مطالعه تأثیر دکستروز، والین، گلیسین، تیامین و دماهای مختلف بر سرعت رشد *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در شیر

حمید میرزایی[۱*]، افشین جوادی[۱]، یونس برزگر[۲]

۱. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، تبریز، ایران
۲. دانش آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز ، تبریز، ایران
* نویسنده مسئول مکاتبات: hmirzaii@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۸٦/۸/۱٦ ، پذیرش نهایی: ۸٦/۱۱/۸)

چکیده

اولین قدم جهت استفاده از میکروارگانیسم‌های مناسب برای تهیه فراورده‌های پروبیوتیک شیر، شناسایی شرایط رشد آنها در شیر و عوامل موثر بر آن می‌باشد. در این تحقیق تاثیر دکستروز، والین، گلیسین، تیامین و دماهای مختلف بر سرعت رشد *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در شیر مورد مطالعه قرار گرفته و برای این منظور از شیر تخمیر شده با بیفیدوباکتریوم بیفیدوم به‌عنوان مایه کشت جهت تلقیح در نمونه‌های شیراستفاده شده است. برای انتخاب دمای مناسب برای رشد میکروارگانیسم ابتدا از گرمخانه‌های ۲۸، ۳۵، ٤۲ و ٤۹ و سپس از گرمخانه‌های۳۵، ۳۸، ٤۱ و ٤٤ درجه سانتی‌گراد استفاده شد و اسیدیته نمونه‌های شیر به عنوان شاخص رشد باکتری در ابتدا و در طول گرمخانه‌گذاری اندازه‌گیری گردید. برای ارزیابی تاثیر مقادیر ویتامین B1 بر رشد *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* از غلظت‌های صفر(شاهد)، ۵، ۱۰ و ۱۵ ppm ، برای ارزیابی اثر دکستروز از غلظت‌های صفر(شاهد)، ۰/٤، ۰/٦، ۰/۸ و یک درصد دکستروز و برای ارزیابی تأثیر گلیسین و والین از غلظت‌های صفر(شاهد)، ۳۰، ٦۰، ۹۰ و ۱۲۰ ppm آنها استفاده گردید و اسیدیته نمونه‌های شیر قبل و در ساعات ۲، ٤، ٦ و ۸ گرمخانه‌گذاری در ٤۲ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. سرعت افزایش اسیدیته در دماهای ٤۱ و٤٤ درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌دار از سایر دماها بیشتر بود ($P<0/05$). افزودن غلظت‌های مختلف دکستروز، والین و گلیسین تاثیر معنی‌داری روی سرعت افزایش اسیدیته نمونه‌های شیر نداشت. افزودن تیامین نیز بر سرعت افزایش اسیدیته تأثیر معنی‌داری نشان نداد ولی تیامین قدرت تولید آنزیم‌های پروتئولیتیک و گاز توسط این باکتری را تقویت می‌کرد.

مجله علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، ۱۳۸٦، دوره ۱، شماره ۳، ۱۵۷-۱٤۹.

کلمات کلیدی: *بیفیدو باکتریوم بیفیدوم*، سرعت رشد، پری بیوتیک، شیر

مقدمه

پروبیوتیک‌ها در سال ۱۹۸۹ تحت عنوان مکمل‌های غذایی حاوی میکروب‌های زنده که از طریق تعادل میکروفلور روده‌ای اثرات مفید در بدن میزبان ایجاد می‌نمایند و در سال ۱۹۹۹ تحت عنوان فرآورده‌هایی از سلول‌های میکروبی یا اجزایی از سلول‌های میکروبی که اثر مفیدی روی سلامت و آسایش انسان دارند، تعریف شده‌اند. تا به‌حال اثرات مفید فراوانی از قبیل کمک به هضم لاکتوز، مقاومت در مقابل پاتوژن‌های روده‌ای، مهار سرطان قولون، تقویت سیستم ایمنی، کاهش لیپیدهای خون، کاهش فشار خون در افراد مصرف کننده و .... به پروبیوتیک ها نسبت داده شده است (٦، ۹ و ۱٦).

در تولید فرآورده‌های پروبیوتیکی به‌طور عمده از سویه‌های مختلف متعلق به جنس‌های باکتریایی *لاکتوباسیلوس (Lactobacillus)*، *بیفیدوباکتریا (Bifidobacteria)*، *لوکونستوک (Leuconostoc)*، *پدیوکوکوس (Pediococcus)*،

استرپتوکوکوس (Stereptococcus) و در مواردی نیز از جنس‌های کارنوباکتریوم (Carnobacterium)، آنتروکوکوس (Enterococcus)، لاکتوکوکوس (Lactococcus) و واگوکوکوس (Vagococcus) استفاده می شود (۷، ۱۵ و ۱۷).

بیفیدوباکتریوم بیفیدوم از جنس بیفیدوباکتریا می‌باشد که قبلاً تحت عنوان لاکتوباسیلوس بیفیدوس خوانده می‌شد و اولین بار در سال ۱۹۰۰ از مدفوع نوزادان جدا شده است. این باکتری گرم مثبت، میله‌ای شکل، غیر متحرک، بی‌هوازی و حساس به اکسیژن بوده و در محدوده pH بین ۵ الی ۸ فعالیت می‌کند و محصول عمده متابولیسم کربوهیدرات در آن، اسید لاکتیک و اسید استیک است (۲۰ و ۲۳).

اولین قدم در تولید فراورده‌های تخمیری و از جمله فراورده‌های پروبیوتیک شناسایی ویژگی‌های تکنولوژیکی و نیازهای ضروری میکروارگانیسم‌های استفاده شده است.

عوامل مؤثر بر رشد میکروارگانیسم‌ها در داخل مواد مغذی به دو دسته عوامل درون گرا (Intrinsic parameters) و عوامل برون گرا (Extrinsic parameters) تقسیم شده و مواد مغذی و دمای محیط به‌ترتیب از عوامل درون‌گرا و برون‌گرا می‌باشند. در رابطه با نیازهای غذایی، کپک‌ها دارای حداقل احتیاجات بوده پس از آن به‌ترتیب مخمرها، باکتری‌های گرم منفی و باکتری‌های گرم مثبت قرار می‌گیرند (۱، ۲ و ٤).

باکتری‌های لاکتیک و از جمله جنس بیفیدوباکتریا معمولاً به عوامل رشد مثل ویتامین‌های گروه B، پپتیدها، بازهای پیریمیدیک نیاز فراوان دارند. این نیاز خود یکی از دلایل همراه بودن این باکتری‌ها با محیط غنی و متعادلی مثل شیر است و محیط‌های کشت مورد استفاده برای رشد و جداسازی این باکتری‌ها مثل محیط MRS (Man-Rogosa-Sharp) پیچیده بوده و از نظر ترکیبات غذایی خیلی غنی هستند و تهیه محیط کشت انتخابی برای آنها خیلی مشکل است (۵).

میزان رشد اغلب پروبیوتیک‌ها در غذا و در حین فرآوری خیلی کند است و این امر منجر به تغییر عطر و بوی محصول می‌گردد (۲۰). یکی از راه‌های افزایش سرعت رشد این باکتری‌ها در غذا تقویت ویژگی غذا به‌عنوان ماده اولیه با اضافه نمودن منابع انرژی (مثلاً گلوکز)، عوامل رشد (مثل عصاره مخمر و آنزیم‌های هیدرولیز کننده پروتئین) یا ضد اکسایندهای مناسب، مواد معدنی، ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه است (۹، ۱۱ و ۱۲). یکی دیگر از عوامل بسیار مؤثر بر سرعت رشد این باکتری‌ها تأمین بهترین دمای رشد برای آن‌ها است (۲۱، ۲۲ و ۲۳).

هدف از اجرای این تحقیق تعیین تأثیر دماهای ۲۸، ۳۵، ٤۲، ٤۹ و دماهای ۳۵، ۳۸، ٤۱ و ٤٤ درجه سانتی‌گراد، غلظت‌های ۰/٤، ۰/٦، ۰/۸ و یک درصد دکستروز، غلظت‌های ۳۰، ٦۰، ۹۰ و ۱۲۰ ppm گلیسین و والین و تاثیر غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ ppm والین بر سرعت رشد *بیفیدو باکتریوم بیفیدوم* در شیر می باشد.

مواد و روش‌کار

الف- مواد

شیر استریلیزه UHT حاوی ۱/۵ درصد چربی، تیامین، دکستروز، والین، گلیسین و محیط کشت آب پپتونه ساخت شرکت MERCK، سود سوزآور ساخت شرکت ASIA و سویه ***Bifdobacterium bifidum*** از کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی ایران.

ب- روش کار

۱- فعال سازی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*

طبق پیشنهاد کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی، ترکیب لیوفیلیزه حاوی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در ارلن مایر حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب پپتونه تلقیح و به‌مدت ٤۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد.

۲- تهیه مایع کشت اولیه

برای تهیه مایع کشت، ابتدا نیم لیتر شیر سترون کم چرب را به دمای ٤۲ درجه سانتی‌گراد رسانیده سپس مقدار ۵ میلی‌لیتر از محیط کشت آب پپتونه حاوی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم فعال شده

به آن اضافه و بعد از همگن‌سازی به‌مدت ٢٤ ساعت در دمای ٤٢ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد تا اسیدیته به حدود ٤٠ درجه دورنیک برسد و از این نمونه به‌عنوان مایع کشت استفاده گردید.

۳- تعیین دمای مناسب برای رشد *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*

جهت تعیین دمای مناسب ابتدا یک لیتر شیر سترون کم چرب در داخل یک ارلن مایر به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای حدود ۹۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد و بلافاصله با استفاده از آب سرد دمای آن تا حدود ٤٠ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت. سپس ۵ میلی‌لیتر از مایع کشت فوق‌الذکر برداشته و تحت شرایط کاملاً آسپتیک به داخل شیر آماده‌سازی شده اضافه و یکنواخت گردید. شیر حاصله در مجاورت شعله در ٤ ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری به‌طور مساوی توزیع و به ترتیب در دماهای ۲۸، ۳۵، ٤۲ و ٤۹ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد و اسیدیته نمونه‌ها قبل و در طول مدت گرمخانه‌گذاری (ساعات ۲، ٤، ٦ و ۲۲) با روش دورنیک اندازه‌گیری شد (۳ و۱۰) و این عملیات ۸ بار تکرار گردید. سپس دامنه تغییرات دما محدود شده و عملیات فوق ۸ بار در دماهای ۳۵، ۳۸، ٤۱ و ٤٤ درجه سانتی‌گراد تکرار شد.

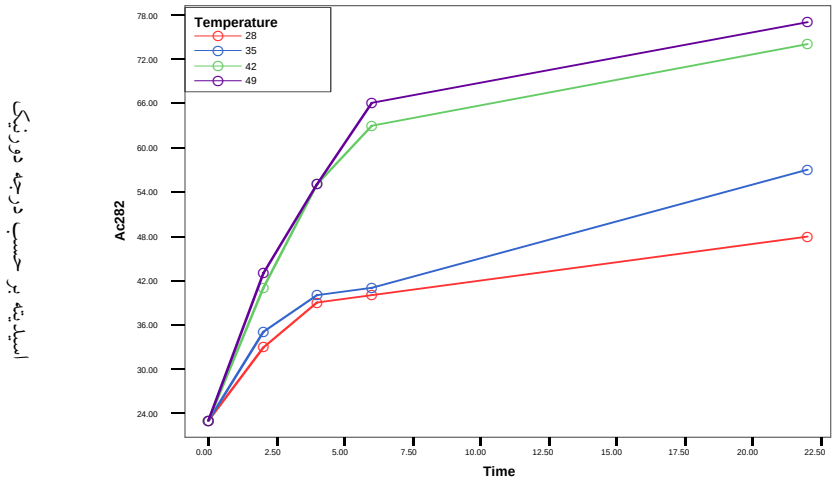
۳- ارزیابی تأثیر غلظت‌های مختلف دکستروز، تیامین، گلیسین و والین بر سرعت رشد *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*

برای ارزیابی تأثیر وجود دکستروز در محیط شیر و نیز تعیین غلظت مناسب برای تقویت رشد میکروارگانیسم، ابتدا مقدار یک لیتر شیر به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. سپس با استفاده از آب سرد دمای آن به حدود ٤٠ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت و از مایع کشت اولیه حاوی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم که اسیدیته آن به حدود ٤٠ دورنیک رسیده بود ۵ میلی لیتر به آن اضافه گردید و بعد از یکنواخت‌سازی به‌طور مساوی در ۵ ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری توزیع شد و به ترتیب به داخل آنها ۰/٤، ۰/٦، ۰/۸ و یک درصد دکستروز اضافه شد و یک نمونه هم به‌عنوان شاهد بدون افزودن دکستروز (غلظت صفر) در نظر گرفته شد و یکنواخت گردید و سپس نمونه‌ها در دمای ٤۲ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد و اسیدیته آن‌ها قبل و در طول مدت گرمخانه‌گذاری(ساعات ۲، ٤، ٦ و ۸) با روش دورنیک اندازه‌گیری شد.

جهت ارزیابی تأثیر غلظت‌های مختلف تیامین، والین و گلیسین برسرعت رشد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم مراحل عیناً طبق روش بالا برای هر کدام تکرار شد. برای تیامین از غلظت های ۵، ۱۰ و ۱۵ ppm در مورد والین و گلیسین از غلظت های ۳۰، ٦۰، ۹۰ و۱۲۰ ppm استفاده گردید و برای هرکدام یک نمونه شاهد استفاده شد و این عملیات برای هر کدام از موارد بالا به تعداد ۸ بار تکرار گردید.

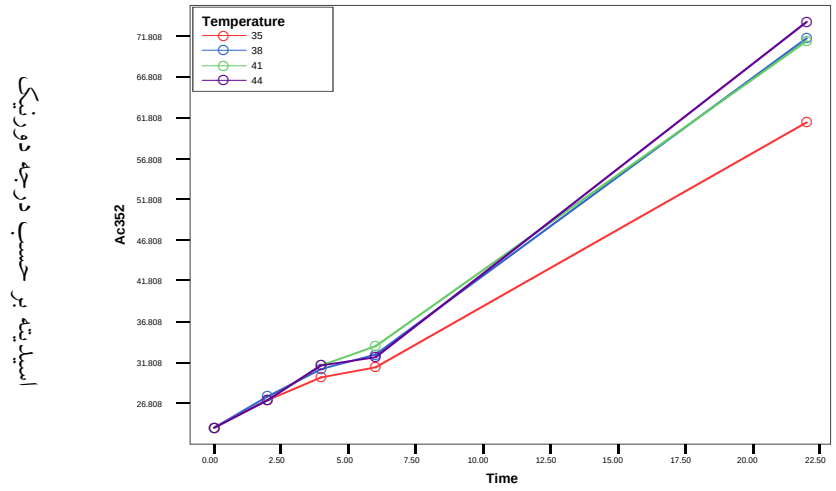
نتایج

الف- تأثیر دماهای مختلف ۲۸، ۳۵، ٤۲ و ٤۹ درجه سانتی‌گراد برسرعت رشد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در نمودار ۱ و دماهای ۳۵، ۳۸، ٤۱ و ٤٤ درجه سانتی‌گراد در نمودار ۲ نشان داده شده است.



نمودار۱- اسیدیتهٔ نمونه‌های شیر گرمخانه‌گذاری شده در دماهای ۲۸، ۳۵، ۴۲ و ۴۹ درجهٔ سانتی‌گراد در طول مدت گرمخانه‌گذاری

همانطوری‌که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود تأثیر دما بر سرعت رشد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم با گذشت زمان افزایش یافته و بعد از ۶ و ۲۲ ساعت گرمخانه‌گذاری، اسیدیتهٔ نمونه‌های گرمخانه‌گذاری شده در ۴۲ و ۴۹ درجهٔ سانتی‌گراد اختلاف معنی‌داری با نمونه‌های گرمخانه‌گذاری شده در ۲۸ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهند ($P<۰/۰۵$) ولی اختلاف بین نمونه‌های گرمخانه‌گذاری شده در ۴۲ و ۴۹ درجه معنی‌دار نمی‌باشد.



نمودار۲- اسیدیتهٔ نمونه‌های شیر گرمخانه‌گذاری شده در دماهای ۳۵، ۳۸، ۴۱ و ۴۴ درجهٔ سانتی‌گراد در طول مدت گرمخانه‌گذاری

همانطوری‌که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود تأثیر دما در طول مدت ساعات اولیه گرمخانه‌گذاری کم بوده و به مرور زمان افزایش می‌یابد و پس از ۲۲ ساعت گرمخانه‌گذاری مشخص می‌گردد که دمای ٤٤ درجهٔ سانتی‌گراد برای رشد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم بهتر از سایر دماها عمل می‌نماید.

ب- تاثیر مقادیر مختلف تیامین، والین، گلیسین و دکستروز بر سرعت رشد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم به‌ترتیب درجداول ۱ تا ٤ نشان داده شده است.

جدول۱- تأثیر غلظت‌های مختلف تیامین بر میزان اسیدیته نمونه‌های شیر در ساعات مختلف گرمخانه‌گذاری در ٤۲ درجه سانتی‌گراد

غلظت تیامین (ppm)	مدت زمان گرمخانه‌گذاری برحسب ساعت				
	۰	۲	٤	٦	۸
شاهد	۱۸±۱/۱	۲۰/۵±۰/٤٦	۳۰/٦±۰/۱۵	۳۸/۲±۲/۱	٤۳/۲±۰/۵
۵	۱۸±۱/۲	۲۰/۵±۰/٦۵	۳۰/۵±۰/۳	۳۷/۵±۱/۱۲	٤۲/۷±۱
۱۰	۱۸±۱/۲	۲۰/۵±۰/۷	۳۰/۳±۰/۱۲	۳۷/۲±۰/۵	٤۲/٦±۱/۲
۱۵	۱۸±۱/۱	۲۰/۵±۰/۱	۳۰/۱±۰/٦	۳±۱/۳	٤۳/٤±۰/۷
۲۰	۱۸±۱/۱	۲۰/۵±۰/۱۵	۳۰/۵±۰/۵۱	۳۸±۱/۱	٤۳±۸۵

درجدول ۱ متوسط اسیدیته نمونه‌های شیر شاهد و حاوی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ ppm تیامین در ۸ بار تکرار در قبل و ساعات ۲، ٤، ٦ و ۸ گرمخانه‌گذاری نشان داده شده است. براساس آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه در سطح α=۰/۰۵ تفاوت بین مقدار متوسط اسیدیته در نمونه‌های شیر شاهد و حاوی مقادیر مختلف تیامین در هیچ‌کدام از ساعات گرمخانه‌گذاری معنی‌دار برآورد نشده است.

جدول۲- تأثیر غلظت‌های مختلف والین بر میزان اسیدیته نمونه‌های شیر در ساعات مختلف گرمخانه‌گذاری در ٤۲ درجه سانتی‌گراد

غلظت والین (ppm)	مدت زمان گرمخانه‌گذاری برحسب ساعت				
	۰	۲	٤	٦	۸
شاهد	۱۷/۵±۱/۲	۱۸/۱±۰/۷	۲۷/۸±۰/٦	۳۵/٦±۰/۵	٤۰/۵±۰/۲
۳۰	۱۷/۵±۰/۵٦	۱۸/۳±۰/٦	۲۸/۳±۰/۵	۳۵/۷±۰/۵	٤۰/٦±۰/۱
٦۰	۱۹±۰/۸	۱۸/۸±۰/۸	۲۷/٦±۰/۸	۳٦/۲±۰/۸	٤۱/۳±۰/۲
۹۰	۱۹±۰/۸	۱۹/۱±۰/۸	۲۸/٤±۰/۲	۳٦/٤±۰/۷	٤۱/۲±۰/۱
۱۲۰	۱۹±۰/۸	۱۹±۰/۲	۲۷/۹±۰/۸	۳۵/۸±۰/۳	٤۰/۹±۰/۸

در جدول ۲ مقدار متوسط اسیدیته نمونه‌های شیر شاهد و حاوی ۳۰، ٦۰، ۹۰ و ۱۲۰ ppm در ۸ تکرار در قبل و ساعات ۲ ،٤ ،٦ و ۸ گرمخانه‌گذاری نشان داده شده است.

براساس آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه مقدار متوسط اسیدیته در نمونه‌های شیر شاهد و حاوی مقادیر مختلف والین

در هیچ‌کدام از ساعات گرمخانه‌گذاری با همدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند.

جدول۳- تاثیر غلظت های گلیسین بر میزان اسیدته نمونه های شیر در ساعات مختلف گرمخانه گذاری در ٤٢ درجه سانتیگراد

غلظت گلیسین (ppm)	مدت زمان گرمخانه گذاری برحسب ساعت				
	۰	۲	٤	٦	۸
شاهد	۱۷/٥±۰/٦	۲۰/۳±۱/٤	۲٤/۲±۱/۲	۳۰/۳±۲	۳٥/۲±۱/۹
۳۰	۱۷/٥±۰/۷	۲۰/۱±۱/۱	۲٤/۱±۲/۱	۳۰/۸±۱/٥	۳۳/۹±۱/۹
٦۰	۱۷/٥±۰/۷	۱۹/۸±۱/۸	۲٤/۳±۲/۱	۳۰/٥±۲/٥	۳٤±۱/۲
۹۰	۱۷/٥±۰/٦	۲۰±۱/٦	۲٤/٥±۲/٥	۳۰/٦±۱/٦	۳۳/٦±۱/٥
۱۲۰	۱۷/٥±۰/٦	۲۰±۲/۱	۲٤/٥±۲/۱	۳۰/۷±۲	۳٤/۳±۲/۱

در جدول شماره ۳ مقدار متوسط اسیدیته نمونه‌های شیر حاوی صفر،۳۰، ٦۰، ۹۰، ۱۲۰ ppm گلیسین در ۸ تکرار در قبل و ساعات ۲ ،٤ ،٦ و ۸ گرمخانه‌گذاری نشان داده شده است. براساس آزمون آماری آنالیز واریانس درسطح α=۰/۰٥ مقدار متوسط اسیدیته درنمونه‌های شیر شاهد و حاوی مقادیر مختلف گلیسین در هیچ‌کدام از ساعات گرمخانه‌گذاری با همدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند.

جدول٤- تأثیر غلظت های دکستروز بر میزان اسیدیته نمونه های شیر در ساعات مختلف گرمخانه‌گذاری در ٤٢ درجه سانتی‌گراد

غلظت دکستروز (ppm)	مدت زمان گرمخانه‌گذاری برحسب ساعت				
	۰	۲	٤	٦	۸
شاهد	۲۰±۲/۱	۲۳/۳±۲/٥	۲٦/۳±۳/٥	۳٦/۷±٦	٤٦±٥/٤
۰/٤	۲۰±۱/۹	۲۲/۹±۳/۱	۲٦/۷±۳/۸	٤۱/۳±٦/۷	٤۹/۹±٦/۸
۰/٦	۲۰±۱/۸	۲۲/٦±۳/۲	۲۷/۱±٤/۲	٤۰/۷±۷	٤۹/۷±۸/٤
۰/۸	۲۰±۱/٦	۲۳/۳±۳/۸	۲٦/۳±۳/۸	۳۹/۷±٦/٤	٤۸/۷±۷/۸٤
۱	۲۰±۲	۲۱/۹±۳/۸	۱±۳/۸	۳۹/۷±٦/٤	٤۸/۳±۸/۱۱

در جدول شماره ٤ مقدار متوسط اسیدیته نمونه‌های شیر حاوی صفر، ۰/٤، ۰/٦، ۰/۸ و یک درصد دکستروز در ۸ تکرار در قبل و ساعات ۲ ،٤ ،٦ و ۸ گرمخانه‌گذاری نشان داده شده است. براساس آزمون آماری آنالیز واریانس درسطح α=۰/۰٥ مقدار متوسط اسیدیته درنمونه‌های شیر شاهد و حاوی مقادیر مختلف دکستروز در هیچ‌کدام از ساعات گرمخانه‌گذاری با همدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند.

بحث و نتیجه‌گیری

یکی از عوامل مهم خارجی در جستجو، جداسازی و نیز تکثیر هر باکتری، تعیین محدوده دمایی مطلوب و نیز مناسب‌ترین دما جهت رشد می‌باشد و این مسئله به‌ویژه در کشت‌های مخلوط و رشد همزمان باکتری‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است (۱۶، ۲۲ و۲۳).

نتایج حاصله از تکرار آزمایش در دماهای انتخابی نشان می‌دهد که بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در محدوده دمایی ۳۵ تا ٤۹ درجه سانتی‌گراد به‌خوبی رشد می‌نماید و سرعت رشد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در دمای ٤٤ و ٤۹ درجه سانتی‌گراد بیشتر از سایر دماها است. لازم به‌ذکر است که انتخاب مطلوب‌ترین دما به‌خصوص در خط تولید تا حدودی تحت تأثیر مدت زمان گرمخانه‌گذاری می‌باشد. اختلاف تأثیر دماهای مختلف بر سرعت رشد این باکتری در ساعات ابتدایی محسوس نمی‌باشد، ولی در ساعات ششم و بعد از آن معنی‌دار می باشد ($P<۰/۰۵$).

Cristina و همکاران (۲۰۰۷) جهت ارزیابی تاثیر رافینوز بر سرعت رشد شش گونه بیفیدوباکتریا از جمله بیفیدوباکتریوم بیفیدوم دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد را مورد استفاده قرار دادند (۱۰). Saxelin و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کرده‌اند که جهت تولید فرآورده‌های تخمیری حاوی پروبیوتیک، دمای حدود ۳۷ الی ٤۰ درجه سانتی‌گراد دمای مناسبی بوده (۲۱) و Saarela و همکاران (۲۰۰۰) نیز دریافتند که اکثر پروبیوتیک‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد رشد دارند (۱۸). میرزائی و همکاران (۱۳۸٤) گزارش کرده‌اند که دمای ٤٤ درجه سانتی‌گراد بهترین دما برای رشد *لاکتوباسیلوس کازئی* (*Lactobacillus casei*) می‌باشد (۸).

نتایج ارزیابی تأثیر مقادیر مختلف تیامین بر سرعت رشد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم نشان داد که ظاهراً هرکدام از عوامل رشد علاوه بر تأثیر عمومی بر رشد و تکثیر باکتری‌ها ممکن است به‌طور اختصاصی نیز سوخت و ساز خاصی از باکتری‌ها را تحت تأثیر قرار دهند. بر اساس نتایج حاصله از تکرار آزمایش با افزودن تیامین (۵، ۱۰ و ۱۵ppm) تأثیر چندانی بر سرعت افزایش اسیدیته مشاهده نگردید، ولی در نمونه‌های دریافت‌کننده تیامین لخته زودتر از نمونه فاقد تیامین تشکیل شد. یعنی در نمونه عاری از تیامین لخته در اسیدیته حدود ۵۵ درجه دورنیک و در نمونه‌های حاوی تیامین لخته در اسیدیته حدود ۳۵ درجه دورنیک تشکیل گردید.

از طرف دیگر تیامین قدرت تولید گاز توسط این باکتری را افزایش می‌دهد. زیرا لخته تشکیل شده در نمونه‌های دریافت کننده تیامین، متخلخل و حالت گازدار داشت.

یکی از راه‌های تقویت رشد و کاهش طول دوره گرمخانه‌گذاری، تقویت ویژگی ماده اولیه (سوبسترا) از طریق اضافه نمودن منابع انرژی (گلوکز)، عوامل رشد (مثلاً عصاره مخمر و آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین) یا ضد اکسایندهای مناسب، مواد معدنی یا ویتامین‌ها (از جمله ویتامین B1) می‌باشد (۲۱).

بر اساس نتایج حاصله از آزمایش‌های مربوط به ارزیابی تأثیر مقادیر مختلف دکستروز اضافه شده بر سرعت رشد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم که در جدول ٤ آورده شده است، مقادیر متفاوت دکستروز تأثیر معنی‌داری بر سرعت افزایش اسیدیته نمونه‌های شیر نشان نداد.

از نظر صنعتی افزودن دکستروز به شیر منطقی به‌نظر نمی‌رسد زیرا علاوه بر ایجاد طعم شیرین، افزایش قیمت محصول نهایی را نیز به‌همراه خواهد داشت.

Ping و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که استفاده از گلوکز، فروکتواولیگوساکارید و اینولین در محیط کشت RCM (Reinforced Clostridial Medium) سرعت رشد *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* (*Bifidobacterium animalis*) و *لاکتوباسیلوس کازئی* را تقویت می‌کند (۱۷).

Kurmann (۱۹۸۸) و Ishibashi و Shimamura (۱۹۹۳) و Dave و Shah (۱۹۹۸) یکی از راه‌های تقویت

سرعت رشد پروبیوتیک‌ها را افزودن منابع انرژی (مثل گلوکز) به شیر دانسته‌اند (۱۱، ۱۳ و ١٤).

Cristina و همکاران (۲۰۰۷) جهت تعیین حداقل غلظت لاکتوز لازم برای رشد و تولید اسید توسط گونه‌های بیفیدوباکتریا از غلظت های (W/V) ۲-۰/۱ درصد استفاده نمودند و گزارش کردند که همه گونه‌های تحت مطالعه در غلظت‌های فوق قادر به رشد می‌باشند ولی حداقل لاکتوز مورد نیاز جهت تولید اسید توسط گونه‌های مختلف متفاوت می‌باشد و این مقدار برای بیفیدوباکتریوم بیفیدوم ۰/۵ در صد برآورد گردید (۱۰).

نتایج حاصله از ارزیابی تأثیر مقادیر متفاوت والـین و گلیسین بر سرعت رشد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم که به‌ترتیب در جداول ۲ و ۳ نشان داده شده است، مشخص می‌نماید که اضافه کردن این مواد تأثیر معنی‌داری روی رشد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و افزایش سرعت بالا رفتن اسیدیته نمونه‌های شیر ندارد .

براساس نتایج حاصله از این تحقیق اضافه کردن دکستروز، والین، گلیسین و تیامین به محیط شیر جهت تقویت رشد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم تاثیر معنی‌داری نداشته و از طرف دیگر هزینه محصول نهایی را افزایش می‌دهد. بهترین گزینه جهت تقویت رشد این باکتری در شیر، گرمخانه‌گذاری در دمای ٤۹-٤۲ درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

فهرست منابع

۱. رضویلر، و. (۱۳۸۱): میکروب‌های بیماری‌زا در مواد غذایی و اپیدمیولوژی مسمومیت‌های غذایی، چاپ دوم، موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، صفحات: ۹۵ ـ ٨٤.

۲. فرخنده، ع. (۱۳۷۰): روش‌های آزمایش شیر و فراورده‌های آن، چاپ سوم، اتشارات دانشگاه تهران، صفحات: ۱٦۳-۱٦۲.

۳. مرتضوی، س. ع.، کاشانی نژاد، م. و ضیا الحق، س. (۱۳۸۱): میکروبیولوژی مواد غذایی، (ترجمه)، تالیف: فریزیر، و. و وستهوف، د. چاپ دوم، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، صفحات: ۷٦-۷٤.

٤. مرتضوی، س. ع.، معتمد زادگان، ع.، اعلمی، م. و نائب زاده، ک. (۱۳۷٦): میکروبیولوژی غذایی مدرن، (ترجمه)، تألیف: جیمز، ام. جی. چاپ اول، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، صفحه:٤٨٤.

۵. ملک زاده، ف. (۱۳۸۱): میکروب‌شناسی، چاپ سوم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات: ۵۰۸-۵۰۷.

٦. میرزایی، ح. (۱۳۸۳): پروبیوتیک‌ها و مقدمه‌ای بر کاربرد آن‌ها در تأمین سلامت انسان، چاپ اول، انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، صفحات: ۲-۱.

۷. میرزایی، ح. و کریم، گ. (۱۳۸۲): مطالعه امکان تولید یک فرآورده پروبیوتیکی شیر با استفاده از کشت کمکی لاکتوباسیلوس کازئی، مجله علوم دامپزشکی ایران، سال اول، شماره اول، صفحات: ۸۸-۷۵.

۸. میرزایی، ح.، کریم، گ. و سودی، م. (۱۳۸٤): مطالعه تاثیر دکستروز، والین، گلیسین، تیامین و دماهای مختلف بر سرعت رشد لاکتوباسیلوس کازئی در شیر، مجله علوم و صنایع غذایی ایران، دوره ۲، شماره ۱، صفحات: ۵۹-۵۱.

۹. میرزایی، ح.، محبوب، س.، کاظمان الانق، ک. و کریم، گ. (۱۳۸٦): تاثیر متقابل بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم و لاکتوباسیلوس کازئی با سالمونلا تیفی‌موریوم در شرایط رشد توأمان، مجله دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، دوره ششم، شماره چهارم، صفحات: ٤۱٦-٤۰۹.

10. Cristina, M.V. and Rosario, G. (2007): Characterization of bifidobacteria as starters in fermented milk containing raffinose family of oligosaccharides from lupin as prebiotic. International Dairy Journal. 17:116-122.

11. Dave, R. and Shah, N. (1997): Viability of yoghurt and bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. International Dairy Journal. 7: 31-41.
12. German, B., Schiffrin, E.J., Reniero, R., Mollet, B., Pfeifer, A. and Neeser, J.R. (1999): The development of functional foods: Lessons from the gut. TIBTECH. 17: 492-499.
13. Ishibashi, N. and Shimamura, S.(1993): Bifidobacteria: Research and development in Japan, Food Science and Technology. 126-135.
14. Kurmann, J.A. (1998): Starters for fermented milks. Bulletin of International Dairy Fedration. 277: 41-55.
15. Ouwehand, A., Salminen, S. and Isolauri, E. (2002): Probiotics: an overview of benefical effects. Trends in Food Science & Technology, 10: 107-110.
16. Perdigon, G. and Oliver, G. (1990): Prevention of gastrointestinal infection using immunobiological methods with milk fermented with lactobacillus casei and lactobacillus acidophilus. Journal of Dairy Science. 57: 255-264.
17. Ping, S., Anders, H. and Hazel, M. (2007): Selected prebiotics support the growth of probiotic mono-cultures in vitro, Food Microbiology, British Journal of Nutrition. 98: 250-253.
18. Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Matto, J. and Mattila ـ Sandholm, T. (2000): Probictic bacteria: safety, functional and technological properties. Journal of Biotechnology. 84 (3): 197-215.
19. Salminen, S., Isolauri, E. and Salminen, E. (1996): Clinical use of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier, Antonie Van Leeuwnhoek. International Journal of General and Molecular Microbiology. 70: 347-358.
20. Samona, A., Robinson, R.K. and Marakis, S. (1996): Acid production by bifidobacteria and yoghurt bacteria during fermentation and storage of milk. International Journal of Food Microbiology. 13: 275-280.
21. Saxelin, M., Grenov, B., Svensson, U., Fonden, R., Reniero, R. and Mattila-sandholm, T. (2000): The technology of probiotics. Trends Food Science and Technology. 10: 387-392.
22. Swensen, U. (1999): Probiotics: A critical review, Horizon Scientific Press, Wymondham, pp: 57- 64.
23. Young, J. (1998): European market developments in prebiotics and probiotics containing foodstuffs. British Journal of Nutrition. 80: 231- 233.