



بررسی قابلیت زیستی باکتری باسیلوس کواگولانس (لاکتوباسیلوس اسپوراژنز) طی نگهداری پشمک معمولی و پشمک بدون قند

صبیحه السادات علیزاده^{۱*}، محمد گوهریان^۲، رویا کاظمی نیا^۳

^۱ کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مدیر تحقیق و توسعه شرکت گز سکه، اصفهان.

^۲ دکترای اقتصاد، رییس مرکز علمی کاربردی عتیق، اصفهان

^۳ کارشناس مهندسی علوم و صنایع غذایی، مسئول فنی شرکت گز سکه، اصفهان

چکیده

در سال‌های اخیر مصرف محصولات فراسودمند از جمله فرآورده‌های پروبیوتیک رو به افزایش است زیرا مصرف کنندگان به رژیم غذایی سالم به منظور پیشگیری از بیماری‌ها علاقه زیادی دارند. پشمک از جمله شیرینی‌های سنتی ایران است که در گروه‌های سنی مختلف محصولی پرطرفدار و پرمصرف است. غنی سازی این محصول با باکتری‌های پروبیوتیک، ضمن افزایش ارزش تغذیه‌ای پشمک آن را به یک محصول فراسودمند تبدیل کرد. این تحقیق با هدف بررسی پروبیوتیک کردن پشمک معمولی و پشمک بدون قند انجام شد. در این پژوهش باکتری باسیلوس کواگولانس (لاکتوباسیلوس اسپوراژنز) در مراحل تولید پشمک به آن اضافه شد و سپس میزان قابلیت زیستی این باکتری‌ها در دو نوع پشمک معمولی و پشمک بدون قند به روش شمارش در پلیت با محیط کشت MRS agar به مدت چهار ماه در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی‌گراد) بررسی شد. تعداد کلی باکتری‌ها بلافاصله پس از تولید در دو نمونه پشمک بدون قند و معمولی به ترتیب $8/3 \times 10^6$ cfu/g و $6/1 \times 10^6$ cfu/g شمارش شد. همچنین تعداد کلی این باکتری پس از چهار ماه نگهداری برای پشمک بدون قند و پشمک معمولی به ترتیب $3/5 \times 10^6$ cfu/g و $1/2 \times 10^6$ cfu/g گزارش شد. نتایج بدست آمده حاکی از آن است که هر دو نمونه پشمک حامل خوبی برای غنی سازی با باکتری‌های پروبیوتیک محسوب می‌شود. اما نمونه پشمک بدون قند به دلیل وجود ایزومالت از قابلیت بهتری برای پروبیوتیک کردن برخوردار است. این محصول خصوصیات تغذیه‌ای ویژه‌ای داشته و به عنوان ماده غذایی فراسودمند (عملگر) شناخته می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، باسیلوس کواگولانس، پشمک، بدون قند، ایزومالت

مقدمه

داشته باشند (۳). از جمله اثرات سلامت بخش می‌توان به کاهش ریسک ابتلا به سرطان، تحریک سیستم ایمنی، خواص ضد عفونت، کاهش کلسترول خون، کاهش عدم تحمل لاکتوز و افزایش ارزش تغذیه‌ای اشاره نمود. مطالعات نشان می‌دهند بقای

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که با حفظ یا بهبود تعادل میکروبی روده می‌تواند اثرات سلامت بخشی برای میزبان خود به همراه

باکتری‌های پروبیوتیک در محصول نهایی تا زمان مصرف (حداقل تعداد سلول‌های زنده پروبیوتیک در هر گرم یا میلی‌لیتر از محصول پروبیوتیک)، از مهمترین شاخص‌های کیفی این فرآورده‌ها به شمار می‌آید. میزان باکتری‌های پروبیوتیک باید در حدی باشد که بقا و پایداری این باکتری‌ها در طول مدت نگهداری محصول حفظ شود و بتواند اثرات سودمندی را در میزبان اعمال نمایند. معمول‌ترین محدوده تعریف شده برای تراکم حضور باکتری‌های پروبیوتیک زنده $10^6 \times 1$ تا $10^8 \times 1$ در هر گرم یا میلی‌لیتر فرآورده ذکر شده است (۵). فرآورده‌های لبنی متداول‌ترین مواد غذایی به منظور انتقال پروبیوتیک‌ها به انسان است. اما لبنیاتی مثل ماست و دوغ به دلیل اسیدیته بالا و pH پایین محیط مناسبی برای انتقال پروبیوتیک‌ها به بدن نیستند و به این ترتیب روند افزودن پروبیوتیک‌ها در سایر گروه‌های غذایی نظیر غلات و محصولات قنادی رو به رشد است (۴). پشمک از جمله شیرینی‌های سنتی ایران است که به لحاظ شکل و بافت خاصش از سایر شیرینی‌ها متفاوت است. این شیرینی در گروه‌های سنی مختلف محصولی پرطرفدار و پرمصرف است. اما مصرف آن به علت داشتن ساکارز و کالری بالا برای افراد مبتلا به چاقی و دیابت محدودیت دارد. بنابراین از طریق جایگزین کردن ساکارز با کربوهیدرات‌های با قابلیت هضم کم می‌توان ضمن کاهش نمایه گلیسمی، از فساد دندان‌ها نیز جلوگیری کرد. در این تحقیق از دو نوع پشمک معمولی و پشمک بدون قند با ایزومالت و عصاره استویا استفاده شده است. در تهیه پشمک معمولی از آرد، روغن و شکر استفاده می‌شود. در پشمک بدون قند از آرد، روغن ایزومالت و استویا

استفاده شده است. این شیرینی که در قدیم فقط با روش‌های سنتی تولید می‌شده است، اکنون با روش‌های متفاوت صنعتی در حال تولید است. طبق تحقیقات انجام شده مشخص شده است که شیرینی و شکلات‌ها محیط مناسبی برای رشد و فعالیت باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک می‌باشد (۵). پشمک به دلیل این که یک شیرینی سنتی، با ارزش غذایی و پر طرفدار در بین مردم است، محیط قابل قبولی برای حمل باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشد. پشمک که روزی هدیه منحصر به فرد شهر یزد بود با تبدیل شدن به یک محصول فراسودمند و منحصر بفرد یعنی یک محصول پروبیوتیک با ارزش غذایی بالا، به عنوان محصول سنتی ایران در بسیاری از بازارهای جهان بهتر و بیشتر از قبل شناخته خواهد شد. به دلیل این که در تهیه پشمک از روغن استفاده می‌شود و این ماده دارای خاصیت باکتریواستاتیک است، در این تحقیق از باکتری اسپورزای باسیلوس کواگولانس (لاکتوباسیلوس اسپورازنز) که نسبت به شرایط سخت فیزیکی و شیمیایی مقاومت دارد، استفاده شد (۱۰). ایمن بودن این باکتری به عنوان جزئی از غذا توسط سازمان بهداشت جهانی و سازمان غذا و دارو آمریکا مورد تایید قرار گرفته است (۹). همچنین این مطالعه با هدف پروبیوتیک کردن پشمک با استفاده از باکتری اسپورزای باسیلوس کواگولانس با بررسی منحنی رشد این باکتری‌ها در مرحله تولید انجام شد. همچنین قابلیت زیستی این باکتری‌ها در پشمک به مدت ۴ ماه بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مواد و دستگاه‌ها

نظر گرفته شد. سایر دستگاه‌های مورد نیاز این تحقیق عبارت بودند از: اتوکلاو، انکوباتور، سانتریفیوژ، ترازو، دستگاه بن ماری، جار بی‌هوای، آون خلا، دستگاه سوکسله، کوره الکتریکی و دستگاه HPLC.

محیط‌کشت MRS و مواد مربوط به آزمون‌های بیوشیمیایی از شرکت مرک آلمان و فلوکا آمریکا خریداری شد. نمونه پشمک معمولی و پشمک بدون قند طبق جدول شماره یک و مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۶۰۸۴ در شرکت گز سکه اصفهان در

جدول شماره ۱- فرمولاسیون پشمک معمولی و پشمک بدون قند

ترکیبات / نوع پشمک	ایزومالت / استویا	شکر	آرد گندم	روغن نباتی هیدروژنه	آب آشامیدنی
پشمک معمولی (درصد)	-	۳۶	۳۲	۱۱	۲۱
پشمک بدون قند (درصد)	۰/۳۵ ۰/۵	-	۳۴	۱۷	۱۴

باکتری‌های پروبیوتیک به مدت چهار ماه نگهداری شدند.

بررسی قابلیت زیستی باکتری‌های باسیلوس کواگولانس (لاکتوباسیلوس اسپوراژنز) در پشمک معمولی و پشمک بدون قند:

از هر دو نمونه پشمک معمولی و پشمک بدون قند در شرایط دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت چهار ماه، در فاصله‌های ۱۵ روز یک بار ۱۰ گرم برداشته شد. از آن سری رقت تهیه و سپس به روش شمارش در پلیت روی محیط MRS agar انجام شد. پس از آن پلیت‌ها در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در شرایط بی‌هوای گرمخانه گذاری شدند. شرایط بی‌هوای با استفاده از جار بی‌هوای و گاز پک ایجاد شد. در نهایت پلیت‌هایی در نظر گرفته شد که حاوی ۳۰ تا ۳۰۰ کلنی بودند. به منظور کاهش خطا هر آزمون با سه بار تکرار انجام شد (۶).

بررسی تاثیر باکتری باسیلوس کواگولانس بر برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی پشمک معمولی و پشمک بدون قند:

میکروارگانیزم‌ها: کشت‌های اسپری درای شده تجاری شامل باکتری باسیلوس کواگولانس با نام تجاری لاکتوباسیلوس اسپوراژنز از شرکت تک ژن زیست تهران خریداری شد. در این بررسی سه تیمار بررسی شد که هر تیمار با دو تکرار انجام شد. در یک تیمار باکتری باسیلوس کواگولانس به شربت حاصل از شکر و آب افزوده گردید. سپس شربت حاصل با روش‌های خاص با خمیر حاصل از آرد و روغن نباتی هیدروژنه به خوبی مخلوط گردید. در تیمار دوم باکتری باسیلوس کواگولانس به خمیر آرد و روغن نباتی هیدروژنه افزوده گردید. سپس خمیر حاصل با شربت حاصل از شکر به خوبی مخلوط گردید. در تیمار سوم نیز باکتری باسیلوس کواگولانس به خمیر آرد و روغن نباتی هیدروژنه افزوده گردید. این بار خمیر حاصل با شربت حاصل از ایزومالت به خوبی مخلوط گردید. از نمونه پشمک‌های تولید شده در دو مرحله بلافاصله پس از تولید و بسته‌بندی نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها در شرایط دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) به منظور بررسی قابلیت زیستی

میزان رطوبت، خاکستر سولفاته، قند تام (بر حسب ساکاز)، چربی کل، پراکسید، pH، مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۶۰۸۴- پشمک، ویژگی‌ها و روش‌های آزمون، برای هر دو نمونه پشمک معمولی و پشمک بدون قند انجام شد (۱). همچنین میزان قند ایزومالت و استویا پشمک بدون قند با روش HPLC اندازه‌گیری شد.

ارزیابی حسی:

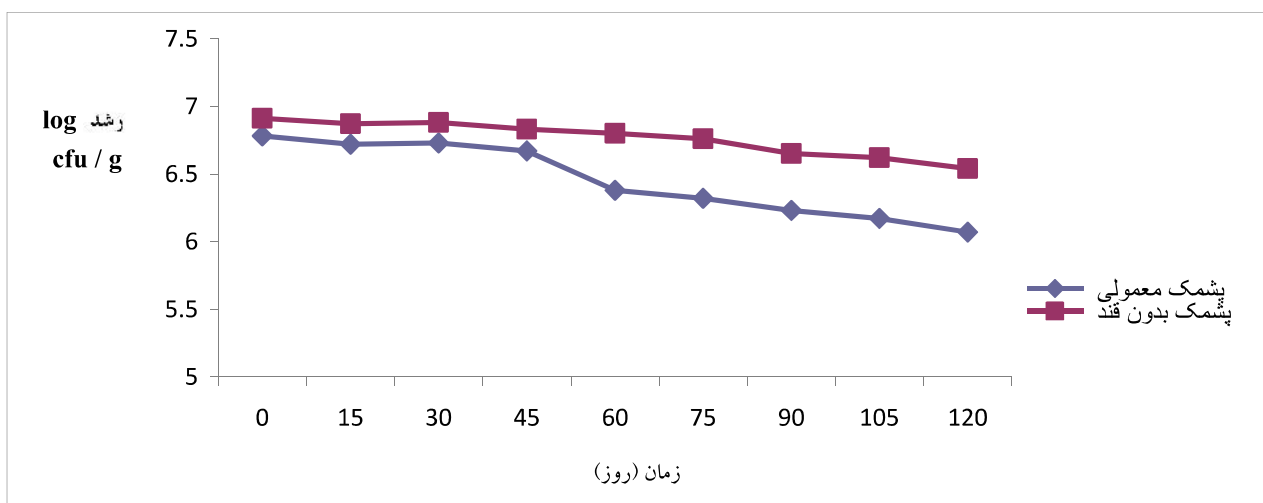
ویژگی‌های حسی شامل طعم، احساس دهانی و ظاهر مورد ارزیابی قرار گرفتند. این آزمون توسط ۱۰ نفر ارزیاب انجام گرفت. هدف عدم تغییر ظاهر، طعم و احساس دهانی نمونه‌های پشمک بعد از افزودن باکتری باسیلوس کواگولانس بود.

نتایج

نتایج حاصل از آزمون‌های تخمیر قندی، کاتالاز مثبت و باسیل‌های گرم مثبت نشان داد که باکتری

مورد استفاده باسیلوس کواگولانس (لاکتوباسیلوس اسپوراژنز) بود. در این تحقیق ابتدا قابلیت زیستی باسیلوس کواگولانس در نمونه‌هایی که باکتری‌ها به شربت درحال جوش افزوده گردید، بررسی شد. نتایج نشان‌دهنده افت تعداد کلی باکتری تا 10^3 cfu/g به دلیل دمای بالای مرحله افزوده شدن باکتری‌ها بود. قابلیت زیستی باکتری باسیلوس کواگولانس در تیمار دوم و سوم نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل تعداد کلی باکتری باسیلوس کواگولانس در نمونه پشمک معمولی و بدون قند به ترتیب $6/1 \times 10^6$ cfu/g و $8/3 \times 10^6$ cfu/g طبق نمودار ۱ تعداد باکتری باسیلوس کواگولانس در پشمک هادر طی مدت چهار ماه نگهداری در هر دو نمونه ثابت ماند و این تعداد در ماه چهارم برای پشمک معمولی و پشمک بدون قند به ترتیب $1/2 \times 10^6$ cfu/g و $3/5 \times 10^6$ گزارش شد.

نمودار ۱- قابلیت زیستی باسیلوس کواگولانس (لاکتوباسیلوس اسپوراژنز) در دو نمونه پشمک معمولی و پشمک بدون قند در طی چهار ماه نگهداری



کواگولانس بقاء خوبی در طی مدت چهار ماه نگهداری گز داشت و تعداد کلی این باکتری در این مدت از 10^6 cfu/g کمتر گزارش نشد. تعداد کلی باکتری باسیلوس کواگولانس نیز در مدت نگهداری پشمک نیز 10^6 cfu/g گزارش شد (۲). همچنین بررسی‌های انجام شده در واحد تحقیق و توسعه این شرکت بر روی یک نمونه گز سین‌بیوتیک با فرمول ایزومالت، سوربیتول و استویا نشان داد تعداد کلی این باکتری باسیلوس کواگولانس در مراحل تولید و پخت این محصول تا پایان شش ماه زمان نگهداری در 10^6 cfu/g ثابت ماند (۱۲). باسیلوس کواگولانس در مدت نگهداری پشمک بدون قند نیز از تعداد 10^6 cfu/g کمتر نشد. تحقیقات Possemier نشان داد که تعداد کلی باکتری‌های لاکتوباسیلوس هلویتیکوس و بیفیدوباکتریوم لانگوم در شکلات شیری و شکلات تیره با حدود 10^7 cfu/g در مدت نگهداری شکلات رسید. نتایج مطالعه هم نشان دهنده بقاء خوب باسیلوس کواگولانس در پشمک بود (۱۰). در تحقیق دیگری که توسط گنجوری و همکاران بر غنی سازی نان‌های حجیم با باکتری باسیلوس کواگولانس انجام گرفت تعداد باکتری‌ها پس از پخت نان 10^6 cfu/g گزارش شد. نتایج تحقیق حاضر نیز نشان دهنده مقاومت باکتری باسیلوس کواگولانس به شرایط تولید پشمک و ثابت ماندن تعداد کلی 10^6 cfu/g باکتری‌های باسیلوس کواگولانس در این ماده غذایی بود (۷). با توجه به این پشمک یکی از شیرینی‌های مقوی و پرطرفدار بین مصرف‌کننده‌ها است و همچنین رشد و بقاء خوب این باکتری در پشمک به خصوص پشمک بدون قند، این محصول حامل خوبی برای باکتری‌های پروبیوتیک و رسیدن

نتایج اندازه‌گیری برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی

نتایج حاصل از آزمون‌های فیزیکی و شیمیایی نشان دهنده انطباق نمونه‌های پشمک با استاندارد ملی ایران شماره ۶۰۸۴- پشمک- ویژگی‌ها و روش‌های آزمون بود. همچنین میزان ایزومالت و استویا در نمونه پشمک بدون قند به ترتیب ۹۷ و ۳ درصد گزارش شد.

ویژگی حسی تیمارها

ارزیابی حسی تیمارها نشان داد نوع باکتری اثری بر قابلیت پذیرش تیمارها در پایان دوره نگهداری نداشت. از لحاظ طعم، احساس دهانی و ظاهر تفاوتی بین دو نمونه پشمک پروبیوتیک شده و پشمک معمولی فاقد باکتری وجود نداشت.

بحث و نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که باکتری پروبیوتیک باسیلوس کواگولانس (لاکتوباسیلوس اسپورائنز) بقاء و ماندگاری خوبی در هر دو نمونه پشمک معمولی و بدون قند دارد، به طوری که تعداد کلی باسیلوس کواگولانس در بدو تولید پشمک و همچنین مدت چهار ماه نگهداری پشمک در هر دو نمونه در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی‌گراد) از تعداد 10^6 cfu/g کمتر نشد. اما مطابق نمودار ۱ بقاء و ماندگاری باکتری باسیلوس کواگولانس در پشمک بدون قند بهتر است. این خاصیت احتمالاً به دلیل وجود ایزومالت و خواص پری‌بیوتیکی بودن آن می‌باشد. نتایج تحقیقات انجام شده بر روی یک نمونه گز با پایه شکر و گلوکز و ۲۸ درصد مغز پسته در شرکت گز سکه نیز نشان داد که باکتری باسیلوس

- 4- Sarraf, S., Sadeghy, H., Shirzad, M. (2012). Idea till Production Of Functional Synbiotic Nougaz. 13th Iranian pharmaceutical Science Congress. P-183.
- 5- Sarles, W.B., Hammer, B.W., 1932. Observation on Bacillus coagulans. J. Bacteriol. 23, 301-314.
- 6- J.R. Endres, A. Clewell, K.A. Jade, T. Farber, J.Hauswirth, A.G. Schauss. (2009). safety assessment of proprietary preparation of novel probiotic, bacillus coagulans, as a food ingredient. Food and Chemical Toxicology. 47. 1231-1238
- ۷- استاندارد ملی ایران به شماره ۶۰۸۴، پشمک، ویژگی‌ها و روش‌های آزمون
- ۸- صراف، س.، علیزاده، کاظمی نیا. ر.، ۱۳۹۰. گزارش روند از ارائه ایده تا تولید گز در واحد تحقیق و توسعه شرکت گز سکه. ص. ۱-۲۷.
- 9- Mortazavian AM, Sohrabvandi S, Probiotic and food probiotic product: based on dairy probiotic product. Tehran: Eta Publication 2006. P 54-150.
- 10-10- Possemiers, S., Marzorati, M., Verstraete, W., Van de Wiele, T. (2010). Bacteria and chocolate: A successful combination for probiotic delivery. International Journal of Food Microbiology. 141 97-103.

این باکتری‌ها به دستگاه گوارش می‌باشد. پی بردن به این که می‌توان پشمک را با سایر باکتری‌ها پروبیوتیک کرد به تحقیقات بیشتری نیاز دارد.

منابع

- ۱- محمدی، ر.، روحی لنگرودی، م.، مرتضویان، س. ا. م.، سلیمانی، م.، صبوری، صمد. ۱۳۹۱. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران. سال اثر نسبت شیر گاو به شیر سویا و نوع کشت آغازگر تجاری بر ویژگی‌های بیوشیمیایی، میکروبی و حسی دوغ سویای پروبیوتیک. سال هفتم. شماره ۵. ص ۵۱۱-۵۲۲.
- 2- Fazeli. MR., Amirmozafari. N., Golboojnejad. R., Jamalifar. H. (2007). Antagonistic action of watermelon Juice probioticated using different strain of Lactobacilli against Salmonella Typhimurium. Iranian J PublHalth. 36 (4): 70-73.
- 3- Anal, A.K., Singh, H., (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. Trends in Food Science and Technology 18, 240-251.