مطالعه تأثیر مقادیر مختلف pH، نمک و دما بر میزان بقاء *لاکتوباسیلوس کازئی* در شیر در طول مدت نگه‌داری

حمید میرزایی *

1. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران

* نویسنده مسئول مکاتبات: hmirzaii@yahoo.com

(دریافت مقاله:87/2/21، پذیرش نهایی:87/6/4)

چکیده

با توجه به این‌که یکی از مهم‌ترین نکات در مورد محصولات پروبیوتیک میزان بقاء میکروب‌های زنده در طول مدت نگه‌داری می باشد، لذا هدف از اجرای این تحقیق تعیین تأثیر مقادیر مختلف pH ، نمک و دما بر میزان بقاء *لاکتوباسیلوس کازئی* شیر در طول مدت 30 روز نگه‌داری است. به این منظور ابتدا 4 ارلن مایر 2 لیتری سترون انتخاب و به هر کدام از آن‌ها 1/5 لیتر شیر استریلیزه اضافه شد. به هر کدام از ارلن‌های اول، دوم و سوم 2 درصد مایه ماست و به ارلن چهارم به‌عنوان شاهد 2 درصد شیر استریل تلقیح گردید و نمونه‌های حاصله در گرمخانه 42 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا وقتی‌که pH نمونه‌های اول تا سوم به‌ترتیب به حدود 3/5، 4/5 و 5/5 رسید. سپس ارلن‌ها 10 دقیقه در دمای 90 درجه سانتی‌گراد حرارت‌دهی شد تا باکتری‌های مایه ماست کشته شوند و از محتویات هر کدام از ارلن‌های اول، دوم، سوم و چهارم به مقدار 500 میلی‌لیتر به 3 ظرف شیشه‌ای درب‌دار سترون انتقال یافت و به این ترتیب 4 گروه 3 شیشه‌ای به‌دست آمد و در هر مجموعه به نمونه اول، دوم و سوم به ترتیب صفر، 2 و 4 درصد نمک اضافه شد و در ادامه به هر کدام از ارلن‌ها 5 میلی‌لیتر محلول مک فارلند حاوی حدود 3×10^9 CFU/ml *لاکتوباسیلوس کازئی* تلقیح گردید. عملیات فوق 12 بار تکرار و نمونه‌های حاصله در 6 تکرار اول در دمای حدود 4 و در 6 تکرار دوم در دمای حدود 25 درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. تعداد سلول‌های زنده موجود در هرکدام از محتویات 12 ارلن حاصله به‌ترتیب در زمان‌های بلافاصله بعد از تولید، 4، 8، 12، 16 و 30 روز بعد از نگه‌داری با استفاده از روش کشت سطحی در محیط MRS محاسبه و میانگین‌های حاصله مورد آنالیزهای آماری قرار گرفت. براساس آنالیز واریانس تکراری و آنالیز واریانس یک‌طرفه میانگین تعداد سلول‌های زنده *لاکتوباسیلوس کازئی* در نمونه‌های با pH های 6/5 و 5/5 به‌طور معنی‌دار بیشتر از تعداد آن‌ها در نمونه‌های با pH های 4/5 و 3/5 و نیز در نمونه‌های نگه‌داری شده در دمای 5 درجه سانتی‌گراد بیشتر از تعداد آن‌ها در دمای 25 درجه سانتی‌گراد بر آورد شد (p <0/01). در صورتی‌که غلظت نمک تأثیر معنی‌داری بر میزان بقاء *لاکتوباسیلوس کازئی* در شیر نداشت. شیر با pH های 6/5 و 5/5 و دارای تا سقف 4% نمک در شرایط یخچالی تا مدت حدود 30 روز و در دمای 20 تا 25 درجه سانتی‌گراد تا حدود 15 روز محیط خوبی برای نگه‌داری و انتقال *لاکتوباسیلوس کازئی* به مصرف‌کننده می‌باشد.

مجله علوم تخصّصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، 1386، دوره 2، شماره 1، 41-21.

کلمات کلیدی: pH ، نمک، دما، میزان بقاء، *لاکتوباسیلوس کازئی*، شیر

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

مقدمه

محقّقین تعاریف مختلفی در خصوص پروبیوتیک‌ها ارائه نموده و اثرات بسیار متعددی را به آن‌ها نسبت داده‌اند. در سال 1989 پروبیوتیک‌ها تحت‌عنوان مکمل غذایی حاوی میکروب‌های زنده که از طریق تعادل میکروفلور روده اثرات مفید در بدن میزبان ایجاد می‌نمایند، تعریف شده که در این تعریف اثرات مفید پروبیوتیک‌ها فقط از طریق میکروفلور روده شناخته شده است. در سال 1999 پروبیوتیک‌ها را تحت‌عنوان «فرآورده‌هایی از سلول‌های میکروبی یا اجزایی از سلول‌های میکروبی که اثر مفیدی روی سلامت و آسایش انسان دارند» تعریف نمودند. براساس این تعریف پروبیوتیک‌ها محدود به میکروب‌های زنده نیستند و اشکال غیر زنده پروبیوتیک‌ها نیز روی سلامت انسان تأثیر می‌گذارند (2 و 5).

بر اساس مطالعات متعددی که به‌صورت آزمایشگاهی و روی موجودات زنده اعم از جمعیت‌های انسانی و نیز حیوانات مختلف آزمایشگاهی صورت گرفته، خواص بسیار با ارزشی از جمله اثرات ضد جهش‌زا و ضد سرطان‌زایی، تقویت و تحریک سیستم ایمنی بدن، مقاومت در مقابل بیماری‌زاهای روده‌ای، درمان و پیشگیری اسهال‌های ویروسی و باکتریایی، اثر مهاری روی سرطان قولون، اثر پیشگیری روی سرطان مثانه، تقویت سیستم ایمنی، مهار رشد باکتری‌های روده باریک، درمان عفونت‌های مجاری ادراری- تناسلی، درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط هلیکوباکترپیلوری، بهبود عدم تحمل لاکتوز و کاهش کلسترول سرم خون و ... را به پروبیوتیک‌ها نسبت داده‌اند (2، 3، 12 و 23).

یکی از نکات مهم در مورد فرآورده‌های تخمیری حاوی پروبیوتیک، قابلیت نگه‌داری آن‌ها و بقاء سویه‌های پروبیوتیکی در طول نگه‌داری است. مطالعات انجام گرفته نشان داده که تعداد سلول‌های زنده پروبیوتیک‌ها در طول مدت نگه‌داری تحت شرایط مختلف به مقادیر متفاوت کاهش می یابد و این مسئله می‌تواند یک مانع بسیار مهم بر سر راه رغبت و تمایل صاحبان کارخانجات جهت تولید فرآورده‌های پروبیوتیکی باشد. Ishibashi و Shimamura در سال 1993 گزارش کردند که غذاهای فراویژه (پروبیوتیک‌ها) در زمان مصرف باید حداقل دارای 10^7 CFU/gr سلول زنده باشند و مصرف‌کننده حداقل روزانه 100 گرم از این محصول را مصرف نماید تا اثرات مفید آن در بدن میزبان ایجاد گردد (10).

Kurmans و Rasic در سال 1991 حداقل تعداد سلول‌های زنده قابل قبول در فرآورده‌های پروبیوتیک را 10^6 CFU/ml و Lourens-Hattingh و Viljeon در سال 2001 این رقم را در حدود 10^7 تا 10^8 CFU/ml گزارش نموده‌اند (15 و 16). لذا توافق کلی در این مورد که تعداد باکتری‌های زنده پروبیوتیک موجود در مواد غذائی درچه حدودی باشد تا نتایج مفید مورد انتظار آن‌ها حاصل گردد وجود ندارد. تکثیر و حفظ تعداد سلول‌های زنده مورد نیاز بر اساس گزارش Shah در سال 2000 a، Dave و Shah در سال 1997 و Talwalkar و Kailasapathy در سال 2004 به عواملی همچون نوع سویه باکتری، اسیدیته محیط، اکسیژن محلول وابسته است (7، 20 و 22) و برای مهار کاهش تعداد سلول‌ها راه‌های مختلفی از جمله ریزپوشانی (Microencapsulation) و اضافه کردن پری‌بیوتیک‌ها پیشنهاد شده است (4، 5 و 6). در پژوهش حاضر تأثیر مقادیر مختلف pH در 4 سطح، درصد نمک در 3 سطح و تاثیر دمای محیط نگه‌داری در 2 سطح بر میزان بقاء لاکتو *باسیلوس کازئی* در شیر در طول مدت نگه‌داری (30 روز) مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌کار

1- آماده سازی و تنظیم pH نمونه‌های شیر

ابتدا 4 ارلن مایر 2 لیتری در اتوکلاو 121 درجه سانتی‌گراد و به‌مدت 15 دقیقه سترون شد و در هر کدام از آن‌ها 1/5 لیتر شیر استریل توزیع گردید. سپس به هر کدام از ارلن‌های اول،

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

دوم و سوم 2 درصد مایه ماست (حاوی *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و لاکتوباسیلوس *بولگاریکوس*) و به ارلن چهارم 2 درصد شیر استریلیزه به‌عنوان شاهد تلقیح گردید و نمونه‌های حاصله در گرمخانه 42 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا در اثر تخمیر لاکتوز توسط مایه ماست اسیدیته لازم در نمونه‌ها تولید گردد و pH نمونه‌ها در طول مدت گرمخانه‌گذاری با استفاده از دستگاه pH متر اندازه‌گیری شد تا زمانی‌که pH ارلن‌های اول، دوم و سوم به‌ترتیب به‌حدود 3/5، 4/5 و 5/5 رسید. سپس ارلن‌ها از گرمخانه خارج و هر کدام از آن‌ها 10 دقیقه در دمای 90 درجه سانتی‌گراد حرارت‌دهی شد تا باکتری‌های مایه ماست کشته شوند و بلافاصله ارلن‌ها درداخل آب سرد قرار داده شد تا دمای محتویات آن‌ها به حدود 20 درجه سانتی‌گراد کاهش یابد. سپس از محتویات هر کدام از ارلن‌های اول، دوم، سوم و چهارم که به‌ترتیب دارای pH در حدود 3/5، 4/5، 5/5 و 6/5 بودند، به‌مقدار 400 میلی‌لیتر به 3 ظرف شیشه‌ای درب‌دار سترون انتقال یافت و به این ترتیب 4 گروه 3 شیشه‌ای به‌دست آمد.

2- تنظیم درصد نمک نمونه‌های شیر

ابتدا 120 گرم نمک ساخت کارخانه Merck, Germany به‌دقت توزین و در 600 میلی‌لیتر آب مقطر حل و در اتوکلاو 121 درجه سانتی‌گراد و به‌مدت 15 دقیقه سترون گردید. در هرگروه 3 شیشه‌ای به نمونه اول 100 میلی‌لیتر آب مقطر استریلیزه، به نمونه دوم 50 میلی‌لیتر آب مقطر استریلیزه و 50 میلی‌لیتر آب نمک و به نمونه سوم 100 میلی‌لیتر آب نمک اضافه گردید و به این ترتیب در هر گروه نمونه اول، دوم و سوم به‌ترتیب دارای صفر، 2 و 4 درصد نمک شدند.

3-آماده‌سازی و تلقیح مایه کشت *لاکتوباسیلوس کازئی* به نمونه شیر با مقادیر مختلف pH و نمک

ابتدا 0/1 گرم از گرانول‌های حاوی لاکتو*باسیلوس کازئی*01 ساخت کارخانه Hansen, France در شرایط سترون به 80 میلی‌لیتر محیط کشت لاکتوز براث استریل (Merck, Germany) اضافه و بعد از همگن‌سازی به‌مدت 24 ساعت درگرمخانه 42 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری و سپس به‌صورت سطحی در MRS آگار کشت داده شد. پلیت‌های حاصله به‌مدت 72 ساعت در گرمخانه 37 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و از پرگنه‌های حاصله طبق روش مک فارلند سوسپانسیون تهیّه گردید و از سوسپانسیون حاوی 3×10^9 CFU/ml به‌طور مساوی 5 میلی‌لیتر به هر کدام از 12 نمونه آماده شده در 4 گروه تلقیح گردید و عملیات فوق الذکر 12 بار تکرار گردید و نمونه‌های حاصله در 6 تکرار اول در شرایط یخچالی و در 6 تکرار دوم در شرایط محیطی (حدود 20-25 درجه سانتی‌گراد) نگه‌داری گردید. **4- شمارش تعداد سلول‌های زنده *لاکتوباسیلوس کازئی***

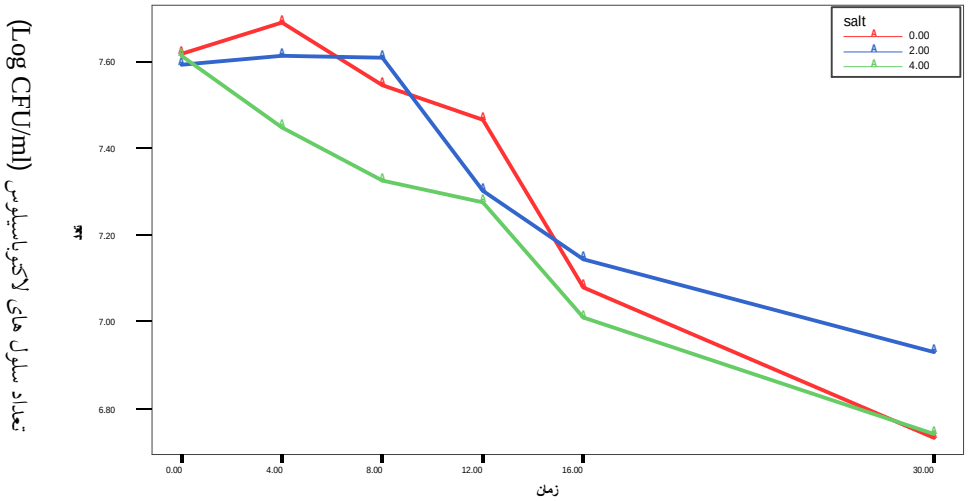
به ترتیب در زمان‌های بلافاصله بعد از تولید (صفر)، 4، 8، 12، 16 و 30 روز بعد از نگه‌داری از نمونه‌ها با استفاده از روش کشت Surface plate method در محیط MRS کشت و پلیت‌های حاصله در جار بی‌هوازی و در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به‌مدت 72 ساعت گرمخانه‌گذاری شدند و تعداد پرگنه‌ها در پلیت‌های حاوی 30-300 پرگنه شمارش و تعداد کل واحدهای تشکیل دهنده پرگنه (Colony Forming Unit) در هر میلی‌لیتر از نمونه‌ها محاسبه گردید (1) و در نهایت شاخص‌های مرکزی و پراکندگی نمونه‌ها در زمان‌های مختلف 6 تکرار اول (نگه‌داری شده در دمای حدود 4 درجه سانتی‌گراد) و 6 تکرار دوم (نگه‌داری شده در دمای حدود 25 درجه سانتی‌گراد) محاسبه و مورد آنالیز آماری قرار گرفت.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

نتایج

1- ارزیابی تاثیر غلظت‌های مختلف نمـک در دمـای 25 درجه سانتی‌گراد

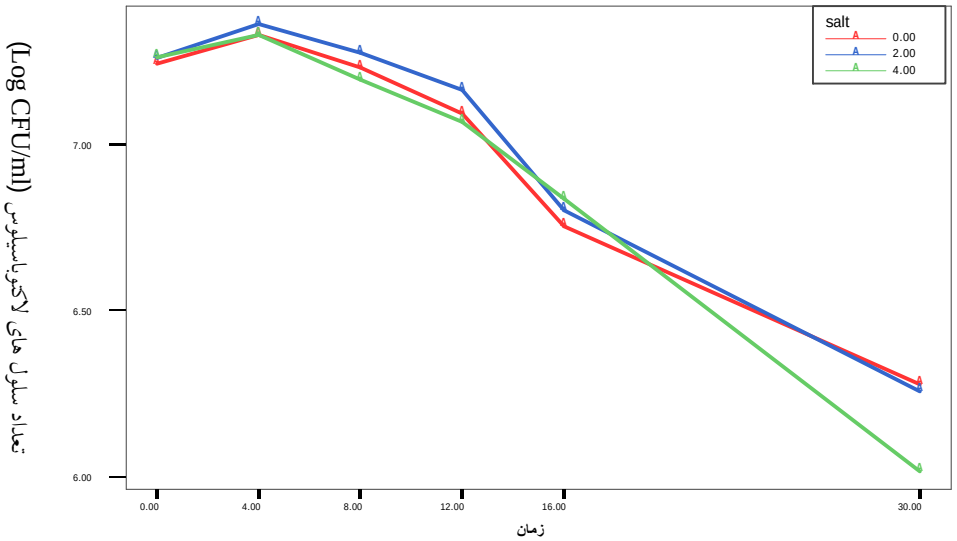
نتایج مربوط به ارزیابی تأثیر غلظت‌های مختلـف نمـک بـر میزان بقاء *لاکتوباسیلوس کازئی* درشیر با pH های مختلف در طول مدت 30 روز نگه‌داری در دمای 25 درجه سانتی‌گـراد در نمودارهای 1 تا 4 نشان داده شده است.



نمودار1- تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر دارای pH = 3/5 با مقادیر مختلف نمک در مدت نگه‌داری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد

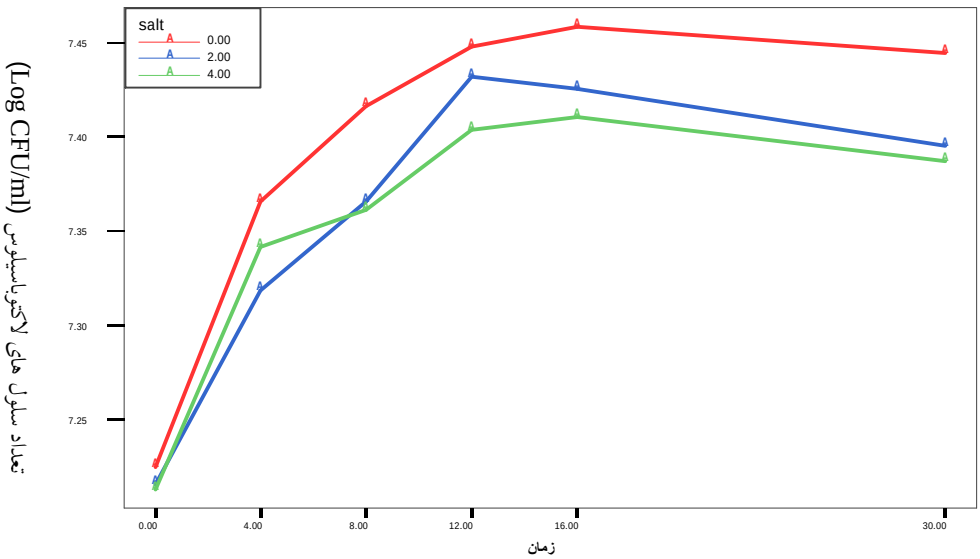
طبق آزمون آماری آنالیز واریانس تکراری تعداد سلول‌های زنده *لاکتوباسیلوس کازئی* در نمونه‌های شیر شاهد و دارای 2 و 4 درصد نمک با pH=3/5 در طول مدت نگه‌داری (30 روز) در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌دار کاهش یافته است (p<0/01). از طرف دیگر طبق آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه تفاوت بین میانگین تعداد سلول‌های زنده در نمونه‌های شیر حاوی مقادیر مختلف نمک در هیچ کدام از مقاطع زمانی دوره نگه‌داری معنی‌دار برآورد نشد.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



نمودار2- میانگین تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه های شیر دارای pH = 4/5 با مقادیر مختلف نمک در مدت نگه‌داری در دمای حدود 25 درجه سانتی‌گراد

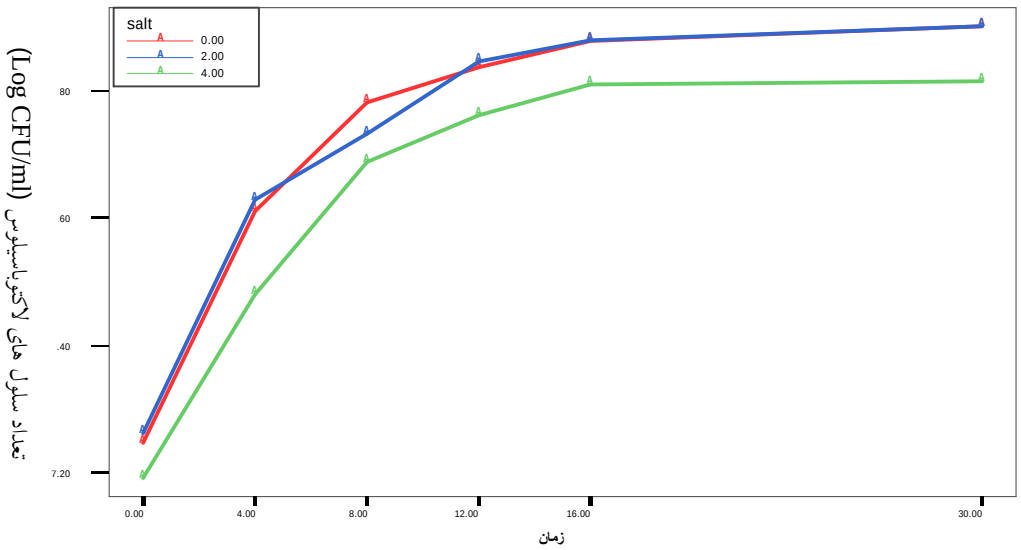
طبق آزمون آماری آنالیز واریانس تکراری تعداد سلول‌های زنده *لاکتوباسیلوس کازئی* در نمونه‌های شیر شاهد و دارای 2 و 4 درصد نمک با pH=4/5 در طول مدت نگه‌داری (30 روز) در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌دار کاهش یافته است (p<0/01). از طرف دیگر طبق آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی، تفاوت بین میانگین تعداد سلول‌های زنده در نمونه‌های شیر حاوی مقادیر مختلف نمک در هیچ کدام از مقاطع زمانی دوره نگه‌داری معنی‌دار برآورد نشد.



نمودار3- میانگین تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر دارای pH = 5/5 با مقادیر مختلف نمک در مدت نگه‌داری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

طبق آزمون آماری آنالیز واریانس تکراری تعداد سلول‌های زنده *لاکتوباسیلوس کازئی* در نمونه‌های شیر شاهد و دارای 2 و 4 درصد نمک با pH=6/5 در 12 روز اول دوره نگه‌داری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌دار افزایش یافته است (p<0/01) ولی تعداد این سلول‌ها در نمونه حاوی 2% نمک از روز 12 ام و در نمونه‌های شاهد و دارای 4% نمک از روز 16ام تا آخر دوره نگه‌داری به‌طور غیرمعنی‌دار کاهش یافته است. از طرف دیگر طبق آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه تفاوت بین میانگین تعداد سلول‌های زنده در نمونه‌های شیر حاوی مقادیر مختلف نمک در هیچ کدام از مقاطع زمانی دوره نگه‌داری معنی‌دار برآورد نشد.



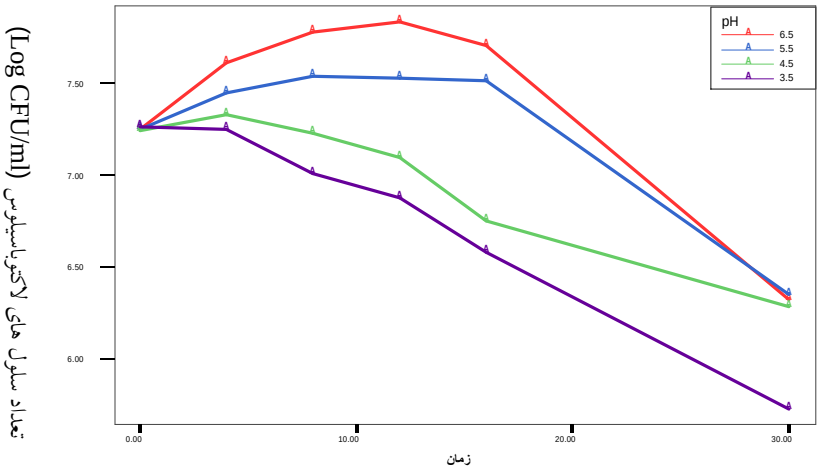
نمودار4- میانگین تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر دارای pH = 6/5 با مقادیر مختلف نمک در مدت نگه‌داری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد

طبق آزمون آماری آنالیز واریانس تعداد سلول‌های زنده *لاکتوباسیلوس کازئی* در نمونه‌های شیر شاهد و دارای 2 و 4 درصد نمک با pH=6/5 در 16 روز اول دوره نگه‌داری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌دار افزایش یافته است (p<0/01)، ولی در 14 روز آخر دوره نگه‌داری تعداد این سلول‌ها در هیچ‌کدام از نمونه‌ها تغییرات معنی‌داری را نشان نمی‌دهند. از طرف دیگر طبق آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه تفاوت بین میانگین تعداد سلول‌های زنده در نمونه‌های شیر حاوی مقادیر مختلف نمک در هیچ کدام از مقاطع زمانی دوره نگه‌داری معنی‌دار برآورد نشد.

2- ارزیابی تاثیر pH های مختلف در دمای حدود 25 درجه سانتی‌گراد

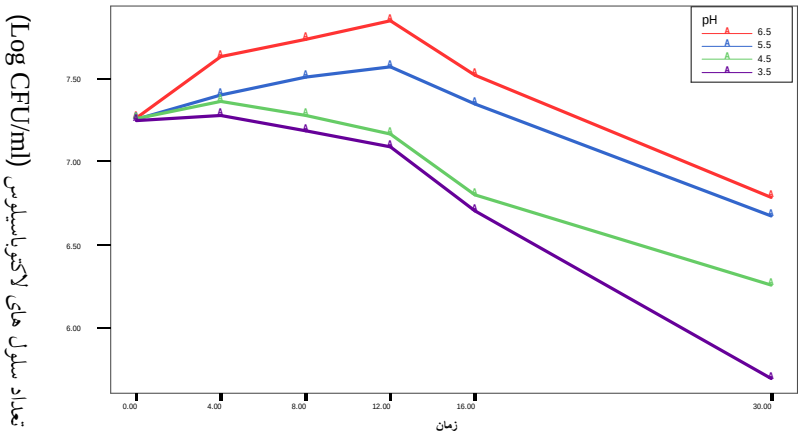
نتایج ارزیابی تأثیر pH های مختلف بر میزان بقاء *لاکتوباسیلوس کازئی* در شیر دارای غلظت‌های مختلف نمک در طول مدت 30 روز نگه‌داری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد در نمودارهای 5 تا 7 و بدون توجه به غلظت نمک در نمودار 8 نشان داده شده است.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



نمودار5- میانگین تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر بدون نمک با pH های مختلف در مدت نگه‌داری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد

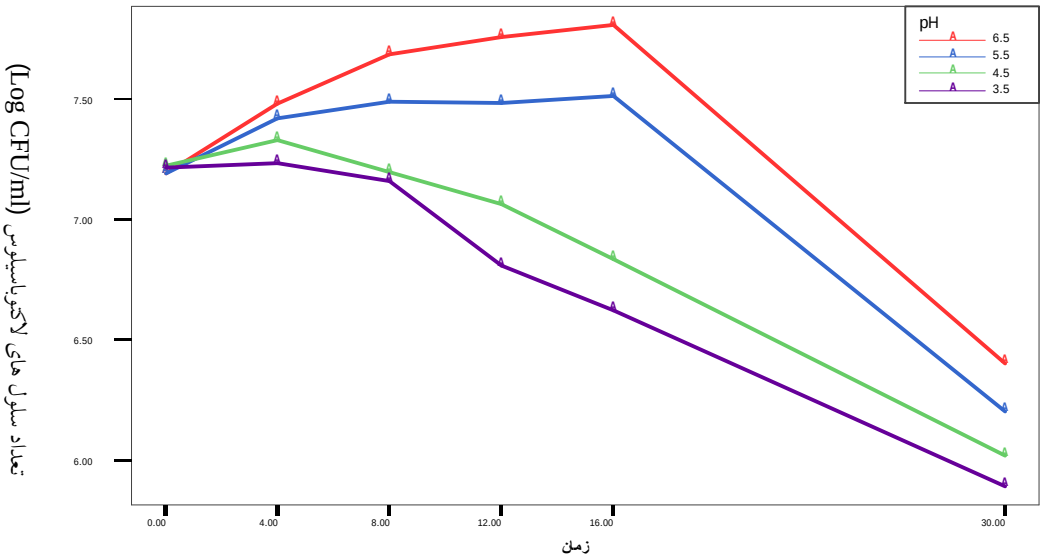
تعداد سلول‌های لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر با pH های حدود 6/5 و 5/5 در 12 روز اول دوره نگه‌داری روند افزایشی و در 18 روز آخر دوره روند کاهشی نشان می‌دهند که طبق آزمون آماری آنالیز واریانس تکراری این تغییرات معنی‌دار برآورد شده است (p<0/01)، در صورتی‌که در نمونه‌های با pH های برابر حدود 4/5 و 3/5 تعداد سلول‌های زنده عملاً از روز چهارم تا آخر دوره نگه‌داری روند کاهشی معنی‌داری نشان می‌دهند (p<0/01). از طرف دیگر طبق آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح α = 0/05 میانگین تعداد سلول‌های زنده در نمونه‌های شیر با pH های حدود 6/5 و 5/5 در روزهای 4، 8، 12 و 16 به‌طور معنی‌دار بیشتر از نمونه‌های با pH های برابرحدود 4/5 و 3/5 برآورد شده است (p<0/01).



نمودار6- میانگین تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر حاوی 2% نمک با pH های مختلف در مدت نگه‌داری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

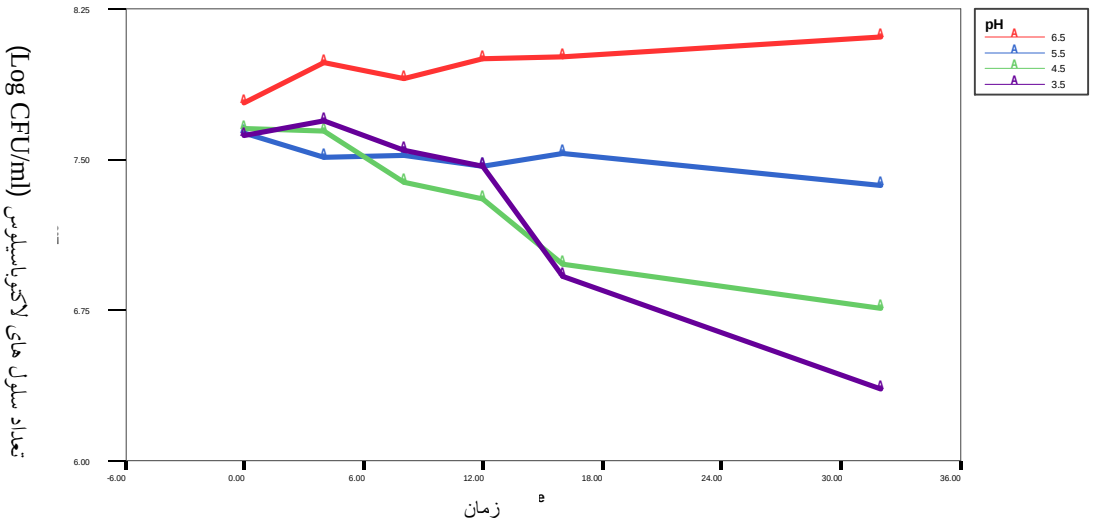
تعداد سلول‌های زنده *لاکتوباسیلوس کازئی* در نمونه‌های شیر با pH های 6/5 و 5/5 در 12 روز اول دوره نگه‌داری افزایش یافته است و این افزایش بر اساس آزمون آماری آنالیز واریانس تکراری در سطح $\alpha = 0/05$ معنی‌دار می‌باشد ($p<0/01$) در صورتی‌که در همین مدت تعداد سلول‌های زنده در نمونه‌های با pH های برابر 4/5 و 3/5 به‌طور غیرمعنی‌دار کاهش یافته است. از روز12 تا آخر دوره نگه‌داری تعداد سلول‌های زنده در تمام نمونه‌ها کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهند ($p<0/01$). از طرف دیگر طبق آزمون تعقیبی توکی در سطح $\alpha = 0/05$ میانگین تعداد سلول‌های زنده در نمونه شیر با pH های 6/5 در روزهای 4، 8، 12، 16 و 30 و در نمونه شیر با pH های 5/5 در روزهای 8، 12، 16 و 30 به‌طور معنی‌دار بیشتر از نمونه‌های با pH های برابر 4/5 و 3/5 برآورد شده است ($p<0/01$).



نمودار7- میانگین تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر حاوی 4% نمک با pH های مختلف در مدت نگه‌داری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد

تعداد سلول‌های زنده *لاکتوباسیلوس کازئی* در نمونه‌های شیر با pH های 6/5 و 5/5 در 16 روز اول دوره نگه‌داری روند افزایشی و در 14 روز آخر دوره روند کاهشی نشان می‌دهند که طبق آزمون آماری آنالیز واریانس تکراری این تغییرات معنی‌دار برآورد شده است ($p<0/01$)، در صورتی‌که در نمونه‌های با pHهای برابر 4/5 و 3/5 تعداد سلول‌های زنده عملاً از روز چهارم تا آخر دوره نگه‌داری روند کاهشی معنی‌داری نشان می‌دهند ($p<0/01$). از طرف دیگر طبق آزمون تعقیبی توکی میانگین تعداد سلول‌های زنده در نمونه‌های شیر با pH های 6/5 و 5/5 در روزهای 8، 12 و 16 به‌طور معنی‌دار بیشتر از نمونه‌های با pH های برابر 4/5 و 3/5 و در روزهای 4، 8، 12، 16 و 30 روز به‌طور معنی‌دار بیشتر از نمونه با pH=3/5 برآورد شده است ($p<0/01$).

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



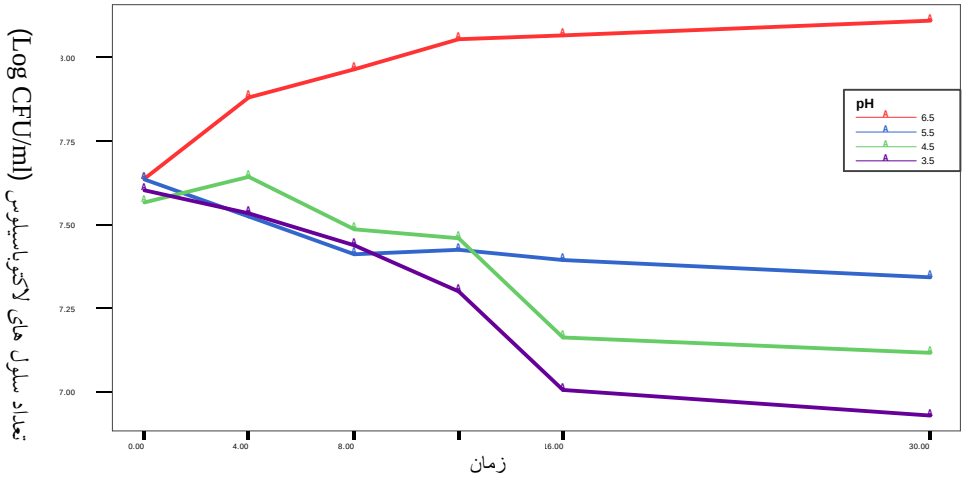
نمودار8- میانگین تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر حاوی بدون نمک با pH های مختلف در مدت نگه‌داری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد

طبق آزمون آماری آنالیز واریانس تکراری تعداد سلول‌های زنده *لاکتوباسیلوس کازئی* در نمونه‌های شیر بدون نمک با pH=6/5 در طول مدت نگه‌داری (30 روز) در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌دار افزایش و در نمونه‌های با pH های برابر 4/5 و 3/5 به‌طور معنی‌دار کاهش یافته (p<0/01)، ولی تغییرات تعداد سلول‌های زنده *لاکتوباسیلوس کازئی* در نمونه‌های شیر با pH=5/5 معنی‌دار برآورد نشده است. از طرف دیگر طبق آزمون تعقیبی توکی، میانگن تعداد سلول‌های زنده در نمونه شیر با pH حدود 6/5 در روزهای 4، 8، 12، 16 و 30 از نمونه‌های دیگر و در نمونه شیر با pH حدود 5/5 در روزهای 16 و 30 به‌طور معنی‌دار بیشتر از نمونه‌های با pHهای برابر 4/5 و 3/5 برآورد شده است (p<0/01).

3- ارزیابی تأثیر pH های مختلف در دمای حدود 4 درجه سانتی‌گراد

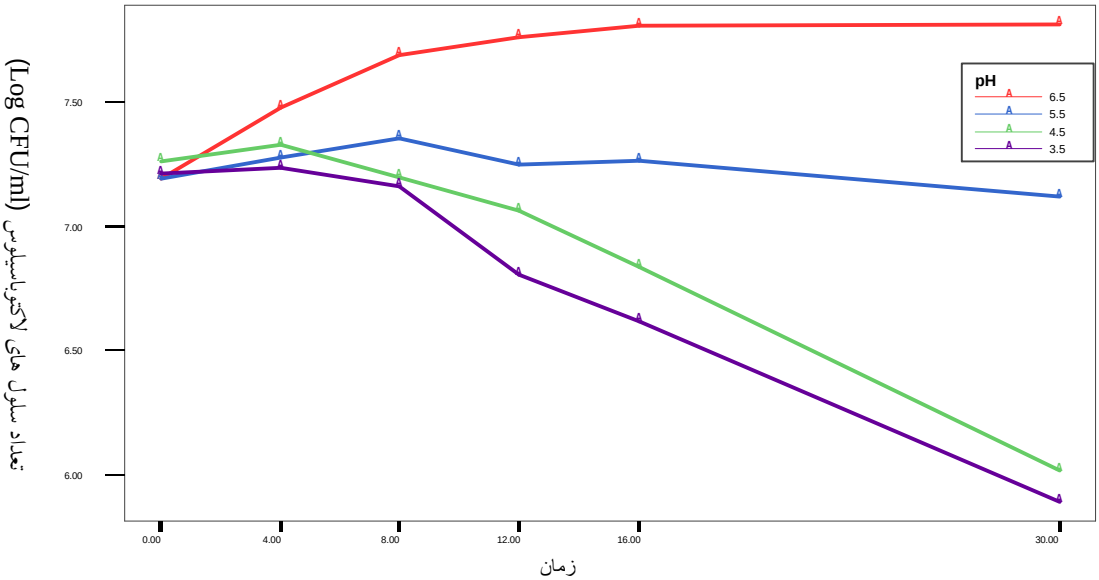
نتایج مربوط به ارزیابی تأثیر pH های مختلف بر میزان بقاء *لاکتوباسیلوس کازئی* در شیر دارای غلظت‌های مختلف نمک در طول مدت 30 روز نگه‌داری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد در نمودارهای 9 تا 11 نشان داده شده است.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



نمودار9- میانگین تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر حاوی 2% نمک با pH های مختلف در مدت نگه‌داری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد

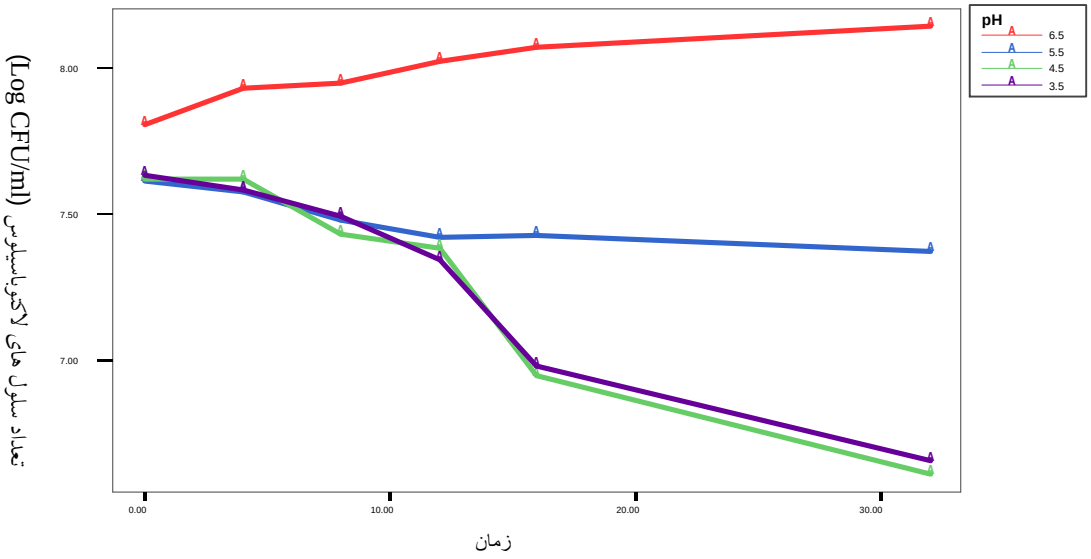
طبق آزمون آماری آنالیز واریانس تکراری تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر دارای 2% نمک با pH=6/5 در طول مدت نگه‌داری (30 روز) در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌دار افزایش و در نمونه‌های با pH های برابر 4/5 و 3/5 به‌طور معنی‌دار کاهش یافته است (p<0/01)، ولی تغییرات تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر با pH=5/5 معنی‌دار برآورد نشده است. از طرف دیگر طبق آزمون تعقیبی توکی در سطح α = 0/05 تعداد سلول‌های زنده در نمونه شیر با pH =6/5 در روزهای 4، 8، 12، 16 و 30 از نمونه‌های دیگر و در نمونه شیر با pH =5/5 در روزهای 16 و 30 به‌طور معنی‌دار بیشتر از نمونه‌های با pH های برابر 4/5 و 3/5 برآورد شده است (p<0/01).



نمودار10- میانگین تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیرحاوی 4% نمک و pH های مختلف در مدت نگه‌داری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

طبق آزمون آماری آنالیز واریانس تکراری تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر دارای 4% نمک با pH=6/5 در طول مدت نگه‌داری (30 روز) در دمای حدود 4 درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌دار افزایش و در نمونه‌های با pH های برابر 4/5 و 3/5 به‌طور معنی‌دار کاهش یافته است (p<0/01)، ولی تغییرات تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر با pH=5/5 معنی‌دار برآورد نشده است. از طرف دیگر طبق آزمون تعقیبی توکی تعداد سلول‌های زنده در نمونه شیر با pH حدود 6/5 در روزهای 4، 8، 12، 16 و 30 از نمونه‌های دیگر و در نمونه شیر با pH حدود 5/5 در روزهای 12، 16 و 30 به‌طور معنی‌دار بیشتر از نمونه‌های با pH های برابر 4/5 و 3/5 برآورد شده است (p<0/01).



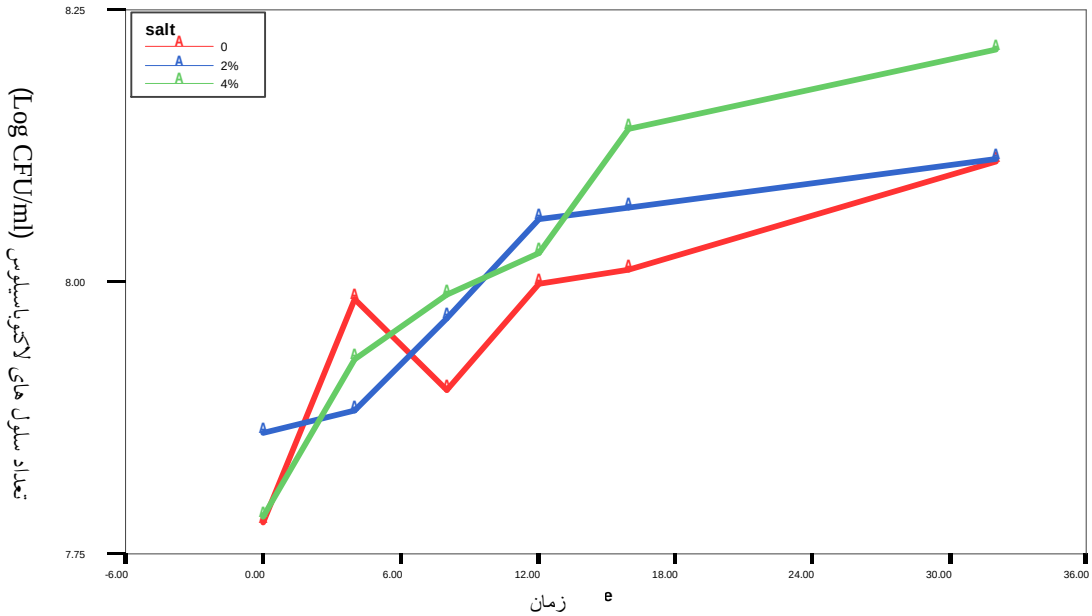
نمودار11- میانگین تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر با pH های مختلف و بدون توجه به مقدار نمک نمونه‌ها در مدت نگه‌داری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد

لگاریتم تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر(بدون توجه به مقدار نمک آن‌ها) با pH=6/5 در طول مدت نگه‌داری (30 روز) در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌دار افزایش و در نمونه‌های با pH های برابر 4/5 و 3/5 به‌طور معنی‌دار کاهش یافته است (p<0/01)، ولی تغییرات تعداد سلول‌های زنده *لاکتوباسیلوس کازیی* در نمونه‌های شیر با pH=5/5 معنی‌دار برآورد نشده است. از طرف دیگر طبق آزمون تعقیبی توکی، میانگین تعداد سلول‌های زنده در نمونه شیر با pH حدود 6/5 در روزهای 4، 8، 12، 16 و 30 از نمونه‌های دیگر و در نمونه شیر با pH حدود 5/5 در روزهای 16 و 30 به‌طور معنی‌دار بیشتر از نمونه‌های با pH های برابرحدود 4/5 و 3/5 برآورد شده است (p<0/01).

4- ارزیابی تأثیر غلظت‌های مختلف نمک در دمای حدود 4 درجه سانتی‌گراد

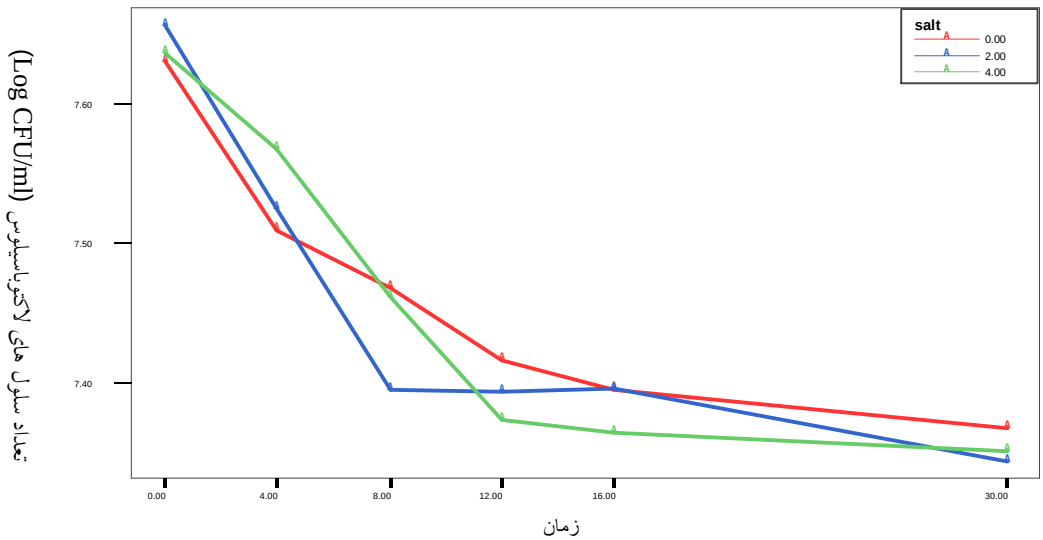
نتایج مربوط به ارزیابی تاثیر غلظت‌های مختلف نمک بر میزان بقاء *لاکتوباسیلوس کازئی* در شیر با pH های مختلف در طول مدت 30 روز نگه‌داری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد در نمودارهای 12 تا 15 و بدون توجه به pH آن‌ها در نمودار 16 نشان داده شده است.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



نمودار12- میانگین تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر دارای pH = 6/5 با مقادیر مختلف نمک در مدت نگه‌داری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد

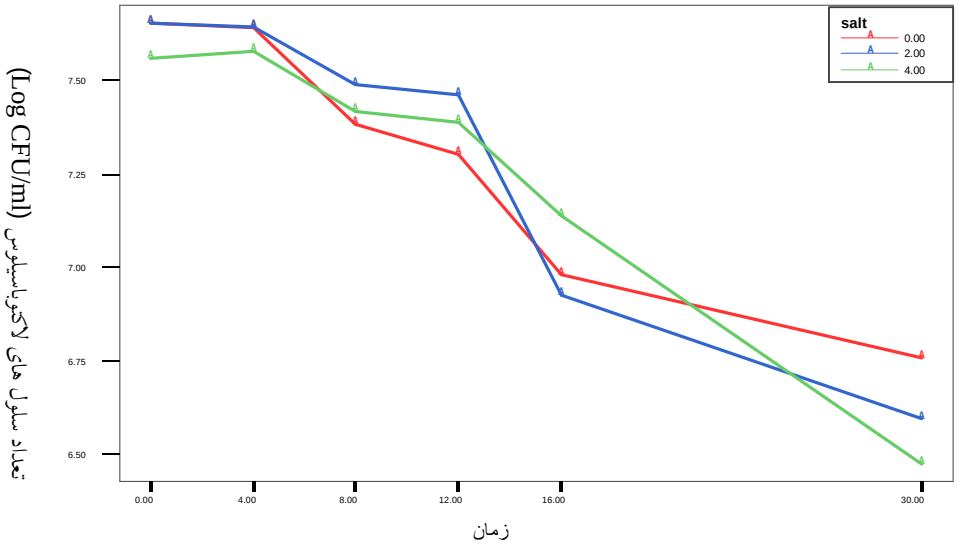
طبق آزمون آماری آنالیز واریانس تکراری تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر شاهد و دارای 2 و 4 درصد نمک با pH=6/5 در طول مدت نگه‌داری (30 روز) در دمای 4 درجه‌سانتی‌گراد به‌طور معنی‌دار افزایش یافته است ($p<0/01$).



نمودار13- میانگین تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیردارای pH = 5/5 با مقادیر مختلف نمک در مدت نگه‌داری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

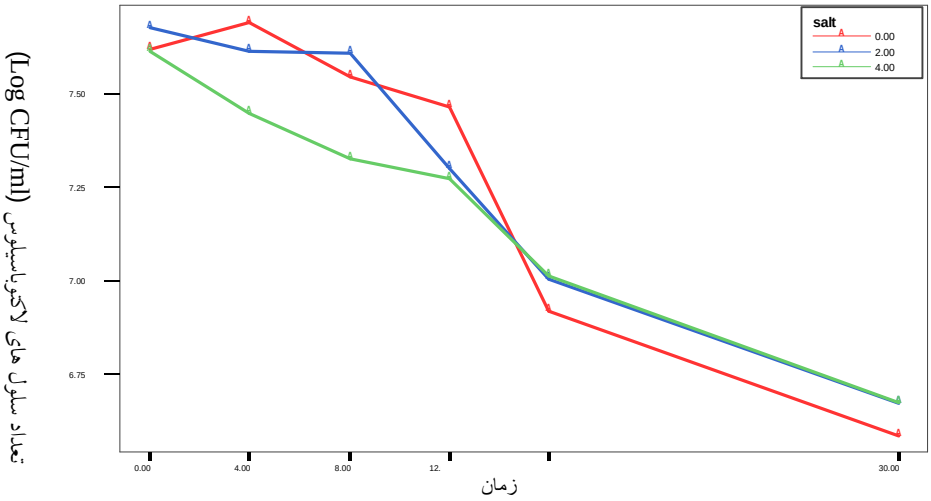
طبق آزمون آماری آنالیز واریانس تکراری تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر شاهد و دارای 2 و 4 درصد نمک با pH=5/5 در طول مدت نگه‌داری (30 روز) در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌دار کاهش یافته است ($p<0/01$). از طرف دیگر طبق آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه تفاوت بین میانگین تعداد سلول‌های زنده در نمونه‌های شیر حاوی مقادیر مختلف نمک در هیچ کدام از مقاطع زمانی دوره نگه‌داری معنی‌دار برآورد نشد.



نمودار14- میانگین تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر دارای pH = 4/5 با مقادیر مختلف نمک در مدت نگه‌داری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد

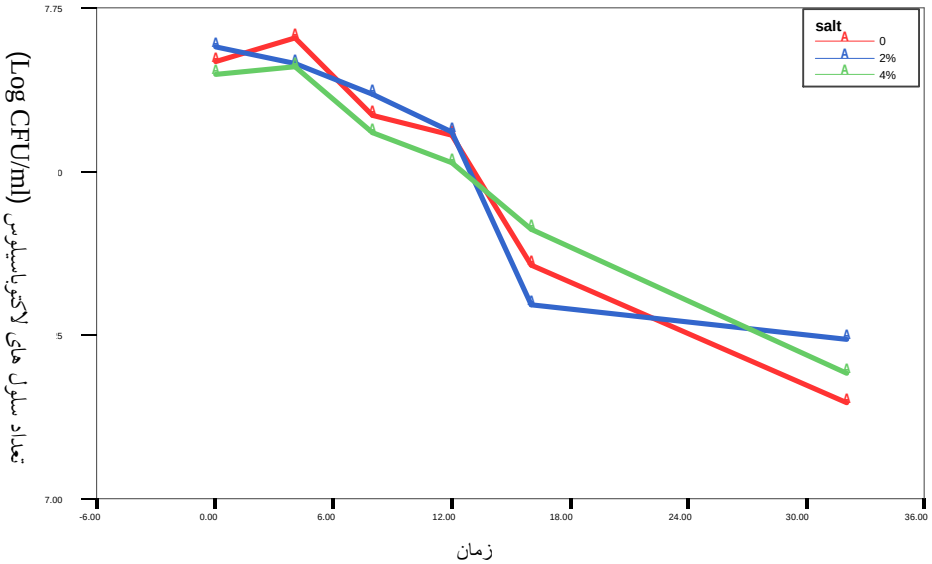
طبق آزمون آماری آنالیز واریانس تکراری، لگاریتم تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر شاهد و دارای 2 و 4 درصد نمک با pH= 4/5 در طول مدت نگه‌داری (30 روز) در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌دار کاهش یافته است ($p<0/01$). از طرف دیگر طبق آزمون آنالیز واریانس یک طرفه تفاوت بین میانگین تعداد سلول‌های زنده در نمونه‌های شیر حاوی مقادیر مختلف نمک در هیچ کدام از مقاطع زمانی دوره نگه‌داری معنی‌دار برآورد نشد.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



نمودار15- میانگین تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه های شیر دارای pH = 3/5 با مقادیر مختلف نمک در مدت نگه‌داری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد

طبق آزمون آماری آنالیز واریانس تکراری، لگاریتم تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر شاهد و دارای 2 و 4 درصد نمک با pH=3/5 در طول مدت نگه‌داری (30 روز) در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌دار کاهش یافته است (p<0/01). از طرف دیگر طبق آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه تفاوت بین میانگین تعداد سلول‌های زنده در نمونه‌های شیر حاوی مقادیر مختلف نمک در هیچ کدام از مقاطع زمانی دوره نگه‌داری معنی‌دار برآورد نشد.



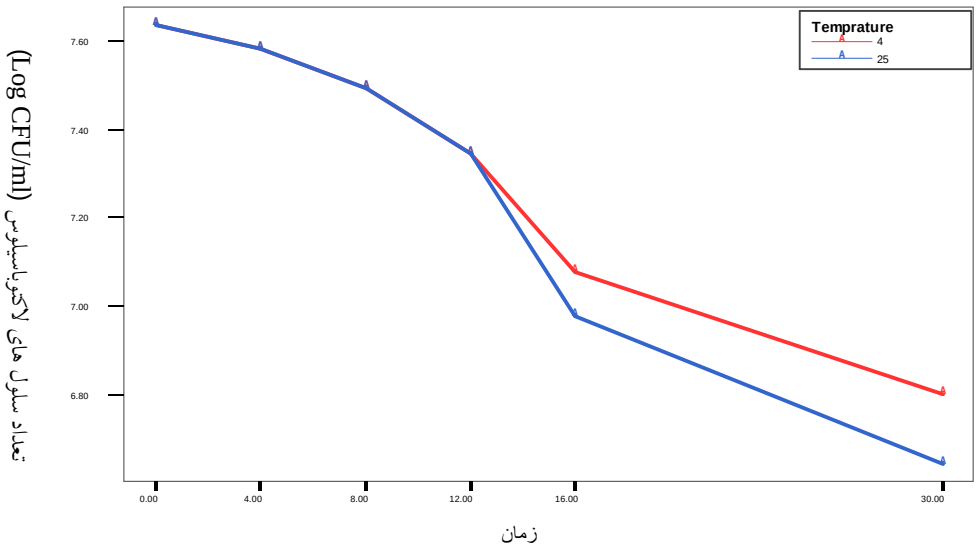
نمودار16- میانگین تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر با مقادیر مختلف نمک بدون توجه به میزان pH آن‌ها در مدت نگه‌داری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

طبق آزمون آماری آنالیز واریانس تکراری، تعداد سلول‌های زنده *لاکتوباسیلوس کازئی* در نمونه‌های شیر شاهد و دارای 2 و 4 درصد نمک (بدون توجه به pH آن‌ها) در طول مدت نگه‌داری (30 روز) در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌دار کاهش یافته است (p<0/01). از طرف دیگر طبق آزمون تعقیبی توکی تفاوت بین میانگین تعداد سلول‌های زنده در نمونه های شیر حاوی مقادیر مختلف نمک در هیچ‌کدام از مقاطع زمانی دوره نگه‌داری معنی‌دار برآورد نشد.

5- ارزیابی تأثیر دماهای مختلف در pH های متفاوت

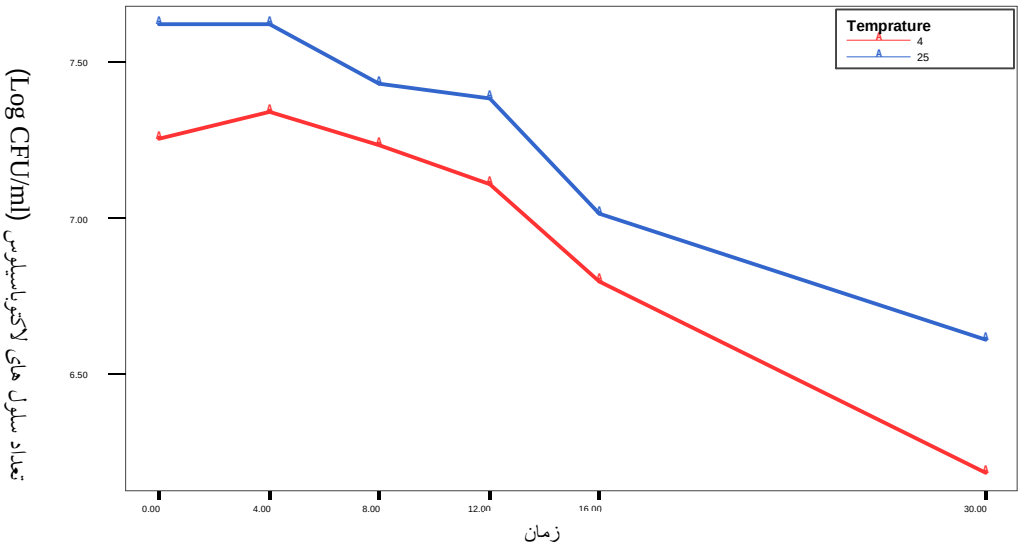
نتایج مربوط به ارزیابی تأثیر دماهای مختلف بر میزان بقاء *لاکتوباسیلوس کازئی* درشیر دارای pH های مختلف در طول مدت 30 روز نگه‌داری در نمودارهای 17 تا 20 نشان داده شده است.



نمودار17- میانگین تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر دارای pH = 3/5 نگه‌داری در دماهای 4 و 25 درجه سانتی‌گراد

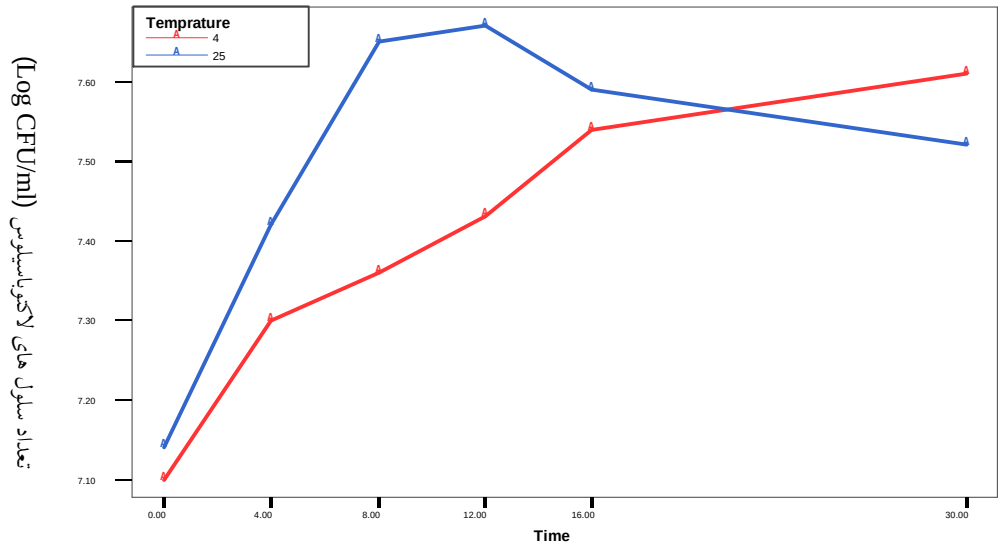
طبق آزمون آماری آنالیز واریانس تکراری، تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر نگه‌داری شده در دماهای 4 و 25 درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌دار کاهش یافته است (p<0/01). از طرف دیگر طبق آزمون تی مستقل تفاوت بین میانگین کاهش تعداد سلول‌های زنده در نمونه‌های شیر نگه‌داری شده در دماهای حدود 4 و 25 درجه سانتی‌گراد معنی‌دار برآورد نشد.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



نمودار18- میانگین تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر دارای pH = 4/5 نگه‌داری شده در دماهای 4 و 25 درجه سانتی‌گراد

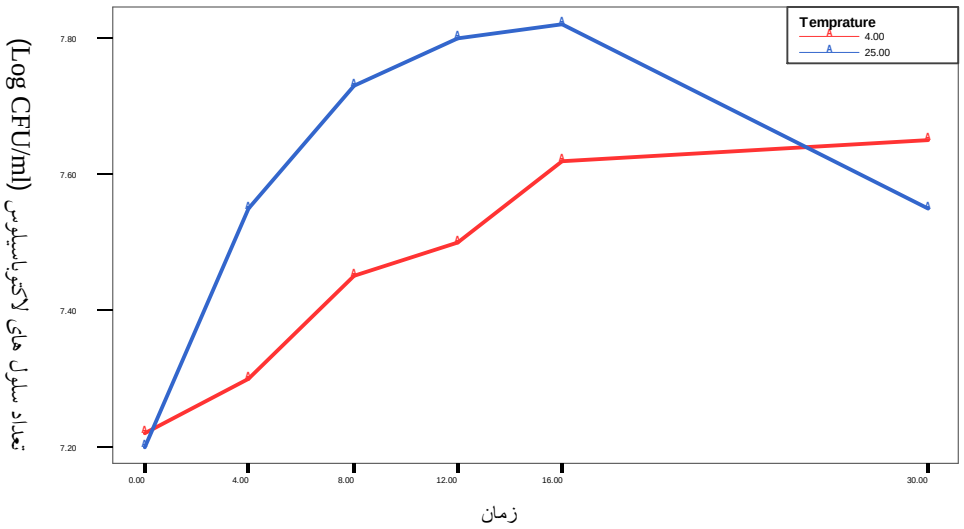
طبق آزمون آماری آنالیز واریانس تکراری، تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر نگه‌داری شده در دماهای حدود 4 و 25 درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌دار کاهش یافته است (p<0/01). از طرف دیگر طبق آزمون آماری تی مستقل تفاوت بین میانگین کاهش تعداد سلول‌های زنده در نمونه‌های شیر نگه‌داری شده در دماهای حدود 4 و 25 درجه سانتی‌گراد معنی‌دار برآورد نشد.



نمودار19- میانگین تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر دارای pH = 5/5 نگه‌داری شده در دماهای 4 و 25 درجه سانتی‌گراد

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر با pH=5/5 نگه‌داری شده در دماهای 4 و 25 درجه سانتی‌گراد طبق آزمون آماری آنالیز واریانس تکراری به‌طور معنی‌دار افزایش یافته است (p<0/01). از طرف دیگر طبق آزمون تی مستقل میانگین تعداد سلول‌های زنده در نمونه‌های شیر نگه‌داری شده در دمای 25 درجه سانتی‌گراد در روزهای 8، 12 و 16 به‌طور معنی‌دار بیشتر از نمونه‌های نگه‌داری شده در دمای 4 درجه سانتی‌گراد برآورد شده است (p<0/01)، ولی این اختلاف در آخر دوره نگه‌داری معنی‌دار نمی‌باشد.



نمودار20- میانگین تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر دارای pH = 6/5 نگه‌داری شده در دماهای 4 و 25 درجه سانتی‌گراد

تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس در نمونه‌های شیر با pH =5/5 نگه‌داری شده در دماهای 4 و 25 درجه سانتی‌گراد طبق آزمون آماری آنالیز واریانس تکراری به‌طور معنی‌دار افزایش یافته است (p<0/01). از طرف دیگر طبق آزمون تی مستقل میانگین تعداد سلول‌های زنده در نمونه‌های شیر نگه‌داری شده در دمای 25 درجه سانتی‌گراد در روزهای 8، 12 و 16 به‌طور معنی‌دار بیشتر از نمونه‌های نگه‌داری شده در دمای 4 درجه سانتی‌گراد برآورد شده است (p<0/01)، ولی این اختلاف در آخر دوره نگه‌داری معنی‌دار نمی‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصله از پژوهش حاضر نشان داد که میزان بقاء *لاکتوباسیلوس کازئی* در طول مدت نگه‌داری در نمونه‌های شیر با pH آن‌ها رابطه مستقیم دارد. به‌عبارت دیگر، میزان بقاء این باکتری در مقاطع زمانی مختلف دوره نگه‌داری 30 روزه در نمونه‌های شیر دارای pH حدود 6/5 و 5/5 به‌طور معنی‌دار بیشتر از میزان بقاء آن‌ها در نمونه‌های شیر با pH حدود 4/5 و 3/5 می‌باشد (p<0/01) به‌طوری‌که، حتی تعداد سلول‌های زنده این باکتری در نمونه‌های شیر دارای pH=6/5 نگه‌داری شده در شرایط یخچال در طول مدت 30 روز و در نمونه‌های شیر با همین pH و نگه‌داری شده در دمای حدود 25 درجه سانتی‌گراد در طول مدت حدود 15 روز اول دوره نگه‌داری افزایش معنی‌داری را نشان داد (p< 0/01).

Vinderola و همکاران در سال 2002 تاثیر مقادیر متفاوت pH (4، 5 و 6/5) را بر میزان بقاء باکتری‌های مولد اسید لاکتیک (*استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* تحت سویه بولگاریکوس) و باکتری‌های پروبیوتیک

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

(*لاکتوباسیلوس لاکتیس*، *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم*) در طول 4 هفته نگه‌داری محصول در دمای حدود 5 درجه سانتی‌گراد را مورد مطالعه قرار دادند و نتیجه گرفتند که سویه‌های فوق در pH برابر 6/5 و 5 کاهش معنی‌دار را نشان نمی‌دهند و از بین باکتری‌های فوق فقط بعضی از سویه‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نسبت به pH=5 حساسیت معنی‌داری را نشان دادند ($p< 0/01$)، در صورتی‌که در pH=4 فقط کاهش تعداد سلول‌های زنده *لاکتوباسیلوس بولگا ریکوس*، *بیفیدوباکتریوم* و سویه‌های گروه *لاکتوباسیلوس کازئی* معنی‌دار نبود (23).

Gomes و همکاران در سال 1999 گزارش کردند که کاهش میزان بقاء سلول‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در شیر در طول دوره نگه‌داری در شرایط سرما بیشتر از سلول‌های *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* می‌باشد (9).

Kailasapathy و Rybka در سال 1997 ضمن مطالعه میزان بقاء سویه‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* ***(B.animalis)*** در ماست میوه‌ایی به‌هم‌زده در طول مدت نگه‌داری در شرایط یخچال گزارش کردند که براساس آزمون همبستگی پیرسون بین pH و تعداد سلول‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (r = 0/598) و *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* (r = 0/583) همبستگی مثبت معنی‌دار وجود دارد ($p< 0/01$). همچنین این پژوهشگران نتیجه گرفتند که سلول‌های *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* تحت سویه لاکتیس در مقایسه با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* برای بهتر زنده ماندن نیاز به pH بالاتری دارند (12).

Donkor و همکاران در سال 2006 نشان دادند که میزان بقاء سلول‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* L10 و *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* L 26 در ماست در طول مدت 28 روز نگه‌داری در 4 درجه سانتی‌گراد بیشتر از *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* سویه لاکتیس می‌باشد (8).

Kailasapathy در سال 2006، Shah در سال 2000b، Kailasapathy و Rybka در سال 1997 و Dave و Shah در سال 1997 رابطه بین pH محیط و میزان بقاء پروبیوتیک‌ها را نشان داده اند (7، 11، 12 و 21).

Capela و همکاران در سال 2006 گزارش کردند که تعداد سلول‌های زنده چهار پروبیوتیک شامل *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی*، *بیفیدوباکتریوم لانگوم* و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* به‌صورت توأمان در داخل ماست دارای pH = 4/5 در طول مدت 4 هفته نگه‌داری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌دار (به اندازه حدود 1/7 لگاریتم) کاهش می‌یابد (5). krasaekoopt و همکاران در سال 2006 گزارش کردند که تعداد سلول‌های زنده *لاکتوباسیلوس کازئی* آزاد و ریزپوشانی نشده در داخل ماست با pH = 4/5 در طول مدت 4 هفته دوره نگه‌داری در 4 درجه سانتی‌گراد از 0/1±9/7 به 0/1±8/5 کاهش می‌یابد. این پژوهشگران همچنین گزارش کردند که در همین شرایط تعداد سلول‌های زنده *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* از 0/1±8 به 2/ 0±4/2 و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* از 0/1±9/7 به 0/1±7/2 کاهش می یابد (14).

Rogelj و همکاران در سال 2002 ضمن مطالعه میزان بقاء *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* LF251 در اکوسیستم‌های مختلف گزارش کردند که سلول‌های زنده این باکتری در داخل پنیر نیمه سخت در دوره رسیدن به‌مدت 6 هفته در دمای 15 درجه سانتی‌گراد بقاء خود را به‌خوبی حفظ نمی‌نمایند به‌طوری‌که، از مجموع 10^7 CFU/ml سلول زنده *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* تزریق شده به شیر مورد استفاده در تولید پنیر بعد از 6 هفته دوره رسیدن حدود 10^6 CFU/ml × 6/8 از آن‌ها زنده باقی می‌ماند (17).

Yuki و همکاران در سال 1999 جهت مطالعه میزان بقاء *لاکتوباسیلوس کازئی* سویه شیروتا در دستگاه گوارش انسان 125 میلی‌لیتر از دوغ حاوی 8/04 Log CFU/ml باکتری را

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

به‌مدت 3 روز (روزانه حدود 10/1 Log CFU/ml سلول زنده) به افراد تحت مطالعه تجویز نمودند و سپس تعداد آن‌ها را در مدفوع این افراد شمارش کردند. نتایج حاصله نشان داد که تعداد لاکتوباسیلوس *کازئی* سویه شیروتا در مدفوع روز دوم در حدود 2/78 و در مدفوع روز چهارم در حدود 6/79 Log CFU/ml می‌باشد و نتیجه گرفتند که تعداد نسبتاً زیادی از سلول‌های لاکتوباسیلوس *کازئی* سویه شیروتا شرایط اسیدی معده را تحمل نموده و زنده می‌ماند (24).

نتایج حاصله از پژوهش حاضر نشان داد که غلظت‌های 2 و 4 درصد نمک طعام در نمونه‌های شیر در مقایسه با نمونه‌های شیر فاقد نمک تأثیر معنی‌داری بر میزان بقاء لاکتوباسیلوس *کازئی* در طول مدت 30 روز دوره نگه‌داری در دماهای حدود 4 و 25 درجه سانتی‌گراد ندارد.

Vinderola و همکاران در سال 2000 تأثیر مقادیر 1 و 2 درصد از Nacl و Kcl را بر رشد باکتری‌های مولد اسید لاکتیک و پروبیوتیک را مورد مطالعه قرار دادند و نتیجه گرفتند که باکتری‌های مولد اسید لاکتیک (*استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و لاکتوباسیلوس *بولگاریکوس*) نسبت به املاح به‌خصوص Nacl حساس‌تر از باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشند. طبق گزارش این تحقیق فقط تعدادی از سویه‌های بیفیدوباکتریا در غلظت 2 درصد نمک طعام مهار می‌شود (23).

Gomes و همکاران در سال 1998 گزارش کردند که سویه‌های بیفیدوباکتریوم نسبت به املاح حساس‌تر از سویه‌های لاکتوباسیلوس می‌باشند (9).

Kasimo و همکاران در سال 2004 ضمن ارزیابی و مقایسه میزان بقاء لاکتوباسیلوس *اسیدوفیلوس* در پنیر سفید ترکیه در طول دوره رسیدن در شرایط خلاء و داخل آب نمک 13% گزارش کردند که در 7 روز اول دوره رسیدن احتمالاً غلظت پایین نمک و میزان بالای رطوبت در مرکز نمونه‌های پنیر نگه‌داری شده در آب نمک عامل مهم در تکثیر و ازدیاد لاکتوباسیلوس *اسیدوفیلوس* می‌باشد (سرعت نفوذ نمک در پنیر در حدود 1-0/9 سانتی‌متر مربع در روز گزارش شده است) و از سوی دیگر غلظت بالای نمک، و میزان پایین رطوبت و دمای پایین شرایط نگه‌داری (در حدود 4 درجه سانتی‌گراد) به‌عنوان عوامل مؤثر در کاهش تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس *اسیدوفیلوس* بعد از 15 روز اول دوره رسیدن گزارش شده‌اند. در گزارش Kasimo و همکاران همچنین ذکر شده است که تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس *اسیدوفیلوس* در نمونه‌های نگه‌داری شده در شرایط خلاء به‌طور معنی‌دار بیشتر از تعداد آن‌ها در نمونه‌های نگه‌داری شده در آب نمک می‌باشد و عامل این امر غلظت بالای نمک در نمونه‌های نگه‌داری شده در آب نمک گزارش شده است (13).

همان‌طوری‌که در نمودارهای 16 و 17 مشاهده می‌شود، تأثیر دمای محیط نگه‌داری در حدود 4 و 25 درجه سانتی‌گراد بر میزان بقاء لاکتوباسیلوس *کازئی* در نمونه‌های شیر با pH های 3/5 و 4/5 غیرمعنی‌دار برآورد شده است. در صورتی‌که تعداد سلول‌های زنده لاکتوباسیلوس *کازئی* در نمونه‌های شیر با pHهای برابر 5/5 و 6/5 نگه‌داری شده در دمای 25 درجه سانتی‌گراد در روزهای 8، 12 و 16 دوره نگه‌داری به‌طور معنی‌دار بیشتر از تعداد آن‌ها در نمونه‌های نگه‌داری شده در دمای 4 درجه سانتی‌گراد برآوردگردید ($p< 0/01$).

در مجموع می‌توان گفت که شیر با pH های 5/5 و 6/5 و دارای تا سقف 4% نمک در شرایط یخچالی تا مدت حدود 30 روز و در دمای 20 تا 25 درجه سانتی‌گراد تا حدود 15 روز محیط خوبی برای نگه‌داری و انتقال لاکتوباسیلوس *کازئی* به مصرف‌کننده می‌باشد.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فهرست منابع

1. کریم، گ. (1378): آزمون‌های میکروبی مواد غذایی، چاپ سوم، انتشارات مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، صفحه: 33.
2. میرزایی، ح. (1383): پروبیوتیک‌ها و مقدمه‌ای بر کاربرد آن‌ها در تأمین سلامت انسان، چاپ اول، تبریز، انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، صفحات: 30- 13.
3. میرزایی، ح.، کریم، گ. و سودی، م. (1383): مطالعه تأثیر دکستروز، والین،گلیسین، تیامین و دماهای مختلف بر سرعت رشد *لاکتوباسیلوس کازئی* در شیر، شماره 1، فصل‌نامه علوم و صنایع غذایی ایران، صفحات: 59-51.
4. Bruno, A., Lankaputhra, W.E.V. and Shah, N.P. (2002): Growth, viability and activity of Bifidobacterium spp. in skim milk containing prebiotics. Journal of Food Science, 67: 2740–2744.
5. Capela, P., Hay, T.k.C. and Shah, N.P. (2006): Effect of cryoprotectants, prebiotics, and microencapsulation on survival of probiotic organisms in yogurt and freeze-dried yoghurt. Food Research International, 39: 203-211.
6. Corcoran, B.M., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F. and Stanton, C. (2004): Comparative survival of probiotic lactobacilli spray-dried in the presence of prebiotic substances. Journal of Applied Microbiology, 96: 1024–1039.
7. Dave, R.I. and Shah, N.P. (1997): Viability of yogurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. International Dairy Journal, 7: 31–41.
8. Donkor, O.N., Nilmini, S.L., Stolic, I.P., Vasiljevic, T. and Shah N.P. (2007): Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. International Dairy Journal, 17: 657–665.
9. Gomes, A.M.P. and Malcata, F.X. (1999): Bifidobacterium spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutic properties relevant for use as probiotics. Trends Food Sci. Tech., 10: 139–157.
10. Ishibashi, N. and Shimamura, S. (1993): Bifidobacteria research and development in Japan. Food Technology, 47:126-135.
11. Kailasapathy, K. (2006): Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. LWT Food Science and Technology, 39:1221-1227.
12. Kailasapathy, K. and Rybka, S. (1997): *Lactobacillus acidophilus* and Bifidobacterium spp- Their therapeutic potential and survival in yogurt. The Australian Journal of Dairy Technology, 52: 28-35.
13. Kasımo, A. Göncüo, M.L. and Akgünb, S. (2004): Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*. International Dairy Journal, 14: 1067-1073.
14. Krasaekoopt, W., Bhanedari, B. and Deeth, H.C. (2006): Survival of probiotics encapsulated in chitosan – coated alginate beads in yogurt from UHT – and conventional treated milk during storage. LWT, 39: 177-183.
15. Kurman, J.A. and Rasic, R.L. (1991): The health potential of products containing bifidobacteria. In R. K. Robinson (Ed.), Therapeutic properties of fermented milks. Elsevier Applied Food Science Series, 25: 117–158.
16. Lourens-Hattingh, A. and Viljeon, C.B. (2001): Yogurt as probiotic carrier food. International Dairy Journal, 11: 1-17.
17. Rogelj, I., Matijasic, B.B., Majhenic, A.C. and Stojkoric, S. (2002): The survival and persistence of *Lactobacillus acidophilus* LF 121 in different ecosystems. International Journal of Food Microbiology, 76: 83-91.
18. Rowland, I.R., and Burns, A.J. (2000): Anti-carcinogenicity of Probiotics and Prebiotics. Curr. Issues Intest. Microbiol., 1: 13-24.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

19. Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Matto, J. and Mattila-Sandholm, T. (2000): Probictic bacteria: safety, functional and technological properties. Journal of Biotechnology, 84 (3): 197 -515.
20. Shah, N.P. (2000_a): Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. Journal of Dairy Science, 83: 8, 4-907.
21. Shah, N.P. (2000_b): Some beneficial effects of probiotic bacteria. Bioscience Microflora, 19: 99-106.
22. Talwalkar, A. and Kailasapathy, K. (2004): A review of oxygen toxicity in probiotic yogurts: Influence on the survival of probiotic bacteria and protective techniques. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 3: 117–124.
23. Vinderola, C.B., Bailo, N. and Rein heimer, J.A. (2000): Survival of probiotic microflora in Argentinian yogurts during refrigerated storage. Food Research International, 33: 97-102.
24. Yuki, N., Watanabe, K., Milke, A., Tagami, Y., Tanak, R., Ohwaki, M. and Morotomi, M. (1999): Survival of a probiotic, *Lactobacillus casei* strain Shirota, in the gastrointestinal tract: Selective isolation from feces and indentification using monoclonal antibodies. International of Food Microbiology, 48:51-57.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com