پایداری شیر پروبیوتیک تخمیری و غیر تخمیری تهیه شده با استفاده از سه گونه بومی لاکتوباسیلوس

مریم فردوسی فرد [a] ، محمدرضا فاضلی [b] ، نسرین صمدی [*b] ، حسین جمالی فر [c]

[a] کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

[b] دانشیار گروه کنترل دارو و غذا و مرکز تحقیقات تضمین کیفیت دارو، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

[c] کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه کنترل دارو و غذا، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۵/۳۰ تاریخ پذیرش مقاله:۱۳۸۹/۹/۱۳

چکیده

مقدمه: گسترش پروبیوتیک ها شاخص مهمی در پیشرفت صنایع غذایی کشور می‌باشد. در تولید فراورده های شیری پروبیوتیک، انتخاب سویه مناسب نقش مهمی را ایفا می‌کند و اغلب کارخانجات صنعتی نیز در این امر ممارست می‌ورزند. از این رو هدف از این تحقیق تولید شیر پروبیوتیک تخمیری و غیر تخمیری (شیرین) با استفاده از دو نوع شیر پاستوریزه و UHT (ultra- high temperature) و سه گونه مختلف جنس لاکتوباسیلوس شامل لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم و مقایسه تعداد باکتری های اسیدلاکتیک و هم چنین pH آن ها در مدت زمان ۱۴ روز نگهداری در دمای یخچال بوده است.

مواد و روش‌ها: کشت ۲۴ ساعته باکتری‌های اسیدلاکتیک شامل لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به طور جداگانه به دو نوع شیر پاستوریزه و UHT صنعتی تلقیح شد. تراکم میکروبی هنگام تلقیح برای شیر شیرین و تخمیری به ترتیب 10^7 CFU/ml و 10^4 CFU/ml بود. سپس به منظور تهیه شیر پروبیوتیک شیرین و تخمیری نمونه‌ها به ترتیب در دمای ۴°C و ۳۷°C نگهداری شدند و تعداد باکتری های زنده و pH هر فراورده در فواصل زمانی مشخص تعیین گردید.

یافته‌ها: در مورد شیر های تخمیری تعداد هر سه نوع باکتری اسیدلاکتیک در دو نوع شیر پاستوریزه و UHT پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷°C به حدود 10^7-10^8 CFU /ml رسید. pH شیر UHT تخمیری بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری حداکثرتا ۵/۷ کاهش یافت در حالی که pH شیر پاستوریزه تخمیری تا حدود ۴/۵ افت کرد. هر دو شیر تخمیری پس از ۱۰ ساعت گرمخانه گذاری با توجه به رسیدن به حد مطلوب 10^6-10^7 CFU/ml باکتری لاکتیک اسید و همچنین داشتن شکل ظاهری مناسب، برای بررسی مطالعات پایداری به یخچال منتقل گردیدند. شیر پاستوریزه تخمیری، ۲ روز پس از انتقال به یخچال دلمه شده و از مطالعه خارج گردید، در حالیکه pH شیر UHT تخمیری در طی ۱۴ روز نگهداری در یخچال تقریباً ثابت باقی ماند و افزایش کمی در تعداد باکتری های اسیدلاکتیک مشاهده شد. در خصوص شیر پروبیوتیک شیرین تهیه شده با شیر UHT در مدت ۱۴ روز نگهداری در یخچال، تعداد باکتری ها حداکثر ۱ سیکل لگاریتمی افزایش نشان داد و میزان pH نیز تقریباً در حد اولیه ثابت ماند. pH شیر پاستوریزه شیرین از ۶/۴ تا حدود ۵ کاهش یافت و تعداد باکتری ها نیز ۱ تا ۲ سیکل لگاریتمی افزایش نشان داد.

نتیجه گیری: لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم اثر یکسانی در تهیه شیر پروبیوتیک شیرین و تخمیری داشتند. شیر پروبیوتیک تخمیری تهیه شده با شیر UHT طی ۱۴ روز نگهداری در یخچال پایدار ماند. در مورد شیر پروبیوتیک شیرین تهیه شده با شیر UHT نیز تغییرات pH کمتر از شیر پاستوریزه بود. بنابراین به نظر می‌رسد با استفاده از شیر UHT می‌توان شیر پروبیوتیک تخمیری و شیرین حاوی تعداد کافی از باکتری های اسیدلاکتیک تولید نمود.

واژه های کلیدی: *پروبیوتیک، شیر، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس کازئی*

*نویسنده مسئول مکاتبات email: samadin@sina.tums.ac.ir

ifrn.srbiau.ac.ir

مقدمه

امروزه مصرف کنندگان مواد غذایی به مواردی مانند طعم مطبوع، پایین بودن کالری و چربی و اثر مفید غذا بر سلامتی توجه خاصی دارند. از این رو صنایع غذایی در تلاش است محصولاتی تولید نماید که طعم و خواص بهتری داشته باشند که در این بین فراورده های شیری فراوری شده با پروبیوتیک ها از اهمیت زیادی در ارتقاء سلامت برخوردار می‌باشند (Oliveira, 2009). در سال‌های اخیر میل به استفاده از باکتری های مفیدی به نام پروبیوتیک ها به عنوان یک رژیم کمکی در صنایع غذایی رو به رشد بوده است. باکتری های پروبیوتیک مورد استفاده در فراورده‌های رایج امروزه بیشتر گونه‌های مختلف جنس لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم هستند(Heller, 2001). پروبیوتیک ها در درمان و پیشگیری بیماری‌هایی نظیر آلرژی، اسهال، عدم تحمل لاکتوز، عفونت دستگاه ادراری، عفونت با هلیکو باکتر، سندروم روده تحریک پذیر، التهاب روده و التهاب مزمن سینوس‌ها مؤثر می‌باشند (Prado, 2008; Hamilton, 2003; Vasiljevic, 2008). به منظور اثر بخشی پروبیوتیک ها برای انسان، تعداد میکروارگانیسم‌های زنده باید بیش از log CFU/g ۶ باشد تا میزان مناسب دوز روزانه $۱۰^{۹}$-$۱۰^{۶}$ باکتری زنده را فراهم کند (Ostli, 2005). باکتری‌های پروبیوتیک به‌صورت مکمل‌های غذایی یا فراورده‌های دارویی عرضه می‌شوند. نتایج برخی تحقیقات نشان داده است که بهترین تأثیر زمانی است که این باکتری‌ها به فرآورده غذایی اضافه شوند (Zuleta, 2004). یکی از پر مصرف‌ترین فراورده-ها در سبد غذایی خانواده ها شیر می‌باشد که علاوه بر ایجاد محیطی مناسب جهت رشد و بقاء پروبیوتیک‌ها با داشتن خواص تغذیه‌ای خاص خود محصولی با ارزش را به مصرف کننده عرضه می‌کند. ماست و شیرهای پروبیوتیک به روش‌های مختلفی مانند اضافه کردن باکتری‌ها به شیر تازه بدون انجام عمل تخمیر (مانند sweet milk) یا تخمیر شیر توسط باکتری‌های پروبیوتیک (مانند Yakult) تولید می‌شوند (Avonts, 2004). اضافه کردن پروبیوتیک‌ها به فراورده های شیری تخمیری منجر به حفاظت شیر با تولید اسیدلاکتیک و ترکیبات ضد میکروبی و افزایش ارزش تغذیه‌ای غذا با تولید ترکیباتی مانند اسید های آمینه آزاد و ویتامین‌ها می‌شود (Parvez, 2006). در میان لاکتوباسیلوس‌ها، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی فلور نرمال روده‌ٔ انسان بوده و با محیط دستگاه گوارش سازگار می‌باشند (Minelli, 2004; Vinderola, 2000). لاکتوباسیلوس پلانتاروم نیز باکتری تطابق پذیری است که می‌تواند در محیط‌های مختلفی مانند لبنیات، گوشت و بسیاری از سبزیجات تخمیری زندگی کند (De Vries, 2006).

از آنجایی که تاکنون مطالعه ای در خصوص تهیه شیر پروبیوتیک با استفاده از شیرهای تولید شده در ایران و همچنین سویه‌های لاکتوباسیلوس بومی ایران صورت نگرفته است، هدف از این تحقیق تولید شیر پروبیوتیک تخمیری و غیر تخمیری (شیرین) با استفاده از گونه های مختلف جنس لاکتوباسیلوس شامل لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم و بررسی برخی خصوصیات شیر پروبیوتیک تهیه شده مانند تعداد باکتری های زنده و pH آن بوده است.

مواد و روش ها

شیر UHT و پاستوریزه ۲/۵٪ چربی از کارخانه پگاه تهران تهیه شدند. سه سویه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس PTCC 1643، لاکتوباسیلوس کازئی PTCC 1608، لاکتوباسیلوس پلانتاروم PTCC 1058 از ذخیره میکروبی آزمایشگاه تحقیقات پروبیوتیک دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه شدند. برای کشت و فعال سازی باکتری ها از محیط MRS agarیا MRS broth و دمای ۳۷ °C و ۵٪ CO_2 استفاده گردید.

۱. تعیین بار میکروبی اولیه شیر پاستوریزه و UHT

برای این منظور با استفاده از آب مقطر استریل رقت‌های مختلف از نمونه شیر تهیه گردید و تعداد باکتری های زنده به روش شمارش در پلیت تعیین شد. برای شمارش لاکتوباسیلوس‌ها از محیط MRS agar (دمای ۳۷ °C، ۵٪ CO_2 به مدت ۴۸ ساعت) و سایر باکتری ها از محیط Tryptic soy agar (دمای ۳۷ °C، به مدت ۴۸ ساعت) استفاده گردید (Rodrigueze, 2000). هر آزمایش حداقل سه بار تکرار شد و نتایج به صورت میانگین CFU /ml شیر بیان گردید.

ifn.srbiau.ac.ir

۲. تهیه شیر پروبیوتیک غیر تخمیری (شیرین)

کشت ۲۴ ساعته باکتری ها در محیط MRS broth به طور جداگانه در دور g ×۵۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. مایع رویی دور ریخته شد و سلول‌ها با آب مقطر استریل شستشو داده شد. عمل شستشو یک بار دیگر نیز تکرار گردید. سپس سلول ها در حجم مناسبی از آب مقطر استریل سوسپانسیون شدند به طوری که غلظتی معادل $۱۰^{۹}$ CFU/ml ایجاد شود.

سپس از این سوسپانسیون به میزان ۱٪ حجمی/ حجمی به طور جداگانه به شیر پاستوریزه و UHT تلقیح گردید. ظروف حاوی شیر تلقیح شده به یخچال با دمای حدود ۴°C برای مدت ۱۴ روز منتقل شدند. سپس هر ۲ روز تعداد باکتری های زنده موجود در شیر به روش شمارش در پلیت و تغییرات pH با استفاده از دستگاه pH متر (HANNA,Spain) تعیین گردید.

۳. تهیه شیر پروبیوتیک تخمیری

- تعیین زمان بهینه گرمخانه گذاری برای تهیه شیر پروبیوتیک تخمیری

برای این منظور ابتدا از کشت ۲۴ ساعته باکتری های مورد آزمایش سوسپانسیونی با غلظت $۱۰^{۹}$ CFU/ml (مانند روش ذکر شده برای تهیه شیر پروبیوتیک شیرین) تهیه گردید. سپس این سوسپانسیون تا غلظت $۱۰^{۶}$CFU/ml رقیق گردید. از این سوسپانسیون به میزان ۱٪ حجمی/ حجمی به طور جداگانه به شیر پاستوریزه و UHT تلقیح شد.ظروف حاوی شیر تلقیح شده به گرمخانه ۳۷°C دارای ۵٪ CO_2 منتقل شدند و تعداد باکتری های زنده و تغییرات pH در فواصل زمانی مشخص تعیین گردید.

- بررسی پایداری شیر پروبیوتیک تخمیری در یخچال

پس از ۱۰ ساعت گرمخانه گذاری ظروف حاوی شیر تلقیح شده با هر یک از باکتری های مورد آزمایش، نمونه ها به یخچال با دمای حدود ۴°C منتقل شدند و تعداد باکتری های زنده و pH آن ها در فواصل زمانی مشخص تا ۱۴ روز تعیین گردید.

- تجزیه و تحلیل آماری

محاسبات آماری با استفاده از آزمون ANOVA توسط نرم افزار Design of Experiment و با روش General Factorial انجام شد و $p < ۰/۰۱$ به معنی وجود اختلاف معنی دار بین داده ها در نظر گرفته شد.

یافته ها

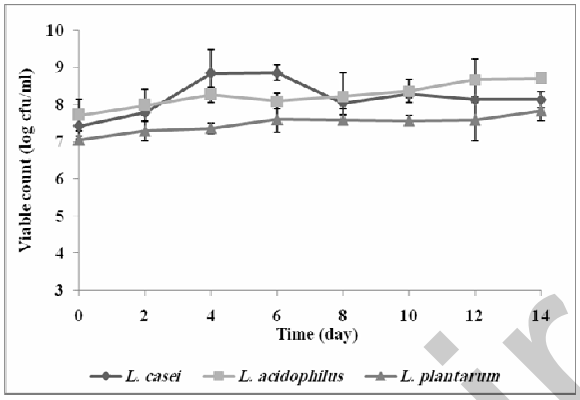
در شیر پاستوریزه حدود $۱۰^{۲}$ CFU/ml باکتری در محیط MRS agar و $۱۰^{۴}$ CFU /ml باکتری در محیطTryptic soy agar شمارش گردید. در مورد شیر UHT هیچ گونه باکتری در محیط MRS agar و Tryptic soy agar مشاهده نگردید.

نتایج مربوط به تغییرات تعداد لاکتوباسیلوس های زنده در شیر UHT غیر تخمیری (شیرین) در شکل ۱- الف نشان داده شده است. در طی چهارده روز نگهداری در یخچال تعداد لاکتوباسیلوس پلانتاروم نسبت به تعداد اولیه افزایشی نشان نداده است ($۱۰^{۷}$ CFU /ml)، اما تعداد لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در روز چهارم ۱ سیکل لگاریتمی افزایش یافته و به $۱۰^{۸}$ CFU /ml رسیده است، که این تعداد تا روز چهاردهم تقریباً ثابت باقی مانده است.

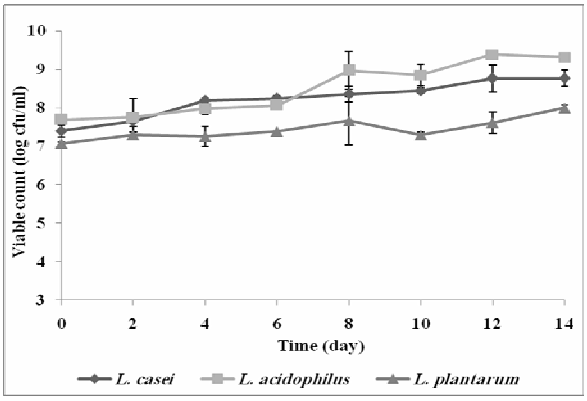
همان طور که در شکل ۱- ب مشخص است روند رشد باکتری ها در شیر پاستوریزه شیرین مشابه شیر UHT می‌باشد. با این تفاوت که میزان رشد در این شیر بیشتر بوده است. بعد از ۱۴ روز نگهداری در یخچال لاکتوباسیلوس پلانتاروم کمتر از ۱ سیکل لگاریتمی و لاکتوباسیلوس کازئی در حدود ۱ سیکل لگاریتمی افزایش رشد نشان دادند. لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس با ۲ سیکل لگاریتمی افزایش، بیشترین تعداد را نشان داد (CFU /ml $۱۰^{۹}$).

محاسبات آماری در مورد شیر شیرین مشخص نمود نوع شیر اثر معنی داری ($p<۰/۰۰۰۱$) بر قابلیت زیستی لاکتوباسیلوس ها می‌گذارد. همچنین اثر تداخل نوع شیر و سویه لاکتوباسیلوس و اثر تداخل سویه لاکتوباسیلوس و زمان نیز معنی دار بود ($p<۰/۰۰۰۱$).

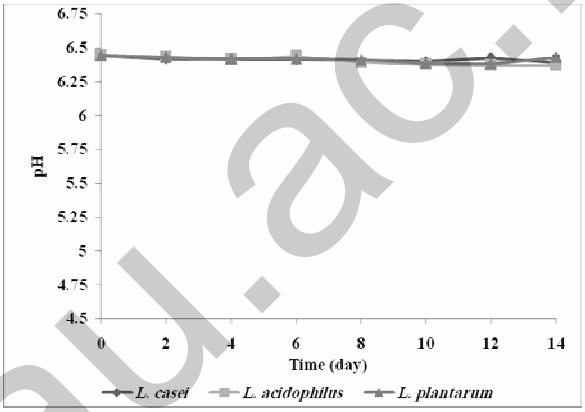
ifrn.srbiau.ac.ir



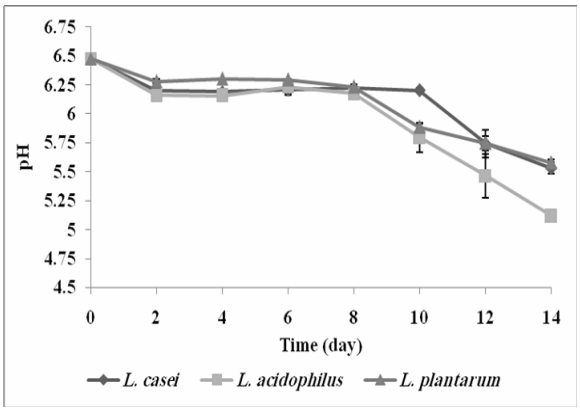
۱- الف) تغییرات تعداد لاکتوباسیلوس ها در شیر UHT شیرین



۱- ب) تغییرات تعداد لاکتوباسیلوس ها در شیر پاستوریزه شیرین



۱- ج) تغییرات pH شیرUHT شیرین



۱- د) تغییرات pH شیر پاستوریزه شیرین

شکل ۱- تغییرات تعداد لاکتوباسیلوس های زنده و pH شیر شیرین پروبیوتیک در مدت نگهداری در یخچال (۴ °C)

شکل های ۱- ج و ۱- د بیانگر تغییرات pH شیر UHT و پاستوریزه شیرین می‌باشند. طی ۱۴ روز نگهداری در یخچال، pH شیر UHT تلقیح شده با هر سه سویه تغییر محسوسی نداشت و در حد pH اولیه (۶/۴) باقی ماند.

pH شیر پاستوریزه شیرین تلقیح شده با لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس کازئی در طی ۱۴ روز نگهداری در یخچال، از مقدار اولیه ۶/۴ به ۵/۵ و با لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به ۵/۱ رسید.

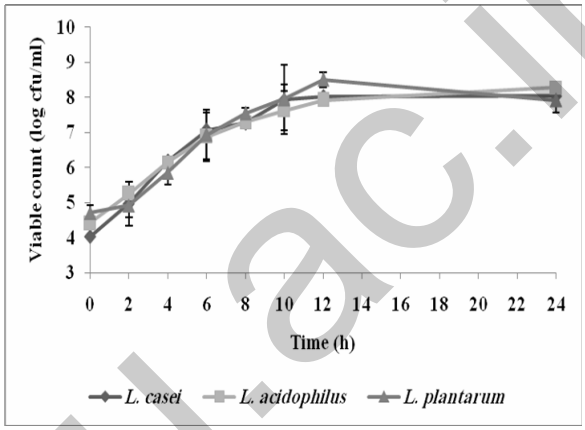
محاسبات آماری نشان داد نوع شیر اثر معنی داری ($p<۰/۰۰۰۱$) بر تغییرات pH می‌گذارد. همچنین اثر تداخل نوع شیر و سویه لاکتوباسیلوس و اثر تداخل سویه لاکتوباسیلوس و زمان نیز معنی دار بود ($p<۰/۰۰۰۱$).

شکل۲- الف بیانگر تغییرات تعداد لاکتوباسیلوس‌های زنده در شیر پاستوریزه تخمیری می‌باشد. رشد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس از ساعت دوم و رشد لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم از ساعت چهارم آغاز گردید. بعد از ۲۴ ساعت تعداد لاکتوباسیلوس پلانتاروم در حدود ۳ سیکل لگاریتمی ($۱۰^{۷}$ CFU /ml) و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی ۴ سیکل لگاریتمی افزایش یافت ($۱۰^{۸}$ CFU /ml).

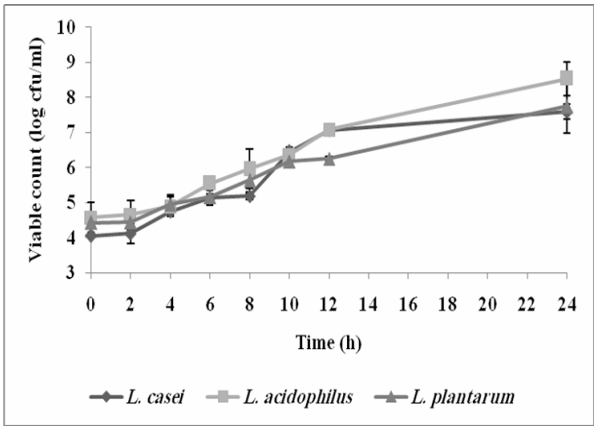
بررسی تغییرات تعداد لاکتوباسیلوس‌های زنده در شیر UHT تخمیری طبق شکل ۲- ب مشخص نمود که رشد هر سه سویه از ساعت ششم آغاز گردید. بعد از ۲۴ ساعت، لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس کازئی در حدود ۳ سیکل‌لگاریتمی ($۱۰^{۷}$CFU/ml) و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در حدود ۴ سیکل لگاریتمی ($۱۰^{۸}$ CFU /ml) افزایش رشد نشان دادند. در ساعت ۱۰ گرمخانه گذاری تعداد باکتری ها به حدود $۱۰^{۶}$CFU/ml که حد قابل قبولی برای فراورده های پروبیوتیک می‌باشد رسید. مطالعات آماری نشان داد نوع شیر اثر معنی‌داری ($p<۰/۰۰۰۱$) بر تعداد لاکتوباسیلوس های زنده می‌گذارد. همچنین اثر تداخل نوع شیر و سویه لاکتوباسیلوس و اثر تداخل سویه لاکتوباسیلوس و زمان نیز معنی دار بود ($p<۰/۰۰۰۱$).

jftn.srbiau.ac.ir

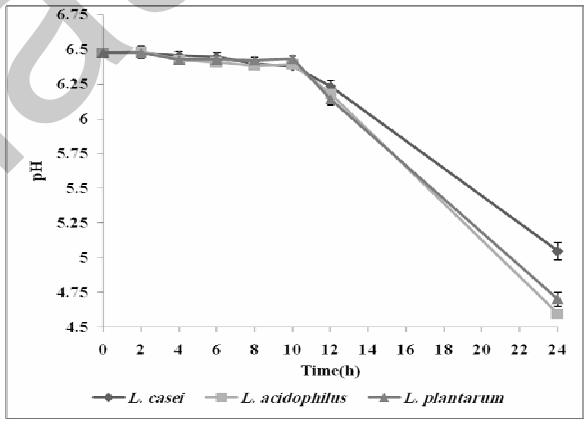
همان طور که در شکل ۲- ج مشخص است pH شیر پاستوریزه تخمیری تهیه شده با لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری از میزان اولیه ۶/۴ به ۵، ۴/۷ و ۴/۵ کاهش یافت. همان طور که در شکل ۲- د نشان داده شده است pH شیرUHT تخمیری تلقیح شده با لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم در حد pH اولیه ۶/۴ باقی ماند اما pH شیر تهیه شده با لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس تا ۵/۷ کاهش یافت. محاسبات آماری نشان داد نوع شیر و تداخل سویه لاکتوباسیلوس و زمان اثر معنی داری بر تغییرات pH می‌گذارد ($p<۰/۰۰۰۱$) همچنین تداخل نوع شیر و سویه لاکتوباسیلوس معنی دار($p=۰/۰۰۰۱$) بود.



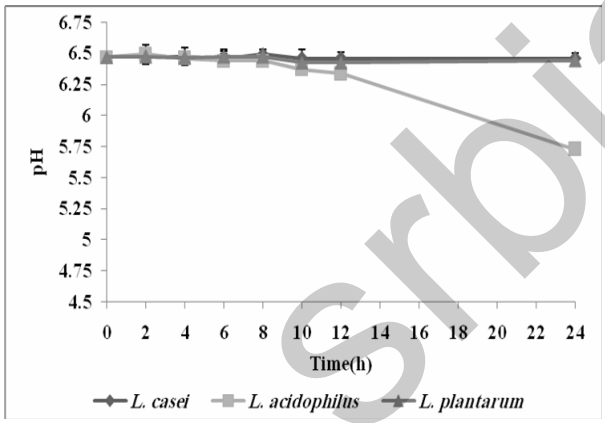
۲- الف) تغییرات تعداد لاکتوباسیلوس ها در شیر پاستوریزه تخمیری



۲- ب) تغییرات تعداد لاکتوباسیلوس ها در شیر UHT تخمیری

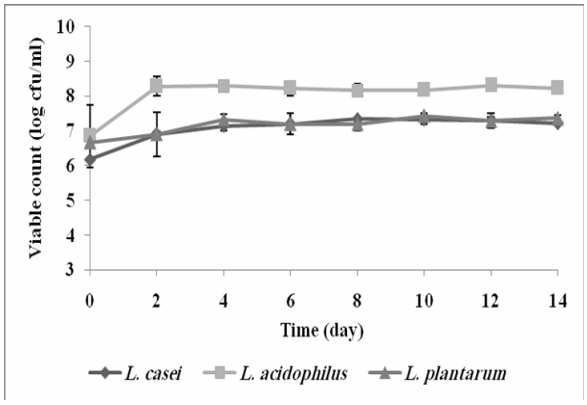


۲- ج) pH شیر پاستوریزه تخمیری

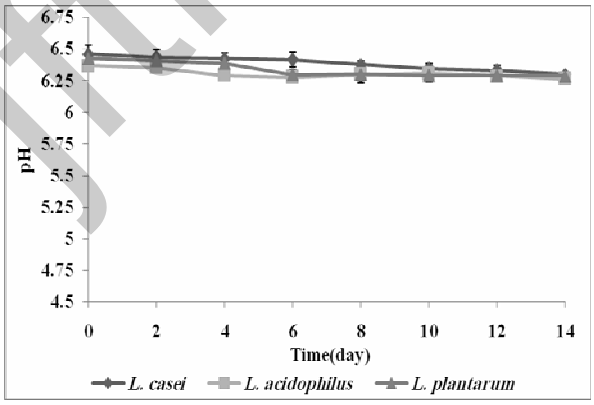


۲- د) pH شیر UHT تخمیری

شکل ۲- تغییرات تعداد لاکتوباسیلوس های زنده و pH شیر تخمیری در گرمخانه (۳۷ °C)



۳- الف) تغییرات تعداد لاکتوباسیلوس ها در شیر UHT تخمیری در یخچال



۳- ب) تغییرات pH شیرUHT تخمیری در یخچال

شکل۳- تغییرات تعداد لاکتوباسیلوس های زنده و pH شیر UHT تخمیری در یخچال (۴ °C)

ijtn.srbiau.ac.ir

شکل ۳- الف بیانگر تغییرات تعداد باکتری های زنده در شیر UHT تخمیری در مدت ۱۴ روز نگهداری در یخچال (۴°C) می‌باشد. در طی این مدت تعداد باکتری‌ها با روندی آهسته افزایش یافت. رشد لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم از روز چهارم آغاز شد و در پایان روز چهاردهم در حدود ۱ سیکل لگاریتمی افزایش نشان داد ($۱۰^{۷}$CFU/ml). رشد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس با بیشترین افزایش از روز دوم آغاز شد و در روز چهاردهم ۲ سیکل لگاریتمی افزایش نشان داد ($۱۰^{۸}$CFU/ml).

pH شیر UHT تخمیری در مدت نگهداری در یخچال تغییرات محسوسی نداشت (شکل ۳- ب) و در پایان روز چهاردهم pH شیر تهیه شده با هر سه سویه در حد pH اولیه (۶/۴) باقی ماند. محاسبات آماری در مورد شیرUHT تخمیری نشان داد نوع سویه اثر معنی داری ($p<۰/۰۰۰۱$) بر قابلیت زیستی لاکتوباسیلوس ها و تغییرات pH می‌گذارد. اثر تداخل سویه لاکتوباسیلوس و زمان نیز بر قابلیت زیستی لاکتوباسیلوس‌ها معنی دار بود ($p<۰/۰۰۰۱$). در حالی که اثر تداخل سویه و زمان بر تغییرات pH معنی دار نبود ($p=۰/۶$).

در رابطه با شیر پاستوریزه تخمیری از آنجا که پس از انتقال به یخچال خواص ظاهری شیر کاملاً تغییر کرد و دلمه شد، از مطالعه خارج گردید.

بحث

به منظور توسعه فراورده های پروبیوتیک باید توجه خاصی به انتخاب سویه ها بر اساس معیار عملکردی و محیط پایه اعمال گردد، گاهی انتخاب نامناسب منجر به تولید محصولی نامطلوب می‌شود. از این رو در این مطالعه سعی شد به منظور تهیه شیر پروبیوتیک از شیرهای تولید شده در ایران و هم چنین سویه های لاکتوباسیلوس بومی ایران استفاده گردد. نتایج این تحقیق نشان داد لاکتوباسیلوس ها در شیرUHT تخمیری و غیر تخمیری و پاستوریزه غیر تخمیری در دمای یخچال (۴°C) پایدار و فعال باقی ماندند وگاه روند رو به رشد داشتند. در طی نگهداری در یخچال، pH شیر UHT تخمیری و غیر تخمیری تلقیح شده با هر سه سویه به کندی و به میزان بسیار کمی کاهش یافت ولی pH شیر پاستوریزه غیر تخمیری به میزان بیشتری کاهش یافت که آن را می توان به بار میکروبی ذاتی شیر پاستوریزه نسبت داد.

Ronka و همکاران نشان دادند pH شیر بدون چربی (skim milk) تهیه شده با سویه های لاکتوباسیلوس برویس در مدت ۲۰/۵ ساعت تخمیر در دمای ۳۷°C، تغییر محسوسی نمی‌کند (Ronka, 2003). نتایج این مطالعه نشان داد که در مدت ۲۴ ساعت تخمیر pH شیر UHT تخمیری تهیه شده با لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس حداکثر تا حدود ۵ کاهش می‌یابد، در حالی که pH شیر پاستوریزه‌تخمیری تهیه‌شده با لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس پلانتاروم تا حدود ۴ کاهش یافت.

Georgieva و همکاران بر روی شیر تخمیر شده با لاکتوباسیلوس پلانتاروم مطالعاتی انجام دادند. در این تحقیق در حدود $۱۰^{۶}$ CFU/ml باکتری به شیر بدون چربی (skim milk) تلقیح شد. طی زمان تخمیر تعداد باکتری ها ۲ سیکل لگاریتمی افزایش یافت و در زمان نگهداری در یخچال تا روز ۲۸، حیات باکتری ها در حد مطلوبی حفظ شد و به حدود $۱۰^{۷}$ CFU/ml رسید، لذا شیر تخمیری حامل مناسبی برای سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم در نظر گرفته شد که می‌تواند حاوی تعداد بالایی از سلول های زنده در فراورده نهایی در زمان مصرف باشد (Georgieva, 2009). در این مطالعه نیز تعداد لاکتوباسیلوس پلانتاروم در شیر UHT طی زمان تخمیر ۲ سیکل لگاریتمی افزایش یافت ($۱۰^{۶}$ CFU/ml) و در مدت نگهداری در یخچال نیز پایدار ماند و به $۱۰^{۷}$ CFU/ml رسید. نتایج این تحقیق نشان داد که علاوه بر لاکتوباسیلوس پلانتاروم، تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی نیز طی زمان تخمیر در حد قابل قبولی افزایش می‌یابد.

فاکتور های زیادی در شیر تخمیری شناسایی شده‌اند که می‌توانند بر حیات باکتری ها اثر بگذارند که شامل pH و سطح اسیدی، حضور سایر میکروارگانیسم ها، دمای گرمخانه‌گذاری و حضور اکسیژن است. طبق یافته Shah کاهش تعداد لاکتوباسیلوس‌ها در فراورده‌های پروبیوتیک احتمالاً به علت آسیب اسید به ارگانیسم ها می‌باشد. Klaver و همکاران نیز نشان دادند که علت رشد آهسته باکتری ها در حین تخمیر می‌تواند کمبود فعالیت پروتئولیتیکی آن ها باشد (Damin, 2008).

Samona حداقل میزان باکتری های پروبیوتیک بکار رفته در فراورده های پروبیوتیک را $۱۰^{۶}$ CFU /ml بیان نمود (Ostli, 2005). در این مطالعه نیز تعداد

jftn.srbiau.ac.ir

باکتری‌های پروبیوتیک زنده موجود در شیر پاستوریزه شیرین و UHT تخمیری و شیرین در طی ۱۴ روز نگهداری در یخچال در حد قابل قبول 10^{9} CFU/ml – 10^{7} گزارش گردید.

در تحقیقی دیگر توسط Ronka و همکاران تغییرات تعداد ۲ سویه متفاوت لاکتوباسیلوس برویس در شیر شیرین در مدت ۲۲ روز نگهداری در یخچال سنجیده شد. در پایان این مدت تعداد لاکتوباسیلوس برویس GRL1 در حد تلقیح اولیه باقی ماند، اما تعداد لاکتوباسیلوس برویس GRL62 در حد ۱ سیکل لگاریتمی کاهش یافت (Ronka, 2003). در این مطالعه پس از ۱۴ روز نگهداری شیر پاستوریزه و UHT شیرین در یخچال تعداد لاکتوباسیلوس پلانتاروم در حد تلقیح اولیه ماند (10^{7} CFU/ml) و تعداد لاکتوباسیلوس کازئی ۱ سیکل لگاریتمی افزایش یافت (10^{8} CFU/ml)، در حالی که تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در شیرUHT شیرین ۱ سیکل لگاریتمی (10^{8} CFU/ml) و در شیر پاستوریزه شیرین ۲سیکل لگاریتمی افزایش یافت (10^{9} CFU/ml).

در تحقیقات مختلف مشخص شده غذا رایج ترین سیستم حامل برای باکتری های پروبیوتیک می‌باشد. به گونه‌ای که ترکیبات غذا باکتری های پروبیوتیک را از شرایط اسیدی حفاظت می‌کنند و در نتیجه حیات آن ها را در محیط معده افزایش می‌دهند. همچنین شیر حیات سویه‌های بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیلوس حساس به اسید را در طول عبور از شرایط شبه مجرای گوارشی افزایش می‌دهد که طبق نظر Conway و همکاران این اثر حفاظتی ممکن است به علت افزایش pH روده بعد از اضافه شدن شیر باشد (Huang, 2004). نتایج این مطالعه نشان داد که شیر می‌تواند حامل مناسبی برای تهیه فراورده های پروبیوتیک باشد.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که شیر پاستوریزه و شیر UHT می‌تواند به عنوان محیط مناسبی برای تهیه شیر پروبیوتیک غیر تخمیری با استفاده از سه سویه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم استفاده گردد. شیر UHT با توجه به عاری بودن از هر گونه میکروارگانیسم می‌تواند به عنوان محیط مناسبی برای تهیه شیر پروبیوتیک تخمیری نیز استفاده گردد. علت پایداری شیر پروبیوتیک در مقایسه با شیر معمولی را می‌توان به تولید اسیدلاکتیک و ترکیبات ضد میکروبی توسط لاکتوباسیلوس ها نسبت داد که منجر به حفاظت شیر می‌شود.

سپاسگزاری

از مسئولان محترم آزمایشگاه کنترل دارو و غذا، دانشکده داروسازی دانشگاه تهران که امکانات اجرایی این تحقیق را فراهم نمودند، قدردانی می‌شود.

منابع

Avonts, L., Uytven, E.V. & De Vuyst, L. (2004). Cell growth and bacteriocin production of probiotic *Lactobacillus* strains in different media. International Dairy Journal, 14, 947–955.

Damin, M. R., Minowa, E., Alcantara, M. R. & Oliveira, M. N. (2008). Effect of cold storage on culture viability and some rheological properties of fermented milk prepared with yogurt and probiotic bacteria. Journal of Texture Studies , 39, 40–55.

De Vries M. C., Vaughan, E., Kleerebezem M. & DeVos W. M. (2006). *Lactobacillus plantarum*- survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract. International Dairy Journal, 16, 1018–1028.

Georgieva, R., Iliev, I., Haertle, T., Chobert, J. M. Ivanova, I. & Danova, S. (2009). Technological properties of candidate probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. International Dairy Journal , 19, 696–702.

Hamilton-Miller, J. M. T. (2003). The role of probiotics in the treatment and prevention of *Helicobacter pylori* infection. International Journal of Antimicrobial Agents, 22, 360–366.

Heller, K. J. (2001). Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. Am J Clin Nutr, 73(suppl), 374S–9S.

Huang, Y. & Adams M. C. (2004). In vitro assessment of the upper gastrointestinal tolerance of potential probiotic dairy propioni bacteria. International Journal of Food Microbiology, 91, 253-260.

jfn.srbiau.ac.ir

Minelli, E. B., Benini, A., Marzotto, M., Sbarbati, A., Ruzzenente, O. & Ferrario, R. (2004). Assessment of novel probiotic *Lactobacillus casei* strains for the production of functional dairy foods. International Dairy Journal, 14, 723–736.

Oliveira, R. P. S., Florence, A. C. R., Silva, R. C., Perego, P., Converti, A. & Gioielli, L. A. (2009). Effect of different prebiotics on the fermentation kinetics, probiotic survival and fatty acids profiles in nonfat symbiotic fermented milk. International Journal of Food Microbiology, 128, 467–472.

Ostlie, H. M., Treimo, J. & Narvhus, J. A. (2005). Effect of temperature on growth andmetabolism of probiotic bacteria in milk. International Dairy Journal, 15, 989–997.

Parvez, S., Malik, K. A., Kang, S. A. & Kim, H.Y. (2006). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. Journal of Applied Microbiology, 100, 1171–1185.

Prado, F. C., Parada, J. L., Pandey, A. & Soccol, C. R. (2008). Trends in non-dairy probiotic beverages. Food Research International, 41, 111–123.

Rodrigueze, E., Gonzalez, B., Gaya, P., Nunez, M. & Medina, M. (2000). Diversity of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from raw milk. International Dairy Journal,10, 7-15.

Ronka, E., Malinen, E., Saarela, M., Koski, M. R., Aarnikunnas, J. & Palva, A. (2003). Probiotic and milk technological properties of *Lactobacillus brevis* .International Journal of Food Microbiology, 83, 63– 74.

Vasiljevic, T. & Shah, N. P. (2008). Probiotics-From Metchnikoff to bioactives. International Dairy Journal, 18, 714– 728.

Vinderola, C. G. & Reinheimer, J. A. (2000). Enumeration of Lactobacillus casei in the presence of *L.acidophilus*, *bifdobacteria* and lactic starter bacteria in fermented dairy products. International Dairy Journal, 10, 271-275.

Zuleta, A., Sarchi, M., Rio, M., Sambucetti, M., Mora, M. & Defabrizio, S. (2004). Fermented Milk–Starch and Milk–Inulin Products as Vehicles for Lactic Acid Bacteria. Plant Foods for Human Nutritio, 59, 155–160.

jftn.srbiau.ac.ir

Food Technology & Nutrition / Fall 2011 / Vol. 8 / No. 4

The Stability of Fermented and Non-Fermented Probiotic Milk Produced by Three Species of Autochthonous *Lactobacillus*

M. Ferdowsifard[a], M. Fazeli[b], N. Samadi[b]*, H. Jamalifar[c]

[a] M. Sc. in Microbiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[b] Associate Professor of the Department of Drug and Food Control and Pharmaceuticals Quality Assurance Research Center, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences.

[c] M. Sc. in Microbiology of the Department of Drug and Food Control, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences.

Received: 21 August 2010 Accepted: 19 January 2010

Abstracts

Introduction: The development of probiotics has signaled an important advance in the food industry. Selection for appropriate strain is an important task for production of probiotic dairy products which is usually practiced by industrial companies. The aim of this study was to produce the fermented and non-fermented probiotic milk using UHT(ultra- high temperature) and pasteurized milks with three species of *Lactobacillus* including *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus*. The number of viable bacteria and also the pH of products were determined during 14 days storage at 4°C.

Materials and Methods: UHT and pasteurized milks were inoculated with one-day old cultures of the individual lactic acid bacteria of *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus*. Microbial concentration at the time of inoculation for sweet and fermented milk was 10^7 and 10^4 CFU/ml, respectively. The samples were incubated at 4°C and 37°C to obtain sweet and fermented probiotic milk products, respectively. The number of live bacteria and pH of each product were recorded at different time intervals.

Results: All the lactic acid bacteria reached the cell densities of about 10^7-10^8 CFU/ml in UHT and pasteurized milks during 24 hours incubation at 37 °C. The pH of fermented UHT milk decreased to 5.7 after 24 hours of incubation, while the pH of fermented pasteurized milk was dropped to 4.5. After 10 hours of incubation, the viable lactic acid bacteria in fermented milks reached to the 10^6-10^7 CFU/ml and was transferred to the refrigerator for stability studies. After 2 days of storage at refrigerator, the pasteurized milk was coagulated and was eliminated from the study, whereas during 14 days storage at refrigerator the pH of fermented UHT milk remained constant and the number of individual lactic acid bacteria were increased slowly.

The number of viable bacteria in the sweet milk produced by UHT milk was increased by about 1 log during 14 days storage at 4°C, while the pH remained unchanged. The pH of the sweet pasteurized milk dropped from 6.4 to 5 and the number of viable bacteria increased by 1 to 2 log.

Conclusion: Each of three species of *Lactobacillus* including *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus*, were suitable for preparation of sweet and fermented milk. Fermented probiotic milk prepared with UHT milk was stable during 14 days storage at 4°C. Also the pH variation in the sweet probiotic milk prepared with UHT milk was less than pasteurized milk. Sweet and fermented probiotic milk products containing sufficient amount of lactic acid bacteria might be prepared by using UHT milk.

Keywords: *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei, Lactobacillus plantarum, Milk, Probiotic.*

* Corresponding Authors: Samadin@sina.tums.ac.ir

علوم غذایی و تغذیه / پاییز ۱۳۹۰ / سال هشتم / شماره ۴

jfnr.srbiau.ac.ir