١٤٤٤هـ

دانشگاه ارومیه

دانشکده دامپزشکی

سال تحصیلی: ۱۳۸۹ شماره پایان نامه: ٤٨-١

پایان نامه

جهت اخذ درجه دکتری تخصصی دامپزشکی در رشته بهداشت مواد غذایی

عنوان

ماندگاری باکتری‌های پروبیوتیک و تاثیر آنها بر خواص کیفی پنیر سفید ایرانی فراپالایش

نگارنده

شهین زمردی

اساتید راهنما

پروفسور سید مهدی رضوی روحانی (استاد)

پروفسور اصغر خسروشاهی اصل (استاد)

استاد مشاور

دکتر علی احسانی (استادیار)

۱۳۸۹/۹/ ۸

۱۴۶۴۲۷

دانشگاه ارومیه

دانشکده دامپزشکی

سال تحصیلی: ۱۳۸۹ شماره پایان نامه: ٤٨-١

پایان نامه

جهت اخذ درجه دکتری تخصصی دامپزشکی در رشته بهداشت مواد غذایی

عنوان

ماندگاری باکتری‌های پروبیوتیک و تاثیر آنها بر خواص کیفی پنیر سفید ایرانی فراپالایش

نگارنده

شهین زمردی

دکتر سید مهدی رضوی روحانی استاد راهنما و رئیس هیئت داوران (استاد)

دکتر اصغر خسروشاهی اصل استاد راهنمای دوم (استاد)

دکتر علی احسانی استاد مشاور (استادیار)

دکتر جواد حصاری داور خارجی (استادیار)

دکتر محمود رضا زاد باری داور خارجی (استادیار)

دکتر حسین تاجیک داور داخلی (دانشیار)

دکتر ملاحت احمدی داور داخلی (دانشیار)

این پایان نامه با همکاری و حمایت سازمان صنایع کوچک و شهرک‌های صنعتی ایران، شهرک‌های صنعتی استان آذربایجان غربی تالیف شده است.

تقدیم:

به مادر مهربان و بزرگوارم به خاطر محبتهای بی دریغش

و

به برادر عزیز و فداکارم کمال به خاطر همه خوبیهایش

بنام خدا

"من لم یشکر المخلوق لم یشکر الخالق"

سپاسگزاری

حمد و سپاس پروردگار جهانیان را که نعمت دانش اندوزی و کسب معرفت در راه خویش را به ما ارزانی داشت.

بدین وسیله بر خود لازم می دانم که از راهنمایی‌های صمیمانه و بی دریغ اساتید ارجمندم جناب آقای پروفسور سید مهدی رضوی روحانی و جناب آقای پروفسور اصغر خسروشاهی اصل که در طول مراحل مختلف اجرا و نگارش این پایان نامه به عنوان استاد راهنما، اینجانب را یاری نموده‌اند صمیمانه تشکر و قدردانی نمایم.

از مدیر عامل محترم کارخانه لبنیات آل پایلا ارومیه، جناب آقای میرحسین میرآقایی به دلیل مهیا نمودن شرایط تولید نمونه‌های پنیر بطور صنعتی، از پژوهشکده بیوتکنولوژی دانشگاه ارومیه، آزمایشگاه بخش تحقیقات آب و خاک و بخش تحقیقات فنی و مهندسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی به دلیل همکاری در انجام آزمایشات این پایان نامه سپاسگزارم.

از مدیر عامل محترم شرکت شهرک‌های صنعتی آذربایجان غربی جناب آقای مهندس نادر صفرزاده به خاطر همکاری و حمایت‌های مالی آن شرکت از این پایان نامه و از همکاری جناب آقای مهندس کامران داوری نیکو مدیر محترم شرکت فناوری ارومیه کمال تشکر را دارم.

در خاتمه از مادر فداکارم که در تمام مراحل زندگی پشتیبان و یاور من بوده و مشکلات اجرای این پایان نامه را با من تقبل نموده است بی نهایت سپاسگزارم. از خواهرم و برادران عزیزم آقایان جلال، جمال و کمال که همواره مرا مورد لطف و عنایت خود قرار داده‌اند کمال تشکر را دارم. از خانم مهندس سمیه میر آقایی نیز به خاطر کمک در انجام آزمایش‌ها تشکر می نمایم.

شهین زمردی

تیر ماه ۱۳۸۹

فهرست مطالب

عنوان موضوع	صفحه
فهرست جدول‌ها	v
فهرست شکل‌ها	vii
چکیده فارسی	viii
فصل اول- مقدمه	
مقدمه	۲
فصل دوم- کلیات	
۱-۲- پروبیوتیک‌ها	۵
۱-۱-۲- تاریخچه	۵
۲-۱-۲- باکتری‌های پروبیوتیک	۵
۳-۱-۲- معیارهای انتخاب پروبیوتیک‌ها	۸
۴-۱-۲-اثرات سودمند پروبیوتیک‌ها	۱۰
۲-۲- فراورده‌های شیر پروبیوتیک	۱۵
۱-۲-۲- ماست پروبیوتیک	۱۵
۲-۲-۲- پنیر	۱۶
۳-۲- مطالعات انجام گرفته در خصوص ماندگاری پروبیوتیک‌ها در پنیر	۲۰
۴-۲- کپسوله کردن	۲۳
۱-۴-۲- پلیمرهای مورد استفاده در کپسوله کردن	۲۴
۲-۴-۲- روش‌های مختلف کپسوله کردن پروبیوتیک‌ها	۲۹
۳-۴-۲- مطالعات انجام شده در خصوص پروبیوتیک‌های کپسوله شده	۳۵
۵-۲- فرایند رسیدن پنیر	۳۷
۱-۵-۲- پروتئولیز	۳۷
۲-۵-۲- لیپولیز	۴۴
۳-۵-۲-گلیکولیز	۴۵
۴-۵-۲- مطالعات انجام شده در خصوص تاثیر پروبیوتیک‌ها بر پروتئولیز پنیر	۴۵

فصل سوم- مواد و روش‌ها

۳-۱- مواد و لوازم ---------- ۵۲

۳-۲- روش‌ها ---------- ۵۴

۳-۲-۱- آماده کردن باکتری‌های پروبیوتیک ---------- ۵۴

۳-۲-۲- کپسوله کردن ---------- ۵۴

۳-۲-۳- پنیر سفید ایرانی فراپالایش (UF) ---------- ۵۵

۳-۲-۴- شمارش پروبیوتیک‌ها ---------- ۵۶

۳-۲-۵- اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی پنیر ---------- ۵۷

۳-۲-۵-۱- اندازه گیری رطوبت ---------- ۵۷

۳-۲-۵-۲- تعیین pH ---------- ۵۷

۳-۲-۵-۳- تعیین نمک ---------- ۵۷

۳-۲-۵-۴- اندازه‌گیری پروتئین ---------- ۵۷

۳-۲-۵-۵- اندازه‌گیری چربی ---------- ۵۸

۳-۲-۶- ارزیابی پروتئولیز پنیر ---------- ۵۸

۳-۲-۶-۱-نیتروژن محلول در pH=۴/۶ ---------- ۵۸

۳-۲-۶-۲- نیتروژن محلول در تری کلرواستیک اسید ---------- ۵۹

۳-۲-۶-۳- اندازه گیری تیروزین و تریپتوفان آزاد ---------- ۵۹

۳-۲-۶-۴- اوره پلی آکریل ژل الکتروفورز ---------- ۶۱

۳-۲-۷- ارزیابی لیپولیز ---------- ۶۴

۳-۲-۷-۱- تعیین اسیدهای چرب آزاد ---------- ۶۴

۳-۲-۸- ارزیابی حسی ---------- ۶۵

۳-۲-۹- روش طرح آماری ---------- ۶۵

فصل چهارم - نتایج

۴-۱- شیر ---------- ۶۸

۴-۲- بقای باکتری‌های پروبیوتیک در پنیر ---------- ۶۸

۴-۳- ترکیبات شیمیایی ---------- ۶۸

۴-۳-۱- درصد رطوبت ---------- ۷۰

۴-۳-۲- تغییرات درصد نمک ---------- ۷۱

۴-۳-۴- تغییرات درصد پروتئین ---------- ۷۲

۴-۳-۵- تغییرات درصد چربی ---------- ۷۳

۴-۳-۶- تغییرات pH ---------- ۷۴

۴-۴- ارزیابی پروتئولیز در پنیر ---------- ۷۵

۴-۴-۱- نیتروژن محلول در pH= ۴/۶ ---------- ۷۵

۴-۴-۲- نیترون محلول در تری کلرور استیک اسید ---------- ۷۵

۴-۴-۳- الکتروفورز ---------- ۷۶

۴-۴-۴- اسیدهای آمینه تیروزین- تریپتوفان ---------- ۷۸

۴-۵- لیپولیز ---------- ۷۹

۴-۶- خواص حسی ---------- ۸۰

۴-۷- بررسی تاثیر متقابل استارتر تجارتی و باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی*

۴-۷-۱- ترکیبات شیمیایی ---------- ۸۱

۴-۷-۲- ارزیابی پروتئولیز ---------- ۸۲

۴-۷-۳- ارزیابی لیپولیز ---------- ۸۲

۴-۷-۴- خواص حسی ---------- ۸۲

فصل پنجم- بحث

۵-۱- بقای باکتری‌های پروبیوتیک در پنیر ---------- ۸۵

۵-۲- ترکیبات شیمیایی ---------- ۸۸

۵-۲-۱- درصد رطوبت ---------- ۸۸

۵-۲-۲- تغییرات درصد نمک ---------- ۹۰

۵-۲-۳- تغییرات درصد پروتئین ---------- ۹۰

۵-۲-۴- تغییرات درصد چربی ---------- ۹۱

۵-۲-۵- تغییرات pH ---------- ۹۲

۵-۳- ارزیابی پروتئولیز در پنیر ---------- ۹۳

۵-۳-۱- نیتروژن محلول در pH =۴/۶ ---------- ۹۳

۵-۳-۲- نیتروژن محلول در تری کلرواستیک اسید ---------- ۹۵

۵-۳-۳-الکتروفورز ---------- ۹۷

۵-۳-۴- اسیدهای آمینه تیروزین- تریپتوفان ---------- ۹۸

۵-۴- ارزیابی لیپولیز ---------- ۹۹

۵-۵- خواص حسی ---------- ۱۰۱

۵-۶- بررسی تاثیر متقابل استارتر تجارتی و باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* ----- ۱۰۳

۵-۶-۱- ترکیبات شیمیایی ---------- ۱۰۳

۵-۶-۲- ارزیابی پروتئولیز ---------- ۱۰۴

۵-۶-۳- ارزیابی لیپولیز ---------- ۱۰۵

۵-۶-۴- خواص حسی ---------- ۱۰۵

۵-۷- نتیجه‌گیری ---------- ۱۰۶

منابع ---------- ۱۱۰

ضمایم ---------- ۱۳۲

چکیده انگلیسی ---------- x

فهرست جدول‌ها

عنوان جدول	صفحه
جدول ۱-۲- فلور میکربی دستگاه گوارش و گلوی انسان ----------	۶
جدول ۲-۲- مهمترین انواع باکتری‌های مورد استفاده به عنوان پروبیوتیک ----------	۱۰
جدول ۳-۲- اثرات کلینیکی بعضی از پروبیوتیک‌ها ----------	۱۴
جدول ۴-۲- مشکلات تکنولوژیکی و راه حل‌های ممکن در تولید پنیرهای پروبیوتیک ---	۱۷
جدول ۵-۲- کپسوله کردن باکتری در سیستم‌های پلیمری مختلف ----------	۲۵
جدول ۶-۲- مزایا و معایب روش‌های کپسوله کردن ----------	۳۴
جدول ۱-۳- میزان محلول ذخیره و صاف شده TCA مورد استفاده در تهیه منحنی استاندارد	۶۱
جدول ۱-۴- ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی شیر خام و ماده ناتراوا مصرفی ----------	۶۸
جدول ۲-۴- ترکیبات شیمیایی پنیرهای پروبیوتیک و کنترل در روز اول ----------	۶۸
جدول ۳-۴- تغییرات درصد رطوبت در طول نگهداری پنیر ----------	۷۰
جدول ۴- ۴- تاثیر نوع پروبیوتیک بر میزان رطوبت نمونه‌های پنیر در طول رسیدن -----	۷۰
جدول ۵-۴- تغییرات درصد نمک در طول نگهداری پنیر ----------	۷۱
جدول ۶-۴- تاثیر نوع پروبیوتیک بر میزان نمک نمونه‌های پنیر در طول رسیدن --------	۷۱
جدول ۷-۴- تغییرات درصد پروتئین در طول نگهداری پنیر ----------	۷۲
جدول ۸-۴- تاثیر نوع پروبیوتیک بر میزان پروتئین نمونه‌های پنیر در طول رسیدن -----	۷۲
جدول ۹-۴- تغییرات درصد چربی در طول نگهداری پنیر ----------	۷۳
جدول ۱۰-۴- تاثیر نوع پروبیوتیک بر میزان چربی نمونه‌های پنیر در طول رسیدن ------	۷۳
جدول ۱۱-۴- تغییرات pH در طول نگهداری پنیر ----------	۷۴
جدول ۱۲-۴- تاثیر نوع پروبیوتیک بر میزان pH نمونه‌های پنیر در طول رسیدن -------	۷۴
جدول ۱۳-۴- تغییرات درصد نیتروژن محلول در pH= ۴/۶ در طول نگهداری پنیر -----	۷۵
جدول ۱۴-۴- تاثیر نوع پروبیوتیک بر مقدار درصد نیتروژن محلول در pH= ۴/۶ در طول	

نگهداری ---------- ۷۵
جدول ۱۵-۴- تغییرات درصد نیتروژن محلول در تری کلرواستیک اسید در طول نگهداری پنیر ---------- ۷۵
جدول ۱۶-۴- تغییرات درصد اسیدهای آمینه تیروزین-تریپتوفان در طول نگهداری پنیر --- ۷۸
جدول ۱۷-۴- تاثیر پروبیوتیک‌ها بر میزان اسیدهای آمینه تیروزین- تریپتوفان پنیرها در طول رسیدن ---------- ۷۸
جدول ۱۸-۴- تغییرات درصد FFA در طول نگهداری پنیر ---------- ۷۹
جدول ۱۹-۴- خواص حسی پنیرهای تولیدی پس از ۶۰ روز نگهداری ---------- ۸۰
جدول ۲۰-۴- ترکیبات شیمیایی پنیرهای حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* در طول نگهداری -- ۸۱
جدول ۲۱-۴- تغییرات اسیدهای آمینه آروماتیک پنیرهای حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* در طول نگهداری ---------- ۸۲
جدول ۲۲-۴- خواص حسی پنیرهای حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* پس از ۶۰ روز نگهداری ۸۲
جدول ۱ ضمیمه- اثرات کپسوله کردن در قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها در شرایط معده‌ای-روده‌ای ---------- ۱۳۳
جدول ۲ ضمیمه- خلاصه‌ای از تکنیک‌های کپسوله کردن میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک -- ۱۳۴
جدول ۳ ضمیمه- پروبیوتیک‌های کپسوله شده به روش اکستروژن مورد استفاده در فراورده-های شیر ---------- ۱۳۵
جدول ۴ ضمیمه- پروبیوتیک‌های کپسوله شده به روش امولسیون مورد استفاده در فراورده-های شیر ---------- ۱۳۶
جدول ۵ ضمیمه - پروبیوتیک کپسوله شده به روش خشک کردن افشانی مورد استفاده در فراورده‌های شیر ---------- ۱۳۷
جدول ۶ ضمیمه- خلاصه تجزیه واریانس ترکیبات شیمیایی پنیرها ---------- ۱۳۹
جدول ۷ ضمیمه- خلاصه تجزیه واریانس اندیس‌های پروتئولیز و لیپولیز پنیرها -------- ۱۴۰
جدول ۸ ضمیمه- خلاصه تجزیه واریانس ترکیبات شیمیایی پنیرهای حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* ---------- ۱۴۱

فهرست شکل‌ها

عنوان شکل	صفحه
شکل ۱-۲- تشکیل لاکتات و استات از گلوکز توسط بیفیدوباکتریوم‌ها ----------	۷
شکل ۲-۲- شکل الکترونی اتصال *لاکتوباسیلوس‌ها* به سلول‌های اپتلیال روده‌ای --------	۹
شکل ۳-۲- نمودار فرایند کپسوله کردن پروبیوتیک‌ها به روش اکستروژن و امولسیون ----	۳۲
شکل ۱-۳- منحنی استاندارد تیروزین- تریپتوفان ----------	۶۰
شکل ۱-۴- تغییرات تعداد (A) *لاکتوباسیلوس کازئی*، (B) *لاکتوباسیلوس پلانتاریوم* و (C) *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در پنیر سفید ایرانی فراپالایش در طول ۶۰ روز نگهداری --------	۶۹
شکل ۲-۴- تاثیر پروبیوتیک‌ها بر درصد اجزای نیتروژن پنیر سفید ایرانی فراپالایش در طول ۶۰ روز نگهداری ----------	۷۶
شکل ۳-۴- الکتروفوروگرام ژل‌های اوره- پلی آکریل آمید پنیر سفید ایرانی فراپالایشی بعد از ۱، ۳۰ و ۶۰ روز نگهداری ----------	۷۷
شکل ۴-۴- تاثیر باکتری‌های پروبیوتیک بر درصد اسیدهای چرب آزاد در پنیر سفید ایرانی فراپالایش در طول ۶۰ روز نگهداری ----------	۷۹
شکل ۵-۴- تاثیر باکتری پروبیوتیک *ل. کازئی* بر درصد اجزای نیتروژن و تغییرات اسیدهای چرب آزاد در پنیر سفید ایرانی فراپالایش در طول ۶۰ روز نگهداری ----------	۸۳
شکل ۱ ضمیمه- فرم ارزیابی گروه تست پانل ----------	۱۳۸

ماندگاری باکتری‌های پروبیوتیک و تاثیر آنها بر خواص کیفی پنیر سفید ایرانی فراپالایش

چکیده

ماندگاری *لاکتوباسیلوس کازئی* (ATCC 39392)، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (ATCC 8014) و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* (ATCC 29521) به دو شکل آزاد و کپسوله در پنیر سفید ایرانی فراپالایش شده و تاثیر آنها بر خواص شیمیایی و ارگانولپتیکی نمونه‌ها در طول ۶۰ روز نگهداری در دمای ۱۰- ۸ درجه سانتی‌گراد بررسی گردید. تیمارها عبارت بود از: C1 (کنترل حاوی فقط استارتر تجارتی (*لاکتوکوکوس کرموریس و لاکتوکوکوس دی‌استیلاکتیس*)، C2 (کنترل حاوی فقط *لاکتوباسیلوس کازئی* بدون افزایش استارتر تجارتی)، LP، LPC، LC، LCC، BB و BBC به ترتیب حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به شکل آزاد، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به شکل کپسوله، *لاکتوباسیلوس کازئی* به شکل آزاد، *لاکتوباسیلوس کازئی* به شکل کپسوله، *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به شکل آزاد و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به شکل کپسوله و در حضور استارتر تجارتی بودند. نتایج به دست آمده نشان داد که تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در طول نگهداری پنیرها کاهش یافت. میزان کاهش در نمونه‌های C2 بیشترین مقدار بود (در حدود ۲ سیکل لگاریتمی). کاهش تعداد باکتری‌های *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به شکل آزاد در نمونه‌های پنیر به ترتیب ۱/۵، ۱ و ۰/۵ سیکل لگاریتمی بود در مقابل کاهش تعداد *لاکتوباسیلوس کازئی* به شکل کپسوله حدود ۰/۵ سیکل لگاریتمی بود. اما تعداد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به شکل کپسوله به مقدار جزئی افزایش و تعداد *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به شکل کپسوله تقریبا در طول نگهداری ثابت ماند. گرچه هر دو شکل کپسوله و آزاد پروبیوتیک‌ها در حفظ تعداد پروبیوتیک-های زنده مانده در پنیر بالاتر از حداقل میزان توصیه شده برای خواص درمانی بود اما شکل کپسوله در حفظ تعداد پروبیوتیک‌ها بیشتر از نوع آزاد آنها موثر بود. لذا در پنیر سفید ایرانی فراپالایش نیازی به افزودن پروبیوتیک های کپسوله شده نیست. در طول رسیدن پنیر در تمام نمونه‌ها درصد رطوبت، چربی در ماده خشک و pH بطور معنی‌داری کاهش و درصد نمک و پروتئین افزایش نشان داد ($P<0.01$). همچنین درصد مقدار رطوبت، میزان نمک، پروتئین و چربی در ماده خشک نمونه‌های پنیر پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری با نمونه کنترل نداشت. اما در بین پنیرهای پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری در مقدار رطوبت، پروتئین و چربی در ماده خشک مشاهده شد. مقدار رطوبت در پنیرهای حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به هر دو شکل آزاد و کپسوله بیشترین مقدار بود. باکتری‌های شکل آزاد در طول نگهداری بطور معنی‌داری موجب کاهش pH نسبت به شکل کپسوله شدند. باکتری‌های *لاکتوباسیلوس کازئی* و

بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در کاهش pH بیشتر از *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* موثر بودند. در طول زمان نگهداری میزان نیتروژن محلول در pH=۴/۶ (SN-pH 4.6)، نیتروژن محلول در تری کلرو استیک اسید (TCA-SN)، درصد اسیدهای آمینه تیروزین و تریپتوفان به عنوان اندیس رسیدن پنیر و درصد اسیدهای چرب آزاد (FFA) به عنوان اندیس لیپولیز افزایش نشان داد. *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بیش از *لاکتوباسیلوس کازئی* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در پروتئولیز اولیه موثر بود. نتایج الکتروفوروگرام حاکی است که میزان پروتئولیز اولیه در تمام پنیرها مشابه بود. مقدار اسیدهای آمینه آروماتیک در پنیرهای حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس کازئی*، از پنیر کنترل بطور غیرمعنی داری بالاتر بود. همچنین در نمونه‌های پنیر حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* مقدار FFA به طور معنی‌داری بیشترین مقدار بود. نتایج ارزیابی حسی نیز نشان داد که پنیرهای پروبیوتیک از نظر طعم تفاوت معنی‌داری با نمونه کنترل نداشتند (*P>0.05*). اما پنیرهای پروبیوتیک از نظر طعم با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند، بطوریکه نمونه‌های LC نسبت به LP و BB بیشترین امتیاز طعم را کسب کرد. شکل کپسوله نیز نسبت به شکل آزاد دارای امتیاز طعم بالاتری بودند. *لاکتوباسیلوس کازئی* در عدم حضور استارتر تجارتی نیز توانسته است بر مقدار SN-pH 4.6 پنیر موثر باشد. مقدار FFA در نمونه‌های پنیر حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* بدون استارتر مشابه پنیر کنترل حاوی استارتر تجارتی است، لذا به نظر می‌رسد که *لاکتوباسیلوس کازئی* نیز در لیپولیز موثر باشد. همچنین نمونه C2 بطور غیرمعنی‌داری نسبت به C1 (کنترل) بیشترین امتیاز طعم و بافت را به خود اختصاص داد. در نتیجه می‌توان باکتری مزبور را به تنهایی به عنوان استارتر در پنیر سفید ایرانی فراپالایشی مورد استفاده قرار داد.

کلمات کلیدی: پروبیوتیک، پنیر سفید ایرانی فراپالایش، *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*، *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس پلانتاریوم*، قابلیت زیستی، کپسوله کردن، پروتئولیز، الکتروفورز و لیپولیز.

فصل اول

مقدمه

Introduction

مقدمه

افزایش تقاضا برای مصرف غذاهای سلامت بخش موجب نوآوری و توسعه محصولات جدید در صنعت غذایی در سراسر دنیا شده است (Saarela et al., 2002). چنین خصوصیاتی را در گروه جدیدی از غذاها، تحت عنوان غذاهای عملگرا می‌توان پیدا کرد که حاوی محصولات پروبیوتیکی هستند. بر اساس تعریف FAO، باکتری‌های پروبیوتیک عبارت از میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که پس از مصرف، در روده ساکن شده و از طریق بهبود میکروفلور طبیعی روده، اثرات مفیدی در سلامتی انسان بر جای می‌گذارند (Ross et al., 2002, Boylston et al., 2004). در این خصوص تعداد باکتری‌های پروبیوتیک زنده مانده در ماده غذایی باید حداقل $۱۰^{۷}$ -$۱۰^{۶}$کلنی در گرم یا در میلی‌لیتر باشد تا در تامین سلامتی مفید واقع شود (Kurman & Rasic, 1991; Blanchet.te et al., 1996; De Vuyst, 2000).

در حال حاضر اغلب فراورده‌های پروبیوتیک موجود در بازار را فراورده‌های شیر پروبیوتیک یا دست کم با پایه شیر تشکیل می‌دهد. علت آن را به خواص حسی مطلوب این فراورده‌ها و نیز نگرش اجتماعی و تاریخی نسبت به خواص سلامت بخشی و نیز تاثیر آنها بر افزایش سلامت عمومی و طول عمر نسبت می‌دهند. از طرفی فراورده‌های تخمیری شیر دارای میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که این موضوع نیز ایجاد کننده، دیدگاه عمومی مثبت در مورد آنها است. هم اکنون انواع بسیار گوناگون فراورده‌های شیر پروبیوتیک در بازارهای اروپایی، امریکایی و آسیایی عرضه و مصرف می شود که شامل ماست، نوشیدنی ماست، کفیر، پنیرهای نرم، نیمه سفت و سفت، بستنی و دسرهای منجمد تخمیری و پودرهای شیر خشک تهیه شده به روش افشانی است (Desmond et al., 2005; Stanton et al., 2005 & 2003). در این بین پنیر پتانسیل بسیار خوبی به عنوان غذاهای حامل پروبیوتیک دارد و یکی از گزینه‌های با ارزشی در صنایع شیر محسوب می‌گردد (Hammes & Hertel, 2002).

امروزه مقبولیت و مصرف فراورده‌های پروبیوتیک در کشورهای جهان بویژه اروپا، امریکا و ژاپن رواج چشمگیر یافته است، بطوریکه بیش از ۹۰ فراورده پروبیوتیک در سرتاسر جهان تولید می‌شود. در کشورهای اروپایی همچون فرانسه، آلمان و سوئد فراورده‌های تخمیری پروبیوتیک حدود ۲۵ درصد از

کل فراورده‌های تخمیری را شامل می‌شوند. بیش از ٤٥ کارخانه شیر در اروپا فقط به تولید فراورده‌های پروبیوتیک می‌پردازند.

بررسی‌های انجام شده در خصوص محصولات پروبیوتیک نشان می‌دهد اگر چه در تعدادی از فراورده-های شیر از جمله ماست، بستنی و انواع پنیر تحقیقات زیادی انجام گرفته است اما تاکنون در مورد کربرد سویه‌های پروبیوتیک در پنیر سفید ایرانی فراپالایش هیچ تحقیقی صورت نگرفته است. بنابراین بررسی تاثیر باکتری‌های پروبیوتیک در خواص فیزیکوشیمیایی و خواص حسی پنیر سفید ایرانی تولید شده به روش اولترافیلتراسیون (فراپالایش) و نیز بقای این ارگانیسم در پنیر مزبور ضروری به نظر می‌آید. اهداف این تحقیق، بررسی تولید پنیر UF[1] پروبیوتیکی، بررسی ماندگاری باکتری‌های پروبیوتیک در طول رسیدن پنیر و بررسی تاثیر این پروبیوتیک‌ها بر ترکیبات شیمیایی، پروتئولیز، لیپولیز و خواص حسی پنیر فوق می‌باشد.

[1] Ultrafiltration

فصل دوم

کلیات

Review of Literature

۱-۲-پروبیوتیک‌ها

۱-۱-۲- تاریخچه

بر اساس بررسی‌های انجام شده لیلی و استیل ول (Lilly & Stillwell, 1965) شاید برای اولین بار از کلمه پروبیوتیک برای توضیح مواد ترشح شده از یک میکروارگانیسم که موجب تحریک رشد سایر میکروارگانیسم‌ها می‌شد استفاده کردند. در سال ۱۹۷۱ اسپیرتی از پروبیوتیک برای توضیح مواد ترشحی از بافت‌ها استفاده کرد که موجب تحریک رشد سلولی می‌شد. در سال ۱۹۷٤ پارکر پروبیوتیک‌ها را مکمل‌های غذایی حیوانات نامید که در تعادل میکروبی روده‌ای شرکت دارند (Mullan, 2002). در نهایت فولر (Fuller, 1989) پروبیوتیک‌ها را مکمل غذایی حاوی میکروب‌های زنده‌ای تعریف کرد که از طریق حفظ یا بهبود تعادل میکروبی روده، اثرات سلامت بخشی مفیدی بر مصرف کننده دارند.

۲-۱-۲- باکتری‌های پروبیوتیک

دستگاه گوارش انسان بطور طبیعی اکوسیستم مرکبی از بیش از ٤۰۰ نوع باکتری است که بعضی از آنها مفید و بعضی مضرند (جدول ۱-۲). *بیفیدوباکتریوم‌ها* و *لاکتوباسیلوس‌ها* از مهمترین باکتری‌های مفیدی هستند که فلور طبیعی دستگاه گوارش انسان را تشکیل می‌دهند (Cataloluk & Gogebakan, 2004) و از مهمترین باکتری‌های پروبیوتیک هستند (Sanders, 2000; Sullivan & Nord, 2002; Borriello et al., 2003; Saito et al., 2004).

لاکتوباسیلوس‌ها گروه بزرگی از باکتری‌های هتروژن هستند. این باکتری‌ها گرم مثبت، میله‌ای شکل، بدون اسپور، کاتالاز منفی، بدون سیتوکروم، بدون حرکت و غیرهوازی هستند اما به هوا و اسید مقاومند. اغلب میکروآئروفیل اند ولی تحت شرایط غیرهوازی بهتر رشد می‌کنند (Anal & Singh, 2007). بشدت تخمیر کننده‌اند و به دو صورت تخمیر کننده همگون[1] (بطور بارز تولید اسید لاکتیک) و ناهمگون[2] (تولید کننده کربن دی‌اکسید، اتانل و یا اسید استیک و اسید لاکتیک) وجود دارند. دمای رشد اپتیمم آنها معمولا در محدوده مزوفیل‌ها بوده و در حدود ۳۰-٤۰ درجه سانتی‌گراد است. اما بعضی سویه‌ها در دمای زیر ۱۵ درجه سانتی‌گراد و بعضی‌ها در دمای بالاتر از ۵۵ درجه سانتی‌گراد قادر به رشد هستند. *لاکتوباسیلوس‌ها* اسیدوفیل‌اند و pH اپتیمم آنها بین ۵/۵-٦/۲ است (Hammes & Vogel, 1995). این

[1] Homofermentative

[2] Heterofermentative

باکتری‌ها بطور سنتی در انواع مختلف غذاها بکار برده می‌شود (Holzapfel et al., 2001). نظر به اینکه این باکتری‌ها در بهبود طعم و بافت محصولات تخمیری موثرند، از این رو اکثرا این باکتری‌ها به عنوان استارتر در صنایع تخمیری بکار برده می‌شود. در اثر تخمیر قندها، اسید لاکتیک، پپتیدهای آنتی‌میکربی، اگزوپلی ساکاریدها و متابولیک‌های مختلف حاصل می‌شود (Ross et al., 2002; Tamime, 2002).

جدول ۱-۲- فلور میکربی دستگاه گوارش و گلوی انسان

	تعداد میکروارگانیسم‌ها (کلنی/میلی لیتر یا گرم)				
میکروارگانیسم‌ها	گلو	معده	ژژونوم	الئوم	کلون
شمارش کلی	10^{8}-10^{10}	10^{0}-10^{4}	10^{0}-10^{5}	10^{4}-10^{8}	10^{10}-10^{12}
میکروارگانیسم‌های هوازی					
استرپتوکوکوس	10^{6}-10^{8}	10^{0}-10^{3}	10^{0}-10^{4}	10^{2}-10^{4}	10^{3}-10^{5}
انتروکوکوس	بندرت	بندرت	10^{0}-10^{2}	10^{2}-10^{4}	10^{3}-10^{5}
استافیلوکوکوس	10^{0}-10^{2}	10^{0}-10^{2}	10^{0}-10^{3}	10^{2}-10^{5}	10^{4}-10^{6}
انتروباکتریا	بندرت	10^{0}-10^{2}	10^{0}-10^{3}	10^{2}-10^{7}	10^{4}-10^{10}
مخمرها	10^{0}-10^{3}	10^{0}-10^{2}	10^{0}-10^{2}	10^{2}-10^{4}	10^{2}-10^{5}
میکروارگانیسم‌های بی هوازی					
پپتواسترپتوکوکوس	10^{4}-10^{6}	10^{0}-10^{3}	10^{0}-10^{3}	10^{2}-10^{6}	10^{10}-10^{12}
بیفیدوباکتریوم	10^{0}-10^{2}	10^{0}-10^{2}	10^{0}-10^{4}	10^{3}-10^{9}	10^{8}-10^{11}
لاکتوباسیلوس	10^{0}-10^{3}	10^{0}-10^{3}	10^{0}-10^{4}	10^{2}-10^{5}	10^{6}-10^{8}
کلستریدیوم	بندرت	بندرت	بندرت	10^{2}-10^{4}	10^{9}-10^{12}
باکتروئودیس	بندرت	بندرت	10^{0}-10^{3}	10^{3}-10^{7}	10^{10}-10^{12}

خواص مرفولوژی آنها نه تنها به نوع سویه و گونه وابسته است بلکه به فاکتورهایی همچون سن کشت و محیط رشد نیز بستگی دارد اما همانند *بیفیدوباکتریوم ها* متنوع نیستند (Kandler & Weiss, 1989). *لاکتوباسیلوس‌ها* از نظر تغذیه‌ای بسیار پرتوقع هستند و برای رشد به محیط‌های کمپلکس نیاز دارد (Hammes & Vogel, 1995).