ORIGINAL ARTICLE

# *Viability of Probiotic Bacteria in Yogurts Produced in Mazandaran Province Exposed to Simulated Gastrointestinal Conditions*

Mohammad Reza Shiran[1],
Esmaeil Babanezhad[2],
Fatemeh Khaleghi[3],
Ali Asghar Nadi Ghara[4],
Mastaneh Payab[5]

[1] Associate Professor, The Health of Plant and Livestock Products Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Environmental Health, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] PhD in Natural Products Chemistry, The Health of Plant and Livestock Products Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] PhD in Statistics, Health Sciences Research Center, Addiction Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[5] MSc in Microbial Biotechnology, The Health of Plant and Livestock Products Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received March 16, 2022 ; Accepted August 29, 2022)

## *Abstract*

**Background and purpose:** Production of functional foods is one of the most important achievements in food industry and using these products provides the convergence of two important events in life; namely receiving nutrients from the diet and promoting health for consumers at the same time. This study aimed to verify the viability of microorganisms and stability of these microorganisms in digestive conditions of the body in order to benefit from the claimed properties of these products.

**Materials and methods:** In this experimental study, 14 samples of probiotic yogurts were collected from three dairy factories in Mazandaran province in summer 2020. The test method consisted of three main steps; determining the viability of probiotic bacteria in the samples over time, then simulating the conditions of the gastrointestinal conditions, including pH changes and exposure to pepsin and bile salts, and finally, evaluating the resistance of microorganisms after passing the conditions of gastric and intestinal simulated condition. Statistical analysis was performed using SPSS.

**Results:** In the study of viability of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*, a significant difference was observed between the mean number of colonies both at different weeks and different pH levels ($P<0.05$). Yet, the number of probiotic bacteria remained within acceptable standard range ($10^6$ cfu/g) over time and did not show a considerable reduction even after passing the acidic and alkaline conditions and tolerating the simulated digestive conditions.

**Conclusion:** According to this study, if strains (probiotic bacteria) resistant to acid and bile are selected and also suitable environmental conditions are used, consumption of probiotic yogurts can be of great benefit in improving the health of consumers.

***Keywords:*** probiotic, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, yogurt

**J Mazandaran Univ Med Sci 2022; 32 (213): 29-41 (Persian).**

**Corresponding Author: Fatemeh Khaleghi -** The Health of Plant and Livestock Products Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: abedianlab@yahoo.co.uk)

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-22 ]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و دوم شماره 213 مهر سال 1401 (41-29)

# بررسی قابلیت زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست‌های تولیدی استان مازندران در شرایط دستگاه گوارش شبیه‌سازی شده

**محمدرضا شیران[1]**
**اسماعیل بابانژاد[2]**
**فاطمه خالقی[3]**
**علی اصغر نادی قرا[4]**
**مستانه پیاب[5]**

## چکیده

**سابقه و هدف:** تولید غذاهای فرا سودمند، از دستاوردهای مهم در صنایع غذایی محسوب می‌شود و استفاده از این محصولات، همگرایی دو رویداد مهم در زندگی یعنی دریافت مواد مغذی از رژیم غذایی و ارتقای سلامت به‌طور همزمان، برای مصرف‌کنندگان را فراهم می‌نماید. این مطالعه با هدف راستی آزمایی وجود میکرو ارگانیسم‌ها و همچنین پایداری این میکرو ارگانیسم‌ها در شرایط گوارشی بدن به منظور بهره‌مندی از خواص مورد ادعای این محصولات، انجام پذیرفت.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، 14 نمونه‌ی ماست پروبیوتیک از سه کارخانه تولیدی در استان مازندران، در تابستان سال 1399 جمع‌آوری شد. روش اجرای آزمایشات شامل سه مرحله اصلی، تعیین قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک در نمونه‌های ماست در طول زمان، سپس شبیه‌سازی شرایط دستگاه گوارش شامل تغییرات pH و مجاورت با پپسین و نمک‌های صفراوی و نهایتا بررسی مقاومت میکرو ارگانیسم‌ها پس از عبور از شرایط شبیه‌سازی معده و روده بود. آنالیز آماری داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و با سطح اطمینان 0/05 درصد انجام شد.

**یافته‌ها:** در بررسی قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک *بفیدوباکتریوم و لاکتو باسیلوس* در نمونه‌های مورد مطالعه، تفاوت معنی‌داری در میانگین کلنی‌ها، هم در هفته‌های مختلف و هم در سطوح مختلف pH مشاهده شد ($P<0/05$). اما، تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در طول زمان و حتی پس از تحمل شرایط شبیه‌سازی شده‌ی گوارشی، در حد قابل قبول استاندارد، $10^6$ cfu/g، باقی مانده و کاهش قابل توجهی نداشتند.

**استنتاج:** مطابق نتایج این مطالعه، در صورت انتخاب سویه‌های (باکتری‌های پروبیوتیک) مقاوم به اسید و صفرا و هم‌چنین استفاده از شرایط محیطی مناسب، مصرف ماست‌های پروبیوتیک می‌تواند موجب بهره‌مندی از خواص باکتری‌های موجود در آن‌ها و در نتیجه ارتقای سلامت مصرف‌کنندگان گردد.

**واژه های کلیدی:** پروبیوتیک، *لاکتو باسیلوس*، *بیفیدوباکتریوم*، ماست

## مقدمه

غذاهای فرا سودمند یا عملگر (functional foods)، مواد غذایی یا ترکیبات مغذی را توصیف می‌کند که هضم آن‌ها با تغییرات فیزیولوژیکی قابل توجه در بدن همراه است و این اثرات از نقش آن‌ها به عنوان مواد مغذی، کاملاً مجزا و مشخص است(1،2).

**مولف مسئول: فاطمه خالقی -** ساری: دانشگاه علوم پزشکی مازندران - مرکز تحقیقات سلامت فرآورده های گیاهی و دامی E-mail: ftkhaleghi@yahoo.com
1. دانشیار، مرکز تحقیقات سلامت فرآورده های گیاهی و دامی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
2. استادیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
3. دکتری شیمی گرایش ترکیبات طبیعی، مرکز تحقیقات سلامت فرآورده های گیاهی و دامی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
4. دکتری آمار، مرکز تحقیقات علوم بهداشتی، پژوهشکده اعتیاد، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
5. فوق لیسانس زیست فناوری میکروبی، مرکز تحقیقات سلامت فرآورده های گیاهی و دامی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : 1400/12/25 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : 1401/2/4 تاریخ تصویب : 1401/6/7



[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-22 ]

پروبیوتیک‌ها موجودات زنده و فعال میکروسکوپی هستند که خوردن آن‌ها، باعث تغییر میکروبیوم دستگاه گوارشی درجهت سلامتیِ بیش‌تر می‌شود(3). در سال‌های اخیر، مصرف پروبیوتیک‌ها به دلایل متعددی از جمله اثرات تقویت‌کنندگی سیستم ایمنی تا مزایای اثبات شده در مدیریت شرایط بالینی مختلف توصیه می‌شود(4). مطالعات زیادی در خصوص تاثیر مثبت استفاده از محصولات پروبیوتیک در کمک به درمان سرطان، اسهال (هر دو اسهال ناشی از آنتی‌بیوتیک‌ها و عفونت)، یبوست)، بیماری التهابی روده و سندرم روده تحریک پذیر، بیماری لثه، عدم تحمل لاکتوز، بهبود حساسیت یا آلرژی و غیره انجام شده است(16-5). تعداد فزاینده‌ای از محصولات تجاری حاوی پروبیوتیک در سراسر جهان در دسترس هستند. نکته مهم در این محصولات، صرف نظر از این‌که غذا، مکمل غذایی یا دارو باشند، وجود تعداد کافی و زنده مانی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک تا پایان زمان ماندگاری(shelf-life) محصول است تا بتواند از دستگاه گوارش در برابر اسید و صفرا عبور کرده و خواص عملکردی مورد نظر را حفظ نماید(17). امروزه تنوع محصولات پروبیوتیک در بازار ایران نیز رو به افزایش است و بهره‌مندی از خواص این محصولات در میان مصرف‌کنندگان با اقبال زیادی مواجه شده است. از آن‌جایی‌که، محصولات لبنی از بهترین محصولات برای رشد پروبیوتیک‌ها و رساندن آن‌ها به بدن هستند، درخواست‌های متعدد در سال‌های اخیر برای صدور پروانه‌های بهداشتی ساخت محصولات لبنی پروبیوتیک درمعاونت غذا و داروی دانشگاه علوم پزشکی مازندران، که حوزه کاری نویسندگان این مطالعه می‌باشد، گواهی بر این ادعاست(19،18). اگرچه سویه‌های مختلفی از باکتری‌های اسید لاکتیک به عنوان پروبیوتیک مطرح می‌گردد و می‌توانند مورد بهره برداری قرار بگیرند، اما تنها تعداد کمی از این باکتری‌ها استانداردهای جهانی را دارا بوده و بسیاری از آن‌ها به اسیدیته‌ی بالای معده و صفرای موجود در روده حساس هستند و در مسیر دستگاه گوارش می‌میرند(21،20). بسیاری ازمحصولات پروبیوتیک موجود در بازار حاوی گونه‌های *لاکتو باسیلوس* و *بیفیدوباکتریوم* می‌باشند که جزء مهم‌ترین گونه‌های گرم مثبتی هستند که در حال حاضر به عنوان پروبیوتیک مطرح می‌باشند(22). لازم به ذکر است که، مطالعاتی از سراسر جهان نشان می‌دهد که تناقضات و انحرافات از اطلاعات ارائه شده روی برچسب محصول به طرز شگفت‌آوری رایج است(17). بر این اساس این مطالعه با هدف بررسی ویژگی‌های ماست های پروبیوتیک و قابلیت زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک موجود در آن‌ها قبل و بعد از قرار گرفتن در معرض شرایط شبیه‌سازی شده معده و روده انجام پذیرفت تا پاسخی مستدل بر پرسش‌های مصرف‌کنندگان این محصولات تجاری مبنی بر بهره‌مندی از خواص پروبیوتیک‌ها ارائه داده شود.

## مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC.1399.7945، به بررسی وجود و زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک در تعدادی از نمونه‌های ماست تولیدی استان مازندران (با ادعای تولید محصولات پروبیوتیک)، با در نظر گرفتن تاثیر متغیر زمان در مدت زمان ماندگاری محصول و همچنین متغیر pH و حضور آنزیم‌های گوارشی، در شرایط شبیه‌سازی شده معده و روده، پرداخته شد.

*نمونه‌برداری*

نمونه‌گیری از ماست‌های پروبیوتیک، توسط کارشناسان اداره نظارت غذا و دارو و در حین تولید، از 3 کارخانه تولید محصولات لبنی در استان مازندران (کارخانه‌های A، B و C) انجام شد. هم‌چنین در انتقال نمونه‌ها از محل تولید تا آزمایشگاه شرایط زنجیره انتقال سرد نیز رعایت گردید. روش اجرای آزمایشات شامل سه مرحله اصلی شامل، تعیین قابلیت زیستی باکتری‌های

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-22 ]

پروبیوتیک (شمارش زنده) در ماست، شرایط شبیه‌سازی شده معده و شمارش پروبیوتیک‌های زنده (آزمون بررسی مقاومت میکروارگانیسم در شرایط اسیدی) و شرایط شبیه‌سازی شده روده و شمارش پروبیوتیک‌های زنده (آزمون بررسی مقاومت میکروارگانیسم به نمک‌های صفراوی (بایل)، بوده است. در ابتدا فرمولاسیون ماست‌ها با استفاده از پروانه‌های بهداشتی ساخت، شامل نوع باکتری‌های پروبیوتیک موجود در فرمول ساخت آن محصولات مورد بررسی قرار گرفتند. مطابق بررسی‌های انجام شده مشخص شد که از یکی از کارخانه‌ها با علامت اختصاری (A) از دو پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به‌طور هم‌زمان و دو کارخانه دیگر (C و B) تنها از یک باکتری پروبیوتیک (کارخانه B از *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و کارخانه C از *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*) در فرمول ساخت محصولات استفاده نمودند.

*مواد اولیه*

در این مطالعه، محیط‌های کشت مورد نیاز جهت انجام آزمون میکروبی، نظیر MRS-Agar از شرکت مرک آلمان، MRS-Broth شرکت Qlab و مالتوز، نمک‌های صفراوی، تریپسین، ال-سیستئین، نالیدیکسیک اسید و نئومایسین تولید شده در شرکت سیگما-آلدریچ مورد استفاده قرار گرفتند.

*آزمون میکروبی*

آزمون‌های لازم برای تایید و صحت وجود باکتری پروبیوتیک مورد ادعای هر کارخانه تولیدکننده، مطابق با روش مرتضویان و همکاران انجام شد(23). پلیت‌ها در شرایط هوازی و بی‌هوازی در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت 72 ساعت گرم خانه گذاری شدند. شرایط هوازی منجر به رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* شد و شرایط بی‌هوازی که استفاده از جار بی‌هوازی و گاز پک ایجاد شد رشد *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* را در پی داشت.

برای جلوگیری از رشد باکتری‌های سنتی ماست از بایل (صفرا) استفاده گردید. در واقع بایل مانع از رشد باکتری‌هایی که به‌طور سنتی در ماست هستند می‌شود. نمک‌های صفراوی به مقدار 0/15 درصد به محیط کشت MRS-Agar اضافه شد و به منظور بررسی تاثیر متغیر زمان، این روش برای سه هفته متوالی تکرار و نهایتا تعداد باکتری‌ها با سه تکرار شمارش شد(23).

*ارزیابی زنده مانی پروبیوتیک‌ها در محیط شبیه‌سازی معده*

برای شبیه‌سازی شرایط معده، آنزیم تریپسین به محلول سدیم کلراید (w/v)0/2 درصد اضافه شد تا غلظت نهایی آن در نمک به 0/3 گرم بر لیتر برسد. جهت تنظیم pH متناسب با شرایط اسیدی معده از HCl 0/1 مولار استفاده شد تا pH برابر 2/26 حاصل شده و شرایط اسیدی معده فراهم شود(24). به منظور بررسی میزان مقاومت میکروارگانیسم‌ها در شرایط معده شبیه سازی شده، شمارش پروبیوتیک‌ها پس از قرار گرفتن به مدت سه ساعت در این شرایط انجام شد(25). بدین‌منظور از کلنی‌های رشد یافته در مرحله قبل، سوسپانسیون نیم مک فارلند تهیه شد و یک میلی‌لیتر از این سوسپانسیون به ده میلی لیتر محیط معده، تلقیح و به مدت 3 ساعت در دمای 37 درجه گرم‌خانه گذاری شد. هم زمان تمامی مراحل در محیط کنترل، که شامل تمامی موارد مربوط به شبیه‌سازی شرایط معده و فاقد نمونه میکروارگانیسم می‌باشد، نیز انجام شد. سپس یک میلی‌لیتر از نمونه فوق در محیط کشت MRS-Agar به مدت 72 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد گرم خانه گذاری و برای *لاکتو باسیلوس* به صورت هوازی و *بیفیدوباکتریوم* در جار بی‌هوازی کشت داده شد. جهت بررسی فاکتور زمان، این روش برای سه هفته متوالی تکرار و نهایتا تعداد باکتری‌ها با سه تکرار شمارش شد(25).

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-22 ]

*ارزیابی زنده مانی پروبیوتیک‌ها در شرایط شبیه‌سازی روده*

در این بخش از مطالعه، ارزیابی زنده مانی باکتری‌ها در شرایط روده شبیه‌سازی شده مورد بررسی قرار گرفت. به منظور شبیه‌سازی شرایط قلیایی روده از پانکراتین و نمک صفراوی در بافر فسفات $Na_2HPO_4$ 0/05 مول بر لیتر استفاده شد تا به ترتیب به غلظت نهایی 1 گرم بر لیتر و 4/5 گرم بر لیتر برسند سپس با استفاده از NaOH 0/1 درصد، pH محیط به 8 رسانده شد(24). به منظور ارزیابی زنده مانی باکتری‌ها در شرایط روده شبیه سازی شده، از کلنی‌های رشد یافته که شرایط اسیدی معده را گذراندند، سوسپانسیون نیم مک فارلند تهیه و مقدار یک میلی لیتر از سوسپانسیون به ده میلی‌لیتر محیط روده (محیط قلیایی با نمک‌های صفراوی (بایل) و آنزیم پانکراتین) تلقیح و به مدت 22 ساعت در دمای 37 درجه گرم خانه‌گذاری انجام شد. هم زمان تمامی مراحل در محیط کنترل، که شامل تمامی موارد مربوط به شبیه‌سازی شرایط روده اما فاقد نمونه میکروارگانیسم می‌باشد، نیز انجام شد. سپس یک میلی‌لیتر از نمونه مورد نظر در محیط کشت MRS-Agar به مدت 72 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد گرم خانه‌گذاری و برای *لاکتو باسیلوس* به صورت هوازی و *بیفیدوباکتریوم* در جاربی هوازی کشت داده شد. جهت بررسی فاکتور زمان، این روش برای سه هفته متوالی تکرار، و نهایتا تعداد باکتری‌ها با سه تکرار شمارش شد(25). جهت شمارش *بیفیدوباکتریوم* از محیط MRS-Agar حاوی آنتی‌بیوتیک‌های نالیدیکسیک اسید، نئومایسین سولفات و لیتیم کلراید استفاده شد. نقش نالیدیکسیک اسید در این محیط، جلوگیری از رشد باکتری‌های گرم منفی می‌باشد. نئومایسین سولفات به عنوان بازدارنده رشد باکتری‌های گرم مثبت و لیتیم کلراید هم به عنوان عامل انتخابی رشد *بیفیدوباکتریوم* است. به منظور ایجاد شرایط احیاء برای رشد بهتر *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*، از ال-سیستئین هیدروکلراید استفاده شد. جهت تهیه محیط کشت مورد اشاره، ابتدا مطابق دستور مندرج بر روی بسته، مقدار مناسبی از محیط MRS-Agar توزین شده و به کمک حرارت در آب مقطر حل و همگن شد. محیط کشت حاصله به مدت 20 دقیقه در دمای 121 درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شد. قبل از انتقال به پلیت، محلول‌های نالیدیکسیک اسید (15 میلی‌گرم در لیتر)، نئومایسین سولفات (100 میلی‌گرم در لیتر)، لیتیم کلراید (3 گرم در لیتر) و ال- سیستئین (0/5 گرم در لیتر) به محیط کشت اضافه شدند. لازم به ذکر است که، استفاده از تست‌های آنتی بیوتیکی، برای شناسایی و تمایز دقیق کلنی‌های تشکیل شده میکروارگانیسم‌های مورد نظر از میکروارگانیسم‌های سنتی ماست انجام شدند(25).

*روش آماری*

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. پس از بررسی نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک، از تحلیل واریانس (ANOVA) برای مقایسه بین گروه‌های مختلف و آزمون دنباله‌ای توکی (Tukey HSD) برای بررسی اختلاف دو به دوی متغیرها استفاده شده است.

## یافته‌ها

*بررسی قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک به‌کار رفته در نمونه‌های ماست*

با توجه به این‌که از مهم‌ترین عوامل موثر بر زنده مانی پروبیوتیک‌ها، گذشت زمان و شرایط نگه داری می‌باشد، در این طرح زنده مانی پروبیوتیک‌ها در سه هفته متوالی (هفته اول، هفته دوم و هفته سوم) و شرایط نگه‌داری در دمای یخچال مورد بررسی قرار گرفت. نتایج ذکر شده مربوط به مرحله بدون تغییر شرایط pH در جداول شماره 1 و 2 و هم‌چنین نتایج مربوط به مرحله "خنثی" در جدول شماره 3 مربوط به بررسی زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک در شرایط معمول نگهداری (یخچال) می‌باشند. مطابق اصلاحیه شماره یک استاندارد ملی ایران به شماره 11325، قابلیت زیستی (شمارش زنده) هر یک از گونه‌های

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-22 ]

پروبیوتیک به کار رفته در ماست پروبیوتیک تا پایان تاریخ قابلیت انقضا مصرف نباید کم‌تر از $10^6$ CFU/g باشد. جدول شماره 1 میانگین نتایج شمارش زنده *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و جدول شماره 2 میانگین نتایج شمارش زنده *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به کار رفته در نمونه‌های ماست پروبیوتیک را نشان می‌دهد. مطابق نتایج ارائه شده در جداول مذکور، تعداد باکتری‌های پروبیوتیک حتی پس از عبور از شرایط شبیه‌سازی شده‌ی گوارشی و تحمل شرایط محیط اسیدی و بازی، کاهش قابل توجهی نیافته و در حد قابل قبول استاندارد باقی ماندند.

*شرکت تولیدی A*

برای بررسی تاثیر مدت زمان نگهداری محصول، نوع باکتری و شرایط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش (شامل تغییرات pH و افزودنی‌های مربوط به شرایط هضم) بر کلنی باکتری‌ها در ماست‌های بررسی شده‌ی شرکت A (حاوی دو باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*)، از روش تحلیل واریانس استفاده شد. جدول شماره 3 خروجی مربوط به آمار توصیفی تعداد مشاهدات، میانگین و واریانس کلنی‌ها را به تفکیک متغیرهای مستقل نشان می‌دهد. هم‌چنین در جدول شماره 4، نتایج تحلیل واریانس سه راهه، جهت مقایسه میانگین کلنی‌های تشکیل شده در ماست شرکت A مشاهده می‌گردد.

**جدول شماره 1:** قابلیت زیستی (شمارش زنده) *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به کار رفته در نمونه‌های ماست پروبیوتیک

| میانگین تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس CFU/g | | | |
|---|---|---|---|
| کد نمونه | مرحله یک بدون تغییر شرایط pH | مرحله دو تلقیح در تریپسین pH =2/26 | مرحله سوم تلقیح در پانکراتین pH = 8 |
| A1 | $17/3\times10^6$ | $14\times10^6$ | $8/8\times10^6$ |
| A2 | $8\times10^6$ | $7/5\times10^6$ | $7/2\times10^6$ |
| A3 | $10/9\times10^6$ | $10\times10^6$ | $9/1\times10^6$ |
| A4 | $20/3\times10^6$ | $11\times10^6$ | $9/3\times10^6$ |
| A5 | $26/8\times10^6$ | $10/1\times10^6$ | $9\times10^6$ |
| A6 | $29/3\times10^6$ | $23/9\times10^6$ | $21/5\times10^6$ |
| B1 | $9/2\times10^6$ | $9/1\times10^6$ | $6/7\times10^6$ |
| B2 | $9/8\times10^6$ | $8/5\times10^6$ | $8\times10^6$ |

**جدول شماره 2:** قابلیت زیستی (شمارش زنده) *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به کار رفته در نمونه‌های ماست پروبیوتیک

| میانگین تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس CFU/g | | | |
|---|---|---|---|
| کد نمونه | مرحله یک بدون تغییر شرایط pH | مرحله دو تلقیح در تریپسین pH =2/26 | مرحله سوم تلقیح در پانکراتین pH = 8 |
| A1 | $18/5\times10^6$ | $15/7\times10^6$ | $15/7\times10^6$ |
| A2 | $22\times10^6$ | $19/9\times10^6$ | $18/1\times10^6$ |
| A3 | $15/7\times10^6$ | $13\times10^6$ | $10/7\times10^6$ |
| A4 | $37/7\times10^6$ | $13/3\times10^6$ | $11/2\times10^6$ |
| A5 | $27/5\times10^6$ | $13/1\times10^6$ | $11/8\times10^6$ |
| A6 | $29/3\times10^6$ | $20/4\times10^6$ | $19/9\times10^6$ |
| C1 | $23/6\times10^7$ | $20/9\times10^7$ | $16/8\times10^7$ |
| C2 | $25/4\times10^7$ | $21/4\times10^7$ | $18/6\times10^7$ |
| C3 | $10^7\times26/8$ | $10^7\times22/7$ | $10^7\times19/5$ |
| C4 | $10^7\times41/8$ | $10^7\times37/3$ | $10^7\times20/9$ |
| C5 | $10^7\times40/4$ | $10^7\times35/4$ | $10^7\times24/1$ |
| C6 | $10^7\times39/5$ | $10^7\times34/1$ | $10^7\times24/1$ |

**جدول شماره 3:** تجزیه واریانس قابلیت زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در نمونه‌های ماست پروبیوتیک شرکت A متاثر از زمان و pH (شرایط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش)

| | | | میانگین | انحراف از معیار | تعداد مشاهدات |
|---|---|---|---|---|---|
| هفته اول | *بیفیدوباکتریوم* | اسیدی | 103/46 | 29/347 | 54 |
| | | بازی | 91/98 | 27/481 | 54 |
| | | خنثی | 128/80 | 39/121 | 54 |
| | *لاکتوباسیلوس* | اسیدی | 74/63 | 24/456 | 54 |
| | | بازی | 61/83 | 17/951 | 54 |
| | | خنثی | 83/72 | 38/797 | 54 |
| هفته دوم | *بیفیدوباکتریوم* | اسیدی | 138/00 | 30/558 | 18 |
| | | بازی | 138/17 | 28/875 | 18 |
| | | خنثی | 120/28 | 29/379 | 18 |
| | *لاکتوباسیلوس* | اسیدی | 35/50 | 22/822 | 18 |
| | | بازی | 33/78 | 24/342 | 18 |
| | | خنثی | 38/33 | 26/522 | 18 |
| هفته سوم | *بیفیدوباکتریوم* | اسیدی | 118/61 | 26/732 | 18 |
| | | بازی | 114/06 | 24/832 | 18 |
| | | خنثی | 119/78 | 20/553 | 18 |
| | *لاکتوباسیلوس* | اسیدی | 28/56 | 24/507 | 18 |
| | | بازی | 28/00 | 25/356 | 18 |
| | | خنثی | 36/17 | 23/147 | 18 |

**جدول شماره 4:** تحلیل واریانس (ANOVA) اثر تیمار ها بر میانگین کلنی های تشکیل شده

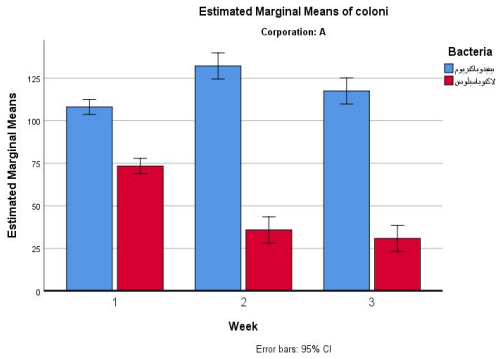
| متغیرها | مجموع مجذورها | درجه آزادی | مجذور میانگین | F | سطح معنی داری | Partial Eta Squared |
|---|---|---|---|---|---|---|
| هفته | 22748/642 | 2 | 11374/321 | 13/773 | 0/000 | 0/050 |
| باکتری | 547587/337 | 1 | 547587/337 | 663/057 | 0/000 | 0/560 |
| سطح pH | 6776/932 | 2 | 3388/466 | 4/103 | 0/017 | 0/015 |
| هفته*باکتری | 105583/363 | 2 | 52791/681 | 63/924 | 0/000 | 0/197 |
| هفته*سطح pH | 20896/336 | 4 | 5224/084 | 6/326 | 0/000 | 0/046 |
| باکتری*سطح pH | 277/272 | 2 | 138/636 | 0/168 | 0/846 | 0/001 |
| هفته*باکتری*سطح pH | 6852/067 | 4 | 1713/017 | 2/074 | 0/083 | 0/016 |

* : نشانگر تاثیر متقابل متغیرها بر یکدیگر است.

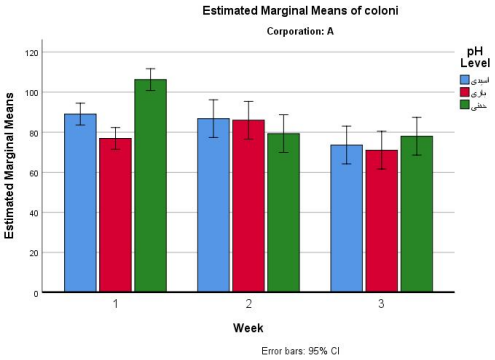
[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-22 ]

*تحلیل آماری قابلیت زیستی باکتری های پروبیوتیک متاثر از زمان و شرایط شبیه سازی شده دستگاه گوارش*

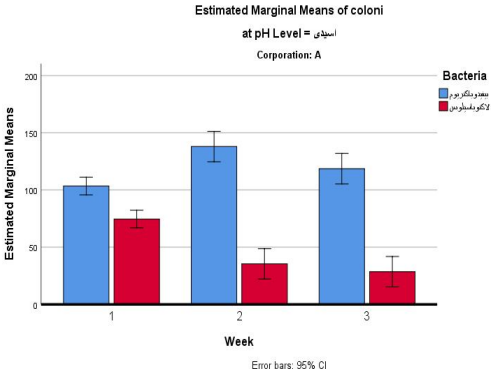
نتایج تحلیل واریانس بیانگر آن است که بین میانگین کلنی‌ها در هفته‌های مختلف (اول، دوم و سوم) تفاوت معنی‌داری مشاهده شده است (P<0/05). بین میانگین کلنی‌ها در باکتری‌های مختلف نیز (*بفیدوباکتریوم* و *لاکتوباسیلوس*) تفاوت معنی‌داری وجود دارد(P<0/05). هم‌چنین در بین میانگین کلنی‌ها در سطوح مختلف pH (اسیدی، بازی و خنثی) نیز تفاوت معنی‌دار است(P<0/05). اثر متقابل زمان و سطح pH نیز با توجه به مقدار P-value کم‌تر از 0/05 در میانگین کلنی‌ها، تاثیر معنی‌داری داشته است. با توجه به آزمون دنباله‌ای توکی برای متغیر مستقل زمان، طی سه هفته متوالی، برای هفته اول به‌طور کلی با هفته دوم و سوم تفاوت معنی‌داری مشاهده شده است، اما میان هفته دوم و سوم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است. با توجه به آزمون دنباله‌ای توکی برای متغیر مستقل سطح pH، محیط بازی دارای کم‌ترین میزان کلنی و محیط اسیدی نسبت به محیط خنثی نیز دارای میزان کلنی کم تری بوده است و تفاوت بین هر سه سطح pH معنی‌دار بوده است (نمودارهای شماره 1 تا 7).



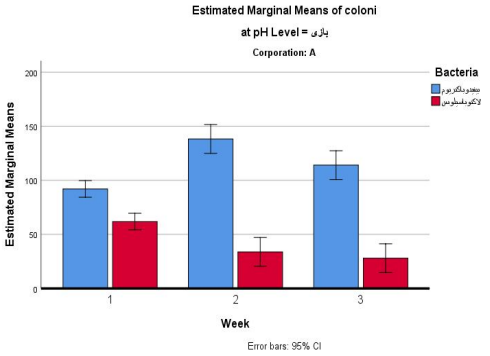

**نمودار شماره 1:** قابلیت زیستی باکتری های پروبیوتیک (میانگین نتایج محیط های با pH مختلف، خنثی، اسیدی و بازی)، اثر متقابل هفته و باکتری مربوط به نمونه های ماست شرکت A




**نمودار شماره 2:** قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک در محیط خنثی (بدون تغییر شرایط pH)، محیط شبیه سازی شده معده (تلقیح در تریپسین و pH = 2/26)، روده (محیط بازی و تلقیح در پانکراتین)، اثر متقابل هفته و سطح pH مربوط به نمونه های ماست شرکت A



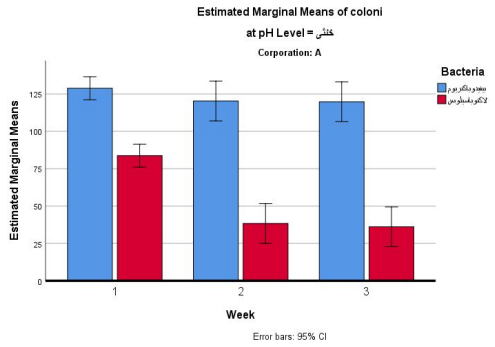

**نمودار شماره 3:** قابلیت زیستی باکتری های پروبیوتیک در محیط شبیه سازی شده معده (تلقیح در تریپسین و pH = 2/26 )، همچنین اثر متقابل هفته و باکتری مربوط به نمونه های ماست شرکت A



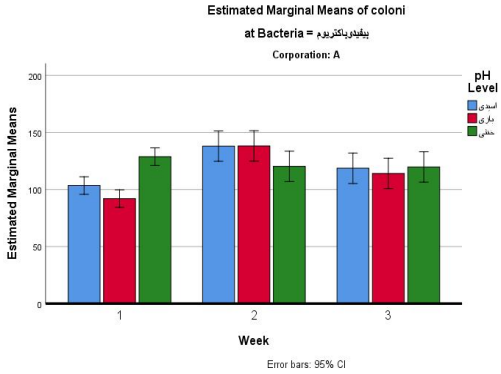

**نمودار شماره 4:** قابلیت زیستی باکتری های پروبیوتیک در محیط شبیه سازی شده روده (محیط بازی و تلقیح در پانکراتین )، اثر متقابل هفته و باکتری مربوط به نمونه های ماست شرکت A



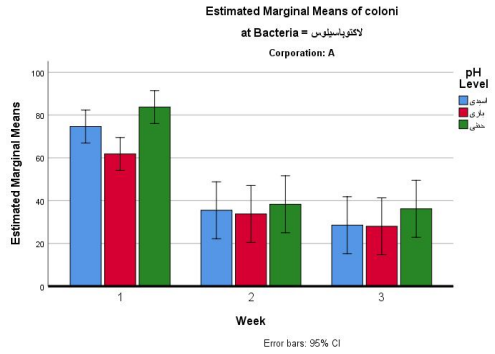
[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-22 ]




**نمودار شماره 5:** قابلیت زیستی باکتری های پروبیوتیک در محیط خنثی (بدون تغییر شرایط pH)، اثر متقابل هفته و باکتری مربوط به نمونه های ماست شرکت A




**نمودار شماره 6:** قابلیت زیستی باکتری *بیفیدوباکتریوم* در محیط خنثی (بدون تغییر شرایط pH)، محیط شبیه سازی شده معده (تلقیح در تریپسین و pH = 2/26)، روده (محیط بازی و تلقیح در پانکراتین)، اثر متقابل هفته و سطح pH مربوط به نمونه های ماست شرکت A




**نمودار شماره 7:** قابلیت زیستی باکتری لاکتوباسیلوس در محیط خنثی (بدون تغییر شرایط pH )، محیط شبیه سازی شده معده (تلقیح در تریپسین و pH = 2/26)، روده (محیط بازی و تلقیح در پانکراتین)، اثر متقابل هفته و سطح pH مربوط به نمونه های ماست شرکت A

*شرکت تولیدی B*

جهت بررسی تاثیر زمان و سطح pH بر روی کلنی‌های موجود در نمونه های ماست بررسی شده‌ی شرکت تولیدی B از روش تحلیل واریانس استفاده شد. جدول شماره 5، خروجی مربوط به آمار توصیفی تعداد مشاهده، میانگین و واریانس کلنی‌ها به تفکیک متغیرهای مستقل می‌باشد.

جدول شماره 6 نتایج تحلیل واریانس دو راهه، جهت مقایسه میانگین کلنی‌های تشکیل شده در ماست شرکت تولیدی B را نشان می‌دهد.

**جدول شماره 5:** آمار توصیفی مربوط به تعداد مشاهده، میانگین و واریانس کلنی‌ها به تفکیک متغیرهای مستقل مربوط به شرکت تولیدیB

| | متغیر ها | میانگین | انحراف از معیار | تعداد |
|---|---|---|---|---|
| هفته اول | اسیدی | 61/94 | 12/383 | 18 |
| | بازی | 51/94 | 13/841 | 18 |
| | خنثی | 66/67 | 15/530 | 18 |
| هفته دوم | اسیدی | 23/39 | 12/885 | 18 |
| | بازی | 18/67 | 11/345 | 18 |
| | خنثی | 28/06 | 12/502 | 18 |
| هفته سوم | اسیدی | 26/61 | 14/597 | 18 |
| | بازی | 17/83 | 11/299 | 18 |
| | خنثی | 31/39 | 14/496 | 18 |

**جدول شماره 6:** نتایج تحلیل واریانس دو راهه، جهت مقایسه میانگین کلنی‌های تشکیل شده در ماست شرکت تولیدی B

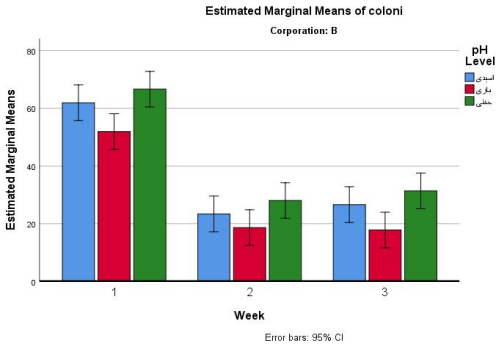
| متغیرها | مجموع مجذور ها | درجه آزادی | مجذور میانگین | F | سطح معنی داری | Partial Eta Squared |
|---|---|---|---|---|---|---|
| هفته | 46394/926 | 2 | 23197/463 | 131/471 | 0/000 | 0/632 |
| سطح pH | 4343/444 | 2 | 2171/722 | 12/308 | 0/000 | 0/139 |
| هفته*سطح pH | 185/963 | 4 | 46/491 | 0/263 | 0/901 | 0/007 |

* : نشانگر تاثیر متقابل متغیرها بر یکدیگر است.

نتایج تحلیل واریانس مربوط به شرکت تولیدی B بیانگر آن است که بین میانگین کلنی ها در هفته های مختلف (اول، دوم و سوم) تفاوت معنی‌داری مشاهده شده است (P<0/05). هم‌چنین بین میانگین کلنی ها در سطوح مختلف pH (اسیدی، بازی و خنثی) نیز تفاوت معنی دار است (P<0/05). اثر متقابل هفته و سطح pH نیز با توجه به مقدار P-value بیش تر از 0/05 در میانگین

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-22 ]

کلنی‌ها تاثیر معنی‌داری نداشته است. با توجه به آزمون دنباله‌ای توکی برای متغیر مستقل زمان و در طی سه هفته متوالی، برای هفته اول به طور کلی با هفته دوم و سوم تفاوت معنی‌داری مشاهده شده است، اما میان هفته دوم و سوم تفاوت معنی‌دار نبوده است. (هفته اول دارای بیش‌ترین میزان کلنی بوده و هفته دوم کم ترین میزان کلنی را دارا بوده است). با توجه به آزمون دنباله‌ای توکی برای متغیر مستقل سطح pH، محیط بازی دارای کم‌ترین میزان کلنی بوده، به‌طوری‌که تفاوت معنی‌داری با محیط اسیدی و محیط خنثی داشته است در حالی که تفاوت بین دو محیط اسیدی و خنثی معنی‌دار نبوده است (نمودار شماره 8).




**نمودار شماره 8:** قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک در محیط خنثی (بدون تغییر شرایط pH)، محیط شبیه سازی شده معده (تلقیح در تریپسین و pH=2/26)، روده(محیط بازی و تلقیح در پانکراتین)، اثر متقابل هفته و سطح pH مربوط به نمونه‌های ماست شرکت تولیدی B

*شرکت تولیدی C*

برای بررسی تاثیر زمان و سطح pH روی کلنی‌ها در نمونه‌های ماست بررسی شده‌ی شرکت تولیدی C از روش تحلیل واریانس استفاده شد. جدول شماره7 خروجی مربوط به آمار توصیفی مربوط به تعداد مشاهده، میانگین و واریانس کلنی‌ها را به تفکیک متغیرها مستقل و جدول شماره 8 نیز نتایج تحلیل واریانس دو راهه، جهت مقایسه میانگین کلنی‌های تشکیل شده در نمونه‌های ماست شرکت تولیدی C را نشان می‌دهد.

**جدول شماره 7:** آمار توصیفی مربوط به تعداد مشاهده، میانگین و واریانس کلنی‌ها را به تفکیک متغیرهای مستقل مربوط به نمونه‌های ماست شرکت تولیدی C

| متغیر ها | | میانگین | انحراف از معیار | تعداد |
|---|---|---|---|---|
| هفته اول | اسیدی | 151/30 | 48/627 | 27 |
| | بازی | 126/67 | 50/154 | 27 |
| | خنثی | 167/41 | 57/133 | 27 |
| هفته دوم | اسیدی | 153/33 | 37/846 | 18 |
| | بازی | 140/17 | 38/336 | 18 |
| | خنثی | 168/89 | 34/834 | 18 |
| هفته سوم | اسیدی | 78/06 | 31/114 | 18 |
| | بازی | 57/50 | 28/453 | 18 |
| | خنثی | 100/28 | 30/121 | 18 |

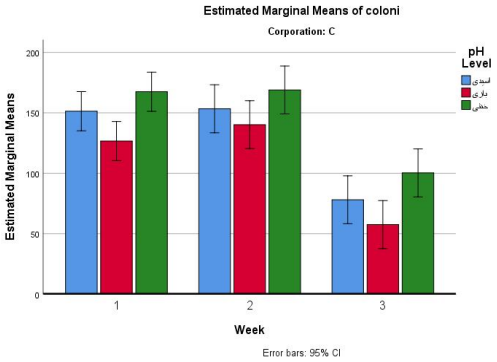
**جدول شماره 8:** نتایج تحلیل واریانس دو راهه، جهت مقایسه میانگین کلنی‌های تشکیل شده در نمونه‌های ماست شرکت تولیدی C

| منابع | مجموع مجذورها | درجه آزادی | مجذور میانگین | F | سطح معنی داری | Partial Eta Squared |
|---|---|---|---|---|---|---|
| هفته | 201635/176 | 2 | 100817/588 | 55/436 | 0/000 | 0/381 |
| سطح pH | 42540/603 | 2 | 21270/302 | 11/696 | 0/000 | 0/115 |
| هفته*سطح pH | 1367/945 | 4 | 341/986 | 0/188 | 0/944 | 0/004 |

* : نشانگر تاثیر متقابل متغیرها بر یکدیگر است.

نتایج تحلیل واریانس بیانگر آن است که بین میانگین کلنی در هفته‌های مختلف (اول، دوم و سوم) تفاوت معنی‌داری مشاهده شده است (P<0/05). بین میانگین کلنی‌ها در سطوح مختلف pH (اسیدی، بازی و خنثی) تفاوت معنی‌دار است(P<0/05). اثر متقابل هفته و سطح pH نیز با توجه به مقدار P-value بیش‌تر از 0/05 در میانگین کلنی تاثیر معنی‌داری نداشته است. با توجه به آزمون دنباله‌ای توکی برای متغیر مستقل زمان طی سه هفته متوالی، هفته سوم به طور کلی با هفته اول و دوم تفاوت معنی‌داری مشاهده شده است، اما میان هفته اول و دوم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است (هفته سوم دارای کم‌ترین میزان کلنی بوده و هفته دوم بیش‌ترین میزان کلنی را دارا بوده است). مطابق آزمون دنباله‌ای توکی برای متغیر مستقل سطح pH، محیط بازی دارای کم‌ترین میزان کلنی، به‌طوری‌که دارای تفاوت معنی‌داری با محیط اسیدی و محیط خنثی بوده است در حالی که تفاوت بین دو محیط اسیدی و خنثی معنی‌دار نبوده است (نمودار شماره 9).

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-22 ]




**نمودار شماره 9:** قابلیت زیستی باکتری های پروبیوتیک در محیط خنثی (بدون تغییر شرایط pH)، محیط شبیه‌سازی شده معده (تلقیح در تریپسین و pH = 2/26)، روده (محیط بازی و تلقیح در پانکراتین)، اثر متقابل هفته و سطح pH مربوط به نمونه‌های ماست شرکت تولیدی C

## بحث

اگر چه اخیراً افزایش قابل توجهی در محبوبیت محصولات حاوی پروبیوتیک در بازار وجود دارد، رویکردهای علمی برای ایجاد مزایای عملکردی غذاهای پروبیوتیک هنوز یک مورد پیچیده و در دست بررسی است. شواهد حاصل از مطالعات آزمایشگاهی حاکی از اثرات مفید ناشی از مصرف این میکروارگانیسم‌های زنده برای سلامتی هستند(5،7،18،26). علاوه بر تأثیر نوع غذای حامل و شرایط نگهداری محصول، ایجاد شرایط محیطی بهینه، برای رشد باکتری‌های پروبیوتیک، بر میزان زنده مانی آن‌ها، تاثیر گذار است(19). نتایج این مطالعه، نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری در تعداد کلنی‌های هفته اول و دوم با هفته سوم وجود دارد و هم‌چنین میزان کلنی‌ها در هفته سوم کم‌تر از سایر هفته‌ها و هفته دوم دارای بیش‌ترین مقدار کلنی‌ها بوده است،که این مشاهدات با نتایج بررسی در مطالعه مروری که توسط گراناتو و همکاران منتشر شده، مطابقت دارد(18).

در این مطالعه، قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک به‌کار رفته در فرمولاسیون تعدادی از ماست‌های موجود در بازار ایران، که در سه کارخانه از کارخانجات تولیدکننده فراورده‌های لبنی استان مازندران تولید شدند، قبل و بعد از قرارگیری در شرایط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش بررسی شد. از مهم‌ترین دغدغه‌های محققان و مصرف‌کنندگان اشکال مختلف محصولات حاوی باکتری‌های پروبیوتیک، زنده مانی پروبیوتیک‌ها در طی مراحل هضم در دستگاه گوارش می‌باشد. بدین‌منظور مطالعاتی در جهت شبیه‌سازی و بهینه‌کردن شرایط هضم از قبیل تغییرات pH و مجاورت با پپسین و نمک‌های صفراوی صورت گرفته است(27). مطالعات گذشته نشان دادند که زنده ماندن باکتری‌های پروبیوتیک را می‌توان با انتخاب مناسب سویه‌های مقاوم به اسید و صفرا، استفاده از ظروف غیر قابل نفوذ اکسیژن، ترکیب ریزمغذی‌ها مانند پپتیدها و اسیدهای آمینه و باکتری‌های ماست بهبود بخشید(19،28). نتایج مطالعه حاضر که همسو با مطالعات انجام شده در این مورد می‌باشد، نشان می‌دهد که ماست می‌تواند حامل مناسبی برای باکتری‌های پروبیوتیک باشد و انتظار می‌رود از ماست پروبیوتیک بتوان به‌عنوان یک غذای فرا سودمند بهره‌مند شد. ضمن این‌که، افزودن باکتری‌های پروبیوتیک، ویژگی‌های حسی کلی انواع ماست‌ها را نیز تغییر نمی‌دهد. وجود تعداد کلنی‌های کافی و شرایط زیستی مناسب برای باکتری‌های پروبیوتیک موجود در محصولات، در طول مدت ماندگاری محصول از دیگر دغدغه‌های محققان و مصرف‌کنندگان این محصولات می‌باشد. غلظت پیشنهادی برای کلنی باکتری‌های پروبیوتیک، $10^6$ cfu/g در محصولات لبنی است(28). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که غلظت باکتری های پروبیوتیک در محصولات مورد آزمون، در حد قابل قبولی می‌باشد (جدول شماره 1 و 2). اگر عوامل محیطی و شرایط نگهداری محصول مناسب باشد، امکان تکثیر و رشد باکتری نیز تا حدی میسر است. اما اغلب، گذشت زمان، اسیدیته بالا و قرار گرفتن در معرض اکسیژن تاثیر منفی بر زنده ماندن باکتری‌های پروبیوتیک مانند *لاکتوباسیلوس* و *بیفیدوباکتریوم* دارد(29،30). مطالعات نشان داده است که تکنیک‌های میکروبیولوژیکی، شیمیایی و بسته‌بندی نظیر کپسوله کردن و ریزپوشانی(microencapsulation) به افزایش



[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-22 ]

بقای باکتری‌های پروبیوتیک در ماست و محافظت از آن‌ها درطول نگهداری کمک می‌کند(20،29،30). محصولاتی که از هر سه شرکت تولیدی در استان تهیه گردید، واجد شرایط بسته‌بندی مناسب بودند به‌طوری‌که اگرچه در اغلب موارد گذشت زمان، تاثیر معناداری بر کاهش میزان باکتری‌ها داشته، ولی در تمامی موارد، شمارش زنده باکتری‌ها در حد قابل قبول استاندارد باقی ماندند (جدول شماره 4، 6 و 8). در خصوص تاثیر فاکتورهای موثر بر زنده مانی پروبیوتیک‌ها (درجه اسیدی شدن پس از تخمیر، اسیدیته و اکسیژن محلول) در صورت کشت توام چند نوع از باکتری‌های پروبیوتیک و یا استفاده از یک نوع از آن‌ها، بررسی‌هایی انجام شد که نتایج نشان می‌دهد ویژگی‌های رئولوژیکی ماست تهیه شده با کشت هم زمان برخی از انواع باکتری‌های پروبیوتیک تاثیر مثبتی بر زنده مانی باکتری‌ها در طول زمان نگه‌داری دارد که شایسته است در این خصوص مطالعات بیش‌تری در تولید محصولات پروبیوتیک در ایران صورت گیرد(31).

در مطالعه حاضر، همان‌گونه که در نمودار شماره 1 تا 9 نشان داده شد، در شمارش زنده باکتری‌های پروبیوتیک تفاوت آماری معنی‌داری قبل و بعد از قرار گرفتن در معرض شرایط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش وجود دارد. استفاده از تکنولوژی کپسوله کردن یا ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها در محصولات از جمله روش هایی هست که می توان در جهت ماندگاری بیش تر و حفظ بهتر کیفیت محصولات حاوی پروبیوتیک‌ها به کار گرفت(20، 29). درجانی و همکاران نیز شرایط زنده مانی پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس* در مجاورت پری‌بیوتیک‌های(prebiotics) فروکتان از نوع اینولین، جهت بررسی تاثیر پوشش کیتوزان در کپسوله کردن پروبیوتیک ها در محصول، قبل و بعد از قرار گرفتن در معرض شرایط دستگاه گوارش و روده شبیه‌سازی شده اندازه‌گیری کردند و نتایج نشان داد که کپسوله کردن به طور قابل توجهی بر بقای باکتری‌های پروبیوتیک در طول آزمایش (قرار گرفتن در معرض مایع گوارشی ونمک‌های صفراوی) موثر است(20). در نهایت، این مطالعه با هدف تأکید بر تأثیر سودمند احتمالی پروبیوتیک‌ها برای سلامت انسان و برخورداری از سبک زندگی بهتر انجام شد که همسو با مطالعات انجام شده در این مورد می‌باشد(32). با توجه به نتایج به‌دست آمده، می‌توان بیان کرد که هر دو نوع باکتری پروبیوتیک به کار رفته در فرمولاسیون ماست‌های مورد مطالعه، در طول زمان ماندگاری محصول و حتی پس از عبور از شرایط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش، زنده مانی قابل قبولی داشتند. نکته ی حائز اهمیت، رعایت زمان ماندگاری محصول و شرایط محیطی مناسب جهت زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشد. اگرچه نتایج تحلیل واریانس، بیانگر آن است که بین میانگین کلنی‌ها در هفته‌های مختلف (اول، دوم و سوم) تفاوت معنی‌داری وجود دارد، اما با توجه به شرایط بسته‌بندی مناسب محصولات مورد مطالعه، علی‌رغم کاهش میزان باکتری‌ها در طول زمان ماندگاری محصول، در تمامی موارد، شمارش باکتری‌های زنده در حد قابل قبول استاندارد ($10^6$ cfu/g) باقی ماندند. نتایج حاصل از آزمون دنباله‌ای توکی برای متغیر مستقل سطح pH، در شبیه‌سازی شرایط گوارش برای نمونه‌های ماست نشان داد که اگرچه محیط بازی دارای کم ترین میزان کلنی بوده و تفاوت معنی‌داری با محیط اسیدی و محیط خنثی داشته، اما باکتری‌های پروبیوتیک حتی در محیط بازی (مشابه شرایط هضم در روده کوچک) نیز همچنان زنده مانی قابل قبولی داشتند. بنابراین می‌شود امیدوار بود که استفاده از این نوع محصولات موجب بهره‌مندشدن مصرف‌کنندگان از خواص باکتری‌های پروبیوتیک گردد.

## سپاسگزاری

این مطالعه با کد طرح 7945 در معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی مازندران با اخذ کد اخلاق IR.MAZUMS..REC.1399.7945 به تصویب رسیده و مورد حمایت مالی قرار گرفته است.

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-22 ]

## References


1. Milner JA. Functional foods: The US perspective. Am J Clin Nutr 2000; 71(6 Suppl): 1654-1659.
2. Henry CJ. Functional foods. Eur J Clin Nutr 2010;64(7):657-659.
3. Lin DC. Probiotics As Functional Foods. Nutr Clin Pract 2003; 18(6): 497-505.
4. Singh K, Kallali B, Kumar A, Thaker V. Probiotics: A review. Asian Pac J Trop Biomed 2011; 1(2): S287-S290.
5. Eslami M, Yousefi B, Kokhaei P, Hemati M, Nejad ZR, Arabkari V, et al. Importance of probiotics in the prevention and treatment of colorectal cancer. J Cell Physiol 2019; 234(10): 17127-17143.
6. Śliżewska K, Markowiak-Kopeć P, Śliżewska W. The role of probiotics in cancer prevention. Cancers (Basel) 2021; 13(1): 1-22.
7. McFarland L V. Meta-analysis of probiotics for the prevention of traveler's diarrhea. Travel Med Infect Dis 2007; 5(2): 97-105.
8. Szajewska H, Canani RB, Guarino A, Hojsak I, Indrio F, Kolacek S, et al. Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2016; 62(3): 495-506.
9. Dimidi E, Christodoulides S, Fragkos KC, Scott SM, Whelan K. The effect of probiotics on functional constipation in adults: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Am J Clin Nutr 2014; 100(4): 1075-1084.
10. Chmielewska A, Szajewska H. Systematic review of randomised controlled trials: Probiotics for functional constipation. World J Gastroenterol 2010; 16(1): 69-75.
11. Moayyedi P, Ford AC, Talley NJ, Cremonini F, Foxx-Orenstein AE, Brandt LJ, et al. The efficacy of probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome: A systematic review. Gut 2010; 59(3): 325-332.
12. Madden JAJ, Hunter JO. A review of the role of the gut microflora in irritable bowel syndrome and the effects of probiotics. Br J Nutr 2002; 88(S1): s67-s72.
13. Twetman S, Keller MK. Probiotics for caries prevention and control. Adv Dent Res 2012; 24(2): 98-102.
14. Oak SJ, Jha R. The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review. Crit Rev Food Sci Nutr 2019; 59(11): 1675-1683.
15. Anukam KC, Reid G. Probiotics: 100 years (1907-2007) after Elie Metchnikoff's observation. Commun Curr Reserach Educ Top Trends Appl Microbiol 2007; (May): 466-474.
16. Markowiak P, Ślizewska K. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. Nutrients 2017; 9(9): 1021.
17. Kolaček S, Hojsak I, Berni Canani R, Guarino A, Indrio F, Orel R, et al. Commercial Probiotic Products: A Call for Improved Quality Control. A Position Paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2017; 65(1): 117-124.
18. Granato D, Branco GF, Cruz AG, Faria J de AF, Shah NP. Probiotic dairy products as functional foods. Compr Rev Food Sci Food Saf 2010; 9(5): 455-470.
19. Lourens-Hattingh A, Viljoen BC. Yogurt as probiotic carrier food. Int Dairy J 2001; 11(1-2): 1-17.
20. Darjani P, Hosseini Nezhad M, Kadkhodaee R, Milani E. Influence of prebiotic and coating materials on morphology and


[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-22 ]

survival of a probiotic strain of Lactobacillus casei exposed to simulated gastrointestinal conditions. LWT 2016; 73: 162-167.

21. Hemaiswarya S, Raja R, Ravikumar R, Carvalho IS. Mechanism of action of probiotics. Braz Arch Biol Technol 2013; 56(1): 113-119.
22. Kechagia M, Basoulis D, Konstantopoulou S, Dimitriadi D, Gyftopoulou K, Skarmoutsou N, et al. Health Beneits of Probiotics: A Review. ISRN Nutr 2013; 2013: 481651.
23. Mortazavian AM, Ehsani MR, Mousavi SM, Reinheimer JA, Emamdjomeh Z, Sohrabvandi S, et al. Preliminary investigation of the combined effect of heat treatment and incubation temperature on the viability of the probiotic micro-organisms in freshly made yogurt. Int J Dairy Technol 2006; 59(1): 8-11.
24. Annan NT, Borza AD, Hansen LT. Encapsulation in alginate-coated gelatin microspheres improves survival of the probiotic Bifidobacterium adolescentis 15703T during exposure to simulated gastro-intestinal conditions. Int Food Res J 2008; 41(2): 184-193.
25. Mokarram RR, Mortazavi SA, Najafi MBH, Shahidi F. The influence of multi stage alginate coating on survivability of potential probiotic bacteria in simulated gastric and intestinal juice. Int Food Res J 2009; 42(8): 1040-1045.
26. Yu AQ, Li L. The Potential Role of Probiotics in Cancer Prevention and Treatment. Nutr Cancer 2016; 68(4): 535-544.
27. Arévalo-Villena M, Fernandez-Pacheco P, Castillo N, Bevilacqua A, Briones Pérez A. Probiotic capability in yeasts: Set-up of a screening method. LWT 2018; 89: 657-665.
28. Shah NP. Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. J Dairy Sci 2000; 83(4): 894-907.
29. Kailasapathy K. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. LWT-Food Sci Technol 2006; 39(10): 1221-1227.
30. Talwalkar A, Kailasapathy K. A Review of Oxygen Toxicity in Probiotic Yogurts: Influence on the Survival of Probiotic Bacteria and Protective Techniques. Compr Rev Food Sci Food Saf 2004; 3(3): 117-124.
31. Damin MR, Minowa E, AlcÂntara MR, Oliveira MN. Effect of cold storage on culture viability and some rheological properties of fermented milk prepared with yogurt and probiotic bacteria. J Texture Stud 2008; 39(1): 40-55.
32. George Kerry R, Patra JK, Gouda S, Park Y, Shin HS, Das G. Benefaction of probiotics for human health: A review. J Food Drug Anal 2018; 26(3): 927-939.

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-22 ]