

## تولید ماست اسیدوفیلوس و بررسی خواص پروبیوتیکی آن

دکتر محمد حسن فولادی و دکتر محمد سالار معینی

اعضای هیات علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان

### چکیده

پروبیوتیک به میکروارگانیسم هایی اطلاق می گردد که با بلعیدن آنها اثرات مفیدی روی سلامت میزبان می گذارند و باعث بهبود میکروفلورای طبیعی میزبان می گردند. لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس از باکتری های شیر ترش و از میکرو فلور ای طبیعی روده انسان می باشد این باکتری می تواند در روده انسان کشت داده شود و فلور روده را تغییر دهد. هدف از این تحقیق تعیین شرایط اپتیم تخمیر شیر توسط لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس میباشد. نتایج نشان داد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در شیر بخوبی رشد نمی کند. اضافه کردن ۵٪ آب گوجه فرنگی به شیر کم چرب باعث افزایش رشد باکتری و کاهش پی اچ محصول میشود. شرایط مناسب رشد این باکتری حرارت ۳۵- ۴۰ است ولی در حرارت ۴۵ درجه می تواند رشد کند. PH اپتیم حدود ۵/۵ تا ۶ است و مقاومت آن به اسید بین ۳۰٪ تا ۹۰٪ اسیدیته قابل تیتره شدن است. محصول نهایی کمی ترش مزه و طعم مطلوب پس آب کره دارد. آب انداختن دلمه شیر بمراتب بیشتر از ماست معمولی است که شاید بدلیل فعالیت پروتئولیتیکی باکتریها باشد. همچنین جمع شدن چربی در سطح آب از مشکلات دیگر است و استفاده از شیر کم چرب و یا بدون چربی توصیه میشود. تعداد باکتریهای لاکتیک در نمونه های تولیدی در محیط کشت MRS با روش شمارش صفحه ای استاندارد دویست میلیون باکتری در هر میلی لیتر تعیین گردید. خواص درمانی ماست اسیدوفیلوس در پیشگیری و درمان اختلالات گوارشی مانند اسهال و یبوست از طریق بهبود فلور میکروبی روده، جلوگیری از عفونت های قارچی و درمان علائم آن، تقویت سیستم ایمنی، درمان حساسیت های غذایی و بهبود علائم عدم تحمل به لاکتوز، اثرات ضد سرطانی و کاهش کلسترول خون و جذب سطحی سموم قارچی گزارش شده است.

**کلمات کلیدی:** پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، ماست اسیدوفیلوس، اختلالات گوارشی

## Acidophilus yogurt production and its probiotic properties

M. H. Fooladi and Salarmoini M.

Faculty members of Shahid Bahonar university of Kerman

Probiotics are organisms and substances which help to improve the environment of the intestinal tract. It may be defined as living microorganism which given to animals, assist in the establishment of an intestinal population which is beneficial to the animal and antagonistic to harmful microbes. Lactobacillus acidophilus present in sour milk and live naturally in human intestine. This bacteria can grow in digestive tract and change the microflora of intestine. The aim of this research was to determine optimum conditions for fermenting milk by L. acidophilus. The results indicated that L. acidophilus do not grow well in milk. By addition of 5% tomato juice to milk will enhance bacterial growth and reduces the final PH of fermented product. The optimum growth temperature is 35-40 C but at 45 C growth of bacteria is possible. optimum PH is 5.5 to 6 and its tolerance to acid is 0.3 to 1.9 % titratable acidity as lactic acid. The final product taste is little sour with pleasant buttermilk odor. whey separation in this type of yogurt is much more than Bolgaricus yogurt, May be due to photolytic activity of bacteria. Another problem with this type of yogurt is accumulation of fat on the surface of whey, therefore using low fat or skim milk is recommended for making acidophilus yogurt. Lactic acid bacteria population was counted on MRS media by standard plate count and found to be  $2 \times 10^8$  C.F.U. The therapeutic effects of acidophilus yogurt in prevention and curing of intestinal disorders such as diarrhea by improving microflora of stomach, prevention of fungal infection, improving immune system and food allergy, reducing lactose intolerance symptoms anticarcinogeni effect, reduction of blood cholesterol and binding mycotoxins by Lactic acid bacteria has been reported by different scientists.

**Key words:** probiotic, Lactobacillus acidophilus , Yogurt

### مقدمه:

توسعه مصرف شیر های تخمیری بیشتر به علت گزارش بیولوژیست روسی Metchnikoff در سال ۱۸۴۵ تا ۱۹۱۱ می باشد. او بیان داشت چون باکتری های بیماری زا نمی توانند در محیط اسیدی رشد کنند بنابراین ایجاد محیط اسیدی در روده توسط باکتری های مولد اسید لاکتیک از رشد میکروب های مضر می توانند جلوگیری کنند. او بیان داشت مردم بالکان دارای طول عمر زیاد و سلامت آنها به علت مصرف شیر ترش می باشد او فکر می کرد لاکتو باسیلوس بولگاریکوس عامل تولید اسید در روده است ولی بعداً معلوم شد که این باکتری در روده نمی تواند کشت داده شود. گرچه تنوری او نسبت به افزایش طول عمر انسان ثابت نشد و لی رد هم نشد و باعث شد دانشمندان زیادی کشت باکتری های مولد اسید لاکتیک در روده انسان را دنبال کنند. دانشمندان در دانشگاه Yale نشان دادند که این باکتری می تواند در روده انسان کشت داده شود و فلور روده را تغییر دهد. Kopeloff نشان داد که لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس برای بهبود بعضی

اختلالات گوارشی مثل یبوست و اسهال مفید واقع می‌گردد (۴). انجمن داروسازان و شیمی دانان امریکا برای محصولات مذکور که در معالجات به کار می‌روند مشخصاتی به این ترتیب قائل شده اند. بر روی برجسب تعداد میکروارگانیزم های زنده باید ذکر شود. تاریخ تهیه و تاریخ انقضای مصرف، اعلام تراکم یا غلظت مواد قندی لازم که همراه محصول باید مصرف شود، ذکر گردد. در هر سانتي متر مکعب محصول باید دويست ميليون باکتری زنده وجود داشته باشد و در تاریخ انقضای مصرف تعداد باکتری های زنده نباید کمتر از یکصد میلیون در هر سانتي متر مکعب باشد.

#### مواد و روشها:

در این بررسی از شیر پاستوریزه ۲٪ چربی استفاده گردید. سوش فعال *Lactobacillus acidophilus* LA-5 و *Bifidobacterium lactis* BB-12 قابل کشت در روده انسان از شرکت BIO-LIFE بصورت لیوفیلیزه شده حاوی یک میلیارد باکتری زنده در هر گرم خریداری گردید. برای تهیه ماست اسیدوفیلوس شیر را در حرارت ۱۲۰ درجه به مدت ۱۵-۲۰ دقیقه استریل نموده و قبل از استریل‌سازی ۵٪ آب گوجه فرنگی به آن اضافه شد (۲). از شیر پاستوریزه به علت داشتن میکروارگانیزم های مختلف نمی‌توان استفاده کرد. بعد از استریل‌سازی، شیر را تا ۳۷ درجه سرد کرده و به اندازه ۲٪ از مایع ترش اولیه اضافه کرده و به مدت ۱۰ تا ۴۸ ساعت در حرارت ۳۷ یا ۴۰ درجه گرمخانه گذاری می‌شود تا محصولی با اسیدیته ۰/۶٪ اسید لاکتیک و لخته نرم و یکنواخت تولید گردد. پس از تخمیر محصول در حرارت ۱۵ تا ۲۰ نگهداری می‌شود. اسیدیته بروش تینراسیون و بر حسب اسید لاکتیک تعیین گردید. تعداد لاکتوباسیلوس در محیط کشت MRS و بروش شمارش صفحه ای استاندارد تعیین گردید.

#### نتایج و بحث :

شیر استریل‌شده با ۲٪ چربی توسط مخلوط مساوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس در حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد و شرایط میکروآیروفل بمدت ۲۰ ساعت تخمیر گردید. در این شرایط دلمه بسیار نرم با اسیدیته ۰/۴٪ تشکیل گردید و با افزایش زمان انکوباسیون تا ۳۰ ساعت دلمه سفت تری تولید شد. اضافه کردن ۵٪ آب گوجه فرنگی به شیرو انکوباسیون در حرارت ۴۰ درجه اسیدیته به ۰/۶٪ الی ۰/۷٪ افزایش یافته، دلمه نسبتاسفتی با طعم پس آب کره بدست آمد. مشکل اصلی آب انداختن دلمه در تمام نمونه ها بود که شاید بدلیل فعالیت پروتئولیتیکی باکتریها باشد. جمع شدن چربی در سطح آب از مشکلات دیگر میباشد بنابراین استفاده از شیر بدون چربی توصیه میگردد. بهترین شرایط تخمیر اضافه کردن ۵٪ آب گوجه فرنگی به شیر کم چرب قبل از استریل‌سازی و انکوباسیون در حرارت ۴۰ درجه بمدت ۱۰ ساعت تعیین گردید. در این شرایط هر میلی لیتر محصول حاوی دویست میلیون باکتری زنده میباشد و با ضوابط انجمن شیمی دانان و دارو سازان مطابقت دارد.

بیشتر سوش های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس قادر به تخمیر امیگدالین، سلو بیوز، فروکتوز، گالاکتوز، گلوکز، لاکتوز، مالتوز، مانوز، ساکاروز هستند (۹). گر چه تنها قند شیر لاکتوز است ولی L.A. قند ساکاروز را بهتر از قند لاکتوز استفاده میکند و این بدلیل فعالیت بتا - گالاکتوزیداز و بتا - فروکتوز فورانوزیداز است. گالاکتوزیداز بوسیله L.A. تولید می‌شوند ولی قند گالاکتوز که از تجزیه لاکتوز تولید می‌شود به خوبی مورد استفاده قرار نمی‌گیرد (۱۰). قند گلوکز از مسیر امیدن- میرهوف متابولیزه شده و محصول نهایی آن اسید لاکتیک است راندمان تولید اسید لاکتیک 1.8 mol/mol glucose همراه مقدار جزئی ترکیبات فرعی می‌باشد. از متابولیزم لاکتوز ممکن است مقداری استالندید که ترکیب طعم دهنده می‌باشد تولید شود. در بعضی موارد استالندید از متابولیسم ترکیبات ازت دار مانند تره اونین تولید می‌شود چون فعالیت شدید تره اونین آلدولاز در L.A. گزارش شده است. رشد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در حرارت ۴۵ درجه ممکن است، ولی حرارت اپتیمم رشد ۳۵ تا ۴۰ است. اپتیمم PH حدود ۵/۵ تا ۶ و مقاومت آن به اسید بین ۰/۳ تا ۱/۹ درصد اسیدیته قابل تیره شدن است (۷). L.A. نیازهای غذایی پیچیده ای دارد نیاز به اکسیژن کم، کربوهیدراتهای قابل تخمیر، پروتئین، ویتامین های گروه B، مشتقات اسید نوکلئیک، اسید های چرب غیر اشباع و مواد معدنی منیزیم، منگنز، آهن و ترکیبات تیول دار رشد L.A. را تسریع می‌کنند در حالی که پپتونها و تریپسین تولید اسید را تحریک می‌کنند. اضافه کردن آب گوجه فرنگی به شیر کم چربی باعث افزایش رشد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کوتاه شدن زمان نسل، افزایش مصرف قند ها و کاهش PH می‌شود (۲).

#### خواص پروبیوتیکی ماست اسیدوفیلوس :

مخاط روده و میکرو فلورای طبیعی روده به عنوان سدی از ورود باکتری های بیماری زا، آنتی ژن ها، و سایر مواد سمی به خون جلوگیری می‌کنند. در افراد سالم این سد میزبان را محافظت کرده و فعالیت عادی روده انجام می‌شود. موقعیکه سلول های مخاطی یا میکروفلورای طبیعی بوسیله پاتوژنها، رژیم غذایی نامطلوب، آنتی ژن ها و مواد رادیو اکتیو تغییر کنند نفوذ پذیری مخاط روده تغییر کرده و باکتری های بیماری زا می‌توانند به خون حمله کنند. مطالعات

متعددی اثرات پروبیوتیک ها را در درمان اختلالات گوارشی بررسی نموده اند و مکانیسم های مختلفی ارائه شده است از جمله (۳):

- ۱- تقویت سیستم ایمنی معده
  - ۲- جلوگیری از اتصال باکتری های پاتوژن به مخاط روده و یا جلوگیری از فعالیت پاتوژن ها از طریق تولید ترکیبات ممانعت کننده مثل اسید های آلی ، هیدروژن پراکسید ، تجزیه اسید های صفراوی و جذب آهن و در نتیجه غیر قابل دسترس شدن آهن برای پاتوژن ها .
  - ۳- از طریق تغییر دادن فعالیت آنزیمی باکتری ها و در نتیجه تغییر دادن نفوذ پذیری معده . باکتری های پروبیوتیک قادرند در شرایط دستگاه گوارش زنده بمانند .
  - ۴- پروبیوتیک ها می توانند در روده انسان رشد کنند و با چسبیدن به سلول های مخاطی دیواره سلولی، میکروفلورای جدید روده را تشکیل دهند . پروبیوتیک ها می توانند نقش مهمی در درمان تورم روده و درمان اثرات سوء اشعه درمانی و تورم روده بزرگ داشته باشند .
- بررسی ها نشان داده است که در سرطان روده میکرو فلورای روده نقش دارند. اثر آنها از طریق آنزیمهای باکتریایی مثل بتا- گلوکورونیداز، بتا-گلوکوزیداز، نیتروردوکتاز و اوره آز می باشد که پیش ساز های سرطانزا را به ترکیبات سرطانزا تبدیل می کند (۱). بررسی های انجام شده روی حیوانات نشان داده است لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدو باکتریوم ها قادرند فعالیت اینگونه آنزیم ها را کاهش دهند . مطالعات مشابهی روی انسان انجام شده و گزارش شده مصرف محصولات تخمیری پروبیوتیک باعث کاهش فعالیت آنزیم های باکتریایی و ترکیبات جهش زا در مدفوع شده اند . این اثرات مفید با تغییر میکرو فلورای دستگاه گوارش همراه بوده است (۸). مطالعات متعددی نشان داده اند مصرف روزانه ۵۰۰ تا ۶۰۰ میلی لیتر محصولات پروبیوتیک شیر در کاهش کلسترول خون موثر بوده است . اثر کاهش کلسترول خون به دلیل وجود ترکیباتی مثل اسید های آلی ، هیپروکسی متیل گلو و تاریک اسید و Orotic acid می باشد . این ترکیبات مانع سنتز کلسترول می شوند (۵). مطالعات انجام شده روی خوک و موش نشان داده L.A. علاوه بر کاهش کلسترول خون باعث افزایش تعداد لاکتوباسیل ها و کاهش تعداد کلیفرم ها در مدفوع حیوانات در مقایسه با گروه شاهد که از ماست بو لگاریکوس تغذیه شده بودند گردید، و بیانگر این موضوع است که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بهتر از لاکتوباسیلوس بولگاریکوس در روده مستقر شده و زنده می ماند (۱). گرچه مکانیزم کاهش کلسترول خون با مصرف محصولات پرو بیوتیک L.A. دقیقاً مشخص نشده ولی آزمایشات خارج از بدن موجود زنده نشان داده L.A. قادر به جذب کلسترول موجود در محیط کشت در شرایط اسیدی می باشد (۶) .

## References

- 1- Akalin, A.S. , Gonc,S.and Duzel, S.(1997) `Influence of Yogurt and Acidophilus Yogurt on serum Cholesterol Levels in Mice. Journal of Dairy Science 80, 2721-2725
- 2- Babu,V.Mital,B.K.and Garg,S.K.(1992) `Effect of Tomato juice Addition on the Growth and Activity of Lactobacillus acidophilus.` International Journal of Food Microbiology. 17. 67-70
- 3 - Bernet , M.F., Brassart, D ., Neeser, J.R. and Servin,A.(1993) `Adhesion of Human Bifidobacterial Strains to Cultured Human Intestinal Epithelial Cells and Inhibition of Entero Pathogen-cell interactions`. Applied and Environmental Microbiology 59,4121-4128
- 4- Borgstrom , G.(1976).In : Principles of Food Science. Vol. 1, Food and nutrition Press ,Inc.Westport,Connecticut.P397
- 5- Fernandes. C.F, Shahani, K. M. and Amer, M.A..(1987) `Therapeutic. Role of Dietary Lactobacilli and Lactobacilli fermented Dairy products.` FEMS Microbiology Reviews 46,343-356
- 6- Gilliland, S. E.(1990) `Health and Nutritional Benefits from lactic Acid Bacteria in FEMS Microbiology Reviews 87,175- 188
- 7- Marshall, V. M. and Cole. W.M.(1983) `Threonine Aldolase and Alcohol Dehydrogenase activities in Lactobacillus bulgaricus and Lactobacillus acidophilus and their contribution to flavour production in Fermented Milks.` Journal of Dairy Research 50 .375-379
- 8-Marteau ,P. and Rambaud.I C.(1993) `Potential of using lactic Acid Bacteria for Therapy and Immunomodulation in Man . FEMS Microbiology Reviews 12. 207-220
- 9-Nahaisi , M.H.(1986) `Lactobacillus acidophilus Therapeutic Properties, products and Enumeration.(chapter 6) in Developments in Food Microbiology , (Robinson, R.K.,ed),pp.153-178.Elsevier. Applied Science Publishers.London.UK
- 10-Nielsen, J.W. and Gilliland, S.E.(1992) `The Lactose Hydrolyzing Enzyme from Lactobacillus acidophilus.` Cultured Dairy Products Journal. 27,20-24
- 11-Salminen,S, Isolauri, E. and Salminen, E.(1996) `Clinical uses of Probiotics for stabilizing the Gut Mucosal Barrier: Successful Strains and Future Challenges.` Antonie van Leeuwenhoek 70,347-358