Homepagr: https://sanad.iau.ir/journal/jfst E-ISSN: 2676-7155

(Original Research Paper)

Extraction of Biosurfactant from Lactobacilli Isolated from Traditional Sovadkoh Yogurt and its Use in a Food Model as an Emulsifier

Roghayyeh Rezayi Malidareh[1], Mohammad Ahmadi[2*], Seyyed Ahmad Shahidi Yasaghi[3]

1- Ph.D student of food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
2- Associate Professor, Department of Food Hygiene, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
3- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

Received:25/12/2022 Accepted:12/03/2023

DOI: 10.71810/jfst.2024.1004704

Abstract

Lactic acid bacteria, gram positive, without spores, catalase negative, nitrate reduction negative and ceritochrome oxidase negative and ceritochrome oxidase negative, which have a fermentative metabolism and are useful for food industry, therefore today the local strains of lactic acid bacteria are of special importance. They are found in the dairy industry and have characteristics of compatibility with the conditions of the same region. Therefore, this study was carried out in order to extract biosurfactant from Lactobacillus in the traditional yogurt of Swadekoh as an emulsifier in the food model. In this experimental study, 32 samples of Swadkoh traditional yogurt were prepared and cultured in MRS environment (agar and broth) for 48 hours at 37 degrees Celsius in an anaerobic jar under microaerophilic conditions. The isolated strains with the ability to produce biosurfactant were identified based on biochemical and molecular tests and the optimal conditions for biosurfactant production were investigated and its emulsifying activity was investigated in a food model system. One-way repeated measures analysis of variance was used to analyze the data. Lactobacillus bacteria were isolated from 24 samples and necessary tests were taken from 5 samples, among which 2 strains of Lactobacillus delbruecki and Lactobacillus fermentum have the highest ability to produce biosurfactant. The biosurfactants extracted from both bacteria showed that they have a good ability in the emulsification process, but the stability of the biosurfactant in Delbrooki species is higher than in Fermentum species and this difference is significant in the four examined oils. The results of the study showed that by isolating Lactobacillus strains with the appropriate ability to produce biosurfactant, they can be used to produce biosurfactant on an industrial scale to replace synthetic emulsifiers in traditional Sovadkoh yogurt.

Key words: Lactobacillus, Biosurfactant, Emulsifier, Swadkoh Traditional Yogurt.

*Corresponding Author: drahmady@gmail.com

E-ISSN: 2676-7155 سایت مجله: https://sanad.iau.ir/journal/jfst

(مقاله پژوهشی)

استخراج بیوسورفکتانت از لاکتو باسیل‌های جداشده از ماست سنتی سوادکوه وکاربرد آن در یک مدل غذایی به عنوان امولسیفایر

رقیه رضایی مالیدره[۱]، محمد احمدی[۲*]، سیداحمد شهیدی یاساقی[۳]

۱- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، واحد آیت اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.
۲- دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد آیت اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران..
۳- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۰۴ تاریخ پذیرش:۱۴۰۱/۱۲/۲۱

DOI: 10.71810/jfst.2024.1004704

چکیده

باکتری‌های اسید لاکتیک، گرم مثبت، بدون اسپور، کاتالاز منفی، احیای نیترات منفی و سیتوکروم اکسیداز منفی که متابولیسمی تخمیری داشته و برای صنایع غذایی مفید بوده، سویه‌های بومی باکتری‌های اسید لاکتیک اهمیت ویژه‌ای در صنایع لبنی داشته و دارای خصوصیات سازگاری با شرایط همان منطقه می‌باشند. این مطالعه به‌منظور استخراج بیوسورفکتانت از لاکتو باسیل در ماست سنتی سوادکوه به عنوان امولسیفایر در مدل غذایی انجام شد. در این مطالعه تجربی، تعداد ۳۲ نمونه از ماست سنتی سوادکوه، تهیه شده و کشت در محیط MRS آگار و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس درون جار بی‌هواز تحت شرایط میکروآئروفیلیک، انجام شد. سویه های جداسازی شده با قابلیت تولید بیوسورفکتانت بر اساس تست های بیوشیمیایی و مولکولی و شرایط بهینه تولید بیوسورفکتانت و فعالیت امولسیفایری آن در یک سیستم مدل غذایی بررسی گردید. از تحلیل واریانس اندازه‌گیری مکرر یک طرفه برای تحلیل داده‌ها استفاده شد. از ۲۴ نمونه، باکترهای لاکتوباسیلوس جداسازی گردیده که در بین آن ها ۲ سویه لاکتوباسیلوس دلبروکی و لاکتوباسیلوس فرمنتوم، بیشترین قابلیت تولید بیوسورفکتانت را دارند. بیوسورفکتانت‌های استخراج‌شده از هر دو باکتری نشان دادند که از قابلیت مناسبی در فرایند امولسیون کنندگی برخوردار هستند، اما پایداری بیوسورفاکتانت در گونه دلبروکی بیشتر از گونه فرمنتوم است و این اختلاف در چهار روغن بررسی شده، معنی‌دار است. نتایج نشان داد که با جداسازی سویه‌هایی از لاکتوباسیلوس با قابلیت مناسب تولید بیوسورفکتانت، می‌توان از آن ها جهت تولید بیوسورفکتانت در مقیاس صنعتی برای جایگزینی امولسیفایرهای مصنوعی در ماست سنتی سوادکوه استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: لاکتوباسیلوس، بیوسورفکتانت، امولسیفایر، ماست سنتی سوادکوه.

* مسئول مکاتبات: drahmady@gmail.com

۱- مقدمه

طبق تعریف سازمان بهداشت جهانی و سازمان خواربار جهانی پروبیوتیک‌ها عبارتند از ریز موجودات زنده‌ای، که وقتی به میزان کافی مصرف شوند، تاثیر مثبتی بر سلامت میزبان دارند. پروبیوتیک‌ها با قرار گرفتن در محیط روده می‌توانند تعادل میکروبی را در جهت افزایش سودمندی، آن تغییر دهند و با فعالیت خود مانع از فعالیت ریز موجودات غیر مفید و بیماری‌زا شوند (۷). این میکروارگانیسم‌ها از طریق اعمال اثرات فیزیولوژیک، تولید متابولیت های مناسب و تجزیه مواد مضر می‌توانند اثرات سلامتی بخشی نظیر بهبود سلامت روده، تقویت سیستم ایمنی بدن، جلوگیری از اسهال حاد ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و سرطان، کاهش علائم عدم تحمل لاکتوز، سطح کلسترول و خطر بیماری‌های قلبی عروقی داشته باشند (۴۲). باکتری‌های اسید لاکتیک باکتری‌هایی هستند گرم مثبت، بدون اسپور، کاتالاز منفی، احیای نیترات منفی و سریتوکروم اکسیداز منفی که فاقد توانایی ذوب ژلاتین و تولید اندول هستند. باکتری‌های اسید لاکتیک متابولیسمی تخمیری داشته، ساکارولیتیک هستند و اسید لاکتیک محصول نهایی حاصل از تخمیر کربوهیدرات است. خانواده باکتری‌های اسید لاکتیک شامل جنس و گونه‌های متعددی می‌باشد که به صورت مشخص برای صنعت غذا مفید هستند. به صورت تاریخی، این باکتری‌ها به عنوان افزودنی زیستی جهت کاهش آلودگی باکتریایی و فساد غذایی و افزایش زمان ماندگاری محصولات به غذا اضافه می‌شدند(۴۰). بیشتر باکتری‌های پروبیوتیک‌ها منشا روده‌ای دارند و متعلق به جنس‌های بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیلوس هستند. اگرچه برخی از سوش‌های متعلق به جنس‌های لاکتوکوکوس، انتروکوکوس، پدیوکوکوس و مخمر ساکارومایسز نیز با توجه به اثر آن‌ها بر سلامت مصرف‌کنندگان به عنوان میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک مورد توجه قرار گرفته‌اند (۲۷). لاکتوباسیلوس‌ها یکی از باکتری‌های مهم خانواده اسیدلاکتیک بوده که به شکل‌های متنوع باسیل‌های باریک و بلند تا کوکوباسیل کوتاه وجود دارند و دارای بیش از ۱۰۰ گونه و زیرگونه هستند(۳۹). باکتری‌های لاکتوباسیلوس دارای طیف وسیعی از فعالیت ضد میکروبی هستند که دارای دلایل مختلفی می‌باشد. از جمله تولید ترکیباتی مانند اسیدهای آلی از قبیل اسید استیک، اسید لاکتیک و اسید فرمیک، پراکسید هیدروژن، باکتریوسرن‌ها، پپتیدهایی با وزن مولکولی کم و پروتئین‌های ضد قارچی، متابولیت‌های چربی، اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب، فنیل لاکتیک اسید و هیدروکسی فنیل لاکتیک اسید و ترکیبات دیگر مانند دی استیل، آمونیاک، اتانول، دی آمیناستوئین، استالدئید، بنزوات (۱۳). سویه‌های لاکتوباسیلوس باعث تقویت سد مخاطی روده شده که این امر موجب حفظ و ارتقاء سطح ایمنی می‌شود. همچنین سبب کاهش میزان بیماری‌های التهابی روده و سندرم روده تحریک‌پذیر می‌شود (۲). اثر حفاظتی لاکتوباسیلوس در نگهداری غذاهای تخمیری به‌طور عمده به دلیل شرایط اسیدی است که توسط این باکتری‌ها در غذا ایجاد می‌شود. تبدیل کربوهیدرات‌ها به اسیدهای آلی (اسیدلاکتیک و اسید استیک) به همراه کاهش pH، باعث افزایش نیمه عمر و بهبود کیفیت فراورده‌های غذایی تخمیری می‌شود. یکی از ویژگی‌های لاکتوباسیلوس‌ها توانایی آنها در تولید ترکیبات بیوسورفکتانت می‌باشد (۱۵). بیوسورفکتانت‌ها یکی از فراورده‌های مهم میکروبیولوژی صنعتی می‌باشند و توسط باکتری‌ها، قارچ‌ها و مخمرها درفازسکون می‌شوند (۱). بیوسورفکتانت‌ها دارای گروه‌های هیدروفیلی و هیدروفوبی می‌باشند که مانند ترکیبات فعال سطحی عمل می‌کنند و بین فازهای مایع با قطب‌های متفاوت و پیوندهای هیدروژنی قرار می‌گیرند و بر این اساس کشش سطحی و بین سطحی را در این نواحی کاهش می‌دهند. کاربردشان در پنج دهه گذشته به طور وسیعی به جای سورفکتانت‌های شیمیایی (کربوکسیلات‌ها، سولفونات‌ها، استرهای اسیدی سولفات) بالاخص در صنایع غذایی، دارویی و نفتی توسعه یافته است(۲۶). امروزه تولید

محصولاتی نظیر بیوسورفکتانت‌ها از پسماندهای جامد و مایع، یکی از اهداف زیست محیطی است که علاوه بر مزایای اقتصادی، کاهش آلایندگی ناشی از سورفکتانت‌های مصنوعی را نیز به دنبال دارد. استفاده از بیوسورفکتانت‌ها به جای سورفکتانت‌ها در صنایع مختلف به دلیل گران بودن فرآیند تولید، توجیه اقتصادی ندارد (۱۷). در همین راستا؛ برای کاهش موانع اقتصادی مربوط به تولید رقابتی‌تر بیوسورفکتانت‌ها، سه استراتژی پایه در دنیا اتخاذ می‌شود که شامل استفاده از سوبستراهای ضایعاتی و ارزان قیمت، بهینه سازی شرایط عملیاتی کشت میکروبی و برداشت مقرون به صرفه محصول و استفاده از سویه‌های جهش یافته یا نو ترکیب برای افزایش راندمان تولید بیوسورفکتانت‌ها است(۳۱). از سوئی؛ بیوسورفاکتانت ها ممکن است باعث پایداری امولسیون و یا از بین رفتن پایداری امولسیون شوند. بیوسورفاکتانت‌هایی با وزن مولکولی بالا در حالت کلی امولسیفایرهای بهتر از بیوسورفاکتانت های با وزن مولکولی پایین می‌باشند. به‌طور کلی بیوسورفاکتانت‌ها به عنوان عامل پایدارکننده و ایجاد کننده امولسیون باعث بهبود طعم و بافت و اصلاح مواد غذایی می‌شوند (۲۱). امولسیون‌ها تعلیق‌های کلوئیدی با حداقل دو مایع غیرقابل امتزاج هستند که دارای سامانه نا متعادلی هستند و به‌طور خود به خودی تشکیل نمی‌شوند. ساختمان امولسیون‌ها از قطرات پراکنده یک مایع (فاز معلق یا فاز داخلی) در یک مایع دیگر (فاز پیوسته یا فاز خارجی) تشکیل شده است. اغلب ویژگی‌های امولسیون‌ها مانند پایداری، رئولوژی، ظاهر، رنگ و بافت آن‌ها به اندازه قطرات امولسیون و توزیع اندازه قطرات بستگی دارد. به همین دلیل، کنترل، پیش‌بینی، اندازه‌گیری و گزارش اندازه قطرات در امولسیون‌های تهیه شده برای کاربردهای مختلف بسیار مهم و ضروری است (۱۱). در تهیه ماست (منجمد) از امولسیفایرهایی استفاده می‌شود که کاربرد آن‌ها در مواد غذایی مجاز و توسط مردم قابل قبول باشند. از میان امولسیفایرهای رایج در تهیه‌ی آن می‌توان به مونوگلیسریدها، لسیتین، پلی‌سوربات‌های ۶۵ و ۸۰ اشاره کرد. این امولسیفایرها یا به صورت تکی یا در ترکیب با یکدیگر به کار می‌روند (۱۹). ماست محصول لبنی پرطرفداری است که در اثر تخمیر لاکتیکی شیر توسط باکتری‌های اسید لاکتیک گرما-دوست لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس و استرپتوکوکوس سالیواروس زیرگونه ترموفیلوس شکل می‌گیرد. از نظر تاریخی تولید ماست از کشورهای بالکان و شرق مدیترانه نشأت گرفته است. امروزه در کشورهای مختلف، این محصول به اشکال و طعم‌های گوناگون تولید و مورد استفاده قرار می‌گیرد اما به‌طورکلی، ماست به دو شکل قالبی و همزده که از نظر ویژگی‌های رئولوژیکی و فرآیند تولید متفاوت‌اند، تولید و مصرف می‌گردد (۲۳). همچنین ماست یک ماده غذایی پروبیوتیک است، یعنی حاوی میکروب‌های زنده مفیدی است که وارد لوله گوارش می‌شوند و با جایگزینی در روده‌ها، این اندام را از وجود باکتری‌های بیماری‌زا محافظت می‌کنند و به عمل تخمیر ادامه می‌دهند و با تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیره، به سلامت سلول‌های روده کمک می‌کنند. ماست به هضم و جذب غذا نیز کمک می‌کند، زیرا اسیدلاکتیک موجود در آن به جذب بهتر کلسیم کمک کرده و محیط مناسب بیولوژیکی را برای بهبود جذب کلسیم و ویتامین‌ها فراهم می‌آورد(۳۸). با توجه به تنوع نژادهای وحشی باکتری‌های اسید لاکتیک و امکان یافتن نژادهای جدید با ویژگی‌های پروبیوتیکی و عملکردی بالقوه از مواد غذایی تخمیری سنتی و نیز وارداتی بودن آغازگرهای مورد استفاده در صنعت لبنیات کشورمان، جداسازی و شناسایی این باکتری‌ها از منابع سنتی جهت تولید محصولات لبنی ضروری به نظر می‌رسد (۲۰). همچنین امروزه سویه‌های بومی باکتری‌های اسیدلاکتیک اهمیت ویژه‌ای در صنایع لبنی یافته‌اند چرا که این سویه‌ها علاوه بر آن که دارای خصوصیات سازگاری با شرایط همان منطقه می‌باشند از توانایی خاص در تولید طعم و بوی مطلوب در تهیه‌ی انواع فرآورده‌های تخمیری برخوردارند، بنابراین جداسازی و

شناسایی سویه‌های بومی هر منطقه نقش بسیار مهمی در صنعت لبنیات و همچنین سلامت افراد آن جامعه بر عهده دارد (۹). با توجه به اهمیت روزافزون تهیه بیوسرفاکتانت از منابع بیولوژیک از یک طرف و علیرغم اینکه مطالعاتی درخصوص جدا کردن بیوسرفاکتانت از منابع لبنیاتی صورت گرفته است اما بر اساس بررسی متون انجام شده تاکنون پژوهشی در خصوص جدا کردن بیوسورفاکتانت از منابع لبنیاتی استان مازندران صورت نگرفته است. از این رو این تحقیق با هدف جداسازی و شناسایی استخراج بیوسورفکتانت از لاکتو باسیل های جدا شده از ماست سنتی سوادکوه و استفاده از آن به عنوان امولسیفایر در یک مدل غذایی انجام شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- نمونه‌گیری و جداسازی لاکتوباسیلوس

به منظور جداسازی لاکتوباسیلوس ها، از ماست سنتی منطقه سوادکوه، نمونه‌های تهیه شده به آزمایشگاه انتقال داده شد. همه نمونه‌ها با استفاده از آب مقطر استریل رقیق‌سازی شده و رقت‌های 10^{-1} تا 10^{-5} تهیه خواهد شد. پس از رقیق‌سازی، نمونه‌ها در محیط کشت جامد (MRS مرک آلمان) که محیط اختصاصی برای رشد و جداسازی لاکتوباسیلوس می‌باشد کشت داده شدند و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس درون جار بی‌هوازی تحت شرایط میکروآئروفیلیک قرار داده شدند. کلنی‌های رشد کرده توسط رنگ‌آمیزی گرم و آزمون‌های بیوشیمیایی مورد شناسایی اولیه قرار گرفتند (۱۵).

۲-۲- شناسایی مولکولی باکتری‌های تولید کننده بیوسورفکتانت

شناسایی ژنوتیپی سویه‌های لاکتوباسیلوس با استفاده از تکثیر قطعه‌ای از توالی ژن 16SrDNA مربوط به باکتری‌ها انجام گرفت، به این صورت که پس از استخراج DNA باکتری‌ها با روش جوشاندن، واکنش زنجیره‌ای پلیمر از با استفاده از پرایمرهای همگانی 27F و 1492R بر روی آن ها انجام شد و در نهایت با روش تعیین توالی و مراجعه به بانک ژنی، سویه‌های جداسازی شده مورد شناسایی قرار گرفتند.

۲-۳- غربالگری باکتری‌های تولیدکننده بیوسورفکتانت

کلنی های جدا سازی شده لاکتوباسیلوس که با روش بیوشیمیایی شناسایی شوند را در محیط کشت مایع MRS به مدت ۲۴ ساعت کشت داده و مایع رویی کشت باکتری به کمک سانتریفیوژ کردن با دور ۱۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه به دست آمده و به کمک چند آزمون ویژه توانایی تولید بیوسورفکتانت مورد ارزیابی قرار گرفتند.

۲-۳-۱- آزمون همولیز

معمولا گونه‌هایی از لاکتوباسیلوس که توانایی تولید بیوسورفکتانت را دارند از توانایی ایجاد همولیز نیز بهره مند می‌باشند، لذا در این تحقیق کلنی خالص باکتری بر روی آگار خون‌دار کشت داده شد و فعالیت همولیزی آن مورد بررسی قرار گرفت(۸).

۲-۳-۲- آزمون گسترش روغن

میزان ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر درون یک پتری دیش ریخته و ۲۵۰ میکرولیتر روغن مایع خوراکی به صورت یک لایه نازک به سطح آن اضافه شده سپس ۱۰۰ میکرولیتر از مایع کشت باکتری به سطح روغن اضافه خواهد شد. کنار رفتن روغن و مشاهده ناحیه شفاف در سطح آب موید حضور بیوسورفکتانت خواهد بود(۱۵).

۲-۳-۳- آزمون پخش شدن قطره

میزان ۵۰ میکرولیتر از مایع کشت باکتری به‌صورت یک قطره در سطح پارافیلم قرار داده شد.. مسطح شدن قطره در سطح پارافیلم به دلیل کاهش کشش سطحی، به معنای حضور بیوسورفکتانت خواهد بود(۱۵).

۲-۳-۴- آزمون شاخص امولسیفیکاسیون

میزان ۲ میلی‌لیتر از مایع کشت باکتری و۱ میلی‌لیتر روغن مایع درون یک لوله‌آزمایش ریخته شده و به مدت ۲ دقیقه به شدت به کمک ورتکس مخلوط شدند، سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس قرار داده شد، نهایتا به کمک خط کش میلی‌متری شاخص امولسیون کنندگی از تقسیم نمودن ارتفاع لایه امولسیون شده بر ارتفاع کل مخلوط محاسبه خواهد گردید. هر چه ارتفاع لایه امولسیون شده نسبت به ارتفاع کل مخلوط بیشتر باشد شاخص امولسیون بالاتر است. ضمنا در هر سه روش ذکر شده اخیر، از بافر PBS با pH= 7.0 به عنوان کنترل منفی و از محلول سدیم دو دسیل سولفات(SDS) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده خواهد شد(۱۵).

۲-۳-۵- تولید و استخراج بیوسورفکتانت

تولید، استخراج و خالص‌سازی نسبی بیوسورفکتانت در طی چندین روز انجام گرفت. ابتدا باکتری در یک ارلن حاوی ۲۰۰ میلی‌لیتر محیط MRS broth کشت داده شد و به مدت ۳ شبانه‌روز در دمای ۳۷ درجه سلسیوس بر روی شیکر با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه گرمخانه گذاری گردید. سپس محتویات ارلن به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس و دور۱۴۰۰۰rpm با استفاده از سانتریفیوژ یخچال دار سانتریفیوژ شده تا سلول‌های باکتریایی کاملا ته نشین شوند. توسط اسیدکلریدریک۱ نرمال، pH مایع رویی به‌دست آمده را به ۲ رسانده و به مدت یک شبانه روز در دمای ۴ درجه سلسیوس قرار داده شد تا بیوسورفکتانت رسوب کند. رسوب قهوه‌ای حاوی بیوسورفکتانت با استفاده از سانتریفیوژ در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه در rpm ۱۲۰۰۰ جداسازی شد. جهت خالص‌سازی نسبی بیوسورفکتانت، ۱۰ میلی‌لیتر مخلوط کلروفرم/ متانول به نسبت v/v2:1 به رسوب به‌دست آمده افزوده شده و به مدت ۱۵ دقیقه بر روی شیکر با سرعت rpm ۱۵۰ در دمای ۳۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. این ترکیب را دوباره در rpm ۸۰۰۰، ۵۰۰۰ و۱۲۰۰۰ (به منظور بهینه سازی استخراج) به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ کرده سپس مایع رویی در گرمخانه در دمای ۴۰ درجه سلسیوس قرار داده شد تا کاملا خشک شود. در نهایت بیوسورفکتانت به‌صورت رسوب سفید رنگ از مایع رویی بدست می‌آید(۱۵).

۲-۳-۶- بررسی شاخص امولوسیون کنندگی بیوسورفکتانت تولیدشده

معیار امولسیون کنندگی حفظ پایداری در مدت زمان ۲۴ ساعت پس از تشکیل است(E24). جهت اندازه‌گیری این شاخص ابتدا توسط آب دو بار تقطیر از هر رسوب خشک شده استحصالی غلظت ۵ میلی‌گرم بر لیتر تهیه خواهد شد. در عمل بدین منظور در یک بالون ۱۰۰ میلی‌لیتری به ۰/۵ گرم از این عصاره خشک شده آب دو بار تقطیر اضافه شده تا به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر برسد، سپس بالون برای مدت زمان ۱۵ دقیقه بر روی یک هم زن مغناطیسی قرار داده خواهد شد تا عصاره به‌طور کامل در محلول حل شود. در مرحله بعد ۵ میلی‌لیتر از این محلول به ۶ لوله‌آزمایش حاوی ۵ میلی‌لیتر پارافین مایع اضافه‌شده و سپس هر لوله‌آزمایش برای مدت ۲ دقیقه بر روی یک دستگاه هم زن لوله آزمایش با دور بالا قرار خواهد گرفت تا امولسیون حاصل شود. در خاتمه پس از نگهداری لوله‌های آزمایش به مدت ۲۴ ساعت در حالت سکون و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد آزمایشگاه، ضخامت لایه امولسیون که در بین لایه روغن و محلول ساپونینی قرار می‌گیرد، اندازه‌گیری می‌شود. نتایج به‌صورت میانگین نسبت ارتفاع لایه امولسیون به ارتفاع کل که همان شاخص تشکیل امولسیون پس از ۲۴ ساعت یا E24 می‌باشد و از ۳ تکرار متوالی به دست می‌آید ثبت خواهد شد (۱۶).

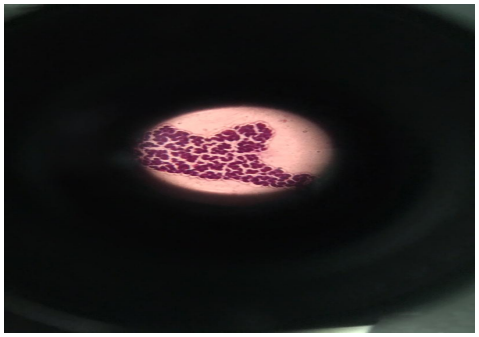
۲-۳-۷- بررسی خاصیت امولسیون‌کنندگی بیوسورفکتانت تولید شده در یک مدل غذایی

به منظور بررسی میزان کارایی سورفکتانت تولیدی، طی آزمایشی بیوسورفکتانت خالص‌سازی شده را با توین ۸۰ که

به‌عنوان امولسیفایر مصنوعی در صنایع غذایی به فراوانی مورد مصرف قرار می‌گیرد، مورد مقایسه قرار گرفت. به این صورت که ۱ میلی‌گرم بیوسورفکتانت استخراج شده در یک ترکیب آب و روغن‌های مختلف (روغن آفتابگردان، روغن کانولا، روغن سبوس برنج وروغن زیتون) به نسبت ۲:۱ میلی‌لیتر ریخته شد و به مدت دو دقیقه به‌شدت ورتکس خواهد شد. در مورد توین نیز ۵ میلی‌لیتر از این ماده به مخلوط آب و روغن با نسبت ذکر شده افزوده شد. به منظور مقایسه توان امولسیون کنندگی و پایداری و ثبات بیوامولسیفایر تولیدشده توسط گونه‌های لاکتوباسیلوس بررسی فوق تا ۴۸ ساعت مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت (۱۵). کشت در محیط MRS بوده که در مرحله استخراج لاکتوباسیل، به صورت آگار و در مرحله استخراج بیوسورفاکتانت، به صورت براث، بوده است. از آزمون (شاپیرو- ویلک) استفاده شده تا نرمال بودن داده‌های تحقیق، بررسی شود، به طوری که که اگر میزان .sig کمتر از ۰/۰۵ باشد، داده غیر نرمال و اگر بیشتر از ۰/۰۵ باشد، داده‌ها نرمال‌اند. نتایج نشان داد که تمامی متغیرهای پژوهش در هر دو گونه شناسایی‌شده، نرمالند، لذا از آزمون پارامتری جهت تحلیل داده استفاده شد. برای بررسی بهینه‌سازی بیوسورفاکتانت به‌عنوان امولسیفایر در مدل غذایی در دو گونه ۱ و ۲ همان‌طور که بیان شد در سه مرحله اندازه‌گیری شده (روز صفر، ۲۴ ساعت بعد و ۴۸ ساعت بعد) پایداری امولسیفایر، با هم مقایسه شده، برای آزمودن آماری اختلاف پایداری امولسیفایر بین دو گونه از آزمون اندازه‌گیری مکرر[1] استفاده گردید. در بیان دلیل استفاده از آزمون مذکور بایستی بیان داشت که اندازه‌های تکراری عبارتند از اندازه‌های یک متغیر مشخص برای هر مشاهده در چند وضعیت مختلف. طرحی که به بررسی این اندازه‌ها می‌پردازد، به «طرح اندازه‌های تکراری (مکرر)» معروف است. این طرح حالت تعمیم یافته آزمون مقایسه زوجی است؛ با این تفاوت که بجای مقایسه یک گروه در ۲ وضعیت، یک گروه در ۳ یا چند وضعیت مقایسه می‌شوند. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS در سطح خطای ۰/۰۵ صورت گرفت.

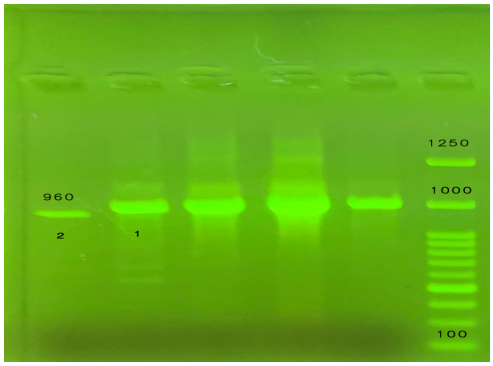
۳- نتایج و بحث

برای بررسی جداسازی لاکتوباسیلوس از ماست سنتی سوادکوه، از ماست سنتی منطقه سوادکوه، نمونه‌های تهیه شده به آزمایشگاه انتقال یافت و تحت شرایط میکروآئروفیلیک ذکرشده قرار داده شد.



شکل ۱- جداسازی لاکتوباسیلوس از ماست سنتی سوادکوه

۳۲ نمونه ماست سنتی سوادکوه برداشت شده و از ۲۴ نمونه لاکتوباسیلوس جداسازی گردید. شناسایی ژنوتیپی سویه‌های لاکتوباسیلوس با استفاده از روش ذکرشده مورد شناسایی قرار گرفت.



شکل ۲- سویه‌های مختلف لاکتوباسیلوس از ماست سنتی سوادکوه

(لدر سیناکلون برحسب bp)

1- Repeated Measure

آزمایش‌های لازم گرفته شد و درنهایت، دو سویه بوده‌اند که قابلیت تولید بیوسورفکتانت را داشته‌اند: ۱- لاکتوباسیلوس دلبروکی و ۲- لاکتوباسیلوس فرمنتوم. بعد از تشخیص دو لاکتوباسیلوس دلبروکی و فرمنتوم، به عنوان لاکتوباسیلوس جدا شده از ماست سنتی سوادکوه با قابلیت تولید بیوسورفاکتانت، نوبت به گام اصلی کار می‌رسد. در این مرحله، وضعیت عملکردی بیوسورفاکتانت‌های تولیدی در چهار روغن به شرح: ۱- روغن‌زیتون، ۲- روغن آفتابگردان، ۳- روغن سبوس برنج و ۴- روغن کانولا، بررسی گردید. لازم به ذکر است که نمونه شاهد در این پژوهش، «توئین» بوده است.

جدول ۱- مقادیر میانگین، میانه و انحراف معیار

متغیر	تعداد	میانگین	میانه	مد	انحراف از معیار	کمترین	بیشترین
pH	۳۲	۴/۳۷	۴/۳۰	۴/۳۰	۰/۲۸	۴/۰۰	۴/۹۰
اسیدیته	۳۲	۰/۸۸	۰/۸۸	۰/۸۷	۰/۰۴	۰/۷۹	۰/۹۷
رطوبت	۳۲	۸۸/۶۶	۸۹/۴۵	۹۰/۰۰	۲/۶۷	۸۱/۰۰	۹۲/۵۰
ماده خشک	۳۲	۱۲/۶۵	۱۲/۸۵	۱۴/۱۰	۱/۲۲	۱۰/۰۰	۱۴/۳۰
چربی	۳۲	۴/۶۳	۴/۶۰	۳/۰	۱/۰۵	۳/۰۰	۶/۵۰

طبق جدول (۱)، میانگین pH برابر با ۴/۳۷، میانه ۴/۳۰، مد ۴/۳۰، انحراف از معیار ۰/۲۸، کمترین ۴ و بیشترین ۴/۹۰، میانگین اسیدیته برابر با ۰/۸۸، میانه ۰/۸۸، مد ۰/۸۷، انحراف از معیار ۰/۰۴، کمترین ۰/۷۹ و بیشترین ۰/۹۷، میانگین رطوبت برابر با ۸۸/۶۶، میانه ۸۹/۴۵، مد ۹۰، انحراف از معیار ۲/۶۷، کمترین ۸۱ و بیشترین ۹۲/۵۰، میانگین ماده خشک برابر با ۱۲/۶۵، میانه ۱۲/۸۵، مد ۱۴/۱۰، انحراف از معیار ۱/۲۲، کمترین ۱۰ و بیشترین ۱۴/۳۰ و میانگین چربی برابر با ۴/۶۳، میانه ۴/۶۰، مد ۳، انحراف از معیار ۱/۰۵، کمترین ۳ و بیشترین ۶/۵۰ بوده است. برای ارزیابی قدرت عملکردی بیوسورفاکتانت به‌عنوان امولسیفایر در مدل غذایی، ۲ گونه از بیوسورفاکتانت استخراج شده در چهار روغن به شرح: سبوس برنج، زیتون، کانولا و آفتابگردان مورد بررسی قرار گرفتند.

جدول ۲- آنالیز واریانس اندازه‌گیری مکرر جهت بررسی اثر زمان و اثر گونه بر میانگین پایداری بیوسورفاکتانت به عنوان امولسیفایر در چهار روغن مورد بررسی

متغیر	SS	DF	MS	F	معنی‌داری SIG.	مجذور ایتا
			روغن سبوس			
زمان	۵/۲۲۳	۲	۲/۶۱۱	۲۳/۴۵۵	۰/۰۰۰۹	۰/۵۱۶
گونه	۱۱۴/۳۱۲	۱	۱۱۴/۳۱۲	۵۲/۴۵۹	۰/۰۰۰۹	۰/۷۰۵
			روغن زیتون			
زمان	۱۹/۰۸۳	۲	۹/۵۴۱	۱۱۹/۲۸۲	۰/۰۰۰۹	۰/۸۴۴
گونه	۴۸۵/۱۰۱	۱	۴۸۵/۱۰۱	۵۲/۴۲۱	۰/۰۰۰۹	۰/۷۰۴
			روغن کانولا			
زمان	۱۲/۴۱۱	۲	۶/۲۰۵	۷۴/۱۲۰	۰/۰۰۰۹	۰/۷۷۱
گونه	۱۷۹/۱۱۴	۱	۱۷۹/۱۱۴	۵۲/۸۹۵	۰/۰۰۰۹	۰/۷۰۶
			روغن آفتابگردان			
زمان	۱۲/۷۷۸	۱/۳۲۰	۹/۶۸۳	۹/۹۶۳	۰/۰۰۲	۰/۳۱۲
گونه	۲۲۷/۲۵۶	۱	۲۲۷/۲۵۶	۴۹/۴۰۷	۰/۰۰۰۹	۰/۶۹۲

لازم به ذکر است که SS، معرف واریانس کل بوده که برابر با واریانس بین آزمودنی ها + واریانس بین متغیرها + واریانس باقیمانده ها، می‌باشد.df معرف درجه آزادی، F مقدارضریب معناداری را نشان داده و MS ضریبی است که بر اساس آن، مقدار آماره F، بین آزمودنی ها و درون آزمودنی ها، محاسبه می‌گردد. وقتی که اندازه‌گیری‌های یکسانی برای چند بار از یک آزمودنی یا یک مورد انجام می‌گیرد، برای تحلیل داده‌ها و مقایسه میانگین داده‌ها بین این چندبار، بایستی از آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر استفاده کرد. با این حال اگر عامل بین گروهی نیز وجود داشته باشد، می‌تواند با تعریف گروه (به عنوان مثال گونه۱ و گونه۲) در این پژوهش، مورد تحلیل قرار گیرد. با استفاده از این روش آماری می‌توانیم فرضیه صفر را در مورد آثار عوامل بین گروهی و درون گروهی آزمون کنیم. همچنین می‌توان اثر تعاملی بین عوامل (چه درون گروهی و چه بین گروهی) یا به زبان ساده‌تر اثر تعاملی دو یا چند متغیر مستقل را نیز سنجید. علاوه بر این، امکان انجام تحلیل‌های کوواریانس در مورد عوامل درون گروهی و بین گروهی و تعامل آن با این عوامل نیز وجود دارد. یعنی می‌توان اثر متغیر ثابتی را به عنوان کوواریانس (یا متغیر همراه) بررسی کرده و اثر مداخله گرانه آن را بر روی متغیر وابسته به روش آماری کنترل کرد. روش آزمون آماری تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر بر اساس مدل خطی است که در آن فرض شده است، عوامل و متغیرهای همراه همبستگی خطی با متغیر وابسته دارند. معمولاً از مقایسات قیاسی برای انجام آزمون فرضیه‌ها در عوامل بین گروهی استفاده می‌شود. به علاوه، پس از اینکه مقدار F معنی‌دار شد، می‌توان از آزمون‌های تعقیبی برای ارزیابی تفاوت‌ها بین میانگین‌های مختلف استفاده کرد. میانگین‌های

تخمینی بحرانی برآوردی از مقادیر میانگین هر خانه را در مدل بدست می‌دهد و نمودارهای نیمرخ (نمودارهای تعاملی) این میانگین‌ها امکان این را می‌دهد تا برخی از رابطه‌ها را به راحتی مشاهده کرد.

۳-۱- روغن سبوس

با توجه به مقدار آماره‌ی F که برابر با ۲۳/۴۵۵ بوده و مقدار sig کوچک‌تر از ۰/۰۵، اثر زمان اندازه‌گیری بر پایداری بیوسورفاکتانت معنی‌دار است، یعنی بین میانگین‌های اندازه‌گیری پایداری بیوسورفاکتانت در سه بار اندازه‌گیری وضعیت اختلاف معنی‌داری وجود دارد. در بررسی اثر گونه، با توجه به مقدار آماره‌ی F که برابر با ۵۲/۴۵۹ بوده و مقدار sig کوچک‌تر از ۰/۰۵، اثر گونه معنی‌دار است، یعنی بین میانگین‌های پایداری بیوسورفاکتانت در گونه‌های اول بیشتر از گونه دوم است و این اختلاف معنی‌دار است.

۳-۲- روغن زیتون

با توجه به مقدار آماره‌ی F که برابر با ۱۱۹/۸۲۸ بوده و مقدار sig کوچک‌تر از ۰/۰۵، اثر زمان اندازه‌گیری بر پایداری بیوسورفاکتانت معنی‌دار است، یعنی بین میانگین‌های اندازه‌گیری پایداری بیوسورفاکتانت در سه بار اندازه‌گیری وضعیت اختلاف معنی‌داری وجود دارد. در بررسی اثر گونه، با توجه به مقدار آماره‌ی F که برابر با ۵۲/۴۲۱ بوده و مقدار sig کوچک‌تر از ۰/۰۵، اثر گونه معنی‌دار است، یعنی بین میانگین‌های پایداری بیوسورفاکتانت در گونه‌های اول بیشتر از گونه دوم است و این اختلاف معنی‌دار است.

۳-۳- روغن کانولا

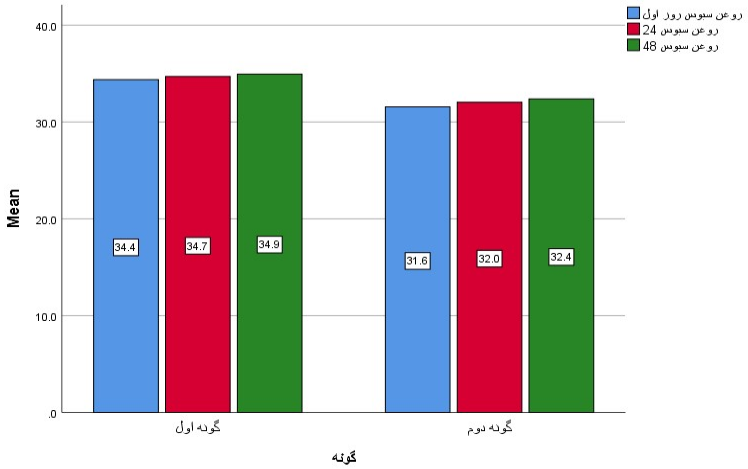
با توجه به مقدار آماره‌ی F که برابر با ۷۴/۱۲ بوده و مقدار sig کوچک‌تر از ۰/۰۵، اثر زمان اندازه‌گیری بر پایداری بیوسورفاکتانت معنی‌دار است، یعنی بین میانگین‌های اندازه‌گیری پایداری بیوسورفاکتانت در سه بار اندازه‌گیری وضعیت اختلاف معنی‌داری وجود دارد. در بررسی اثر گونه، با توجه به مقدار آماره‌ی F که برابر با ۵۲/۸۹۵ بوده و مقدار sig کوچک‌تر از ۰/۰۵، اثر گونه معنی‌دار است، یعنی بین میانگین‌های پایداری بیوسورفاکتانت در گونه‌های اول بیشتر از گونه دوم است و این اختلاف معنی‌دار است.

۳-۴- روغن آفتابگردان

با توجه به مقدار آماره‌ی F که برابر با ۹/۹۶۳ بوده و مقدار sig کوچک‌تر از ۰/۰۵، اثر زمان اندازه‌گیری بر پایداری بیوسورفاکتانت معنی‌دار است، یعنی بین میانگین‌های اندازه‌گیری پایداری بیوسورفاکتانت در سه بار اندازه‌گیری وضعیت اختلاف معنی‌داری وجود دارد. در بررسی اثر گونه، با توجه به مقدار آماره‌ی F که برابر با ۴۹/۴۰۷ بوده و مقدار sig کوچک‌تر از ۰/۰۵، اثر گونه معنی‌دار است، یعنی بین میانگین‌های پایداری بیوسورفاکتانت در گونه‌های اول بیشتر از گونه دوم است و این اختلاف معنی‌دار است. نتایج مقایسه دو به دو میانگین‌های پایداری بیوسورفاکتانت برای در چهار روغن مورد بررسی در مقاطع زمانی مختلف، نتایج به‌شرح ذیل را نشان داد:

جدول ۳- نتایج مقایسه دو به دو میانگین‌های پایداری بیوسورفاکتانت برای در چهار روغن مورد بررسی در مقاطع زمانی مختلف (روز اول، ۲۴ ساعت بعد و ۴۸ ساعت بعد)

	زمان (i)	اختلاف میانگین (I-J)	خطای استاندارد	Sig.[b]
		روغن سبوس		
۱	۲	*-۰/۴۰۳	۰/۰۸۸	۰/۰۰۰۹
	۳	*-۰/۶۹۷	۰/۱۲۳	۰/۰۰۰۹
۲	۱	*۰/۴۰۳	۰/۰۸۸	۰/۰۰۰۹
	۳	*-۰/۲۹۴	۰/۰۹۲	۰/۰۱۳
۳	۱	*۰/۶۹۷	۰/۱۲۳	۰/۰۰۰۹
	۲	*۰/۲۹۴	۰/۰۹۲	۰/۰۱۳
		روغن زیتون		
۱	۲	*-۰/۵۸۷	۰/۰۴۷	۰/۰۰۰۹
	۳	*-۱/۳۳۴	۰/۱۰۷	۰/۰۰۰۹
۲	۱	*۰/۵۸۷	۰/۰۴۷	۰/۰۰۰۹
	۳	*-۰/۷۴۷	۰/۰۹۴	۰/۰۰۰۹
۳	۱	*۱/۳۳۴	۰/۱۰۷	۰/۰۰۰۹
	۲	*۰/۷۴۷	۰/۰۹۴	۰/۰۰۰۹
		روغن کانولا		
۱	۲	*-۰/۵۰۹	۰/۰۷۹	۰/۰۰۰۹
	۳	*-۱/۰۷۸	۰/۱۰۴	۰/۰۰۰۹
۲	۱	*۰/۵۰۹	۰/۰۷۹	۰/۰۰۰۹
	۳	*-۰/۵۶۹	۰/۰۸۰	۰/۰۰۰۹
۳	۱	*۱/۰۷۸	۰/۱۰۴	۰/۰۰۰۹
	۲	*۰/۵۶۹	۰/۰۸۰	۰/۰۰۰۹
		روغن آفتابگردان		
۱	۲	*-۰/۴۶۶	۰/۱۳	۰/۰۰۵
	۳	*-۱/۰۹۱	۰/۲۹	۰/۰۰۳
۲	۱	*۰/۴۶۶	۰/۱۳	۰/۰۰۵
	۳	-۰/۶۲	۰/۲۸	۰/۱۰۷
۳	۱	*۱/۰۹۱	۰/۲۹	۰/۰۰۳
	۲	۰/۶۲	۰/۲۸	۰/۱۰۷

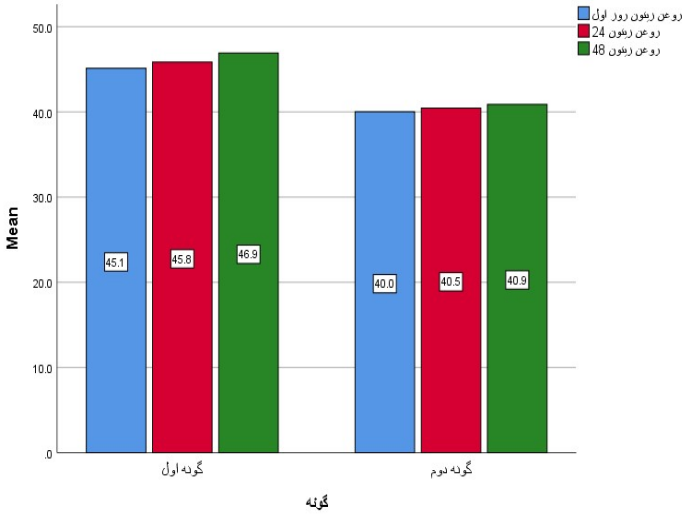


شکل ۳- میانگین پایداری بیوسورفاکتانت به‌عنوان امولسیفایر برای روغن سبوس در طی سه مقطع اندازه‌گیری به تفکیک گونه

در توضیح جدول (۲) بایستی بیان داشت که منظور از ۱، همان روز اول، منظور از ۲ عبارت است از ۲۴ ساعت بعد و منظور از ۳ هم، ۴۸ ساعت بعد، می باشد. که نتایج مقایسه دو به دو میانگین‌های پایداری بیوسورفاکتانت، انجام گرفت. در شکل (۳) منظور از رنگ آبی، وضعیت بیوسورفاکتانت به‌عنوان امولسیفایر برای روغن سبوس در روز اول، رنگ قرمز، نشاندهنده وضعیت در ۲۴ ساعت بعد و منظور از رنگ سبز هم، ۴۸ ساعت بعد، می باشد.

۳-۵- روغن سبوس

میانگین پایداری بیوسورفاکتانت به عنوان امولسیفایر در اندازه‌گیری سوم (۴۸ ساعت بعد) نسبت به سایر حالات افزایش بسیار بیشتری دارد. به طور کلی اینکه پایداری بیوسورفاکتانت به‌عنوان امولسیفایر برای روغن سبوس در گونه اول در اندازه‌گیری ۴۸ ساعت بعد بیشترین مقدار را داراست.

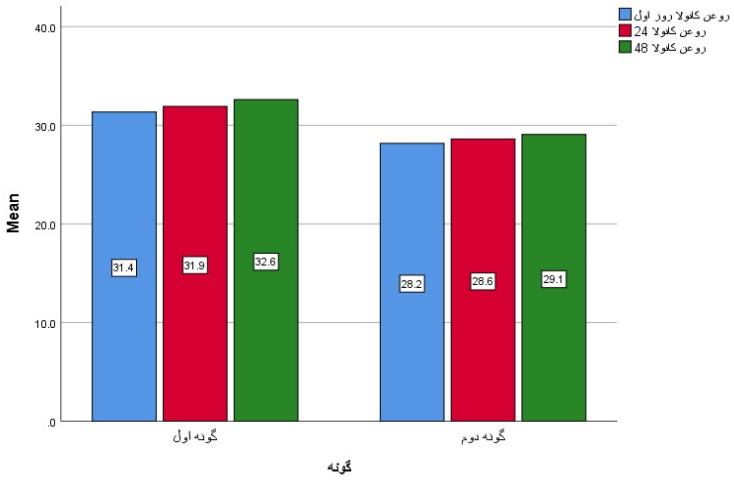


شکل ۴- میانگین پایداری بیوسورفاکتانت به‌عنوان امولسیفایر برای روغن زیتون در طی سه مقطع اندازه‌گیری به تفکیک گونه

در شکل (۴) منظور از رنگ آبی، وضعیت بیوسورفاکتانت به عنوان امولسیفایر برای روغن زیتون در روز اول، رنگ قرمز، نشاندهنده وضعیت در ۲۴ ساعت بعد و منظور از رنگ سبز هم، ۴۸ ساعت بعد، می باشد.

۳-۶- روغن زیتون

میانگین پایداری بیوسورفاکتانت به عنوان امولسیفایر در اندازه‌گیری سوم (۴۸ ساعت بعد) نسبت به سایر حالات افزایش بسیار بیشتری دارد. به طور کلی اینکه پایداری بیوسورفاکتانت به عنوان امولسیفایر برای روغن زیتون در گونه اول در اندازه‌گیری ۴۸ ساعت بعد بیشترین مقدار را داراست.

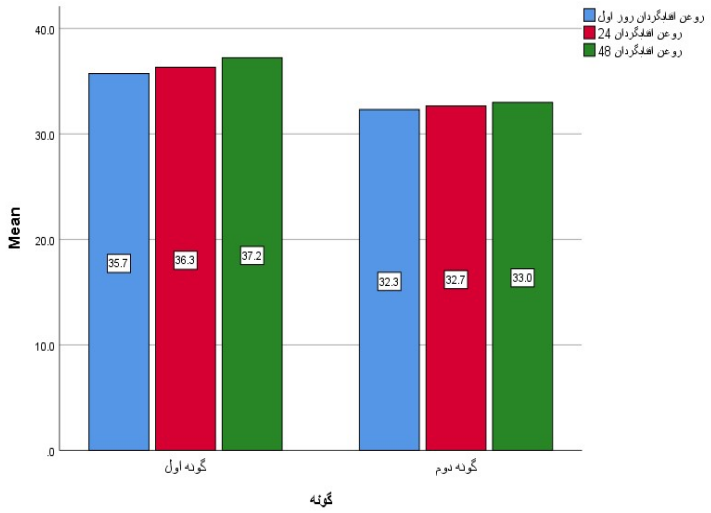


شکل ۵- میانگین پایداری بیوسورفاکتانت به‌عنوان امولسیفایر برای روغن کانولا در طی سه مقطع اندازه‌گیری به تفکیک گونه

در شکل (۵) منظور از رنگ آبی، وضعیت بیوسورفاکتانت به عنوان امولسیفایر برای روغن کانولا در روز اول، رنگ قرمز، نشان دهنده وضعیت در ۲۴ ساعت بعد و منظور از رنگ سبز هم، ۴۸ ساعت بعد، می باشد.

۳-۷- روغن کانولا

میانگین پایداری بیوسورفاکتانت به عنوان امولسیفایر در اندازه‌گیری سوم (۴۸ ساعت بعد) نسبت به سایر حالات افزایش بسیار بیشتری دارد. به طور کلی این که پایداری بیوسورفاکتانت به عنوان امولسیفایر برای روغن کانولا در گونه اول در اندازه‌گیری ۴۸ ساعت بعد بیشترین مقدار را داراست.



شکل ۶- میانگین پایداری بیوسورفاکتانت به‌عنوان امولسیفایر برای روغن آفتابگردان در طی سه مقطع اندازه گیری به تفکیک گونه

در شکل (۶) منظور از رنگ آبی، وضعیت بیوسورفاکتانت به عنوان امولسیفایر برای روغن آفتابگردان در روز اول، رنگ قرمز، نشاندهنده وضعیت در ۲۴ ساعت بعد و منظور از رنگ سبز هم، ۴۸ ساعت بعد، می باشد.

۳-۸- روغن آفتابگردان

میانگین پایداری بیوسورفاکتانت به عنوان امولسیفایر در اندازه‌گیری دوم (۲۴ ساعت بعد) و سوم (۴۸ ساعت بعد) نسبت به سایر حالات افزایش بسیار بیشتری دارد. به طورکلی اینکه پایداری بیوسورفاکتانت به‌عنوان امولسیفایر برای روغن آفتابگردان در گونه اول در اندازه‌گیری ۴۸ ساعت بعد بیشترین مقدار را داراست.

۴- نتیجه گیری

نتایج نشان داد که ماست سنتی سوادکوه، دارای این قابلیت است که لاکتوباسیلوس از آن جداسازی گردد و دو سویه بوده‌اند که قابلیت تولید بیوسورفکتانت را داشته‌اند: ۱. لاکتوباسیلوس دلبروکی و ۲. لاکتوباسیلوس فرمنتوم. در هر نوع چهار روغن سبوس برنج، زیتون، کانولا و آفتابگردان بین میانگین‌های پایداری بیوسورفاکتانت در گونه‌های اول بیشتر از گونه دوم است و این اختلاف معنی‌دار است. با عنایت به ضرر نداشتن امولسیفایر طبیعی تولید شده توسط گونه‌های لاکتوباسیلوس از ماست سنتی در قیاس با امولسیفایرهای صنعتی که دارای عوارض نامطلوبی به خاطر ساختار شیمیایی‌شان هستند، با به‌کارگیری روش ارائه‌شده در تحقیق حاضر و در مقیاس صنعتی، می‌توان قدم‌های مناسبی در جهت ارتقاء میزان سلامت ماست سنتی تولیدی برداشت همچنین بنظر می‌رسد با استفاده از امولسیفایرهای طبیعی به جای امولسیفایرهای صنعتی، در هزینه‌های صنایع لبنیاتی و به طور اخص، ماست، صرفه‌جویی نمود. محصولات لبنی از ارزش غذایی برخوردار هستند و هرگونه تأثیر مثبت آن ها بر سلامت افراد در جوامع مدرن به‌عنوان یک مزیت محسوب می‌شود. استفاده از پروبیوتیک‌ها در غذا برای تولید مواد غذایی ارزشمند یک روند پذیرفته شده جهانی است (۴۱). پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که به دلیل توانایی آن ها برای تولید مواد مفید سلامتی و مغذی برای مصرف‌کننده با تعداد و روش مشخص به درون مواد غذایی وارد می‌شوند. پروبیوتیک‌ها مکمل‌های رژیم غذایی هستند که اثرات مثبت مفیدی در سیستم‌های گوارشی و ایمنی دارند. در سیستم گوارشی پروبیوتیک‌ها هضم غذا، جذب مواد مغذی، کاهش مقادیر کلسترول و جلوگیری از رشد

میکروارگانیسم‌های نامطلوب در مجاری گوارشی را تسهیل می‌کنند. سیستم ایمنی هم توسط پروبیوتیک‌ها تعدیل می‌شود به طوری که کنترل واکنش‌های آلرژیک توسط آن‌ها صورت می‌گیرد. پروبیوتیک اکنون به طور گسترده‌ای در زمینه‌های مهندسی زیستی، صنعتی و کشاورزی، ایمنی مواد غذایی و زندگی و بهداشت استفاده می‌شود. با توسعه سریع محصولات لبنی تخمیری، توسعه محصولات پروبیوتیک با عملکردهای فیزیولوژیکی بهتر به یک جهت مهم برای توسعه صنایع لبنی تبدیل شده است (۲۴). طبق تحقیق حاضر، از ۳۲ نمونه ماست سنتی سوادکوه برداشت شده و از ۲۴ نمونه لاکتوباسیلوس جداسازی گردید و دو سویه بوده‌اند که قابلیت تولید بیوسورفکتانت را داشته‌اند: ۱. لاکتوباسیلوس دلبروکی و ۲. لاکتوباسیلوس فرمنتوم. نوشاد و همکاران (۲۲) در تحقیق خود در مورد اثر سویه‌های پروبیوتیک بومی لاکتوباسیلوس دلبروکی و پدیوکوکوس پنتوزاسئوس بر ویژگی‌های شیمیایی، میکروبی و حسی دوغ نتیجه گرفتند؛ به دلیل تاثیر مثبت سویه‌های لاکتوباسیلوس دلبروکی و پدیوکوکوس پنتوزاسئوس بر ویژگی‌های شیمیایی، میکروبی و حسی دوغ‌های تولید شده، می‌توان از آن‌ها به عنوان کشت همراه در تولید فرآورده‌های لبنی تخمیری استفاده کرد. در تحقیق حاضر لاکتوباسیلوس دلبروکی، یکی از دو گویه‌ای بوده که توانایی تولید بیوسورفکتانت را دارا بوده است. همچنین، علیزاده بهبهانی و همکاران (۱۳) در تحقیق خود در مورد ارزیابی فعالیت و بررسی ویژگی‌های باکتریوسین تولید شده توسط باکتری‌های لاکتوباسیل جدا شده از ماست محلی شهرستان بهبهان نتیجه گرفتند؛ باکتریوسین تولید شده توسط لاکتوباسیل‌های بومی، قادر به مهار طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌های شاخص غذازاد موجود در مواد غذایی می‌باشند و می‌توانند به‌عنوان نگهدارنده‌های زیستی سالم و بی‌خطر استفاده شد. پژوهش مذکور به مانند تحقیق حاضر، حکایت از آن دارد که لاکتوباسیل‌های بومی جدا شده از ماست محلی، می‌توانند به عنوان نگه‌دارنده‌های زیستی سالم و بی‌خطر استفاده شوند که کاملا در راستای نتایج پژوهش حاضر است. نتایج پوربابا و همکاران (۶) و در مورد تغییر شاخص‌های اسیدی و زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در کفیر تولید شده در طول دوره نگهداری در سرما نشان داد که اضافه کردن لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس پاراکازئی باعث تعدیل میزان اسید و افزایش زمان زنده‌مانی پروبیوتیک‌های تلقیح‌شده در حد استاندارد، حداقل تا دو هفته زمان نگهداری در یخچال گردید. بهبود زمان زنده‌مانی پروبیوتیک‌های تلقیح شده در تحقیق مذکور، در راستای نتایج حاصل از پژوهش حاضر است. نتایج تحقیق فرقانی و همکاران (۱۴) و در مورد اثر افزودن شیر ارزن بر زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس5-LA، نشان داد که در کلیه نمونه‌ها با گذشت زمان نگهداری، شمارش کلی باکتری‌های پروبیوتیک و آغازگر زنده و pH کاهش و اسیدیته افزایش یافت. در پژوهش رضایی و همکاران (۸) و در مورد ارزیابی محصولات پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک لبنی در اصفهان از نظر تعداد لاکتوباسیلوس زنده و وجود لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، نتایج نشان داد که از ۱۴ محصول پروبیوتیک، ۵ نمونه (۳۵ درصد) واجد باکتری‌هایی با قابلیت رشد در حضور صفرا بودند. اگرچه میانگین جمعیت لاکتوباسیلوس زنده در فرآورده‌های پروبیوتیک لبنی نسبت به انواع غیر لبنی بیشتر است، اما این شاخص در بخش عمده‌ای از فرآورده‌های لبنی که با عنوان پروبیوتیک در بازار ایران عرضه می‌شود، با حد استاندارد تفاوت زیادی دارد. تحقیقات بالا نشان داده که لاکتوباسیلوس جدا شده از مواد لبنی، قابلیت استفاده و جایگزینی با نمونه‌های صنعتی را داشته که کاملا در راستای تحقیق حاضر است. نتایج تحقیق کیانی و محمودی(۱۵) و در خصوص تولید بیوسورفکتانت توسط لاکتوباسیلوس جهت استفاده در صنایع غذایی به عنوان جایگزینی برای امولسیفایرهای سنتزی، حاکی از آن بود که بیوسورفکتانت‌های استخراج شده از قابلیت مناسبی در فرایند امولسیون کنندگی برخوردار بوده و می‌توان سویه‌هایی از

لاکتوباسیلوس با قابلیت مناسب تولید بیوسورفکتانت جداسازی نمود. نتایج پژوهش حاضر هم بر موارد نتیجه گرفته شده پژوهش مذکور، تاکید نموده است و لذا می‌توان نتایج دو تحقیق را در یک راستا ارزیابی نمود. طبق نتایج تحقیق ساروبو[1] و همکاران (۳۷) و در خصوص بیوسورفکتانت‌ها: تولید، خواص، کاربردها، روندها و دیدگاه‌های کلی، انواع مختلفی از بیوسورفکتانت‌ها به‌صورت تجاری برای کاربرد در صنایع دارویی و آرایشی تولید شده، درحالی‌که بایستی به کاربرد قابل‌توجه و امیدوارکننده‌ی آن در صنایع غذایی، نفت و کشاورزی توجه داشت. در تحقیق مویوآفو[2] و همکاران (۳۳) و در خصوص بیوسورفکتانت‌ها از باکتری‌های اسید لاکتیک، محققان طی این تحقیق مروری بیان داشتند که فرآیند تولید بیوسورفکتانت‌ها شامل چندین عملیات واحد است که از روش‌های غربال‌گری تا شناسایی ترکیب بیوسورفکتانت شروع شده و این بررسی تکنیک‌های مختلف مورد استفاده در غربالگری تولید بیوسورفکتانت‌ها توسط اسیدلاکتیک، فرآیندهای استخراج و خالص‌سازی آن ها و خصوصیات ساختاری و کاربرد آن‌ها در صنایع غذایی را برجسته می‌کند. در پژوهشی که توسط موهانتی[3] و همکاران (۳۲) و در مورد بررسی انتقادی مواد اولیه مختلف به عنوان بسترهای پایدار برای تولید بیوسورفکتانت، انجام گرفت، تحقیق، استفاده از مواد اولیه مختلف در تولید بیوسورفکتانت‌ها را موردبحث قرار داده که نه تنها هزینه تصفیه زباله را کاهش می‌دهد، بلکه فرصتی برای سود بردن از فروش بیوسورفکتانت را فراهم می‌کند. نگرانی‌های زیست-محیطی در کشورهای توسعه یافته منجر به افزایش تمایل محققان به تحقیق و توسعه در زمینه تولید ترکیبات فعال سطحی با منشأ زیستی از جمله بیوسورفکتانت‌ها شده است(۳۴). بیوسورفکتانت‌ها، مولکول‌های دوگانه دوست منحصر به فردی هستند که در حذف آلودگی‌های آلی و فلزی محیط‌زیست کاربرد بسیاری دارند و در صنایعی مانند صنایع غذایی به کار می‌روند (۱۸). ترکیبات کمپلکسی از چربی‌ها یا مشتقات آن‌ها هستند که در فاز رشد توسط میکروارگانیسم‌ها تولید شده و خاصیت آمفی‌فیلیک دارند یعنی در یک مولکول بخش آب‌دوست و آب‌گریز هر دو وجود دارد. به‌طورکلی، سورفکتانت‌ها، رده‌ی مهمی از مواد شیمیایی صنعتی راه شامل می‌شوند که کاربردهای آن‌ها روز به روز گسترده‌تر می‌شود (۱۲). بیوسورفکتانت‌ها متابولیت‌های (عمدتا ثانویه) تولیدشده توسط میکروارگانیزم‌ها هستند که هنگام رشد، با مصرف سوبستراهای محلول و غیر محلول در آب به صورت متصل به سلول یا ترشح شده به محیط کشت سلول تولید می‌شوند. آن ها دارای خاصیت کاهش کشش سطحی و بین سطحی با مکانیزم مشابه سورفکتانت‌های شیمیایی و سنتزی هستند. بیوسورفکتانت‌ها گروه متنوعی از مولکول‌های فعال سطحی را تشکیل می‌دهند و شامل ساختارهای شیمیایی مختلفی ازجمله گلیکولیپیدها، لیپوپپتیدها و لیپوپروتئین‌ها، اسیدهای چرب، لیپیدهای خنثی، فسفولیپیدها و ساختارهای پلیمری و ذره‌ای هستند (۵). در سال‌های اخیر بیوسورفکتانت‌های میکروبی به دلیل خصوصیات عملکردی مفید مثل امولسیون‌کنندگی مورد توجه قرار گرفته‌اند (۴). طبق نتایج تحقیق، بیوسورفکتانت‌های استخراج شده از هر دو باکتری نشان دادند که از قابلیت مناسبی در فرایند امولسیون کنندگی برخوردار هستند، اما پایداری بیوسورفاکتانت در گونه دلبروکی بیشتر از گونه فرمنتوم است و این اختلاف در چهار روغن بررسی شده، معنی‌دار است. نتایج تحقیق زمانی و همکاران (۹) و در مورد جداسازی و شناسایی بیوشیمیایی و مولکولی لاکتوباسیلوس‌ها از لبنیات سنتی روستاهای استان فارس، نشان داد که دو سویه لاکتوباسیلوس برویس و لاکتوباسیلوس کازئی با خواص پروبیوتیکی تایید شده در لبنیات سنتی استان فارس موجود هستند که می‌توان از آن ها در صنایع غذایی لبنی و جهت ارتقا کیفیت غذای دام و طیور استفاده کرد. نتایج تحقیق

1- Sarubbo
2- Mouafo
3- Mohanty

مذکور با تائید نتایج منتج از پژوهش حاضر، نشان می‌دهد که لاکتوباسیلوس‌های مستخرج از لبنیات، قابلیت به‌کارگیری را به جای نمونه‌های مشابه صنعتی دارند. طبق نتایج باقری و همکاران (۳) و در مورد ارزیابی ایمنی لاکتوباسیلوس‌های جدا شده از محصولات لبنی سنتی ایران، لاکتوباسیلوس فرمنتوم به ونکومایسین مقاوم، در حالی که لاکتوباسیلوس هلوتیکوس نسبت به آن حساس بود. از آن جا که موارد مقاومت به آنتی‌بیوتیک به بر اساس گزارش‌های متعدد ذاتی هستند، لذا نتایج به دست آمده تاییدکننده پتانسیل کاربرد دو سویه جداسازی شده به عنوان استارتر در محصولات لبنی تخمیری می‌باشد و لزوم به کارگیری روش‌های ارزیابی ایمنی باکتری‌های پروبیوتیک را تایید می‌نماید. شمشاد و همکاران (۱۰) در تحقیق خود در مورد جداسازی باکتری‌های لاکتوباسیل با قابلیت پروبیوتیکی از محصول لبنی سنتی نائین (کومه)، نشان دادند که کومه دارای پتانسیل زیادی برای جداسازی جدایه‌های پروبیوتیکی است و احتمالا مصرف خوراکی جدایه‌های لاکتوباسیلی به‌عنوان مکمل میکروبی دارای اثرات سلامتی بخش است. در پژوهشی که توسط کاچریمانیدویو[1] و همکاران (۲۹) و تحت عنوان تولید بیوسورفکتانت از لاکتوباسیل‌ها: بینشی در مورد تفسیر روش‌های ارزیابی رایج انجام گرفت، طبق نتایج، نفوذ آب پنیر به عنوان یک بستر لاکتوباسیلی کم هزینه و ذاتی با هدف کاهش اثرات آلاینده آن، گسترش استراتژی‌های ارزش‌گذاری، کاهش هزینه‌های ناشی از مکمل‌های تجاری و افزایش پایداری کلی ارزیابی شد. کشش سطحی، فعالیت امولسیون سازی و جابجایی روغن برای شناسایی امیدوارکننده ترین نامزدها به کار گرفته شد. نتایج تحقیق اوزکان[2] و همکاران (۳۵) و در خصوص بقای لاکتوباسیلوس کازئی و ویژگی‌های عملکردی ماست چغندر قرمز کاهش یافته با جایگزین‌های قند طبیعی، حاکی از آن بوده که فرآورده‌های شیر تخمیری که توسط فاتوشیمیایی گیاهی و گلیکوزید استویول پشتیبانی می‌شوند، دارای اثرات تغذیه‌ای کافی، زنده ماندن پروبیوتیک بالا و خواص حسی قابل قبولی هستند. نتایج پژوهش ژو[3] و همکاران (۴۳) و در مورد کاربردها و اثرات امولسیون سازی به کمک اولتراسوند در تولید امولسیون‌های غذایی، نشان داد که امولسیون‌سازی به کمک اولتراسوند را می‌توان برای تهیه بسیاری از امولسیون‌های غذایی تثبیت شده با امولسیفایر مانند پروتئین، پلی ساکارید، پروتئین پلی ساکارید و پروتئین پلی ساکارید-سورفکتانت استفاده کرد. تیمار اولتراسوند مناسب می‌تواند خواص رئولوژیکی و خواص امولسیون‌کننده را بهبود بخشد، اندازه قطرات امولسیون را کاهش دهد و همچنین پتانسیل زتای مطلق امولسیون‌ها را افزایش دهد. نتایج پژوهش کیم[4] و همکاران (۳۰) و در مورد پروتئین‌های لبنی و گیاهی به عنوان امولسیفایرهای طبیعی مواد غذایی، بینش‌هایی در مورد رابطه بین ساختار پروتئین و عملکرد امولسیون‌کننده پروتئین‌های لبنی و گیاهی در شرایط خاص و مناسب بودن پروتئین‌های گیاهی به عنوان جایگزین پروتئین‌های لبنی به عنوان امولسیفایرهای غذایی طبیعی ارائه نمود. در پژوهشی که توسط الکان[5] و همکاران (۲۵) و در خصوص تولید بیوسورفکتانت توسط باکتری‌های اسید لاکتیک با استفاده از آب پنیر به عنوان محیط رشد انجام گرفت، نتایج نشان داد که ضایعات لبنی می‌تواند محیط مناسبی برای تولید بیوسورفکتانت مقرون به صرفه توسط باکتری‌های اسید لاکتیک به نفع صنایع غذایی، دارویی و آرایشی باشد. در پژوهشی که توسط هو[6] و همکاران (۲۸) و تحت عنوان شناسایی فعالیت ضد میکروبی سه سویه لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از غذاهای لبنی سنتی چینی انجام گرفت، نتایج نشان داد که پنج اسید آلی رایج تولید شده توسط تخمیر سویه‌ها، نقش کلیدی

1 - Kachrimanidou
2- Ozcan
3- Zhou
4-Kim
5- Alkan
6- Hu

در مهار سه باکتری بیماری زا دارند. در pH یکسان، فعالیت ضد میکروبی آبگوشت تخمیر در برابر اشریشیا کلی و سالمونلا قوی‌تر از اسید آلی به تنهایی است. در پژوهشی که توسط سانجانا[1] و همکاران (۳۶) و تحت عنوان بیوسورفکتانت‌های باکتریایی - موهبتی برای صنعت لبنیات انجام گرفت، نتایج حاکی از آن بوده امولسیفایرهایی که معمولا در صنایع لبنی استفاده می‌شوند، لسیتین هستند که از منابع حیوانی و گیاهی به دست می‌آیند که محدودیت‌های خاص خود را دارند و سورفاکتین نسبت به لسیتین مفیدتر است و ممکن است احتمالات آن در صنعت لبنیات بررسی شود. نتایج تحقیقات ذکرشده بالا نشان از این داشته که استخراج بیوسورفکتانت از لاکتوباسیل‌ها و استفاده از آن به‌عنوان امولسیفایر در مدل غذایی به جای نمونه‌های صنعتی، روشی به صرفه ازنظر اقتصادی و زیست‌محیطی است که در راستای نتایج پژوهش حاضر است.

۵- سپاسگزاری

این مقاله بر اساس نتایج تحقیقات رساله دکتری در پاییز ۱۴۰۱ در دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت ا... آملی با کد طرح ۱۶۲۲۶۴۵۵۰ تهیه شده است. از کلیه‌ی همکارانی که ما را در انجام این تحقیق یاری رساندند، کمال تشکر را داریم.

۶- منابع

۱. احسنی‌ارانی ی، نورمحمدی ز، راسخ ب، یزدیان ف، حجن کاظمی ح. ارزیابی اثر نانوساختار طلا بر میزان تولید بیوسورفکتانت حاصل از باکتری سودوموناس آئروژینوزا. *فصلنامه دانش زیستی ایران*. ۱۴۰۰؛ ۶۴(۲): ۶۴، ۴۷-۴۰.

۲. بازارچه شبستری ن، حاجی‌رضائی م. شناسایی مولکولی لاکتوباسیل‌های جدا شده از پنیرهای سنتی شهرستان بندرعباس. مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی مولکلولی. ۱۳۹۹؛ ۱۰(۳۹): ۸۹-۷۹.

۳. باقری ف، میردامادی س، میرزائی م، صفوی م. ارزیابی ایمنی لاکتوباسیلوس‌های جدا شده از محصولات لبنی سنتی ایران. ارزیابی ایمنی لاکتوباسیلوس‌های جدا شده از محصولات لبنی سنتی ایران. *علوم و صنایع غذایی*. ۱۳۹۹؛ ۱۷(۱۴): ۷۸-۶۵.

۴. بخشی ن، سلیمانیان زاد ص، شیخ زین‌الدین م. بررسی امکان استفاده از ضایعات برنج و گندم برای تولید بیوسورفکتانت توسط الکتوباسیلوس پالنتاروم. *نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی*. ۱۳۹۷؛ ۲۸(۱)، ۵۸-۴۹.

۵. بهزادنیا ا، موسوی نسب م، شجاع الساداتی ع، ستوده پ. تولید بیوسورفکتانت توسط لاکتیک اسید باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم با استفاده از منابع مغذی مناسب. *زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس*. ۱۳۹۹؛ ۱۱(۳): ۳۳۲-۳۲۷.

۶. پوربابا ح، انوار ا، پوراحمد ر، اهری ح. تغییرشاخص‌های اسیدی و زنده مانی پروبیوتیک‌ها در کفیر تولید شده با پروبیوتیک‌های کمکی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس پاراکازئی در طول دوره نگهداری در سرما. *مجله طب دامی ایران*. ۱۴۰۰؛ ۱۶(۱): ۹۸-۸۹.

۷. دیناروند ب، فتحی رضائی پ، اکبری ن. بهینه سازی تولید آسپاراژیناز از سویه‌ی لاکتوباسیلوس جدا شده از محصولات لبنی سنتی. *فصلنامه زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها*. ۱۳۹۹؛ ۹ (۳۴): ۸۶-۷۱.

۸. رضائی ه، فاضلی ح، میرلوحی م. ارزیابی محصولات پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک لبنی در اصفهان از نظر تعداد لاکتوباسیلوس زنده و وجود لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس. *تحقیقات نظام سلامت*. ۱۳۹۶؛ ۱۳(۲): ۱۹۷-۱۸۷.

۹. زمانی ن، اخوان سپهی ع، فاضلی م، شریعتمداری ف. جداسازی و شناسایی بیوشیمیایی و مولکولی لاکتوباسیلوس‌ها از لبنیات سنتی روستاهای استان فارس و

1-Sanjana

بررسی پتانسیل پروبیوتیکی آنه. *علوم صنایع غذایی ایران*. ۱۴۰۱؛ ۱۹(۱۲۳): ۵۳-۴۱.

۱۰. شمشاد ن، روزبه نصیرایی ل، مجیدزاده هروی ر. جداسازی باکتری‌های لاکتوباسیل با قابلیت پروبیوتیکی از محصول لبنی سنتی نائین (کومه). *مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران*. ۱۳۹۹؛ ۱۵(۱): ۱۰۶-۹۵.

۱۱. شه‌پرست، ی. ۱۳۹۴. ارزیابی پایداری اکسیداتیو نانو حامل‌های لیپیدی (NLC) حاوی روغن کبد ماهی و توکوفرول. دانشگاه صنعتی شاهرود، دانشکده کشاورزی، گروه باغبانی، پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته علوم و مواد غذایی.

۱۲. ظهیری ی، قلی‌زاده دوران محله ر، مسرت ن، احمدی شعار ش، پاک نژادی م. ۱۴۰۰. بیوتکنولوژی مولکولی میکروارگانیسم ها به منظور تولید بیوسورفکتانت ها. *تشخیص آزمایشگاهی*. ۱۴۰۰؛ ۱۴۰۰(۱۸۶): ۳۹-۳۶.

۱۳. علیزاده بهبهانی ب، نوشاد م، جوینده ح.. ارزیابی فعالیت و بررسی ویژگی‌های باکتریوسین تولید شده توسط باکتری‌های لاکتوباسیل جدا شده از ماست محلی شهرستان بهبهان. *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*.۱۴۰۰؛ ۱۶(۲): ۱۲۰-۱۱۱.

۱۴. فرقانی س، پیغمبر دوست ه، حصاری ج، رضایی مکرم ر. بررسی اثر افزودن شیر ارزن بر زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5. باکتریهای آغازگر ماست و برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ماست پروبیوتیک، *علوم و صنایع غذایی*. ۱۳۹۷؛ ۱۵(۷۶): ۲۱۹-۲۰۷.

۱۵. کیانی پ، محمودی م. تولید بیوسورفکتانت توسط لاکتوباسیلوس جهت استفاده در صنایع غذایی به عنوان جایگزینی برای امولسیفایرهای سنتزی. *نشریه تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی*. ۱۳۹۴؛ ۵(۱۹): ۶۸-۶۱.

۱۶. کیهانی و، مرتضوی ع، کریمی م، کاراژیان ح، شیخ الاسلامی ز. کاربرد امواج فراصوت در استخراج ترکیبات ساپونینی ریشه گیاه چوبک (Acanthophyllum glandulosum) بر پایه ویژگی های امولسیون کنندگی و کف زایی آنها. *پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی*. ۱۳۹۴؛۴(۴): ۳۴۲-۳۲۵.

۱۷. محب‌راد ب، رضائی ع، دهقانی س، زمانیان م، حامد رحمت م. امکان سنجی تولید بیوسورفکتانت رامنولیپیدی از فاضلاب روغنی با استفاده از سودوموناس آئروژنزا جداسازی شده از فاضلاب بیمارستانی. *مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان*. ۱۳۹۷؛ ۱۷(۲): ۱۵۶-۱۴۳.

۱۸. مدبر گ، اخوان سپهی ع، یزدیان ف، راشدی ح. بررسی اثر نانوذرات مغناطیسی پوشش‌دارشده در میزان تولید بیوسورفکتانت باکتری باسیلوس‌سابتیلوس در بیوراکتور. *زیست ناوری دانشگاه تربیت مدرس*. ۱۳۹۹؛ ۱۲(۱): ۶۸-۵۳.

۱۹. معین‌فرد م، مظاهری تهرانی م. اثرات برخی پایدارکننده‌ها بر ویژگی‌های فیزیکی شیمایی و حسی ماست منجمد.*مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*. ۱۳۸۹؛ ۵(۲): ۸-۱.

۲۰. مویدی ع، محمودی م، خمیری م، لقمان ش. جداسازی، شناسایی مولکولی و ارزیابی ایمنی باکتری های اسید لاکتیک پروتئولیتیک به دست آمده از نمونه‌های مختلف شیر خام. *علوم و صنایع غذایی*. ۱۳۹۸؛ ۱۶(۸۹): ۵۹-۶۹.

۲۱. میربد، م.، ۱۳۹۳. استفاده از بیوسورفاکتانت‌ها به عنوان افزودنی غذایی طبیعی. *اولین همایش ملی میان وعده‌های غذایی*. مشهد مقدس. ۸-۱.

۲۲. نوشاد م، علیزاده بهبهانی ب، حجتی م. بررسی اثر سویه‌های پروبیوتیک بومی لاکتوباسیلوس دلبروکی و پدیوکوکوس پنتوزاسئوس بر ویژگی‌های شیمیایی، میکروبی و حسی دوغ طی زمان نگهداری. *پژوهش‌های صنایع غذایی*. ۱۴۰۱؛ ۳۲(۳): ۹۱-۷۷.

۲۳. یدملت م، جوینده ح، حجتی م. تأثیر صمغ فارسی و صمغ دانه بالنگو شیرازی بر ویژگیهای بافتی ماست همزده کم چرب. *نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی*. ۱۳۹۶؛ ۲۷(۴): ۱۷۱-۱۸۱.

۲۴. یعقوبی ف، هنرمند جهرمی س، باغبانی آرانی ف. جداسازی و شناسایی باکتری های اسید لاکتیک با ویژگی پروبیوتیک از ماست های سنتی شهرستان ورامین. *فصلنامه دانش زیستی ایران*. ۱۳۹۸؛ ۱۴(۱): ۱۸-۹.

25. Alkan Z, Zerrin E, Zerrin K, Gozde E. U. T. Production of biosurfactant by lactic acid bacteria using whey as growth medium. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*. 2019: 43(5): 1903-1948.

26. Chaprão MJ, Ferreira INS, Correa PF, Rufino RD, Luna JM, Silva EJ and et al. Application of bacterial and yeast biosurfactants for enhanced removal and biodegradation of motor oil from contaminated sandElectronic. *J Biotechnol*. 2015:18(2015): 471–79.

27. García –Ruiz A, De Llano DG, Esteban –Fernández A, Requena T, Bartolomé B, Moreno –Arribas MV. Assessment of probiotic properties in lactic acid bacteria isolated from wine. *Food Microbiology*. 2014: 44(2014): 220 - 5.

28. Hu C-H, Ren L-Q, Zhou Y, Ye B- C. Characterization of antimicrobial activity of three Lactobacillus plantarum strains isolated from Chinese traditional dairy food. *Journal of Applied Microbiology*. 2019: 7(6): 1997-2005.

29. Kachrimanidou V, Papadaki A, Lappa I, Papastergiou S, Kleisiari D, Kopsahelis N. Biosurfactant Production from Lactobacilli an Insight on the Interpretation of Prevailing Assessment Methods. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2022: 194(2022): 882-900.

30. Kim, W., Wang, Y., Selomulya, C. 2020. Dairy and plant proteins as natural food emulsifiers. *Trends in Food Science & Technology*. 105(2020): 261-272.

31. Makkar, RS., Cameotra, SS., Banat, IM. 2011. Advances in utilization of renewable substrates for biosurfactant production. *AMB Express*. 1(1): 5.

32.Mohanty S. S , Koul Y, Varjani S, Pandey A, Hao N. H, Chang J-S, et al. A critical review on various feedstocks as sustainable substrates for biosurfactants production. a way towards cleaner production. *Microbial Cell Factories*. 2021: 20(1): 1-13.

33. Mouafo H. T, Sokamte A. T, Mbawala A, Ndjouenkeu R. Biosurfactants from lactic acid bacteria A critical review on production, extraction. structural characterization and food application. *Food Bioscience*. 2022: 46 (2022): 101598.

34. Naughton PJ, Marchant R, Naughton V, Banat IM. Microbial biosurfactants: Current trends and applications in agricultural and biomedical industries. *J Appl Microbiol*. 2019: 127 (1):12-28.

35. Ozcan T, Ozdemir T, Avci H. R. Survival of Lactobacillus casei and functional characteristics of reduced sugar red beetroot yoghurt with natural sugar substitutes. *International Journal of Dairy Technology*. 2021: 74(1): 148-160.

36. Sanjana M. C, Yadav Sh, Malashree, Prabha L. R. Bacterial Biosurfactants - A Boon to Dairy Industry. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2017: 6(5):608-612.

37. Sarubbo L. A, Silva M. D. G. C, Durval I. J. B, Bezerra K. G. O, Ribeiro B. G, Silva I. S. Biosurfactants, Production, properties, applications, trends, and general perspectives. *Biochemical Engineering Journal*. 2022: 181(2022): 108377.

38. Savaiano D. A. Lactose digestion from yogurt, mechanism and relevance. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2014: 99(5): 1251S-5S.

39. Seddik H. A, Bendali F, Gancel F, Fliss I, Spano G, Drider D. Lactobacillus plantarum and its probiotic and food potentialities. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2017: 9(2):111-22.

40. Siddhi BN, WayanSuardana I, Antara NS. Studies on Lactic Acid Bacteria Isolate Sr 13 From Bali Cattle Gastric. *Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 2019: 2(1):31-8.

41. Tomaro-Duchesneau C, Jones M. L, Shah D, Jain P, Saha S, Prakash S. Cholesterol, assimilation by Lactobacillus probiotic bacteria: an in vitro investigation. *Clin infect dis*.2014: 46(2014): S67-S72.

42. Zheng M, Zhang R, Tian X, Zhou X, Pan X, Wong A. Assessing the risk of probiotic dietary

supplements in the context of antibiotic resistance. *Frontiers in microbiology*. 2017: 8(2017): 908.
43. Zhou L, Zhang J, Xing L, Wangang Z. 2021. Applications and effects of ultrasound assisted emulsification in the production of food emulsions. A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2021; 110(2021): 493-512.