بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده کشاورزی
بخش علوم دامی
پایان نامه تحصیلی برای دریافت درجه کارشناسی ارشد علوم دامی
گرایش تغذیه طیور

بررسی اثر حرارت های مختلف بر ماندگاری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در طول انبارداری ماست اسیدوفیلوس

مولف:
مهدی طیارزاده

استاد راهنما:
دکتر محمد حسن فولادی

استاد مشاور:
دکتر محمد سالار معینی

شهریور ۹۱

این پایان نامه به عنوان یکی از شرایط درجه کارشناسی ارشد به

بخش علوم دامی

دانشکده کشاورزی

دانشگاه شهید باهنر کرمان

تسلیم شده است و هیچگونه مدرکی به عنوان فراغت از تحصیل دوره مزبور شناخته نمی شود.

دانشجو: مهدی طیارزاده

استاد راهنما: دکتر محمد حسن فولادی

استاد مشاور: دکتر محمد سالارمعینی

داور ۱: دکتر امید دیانی

داور ۲: دکتر امین خضری

نماینده ی تحصیلات تکمیلی در جلسه دفاع: دکتر احمد غضنفری

معاون آموزشی و پژوهشی دانشکده : دکتر مجید رحیم پور

حق چاپ محفوظ و مخصوص به دانشگاه شهید باهنر کرمان است.

تقدیم به:

خانواده ارجمندم و تمام کسانی که دوستشان دارم

تشکر و قدردانی:

سپاس خداوندی را سزاست که این توفیق را به من ارزانی نمود تا این مرحله از تحصیل را به پایان برسانم. در اینجا بر خود لازم می دانم که از زحمات بزرگوارانی که در پیشبرد این پایان نامه یاریم نمودند قدر دانی نمایم. نخست از محبت های خالصانه و حمایت های بی دریغ پدر و مادر بزرگوارم و خواهر عزیزم که همراه و تکیه گاهی امن و استواری برایم بوده اند نهایت تشکر و قدردانی را می نمایم.

از استاد راهنمای گرامی، جناب آقای **دکتر محمد حسن فولادی** که در طول مراحل مختلف انجام این پایان نامه کمک های ارزنده خود را از بنده دریغ ننمودند صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

از جناب آقای **دکتر محمد سالارمعینی** که از راهنمایی های ایشان در سمت مشاوره این پایان نامه بهره مند شدم سپاسگزارم.

همچنین از جناب آقای **مهندس جاوید امینی** به خاطر کمک های ارزشمندشان تشکر و قدردانی می نمایم.

در پایان نیز از اساتید و کارکنان محترم بخش علوم دامی دانشگاه شهید باهنر کرمان که در طول دوران تحصیلم از هیچ گونه همکاری دریغ ننمودند سپاسگزاری می کنم.

از همکاری های نیروی انسانی آزمایشگاه آنالیز فیزیکی، شیمیایی و میکروبی ایرانیان غذا آزما قدردانی می گردد.

چکیده :

اثر درجه حرارت نگهداری در دماهای ۲، ۵، ۸ و ۲۰ درجه سانتی گراد برروی زنده مانی و قابلیت زیست پروبیوتیک مورد نظر (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس) در ماست اسیدوفیلوس مورد مطالعه قرار گرفت. این مطالعه در طول ۲۰ روز دوره نگهداری برای شناسایی بهترین درجه حرارت ذخیره سازی انجام شد. همچنین تعیین زنده مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به عنوان میکرو ارگانیسم پروبیوتیک استفاده شده در فواصل ۵ روز در طول دوره نگهداری صورت گرفت. نتایج آزمایشات نشان داد پس از ۲۰ روز نگهداری ماست اسیدوفیلوس در دمای ۸ درجه سانتی گراد بیشترین قدرت زنده مانی در محصول را دارد.

کلمات کلیدی: لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، پروبیوتیک، دمای انبارداری، قابلیت زنده مانی، ماست

فهرست مطالب:

فصل اول: مقدمه

۱-۱ مقدمه ۲
۱-۲- غذاهای هدفمند (تعریف، مفهوم و طبقه بندی) ۴
۱-۳ کلیاتی درباره شیرهای تخمیری، ماست و روش تهیه آن ۵
۱-۴ خصوصیات ماست ۷
۱-۵ تعریف و تاریخچه پروبیوتیکها ۸
۱-۶ اهمیت فرآورده های لبنی پروبیوتیکی و کشورهای تولید کننده آن ۱۱
۱-۷ معیارهای اساسی در گزینش پروبیوتیکها ۱۲
۱-۸ مشخصات لاکتوباسیلوس و بیفیدو باکتریوم ها به عنوان مهمترین
پروبیوتیک های تجاری ۱۴
۱-۸-۱ جنس بیفیدوباکتریوم ۱۴
۱-۸-۲ جنس لاکتوباسیلوس ۱۵
۱-۸-۲-۱ خصوصیات کلی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ۱۷
۱-۹ طبقه بندی باکتری لاکتوباسیلوس از نظر فیزیولوژیکی ۱۸
۱-۱۰ نیازمندی های رشد ۱۹
۱-۱۱ خواص سلامت بخش پروبیوتیک ها ۱۹
۱-۱۱-۱ شیوه های تاثیر گذاری پروبیوتیک ها ۲۰
۱-۱۱-۱-۱ بهبود سلامت دستگاه گوارش از طریق فلور میکروبی مطلوب ۲۰
۱-۱۱-۱-۱-۱ حذف رقابتی ۲۰
۱-۱۱-۱-۱-۲ تولید اسید و کاهش دادن اسیدیته ۲۲
۱-۱۱-۱-۱-۳ ترشح مواد مشابه آنتی بیوتیک ها ۲۳
۱-۱۱-۱-۱-۴ تجزیه ی نمک های صفراوی ۲۴
۱-۱۱-۱-۲ تغییر در متابولیسم میکروبی ۲۵
۱-۱۱-۱-۲-۱ فعالیت آنزیم های هضمی ۲۵
۱-۱۱-۱-۲-۲ فعالیت ضدجهش و ضدسرطان زایی ۲۵
۱-۱۱-۱-۲-۳ اثرات ضدکلسترول ۲۶
۱-۱۱-۱-۲-۴ تنظیم فعالیت سیستم ایمنی ۲۸

۱-۱۱-۱-۲-۵ بهبود ناسازگاری لاکتوز ۲۹

فصل دوم: مروری بر مطالعات گذشته

۲-۱- عوامل موثر بر رشد و بقای لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم در محصولات لنبی ۳۲
۲-۲- زنده مانی لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس در محصولات شیری
در طول نگهداری یخچالی ۳۳
۲-۲-۱- اسیدیته و pH فرآورده ۳۶
۲-۲-۲- دمای گرمخانه گذاری (تخمیر) ۳۷
۲-۲-۳- سرعت سرد کردن فرآورده ۳۷
۲-۲-۴- دمای نگهداری یخچالی ۳۸

فصل سوم : مواد و روشها

۳-۱- مواد، وسایل کار، محیط های کشت ۴۱
۳-۱-۱- وسایل و تجهیزات ۴۱
۳-۱-۲- وسایل شیشه ای ۴۱
۳-۱-۳- مواد شیمیایی ۴۱
۳-۱-۴- رنگ های باکتریولوژی مورد استفاده ۴۱
۳-۱-۵- بافر های مورد نظر ۴۱
۳-۱-۶- رقیق کننده مورد استفاده ۴۱
۳-۲- روش کار ۴۲
۳-۲-۱- تهیه نمونه میکروبی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس PTCC ۱۶۴۳ ..... ۴۲
۳-۲-۱-۱- تهیه سوش میکروبی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ۴۲
۳-۲-۱-۲- بررسی نتایج کشت آمپول لیوفیلیزه ۴۲
۳-۲-۲- نگهداری سوش میکروبی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ۴۳
۳-۲-۳- ارزیابی روشهای ل برای بدست آوردن بیوماس میکروبی مورد نظر جهت تلقیح
شیر در تیمارهای در نظر گرفته شده ۴۴
۳-۲-۳-۱- تهیه کشت تازه و جوان از سویه نگهداری شده در سطح شیب دار محیط
MRS-A ۴۴
۳-۲-۴- نمونه شیر ۴۴

۳-۲-۵-ارزیابی شیرهای به کار رفته در تیمارهای مختلف از لحاظ وجود آنتی بیوتیک..... ۴۴
۳-۲-۶- تهیه مقدار استاندارد سوش لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس جهت تلقیح
به شیر در تیمارهای مورد نظر (Inaculum) ۴۵
۳-۲-۷- تهیه تیمارهای ماست اسیدوفیلوس توسط سویه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ۴۵
۳-۲-۸-ارزیابی تولید ماست پروبیوتیک در دماهای مختلف ۴۶
۳-۲-۹- بررسی اثر دماهای مختلف در تهیه ماست اسیدوفیلوس ۴۶
۳-۲-۱۰-ارزیابی میکروسکوپی ۴۶
۳-۲-۱۰-۱- تهیه اسمیر یا گسترش از نمونه ماست ۴۶
۳-۲-۱۰-۲- اضافه کردن رنگ کریستال ویوله ۴۶
۳-۲-۱۰-۳- اضافه کردن محلول لوگول ۴۷
۳-۲-۱۰-۴- اضافه کردن استون الکل ۴۷
۳-۲-۱۰-۵- اضافه کردن رنگ سافرانین (رنگ متضاد یا رنگ مکمل)..... ۴۷
۳-۲-۱۰-۶- دیدن اسلاید مورد نظر زیر میکروسکوپ ۴۷
۳-۲-۱۱- شمارش کلی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ۴۷
۳-۲-۱۲- اندازه گیری اسیدیته ماست اسیدوفیلوس به وسیله روش تیتراسیون با سود
۰/۱ نرمال..... ۴۸
۳-۲-۱۳- اندازه گیری pH ماست اسیدوفیلوس به وسیله pH متر ۴۸
۳-۲-۱۴- تجزیه و تحلیل ۴۹

فصل چهارم : نتایج

۴-۱- نتایج تلقیح آمپول لیوفیلیزه روی سطح محیط کشت جامد MRS ۵۱
۴-۲- نتایج گسترش مرطوب تهیه شده از کلنی های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ۵۱
۴-۳- بررسی نتایج حاصل از رنگ امیزی گرم از ماست اسیدوفیلوس ۵۲
۴-۴- نتایج رنگ آمیزی گرم تهیه شده از کلنی ها ی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ۵۲
۴-۵- نتایج ارزیابی شیرهای بکار گرفته شده در تیمارهای مورد نظر از لحاظ وجود آنتی بیوتیک..... ۵۳
۴-۶- نتایج بررسی اثر دماهای مختلف طی مدت ۲۰ روز نگهداری بر میزان ماندگاری باکتری
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ۵۳

فصل پنجم :بحث

۵-۱- بحث ۵۶
۵-۲-نتیجه گیری ۵۹

فصل ششم:منابع

۶-۱-فهرست منابع ۶۰

فهرست جداول

جدول ۱-۱ تعریف و توصیف پروبیوتیک ها در طول ۵۰ سال گذشته ۱۰
جدول ۴-۱- نتایج بررسی اثر دماهای مختلف طی مدت ۲۰ روز نگهداری بر میزان ماندگاری باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ۵۴
جدول ۴-۲- نتایج حاصل از بررسی مدت زمان انبارداری برمیزان ماندگاری باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ۵۴

فهرست اشکال

شکل۴-۱- شکل آمپول لیوفیلیزه سوش استاندارد لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس(PTCC 1643) ۵۱
شکل ۴-۲-انواع کلنی های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در محیط کشت جامد MRS ۵۱
شکل ۴-۳- شکل میکوسکوپی رنگ امیزی گرم نمونه های ماست اسیدوفیلوس ۵۲
شکل ۴-۴- شکل میکروسکوپی رنگ آمیزی گرم باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ۵۲
شکل ۴-۵-نتیجه به دست آمده از تست آنتی بیوتیک شیرهای مورد استفاده ۵۳

فصل اول

مقدمه

۱-۱- مقدمه

واژه پروبیوتیک برای توصیف افزودنی های زنده میکروبی موجود در خوراک استفاده می شود که می توانند با ایجاد تعادل میکروبی در جمعیت فلور روده و پیشگیری از عفونت های گوارشی، اثر مثبتی بر بهبود عملکرد حیوان و افزایش ضریب رشد دام و طیور داشته باشند. از مهمترین مزایای پروبیوتیک ها این است که پس از مصرف توسط دام و طیور، هیچگونه باقیمانده بافتی نداشته و بر خلاف آنتی بیوتیک ها، هیچگونه مقاومت میکروبی متعاقب مصرف آنها ایجاد نمی شود (سالارمعینی و همکاران، ۱۳۸۶؛ فولادی و همکاران، ۱۳۸۴).

همچنین خواص درمانی مختلفی را علاوه بر موارد بالا به پروبیوتیک ها مانند اثرات ضد جهش زایی، سرطان زایی، تحریک سیستم ایمنی، کاهش کلسترول سرم، کاهش فشار خون، بهبود یبوست از طریق خود جنبی (خودجنبشی روده ای) پیشگیری از ابتلا به آلرژی، کاهش مسمومیت به آفلاتوکسین و کاهش مسمومیت با جیوه را می توان نسبت داد (مرتضویان، ۱۳۸۵).

پروبیوتیک ها را از دیدگاه دامنه کارایی می توان به دو دسته پروبیوتیک های عمومی و شرایطی تقسیم کرد. دسته اول (نظیر ل. اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم) در تمامی شرایط زیستی، پروبیوتیک بشمار می آیند. حال آنکه دسته دوم (نظیر باسیلوسها آنتروکوکوس فیسیوم و اشریشیاکلی) فقط در شرایط ویژه مثلاً فقط در مورد حیوانات در حضور باکتری های مضر خاص و با نژاد خاص از خاصیت پروبیوتیکی برخوردار هستند (مرتضویان، ۱۳۸۵).

تا کنون ۵۹ گونه لاکتوباسیلوس مورد شناسایی قرار گرفته است و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مهمترین گونه پروبیوتیک به شمار می آید که محققین متعددی استفاده از آنها را در تغذیه انسان و دام پیشنهاد کرده اند. به عقیده ایشان باکتری فوق می تواند در کاهش باکتری های مضر نظیر اشریشیاکلی و سالمونلا مفید باشد. در روده کوچک حیوان و انسان به عنوان فلور طبیعی زندگی می کنند که به نمک و پادزیست به طور نسبی مقاومند. در واژن نیز دیده می شود و pH آن را در حدود (pH ۴-۴/۵) حفظ می کند. در روده کوچک در حضور کشش سطحی پایین ایجاد شده به وسیله نمکهای صفراوی به خوبی رشد و پرگنه سازی می کند. آزمایش انجام شده نشان داده است که ل. اسیدوفیلوس در مقایسه با ل. لاکتیس، باکتری های سنتی ماست، ل. کازیی، ل. پاراکازیی، ل. رامنوسوس و بیفیدوباکتریوم ها مقاومترین گونه به شیره معده و نمک های صفراوی است. همچنین از فعالیت β-گالاکتوزیدازی و نامزدوج کردن نمک های صفراوی بیشتر در مقایسه با گونه های یاد شده برخوردار است. از نقطه نظر شاخص های یاد شده، پس از ل. اسیدوفیلوس بیفیدوباکتریوم بیفیدوم قرار دارد (مرتضویان، ۱۳۸۵).

در طول دو دهه اخیر مطالعات زیادی، مفید بودن لاکتوباسیل ها در بهبود تعادل میکروبی دستگاه گوارش و خواص ضد سرطانی آنها را نشان داده اند و تاکید زیادی بر خواص ضد توموری ناشی از مصرف ماست و شیر تخمیر شده توسط لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس داشته اند. برخی محققین به وجود موادی در ماست اسیدوفیلوس که خاصیت ضد سرطانی دارد اشاره کرده اند (سالارمعینی و همکاران، ۱۳۸۶).

دانشمندان در دانشگاه Yale نشان داده اند که این باکتری می تواند در روده انسان کشت داده شود و فلور روده را تغییر دهد. Kopeloff نشان داد که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس برای بهبود بعضی اختلالات گوارشی مثل یبوست و اسهال مفید واقع می گردد اما انجمن داروسازان و شیمیدانان آمریکا برای محصولات پروبیوتیکی (مذکور) که در معالجات به کار می روند شرایطی به این ترتیب قائل شده اند، برروی برچسب تعداد میکرواورگانیسم های زنده باید ذکر شود، در هر میلی لیتر محصول باید دویست میلیون باکتری زنده وجود داشته باشد و در تاریخ انقضای مصرف تعداد باکتری های زنده نباید کمتر از یکصد میلیون در هر میلی لیتر باشد. از طرفی تعداد باکتری های زنده در محصول تحت تأثیر درجه حرارت نگهداری آنها می باشد. دمای نگهداری یخچالی در فرآورده های پروبیوتیک به طور مستقیم از طریق اثرگذاری بر قابلیت بقای سلول ها و در فرآورده های تخمیری (به ویژه در صورت وجود کشت های حامی لاکتیکی) و به طور غیر مستقیم به واسطه تولید متابولیت های پادمیکروبی و نوع رابطه زیستی ایجاد شده بین پروبیوتیک ها و باکتری های کشت حامی، قابلیت زیستی پروبیوتیک ها در محصول طی دوره ماندگاری را تحت تأثیر قرار می دهد (فولادی و همکاران، ۱۳۸۴).

با توجه به اینکه هر ساله ارز قابل توجهی جهت خرید پروبیوتیک ها از کشور خارج می شود و از طرف دیگر تعداد باکتری های زنده در پروبیوتیک های تجاری ممکن است کافی نباشد، چنانچه گلیلند به مطالعه ۳۰ پروبیوتیک حاوی لاکتو باسیلوس از جمله فرآورده های دارویی و لبنی و فرآورده های موجود در داروخانه ها و مکمل های غذایی دام پرداخت. اگرچه برچسب روی تمامی فرآورده ها مشخص می نمود که این فرآورده ها حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس زنده هستند، ولی کمتر از نیمی از آنها حاوی لاکتوباسیلوس زنده بودند (سالار معینی و همکاران، ۱۳۸۷؛ گیلیلند[1]، ۱۹۹۰). لذا با توجه به نکات بالا استفاده از ماست اسیدوفیلوس به جای پروبیوتیک تجاری باکتری فوق به علت ساده بودن تکثیر این باکتری حتی در محل مرغداری و در

1- Gilliland

نتیجه کاهش وابستگی به واردات این پروبیوتیک ما را بر آن داشت که نسبت به نحوه تولید و ماندگاری ماست اسیدوفیلوس بررسی بیشتری را انجام دهیم.

۱-۲- غذاهای هدفمند (تعریف، مفهوم و طبقه بندی)

مواد غذایی هدفمند از خواص سلامت بخش ویژه ورای خواص تغذیه ای غذاهای پایه که مصرف عمومی دارند، برخوردارند. مواد غذایی پایه، سلامت عمومی بدن (پدیده های رشد و نمو، ترمیم و تجدید سلولی و حفظ وضعیت پایه) را فراهم می سازند. با این وجود باید میان اثرات دارویی غذاهای هدفمند واثر تجویزی –درمانی دوا تمایز قایل شد. اثرات سلامت بخش فرآورده های هدفمند در بیشتر موارد به وجود ترکیب موثر موجود در آنها مربوط می شود، با این وجود می تواند از مقوی سازی یا غنی سازی یک یا چند ترکیب مغذی و یا کاهش یا حذف ترکیبات مضر ناشی شود. غذاهای هدفمند از نقطه نظرات گوناگون قابل دسته بندی هستند. در یکی از مهمترین و کاربردی ترین دسته بندی ها، این غذاها به دو گروه یکی طبیعی یا دست ناخورده و دیگری فرآوری (طراحی) شده قابل تقسیم هستند. از گروه اول می توان به سبزیجات و میوه جات که به صورت تازه مصرف می شوند و از گروه دوم می توان به فرآورده های پروبیوتیک لبنی اشاره داشت. همچنین در تقسیم بندی دیگر، غذاهای هدفمند به دو گروه فرآورده های غذایی و فرآورده های دارویی (قرص و پوشینه) قابل دسته بندی هستند. یکی از موارد با اهمیت در ارتباط با انتخاب و تولید غذاهای هدفمند، ایمن بودن و بی خطر بودن مصرف آنها است. بر این اساس، ایمنی هر غذای هدفمند باید به تایید اداره نظارت بر مواد خوراکی، آشامیدنی و آرایشی (FDA)[1] برسد. کیفیت غذاهای هدفمند با دو شاخص کارایی و ایمنی ارزیابی می شود. امروزه، به دلیل اثبات عملی نتایج نامطلوب ناشی از نامتوازن خوری و بد خوری در جوامع بشری، گرایش به تولید و مصرف انواع غذاهای هدفمند پیدا کرده است. هر چند این گرایش در مقام اول در کشورهای پیشرفته به چشم می خورد، اما اخیرا کشور های در حال توسعه نیز بر اهمیت این موضوع آگاهی نسبی یافته اند. توجه و دقت به داشتن رژیم تغذیه ای سالم و متوازن که در اصطلاح، خودپایی تغذیه ای[2] نامیده می شود، باید در زیست – شیوه[3] مردم نهادینه گردد. پروبیوتیک ها به عنوان یکی از جدیدترین و محبوب ترین فرآورده های هدفمند، از اهمیت خاصی در این ارتباط برخوردارند. وجه تمایز بارز این فرآورده ها با سایر غذاهای هدفمند در آن است که ترکیب موثر یا هدفمند در آنها را موجودات زنده، یعنی باکتری ها (نه ترکیبات شیمیایی غیر زنده)، تشکیل می

1- Food and Drug Administration
2- nutritional stability
3- life – style

دهند. اهمیت و محبوبیت پروبیوتیک ها ارزش سرمایه گذاری بیشتر پژوهشی -تبلیغاتی –تولیدی در این ارتباط را توجیه می کند (مرتضویان، ۱۳۸۵).

۱-۳- کلیاتی درباره شیرهای تخمیری، ماست و روش تهیه آن

تاریخچه استفاده از میکروب های زنده به ویژه باکتریهای مولد اسیدلاکتیک در غذا به منظور برقراری و ارتقای سلامت به زمانهای گذشته بر می گردد. در نسخه ایرانی عهد عقیق (سفر آفرینش) آمده است که حضرت ابراهیم عمر طولانی خود را مدیون مصرف شیرهای ترش شده می دانست. دو قرن قبل از میلاد مسیح پلینیوس مورخ رومی از شیرهای تخمیر شده و استفاده از آنها برای اختلالات دستگاه گوارشی، یاد کرده است.

از زمان آگاهی دانشمندان به علم میکروب شناسی همواره پژوهش گرانی چون کاره، تیسر و منچینکوف برای فرآورده های تخمیری شیر اثرات مفید و سودمندی برای سلامتی انسان و تعادل میکروب های روده قائل بوده اند. فرآورده های تخمیری معمول شیر شامل ماست، کفیر، دوغ، کره ترش، خامه پرورده کومیس و کشک است.

برای تهیه یک فرآورده تخمیری، شیر با کشت مایه تلقیح شده و قسمتی از لاکتوز آن به اسید لاکتیک، CO_2، اسیداستیک، دی استیل، استالدهید و چندین ماده در فرآورده جدید تبدیل می گردد. وجود این مواد به فرآورده های تخمیری شیر ویژگیهای مخصوصی از نظر طعم، بو و مزه تازگی می دهند. میکروارگانیسم های مورد استفاده در تهیه کفیر و کومیس الکل اتیلیک نیز ایجاد می کنند (کریم، ۱۳۸۸؛ کریم و همکاران، ۱۳۸۷).

منشأ و محل اولیه تولید فرآورده های تخمیری شیر در دنیا، کشورهای خاور نزدیک هستند. تهیه این محصولات بعدها در اروپای مرکزی و شرقی نیز مورد توجه و محبوبیت قرار گرفت شاید اولین بار نحوه تولید شیرهای تخمیری به طور تصادفی برای انسان شناخته شد ولی ظاهراً موقعی که بز برای اولین بار در ۵۰۰۰ سال قبل از میلاد مسیح در بین النهرین اهلی گردید شیر این حیوان که در پوسته و در هوای گرم آن منطقه نگهداری می شد به طور طبیعی دلمه تشکیل داد، کسی که بیش از همه شجاعت داشت، این توده شیر بریده شده را چشید و آن را مناسب دید از آن پس تاریخ شاهد ساخته شدن این ماده غذایی بود و ماست در مسیر تکاملی خود قرار گرفت (حکمتی و همکاران، ۱۳۷۴).

در بین تمام فرآورده های تخمیری شیر، ماست شناخته شده تر از سایر فرآورده ها بوده و مقبولیت بیشتری در دنیا دارد. ماست در کشورهای اطراف دریای مدیترانه آسیا و اروپای مرکزی

مصرف بالایی دارد. ماست از واژه ترکی در قرن هشتم به عنوان "yoghurut" می آید و با تغییر املاء در طول زمان به تلفظ امروزی در قرن یازدهم رسیده است (سودن[1]، ۲۰۰۹).

مزه و طعم ماست از سایر فرآورده های اسیدی شده شیر متفاوت بوده و مواد فرار و معطر آن شامل مقدار کمی اسیداستیک و استالدهید، دی استیل می باشد. براساس استانداردهای بین المللی حداقل ماده خشک بدون چربی شیر ۸/۲ درصد است. افزایش در میزان کل ماده خشک به ویژه کازیین و پروتئین های سرم موجب استحکام لخته شده و میزان جدا شدن سرم را کاهش می دهد.

باکتریهای مورد استفاده در تهیه مایه ماست با توجه به استانداردهای خصوصیات ذکر شده در قوانین و مقررات فدرال ایالات متحده(CFR[2])، (در بخش CFR ۲۱ قسمت ۲۰۰-۱۳۱) عبارتند از استرپتوکوکوس ترموفیلوس، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس. این دو باکتری استارتر پایه ماست می باشند و کشت های اضافی مانند پروبیوتیک ها ممکن است به منظور خواص سلامتی اضافه شوند (شاندن و اورل، ۲۰۰۶).

نسبت کوکسی به باسیل اغلب در مایه ماست برابر است. اگر میزان و مقدار مایه و همچنین زمان و درجه حرارت تحت کنترل دقیق قرار گیرند تعادل این دو باکتری در مایه حفظ خواهد شد. مقدار مایه ۳-۲ درصد حجم شیر است. در تناوب های زمانی معین باید مایه را تعویض کرد. در غیر این صورت لاکتوباسیلوس بولگاریکوس پس از چندی غالب خواهد شد و به علت تشکیل مقدار زیادی اسید و استالدهید مزه ماست را ترش خواهد کرد. تولید مایه ماست استریل خطر آلودگی باکتریایی، مخمرها و کپک ها را از بین می برد. در شرایط سختی تهیه مایه ماست امکان آلودگی با باکتری های مولد هاگ (باسیلوس سرئوس) که نسبت به حرارت مقاوم و اغلب در شیر حرارت دیده زنده می مانند، وجود دارد. وجود این باکتریها موجب طعم و مزه تلخ ماست خواهد شد (حکمتی و همکاران، ۱۳۷۴).

ماست بلافاصله بعد از تولید دارای اسیدیته ۰/۹ تا یک درصد است که در زمان توزیع مختصری افزایش می یابد. pH ماست اغلب ۴/۴ - ۴/۲ بوده و گاهی تا ۴ هم کاهش می یابد. اسیدیته ماست را می توان با نگهداری شیر تلقیح شده در زمان مشخصی (گرمخانه گذاری مناسب ۵-۴ ساعت می باشد) و با حرارت کنترل شده و سپس خنک کردن سریع محصول تنظیم کرد (حکمتی و همکاران، ۱۳۷۴).

1- Swidan
2- Code of Federal Regulations

باکتری ل. بولگاریکوس در دمای ۳۷ تا ۴۰°C به خوبی رشد می کند و با تولید مقدار زیادی اسیدلاکتیک قادر به اسیدی کردن محیط می باشد. باکتری استرپتوکوکوس ترموفیلوس نیز در دمای ۳۷ تا ۴۰°C تکثیر می یابد ولی حتی در ۵۰°C نیز رشد می کنند.

این باکتری نسبت به باکتری قبل اسید کمتری تولید کرده و pH قابل تحمل این باکتری ۴ تا ۵/۴ می باشد. مکانیزم عمل این دو باکتری بدین ترتیب است که لاکتوباسیلوس دارای فعالیت پروتئولیتیک می باشد و باعث جدا شدن اسیدهای آمینه از کازئین (پروتئین شیر) می گردد که همین اسید ها فعال کننده باکتری استرپتوکوکوس در ماست می باشند، که از جمله آنها می توان به والین اشاره کرد. پس از اینکه pH مناسب جهت فعالیت این باکتری مهیا شد، تخمیر اسیدی شروع می گردد که ضمن تخمیر با تبدیل لاکتوز به اسیدلاکتیک pH شیر کاهش یافته (۴/۶-۴) و بدین ترتیب پروتئین های موجود در شیر به صورت توده جامدی در می آیند که از جمله کارهای باکتری های مولد اسید لاکتیک که می توان تغییر pH شیر تا ۴/۶، انعقاد پروتئین کازئین شیر و تجزیه لاکتور به اسیدلاکتیک را نام برد. جهت تهیه ماست باید این دو باکتری را داخل شیر ریخته که از جمله دمای شیر و همچنین شرایط محیط برای تهیه ماست شیرین و ترش بکار می روند و هر چه زمان گرمخانه گذاری بیشتر باشد ماست تهیه شده ترش تر می شود(گرمخانه گذاری مناسب ۵-۴ ساعت می باشد) (اشعری و همکاران، ۱۳۸۱؛ پوراحمد و همکاران، ۱۳۸۳؛ رابینسون وتامیم[1]، ۱۹۹۵). اجزای سازنده رایحه فرار شامل مقادیر کمی استیک اسید، دی استیل، و استالدهید است. استالدهید توسط لاکتوباسیلوس بولگاریکوس به وجود می آید که موجب رایحه مخصوص ماست می شود.

۱-۴- خصوصیات ماست

از نظر تغذیه ای ماست ماده غذایی مفیدی می باشد که سرشار از پروتئین و برخی از انواع ویتامین های گروه B می باشد. املاح موجود در آن زیاد می باشد. ماست به عنوان ماده غذایی ضدسرطان معروف می باشد که علاوه بر مقادیر مناسبی از کلسیم در ماست، عوامل دیگری نیز در این فرآورده های شیری وجود دارد که به آن خواص ضدسرطانی بخشیده است. باکتریهای اسیدلاکتیک موجود در ماست از جمله عواملی هستند که از لوله گوارش در برابر سرطان محافظت می کنند. مصرف فرآورده های حاوی باکتری لاکتوباسیلوس، هم بطور مستقیم و هم بطور غیرمستقیم از دستگاه گوارش محافظت می کند و باکتریهای اسیدلاکتیک مانع از افزایش تکثیر سلولهای سرطانی در افراد مبتلا به سرطان روده بزرگ می شوند. در طول تغییر شیر برای

1- Robinson , Tamime

تولید ماست موادی که خاصیت ضدسرطانی دارند تولید می شوند. اسفنگوزین موجود در شیر فعالیت آنزیم پروتئوکیناز را مهار می کند که فعالیت این آنزیم شکل گیری و رشد سلولهای سرطانی را تحریک می نماید. به علاوه اسفنگوزین رشد سلولهای سرطانی را متوقف کرده و از هجوم سلولهای سرطانی به بافت های بدن پیشگیری می کند. بعلاوه اسید بوتریک موجود در ماست تکثیر بیش از حد سلولهای روده بزرگ را مهار می کند. مواد موجود در مواد دفعی مانند اسیدهای صفراوی و سموم باکتری ها اگر به طور مستقیم و دائم با مخاط روده بزرگ تماس داشته باشند می توانند به سلولها آسیب رسانده و رشد تکثیر سلولی را از حالت طبیعی خارج کنند که ماست از این عمل جلوگیری می کند. همچنین باعث بهبود متابولیسم کلسیم و جلوگیری از پوکی استخوان می شود (رابینسون وتامیم، ۱۹۹۵).

۱-۵- تعریف و تاریخچه پروبیوتیکها

کلمه پروبیوتیک از ۲ واژه یونانی (προ and βιοτοσ) به معنی "برای زندگی[1]" اقتباس شده و از نظر مفهوم در مقابل واژه پادزیست به معنی ضدحیات قرار دارد (همیلتون و گیبسون[2]، ۲۰۰۳). مفهوم پروبیوتیک برای اولین بار در اوایل دهه ۱۹۰۰ توسط دانشمند برنده جایزه نوبل، الی مچینکوف، که سلامت و طول عمر بالای کشاورزان بلغار را به مصرف مقادیر زیاد فرآورده های تخمیری شیر نظیر ماست و دوغ و کره نسبت داده بود، بیان شد. بر اساس فرضیه مچینکوف، که سلامت و طول عمر بالای کشاورزان بلغار را به مصرف مقادیر زیاد فرآورده های تخمیری شیر نظیر ماست و دوغ و کره نسبت داده بود، بیان شد. براساس فرضیه مچینکوف، باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس با استقرار در روده و ساخت فرآورده های پادمیکروبی همچون اسیدلاکتیک موجب سرکوبی باکتریهای عفونت زا و تولید کننده سم نظیر باکتری های اسپورساز هوازی در این مکان می شود و از این طریق طول عمر را افزایش می دهد. پژوهش های بعدی نشان داد که باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس موجود در فرآورده های تخمیری قادر نیست به تعداد کافی، زنده به محیط روده برسد و در آنجا پرگنه ساز شود. مچینکوف در فرضیه خود، ایجاد بیماری را نتیجه غالب شدن فلور میکروبی مضر روده بر ریززنده های (میکروارگانیسم ها) مفید آن دانست و چنین حالتی را در اصطلاح، خود –مسمومیت[3] نامید.

با این حال اثرات پاتوژنهای روده ای می تواند توسط باکتریهای تولید کننده اسیدلاکتیک و به طور عمده لاکتوباسیل ها که به طور معمول در شیرهای تخمیر شده یافت می شوند، جلوگیری یا

1- for – life
2- Hamilton , Gibson
3- Autointoxcation

کاهش یابند. از آن پس، پژوهش های فراونی در خصوص اثرات سلامت بخش احتمالی برخی از میکروارگانیسم ها به عمل آمده است و اخیراً رابطه میکروارگانیسم های روده با سلامت انسان و حیوانات به اثبات رسیده است. در دهه ۱۹۶۰، واکنش ایجاد شده در برابر فراگیر شدن مصرف آنتی بیوتیک ها و اثرات جانبی زیان بخش آنها بر حیوانات مزرعه، تمایل به استفاده از ریزنده های سودمند را به جای پادزیست ها افزایش داد و به تدریج مصرف این ریززنده ها برای انسان نیز عمومیت یافت، طوریکه امروزه شیوه باکتری درمانی[1] عمومیت تام یافته است (مرتضویان، ۱۳۸۵؛ فوکس و گیبسون، ۲۰۰۲).

واژه پروبیوتیک از ابتدای کاربرد آن، بر ریز زنده هایی با خواص مورد بحث دلالت نداشته و تا رسیدن به مفهوم امروزی بارها به معانی مختلف به کار برده شده است. اولین تشریح پروبیوتیک توسط kollath در سال ۱۹۵۳ ارائه شده است. او پروبیوتیک را مواد غذایی گیاهی مثل ویتامین ها، مواد معطر، آنزیم و سایر موادی که احتمالاً در ارتباط با فرآیند حیاتی مشترک هستند تعریف کرد (وای-ین ان جی و تن[2]، ۲۰۰۹). اما واژه پروبیوتیک نخستین بار با رسمیت بیشتر در سال ۱۹۶۵ توسط لیلی و استیل ویل به کار برده شد. آنها واژه پروبیوتیک را در مورد ریزدانه هایی که رشد یکدیگر را تحریک می کنند به کار بردند (فوکس و گیبسون[3]، ۲۰۰۲؛ هالزافل و استیل[4]، ۲۰۰۱).

بعدها بسیاری تعاریف دیگر در طول زمان پیشنهاد شده است. (جدول۱-۱) به عنوان تازه ترین پیشنهاد توسط سازمان خواروبار و کشاورزی سازمان ملل متحد/ سازمان بهداشت جهانی (FAO[5]/WHO[6]) در گروه کاری سال ۲۰۰۱ ارائه شد که عبارت است از "پروبیوتیک" میکروارگانیسم های زنده ای هستند که هنگامیکه به مقدار کافی مصرف شوند برای سلامت میزبان مفید خواهند بود. این تعریف حاکی از آن است که مقادیر کافی از سلولهای زنده پروبیوتیکی باید در زمان مصرف میل شود تا اثرات مطلوبش را نشان دهد (وای-ین ان جی و تن، ۲۰۰۹).

1- Bacteriotherapy
2- . Wei-Yin & Tong
3- Fooks , Gibson
4- Halzapfel , Steel
5- Food and Agriculture Organization
6- World Health Organization

جدول ۱-۱ تعریف و توصیف پروبیوتیک ها در طول ۵۰ سال گذشته

منبع	تعریف
Kollath, 1953	پروبیوتیک مواد غذایی گیاهی مثل ویتامین ها، مواد معطر، آنزیم و سایر موادی که احتمالاً در ارتباط با فرآیند حیاتی مشترک هستند
Vergin, 1954	پروبیوتیک یعنی متضاد آنتی بیوتیک
Kolb, 1955	پروبیوتیک درمانی می تواند مانع از اثرات مضر آنتی بیوتیک شود
Lilly and Stillwell 1965	مواد تولید شده توسط میکروارگانیسم ها (جالبه که مواد، اشاره به متابولیسم به جای سلولهای واقعی دارد) که رشد میکروارگانیسم های دیگر را تحریک کند
Fujii and Cook, 1973	ترکیباتی که ایجاد مقاومت به عفونت را در میزبان می کند و رشد میکروارگانیسمها در شرایط in vitro (آزمایشگاهی) را مهار می کند.
Parker, 1974	ارگانیسمها و موادی که منجر به تعادل میکروبی روده می گردند
Fuller, 1989	یک مکمل خوراکی میکروبی زنده که تاثیرات مفید برای حیوان میزبان از طریق بهبود تعادل میکروبی روده می گذارد
Salminen, 1996	جز زنده میکروبی در غذا یا کالچر محصولات لبنی که اثرات مطلوب بر سلامتی دارد
Schaafsma, 1996	میکروارگانیسمهای زنده ای که بعد از مصرف در افراد مشخصی، مزایای سلامت فراتر از تغذیه پایه اصلی را داشته باشد
Naidu et al. 1999	تهیه و آماده سازی سلولهای میکروبی یا ترکیبات سلولهای میکروبی که اثرات سودمندی بر روی سلامت و رفاه میزبان می گذارند
Salminen et al., 1999	تدارک و تولید محصول محتوی مواد زنده ماندنی، تعداد کافی از میکروارگانیسمها که باعث تغییر فلور (توسط ایمپلنت یاکلنی سازی) در بدن میزبان می شود و باعث اثرات بهداشتی مفید در میزبان می شود
Schrezenmeir and de Vrese, 2001	میکروارگانیسم های زنده ای هستند که در مقادیر کافی به نفع سلامت میزبان می باشند، تجویز می شود
FAO/WHO report, 2001	میکروارگانیسم های زنده ای هستند که هنگامیکه به مقدار کافی مصرف شوند برای سلامت میزبان مفید خواهند بود

منابع: مطابق با ساندرز،۲۰۰۸ و شاه،۲۰۰۸ (وای -ین ان جی و تن، ۲۰۰۹)