تأثیر فعالیت باکتری‌های لاکتیکی بر محتوای اسید لینولئیک کنژوگه و اندیس آتروژنیک کره

لیلا روفه‌گری نژاد[۱*]، محمدرضا احسانی[۲]، مسعود دارابی امین[۳]، مریم میزانی[۴]، آیناز علیزاده[۵]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانش‌آموخته دوره دکتری تخصصی علوم و صنایع غذایی، تهران، ایران.
۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، استاد گروه علوم و صنایع غذایی، تهران، ایران.
۳- استادیار دانشگاه علوم پزشکی تبریز، دانشکده پزشکی، تبریز، ایران.
۴- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، تهران، ایران.
۵- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، تبریز، ایران.
* نویسنده مسئول مکاتبات: l.roufegari@iaut.ac.ir
(دریافت مقاله: ۹۱/۱۰/۹ پذیرش نهایی: ۹۲/۴/۸)

چکیده

در این تحقیق تاثیر فعالیت باکتری‌های لاکتیکی از قبیل *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* (استارتر ترموفیل)، *لاکتوکوکوس لاکتیس* (زیرگونه‌های *لاکتیس* و *کرموریس*، *لوکونوستوک مزنتروئیدیس* زیرگونه *سیتروووروم* به همراه *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیرگونه *دی‌استی‌لاکتیس* (استارتر مزوفیل)، هم‌چنین *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به صورت مجزا و نیز مخلوط با هم بر روی میزان اسیدهای چرب اشباع، اسید لینولئیک کنژوگه و اندیس آتروژنیک کره مورد بررسی قرار گرفت. خامه‌های تخمیرشده با این باکتری‌ها برای تهیه کره استفاده شد و آنالیز اسیدهای چرب با گاز کروماتوگرافی نشان داد، که کاربرد استارتر ترموفیل و مخلوط منجر به کاهش نسبت اسیدهای چرب اشباع به غیر اشباع گردید. در صورتی که که اسید لینولئیک کنژوگه در کره تهیه شده با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بالاتر بود. کره‌های تهیه شده با استارتر ترموفیل پایین‌ترین میزان اندیس آتروژنیک را دارا بودند. ارزیابی حسی تفاوت معنی‌داری ($p>۰/۰۵$) در رنگ و وضعیت ظاهری نشان نداد. اما کره‌های تهیه شده با استارتر ترموفیل و مزوفیل طعم مناسب‌تری در مقایسه با نمونه‌های تهیه شده با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* داشتند. نتایج نشان داد، امکان کاهش تأثیرات نامطلوب تغذیه‌ای کره با به‌کارگیری باکتری‌های لاکتیک *وجود* دارد.

واژه‌های کلیدی: اسید لینولئیک کنژوگه، اندیس آتروژنیک، باکتری‌های لاکتیک، کره

مقدمه

کره یکی از قدیمی‌ترین فرآورده‌های شیری می‌باشد که در نتیجه تغییر امولسیون خامه طی هم‌زدن بدست می‌آید. بر حسب این که خامه مورد استفاده برای تهیه کره ترش باشد یا شیرین، کره تهیه شده به ترتیب، لاکتیکی و یا غیرلاکتیکی خواهد بود که نوع لاکتیکی، به دلیل دارا بودن آرومای دی استیل ناشی از تخمیر اسید سیتریک، مقبولیت بالایی در بین مصرف‌کنندگان دارد (Nielsen and Ulum, 1989). برای تهیه این نوع کره، پس از پاستوریزاسیون خامه اضافه کردن کشت‌های آغازگر مزوفیل حاوی *لاکتوکوکوس لاکتیس*، *لاکتوکوکوس کرموریس*، *لوکونوستوک سیتروورووم* و *لاکتوکوکوس دی استی لاکتیس* در دمای ۲۰ درجه سلسیوس صورت می‌گیرد و عمل تخمیر تا رسیدن به pH ٥-٤/٨ ادامه می‌یابد. عملیات بعدی مشابه با مراحل تهیه کره شیرین و شامل کره زنی، شستشو و مالش‌دهی می‌باشد (Walstra et al., 1999).

شیر کامل و فرآورده‌های شیری پرچرب نظیر کره به دلیل داشتن میزان بالایی از اسیدهای چرب اشباع و کلسترول می‌توانند در فهرست ریسک فاکتورهای بیماری قلبی قرار گیرند. بیان شده است که بین دریافت اسید چرب اشباع و نشانگرهای بیولوژیک مختلف برای ریسک بیماری‌های قلبی و عروقی مثل فشار خون بالا، کلسترول LDL و مقاومت به انسولین ارتباط وجود دارد به نحوی که مصرف بالای اسیدهای چرب لوریک، پالمیتیک و میریستیک مقدار LDL را افزایش داده و بالعکس اسیدهای چرب غیر اشباع آن را کاهش می‌دهد (Bobe et al., 2007). اندیس آتروژنیک (Atherogenic Index- AI) عبارت است از نسبت مجموع اسیدهای چرب لوریک، پالمیتیک و چهار برابر میریستیک به کل اسیدهای چرب غیراشباع موجود در نمونه غذایی که بالابودن میزان این شاخص برای ماده غذایی، نشان‌دهنده بالا بودن ریسک مصرف آن غذا برای بیماری قلبی می‌باشد. میزان اندیس آتروژنیک برای کره، به دلیل بالا بودن اسیدهای چرب اشباع و پایین بودن انواع غیراشباع، بالا بوده و از این رو مصرف کره تا سال‌های اخیر به دلیل آتروژن بودن توصیه نمی‌شد به‌طوری که آمارها نیز نشان می‌دهد سهم مصرف کره در دنیا بین سال‌های ۲۰۰۲-۱۹۹۹ در بیشتر کشورهای اروپایی، آسیایی و ایالات متحده آمریکا کاهش شدیدی داشته است (Kim et al., 2006). اما از دیدگاهی دیگر یافته‌های جدید در مورد نتایج سودمند مصرف چربی که عمدتاً به حضور اسید لینولئیک کنژوگه (Conjugated Linoleic Acid-CLA) ارتباط داده می‌شود، مبحث جدیدی را در مورد فرآورده‌های چرب شیر مطرح کرده است (Collomb et al., 2006). این اسید چرب به طور طبیعی در فرآورده‌های شیری و گوشتی حاصل از نشخوارکنندگان وجود داشته و اولین بار نقش ضد سرطانی آن توسط Pariza و همکاران در سال ۱۹۷۹ بیان شده است اما بعدها اثرات آن روی کاهش التهابات، تاثیر مثبت بر بیماری دیابت، کاهش بیماری‌های قلبی و عروقی، افزایش نسبت کلسترول HDL به LDL، جلوگیری از کاهش دانسیته استخوان و بهبود سیستم ایمنی نیز گزارش گردیده است. عمده‌ترین اثر ضدسرطانی این ترکیبات به سرطان‌های پروستات، غدد پستانی، روده، معده و خون مربوط می‌باشد (Bising et al., 2007).

تحقیقات متعددی به منظور کاهش AI و افزایش CLA در کره از قبیل اضافه کردن روغن سویا، آفتابگردان، کتان و ماهی به جیره غذایی دام صورت گرفته است (Hurtaud et al., 2010; Bobe et al., 2007; Kim et al., 2006; Loor and Herbein, 2003; Abu-Ghazaleh, 2001). رویکرد جدید کاربرد باکتری های لاکتیک جهت تولید CLA می‌باشد که توانایی تولید گونه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است (Kishino et al., 2002; Lin et al., 2005; Jiang et al., 1998). در این تحقیق به این جنبه پرداخته شده و امکان کاهش AI توام با افزایش CLA با وارد کردن باکتری‌های لاکتیک مختلف در کره مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه های کره

خامه ۳۵ درصد پس از پاستوریزاسیون (۹۰ درجه سلسیوس- ۱۵ دقیقه) تا دمای تلقیح باکتری‌های لاکتیک خنک شده و ٦ نوع کره ترش با استفاده از استارترهای زیر (نوع Delvo® متعلق به شرکت DSM هلند) تهیه گردید:

الف- استارتر مزوفیل (DX-33) حاوی سویه‌های *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیرگونه *لاکتیس*، *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیرگونه *کرموریس*، *لوکونوستوک مزنتروئیدیس* زیرگونه *سیتروووروم* و *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیرگونه *دی استی لاکتیس* که به صورت تجاری جهت تهیه کره مورد استفاده قرار می‌گیرد و بهینه درجه حرارت برای استفاده از آن‌ها ۲۲ درجه سلسیوس می‌باشد.

ب- استارتر ترموفیل (CY-200) حاوی *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه *بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* که به صورت تجاری جهت تهیه ماست مورد استفاده قرار می‌گیرد و بهینه درجه حرارت برای استفاده از آن‌ها ٤٢ درجه سلسیوس می‌باشد.

ج- استارتر حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (L10® LAFTI) با دمای بهینه فعالیت ۳۷ درجه سلسیوس

د- استارتر حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* (L26® LAFTI) با دمای بهینه فعالیت ۳۷ درجه سلسیوس

ه- استارتر حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* (B94® LAFTI) با دمای بهینه فعالیت ۳۷ درجه سلسیوس

و- استارتر مخلوط حاوی نسبت مساوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* (MY-820®) با دمای بهینه فعالیت ۳۷ درجه سلسیوس

پس از رسیدن به pH ٥-٤/٨، عمل کره زنی در چرن آزمایشگاهی (Milkchurn-Turkey) انجام، و دانه‌های کره پس از جداسازی دوغ کره، مورد شستشو و مالش‌دهی قرار گرفتند و سپس آنالیزهای زیر در خصوص آن‌ها انجام گرفت. از هر نوع کره ۳ تکرار و در مجموع ۱۸ نمونه تهیه گردید.

به منظور مقایسه تأثیر فعالیت باکتری‌های لاکتیک روی شاخص آتروژنیک، علاوه بر کره‌های تخمیری، نمونه‌هایی از کره شیرین نیز به عنوان نمونه شاهد تهیه گردید که برای تهیه آن خامه بعد از اعمال فرایند حرارتی و خنک کردن، تحت کره زنی، شستشو و مالش‌دهی قرار گرفت.

تعیین پروفایل اسیدهای چرب

تعیین اسیدهای چرب موجود با استفاده از روش ترانس استریفیکاسیون مستقیم طبق روش پیشنهادی Lepage و Roy (١٩٨٦) صورت گرفت. ۱۰۰ میلی‌گرم

کره در ۲ میلی‌لیتر مخلوط متانول- بنزن حل و سپس ۲۰۰ میکرولیتر استیل کلراید اضافه شد. متانولیزه شدن در دمای ٤٥ درجه سلسیوس به مدت یک ساعت انجام گرفت و پس از اضافه کردن ۵ میلی‌لیتر محلول کربنات پتاسیم و سانتریفوژکردن لایه فوقانی بنزنی که متیل استرها درآن حل شده‌اند، به دستگاه گاز کروماتوگرافی تزریق شد.

جهت آنالیز از دستگاه کروماتوگرافی گازی (Model , Buck Scientific 610, USA) مجهز به آشکارساز و ستون موئینه (TR-CN100, Teknokroma, Italy) با طول ٦٠ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت ۰/۲ میکرومتر استفاده شد. حجم تزریق ۱ میکرولیتر و درجه حرارت تزریق‌کننده و آشکارساز در ۲٦۰ درجه سلسیوس تنظیم گردید. هلیم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۲۰ میلی‌لیتر در دقیقه و نسبت جداسازی 10^{-2} تعیین شد. جهت برنامه دمایی آون شرایط زیر در نظر گرفته شد: دمای شروع ۵۰ درجه سلسیوس که ۸ دقیقه در این دما باقی‌مانده و سپس با سرعت ۱۰ درجه سلسیوس در دقیقه تا ۱۹۰ درجه سلسیوس افزایش داده شد.

شناسایی محل دقیق استرهای متیل اسیدهای چرب از طریق مقایسه زمان بازداری پیک‌های بدست آمده با کروماتوگرام استانداردهای اسیدهای چرب تحت شرایط عملیاتی یکسان انجام شد و مقادیر بر اساس سطح زیر منحنی هر پیک نسبت به سطح کل و بر حسب درصد از کل اسیدهای چرب(%) بیان شد. هم‌چنین جهت تایید صحت عمل ترانس استریفیکاسیون، اسید تری دسیلیک (C13:0) با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به عنوان استاندارد داخلی مورد استفاده قرار گرفت.

تعیین شاخص آتروژنیک

بعد از بدست آمدن پروفایل اسیدهای چرب، میزان شاخص آتروژنیک نمونه‌ها با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (Bobe et al., 2007).

$$AI = \frac{C12:0 + C16:0 + 4 \times C14:0}{\sum(MUFA + PUFA)}$$

ارزیابی حسی

ارزیابی حسی نمونه‌های کره به روش نمره‌دهی بر مبنای صفر تا پنج انجام گرفت. ارزیابی توسط ۵۰ نفر ارزیاب آموزش ندیده انجام شد به این صورت که کره‌هایی که دمای آن‌ها ۱± ١٤ درجه سلسیوس بود همراه با نان و یک عدد کارد پلاستیکی در اختیار ارزیابان قرار داده و از آن‌ها خواسته شد در فواصل ۲ دقیقه‌ای ۵ تا ۱۰ گرم کره را همراه با نان میل کرده و نمونه‌ها را بر مبنای دستورالعمل استاندارد در خصوص ارزیابی حسی کره از جهت وضع ظاهری (رنگ و پراکندگی ذرات آب)، قوام (سفتی و قابلیت پخش) و طعم و بو نمره‌دهی نمایند. میزان مقبولیت و عدم مقبولیت در گستره نمره یک (بسیار بد) تا پنج (بسیار خوب) در برگه ارزیابی درج گردید. در ادامه نتایج ارزیابی جمع بندی و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

آنالیز آماری

آنالیز واریانس نتایج بدست آمده روی پارامترهای اندازه‌گیری شده توسط نرم‌افزار SPSS v.18 انجام گرفت. داده‌ها بصورت انحراف استاندارد ± میانگین گزارش شده و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری $p < ۰/۰۵$ صورت گرفت.

یافته‌ها

نتایج تجزیه واریانس انجام یافته در خصوص اسیدهای چرب آنالیز شده نشان داد که به کار گرفتن باکتری‌های لاکتیک تفاوت معنی‌داری در اسیدهای بوتیریک، کاپرویک، کاپریلیک، پالمیتیک، اولئیک و لینولئیک تیمارها بوجود آورد $p<0/05$. مقادیر اسیدهای چرب بر حسب گرم در ۱۰۰ گرم کل اسیدهای چرب در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول۱: مقایسه میزان اسیدهای چرب (انحراف معیار± میانگین) در کره‌های صنعتی تهیه شده با کشت‌های آغازگر متفاوت (ترموفیل: *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، مزوفیل: *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیر گونه *لاکتیس*، *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیر گونه *کرموریس*، *لوکونوستوک مزنتروئیدیس* زیر گونه *سیتروووروم* و *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیر گونه *دی‌استی‌لاکتیس*، مخلوط: نسبت مساوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و *لاکتوباسیلوس کازئی*)

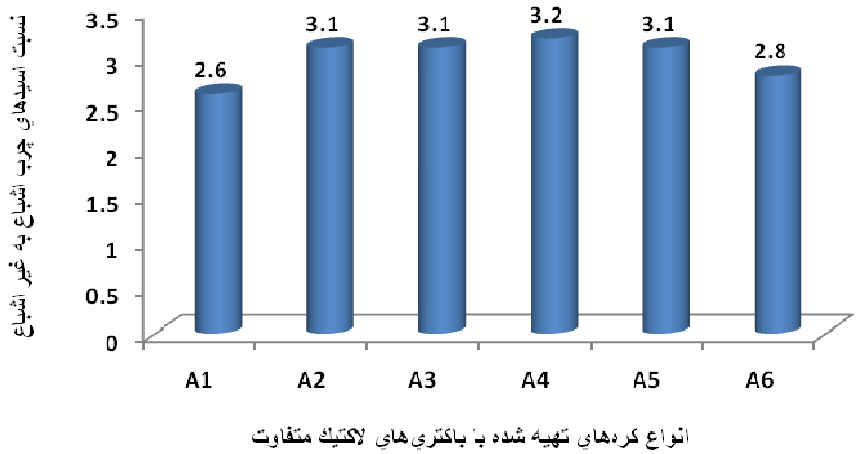
اسید چرب (گرم در ۱۰۰ گرم کل اسیدهای چرب)	ترموفیل	مزوفیل	*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*	*لاکتوباسیلوس کازئی*	*بیفیدوباکتریوم لاکتیس*	مخلوط	معنی‌دار
اسید بوتیریک	۰/۹۹±۰/۰۱^{bc}	۰/۶۸±۰/۰۷^{ab}	۰/۳۶±۰/۰۲^{a}	۱/۲۳±۰/۴۹^{cd}	۰/۷۳±۰/۰۹^{ab}	۱/۵۳±۰/۱۶^{d}	**
اسید کاپروئیک	۱/۳۵±۰/۲۰^{b}	۱/۰۱±۰/۳۱^{ab}	۱/۱۰±۰/۳۰^{b}	۰/۷۷±۰/۰۸^{ab}	۰/۴۸±۰/۰۳^{a}	۲/۵۷±۰/۵۱^{c}	**
اسید کاپریلیک	۰/۴۳±۰/۱۵^{a}	۰/۱۹±۰/۰۶^{a}	۰/۷۲±۰/۱۳^{b}	۰/۲۵±۰/۰۱^{a}	۰/۹۰±۰/۰۲^{b}	۱/۵۶±۰/۱۰^{c}	**
اسید کاپریک	۲/۱۹±۰/۵۴	۲/۴۸±۰/۰۴	۳/۲۶±۰/۴۰	۳/۹۰±۰/۰۹	۲/۶۹±۰/۶۱	۳/۱۴±۰/۳۲	NS
اسید لوریک	۳/۴۰±۰/۴۱	۳/۳۰±۰/۲۱	۳/۸۲±۰/۲۹	۳/۶۰±۰/۴۰	۳/۴۹±۰/۵۷	۳/۳۶±۰/۱۳	NS
اسید میریستیک	۱۴/۴۴±۰/۳۰	۱۴/۴۲±۰/۰۱	۱۴/۶۳±۱/۰۳	۱۵/۲۱±۱/۲۳	۱۴/۶۵±۰/۶۱	۱۵/۲۰±۰/۵۹	NS
اسید پنتاانوئیک	۰/۷۴±۰/۰۹	۰/۶۸±۰/۱۵	۰/۷۰±۰/۰۸	۰/۷۱±۰/۰۵	۰/۶۸±۰/۱۱	۰/۸۸±۰/۰۵	NS
اسید پالمیتیک	۴۲/۶۶±۰/۹۹^{b}	۴۶/۴۷±۰/۵۸^{c}	۴۵/۳۸±۱/۴۹^{bc}	۴۴/۷۰±۲/۱۷^{bc}	۴۵/۸۵±۱/۷۵^{c}	۳۸/۰۵±۰/۸۸^{a}	**
اسید پالمیتوانوایک	۰/۳۵±۰/۰۵	۰/۳۶±۰/۰۲	۰/۳۵±۰/۰۴	۰/۳۷±۰/۰۱	۰/۴۱±۰/۰۵	۰/۴۵±۰/۰۵	NS
اسید استئاریک	۷/۲۱±۰/۶۳	۶/۹۲±۰/۱۹	۶/۹۲±۰/۵۳	۶/۸۰±۰/۵۳	۷/۲۸±۰/۹۱	۷/۸۸±۰/۰۶	NS
اسید اولئیک	۲۵/۸۷±۰/۸۷^{b}	۲۲/۱۷±۰/۲۸^{a}	۲۱/۸۶±۰/۶۸^{a}	۲۱/۵۷±۱/۶۴^{a}	۲۲/۱۶±۰/۴۸^{a}	۲۲/۵۰±۰/۶۶^{a}	**
اسید لینولئیک	۰/۶۷±۰/۱۰^{a}	۱/۲۲±۰/۰۲^{b}	۱/۲۲±۰/۰۴^{b}	۰/۸۴±۰/۱۱^{a}	۰/۹۱±۰/۱۱^{a}	۱/۷۱±۰/۳۰^{c}	**
مجموع ایزومرهای CLA	**۰/۱۵±۰/۰۱**^{a}	**۰/۱۷±۰/۰۲**^{b}	**۰/۲۰±۰/۰۱**^{cd}	**۰/۱۹±۰/۰۱**^{c}	**۰/۱۷±۰/۰۱**^{b}	**۰/۲۱±۰/۰۰**^{d}	**

** معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۱

NS غیرمعنی‌دار

a، **b**، **c** و **d**: حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌ها می‌باشد.

همان‌گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (اسید بوتیریک، کاپروئیک و کاپریلیک) در کره‌های تهیه شده با استارتر مخلوط بیشتر از بقیه نمونه‌ها می‌باشد. بالابودن نسبت اسیدهای چرب اشباع به غیراشباع یکی از عوامل محدودکننده مصرف این محصول می‌باشد که نتایج به‌دست آمده نشان داد که استفاده از استارتر ترموفیل و مخلوط در مقایسه با بقیه آغازگرها می‌تواند به میزان بیشتری این نسبت را کاهش دهد در صورتی که کره تهیه شده با *لاکتوباسیلوس کازئی* بیشترین نسبت اسیدهای چرب اشباع به غیراشباع را داشت (نمودار۱).



نمودار ۱: نسبت اسیدهای چرب اشباع به غیراشباع در کره‌های تهیه شده با باکتری‌های لاکتیک (A1: استارتر ماست، A2: استارتر کره، A3: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، A4: *لاکتوباسیلوس کازئی*، A5: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و A6: مخلوط یکسان از استارتر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*)

در خصوص تغییرات CLA، همان گونه که در جدول ۱ آمده است نوع استارتر تفاوت معنی‌داری در میزان این اسید چرب ایجاد نموده به طوری که میزان این اسید چرب در کره تهیه شده با مخلوط یکسان از استارتر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و نمونه تهیه شده با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به طور معنی‌داری بیشتر از بقیه نمونه‌ها می‌باشد ($p <$ ۰/۰۵).

اسید لوریک، میریستیک و پالمیتیک به عنوان فاکتورهای آتروژن شناخته شده‌اند که بالا بودن میزان آن‌ها در مواد غذایی، ریسک بالای بیماری‌های قلبی عروقی را به همراه دارد (Kim et al., 2006). همان گونه که ذکر شد، تفاوت معنی‌داری در خصوص اسید لوریک و میریستیک موجود در نمونه‌ها وجود نداشت اما اسید پالمیتیک در کره تهیه شده با استارتر ترموفیل و مخلوط پایین‌تر از بقیه نمونه‌ها بود (جدول ۱).

شاخص آتروژنیک محاسبه شده برای کره‌های تهیه شده با باکتری‌های لاکتیک متفاوت و نیز میزان کاهش این شاخص در مقایسه با نمونه کنترل (کره شیرین تخمیر نشده) در جدول ۲ آورده شده است. بررسی آماری نشان داد که از نظر این پارامتر تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌ها وجود دارد ($p <$ ۰/۰۵) و استارتر ماست (ترموفیل) و به میزان کمتری استارتر مخلوط توانست به میزان بیشتری به کاهش این شاخص منجر گردد.

جدول ۲: مقایسه اندیس آتروژنیک در کره‌های تهیه شده با استارترهای متفاوت

نوع استارتر	اندیس آتروژنیک	میزان کاهش (٪)
کنترل (فاقد استارتر)	٤/٥٧	–
استارتر ماست	٣/٨٤ [a]	١٥/٩
استارتر کره	٤/٤٩ [b]	١/٧٥
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	٤/٥٦ [b]	٠/٢
لاکتوباسیلوس کازئی	٤/٥٠ [b]	١/٨
بیفیدوباکتریوم لاکتیس	٤/٥٦ [b]	٠/٢
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس- کازئی + *بیفیدوباکتریوم* لاکتیس	٤/١١ [a]	١٠

حروف متفاوت در هرستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌ها می‌باشد.

نتایج ارزیابی انجام گرفته روی نمونه‌های مورد بررسی توسط ارزیابان حسی در جدول ۳ آمده است. همان گونه که مشخص است تفاوت معنی‌داری در امتیاز داده شده به نمونه‌ها در مورد وضعیت ظاهری و رنگ وجود ندارد اما ارزیابان از نظر طعم ارجحیت بیشتری به مصرف کره تهیه شده با استارتر ترموفیل و مزوفیل قایل شدند.

جدول۳: نتایج ارزیابی حسی انجام شده روی نمونه‌های کره

نوع استارتر	رنگ	عطر و طعم	قابلیت پخش و سفتی
ترموفیل	٤/٦[a]	٤/٥[a]	٤/١[a]
مزوفیل	٤/٨[a]	٤/٧[a]	٤/٣[a]
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	٤/٥[a]	٣/٨[b]	٣/٨[a]
لاکتوباسیلوس کازئی	٤/٤[a]	٣/٥[b]	٤/٢[a]
بیفیدوباکتریوم لاکتیس	٤/٦[a]	٣/٨[b]	٣/٩[a]
استارتر مخلوط	٤/٥[a]	٣/٥[b]	٤/٢[a]

حروف متفاوت درهر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی داردر سطح $p < ٠/٠٥$ می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج تحقیقات منتشر شده در خصوص تأثیر تخمیر روی تغییر پروفایل اسیدهای چرب متناقض می‌باشد. در خصوص میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، کره تهیه شده با استارتر مخلوط بیشترین میزان این اسیدهای چرب را داشت. چربی شیر تنها منبع تغذیه‌ای این اسیدهای چرب بوده و اثرات سلامتی بخش متعددی برای آن‌ها شناسایی شده که می‌توان به خاصیت ضدتوموری و بازدارندگی بالقوه تکثیر سلول‌های سرطانی توسط اسید بوتیریک اشاره کرد (German and Dillard, 2006).

در خصوص تغییر میزان CLA در طی تخمیر، یافته‌های محققان نیز نشان می‌دهد که برخی از باکتری‌های لاکتیک نظیر گونه‌های *لاکتوباسیلوس*، *پروپیونی باکتریوم*، *بیفیدوباکتریوم* و *انتروکوکوس* توانایی تولید CLA را دارند (Sieber et al., 2004). مطابق با نظر Lin و همکاران (۲۰۰۵) استارترهای ماست قادر به تولید CLA می‌باشند. هم‌چنین Kim و Liu (۲۰۰۲) توان گونه‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *بولگاریکوس*، *هلوتیکوس*، *جانسونی*، *پلانتاروم* را جهت تولید CLA بررسی کرده و نتایج گرفته‌اند که قابلیت تولید گونه‌های مختلف بسته به نوع محیط متفاوت بوده به طوری که میزان تولید *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *اسیدوفیلوس* در شیر کامل بیشتر از بقیه گونه‌ها می‌باشد.

Ekinci و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی تأثیر فعالیت برخی باکتری‌های لاکتیک روی اسیدهای چرب در خامه ترش به این نتیجه رسیده است که در خامه‌هایی که با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* ترش شده بودند میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر بیشتر و میزان اسید اولئیک کمتر از خامه‌های تخمیر شده با باکتری‌های ماست و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* می‌باشد که در نمونه‌های بررسی شده در این تحقیق نیز نتایج مشابهی بدست آمده است یعنی اسید اولئیک در کره تهیه شده با استارتر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بیشتر از کره ترش حاصل از استارتر ماست بود اما میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در این دو نوع کره تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت. هم چنین طبق یافته‌های این محققان، خامه‌های تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در مقایسه با خامه‌های تخمیر شده با استارتر ماست، میزان CLA بیشتری را دارا بودند. در نتایج بدست آمده در این تحقیق نیز به کار گرفتن استارتر مخلوط، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* منجر به افزایش معنی‌داری در CLA گردید (جدول ۱). اما Osorio و همکاران (۲۰۱۱) به نبودن تفاوت در میزان اسید لینولئیک کنژوگه در کومیس‌های تهیه شده با انواع مختلف باکتری‌های لاکتیک اشاره کرده‌اند در صورتی که کاهش در شاخص آتروژنیک را در نمونه‌های کومیس تهیه شده با *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* قابل ملاحظه بیان کردند که در نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر نیز کره تهیه شده با استارتر ترموفیل ماست که حاوی *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* می‌باشد کم‌ترین AI را دارد.

Salamon و همکاران (۲۰۰۹) تغییرات اسیدهای چرب و CLA را در ماست تهیه شده با باکتری‌های لاکتیک متفاوت بررسی و نتیجه گرفتند که فعالیت آن‌ها تغییرات بسیار جزئی را در اسیدهای چرب محصول در مقایسه با شیر ایجاد می‌کنند. در نمونه‌های بررسی شده،

اسیدهای چرب کوتاه و متوسط زنجیر عموماً کاهش یافته و اسیدهای چرب غیراشباع بیشتر شده بودند. Santos و همکاران (۲۰۱۲) اشاره کرده‌اند که اضافه کردن استارتر به فرآورده‌های لبنی باعث آزادشدن اسیدهای چرب در اثر لیپولیز می‌گردد که با توجه به عملکرد لیپازهای حاصل از استارترها روی موقعیت اول و سوم تری گلیسیریدها، آزاد شدن و کاهش اسیدهای چرب کوتاه زنجیر بیشتر اتفاق می‌افتد. هم‌چنین طبق نظر این محققان، در طی تولید ماست اسید بوتیریک و شاخص آتروژنیک کاهش می‌یابد در بین اسیدهای چرب آتروژن نیز، اسید لوریک و میریستیک ثابت بوده اما میزان اسید پالمیتیک در ماست کاهش جزئی نسبت به شیر پیدا می‌کند.

Osorio و همکاران (۲۰۱۱) شاخص آتروژنیک را در نمونه‌های کومیس تهیه شده با استارترهای مختلف (*لاکتوکوکوس لاکتیس* زیرگونه *لاکتیس*، *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیرگونه *کرموریس*، *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی*) بررسی کرده و نتیجه گرفتند که میزان اسیدهای چرب اشباع، غیراشباع و شاخص آتروژنیک تحت تأثیر نوع استارتر مصرفی بوده و پایین‌ترین AI را برای کومیس‌های تهیه شده با استارتر *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیرگونه *کرموریس* و زیر گونه *لاکتیس* (با میزان ۱/۵) بیان کردند.

Santos junior و همکاران (۲۰۱۲) تغییرات اسیدهای چرب چربی شیر را در شیر خام، شیر پاستوریزه و ماست بررسی کرده و نتیجه گرفتند که در طی تولید ماست، اسید بوتیریک و شاخص آتروژنیک کاهش می‌یابد. طبق گزارشات این محققان در بین اسیدهای چرب آتروژن، اسید لوریک و میریستیک ثابت بوده اما میزان اسید پالمیتیک در ماست کاهش جزئی نسبت به شیر پاستوریزه داشته و از ۳۱/۷ درصد در شیر به ۲۸/۸ درصد در ماست رسیده است.

به طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که با استفاده از روش تخمیر و کاربرد باکتری‌های لاکتیک بدون ایجاد تفاوت معنی‌داری در ویژگی‌های حسی، امکان کاهش تأثیرات نامطلوب تغذیه‌ای در کره وجود دارد و استفاده از باکتری ترموفیل که در صنعت برای تهیه ماست استفاده می‌شود و استارتر مخلوط حاوی سویه‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *کازئی* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* بهترین نتیجه را در کاهش اندیس آتروژنیک در کره‌ها خواهد داشت این در حالی است که نمونه تهیه شده با استارتر مخلوط و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در مقایسه با بقیه تیمارها، حاوی میزان بالاتری از اسید لینولئیک کنژوگه خواهد بود. این نتایج همراه با مطالعات تکمیلی در آینده می‌تواند به معرفی نوعی محصول با مضرات کم‌تر و سلامت بخشی بیشتر منتهی گردد.

منابع

- Abu-Ghazaleh, A.A., Schingoethe, D. and Hippen, A. (2001). Conjugated linoleic acid and other beneficial fatty acids in milk fat from cows fed soybean meal, fish meal, or both. Journal of Dairy Science, 84: 1845-1850.
- Bising, W., Eberhard, P., Collomb, M. and Rehberger, A. (2007). Influence of processing on the fatty acid composition and the content of conjugated linoleic acid in organic and conventional dairy products-a Review. Lait, 87:1-19.
- Bobe, G., Zimmerman, S., Hammond, E., Freeman, E. and Luhman, C. (2007). Butter composition and texture from cows with different milk fatty acid composition fed fish oil or roasted soybeans. Journal of Dairy Science, 90: 2596-2603.
- Collomb, M., Schmid, A., Sieber, R., Wechsler, D. and Ryhanen, E. (2006). Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effect. International Dairy Journal 16: 1347-1361.
- Ekinci, F.Y., Okur, O.D., Ertekin, B. and Guzel-Seydim, Z. (2008). Effects of probiotic bacteria and oils on fatty acid profiles of cultured cream. European Lipid Journal, 110: 216-224.
- Hurtaud, C., Faucon, F., Couvreur, S. and Peyraud, J.L. (2010). Linear relationship between increasing amounts of extruded linseed in dairy cow diet and milk fatty acid composition and butter properties. Journal of Dairy Science, 93: 385-391.
- German, J.B. and Dillard, C.J. (2006). Composition, structure and absorption of milk lipids: A source of energy, fat-soluble nutrients and bioactive molecules. Critical Rewiews in Food Science & Nutrition, 46: 57-92.
- Jiang, J., Bjorck, L. and Fonder, R. (1998). Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures. Journal of Applied Microbiology, 85: 95-102.
- Kim, Y.J. and Liu, R.H. (2002). Increase of conjugated linoleic acid content in milk by fermentation with lactic acid bacteria. Journal of Dairy Science, 67: 1731-1737.
- Kishino, S., Ogawa, J., Matsumura, K. and Shimizu, S. (2002). Conjugated linoleic acid production from linoleic acid by lactic acid bacteria. Journal of American Oil Chemists Society, 79: 159-163.
- Kim, J.J., Jung, T., Ahn, J. and Kwak, H. (2006). Properties of cholesterol-reduced butter made with ß-cyclodextrin and added evening primrose oil and phytosterols. Journal of Dairy Science, 89: 4503-4510.
- Lepage, G. and Roy, C. (1986). Direct transestrification of all classes of lipids in a one-step reaction. Journal of Lipid Research, 27: 114-120.
- Lin, T.Y., Hung, T.H. and Cheng, T. (2005). Conjugated linoleic acid production by immobilized cells of *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus*. Food Chemistry, 92: 23-28.
- Loor J.J. and Herbein, J.H. (2003). Reduced fatty acid synthesis and desaturation due to exogenous trans10, cis12-CLA in cows fed oleic or linoleic oil. Journal of Dairy Science, 86: 1354-1369.
- Nielsen, E.W. and Ullum, J.A. (1989). Dairy Technology. Danish Turnkey Dairies Ltd, pp. 87-115.
- Osorio, J.A., Ramirez, C., Novoa, C.F. and Gutierrez, L.F. (2011). Conjugated linoleic acid, fatty acid profile and process properties in Kumis-fermented milk consumer in Colombia. Revista De La Facultad De Quimica Farmaceutica, 189(2): 144-152.
- Salamon, R.V., Loki, K. and Csapo-Kiss, Z.S. (2009). Changes in fatty acid composition and conjugated linoleic acid contents of sour dairy products caused by pure cultures. Acta University Sapietia Alimentaria, 2(2): 276-286.
- Santos Junior, O.O., Pedrao, M., Coro, F.A. and DeSouza, F.G. (2012). Fatty acid content of bovine milk fat from raw milk to yoghurt. American journal of applied science, 9(8): 1300-1306.
- Sieber, R., Collomb, M., Aeschlimann, A., Jelen, P. and Eyer, H. (2004). Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products–A review. International Dairy Journal, 14: 1-15.
- Walstra, P., Geurts, T.J., Noomen, A., Jellema, A. and Boekel, M. (1999). Dairy Technology. Marcell Dekker Inc, pp. 485-515.

Impact of lactic acid bacteria on conjugated linoleic acid content and atherogenic index of butter

Roufegari-Nejad, L.[1]*, Ehsani, M.R.[2], Darabi Amin, M. [3], Mizani, M.[4], Alizadeh, A.[5]

1- Ph.D Graduated of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2- Full Professor of Food Science and Technology Department, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran,
3- Assistant Professor of Biochemistry Department, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.
4- Assistant Professor of Food Science and Technology Department, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
5- Assistant Professor of Food Science and Technology Department, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
*Corresponding author email: l.roufegari@iaut.ac.ir
(Received: 2012/12/29 Accepted: 2013/6/29)

Abstract

This is a study aimed to investigate the effect of lactic acid bacteria including *Lactobacillus acidophilus* and *Sterptococcus thermophilus* (as thermophilic culture), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *cremoris* and *diacetylactis*, *Leuconostoc citrovorum* (as mesophilic culture), *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium lactis* and a mixed culture of *L.acidophilus, L. casei and B. lactis* on fatty acid profile, conjugated linoleic acid (CLA) and atherogenic index (AI) of butter. Fatty acid analysis with gas chromatography indicated that application of thermophilic and mixed culture decreased the ratio of saturated to unsaturated fatty acid; whereas, the butters made with *L. acidophilu*s had the highest content of CLA. Moreover, AI in the samples prepared with thermophilic cultures was the least. Sensory evaluation of the treatments revealed no significant differences (p> 0/05) in appearance and color. However, the butters prepared with thermophilic and mesophilic cultures had more desirable taste in comparison with the samples made with *L. acidophilus, L. casei* and *B. lactis*. From the nutritional point of view, the adverse effect of butter could be diminished via the application of selected lactic acid bacteria.

Key words: Conjugated linoleic acid, Atherogenic index, Lactic acid bacteria, Butter.