microbiol*; 93: 1003-1011.

[۲] Endres, J.R. Clewell, A. Jade, K.A. Farber, T. Hauswirth, J. and Schauss, A.G. (2009). Safety assessment of a proprietary preparation of a novel probiotic, *Bacillus coagulans*, as a food ingredient. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 1231-1238.

[۳] Granato, D. Branco, G.F. Cruz, A.G. Faria, J.deA.F. and Shah, N.P. (2010). Probiotic dairy products as functional foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9: 455-470

[4] توحید زاده، م، زمردی، ش، الهامی راد، اح، خسروشاهی اصل، ا. (۱۳۹۲). تأثیر فیبر هویج در زندهمانی لاکتوباسیلوس کازئی و کیفیت ماست میوه ای زردآلو با استفاده از روش سطح پاسخ، مجله ی نوآوری در علوم و فناوری غذایی، ۶(۱)، ۵۴-۶۸.



- [5] Wang, K.Y. Li, S.N. Liu, C.S. Perng, D.S. Su, Y.C. Wu, D.C. Jan, C.M. Lai, C.H. Wang, T.N. and Wang, W.M. (2004). Effects of ingesting Lactobacillus- and Bifidobacterium-containing yogurt in subjects with colonized *Helicobacter pylori*. American Journal of Clinical Nutrition, 80: 737-741.
- [6] Burcu Çabuk and S. ebne Tellioglu Harsa (2015). Protection of Lactobacillus acidophilus NRRL-B 4495 under in vitro gastrointestinal conditions with whey protein/pullulan microcapsules, Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Izmir Institute of Technology, 35430 Gülbahçe Köyü, Urla, Izmir, Turkey Received 3 March 2015; accepted 20 April 2015
- [7] هاشمی، م.، قیصری، ح.، شکر فروش، س.ش. (۱۳۹۳). بررسی بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس سو باسیلوس کواگولانس در بستنی های پروبیوتیک و سین بیوتیک کم چرب، بهداشت مواد غذایی، ۳ (۱۱)، ۱-۲۴.
- [8] Azsoubel, P. M. Baima, M. D. A. M. Amorim, M.D. R., Oliveira, S. S. B. (2010). Effect of ultrasound on banana cv Pacovan drying kinetics. Journal of Food Engineering, 97, 194-198.
- [9] Deng, Y., Zhao, Y. (2008). Effect of pulsed vacuum and ultrasound osmopretreatments on glass transition temperature, texture, microstructure and calcium penetration of dried apples (Fuji). LWT- Food Science and Technology, 41, 1575-1585.
- [10] سلیمانی، م.، ؛ شاهدی، م. (۱۳۸۵). عنوان بررسی ارتباط زمان و ثابت سرعت خشک شدن با پارامترهای خشک کن و ضایعات (درصد شکستگی) برنج در مرحله تبدیل، علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۰ (۱)، ۲۸-۴۲.
- [11] Rasouli, M., Ghasemzadeh, H. R., Nalbandi, H. (2011). Convective drying of garlic (<Allium sativum> L.): Part I: Drying kinetics, mathematical modeling and change in color. Australian Journal of Crop Science, 5, 1707-1714.
- [12] Chen, X., Kelly, C. P. Saccharomyces spp. In Versalovic, J., Wilson, M. 2008. Therapeutic Microbiology: Probiotics and Related Strategies. American Society for Microbiology. pp: 51-57.