JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره چهاردهم، شماره دوم، ۱۳۹۷، پیاپی ۳۷: ۲۳-۱۵

تولید ماست پروبیوتیک با عصاره گیاه کنگر و کفیر پروبیوتیکی و ارزیابی اثر آن بر فعالیت باکتری‌های پروبیوتیکی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*

علی جواهری[۱]،آمنه خوشوقتی*[۲]، محمد حسین مرحمتی زاده[۳]

۱- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

۲- دانشیار،گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

۳- استادیار،گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۵ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۱۲

چکیده

مصرف فرآورده‌های پروبیوتیک به خصوص ماست بین مردم بسیار قابل قبول بوده و این امر به دلیل تاثیرآن‌ها بر سلامت مصرف‌کنندگان است.در این مطالعه اثر دوزهای مختلف عصاره گیاه کنگر (۰/۳ ٪، ۰/۶ ٪و۰/۹٪)و کفیر پروبیوتیک بر رشد باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در ماست بررسی شد.محصولات پروبیوتیک به روش استاندارد Tamime تولید شد. پس از آن محصولات از نظر حسی،pH،اسیدیته و شمارش میکروبی در طول دوره گرم‌خانه‌گذاری و نگه‌داری مورد بررسی قرار گرفتند.مقادیر حاصل از طریق آزمون‌های آماری توصیفی با استفاده از نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شد.نتایج نشان داد که زمان،تاثیر معنی-داری (P-Value<۰/۰۵)بر pHو اسیدیته دارد که با افزایش زمان، pH کاهش و اسیدیته افزایش می‌یابد.تعداد باکتری‌ها به $۱۰^{۱۰}$cfu/ml در طول مدت گرم‌خانه‌گذاری رسید و در طول مدت نگه‌داری تقریبا به همین مقدار باقی ماند.همچنین مشخص شد که افزایشِ غلظت عصاره-ی گیاه کنگر به همراه کفیر اثر مثبت بر روی رشد باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* دارد.در ارزیابی حسی، ماست حاوی ۰/۶ گرم *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بهترین طعم و بو را داشت و ماست حاوی ۰/۶ گرم *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* کمترین امتیاز را داشت.

کلمات کلیدی: پروبیوتیک،*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*،*بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*، کنگر، کفیر

* نویسنده مسئول: آمنه خوشوقتی

آدرس: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران .

پست الکترونیک: khoshvaghti2004@yahoo.com

مقدمه

مصرف محصولات لبنی به منظور حفظ سلامت و تغذیه انسان‌ها از مدت‌ها قبل متداول بوده و ماست از پر مصرف‌ترین آن‌ها به شمار می رود (۸،۲).

واژه پروبیوتیک (probiotic) واژه‌ای است یونانی که به معنای برای زندگی می‌باشد(۷).این واژه نخستین بار در سال ۱۹۵۴ در دست نوشته‌های فردی به نام ویرجیو(Virgio) به کار گرفته شده است. او در دست نوشته‌های خود به بررسی اثرات زیان‌بخش مصرف پادزیست‌ها بر جمعیت میکروبی روده پرداخته و پروبیوتیک‌ها را موادی دانسته که بر این فلور میکروبی اثر مطلوب دارند (۱۰) و در سال ۱۹۶۵ اصطلاح پروبیوتیک توسط لی(Lilley) و استیلول(Stillwell) برای مواد مترشحه به وسیله‌ی میکروارگانیسم‌ها به کار گرفته شد که موجب تحریک رشد سایر میکروارگانیسم‌ها می‌شد. بنابراین پروبیوتیک‌ها کاملاً در مقابل آنتی بیوتیک‌ها یا مواد پادزیست قرار می گیرند(۷).

در سال ۱۹۸۹ فولر(Fuller) پروبیوتیک، را به عنوان مکمل‌های غذایی میکروب‌های زنده که از طریق تعادل میکروفلور روده اثرات مفید در بدن میزبان ایجاد می‌نماید، تعریف نمود که در این اثرات مفید پروبیوتیک‌ها فقط از طریق میکروفلور روده شناخته شده‌اند (۷).

براساس مطالعات متعدد که برروی پروبیوتیک‌ها در جمعیت‌های انسانی و حیوانات مختلف آزمایشگاهی صورت گرفته است،خواص بسیار با ارزش از قبیل کمک به هضم لاکتوز، مقاومت در برابر پاتوژن‌های روده‌ای، درمان و پیش‌گیری از اسهال ویروسی و باکتریایی، اثر مهاری روی سرطان قولون، اثر پیش‌گیری روی سرطان مثانه، تقویت سیستم ایمنی، رشد باکتری‌های روده باریک، کاهش لیپیدهای خون و بیماری‌های قلبی و عروقی، درمان عفونت‌های مجاری ادراری تناسلی، درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط *هلیکو باکتر پیلوری*(*Helicobacter pylori*) و پیش‌گیری از انسفالوپاتی هپاتیک (Hepatic encephalopathy)، در مورد پروبیوتیک‌ها مطرح شده است، لذا تولید و عرضه فرآورده‌های پروبیوتیکی به بازارمصرف،از نظر ارزش غذایی بسیار مفید می‌باشد (۷، ۹، ۱۰).

ماست پروبیوتیک یا پروماست، یک فرآورده لبنی جدید است و در واقع یک ماست غنی شده است که با استفاده از آن نه تنها می توان از مزایای ماست بهره برد بلکه می‌توان باکتری‌های مفید و لازم بدن را نیز از این طریق تامین کرد.

لاکتیک اسید باکتری‌ها (LAB) و بیفیدوباکتریوم‌ها میکروب‌های متداولی هستند که به عنوان پروبیوتیک در دسترس می‌باشند.

امروزه لاکتوباسیل‌ها و بیفیدوباکترها بخش اعظمی از کشت‌های آغازگر پروبیوتیکی را تشکیل می‌دهند(۱۰).

کفیر برگرفته از کلمه‌ی ترکی(Keyfir) به معنای احساس خوب است. کفیر از تخمیر شیر با دانه‌های کفیر و محیط مادر آماده شده از دانه‌ها تولید می‌شود.

محصول کفیر چکیده‌ای از *لاکتو با سیلوس کفیرانوفاسینس* است که در سرتاسر دانه کفیر و مرکز آن به میزان زیادی وجود دارد. این دانه‌ها دارای ویژگی‌های ضد باکتریایی و ضد قارچی هستند.

مصرف کفیر موجب تسکین ناراحتی‌های روده‌ای، کاهش نفخ شکم و افزایش حرکات روده‌ای شده و نیز سبب سلامتی دستگاه گوارش می‌شود. همچنین کفیر علیه باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت فعالیت ضد باکتری و ضد قارچی دارد(۱۴).

گیاهان دارویی به روش‌های مختلف در همه فرهنگ‌ها استفاده می‌شود، اوج استفاده از داروهای گیاهی در اواخر سال ۱۸۰۰ و اوائل ۱۹۰۰ بوده است. در واقع داروهای گیاهی نقش مهمی در درمان و پیش‌گیری از بیماری‌های ناتوان‌کننده دارد. کنگر صحرایی گیاهی است پایا از تیرهCompisitae که به فرانسوی Chardonetteگفته می‌شود، نام علمی آن *Gundelia tournefortii L.*است (۱).

از نظر ارتفاع کوچک است و دارای برگ‌های خیلی کوچک با دم برگ‌های گوشتی خوراکی با رنگ روشن منتهی به قسمت سبز برگ(که آن هم به خارهایی منتهی می‌باشد) است. کنگر در ایران در کوه-های جنوب کرمان، نزدیک اصفهان،خرم‌آباد غرب، آبادان، کازرون، اراک، بیشه، رزوند و کوه‌های منطقه مرکزی به طور وحشی می روید (۱).

اثرات مفید داروهای گیاهی و از طرفی ناچیز بودن عوارض جانبی این گیاهان رویکرد بیماران و پزشکان را به این داروها روز به روز بیشتر کرده است .کشور ما دارای غنی‌ترین منابع گیاهی از نظر مقدار و تنوع و بهترین گونه‌های گیاهی با بالاترین مواد مؤثر در سطح جهان می‌باشد.

این پژوهش به منظور تعیین تاثیر دوزهای مختلف عصاره‌ی گیاه کنگروهمچنین دوزهای مختلف باکتری های پروبیوتیک*لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس و بیفید و باکتریوم بیفیدوم* و کفیر بر ماست و نیز اثر گیاه کنگر و کفیر بررشد این باکتری‌های پروبیوتیک، در ۱۲ گروه متفاوت انجام شد و ماست‌های پروبیوتیک همراه با عصاره‌ی گیاه کنگر و کفیر پروبیوتیک در دوزهای مختلف تولید شد.همچنین اسیدیته،pH و رشد میکروب‌ها در دوران گرمخانه‌گذاری و ماندگاری مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل با استفاده از نرم افزارSPSS و آزمون‌های آماری F Test وAssumption sphericity مورد تحلیل و بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش کار

روش عصاره‌گیری

به منظور عصاره‌گیری، ساقه و برگ خشک شده گیاه مورد نظر توسط دستگاه خردکننده پودر شد.۱۰۰ گرم از پودر مورد نظر را در ارلن یک لیتری ریخته و به آن الکل اتیلیک ۹۶ درصد اضافه گردید، به گونه‌ای که سطح پودر را بپوشاند.بعد از ۲۴ ساعت محلول صاف شد.در مرحله بعد به تفاله باقی مانده،الکل ۷۰ درصد اضافه و بعد از ۱۲ ساعت صاف شد.سپس محلول صاف شده در مرحله اول و دوم به وسیله دستگاه تقطیر در خلا،در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و با سرعت چرخش ۷۰ دور در دقیقه تا ۱/۳ حجم اولیه تغلیظ شد.به منظور جداسازی پروتئین‌ها،چربی‌ها و کلروفیل،محلول صاف شده توسط کلروفرم دکانته شد.در هر مرحله دکانته کردن، دو فاز تشکیل می‌شد که فاز کلروفرمی خارج شده و فاز آبی برای مرحله بعد نگه داشته می شد.محلول به دست آمده از آخرین مرحله در پتری دیش ریخته شده و در اتوکلاو و دمای زیر ۵۰ درجه سانتی‌گراد و شرایط استریل خشک گردید.

روش تهیه ماست

یک لیتر شیر استریل کم چرب را تا دمای ۲۵-۲۰ درجه ی سانتی‌گراد سرد کرده، سپس دانه‌ی کفیر به آن اضافه نمودیم و در همین دما به مدت ۲۸ ساعت گرم‌خانه‌گذاری کردیم . بعد از ۲۴ ساعت دانه کفیر را جدا کرده و کفیر تولید شده را در ۴ درجه سانتی‌گراد سردخانه‌گذاری کردیم(۱۲).سپس ۱۲ ظرف تهیه شد و به هر ظرف ۱ لیتر شیر کم چرب استریلیزه اضافه شد.

برای تهیه‌ی ماست های ۱، ۲و۳ علاوه بر عملیات فوق،۰/۳٪ و ۰/۶٪ و ۰/۹٪ از عصاره هیدروالکلی کنگر در مرحله‌ی افزودن کفیر اضافه کردیم. برای تهیه‌ی ماست‌های ۴، ۵ و ۶ میزان ۰/۱ گرم، ۰/۳ گرم و ۰/۶ گرم باکتری لئوفیلیزه *لاکتو باسیلوس اسیدو فیلوس* و ۰/۶٪ عصاره‌ی هیدروالکلی کنگر نیز در مرحله افزودن کفیر اضافه نمودیم.

برای تهیه‌ی ماست‌های ۷، ۸ و ۹ میزان ۰/۱ گرم، ۰/۳ گرم و ۰/۶ گرم باکتری‌های لئوفیلیزه *بیفید و باکتریوم بیفیدوم* و ۰/۶٪ عصاره‌ی کنگر نیز در مرحله افزودن کفیر اضافه شد.

به منظور تهیه‌ی ماست‌های ۱۰، ۱۱ و ۱۲ میزان ۰/۱ گرم، ۰/۳ گرم و ۰/۶ گرم از باکتری‌های لئوفیلیزه *بیفید و باکتریوم بیفیدوم ولاکتو با سیلوس اسید و فیلوس* و ۰/۶٪ عصاره‌ی کنگر نیز در مرحله افزودن کفیر اضافه کردیم.

عصاره‌ی هیدروالکلی کنگررا قبل از افزودن،به خوبی به هم زدیم تا به صورت یکنواخت حل شد.سپس تمامی ظرف‌ها در گرم‌خانه با دمای ۳۸ درجه سانتی-گراد قرار داده شد.

هر دو ساعت یک‌بار آزمون اسیدتیه و pH (۱۴، ۱۵)تا رسیدن به اسیدتیه ۷۰ درجه دورنیک انجام گرفت و با رسیدن به اسیدتیه مورد نظر به یخچال با دمای ۲ درجه سانتی‌گراد انتقال داده شد.

ماست کنگرهای پروبیوتیکی تولید شده در روزهای هفتم، چهاردهم و بیست ویکم از نظر pHو اسیدتیه مورد بررسی قرار گرفتند و همچنین در روزهای دوم و پانزدهم در گروه‌های۴ تا ۱۲ از جهت شمارش میکروبی در لام هموستیومتر مورد بررسی قرار گرفتند (۱۲، ۱۳).

نتایج

نتایج پژوهش حاضر در جداول یک تا سه آورده شده است. این جداول نشان می‌دهد که عصاره گیاه کنگر و کفیر بر رشد باکتری‌های *لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدو باکتریوم بیفیدوم* تاثیر مثبت داشته ودر نتیجه رشد این باکتری‌ها سبب افزایش اسیدیته وکاهش مدت زمان لازم برای رسیدن به اسیدیته مورد نظرشده است به طوری که با افزایش غلظت کنگر مدت زمان لازم برای رسیدن به اسیدیته مورد نظر کمتر شده است (جدول۱و۲).

جدول ۱- میزان PH و اسیدتیه در روز اول در مدت گرم‌خانه‌گذاری هر دو ساعت یک‌بار

گروه	ماست کنگرپروبیوتیکی	۰۰:۰۰		۰۲:۰۰		۰۴:۰۰		۰۶:۰۰		۰۸:۰۰	
		اسیدتیه (دورنیک)	pH	اسیدتیه (دورنیک)	pH	اسیدتیه (دورنیک)	pH	اسیدتیه (دورنیک)	pH	اسیدتیه (دورنیک)	pH
۱	کفیر+۰/۳٪عصاره کنگر	۳۳	۵/۹۶	۴۰	۵/۷۵	۶۵	۵/۲۵	۸۰	۴/۹۴	_	_
۲	کفیر+۰/۶٪عصاره کنگر	۴۰	۵/۸۷	۴۷	۵/۶۰	۷۳	۵/۰۲	_	_	_	_
۳	کفیر+۰/۹٪عصاره کنگر	۴۲	۵/۸۳	۵۲	۵/۵۴	۷۰	۴/۹۹	_	_	_	_
۴	کفیر+۰/۱گرم لاکتوباسیلوس+۰/۶٪عصاره کنگر	۴۳	۵/۷۹	۵۴	۵/۵۲	۷۰	۵/۰۳	_	_	_	_
۵	کفیر+۰/۳گرم لاکتوباسیلوس+۰/۶٪عصاره کنگر	۳۸	۵/۷۵	۵۰	۵/۴۶	۷۰	۵/۱۴	_	_	_	_
۶	کفیر+۰/۶گرم لاکتوباسیلوس+۰/۶٪عصاره کنگر	۴۰	۵/۷۳	۵۳	۵/۴۵	۶۳	۵/۰۹	۸۵	۴/۸۳	_	_
۷	کفیر+۰/۱گرم بیفیدوباکتریوم+۰/۶٪عصاره کنگر	۴۴	۵/۴۴	۵۶	۵/۴۴	۶۲	۵/۰۸	۷۶	۴/۸۴	_	_
۸	کفیر+۰/۳گرم بیفیدوباکتریوم+۰/۶٪عصاره کنگر	۴۶	۵/۶۷	۵۸	۵/۳۸	۶۲	۵/۰۵	۷۴	۴/۸۳	–	–
۹	کفیر+۰/۶گرم بیفیدوباکتریوم+۰/۶٪عصاره کنگر	۳۸	۵/۷۷	۴۹	۵/۴۵	۷۴	۵/۱۲	_	_	_	_
۱۰	کفیر+۰/۱گرم لاکتوباسیلوس وبیفیدباکتریوم+۰/۶٪عصاره کنگر	۴۰	۵/۷۶	۵۰	۵/۴۴	۶۰	۵/۲۳	۶۹	۵/۰۸	۷۶	۴/۹۴
۱۱	کفیر+۰/۳گرم لاکتوباسیلوس و بیفیدباکتریوم+۰/۶٪عصاره کنگر	۴۰	۵/۸۱	۵۵	۵/۵۳	۵۵	۵/۳۴	۶۲	۵/۲۵	۶۹	۵/۱۳
۱۲	کفیر+۰/۶گرم لاکتوباسیلوس و بیفیدباکتریوم+۰/۶٪عصاره کنگر	۴۴	۵/۷۸	۵۱	۵/۴۷	۵۳	۵/۳۱	۵۹	۲۲/۵	۶۵	۵/۱۲

جدول ۲- میزان PH و اسیدتیه در روزهای ۱۴،۷و۲۱

ماست کنگرپروبیوتیکی	روز هفتم		روز چهاردهم		روز بیست و یکم	
گروه	اسیدتیه (دورنیک)	pH	اسیدتیه (دورنیک)	pH	اسیدتیه (دورنیک)	pH
۱	۹۵	۴/۴۵	۱۴۹	۴/۲۴	۱۵۸	۴/۱
۲	۱۱۰	۴/۸	۱۶۷	۴/۱۳	۱۷۵	۴/۰۱
۳	۱۱۲	۴/۷۵	۱۵۴	۴/۱۷	۱۶۶	۴/۰۷
۴	۱۰۷	۴/۶۳	۱۵۱	۴/۲۹	۱۶۳	۴/۱۵
۵	۱۰۸	۴/۷۲	۱۵۵	۴/۱۴	۱۸۵	۴/۰۳
۶	۱۱۵	۴/۴۳	۱۴۷	۴/۲۸	۱۶۶	۴/۱۱
۷	۱۱۰	۴/۴۶	۱۶۹	۴/۲۵	۱۸۵	۴/۰۳
۸	۹۵	۴/۵۲	۱۵۸	۴/۲۶	۱۷۶	۴/۰۵
۹	۹۷	۴/۶۳	۱۳۹	۴/۳۰	۱۶۰	۴/۱۸
۱۰	۱۰۴	۴/۷	۱۴۵	۴/۳۲	۱۶۳	۴/۱۴
۱۱	۱۲۳	۴/۸۱	۱۹۰	۴/۳۴	۲۱۰	۴/۲۰
۱۲	۱۳۸	۴/۴۳	۲۰۴	۴/۱۴	۲۱۸	۴/۰۶

کاهش تعداد باکتری‌ها در شمارش مستقیم میکروب‌ها در تمامی غلظت‌ها و نمونه‌های ماست‌های تولیدی(به جز ماست-های ۱۱و۱۲)، در روز پانزدهم نسبت به روز اول (با حفظ ضریب لگاریتمی 10^{10}) و افزایش چشم‌گیر تعداد باکتری‌ها در شمارش مستقیم میکروب‌ها در روز ۱۵ در ماست‌های ۱۱و۱۲ از دیگر نتایج این تحقیق می‌باشد(جدول ۳).

جدول ۳- شمارش باکتری در روزهای ۲ و۱۵

شمارش باکتری(cfu/ml)	روز دوم	روز پانزدهم
۴	۶/۱×10^{10}	۴/۶×10^{10}
۵	۴×10^{10}	۴/۳×10^{10}
۶	۵/۸×10^{10}	۵/۹×10^{10}
۷	۶/۸×10^{10}	۴/۲×10^{10}
۸	۵/۹×10^{10}	۱/۵×10^{10}
۹	۳/۲×10^{10}	۳×10^{10}
۱۰	۲/۵×10^{10}	۲/۳×10^{10}
۱۱	۳/۶×10^{10}	۶/۳×10^{10}
۱۲	۴/۲×10^{10}	۶/۵×10^{10}

بحث

با توجه به نتایج اشاره شده در جدول یک و دو و بررسی آن‌ها مشاهده شد که عصاره گیاه کنگر و کفیر بر رشد باکتری‌های لاکتو با سیلوس اسید و فیلوس و بیفید و باکتریوم بیفیدوم تاثیر مثبت دارد.

افزایش آهسته اسیدیته در ساعت اول تخمیر به علت شروع شدن فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک بود که هنوز با محیط فرآورده سازگاری پیدا نکرده بودند، اما در ساعات بعد، رشد باکتری‌های پروبیوتیک چشم‌گیر بود و با ثابت نگه‌داشتن عصاره‌ی کنگر (۰/۶٪) در گروه‌های ۴ تا ۱۲ و افزایش سرعت رشد *لاکتو با سیلوس اسید و فیلوس و بیفید و باکتریوم بیفیدوم* اسیدیته بیشتر می‌شد.

ماست‌هایی که بیشترین غلظت کنگر را دارا بودند، کمترین زمان برای رسیدن با اسیدتیه مورد نظر را سپری کردند (نمونه ۲و۳).

در بین سه نمونه اول که فقط حاوی کفیر و عصاره‌ی گیاه کنگر بود، گروه حاوی ۰/۶٪ و ۰/۹٪ درصد گیاه کنگر همزمان با نمونه‌های۴، ۵و۶و۹ که به ترتیب حاوی *لاکتو با سیلوس اسید وفیلوس* ۰/۱ گرم و ۰/۳گرم به همراه ۰/۶٪ عصاره کنگر و کفیر بودند و نمونه‌ی ۹ که حاوی ۰/۶گرم *بیفیدوباکتریوم* و ۰/۶٪ عصاره کنگر به همراه کفیر بود،در یک زمان معین به اسیدیته‌ی مطلوب که ۷۰ درجه دورنیک بود رسیدند که نشان‌گر این است که کفیر و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در زمان کمتری نسبت به *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و گروه‌هایی که از محلول *لاکتوباسیلوس و اسیدوفیلوس* استفاده شده به اسیدیته ۷۰ درجه دورنیک می‌رسند.

ماست‌هایی که دارای *بیفیدو باکتریوم بیفیدوم* ۰/۱٪ و ۰/۳٪ بودند (نمونه ۷و۸) و نیز ماست‌های حاوی لاکتو با سیلوس اسیدوفیلوس ۰/۶٪(نمونه۶)، همچنین نمونه ۱ که حاوی کفیر و ۰/۳٪ عصاره‌ی کنگر (کمترین میزان عصاره) بود،زودتر به اسیدیته‌ی مطلوب رسیدند، ولی گروه ۱۱و۱۲ که حاوی *لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس و بیفید و باکتریوم بیفیدوم* به میزان ۰/۳گرم و ۰/۶گرم بودند در طولانی‌ترین زمان نسبت به بقیه ی گروه‌ها به اسیدتیه‌ی ۷۰ درجه دورنیک رسیدند.

براساس تحقیقات انجام شده به طور کلی افت جنس *بیفید و باکتریوم* نسبت به جنس *لاکتو با سیلوس* بیشتر است(نمونه ۷و۸) و همچنین رشد و تکثیر آن در فرآورده آن کمتر است، این موضوع را می‌توان به حساسیت بیشتر *بیفید و باکتریوم* نسبت به اکسیژن،اسیدیته بالا و pH پایین و ضعیف بودن فعالیت پروتئوکافتی در آن‌ها نسبت داد. به همین علت زمان رسیدن به اسیدیته دلخواه در روند تولید محصولات *بیفید و باکتریوم بیفیدوم* طولانی‌تر از محصولات *لاکتو با سیلوس اسید و فیلوس* بود(۶).

در این تحقیق ما همزمان در همه‌ی گروه‌ها به یک نسبت از کفیر نیز استفاده کردیم . به اسیدیته‌ی مطلوب رسیدنِ هم‌زمانِ ماست گروه ۹ (که حاوی باکتری *بیفیدو باکتریوم* است) و ماست‌های گروه *لاکتو با سیلوس* می تواند به خاطر وجود کفیر باشد.

روند پیشرفت اسیدیته ماست‌های مختلف تولیدی در این پژوهش، بیان‌گر تاثیر افزایش غلظت کنگر، بر کوتاه‌تر شدن زمان رسیدن به اسیدیته مطلوب (در زمان تولید محصولات) بود.

در مطالعات مشابه، افزایش غلظت ماست و سویا باعث افزایش رشد میکروب ها و سرعت بالا رفتن اسیدیته شد و با افزایش غلظت، زمان گرم‌خانه‌گذاری تا رسیدن به اسیدیته دلخواه کاهش یافت (۵، ۷).

در تحقیقی که تاثیر پودر سویا بر رشد باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدو فیلوس و بیفید وباکتریوم بیفیدوم* در تولید ماست پروبیوتیک مورد بررسی قرار گرفت، هنگام تولید ماست *لاکتو با سیلوس اسید و فیلوس* و *بیفید و باکتریوم بیفیدوم* با استفاده از عصاره مالت و سویا در مقایسه با تولید ماست پروبیوتیکی با استفاده از سویا، مدت گرم‌خانه‌گذاری کمتر شد(۵).

در پژوهش حاضر نمونه‌های حاوی مقادیر *لاکتو با سیلوس اسیدوفیلوس*(نمونه۴و۵) و نمونه حاوی کفیرو عصاره کنگر در زودترین زمان نسبت به نمونه‌های دیگر به اسیدیته‌ی مطلوب رسیدند و نمونه‌های حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در طولانی‌ترین زمان به اسیدیته‌ی مورد نظر رسیدند که به خاطر تاثیر جنس *بیفیدوم* می‌باشد.

باکتری‌های پروبیوتیک برای این‌که خواص خود را در بدن فرد مصرف‌کننده مواد غذایی به وجود آورند باید به صورت زنده وحداقل به میزان 10^7 cfu/ml در گرم وجود داشته باشند. در شمارش مستقیم میکروبی در مجموع باکتری‌های شمارش‌شده در روزهای مختلف 10^{10} cfu/ml میکروب، خواص مورد نظر میکروب‌های پروبیوتیکی را در مصرف‌کننده به‌وجود می‌آورند (۱۱). در روز پانزدهم نسبت به روز اول، در شمارش مستقیم میکروب‌ها،باکتری‌های شمارش شده در تمامی غلظت-ها و نمونه‌ها(به جز ماست‌های ۱۱و۱۲) کاهش‌یافته،اما همچنان دارای ضریب لگاریتمی 10^{10} بودند. در ماست‌های ۱۱و۱۲ افزایش چشم‌گیری در شمارش مستقیم میکروب‌ها در روز ۱۵ مشاهده شد.

با توجه به این‌که فرضیه Assumption sphericity رد شدو نسبت F برابر با ۲۰۱/۳۴۹ است که از تقسیم ۶۱۷۳۹/۸۸۱ بر ۳۰۶/۶۳۱ به‌دست آمده است،همچنین از آنجا که P-Value مرتبط با آن کمتر از ۰/۰۵ است لذا تصور می‌شود که زمان تاثیر معناداری بر اسیدیته داشته است .با توجه به این‌که پیش از این فرضیه Assumption sphericity رد شد.نسبت F برابر با ۲۱۷/۲۳۸ است که از تقسیم ۳/۲۳۶ بر ۰/۰۱۵ به‌دست آمده است. از آنجا که P-Value مرتبط با آن کمتر از ۰/۰۵ است لذا تصور می‌شود که زمان تاثیر معناداری بر pH داشته است.

در ارزیابی حسی محصولات نیز نشان داده شد که ماست حاوی ۰/۶ گرم *بیفید و باکتریوم* بهترین طعم و بو را دارد در حالی که ماست حاوی ۰/۶ گرم *لاکتو با سیلوس* کمترین امتیاز را داشت.

ماندگاری محصولات در یخچال ۲۱ روز تعیین شد، از این نظر ماست نمونه‌های ۱۱و۱۲ که حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بودند، در روز اول دیرتر به pH مورد نظر رسیدند و در شمارش دوم باکتری‌ها در روز پانزدهم، نیز، میزان باکتری‌های این دو نمونه افزایش یافته بود، در نتیجه بهترین قوام و رنگ را داشتند .

در تحقیقی که با موضوع مطالعه تاثیر عسل بر افزایش رشد باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتو با سیلوس اسیدوفیلوس و بیفید و باکتریوم بیفیدوم به* صورت هم-زمان در فرآورده‌های لبنی و نوشیدنی انجام شد، ازنظرِ مقایسه، ماستِ *لاکتو با سیلوس* به تنهایی ترش‌تر از ماست حاوی دو میکروب *لاکتو با سیلوس و بیفید و با کتریوم* بود. محصولات حاوی *بیفید و باکتریوم* به نسبت *لاکتو با سیلوس اسید و فیلوس* رشد آهسته‌تری داشتند و محصولات آن‌ها شیرین تر و دارای ماندگاری طولانی‌تر بودند (۳،۴).

نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش غلظت عصاره گیاه کنگر همراه باکفیر، رشد باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بیشتر می‌شود.از نظر ارزیابی حسی، ماست حاوی ۰/۶ گرم *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بهترین طعم و بو را دارد و کمترین امتیاز مربوط به ماست حاوی ۰/۶گرم *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* می باشد.

منابع

۱.زرگری،ع.(۱۳۷۰).*گیاهان دارویی*.جلد دوم،موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران .

۲. عریان،ش. یغمایی،پ.، زمانی،ه.(۱۳۸۹).تهیه و تولید ماست پروبیوتیکی با تلقیح سویه‌های لاکتوباسیلوس GGو مقایسه آن با ماست معمولی و تاثیر آنها در کاهش متابولیت های لیپیدی در سرم خون موش صحرایی نر نژاد ویستار .*مجله علمی پژوهشی زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی*،دوره دوم،شماره پنجم،صفحه۱۲-۷,

۳- مرتضـــویان، ا.م، ســـهراب‌ونـــدی، س. (۱۳۸۵). *مـــروری بـــر پروبیوتیک ها و فرآورده های غذایی پروبیوتیک*، انتشـارات آتا، چاپ اول.

۴- مرحمتی‌زاده، م.ح.، کازرونیـان، ح. (۱۳۸۸). ارزیـابی ماسـت عسل بـه عنـوان حامـل بـاکتری پروبیـوتیکی *لاکتوباسـیلوس اسیدوفیلوس. پایان‌نامه دکتـرای حرفـه‌ای دامپزشـکی*، شـماره ۶۸۹، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون.

۵- مشـــتاقی، ع.ا.(۱۳۷۷). *بیوشـــیمی آزمایشـــگاهی (عمـــومی و کلینیکی)*. انتشارات جهاد دانشگاهی اصفهان، صفحه۱۲۷.

۶- رفیعـی مجـد،م.، علـوی، ا.ح. (۱۳۹۰).بهینـه سـازی سـه گانـه شـرایط تخمیـر شـیر در تولیـد ماسـت پروبیوتیـک توسـط لاکتوباسـیلوس اسـیدوفیلوس .*علـوم غـذایی و تغذیـه*،سـال نهم،شماره ۱.

۷-میرزایی،م.کریم،گ.(۱۳۸۲).مطالعه امکان تولید یک فـرآورده پروبیوتیکی شیر با اسـتفاده از کشـت کمکـی لاکتوباسـیلوس کازئی .*مجله علوم غذایی و تغذیه*،سـال اول شـماره ۱صـفحه ۴۷و۸۴-۷۵,

8-Arso, A., TokarK, G. (1999). The activity of pure cultures of *lactobacillus bulgaricus* and *streptococcus thermophiles* in enzymically hydrolysed and non-hydrolysed milk. *Dairy Science Abastract*s, 57:575.

9-Coconnier, M.H., leivin, V., Hemery, B. Andsevin, A.L. (1998). Antagonistic activity against Helicobacter infection invitro and invivo by human lactobacillus acidophilus *Strain LB. Applied Envitronmen*t *Microbiology*, **64**:4573-4580.

10-Greyor, B., Andrew, W., Bruce, N .and Faser, C. (2001).oral probiotic can be solve urogenital infection, *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, **30**:49-52.

11-Lourens Hattingh, A., and Viljoen, B.C.(2001). Yoghurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, **11**: 1–17.

12-Marhamatizadeh, M.H., Kazeroonian, H. (2009). Study on honey yoghurt as the bearer of Probiotic bacteria's Lactobacillus acidophilus. *Doctors of Veterinary Medicine thesis Islamic Azad University*. Number 689, Azad University of Kazerun.

13-Marhamatizadeh, M.H., Rafatjoo, R., Farokhi, A.R., Karmand, M., Rezazade, S. (2009). The study of soya extract on the growth of probiotic Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum bacteria in probiotic milk and yoghurt. *Journal of Veterinary Pathobiology*, **1**: 23-28.

14-Zacconi, C., Parisi, M. G ., Sarra, P. G ., Dallavalle, P., and Bottazzi, V.(1995). Competitive exclusion of *Salmonella kedougou* in kefir fed chicks. *Microbiologie Aliments Nutrition*, **12**: 387-390.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 14, Issue 2, 2018

Probiotic yogurt production by hydroalcoholic extract of *Gundelia tourneforti* and probiotical kefir and evaluate its effect on probiotic bacteria (*Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum)* activity

Javaheri, A.[1], Khoshvaghti, A.[2*], Marhamatizadeh, M.H.[3]

1.Graduated of Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran
2.Associate Professor of Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran
3. Assistant Professor of Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

Received: 24 January 2017 Accepted: 3 March 2018

Abstract

The probiotic products consumption especially yogurt is very prevalent. Gundelia tourneforti is one of plants that have several beneficial effects. In this study the effect of this plant hydroalcoholic extract and kefir probiotic on bacteria Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum growth in yogurt were investigated. The probiotics products were produced by Tamime standard method. Then the products were investigated sensory, pH, acidity and microbial count in incubation and maintenance term. The data were analysis by descriptive statistical test with SPSS system. The results of this study showed the time has a negative effect on pH and a positive effect on acidity, so that time increased causes pH decreased and acidity increased. The bacterial count was 1010 cfu.ml in incubation term and remained in this count in maintenance period almost. The investigation of the results revealed, kefir and Gundelia tourneforti hydroalcoholic extract concentration increased have positive significant effects on Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum. In sensory evaluation turned out yogurt containing 0.6 gr Bifidobacterium bifidum and 0.6 gr Lactobacillus acidophilus gained superlative and lowest score respectively.

Keywords: Bifidobacterium bifidum, Gundelia tourneforti, Kefir, Lactobacillus acidophilus, Probiotic.

**Corresponding author: Khoshvaghti, A.*
Address: Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.
E-mail address: khoshvaghti2004@yahoo.com