٤٦١٩٧

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دانشکده‌های علوم کشاورزی
گروه صنایع غذایی

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته مهندسی علوم و صنایع غذایی
(M.Sc.)

عنوان

بررسی ماندگاری پروبایوتیک‌ها در پنیر سفید ایرانی و اثر آنها بر برخی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن

نگارش
الهام انصاری‌پور

استاد راهنما
دکتر مرتضی خمیری

اساتید مشاور
دکتر مهدی کاشانی‌نژاد
دکتر حبیبا... میرزایی

۱۳۸۷ /۵/ ۱۲

بهار ۸۷

۴۶۱۹۷

تقدیم به

آنان که بر صفحه زندگیم همواره عشق باریدند

صاحبان برترین مقام:

پدر و مادر عزیزم

از شمندترین نعمت های پروردگار، که با گرمی آفتاب وجودشان و با دریای زلال محبتشان موجب رشد و هدایت من شدند

و خواهرانم

که با فداکاری ها و عطوفت بیکرانشان گذراندن دوران تحصیل را بر من آسان نمودند

خدای مهربان من،

ای آن که تا همیشه همیشه بی همتایی و تعالی. سپاس و بندگیم را بپذیره خداوندا چه عظیم است لطف و منزلتت و چه بی دریغانه یاریم کردی، هرگاه و هردم که تو را خواندم.

نخست سزاوار است نهایت سپاس قلبی خود را تقدیم حضور استاد راهنمای گرامیم، جناب آقای دکتر خمیری گردانم که زحمات بی شائبه ای متحمل گشته و در تمامی این مدت با بردباری مرا راهنمایی فرمودند و بی شک انجام مراحل مختلف این پایان نامه بدون حمایت و پشتیبانی ایشان امکان پذیر نبوده.

از اساتید مشاورم آقایان دکتر کاشانی نژاد و دکتر میرزایی به دلیل مشاوره های بی منت و راهنمایی های ارزشمندشان سپاسگزارم.

از داوران محترم جناب آقای دکتر مقصودلو و دکتر اعلمی به خاطر نظرات و اصلاحیات به جا و دلسوزانه شان ممنون و سپاسگزارم.

از نماینده محترم تحصیلات تکمیلی، جناب آقای دکتر حسنی به دلیل همکاری ها و راهنمایی هایشان کمال تشکر را دارم.

همچنین تشکر می نمایم از مسئولین محترم آزمایشگاه های صنایع غذایی جناب آقای مهندس حسینی و خانم مهندس ابراهیمی به خاطر کمک های بی دریغشان در طی اجرای این رساله.

از مساعدت های جناب آقای مهندس سعیدی، مدیر تولید وقت کارخانه شیرپاستوریزه بگاه گرگان تشکر کرده و سعادتمندی ایشان را از خدای متعال خواستارم.

و از همدلی و مساعدت های همکلاسی ها و دوستان عزیزم، خانم ها مهندس آقاجانی، رضاگاه، کشیری، سلیمی، صادقی، غلامزاده و خانم دکتر اشراقی و آقایان، مهندس احمدی، دارایی و اکبرپور و نیز از کلیه دانشجویان کارشناسی که در انجام این پایان نامه مرا یاری نمودند تشکر کرده و برای تمامی این عزیزان روزهای سرشار از موفقیت و شادکامی آرزو می نمایم.

و فاش می گویم سراسر لحظه های نجوای سپاسگزاریم مملو از دعاهایی است که برای سعادتمندی شما زیبا سیرتان دارم. سپاسم برایتان بی پایان و کلامم ناتمام.

چکیده

در این تحقیق قابلیت ماندگاری دو باکتری پروبایوتیک، *بیفیدوباکتریوم لاکتیس BB ۱۲* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA ۵* در طول مرحله تولید (بلافاصله بعد از تلقیح، دلمه پس از پرس و پنیر بعد از آب‌نمک‌گذاری ۱۸٪) و نیز دوره رسیدن و نگهداری، با فاصله زمانی هر ۱۵ روز در طول ۲۸ هفته متوالی و تأثیر آن‌ها روی رطوبت، pH، اسیدیته، نمک و چربی در پنیر سفید آب‌نمکی ایرانی مورد بررسی قرار گرفت. باکتری‌های پروبایوتیک به صورت کشت‌های مخلوط ABY-۲ و ABT-۵ همراه با کشت‌های آغازگر Y-۳۷۰ (حاوی *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیر گونه *بلگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*) و R-۷۰۳ (*لاکتوکوکوس لاکتیس* زیر گونه *لاکتیس* و *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیر گونه *کرموریس*) به صورت کشت های DVS تهیه گردید. ۳ نوع پنیر پروبایوتیک ABY-۲، ABY-۲+R-۷۰۳ و ABT-۵+R-۷۰۳ و۳ نوع پنیر شاهد Y-۳۷۰، Y-۳۷۰+R-۷۰۳ و R-۷۰۳ هر کدام در ۳ تکرار تولید شد. نتایج حاصل از شمارش سلولی *BB ۱۲* و *LA ۵* روی محیط‌های MRS-NNL Agar همراه با L سیستئین هیدروکلراید و MRA-IM Agar همراه با مالتوز نشان داد که در کلیه پنیرهای پروبایوتیک تولید شده، *بیفیدوباکتریوم لاکتیس BB ۱۲* ماندگاری بهتری را نسبت به *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA ۵* طی ۲۸ هفته داشت. پنیرهای ABT+R و ABY+R به ترتیب با درصد ماندگاری ۶/۳۵ و ۱/۳۹ از *BB ۱۲* تا پایان ٤ ماه، جمعیت باکتریایی خود را تا سطوح مطلوب (10^{9}cfu/g و 10^{6}) حفظ کردند. ترکیب استارتری ABY، با ۰/۱۹٪ ماندگاری به مدت ٤٥ روز جمعیت باکتریایی خود را تا سطح 10^{9}cfu/g حفظ کرد. بدین ترتیب هر سه پنیر تولیدی می‌توانند به عنوان پنیرهای پروبایوتیک برای باکتری *BB ۱۲* پیشنهاد گردند، با تأکید بر این موضوع که در مجموع، دوره رسیدن و نگهداری برای پنیر ABY ۹۰ روز و سطح تلقیح اولیه برای آن 10^{9}cfu/ml در نظر گرفته شود. با افزایش سطح تلقیح اولیه 10^{9}cfu/ml برای *LA ۵* پنیر نوع ABY تا پایان ۲ ماه و پنیرهای ABT+R و ABY+R تا پایان ۱۵روز ارزش پروبایوتیکی می‌باشند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که بین پنیر های پروبایوتیک و شاهد از نظر رطوبت، pH، اسیدیته، چربی و نمک تفاوت معنی داری در سطح ۵٪ وجود نداشت و فقط پنیر ABY، pH بالاتری نسبت به پنیر شاهد داشت.

کلمات کلیدی: پروبایوتیک، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*، ماندگاری، پنیر سفید ایرانی

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول:
۱-۱- مقدمه ۲
۱-۲- معیارهای مهم در انتخاب پروبایوتیک‌ها ٤
۱-۲-۱- جنبه های ایمنی و سلامت ٤
۱-۲-۲- جنبه‌های مختلف کاربردی ٥
۱-۳- اثرات مفید پروبایوتیک‌ها ٥
۱-٤- *بیفیدوباکتریوم‌ها* ٦
۱-٤-۱- تاریخچه ٦
۱-٤-۲- خصوصیات *بیفیدوباکتریوم‌ها* ۷
۱-٥- *لاکتوباسیلوس‌ها* ۸
۱-٦- جنبه های تولید فرآورده‌های پروبایوتیک ۱۰
۱-٦-۱- مقدمه ۱۰
۱-٦-۲- طبقه‌بندی غذاهای پروبایوتیک ۱۲
۱-٦-۳- میزان ماندگاری پروبایوتیک‌ها در فرآورده‌های پروبایوتیکی ۱٦
۱-٦-٤- عوامل مؤثر بر ماندگاری پروبایوتیک‌ها ۱۷
۱-٦-٤-۱- انتخاب نژادهای مقاوم ۱۸
۱-٦-٤-۲- استفاده از کشت‌های حامی ۱۹
۱-٦-٤-۳- پس اسید سازی (بیش اسید سازی) ۲۰
۱-٦-٤-٤- اکسیژن ۲۰
۱-٦-٤-٥- تخمیر ۲۱
۱-٦-٤-٦- دمای نگهداری در یخچال ۲۱
۱-٦-٤-۷- اسیدیته ۲۲
۱-۷- خصوصیات منحصر به فرد پنیر برای رشد *بیفیدوباکتریوم* ۲۲
۱-۸- اهداف این بررسی ۲٤

عنوان صفحه

فصل دوم: (مروری بر پژوهش های انجام شده)

۲-۱- پژوهش های انجام شده در شیر ۲۶

۲-۲- پژوهش های انجام شده در ماست ۲۸

۲-۳- پژوهش های انجام شده در پنیر ۳۰

۲-٤- پژوهش های انجام شده روی پنیر سفید آب نمکی ۳۵

۲-۵- پژوهش های انجام شده روی ترکیبات شیمیایی و خواص حسی ۳۶

۲-٦- لزوم انجام این تحقیق ۳۸

فصل سوم (مواد و روش)

۳-۱ تهیه استارتر ٤۱

۳-۲- آماده‌سازی استارترها ٤۲

۳-۳- تولید پنیر ٤۳

۳-٤- آزمایشات میکروبی ٤٤

۳-٤-۱- تهیه محیط های کشت ٤٤

۳-٤-۱-۱- محیط کشت جهت رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* ٤٤

۳-٤-۱-۱-۱- تهیه محلول مالتوز (W/V) ۲۰٪ ٤٦

۳-٤-۱-۲- محیط کشت جهت رشد *بیفیدوباکتریوم* ٤٦

۳-٤-۲- شمارش کلنی‌ها ٤۷

۳-۵- آزمایشات شیمیایی ٤۸

۳-۵-۱- اندازه‌گیری pH ٤۸

۳-۵-۲- اندازه‌گیری رطوبت ٤۸

۳-۵-۳- اندازه‌گیری چربی ٤۹

۳-۵-٤- اندازه‌گیری اسیدیته ٤۹

۳-۵-۵- اندازه‌گیری نمک ۵۰

۳-٦- تجزیه و تحلیل آماری ۵۰

عنوان صفحه

فصل چهارم (نتایج و بحث)

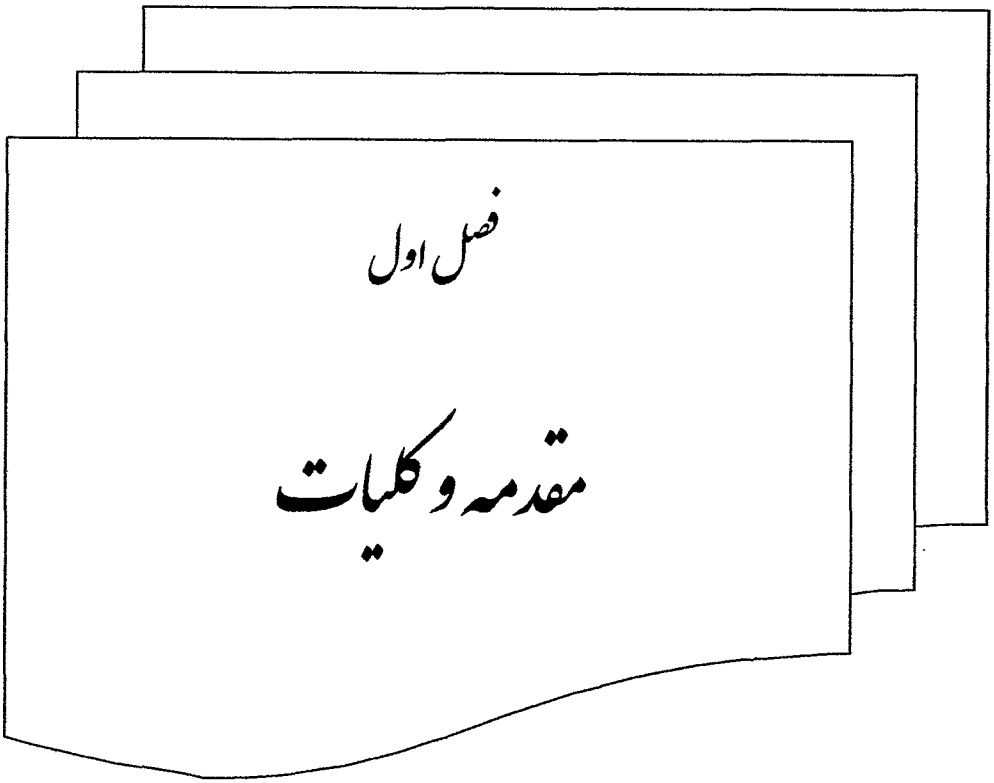
٤-١- بررسی ویژگی‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی باکتری‌های پروبایوتیک رشد یافته روی محیط..... ٥٢
٤-٢- بررسی میزان ماندگاری *Bifidobacterium lactis BB12*..... ٥٥
٤-٢-١- میزان ماندگاری *BB12* در پنیر ABY در مرحله تولید..... ٥٥
٤-٢-٢- میزان ماندگاری *BB12* در پنیر ABY طی دوره رسیدن و نگهداری..... ٥٦
٤-٢-٣- میزان ماندگاری *BB12* در پنیر ABY+R در مرحله تولید..... ٥٧
٤-٢-٤- میزان ماندگاری *BB12* در پنیر ABY+R در دوره رسیدن و نگهداری..... ٥٨
٤-٢-٥- میزان ماندگاری *BBS12* در پنیر ABT+R در مرحله تولید..... ٦٠
٤-٢-٦- میزان ماندگاری *BB12* در پنیر ABT+R در دوره رسیدن و نگهداری..... ٦١
٤-٣- بررسی میزان ماندگاری *L.acidophilus LA5*..... ٦٣
٤-٣-١- ماندگاری *LA5* در پنیر ABY طی مراحل تولید، رسیدن و نگهداری..... ٦٣
٤-٣-٢- ماندگاری *LA5* در پنیرABY+R طی مراحل تولید، رسیدن و نگهداری..... ٦٥
٤-٣-٣- ماندگاری *LA5* در پنیر ABT+R طی مراحل تولید، رسیدن و نگهداری..... ٦٧
٤-٤- مقایسه پنیرهای ABY، ABY+R و ABT+R از نظر ماندگاری *BB12* و *LA5*..... ٦٩
٤-٥- ارزیابی پنیرهای پروبایوتیک تولیدی به منظور استفاده در صنایع لبنی..... ٧١
٤-٥-١- ارزیابی پنیرها از نظر باکتری *Bifidobacterium lactis BB12*..... ٧١
٤-٥-٢- ارزیابی پنیرها از نظر باکتری *Lactobacillus. acidophilus LA5*..... ٧٥
٤-٦- تأثیر باکتری های *BB12* و *LA5* بر روی ترکیبات پنیر سفید ایرانی طی دوره رسیدن و نگهداری..... ٧٧
٤-٨- ارزیابی حسی پنیرها..... ٨٠
نتیجه گیری کلی..... ٨١
پیشنهادات..... ٨٣
منابع..... ٨٦

فهرست شکل ها

شکل ٤-١- کلنی های رشد کرده *BB12* روی محیط MRS-NNL Agar همراه با سیستئین هیدروکلراید..... ٥٣
شکل ٤-٢- کلنی های رشد کرده *L. acidophilus LA5* روی محیط MRS-IM Agar همراه با مالتوز ٥٣
شکل ٤-٣- باکتری *Bifidobacterium BB12* پس از رنگ آمیزی در زیر میکروسکوپ ٥٤
شکل٤-٤- باکتری *L.acidophilus LA5* پس از رنگ آمیزی در زیر میکروسکوپ ٥٤
شکل ٤-٥- روند تغییرات در میزان سلولی *BB12* در مرحله تولید در پنیر نوعABY ٥٥
شکل ٤-٦- روند تغییرات در میزان سلولی *BB12* طی دوره رسیدن و نگهداری در پنیر نوع ABY ٥٧
شکل ٤-٧- میزان افت سلولی *BB12* در پنیر ABY طی مرحله تولید، رسیدن و نگهداری..... ٥٧
شکل ٤-٨- روند تغییرات در میزان سلولی *BB12* در مرحله تولید در پنیر نوع ABY+R ٥٨
شکل ٤-٩- روند تغییرات در میزان سلولی *BB12* طی دوره رسیدن و نگهداری در پنیر نوع ABY+R ٥٩
شکل ٤-١٠- میزان افت سلولی *BB12* در پنیر ABY+R طی مرحله تولید، رسیدن و نگهداری..... ٦٠
شکل ٤-١١- روند تغییرات در میزان سلولی *BB12* در مرحله تولید در پنیر نوع ABT+R ٦١
شکل ٤-١٢- روند تغییرات در میزان سلولی *BB12* طی دوره رسیدن و نگهداری در پنیر نوع ABT+R ٦٢
شکل ٤-١٣- میزان افت سلولی *BB12* در پنیر ABT+R طی مرحله تولید، رسیدن و نگهداری ٦٢
شکل ٤-١٤- روند تغییرات در میزان سلولی *LA5* در مرحله تولید در پنیر نوع ABY ٦٤
شکل ٤-١٥- روند تغییرات در میزان سلولی *LA5* طی دوره رسیدن و نگهداری در پنیر نوع ABY ٦٤
شکل ٤-١٦- میزان افت سلولی *LA5* در پنیر ABY طی مرحله تولید، رسیدن و نگهداری ٦٥
شکل ٤-١٧- روند تغییرات در میزان سلولی *LA5* در مرحله تولید در پنیر نوع ABY+R..... ٦٦
شکل ٤-١٨- روند تغییرات در میزان سلولی *LA5* طی دوره رسیدن و نگهداری در پنیر نوع ABY+R ٦٧
شکل ٤-١٩- میزان افت سلولی *LA5* در پنیر ABY+R طی مرحله تولید، رسیدن و نگهداری..... ٦٧
شکل ٤-٢٠- روند تغییرات در میزان سلولی *LA5* در مرحله تولید در پنیر نوع ABT+R ٦٨
شکل ٤-٢١- روند تغییرات در میزان سلولی *LA5* طی دوره رسیدن و نگهداری در پنیر نوع ABT+R ٦٩
شکل ٤-٢٢- میزان افت سلولی *LA5* در پنیر ABT+R طی مرحله تولید، رسیدن و نگهداری ٦٩

فهرست جداول

جدول ۱-۱- برخی از فرآورده های تجاری حاوی گونه های *بیفیدوباکتریوم* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* ۱٤
جدول ۱-۲- ترکیبات اصلی عامل عطر و طعم برخی از استرین‌های مورد استفاده در مخلوط‌های پروبایوتیک ..۱۹
جدول ۳-۱ مواد تشکیل دهنده محیط MRS-IM Agar.....٤٥
جدول ٤-۱- جدول مقایسه میانگین برای سه پنیر پروبایوتیک از نظر افت سلولی در مرحله تولید ۷۰
جدول ٤-۲ جدول مقایسه میانگین برای سه پنیر پروبایوتیک از نظر افت سلولی طی ۲۸ هفته.....۷۱
جدول ٤-۳- درصد ماندگاری باکتری های پروبایوتیک در پنیر ABY در طول دوره رسیدن و نگهداری ۷۳
جدول ٤-٤- درصد ماندگاری باکتری های پروبایوتیک در پنیر ABY+R در طول دوره رسیدن و نکهداری....۷۳
جدول ٤-٥- درصد ماندگاری باکتری های پروبایوتیک در پنیر ABT+R در طول دوره رسیدن و نگهداری ۷٤
جدول ٤-٦- جدول مقایسه میانگین ترکیبات شیمیایی پنیرهای تولیدی ۷۹
جدول ٤-۷- رتبه بندی پنیرها از نظر طعم و مزه.....۸۰



فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه

واژه "پروبایوتیک"[1] از واژه یونانی پروبیوس[2] به معنای حیات‌بخش یا زیست‌بخش اقتباس شده است.

الی مچنیکوف[3]، باکتری شناس روس، سرپرست انسیتو پاستور فرانسه و برنده جایزه نوبل به دلیل کشف پدیده بیگانه‌خواری (فاگوسیتوز)،[4] نخستین کسی بود که بر اثرات سلامتی بخش باکتری‌های لاکتیک تأکید کرد. او فرضیه خود را در ارتباط با عناوین " طول عمر بدون پیر شدن"[5] و "استمرار حیات"[6] در سال ۱۹۰۸ به چاپ رسانید و در آن سلامت و طول عمر بالای کشاورزان بلغاری را به مصرف زیاد فرآورده‌های تخمیری شیر نظیر ماست و دوغ کره نسبت داد. بر اساس فرضیه مچنیکوف، باکتری *لاکتوباسیلوس* با استقرار در روده و ساخت فرآورده‌های ضدمیکروبی همچون اسید لاکتیک موجب سرکوبی باکتری‌های عفونت‌زا و تولید کننده سم نظیر باکتری‌های اسپورساز بی‌هوازی در این مکان می‌شود و از این طریق طول عمر را افزایش می‌دهد.

این واژه ظاهراً نخستین بار درسال ۱۹۵٤ در دست‌نوشته‌های شخصی به نام ویرجیو[7] با عنوان "پادزیست‌ها و پروبایوتیک‌ها"[8] به بررسی اثرات مصرف پادزیست‌ها بر جمعیت میکروبی روده

---

[1]- Probiotic
[2] Probios
[3] Elie Metchnikoff
[4] Phagocytosis
[5] Longevity-without aging
[6] Prolongation of life
[7] Virgio
[8] Anti-und Probiotika

پرداخته و پروبایوتیک‌ها را مـوادی دانـسته بـود کـه بـر ایـن فلـور میکروبـی اثـر مطلـوب دارنـد (مرتضویان و سهراب وندی، ۱۳۸۵).

ولی اصطلاح پروبایوتیک نخستین بار با رسمیت بیشتر توسط لیلی و استیل ول[1] در سال ۱۹۶۵ برای توصیف اثرات افزایش دهنده رشد یک میکروارگانیسم بر میکروارگانیسم دیگر (عکس عمـل آنتی‌بیوتیک) به کار برده شد. سپس، اسپرتی[2] واژه پروبایوتیک را در مورد ترشحات بافت که رشـد میکروب‌ها را تسریع می‌کنند به کار برد.

این کلمه بعداً توسط پارکر[3] برای مکمل‌های غذایی حیوانی مـورد اسـتفاده قـرار گرفـت و بـه عنـوان " ارگانیـسم‌هـا یـا سوبـستراهـایی کـه در تعـادل میکروبـی روده‌ای شـرکت مـی‌کننـد" تعریف گردید (مرتضویان و سهراب وندی، ۱۳۸۵).

فولر[4] در سال ۱۹۸۹ پروبایوتیک‌ها را به عنوان" مکمل‌های غذایی میکروبی زنده‌ای که با بهبود تعادل میکروبی روده بر سلامت مصرف‌کنندگان مفید واقع می‌شوند" توصیف کـرد. ایـن تعریـف به عنوان یک تعریف متداول تا کنون مورد قبول قرار گرفته است (هال و همکاران، ۱۹۹۲).

در نهایت طبق تعریف ارائه شده توسط (FAO/WHO)[5] پروبایوتیـک‌هـا، میکروارگانـسیم‌هـای زنده‌ای هستند که وقتی به میزان کافی مصرف شوند اثر سلامتی بر میزبان می‌گذارند.

بیشترین ارگانیسم‌های مورد استفاده بـه عنـوان پروبایوتیـک‌هـا، بـاکتری هـای اسـید لاکتیکـی (*لاکتوباسیلوس‌ها*، *استرپتوکوکوس‌ها*) و *بیفیدوباکتریوم‌هـا* هـستند کـه بـه مقـدار زیـادی در روده حیوانات سالم یافت می‌شوند بدون این که تأثیر نامطلوبی روی آن‌ها داشته باشند.

اسید لاکتیک باکتری‌ها و *بیفیدوباکتریوم‌های* مورد استفاده در محصولات پروبـایوتیکی عبارتنـد از *لاکتوباسـیلوس اسـیدوفیلوس*، *لاکتوباسـیلوس کـازئی*، *لاکتوباسـیلوس بـروی*، *لاکتوباسـیلوس*

[1] Lilly & Stillwell
[2] Sperti
[3] Parker
[4] Fuller
[5] Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization (FAO/WHO)

دلبروکی زیر گونه بلگاریکوس، *لاکتوباسیلوس سرویوسوس*، *لاکتوباسیلوس روتری*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*، *لاکتوباسیلوس لاکتیس*، *لاکتوباسیلوس کورواتوس*، *استرپتوکوکوس کرموریس*، *استرپتوکوکوس سالیواریس زیر گونه ترموفیلوس*، *اینتروکوکوس فیسیوم*، *استرپتوکوکوس اینترمدیوس*، *استرپتوکوکوس دی استی لاکتیس*، *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*، *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*، *بیفیدوباکتریوم اینفانتیس*، *بیفیدوباکتریوم لانگوم*، *بیفیدوباکتریوم ترموفیلوم* و *بیفیدوباکتریوم آدولسنتیس* (تمیم، ۲۰۰۶).

غیر از اسید لاکتیک باکتری‌ها دیگر ارگانیسم‌های پروبایوتیکی متداول، شامل گونه‌های *باسیلوس*، مخمرها (*ساکارومایسز سرویزیه* و *ساکارومایسزبلاردی*) و قارچ‌های رشته ای (*آسپرژیلوس اوریزا*) می‌باشند (تمیم، ۲۰۰۶).

۱-۲- معیارهای مهم در انتخاب پروبایوتیک‌ها

۱-۲-۱- جنبه‌های ایمنی و سلامت

انتخاب میکروارگانیسم ها به عنوان پروبایوتیک مستلزم دارا بودن ملاک هایی است که در زیر به آن ها اشاره شده است (سارلا و همکاران، ۲۰۰۰).

۱- نژادهای مورد استفاده انسان منبع انسانی داشته باشند.

۲- از محیط معده‌ای- روده‌ای انسان سالم جدا شوند.

۳- باید سابقه ای از غیر بیماری‌زا بودن داشته باشند.

٤- نباید سابقه‌ای از شرکت در بیماری‌هایی مانند عفونت پرده داخلی قلب یا اختلالات معده ای- روده‌ای داشته باشند.

۵- نباید ژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های انتقال‌پذیر را انتقال دهند.

۱-۲-۲- جنبه‌های مختلف کاربردی

به منظور انتخاب و استفاده از باکتری‌های پروبایوتیک در محصولات تولیدی، از جنبه های کاربردی نیز باید مورد بررسی قرار گیرند که شامل موارد زیر می‌باشد (سارلاو همکاران، ۲۰۰۰).

۱- مقاومت به اسید و شیره معده انسان (برای سالم گذشتن از معده)

۲- پایداری در برابر صفرا (یک ویژگی مهم برای زنده ماندن در روده کوچک)

۳- چسبندگی به سطوح اپیتلیال[1] روده و پایداری در محیط معده‌ای- روده‌ای انسان

٤- تقویت سیستم ایمنی بدن

۵- فعالیت ضدمیکروبی در مقابل پاتوژن‌های روده‌ای همچون *هلیکو باکتر پیلوری*، گونه‌های مختلف جنس *سالمونلا*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *کلستردیوم دیفیسیل*

٦- خصوصیات ضد جهش‌زایی و ضد سرطان‌زایی

۱-۳- اثرات مفید پروبایوتیک‌ها

خواص سلامت‌بخش باکتری‌های پروبایوتیک به دو دسته غذایی و دارویی طبقه‌بندی می‌شوند. مزایای غذایی شامل نقش آن‌ها در افزایش قابلیت دسترسی زیستی[2] کلسیم، روی، آهن، منگنز، مس و فسفر(مکدوناق و همکاران، ۱۹۸۳)، افزایش قابلیت هضم پروتئین در ماست (بریسلو و کلین، ۱۹۷۳) و سنتز ویتامین‌ها در ماست (دس و تمیم،۱۹۸۱، رابینسون و سامونا،۱۹۹۲) است.

[1] Epithelial
[2] Bio-availability

مزایای دارویی گزارش شده برای پروبایوتیک‌ها شامل کاهش مقدار کلسترول بدن (مان و اسپوری، ۱۹۷٤، پولوسیانی و رائو،۱۹۸۳)، اثرات ممانعت‌کنندگی از سرطان (ردی و همکاران،۱۹۸۳، لیدبک و همکاران، ۱۹۹۲aو ۱۹۹۲b)، جلوگیری از اسهال (کایلاساپاتی و ریبکا،۱۹۹۷، کلمبل و همکاران، ۱۹۹۸)، کاهش اثرات بیماری عدم تحمل لاکتوز (مصطفی و همکاران، ۱۹۹۷)، بهبود پاسخ ایمنی (یاسویی و همکاران،۱۹۹۲، دونت هاقیس و همکاران، ۱۹۹۹)، اثر بازدارندگی بر رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا (رای اردن و فیتزگرالد، ۱۹۹۸)، درمان اختلالات معده‌ای – روده‌ای (مارتئو و همکاران، ۱۹۹۳، هالپرن و همکاران، ۱۹۹٦)، درمان حساسیت‌های‌غذایی (ماجاما و ایزولااوری، ۱۹۹۷) می‌باشد.

۱-٤- بیفیدوباکتریوم‌ها[1]

۱-٤-۱- تاریخچه

باکتری‌هایی که به عنوان جنس *بیفیدوباکتریوم* ارائه شدند اولین بار توسط تیسر در سال ۱۸۹۹ در موسسه پاستور واقع در پاریس فرانسه کشف شدند. تیسر ملاحظه کرد که تعداد *بیفیدوباکتریوم*‌ها در مدفوع کودکان تغذیه شده با شیر مادر به طور قابل توجهی نسبت به کودکان تغذیه شده با شیر خشک، بسیار بیشتر است و این افراد به طور معنی‌داری به اسهال و دیگر عفونت‌ها مقاوم‌تر بودند. این امر منجر شد تا تیسر پیشنهاد کند که خوراندن *بیفیدوباکتریوم*‌ها به بچه‌ها می‌تواند درمان مؤثری برای اسهال باشد (اوسولیوان و کولن، ۱۹۹۸).

[1] *Bifidobacterium*

تئوری‌های مچنیکوف نیز مبین این مطلب است که بر خلاف فرانسه، جوامع دیگر به طور کلی طول عمر بلندتری را داشتند و او پیشنهاد کرد که فلور روده‌ای در این جوامع می‌تواند نقشی در افزایش طول عمر آن‌ها داشته باشد. مچنیکوف متوجه شد که بسیاری از این جوامع فرآورده‌های شیری تخمیر شده مانند ماست که حاوی مقادیر بالایی از باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک هستند، را مصرف می‌کنند. او استدلال کرد که این باکتری‌ها می‌توانند در جلوگیری از باکتری‌های آلوده کننده مؤثر باشند. (اوسولیوان و کولن، ۱۹۹۸).

۱-٤-۲- خصوصیات بیفیدوباکتریوم‌ها

به طور کلی ۳۰ گونه از *بیفیدوباکتریوم*‌ها که از انسان، حیوان، حشرات و منابع محیطی جدا شدند، شناسایی و تشخیص داده شده‌اند. از این گونه‌ها ٦ گونه از منابع انسانی که شامل *بیفیدوباکتریوم آدولسنتیس*، *بیفیدوباکتریوم بروی*، *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*، *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*، *بیفیدوباکتریوم اینفانتیس* و *بیفیدوباکتریوم لانگوم* در فرآورده‌های لبنی مورد استفاده قرار گرفتند. *بیفیدوباکتریوم*‌ها، باکتری‌های گرم مثبت، غیراسپورزا وغیرمتحرک هستند (بویلس تون و همکاران،۲۰۰٤). از نظر مورفولوژی *بیفیدوباکتریوم*‌ها، میله‌ای شکل با اشکال گوناگون و اغلب در شکل ستاره مانند یا V شکل که آرایش Bifid نامیده می‌شوند، قرار می‌گیرند. محل سکونت اولیه این ارگانیسم‌ها روده انسان و بسیاری از حیوانات هستند، بنابراین در فاضلاب نیز یافت می‌شوند و بدین دلیل به عنوان شاخص آلودگی مدفوعی پیشنهاد شده‌اند (اوسولیوان و کولن، ۱۹۹۸).

بیفیدوباکتریوم‌ها در گروه میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی طبقه بندی می‌شوند، گرچه برخی از گونه‌ها توانایی تحمل اکسیژن را دارند، درجه تحمل به اکسیژن بستگی به گونه‌ها و محیط کشت (دی وریس و استوتامر،۱۹۹٦) و حتی به مورفولوژی ارگانیسم‌ها که مثلاً شاخه دار باشند یا نه (نوریس و همکاران، ۱۹۵۰). نژادهای ویژه‌ای از آن‌ها مانند *بیفیدوباکتریوم اینفانتیس*،

بیفیدوباکتریوم بروی و بیفیدوباکتریوم لانگوم ممکن است مکانیسم‌هایی داشته باشند که با استفاده از آن می‌توانند از خاصیت سمی اکسیژن جلوگیری کنند، مانند محدود شدن فعالیت متابولیکی و تولید اسید تحت شرایط هوازی. به طور کلی سمیت اکسیژن در نتیجه تأثیر ترکیبات مختلف اکسیژن فعال شده مانند رادیکال‌های سوپر اکسید و هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن می‌باشد. دو آنزیم سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز در دفاع در مقابل تأثیرات سمی سوپر اکسید و پراکسید هیدروژن مهم هستند (بویلس تون و همکاران، ۲۰۰٤).

pH بهینه برای رشد بیفیدوباکتریوم‌ها ۷-٦/٥ است و از رشد آن‌ها در pH های کمتر از ٥ یا بالای ۸ جلوگیری می‌شود. دمای بهینه رشد برای بیشتر گونه‌های بیفیدوباکتریوم‌ها با منبع انسانی بین C ۳٦° و ۳۸ است در حالی که دمای اپتیمم رشد گونه‌های حیوانی کمی بالاتر می‌باشد (حدود C ٤۳°– ٤۱). هیچ رشدی زیر C ۲۰° وجود ندارد و بیفیدوباکتریوم‌ها هیچ مقاومت گرمایی بالای C ٤٦° ندارند (بویلس تون و همکاران، ۲۰۰٤).

۱-٥- لاکتوباسیلوس‌ها[1]

در سال ۱۹۹۰، مورو اولین محققی بود که باکتری‌های میله‌ای بی‌هوازی اختیاری[2] را از مدفوع کودکان تغذیه شده با شیر مادر جدا کرد و آن را به نمایندگی با عنوان *باسیلوس اسیدوفیلوس*[3] مشخص کرد (یک نام عمومی برای *لاکتوباسیلوس*‌های روده ای). لاکتوباسیلوس‌ها، باکتری‌های گرم مثبت، غیراسپورزا، میله‌ای یا کوکوباسیل‌های غیرمتحرک هستند. آن‌ها یا آئروترولانت[4] هستند

[1] *Lactobacillus*
[2] Facultative anaerobic
[3] *Bacillus acidophilus*
[4] Aerotolerant

یا بی‌هوازی[1] می‌باشند ونیز شدیداً تخمیر کننده[2] هستند. گلوکز می‌تواند به اسید لاکتیک تخمیر شود (هموفرمنتاتیو)[3] یا مقادیر مولی مساوی ازاسید لاکتیک، دی اکسید کربن و اتانول (و یا اسید استیک) به‌دست می‌آید (هتروفرمنتاتیو)[4] (گومز و مالکاتا، ۱۹۹۹).

در حال حاضر ٥٦ گونه از جنس *لاکتوباسیلوس* شناخته شده است. از این میکروارگانیسم‌ها، متداول‌ترین آن‌ها برای استفاده مستقیم، نژادهای *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* است.

لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس میله‌ای با انتهای گرد که به صورت سلول‌های منفرد و نیز دو تایی یا به صورت زنجیری که گاه زنجیرها به شکل کلاف‌های درهم به چشم می‌خورند، می‌باشند. ۰/٦–۰/۹ µm عرض و ۱/٥–٦ µm طول دارند، گرم مثبت، غیرتاژکدار، غیرمتحرک، غیراسپورزا و غیرمقاوم به نمک هستند. میکروآئروفیل هستند بنابراین رشد سطحی این میکروارگانیسم‌ها در شرایط کاهش فشار اکسیژن و ۱۰–٥ ٪ دی اکسیدکربن، افزایش می‌یابد.

لاکتوز تنها قند موجود در شیر است، با این حال گزارش شده که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، ساکارز را به طور مؤثرتری نسبت به لاکتوز مورد استفاده قرار می‌دهد. به علاوه هم گلوکز و هم فروکتوز توسط *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* مورد استفاده قرار می‌گیرد در حالی که گالاکتوز (بخش لاکتوز) نمی‌تواند متابولیزه شود، گلوکز از طریق مسیر امبدن- میرهوف[5] متابولیزه می‌شود و اسید لاکتیک به عنوان تنها محصول نهایی به دست می‌آید.

رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* می‌تواند در دماهای بالا مثلا ٤٥ $^{\circ}$C اتفاق افتد، اما اپتیمم رشد در ٤٠ $^{\circ}$C–۳٥ می‌باشد. مقاومت آن به اسید از ۰/۳ تا ۱/۹ ٪ متغیر است واپتیمم pH آن ٥/٥–٦ می‌باشد (گومز و مالکاتا، ۱۹۹۹).

---

[1] Anaerobic
[2] strictly fermentative
[3] Homofermentative
[4] Heterofermentative
[5] Embden-Meyerhof parnas pathway

لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس یک باکتری مهم در حفظ سلامتی فلور روده‌ای است و به حفاظت بدن در مقابل هجوم *کاندیدا* و دیگر میکروب ها کمک می‌کند. *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* با اتصال به دیواره روده و ممانعت از جایگزینی این میکروب‌ها، به جلوگیری از بیماری‌های ناشی از آن‌ها کمک می‌کند. آن‌ها همچنین با مصرف تمام ذخایر غذایی باعث می‌شوند که باکتری‌های مضر به دلیل کمبود مواد غذایی بمیرند و بدون این که مستقر شوند، خارج کردند. باکتری‌های *اسیدوفیلوس* همچنین با رفع مسمومیت بسیاری از مواد مضر محیط معده‌ای – روده‌ای می‌توانند مؤثر واقع می‌شوند. علاوه بر این *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* قادر به تولید ترکیب ضدمیکروبی است که در مقابل باکتری های دیگر، ویروس ها، پروتوزآ و قارچ‌ها مؤثر است (تنی، ۱۹۹۶).

*اسیدوفیلوس*ها با تولید اسید استیک قادرند pH طبیعی روده را پایین آورده و رشد دیگر باکتری‌هایی که در محیط خیلی اسیدی رشد می‌نمایند را تضعیف می‌کنند (تنی، ۱۹۹۶).

۱-۶- جنبه‌های تولید فرآورده‌های پروبایوتیک

۱-۶-۱- مقدمه

مصرف غذایی فرآورده‌های پروبایوتیک در مقایسه با سایر شیوه‌های دریافت پروبایوتیک‌ها مانند مصرف خوراکی از طریق داروها یا استفاده موضعی مانند پمادها، حداقل به سه دلیل از مقبولیت بیشتر نزد عموم برخوردار است، نخست آن‌که مردم کمتر به مصرف مواد دارویی تمایل نشان می‌دهند، دوم آن‌که جنبه حسی مصرف فرآورده‌های غذایی و لذت حسی ناشی از آن در نظر اغلب اشخاص اجتناب ناپذیر است و سوم آن‌که فرآورده‌های غذایی اثر حمایت کننده