



دانشکده کشاورزی

پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد در رشته علوم و صنایع غذایی (تکنولوژی مواد غذایی)

**تولید و ارزیابی برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی بستنی
کم چرب سین بیوتیک، با استفاده از اسپورهای باسیلوس
کواگولانس و اینولین**

به کوشش

مهدی اکبری

استادان راهنما:

دکتر محمد هادی اسکندری

دکتر مهرداد نیاکوثری

بهمن ماه ۱۳۹۲

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

به نام خدا

اظہار نامہ

اینجانب مهدی اکبری دانشجوی رشته‌ی صنایع غذایی گرایش تکنولوژی مواد غذایی دانشکده کشاورزی اظہار می‌کنم که این پایان نامه حاصل پژوهش خودم بوده و در جاهایی که از منابع دیگران استفاده کرده‌ام، نشانی دقیق و مشخصات آن را نوشته‌ام. همچنین اظہار می‌کنم که تحقیق و موضوع پایان نامه‌ام تکراری نیست و تعهد می‌نمایم که بدون مجوز دانشگاه دستاوردهای آن را منتشر ننموده و یا در اختیار غیر قرار ندهم. کلیه حقوق این اثر مطابق آیین نامه مالکیت فکری و معنوی متعلق به دانشگاه شیراز است.

نام و نام خانوادگی: مهدی اکبری

تاریخ و امضاء:

به نام خدا

تولید و ارزیابی برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی بستنی کم چرب سین بیوتیک، با
استفاده از اسپورهای باسیلوس کواگولانس و اینولین

به کوشش

مهدی اکبری

پایان نامه

ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه شیراز به عنوان بخشی از فعالیت های تحصیلی لازم
برای اخذ درجه کارشناسی ارشد

در رشته:

علوم و صنایع غذایی - گرایش تکنولوژی مواد غذایی

دانشگاه شیراز

شیراز

جمهوری اسلامی ایران

ارزیابی کمیته پایان نامه، با درجه: **عالی**

دکتر محمد هادی اسکندری، دانشیار بخش علوم و صنایع غذایی دانشگاه شیراز (استاد راهنما)
دکتر مهرداد نیاکوثری، دانشیار بخش علوم و صنایع غذایی دانشگاه شیراز (استاد راهنما)
دکتر علیرضا بدل توانا، استاد مشاور (مشاور صنعتی)
دکتر محمد تقی گلمکانی، استادیار بخش علوم و صنایع غذایی دانشگاه شیراز (داور متخصص داخلی).....

بهمن ماه ۹۲

تقدیم بہ

پدر و مادر عزیزم

بہ پاس مہربانی بی انتہایشان...

و ہمسر نازنینم

بہ پاس عشق بی کرانش...

سپاسگزاری

خداوندا!

برای همسایه‌ای که نان مرا ربود نان، برای دوستی که قلب مرا شکست مهربانی، برای آنکه روح مرا آزرده بخشایش و برای خویشتن خویش آگاهی و عشق می‌طلبیم.

در پایان این پژوهش، از استاد با کمالات و شایسته جناب آقای دکتر اسکندری که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند سپاسگزارم. از جناب آقای دکتر نیاکوثری که در طول مدت انجام این پروژه از راهنمایی‌های ارزشمندشان بهره‌مند شدم سپاسگزاری می‌نمایم. از استاد مشاور گرانقدر جناب آقای دکتر بدل توانا که افتخار بهره‌مندی از محضرشان را داشتم بسیار قدردانی می‌نمایم و در نهایت از جناب آقای دکتر گلمکانی که زحمت بازخوانی و داوری این پایان‌نامه را به عهده گرفتند سپاسگزارم.

چکیده

تولید و ارزیابی برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی بستنی کم چرب سین بیوتیک، با استفاده از اسپورهای باسیلوس کواگولانس و اینولین

به کوشش

مهدی اکبری

امروزه غذاهای فراسودمند جایگاه ویژه‌ای در تغذیه افراد جامعه دارند. بستنی نیز یک محصول غذایی منحصر به فرد است که محبوبیت زیادی در سراسر جهان دارد. در نتیجه پژوهشگران، تحقیقات زیادی جهت تبدیل این ماده غذایی، به محصولی فراسودمند از طریق افزودن باکتری‌های پروبیوتیک، کاهش چربی و در نتیجه کاهش کالری این محصول کرده‌اند. یکی از مشکلات عمده در تولید بستنی حاوی باکتری‌های پروبیوتیک، از بین رفتن این باکتری‌ها در طی فرایند تولید و نگه داری بستنی می باشد. حذف چربی از بستنی نیز مشکلات بسیاری در بافت و عطر و طعم بستنی به وجود می‌آورد. هدف از این مطالعه، تولید بستنی کم چرب سین بیوتیک با استفاده از اسپورهای باسیلوس کواگولانس و اینولین بود. به منظور مشاهده و بررسی خواص فیزیکوشیمیایی و حسی بستنی‌های کم چرب پری بیوتیک، ۵ فرمولاسیون بستنی تولید گردید. در تیمار اول و دوم، بستنی‌های حاوی ۱۰ و ۲٪ چربی تولید شد و در تیمارهای بعدی نیز اینولین در سطوح ۲، ۳ و ۴٪ به عنوان جایگزین چربی به بستنی حاوی ۲٪ چربی افزوده شد. بستنی سین بیوتیک نیز با استفاده از افزودن توده سلولی اسپور به بستنی کم چرب پری بیوتیک تولید شد. میزان چربی، مواد جامد کل، pH و اسیدیته میکس بستنی‌ها اندازه‌گیری و خواص ذوبی، رنگ و بافت نمونه‌های بستنی بررسی شد. ارزیابی میکروبی بستنی‌های سین بیوتیک تولید شده نیز در بازه‌های زمانی ۰، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ روز انجام شد. طی نتایج به دست آمده از این مطالعه، در pH و اسیدیته بستنی‌های کم چرب، اختلاف معنی‌داری با بستنی شاهد مشاهده نشد. کاهش چربی و افزوده شدن اینولین سبب افزایش دانسیته بستنی‌های کم چرب نسبت به بستنی شاهد شد. قرمزی رنگ نمونه‌های بستنی با کاهش چربی و افزوده شدن اینولین تغییری نکرد در حالیکه کاهش چربی سبب کاهش زردی رنگ بستنی‌های کم چرب شد. افزودن اینولین به بستنی سبب شد مقاومت به ذوب بستنی‌های کم چرب حاوی اینولین، به طور معنی‌داری نسبت به بستنی شاهد کاهش یابد. کاهش چربی و

افزوده شدن اینولین سبب افزایش سفتی و چسبندگی نمونه‌های بستنی نسبت به نمونه شاهد شد. طی نتایجی که از بررسی اثر شرایط فرایند تولید و نگهداری بستنی روی بقاء اسپوره‌های باسیلوس کواگولانس به دست آمد، انجماد اولیه (لحظه تبدیل میکس به بستنی) به طور معنی‌داری سبب کاهش تعداد اسپورها گردید البته این کاهش کمتر از یک سیکل لگاریتمی بود. نگهداری بستنی طی ۲ ماه در دمای -18°C اثر معنی‌داری در کاهش میزان اسپورها نداشت. کاهش چربی و افزوده شدن اینولین نیز اثر معنی‌داری در کاهش تعداد اسپورها در بستنی ایجاد نکرد.

فهرست مطالب

۲	۱- مقدمه
۲	۱-۱- پیشگفتار
۳	۲-۱- پروبیوتیک‌ها
۳	۱-۲-۱- تعریف پروبیوتیک
۴	۲-۲-۱- اکولوژی دستگاه گوارش
۴	۳-۲-۱- معیارهای اساسی در گزینش پروبیوتیک‌ها
۶	۴-۲-۱- اثرات درمانی و پیشگیری کننده پروبیوتیک‌ها
۷	۵-۲-۱- مهمترین جنس‌ها و گونه‌های پروبیوتیک
۸	۶-۲-۱- باسیلوس کواگولانس
۱۱	۳-۱- پری‌بیوتیک‌ها
۱۱	۱-۳-۱- تعریف پری‌بیوتیک
۱۲	۲-۳-۱- اینولین در نقش پری‌بیوتیک
۱۴	۴-۱- سین‌بیوتیک
۱۵	۵-۱- بستنی
۱۵	۱-۵-۱- فرایند تولید بستنی
۱۶	۱-۱-۵-۱- مخلوط کردن مواد اولیه
۱۶	۲-۱-۵-۱- هموژنیزاسیون
۱۸	۳-۱-۵-۱- پاستوریزاسیون
۱۸	۴-۱-۵-۱- رسیدن
۱۹	۵-۱-۵-۱- انجماد

- ۲۰ ۱-۵-۱-۶- سخت شدن
- ۲۱ ۱-۵-۲- بستنی کم چرب
- ۲۱ ۱-۲-۵-۱- چربی بستنی
- ۲۲ ۱-۲-۵-۲- اینولین در نقش جایگزین چربی
- ۲۳ ۱-۵-۳- بستنی پروبیوتیک
- ۲۴ ۱-۶- اهداف پژوهش

۲- مروری بر تحقیقات پیشین ۲۷

- ۲۷ ۱-۲- بستنی کم چرب
- ۳۳ ۲-۲- بستنی پروبیوتیک

۳- مواد و روش کار ۳۶

- ۳۶ ۱-۳- مواد و وسایل مورد استفاده
- ۳۶ ۱-۱-۳- مواد مورد استفاده
- ۳۷ ۲-۱-۳- وسایل مورد استفاده
- ۳۷ ۲-۳- روش ها
- ۳۷ ۱-۲-۳- تهیه مایه تلقیح
- ۳۸ ۲-۲-۳- تولید اسپور و توده سلولی باسیلوس کواگولانس
- ۳۸ ۳-۲-۳- تولید بستنی
- ۴۱ ۳-۳- آزمایش های محصول
- ۴۱ ۱-۳-۳- پارامترهای شیمیایی
- ۴۱ ۱-۱-۳-۳- اندازه گیری چربی
- ۴۲ ۲-۱-۳-۳- اندازه گیری مواد جامد کل

- ۴۳ اندازه گیری مواد جامد بدون چربی شیر ۳-۱-۳-۳
- ۴۳ pH اندازه گیری ۴-۱-۳-۳
- ۴۴ اندازه گیری اسیدیته ۵-۱-۳-۳
- ۴۴ آزمون های فیزیکی ۲-۳-۳
- ۴۴ اندازه گیری ثقل مخصوص میکس بستنی ۱-۲-۳-۳
- ۴۴ رنگ سنجی ۲-۲-۳-۳
- ۴۵ بررسی رفتار ذوبی ۳-۲-۳-۳
- ۴۵ سنجش پارامترهای رئولوژیکی بستنی ۴-۲-۳-۳
- ۴۶ آنالیز میکروبی ۳-۳-۳
- ۴۶ شمارش اسپور ۱-۳-۳-۳
- ۴۶ ارزیابی حسی ۴-۳-۳
- ۴۷ بررسی آماری ۵-۳-۳

۴۹ -۴ نتایج و بحث

- ۴۹ آزمون های شیمیایی ۱-۴-۳
- ۵۱ آزمون های فیزیکی ۲-۴-۳
- ۵۱ دانسیته (وزن مخصوص) ۱-۲-۴-۳
- ۵۲ رنگ سنجی ۲-۲-۴-۳
- ۵۴ رفتار ذوبی ۳-۲-۴-۳
- ۵۸ ویژگی های بافتی ۴-۲-۴-۳
- ۵۸ سفتی و شکنندگی ۱-۴-۲-۴-۳
- ۵۹ چسبندگی ۲-۴-۲-۴-۳
- ۶۲ آنالیز میکروبی ۳-۴-۳

۴-۳-۱- شمارش اسپورهای باسیلوس کواگولانس ۶۲

۴-۴- ارزیابی حسی ۶۹

۷۲ نتیجه‌گیری کلی

۷۴ پیشنهادات

۷۵ فهرست منابع

۸۲ پیوست

فهرست جدول ها

- جدول ۱-۱: نوع و تعداد باکتری های موجود در بخش های مختلف دستگاه گوارش ۴
- جدول ۲-۱: ویژگی های اصلی باسیلوس کواگولانس نسبت به جنس های باسیلوس و لاکتوباسیلوس ۹
- جدول ۳-۱: انواع پری بیوتیک و ویژگی های آن ها ۱۲
- جدول ۴-۱: میزان انرژی زایی برخی ترکیبات به کار رفته در فرمولاسیون های بستنی ۲۳
- جدول ۱-۲: فرمولاسیون های میکس بستنی های شاهد و حاوی جایگزین های چربی ۲۹
- جدول ۲-۲: فرمولاسیون های میکس بستنی های شاهد و حاوی جایگزین های چربی بر پایه آب پنیر ۳۰
- جدول ۱-۳: ترکیبات تشکیل دهنده محیط کشت NYSM ۳۶
- جدول ۲-۳: نسبت ترکیبات به کار رفته در فرمولاسیون بستنی های کم چرب پری بیوتیک ... ۳۹
- جدول ۱-۴: نتایج به دست آمده از آزمون های شیمیایی صورت گرفته روی نمونه های بستنی ۴۹
- جدول ۲-۴: نتایج به دست آمده از اندازه گیری pH و اسیدیته نمونه های بستنی ۵۰
- جدول ۳-۴: اسیدیته و pH تقریبی میکس بستنی با درصدهای متفاوت MSNF ۵۱
- جدول ۴-۴: نتایج به دست آمده از اندازه گیری دانسیته نمونه های بستنی ۵۲
- جدول ۵-۴: تأثیر کاهش چربی و افزودن اینولین بر رنگ نمونه های بستنی ۵۳
- جدول ۶-۴: درصد وزنی بستنی ذوب شده در نمونه های بستنی طی زمان های مختلف ۵۶
- جدول ۷-۴: میانگین شیب های مربوط به منحنی ذوب نمونه های بستنی ۵۶
- جدول ۸-۴: امتیاز مربوط به ویژگی های حسی نمونه های بستنی ۷۱

فهرست شکل ها

- شکل ۱-۱: درصد زنده‌مانی باکتری باسیلوس کواگولانس در pH های مختلف ۷
- شکل ۱-۲: مراحل تبدیل سلول رویشی به اسپور و جوانه زنی اسپور باکتری‌ها ۱۰
- شکل ۱-۳: ساختار شیمیایی اینولین، فروکتوز و سوکروز ۱۳
- شکل ۱-۴: فرایند تولید بستنی ۲۰
- شکل ۱-۴: ۱) بستنی شاهد (۱۰٪ چربی)، ۲) بستنی کم‌چرب بدون اینولین، ۳) بستنی کم‌چرب حاوی ۲٪ اینولین، ۴) بستنی کم‌چرب حاوی ۳٪ اینولین، ۵) بستنی کم‌چرب حاوی ۴٪ اینولین ۵۳
- شکل ۲-۴: ۱) بستنی شاهد (۱۰٪ چربی)، ۲) بستنی کم‌چرب بدون اینولین، ۳) بستنی کم‌چرب حاوی ۲٪ اینولین، ۴) بستنی کم‌چرب حاوی ۳٪ اینولین، ۵) بستنی کم‌چرب حاوی ۴٪ اینولین ۵۷
- شکل ۳-۴: ۱) بستنی شاهد (۱۰٪ چربی)، ۲) بستنی کم‌چرب بدون اینولین، ۳) بستنی کم‌چرب حاوی ۲٪ اینولین، ۴) بستنی کم‌چرب حاوی ۳٪ اینولین، ۵) بستنی کم‌چرب حاوی ۴٪ اینولین ۵۷
- شکل ۴-۴: سفتی و شکنندگی نمونه‌های بستنی (حداکثر نیروی وارد شده به بستنی ۴۵۰۰ گرم) ۵۹
- شکل ۴-۵: چسبندگی نمونه‌های بستنی ۶۰
- شکل ۴-۶: نمودار به دست آمده از دستگاه بافت سنج جهت بستنی شاهد (۱۰٪ چربی) ۶۰
- شکل ۴-۷: نمودار به دست آمده از دستگاه بافت سنج جهت بستنی کم‌چرب بدون اینولین (۲٪ چربی) ۶۱

شکل ۴-۸: نمودار به دست آمده از دستگاه بافت سنج جهت بستنی کم چرب حاوی ۲٪ اینولین

۶۱

شکل ۴-۹: نمودار به دست آمده از دستگاه بافت سنج جهت بستنی کم چرب حاوی ۳٪ اینولین

۶۱

شکل ۴-۱۰: نمودار به دست آمده از دستگاه بافت سنج جهت بستنی کم چرب حاوی ۴٪

اینولین ۶۲

شکل ۴-۱۱: تعداد اسپوره‌های باسیلوس کواگولانس در طی نگهداری ۲ ماهه بستنی شاهد در

دمای ۱۸°C- ۶۶

شکل ۴-۱۲: تعداد اسپوره‌های باسیلوس کواگولانس در طی نگهداری ۲ ماهه بستنی کم چرب

بدون اینولین در دمای ۱۸°C- ۶۷

شکل ۴-۱۳: تعداد اسپوره‌های باسیلوس کواگولانس در طی نگهداری ۲ ماهه بستنی کم چرب

حاوی ۲٪ اینولین در دمای ۱۸°C- ۶۷

شکل ۴-۱۴: تعداد اسپوره‌های باسیلوس کواگولانس در طی نگهداری ۲ ماهه بستنی کم چرب

حاوی ۳٪ اینولین در دمای ۱۸°C- ۶۸

شکل ۴-۱۵: تعداد اسپوره‌های باسیلوس کواگولانس در طی نگهداری ۲ ماهه بستنی کم چرب

حاوی ۴٪ اینولین در دمای ۱۸°C- ۶۸

فصل اول

۱- مقدمه

۱-۱- پیشگفتار

غذا نقش مهمی در سلامت انسان دارد. در چندین مطالعه گزارش شده است که غذا می‌تواند سبب پیشگیری از انواع بیماری‌ها شود. در نتیجه در سال‌های اخیر توجه ویژه‌ای به غذاهای فراسودمند^۱ شده است. هدف اصلی غذاهای فراسودمند رساندن میکروارگانیسم‌ها یا ترکیبات مفیدی به بدن از طریق دریافت رژیم غذایی روزانه می‌باشد (Di Criscio et al., 2010).

از سوی دیگر، در سال‌های اخیر علاقه به مصرف محصولاتی با میزان چربی پایین نیز در بین مصرف‌کنندگان افزایش یافته است، زیرا اینگونه محصولات خطر چاقی و بیماری‌های انسداد شرایین قلبی را کاهش می‌دهند (Akalin et al., 2008).

از آنجا که هدف در تحقیق انجام شده، تبدیل بستنی به غذایی فراسودمند از طریق افزودن اسپوره‌های باکتری پروبیوتیک باسیلوس کواگولانس^۲ و ترکیب پری‌بیوتیک اینولین به بستنی بود، لذا در ادامه توضیحاتی اجمالی در مورد پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها و همچنین بستنی آورده شده است.

¹ Functional Food

² *Bacillus coagulans*

۱-۲- پروبیوتیک‌ها

۱-۲-۱- تعریف پروبیوتیک

کلمه پروبیوتیک از واژه یونانی پروبیوس به معنای حیات‌بخش گرفته شده و متضاد کلمه پادزیست به مفهوم ضد حیات است. علاقه انسان به استفاده از پروبیوتیک‌ها برای حصول سلامتی به سال ۱۹۰۸ برمی‌گردد، زمانی که الی مچنیکف^۱ روسی اظهار کرد که بشر باید از شیر تخمیر شده با لاکتوباسیلوس برای طولانی شدن عمر استفاده کند (Tamime, 2005). بر اساس فرضیه مچنیکف، باکتری لاکتوباسیلوس با استقرار در روده و تولید ترکیبات ضد میکروبی مثل اسیدلاکتیک موجب از بین رفتن باکتری‌های عفونت‌زا می‌گردد و از این طریق طول عمر را افزایش می‌دهد (مرتضویان و سهراب‌وندی، ۱۳۸۵). مدارک روزافزونی در دست است که نشان می‌دهد مصرف مواد غذایی حاوی میکروارگانیسم‌های مفید که از آن‌ها تحت عنوان پروبیوتیک یاد می‌شود، کمک شایانی به بقاء و نگهداری میکروب‌های بومی روده و توازن میکروبی آن کرده و در نتیجه منافع بسیار زیادی را برای سلامتی انسان به همراه دارد (خسروی دارانی و کوشکی، ۱۳۸۷).

در سال‌های اخیر باکتری‌های پروبیوتیک به عنوان افزودنی‌های رژیم غذایی در بسیاری از غذاها به کار رفته‌اند، که در این میان فراورده‌های شیری مثل بستنی نقش مهمی را برای حمل این باکتری‌ها ایفا می‌کنند. امروزه افزایش فوق‌العاده‌ای در تعداد گونه‌های میکروبی موجود در محصولات لبنی پروبیوتیک (به عنوان مثال شیر پاستوریزه، بستنی، شیرهای تخمیر شده، پنیرها و شیر خشک نوزاد) وجود دارد. برای ارائه فواید مفید باکتری‌های پروبیوتیک، ضروری است محصولاتی که با ادعای داشتن فواید سلامتی فروخته می‌شوند دارای حداقل دوز درمانی $10^8 - 10^9$ کلونی در هر میلی‌لیتر (CFU/ml) باشند (Shah, 2000).

طبق تعریف، پروبیوتیک عبارت است از مکملی میکروبی که از طریق متعادل سازی میکروب‌های بومی طبیعی روده، اثرات مفید بر بدن میزبان اعمال می‌کند (Charteris et al., 1997). تعریف پروبیوتیک به عنوان یک مکمل غذایی میکروبی که با بهبود تعادل میکروبی

¹ Eli Metchnikoff

روده اثرات مفیدی بر سلامت میزبان دارد، بر اهمیت سلولهای زنده به عنوان بخشی از یک پروبیوتیک مؤثر تکیه داشته و آنتی بیوتیکها را از آنها مجزا می‌سازد (Saxelin et al., 1998).

۱-۲-۲- اکولوژی دستگاه گوارش

دستگاه گوارش انسان دارای یک اکوسیستم میکروبی پیچیده است که عمدتاً با توجه به میزان اکسیژن در دسترس، در بخش‌های مختلف دارای فلور میکروبی متنوعی است. جدول ۱-۱، نوع و تعداد باکتری‌های موجود در بخش‌های مختلف دستگاه گوارش را نشان می‌دهد.

جدول ۱-۱: نوع و تعداد باکتری‌های موجود در بخش‌های مختلف دستگاه گوارش

دستگاه گوارش	درصد اکسیژن	نوع باکتری	تعداد باکتری CFU/ml
دهان-معهده	۲۱-۲۳	هوازی	10^3
روده کوچک	۲-۱۸	میکروآئروفیل	$10^4 - 10^7$
روده بزرگ	۰/۱-۱/۲	بی‌هوازی	$10^{10} - 10^{12}$

بیش از ۴۰۰ گونه باکتری در دستگاه گوارش انسان وجود دارد که اغلب آنها باکتری‌های مفید و سلامتی بخش بوده و بعضی از آنها نیز مضر هستند و ایجاد ناراحتی‌هایی از قبیل نفخ، یبوست و اسهال می‌کنند. مصرف باکتری‌های مفید سبب تولید اسیدهای آلی، کاهش pH و ممانعت از فعالیت باکتری‌های بیماری‌زا می‌شود (خسروی دارانی و کوشکی، ۱۳۸۷).

۱-۲-۳- معیارهای اساسی در گزینش پروبیوتیک‌ها

انتخاب میکروارگانیسم‌ها به عنوان پروبیوتیک مستلزم دارا بودن ملاک‌هایی است که در زیر به مهمترین آنها اشاره شده است. وجود بعضی از این ملاک‌ها ضروری، و برخی دیگر ترجیحی هستند.

۱- باکتری‌های پروبیوتیک باید به گروه ترکیبات GRAS^۱ تعلق داشته و بیماری‌زا و

^۱ Generally Recognized as Safe

مسمومیت‌زا نباشند (Sgorbati et al., 1995). سنجش ایمنی این باکتری‌ها از طریق بررسی فعالیت متابولیک آن‌ها در محصول غذایی و بدن، بررسی عفونت‌ها و بیماری‌های گزارش شده و فعل و انفعالات ژنتیکی احتمالی بین پروبیوتیک‌ها و سایر میکروارگانیسم‌های روده‌ای صورت می‌گیرد (O'Brien et al., 1999). بسیاری از شواهد نشان داده‌اند که مصرف پروبیوتیک‌ها به میزان 10^{12} CFU/g نیز اثرات بیماری‌زا و مسمومیت‌زا در بر ندارد (Sgorbati et al., 1995). با این وجود، گزارشات نادری در مورد بیماری‌زا بودن یا احتمال زیان بخش بودن برخی از این باکتری‌ها در دست است.

ریوتیو و همکاران در سال ۱۹۹۹، گونه لاکتوباسیلوس رامنوز^۱ GG را از عفونت آبسه کبدی جداسازی کردند. موارد نادری از عفونت خونی، التهاب قلبی مربوط به باکتری‌های لاکتوباسیلوس رامنوز، لاکتوباسیلوس پلانتاروم^۲، انتروکوکوس فیسیوم^۳ و بیفیدوباکتریوم^۴ در دست است (Rautio et al., 1999).

۲- اثرات سودمند آن‌ها در ارتباط با سلامت موجودات زنده بر اساس آزمایشاتی که در شرایط درون زیست یا برون زیست صورت گرفته است به اثبات رسیده باشد. اثرات سلامتی بخش می‌تواند مثل کاهش کلسترول، کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی، فعالیت ضد سرطانی و ... باشد.

۳- ترجیحاً از اعضای فلور طبیعی انسان بوده یا به عبارت دیگر خاستگاه انسانی داشته باشد تا از اثرات سودمند آن‌ها در مورد انسان اطمینان حاصل شود. داشتن خاستگاه انسانی، بر ضریب اطمینان شاخص‌های قابلیت چسبندگی پروبیوتیک‌ها به سلول‌های بدن و سازگاری داشتن آن‌ها با شرایط بدن می‌افزاید (Hammes and Hartel, 2002).

۴- به شیر معده، pH و اسید آن (برای سالم گذشتن از معده)، نمک‌ها و املاح صفاوی (برای سالم گذشتن از روده کوچک) و همچنین آنزیم‌های گوارشی نظیر لیزوزیم بزاق تا حد امکان مقاوم باشند. مقاومت به اسید معده و صفا تضمین کننده رسیدن باکتری‌های پروبیوتیک به مقدار فراوان به محیط روده‌اند (Kanbeh, 1992; Lankaputhra et al., 1994).

¹ *Lactobacillus rhamnosus*

² *Lactobacillus plantarum*

³ *Enterococcus faecium*

⁴ *Bifidobacterium*