مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد شانزدهم، شماره دوم، ۱۳۸۸
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

بررسی بقای *Bifidobacterium lactis BB12* و *Lactobacillus acidophilus LA5* در پنیر سفید آب‌نمکی ایرانی

الهام انصاری‌پور[۱]، *مرتضی خمیری[۲]، مهدی کاشانی‌نژاد[۳] و حبیبا... میرزایی[۲]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۲]استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۳]دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۸۷/۲/۲۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۷/۹/۲۵

چکیده

پنیر سفید آب‌نمکی تهیه شده با باکتری‌های استارتر *Streptococcus thermophilus*، *Lactococcus lactis* subsp *lactis* و *Lactococcus lactis* subsp *cremoris*، *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* و باکتری‌های پروبایوتیک *Bifidobacterium lactis BB12* و *Lactobacillus acidophilus LA5* به‌منظور بررسی ماندگاری باکتری‌های پروبایوتیک طی مرحله تولید، رسیدن و نگهداری در دو نوع ترکیب استارتری ABY-2 و ABY-2+R703 به‌مدت ۴ ماه مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که در تمام پنیرها *Bifidobacterium lactis BB12* ماندگاری بهتری را نسبت به *Lactobacillus acidophilus LA5* داشت. پنیرهای ABY-2+R703 و ABY-2 به‌ترتیب با ۱/۸۵ و ۲/۷۲ سیکل لگاریتمی کاهش در میزان *BB12* با سطح تلقیح اولیه 10^7 واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر به‌ترتیب تا ۱۲۰و ۴۵ روز توانستند جمعیت سلولی خود را تا سطوح پیشنهادی برای داشتن اثرات سلامتی‌زا حفظ نماید. *Lactobacillus acidophilus LA5* در هیچ کدام از پنیرهای تولیدی نتوانست قابلیت زیستی خود را تا پایان ۴ ماه در سطح مطلوب حفظ کند اما با افزایش سطح تلقیح تا 10^9 واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر ارزش پروبایوتیکی پنیر ABY-2 تا پایان ۲ ماه و پنیر ABY-2+R703 تا ۱۵ روز حفظ شد. در این تحقیق، هر دو نوع پنیر تولیدی به‌عنوان پنیرهای پروبایوتیک معرفی می‌گردند.

واژه‌های کلیدی: پروبایوتیک، ماندگاری، پنیر

مقدمه

واژه پروبایوتیک[۱] از واژه یونانی پروبیوس به معنای حیات‌بخش یا زیست‌بخش اقتباس شده است. الی مچنیکوف (۱۹۰۷)[۲]، نخستین کسی بود که بر اثرات سلامتی‌بخش باکتری‌های لاکتیکی تأکید کرد. او فرضیه خود را در ارتباط با عناوین طول عمر بدون پیر شدن[۳] و استمرار حیات[۴] 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 و کره نسبت داد (مرتضویان و سهراب‌وندی، ۲۰۰۶).

*- مسئول مکاتبه: mkhomeiri@yahoo.com

1- Probiotic
2- Elie Metchnikoff
3- Longevity-Without Aging
4- Prolongation of Life

طبق تعریف ارایه شده توسط (FAO/WHO)[1] پروبایوتیک‌ها، میکروارگانسیم‌های زنده‌ای هستند که وقتی به‌میزان کافی مصرف شوند اثر سلامتی بر میزبان می‌گذارند.

برخی از اثرات مفید سلامتی در فرآورده‌های پروبایوتیکی شامل خواص ضدسرطانی و ضدجهش‌زایی، تحریک، تقویت و تنظیم سیستم ایمنی بدن، کاهش کلسترول خون، کمک به رفع عارضه، عدم تحمل لاکتوز و افزایش ارزش تغذیه‌ای می‌باشد (شاه، ۲۰۰۰).

بیفیدوباکتریوم‌ها، میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی، گرم مثبت، غیراسپورزا و غیرمتحرک می‌باشند. pH بهینه رشد آنها ۶/۵ تا ۷ است، رشد این باکتری‌ها در pHهای کمتر از ۵ یا بالای ۸ کند یا متوقف می‌شود، دمای بهینه رشد برای بیشتر گونه‌های بیفیدوباکتریوم‌ها با منشأ انسانی بین ۳۸-۳۶ درجه سانتی‌گراد است (بویلس تون و همکاران، ۲۰۰۴). *Lactobacillus acidophilus* میله‌ای گرم مثبت با انتهای گرد می‌باشد که به‌صورت سلول‌های منفرد و نیز دوتایی یا به‌صورت زنجیره‌ای مشاهده می‌گردد. سلول‌ها ۰/۹-۰/۶ میکرومتر عرض و ۶-۱/۵ میکرومتر طول دارند. غیرتاژک‌دار، غیرمتحرک، غیراسپورزا و غیرمقاوم به نمک هستند. اپتیمم رشد این باکتری‌ها ۴۰-۳۵ درجه سانتی‌گراد و pH اپتیمم رشد ۶-۵/۵ می‌باشد (گومز و مالکاتا، ۱۹۹۹).

اولین اقدام در زمینه غذاهای فراسودمند[2] توسط ژاپنی‌ها در اواخر سال ۱۹۸۰ صورت گرفت که به‌عنوان غذاهای غنی‌شده با ترکیباتی که توانایی ایجاد اثرات مفید سلامتی را دارند، توصیف شدند (استانتون و همکاران، ۲۰۰۱). تخمین زده شده که بیش از ۷۰ محصول حاوی *Lactobacillus acidophilus* و *Bifidobacterium bifidum* که شامل خامه ترش، دوغ، کره، ماست، پودر شیر و دسرهای منجمد می‌باشد در سراسر جهان تولید می‌شود (شاه و همکاران، ۱۹۹۵).

به‌منظور ایفای اثرات مفید سلامتی‌زایی ادعا شده برای باکتری‌های پروبایوتیک، این باکتری‌ها باید در طی فرآیندهای صنعتی و در طول نگهداری ماده غذایی زنده مانده و به‌میزان بالایی در زمان مصرف وجود داشته باشند، به‌علاوه باید قابلیت زنده ماندن خود را هنگام عبور از محیط معده و روده نیز حفظ کنند. بنابراین تغییر در میزان ماندگاری آنها در طول مراحل تولید تا مصرف و عوامل تأثیرگذار بر ماندگاری باید مشخص شود (ویندرولا و همکاران، ۲۰۰۰؛ ویندرولا و همکاران، ۲۰۰۲). حداقل سطح پیشنهادی برای حضور باکتری‌های پروبایوتیک در غذا متغیر است. سطوح 10^5 (شاه، ۱۹۹۷؛ رابینسون، ۱۹۸۷؛ شاه و همکاران، ۱۹۹۵)، 10^6 (پاگانو، ۱۹۹۸؛ آرویا و همکاران، ۱۹۹۴؛ رابینسون و سامونا، ۱۹۹۲) و 10^7 (سامونا و رابینسون، ۱۹۹۴) واحد تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم[3] از محصول پیشنهاد شده‌اند. اما به‌طورکلی صنعت غذا سطح پیشنهاد شده 10^6 واحد تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم را در زمان مصرف برای *Lactobacillus acidophilus*، بیفیدوباکتریوم‌ها و دیگر باکتری‌های پروبایوتیک پذیرفته است (بویلس تون و همکاران، ۲۰۰۴). برتری پنیرها نسبت به فرآورده‌های تخمیر شده تازه مانند ماست، به‌عنوان یک سیستم تحویل‌دهنده پروبایوتیک‌های زنده به محیط معده‌ای-روده‌ای، به سبب داشتن pH بالاتر، ماده جامد و مقدار چربی بیشتر و به دنبال آن محافظت آنها در طول نگهداری و عبور از ناحیه معده‌ای- روده‌ای است (انگ و همکاران، ۲۰۰۶). باکتری‌های پروبایوتیک به‌طور موفقیت‌آمیزی توسط گومز و همکاران (۱۹۹۵) در پنیر گودا، گوبتی و همکاران (۱۹۹۸) در پنیر Crescenza، ویندرولا و همکاران (۲۰۰۰) در پنیر Fresco، کوربو و همکاران (۲۰۰۱) در پنیر Canestrato، انگ و همکاران (۲۰۰۶) در پنیر چدار مورد استفاده قرارگرفته‌اند. مصرف فرآورده‌های لبنی دارای مقادیر بالایی از باکتری‌های فعال پروبایوتیک به‌دلیل داشتن اثرات مفید سلامتی توصیه می‌شود. با توجه به این‌که این محصولات هنوز در ایران جایگاه خاص خود را پیدا نکرده و تقریباً تولید آنها در صنعت رایج نشده است، مطالعه بر تولید این فرآورده‌ها با توجه به مزایای ویژه‌ای که دارند، می‌توانند

1- Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization (FAO/WHO)
2- Functional Foods
3- Colony Forming Unit Per Gram (CFU/g)

کمک مؤثری در توسعه این فرآورده‌ها در کشور باشد، از این‌رو در این بررسی قابلیت ماندگاری دو نوع از این باکتری‌ها، (*Bifidobacterium lactis* (*BB12*) و *Lactobacillus acidophilus* (*LA5*) را در پنیر سفید ایرانی به‌منظور ارزیابی امکان تولید پنیر پروبایوتیک مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه استارتر و آماده‌سازی آنها: در این بررسی برای تولید پنیر از دو نوع باکتری پروبایوتیکی، *Lactobacillus acidophilus* (*LA5*) و *Bifidobacterium lactis* (*BB12*) به‌صورت کشت مخلوط و همراه با استارترهای آغازگر ماست (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* و *Streptococcus thermophilus* (Y370)) و استارتر پنیر (*Lactococcus lactis* subsp *lactis* و *Lactococcus lactis* subsp *cremoris* (R703)) استفاده شد. به این ترتیب دو نوع پنیر پروبایوتیکی با ترکیب استارتری ABY-2 (حاوی باکتری‌های *LA5*، *BB12* و Y370) و ABY-2+R703 (حاوی باکتری‌های *LA5*، *BB12*، Y370 و R703) در سه تکرار تولید شد.

استارترهای مورد استفاده به‌صورت کشت‌های DVS[1] از نمایندگی شرکت کریستسن هانسن دانمارک در تهران تهیه گردید و تا موقع مصرف در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

آماده‌سازی استارترها براساس دستور کار نمایندگی شرکت تولیدکننده انجام پذیرفت، به این‌صورت که محتوی هر کدام از بسته‌ها (۵۰ واحد) به‌طور جداگانه در شرایط کاملاً استریل در ۵۰۰ میلی‌لیتر شیر پس‌چرخ استریل حل گردید و سپس به‌خوبی مخلوط شد، براساس میزان مورد نیاز، مخلوط حاصل در لوله‌های پلی‌اتیلنی استریل برای هر بار مصرف در شرایط استریل ریخته شد (این میزان بالاتر از 10^7 واحد تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر برای کلیه نمونه‌ها بود) و به سرعت توسط نیتروژن مایع منجمد و در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف قرار داده شد. نمونه‌های تهیه شده فقط قبل از مصرف ذوب شده و مورد استفاده قرار گرفتند.

تولید پنیر: ابتدا شیر خام به روش HTST[2] (دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ ثانیه) پاستوریزه گردید، بعد از خنک شدن شیر تا دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد، استارترهای آغازگر و پروبایوتیک از قبل آماده شده، به‌صورت هم‌زمان در شرایط استریل به شیر اضافه شدند، بعد از گذشت ۲۰ دقیقه، رنت (یک گرم در صد لیتر شیر) و کلرور کلسیم به‌میزان (پانزده گرم در صد لیتر شیر) به شیر اضافه و مخلوط گردید، بعد از حدود ۲ ساعت، دلمه تشکیل شده با کارد استریل برش داده شد تا آب پنیر به‌راحتی خارج گردد، ۲۰ دقیقه بعد دلمه‌های برش داده شده در پارچه صافی استریل ریخته شد و توسط وزنه‌های سنگین پرس گردید، بعد از پرس کافی، پنیر تشکیل شده در ظروف استریل در ابعاد ۲×۲ سانتی‌متر برش داده شد و در آب‌نمک استریل ۱۸ درصد به‌مدت ۱۶ ساعت قرار گرفت. در مرحله بعد، پنیر در ظروف پلاستیکی پلی‌اتیلنی در شرایط استریل با آب‌نمک ۱۰ درصد بسته‌بندی گردید و به‌منظور طی دوره رسیدن، در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲ ماه، بعد از آن در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (دمای یخچال) به‌مدت ۲ ماه نگهداری شد. و بعد از این مدت، ۲ ماه دیگر در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد برای گذراندن دوره نگهداری قرار داده شدند.

بررسی میزان ماندگاری پروبایوتیک‌ها: ماندگاری پروبایوتیک‌ها در طول مرحله تولید (بلافاصله بعد از تلقیح، دلمه پس از پرس و پنیر پس از آب‌نمک‌گذاری) و نیز در طول دوره رسیدن و نگهداری (۴ ماه) به فاصله زمانی هر ۱۵ روز یک بار مورد بررسی قرار گرفت. به این صورت که ۱۰ گرم از نمونه‌های پنیر را با ۹۰ میلی‌لیتر آب پپتونه استریل در کیسه‌های مخصوص ریخته و در دستگاه استومیکر (مدل seward400 ساخت کشور انگلستان) همگن شد. پس از تهیه رقت‌های مورد نظر برروی محیط

1- Direct Vat Set

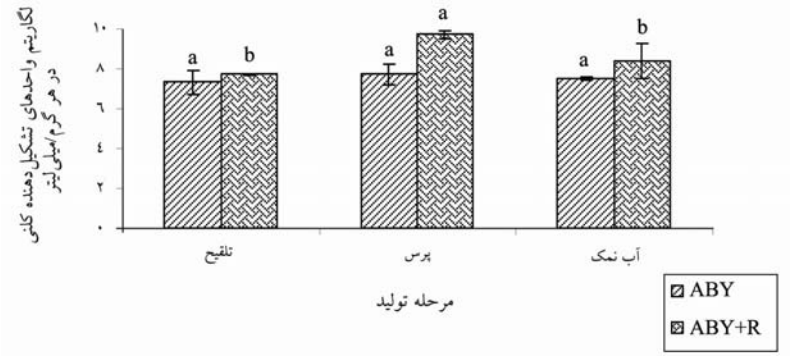
2- High Temperature-Short Time Pasteurization

کشت اختصاصی به‌صورت ریختن در پلیت[1] کشت گردیدند. برای این کار از محیط کشت Agar MRS-NNL[2] به‌همراه L- سیستئین برای شمارش *Bifidobacterium* و MRS-IM Agar[3] به همراه مالتوز برای شمارش *Lactobacillus acidophilus* استفاده گردید. محیط MRS-NNL Agar به‌مدت ۷۲ ساعت در شرایط بی‌هوازی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و MRS-IM Agar به‌مدت ۷۲ ساعت و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در شرایط هوازی گرم‌خانه‌گذاری شد و بعد از این مدت تعداد کلنی‌های رشد کرده مورد شمارش قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری: همه آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از آزمون دانکن انجام شد. نمودارهای مورد نیاز توسط نرم‌افزار Excel ترسیم شد.

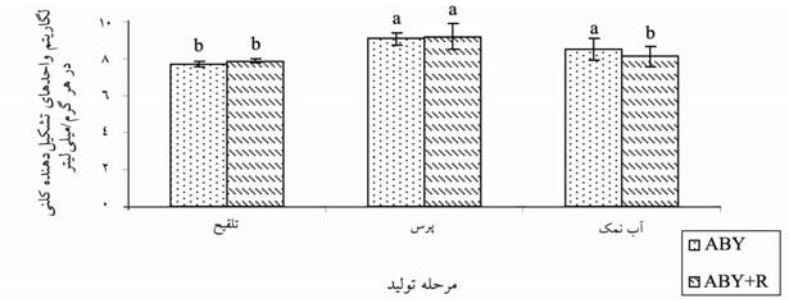
نتایج و بحث

تعداد باکتری‌های *Bifidobacterium lactis BB12* در پنیرهای ABY-2، ABY-2+R703، بعد از مرحله پرس به‌ترتیب ۱/۳۶ و ۱/۳۱ سیکل لگاریتمی افزایش و بعد از آب‌نمک‌گذاری در آب‌نمک ۱۸ درصد این میزان به $۳/۴۳\times۱۰^{۸}$ و $۱/۳۵\times۱۰^{۸}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم از پنیر کاهش یافت. در مجموع در مرحله تولید (از لحظه تلقیح تا آب‌نمک‌گذاری ۱۸ درصد) میزان سلولی به‌ترتیب ۰/۸۲ و ۰/۲۵ سیکل لگاریتمی افزایش یافت. میانگین ماندگاری این باکتری در مرحله تولید به‌ترتیب در این پنیرها ۸/۴۵ و ۸/۴۰ لگاریتم واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم محاسبه شد. *Lactobacillus acidophilus LA5* نیز با میزان تلقیح اولیه $۱۰^{۷}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر به شیر پاستوریزه برای پنیرهای ABY-2 و ABY-2+R703 افزوده شد که به‌ترتیب تعداد باکتری‌ها ۰/۴ و ۲/۰۱ سیکل لگاریتمی در طی پرس افزایش یافته و در مرحله آب‌نمک‌گذاری ۱۸ درصد به $۳/۳۸\times۱۰^{۷}$ و $۲/۵۵\times۱۰^{۸}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم رسید. افزایش جمعیت سلولی در این مرحله به‌دلیل خروج آب پنیر در اثر اعمال فشارهای مکانیکی در مرحله پرس و افزایش غلظت سلول‌ها در واحد حجم می‌باشد. آنالیز آماری نیز تفاوت معنی‌داری را در تعداد باکتری‌ها در مرحله پرس و از پرس تا آب‌نمک‌گذاری نشان داد. شکل‌های ۱ و ۲ میزان ماندگاری این باکتری‌ها را در مرحله تولید نشان می‌دهند.



شکل ۱- روند تغییرات در تعداد سلول‌های *LA5* در مرحله تولید در پنیرهای نوع ABY و ABY+R.

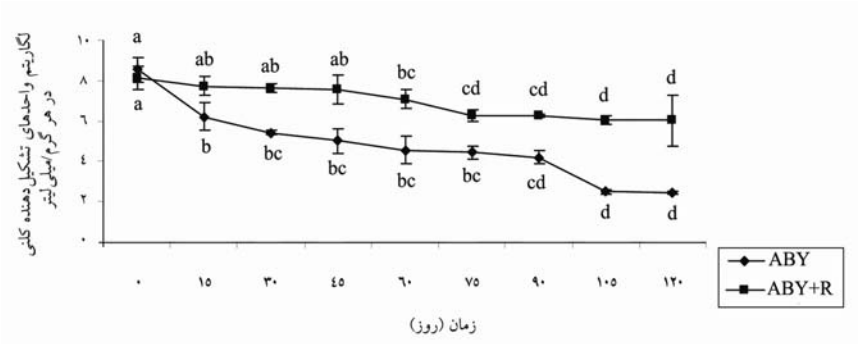
1- Pour Plate
2- De Man Rogosa and Sharpe Agar, Contains (Neomycin Sulphate, Nalidixic Acid, Lithium Chloride)
3- De Man Rogosa and Sharpe-Identification Medium Agar



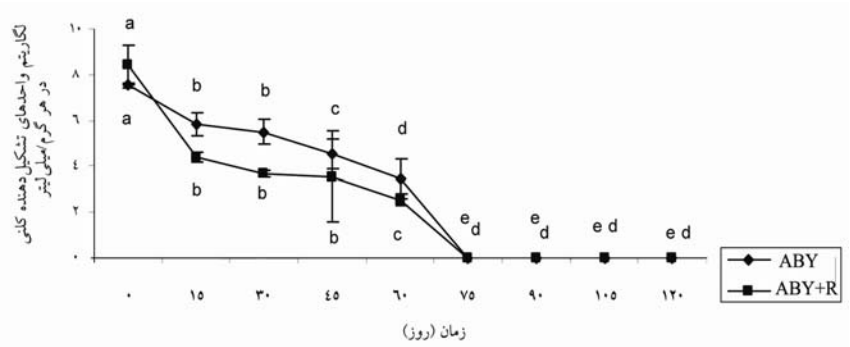
شکل ۲- روند تغییرات در تعداد سلول‌های *BB12* در مرحله تولید در پنیرهای نوع ABY و ABY+R.

بعد از مرحله تولید، سلول‌های *BB12* روند نزولی را طی کرده و به‌ترتیب در پنیرهای ABY-2 و ABY-2+R703 به $۳/۶۸\times۱۰^{۴}$ و $۱/۲\times۱۰^{۷}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم در پایان دوره رسیدن (روز ۶۰) و $۲/۸۰\times۱۰^{۲}$ و $۱/۰۷\times۱۰^{۶}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم در پایان دوره نگهداری (روز ۱۲۰) رسید. بیشترین میزان افت سلولی برای این باکتری پس از انتقال از مرحله پرس به آب‌نمک‌گذاری ۱۸ درصد و از آب‌نمک ۱۸ درصد به ۱۰ درصد به‌ترتیب با ۲/۳۲ و ۱/۰۶ سیکل لگاریتمی مشاهده شد، آنالیز آماری نیز تفاوت معنی‌داری را در این مراحل نشان داد. شکل ۳، روند تغییر سلولی را در این پنیرها نشان می‌دهد. نتایج نشانگر این است که نمک به‌عنوان عامل بازدارنده، فاکتور تأثیرگذاری بر افت سلولی بوده است. در مجموع از مرحله تلقیح تا پایان دوره مصرف پنیر، ۵/۲۷ و ۱/۸۵ سیکل لگاریتمی کاهش در میزان این باکتری مشاهده شد. نتایج به‌دست آمده تا پایان ۱۵ روز، با نتایج گوبتی و همکاران (۱۹۹۸) در پنیر Crescenza ایتالیایی برای *Bifidobacterium longum* طی دوره نگهداری ۱۴ روزه مطابقت داشت. نتایج به‌دست آمده تا پایان دوره رسیدن با نتایج گومز و همکاران (۱۹۹۵) در پنیر گودا، ویندرولا و همکاران (۲۰۰۰) در پنیر Fresco آرژانتینی و کوربو و همکاران (۲۰۰۱) در پنیر Canestrsto پرتغالی برای *Bifidobacterium bifidum* مطابقت داشت. آنها نیز کاهشی کمتر از یک سیکل لگاریتمی را طی دوره نگهداری ۶۰ روزه مشاهده کردند.

Bifidobacterium lactis BB12 در پنیر ABY+R درصد ماندگاری بالاتری نسبت به پنیر نوع ABY داشت و این باکتری با میزان ماندگاری ۱/۳۹ درصد نسبت به مرحله تلقیح تا پایان مدت نگهداری (روز ۱۲۰) جمعیت سلولی خود را در سطح $۱۰^{۶}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم حفظ نمود. در ترکیب استارتری ABY این باکتری با میزان ماندگاری ۰/۱۹ درصد با تلقیح اولیه $۱۰^{۷}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر به‌مدت ۴۵ روز، جمعیت باکتریایی تا سطح $۱۰^{۵}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم حفظ شد. پس از گذشت یک ماه با میزان ماندگاری ۰/۰۳۵ درصد، جمعیت آن به $۱۰^{۴}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم رسید. در ماه آخر میزان افت سلولی در این ترکیب استارتری نسبت به نوع دیگر شدیدتر بود، به‌طوری‌که دو سیکل لگاریتمی کاهش را در جمعیت سلولی نشان داد. بنابراین براساس نتایج به‌دست آمده، استفاده از ترکیبات استارتری ABY+R نسبت به نوع ABY برای باکتری *BB12* در تولید پنیر سفید ایرانی ارجحیت دارد. *Lactobacillus acidophilus LA5*، در ۱۵ روز اول دوره رسیدن افت بسیار شدیدی را در میزان سلولی در هر دو نوع پنیر نشان داد و به‌ترتیب با میزان افت ۱/۶۹، ۴/۰۲ سیکل لگاریتمی به‌میزان $۶/۸۷\times۱۰^{۵}$ و $۲/۴۶\times۱۰^{۴}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم در پنیرهای ABY و ABY+R رسید. سلول‌ها روند نزولی را طی کرده به‌طوری‌که *Lactobacillus acidophilus* فقط تا ۲ ماه (پایان دوره رسیدن) توانست در پنیرهای تولیدی ماندگاری خود را آن هم در سطحی پایین‌تر از کمترین دز پیشنهادی لازم برای داشتن اثرات سلامتی‌زا حفظ کند و در عمل از روز ۶۰ به بعد هیچ کلنی روی محیط کشت موردنظر مشاهده نشد. آنالیز آماری نیز تفاوت معنی‌داری را در مراحل انتقال به آب‌نمک ۱۸ درصد و ۱۰ درصد نشان داد. شکل ۴، میزان ماندگاری این باکتری را در پنیرهای تولیدی طی دوره رسیدن و نگهداری نشان می‌دهد.



شکل ۳- روند تغییرات در میزان سلولی *BB12* طی دوره رسیدن و نگهداری در پنیرهای ABY و ABY+R.



شکل ۴- روند تغییرات در میزان سلول‌های *LA5* طی دوره رسیدن و نگهداری در پنیرهای ABY و ABY+R.

در پنیر با ترکیب استارتری ABY، با ۰/۰۱۳ درصد ماندگاری تا پایان دوره رسیدن، بیشترین میزان ماندگاری و ترکیب استارتری ABY+R با درصد ماندگاری جزیی تا روز ۶۰، کمترین ماندگاری را به خود تخصیص داد. ماندگاری ضعیف این باکتری می‌تواند ناشی از حضور رقبای لاکتیکی و اثرات متقابل باکتریایی و نیز شرایط نمکی حاکم در پنیر باشد. *Lactobacillus acidophilus* غیرمقاوم به نمک است (گومز و مالکاتا، ۱۹۹۹). همان‌طور که نتایج نشان داد افت شدیدی در جمعیت سلولی در مرحله انتقال به آب‌نمک تا ۱۵ روز اول رسیدن در پنیرها مشاهده گردید. ویندرولا و همکاران در سال ۲۰۰۲ نیز با بررسی اثرات متقابل باکتری‌ها، نشان دادند که در بین باکتری‌های پروبایوتیکی، *Lactobacillus acidophilus* حساس‌ترین نژاد است به‌طوری‌که همه نژادهای *Bifidobacterium* و *Lactobacillus casei* برروی هفت نژاد مورد ارزیابی از *Lactobacillus acidophilus*، از جمله *LA5* اثر جلوگیری‌کنندگی داشتند. فعالیت بازدارندگی باکتری‌های اسید لاکتیک به عواملی چون تولید اسید لاکتیک و دیگر اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن و باکتریوسین‌ها که قابلیت دسترسی به مواد مغذی را کاهش می‌دهند نسبت داده می‌شود. انگ و همکاران (۲۰۰۶) نیز گزارش کردند که در پنیر چدار *Lactobacillus acidophilus* بالاترین کاهش را در مقایسه با *Bifidobacterium longum* و *Bifidobacterium lactis* داشت. گومز و همکاران (۱۹۹۵) نشان دادند که کاهش بقای *Lactobacillus acidophilus* با افزایش غلظت نمک در پنیر ارتباط دارد و نیز گزارش کردند که ماندگاری *Lactobacillus acidophilus* در مرکز پنیر جایی‌که غلظت نمک در پایین‌ترین میزان بود، بالاتر بود. کوربو و همکاران (۲۰۰۱) نیز گزارش نمودند که ویژگی‌های ذاتی پنیر از جمله غلظت بالای نمک سبب وارد شدن استرس‌های شدید به سلول‌ها شده که

ماندگاری آنها را کاهش می‌دهد. همچنین گومز و مالکاتا در سال ۱۹۹۹ اظهار نمودند که غلظت‌های بالاتر نمک، با درجه پایین‌تری از تولید اسید همراه است که به‌دلیل تأثیر منفی آن روی رشد باکتری و تخمیر لاکتوز توسط آنها می‌باشد.

نتایج به‌دست آمده برای ماندگاری *Bifidobacterium lactis BB12* در پنیر ABY+R تا پایان دوره نگهداری و برای ABY تا پایان روز ۴۵، با سطوح پیشنهاد شده $۱۰^{۵}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم توسط رابینسون (۱۹۸۷)، شاه (۱۹۹۷) و شاه و همکاران (۱۹۹۵) و $۱۰^{۶}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم توسط رابینسون و سامونا (۱۹۹۲)، آرویا و همکاران (۱۹۹۴) و پاگانو (۱۹۹۸) مطابقت داشت. چنین نتیجه‌گیری می‌شود که پنیر ABY+R تا پایان ۱۲۰ روز و پنیر ABY تا پایان ۴۵ روز با سطح تلقیح اولیه استفاده شده برای آنها می‌توانند به‌عنوان پنیرهای پروبایوتیک برای *Bifidobacterium lactis BB12* پیشنهاد گردند.

برای این‌که کاهش تعداد سلول‌ها در حین نگهداری، خدشه‌ای بر محصول وارد نسازد و تعداد باکتری‌های مفید (پروبایوتیک) از حد استاندارد خارج نگردد، توصیه بیشتر تولیدکنندگان استارتری به تولیدکنندگان فرآورده‌های لبنی $۱۰^{۸}$ تا $۱۰^{۹}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم/ میلی‌لیتر از آن محصول است. از آن‌جا که سطح تلقیح اولیه در این پژوهش در پنیر نوع ABY، $۱۰^{۷}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر بوده است، بنابراین چنان‌چه این مقدار به $۱۰^{۸}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر افزایش یابد، این میزان با ماندگاری ۰/۱۹ درصد برای *Bifidobacterium lactis* به $۱/۹\times۱۰^{۵}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم در روز ۴۵ و با ماندگاری ۰/۱۶ درصد به $۱/۶\times۱۰^{۵}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم در روز ۶۰ خواهد رسید. افزایش بیشتر سطح تلقیح اولیه تا $۱۰^{۹}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر، جمعیت سلولی باقی‌مانده با ماندگاری ۰/۰۳۵ درصد به $۳/۵\times۱۰^{۵}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم در روز ۹۰ خواهد رسید. با افزایش سطح تلقیح اولیه تا $۱۰^{۸}$ و $۱۰^{۹}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر، در پنیر ABY+R با ماندگاری ۱/۳۹ درصد جمعیت سلولی باقی‌مانده تا پایان دوره نگهداری به‌ترتیب به $۱/۳۹\times۱۰^{۶}$ و $۱/۳۹\times۱۰^{۷}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم خواهد بود که مطابق با سطوح توصیه شده و حتی بالاتر نیز می‌باشد. از این‌رو دو نوع پنیر تولیدی می‌توانند به‌عنوان پنیرهای پروبایوتیک برای باکتری *Bifidobacterium lactis BB12* پیشنهاد گردند.

برای *Lactobacillus acidophilus* چنان‌چه سطح تلقیح اولیه به $۱۰^{۹}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر افزایش یابد، ترکیب استارتری ABY با ماندگاری۰/۰۱۳ درصد تا پایان دو ماه به $۱/۳\times۱۰^{۵}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم و ترکیب استارتری ABY+R با ماندگاری ۰/۰۵ درصد به ۵×۱۰^{۵} واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم تا پایان روز ۱۵ خواهد رسید و تا این مدت ارزش پروبایوتیکی خود را حفظ خواهند کرد. مصرف روزانه ۱۰۰ گرم از پنیرهای پروبایوتیک تولیدی، برای بروز اثرات مفید سلامتی‌زای آنها توصیه می‌شود.

نتیجه‌گیری

Bifidobacterium lactis BB12 در پنیر ABY+R با سطح تلقیح اولیه $۱۰^{۷}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر تا پایان مدت نگهداری و ترکیب استارتری ABY با سطح تلقیح اولیه $۱۰^{۷}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر به‌مدت ۴۵ روز و با افزایش سطح تلقیح اولیه تا $۱۰^{۹}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر تا سه ماه دارای ارزش پروبایوتیکی می‌باشند. پنیر ABY با سطح تلقیح اولیه $۱۰^{۷}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر، برای *Lactobacillus acidophilus LA5* به‌مدت ۱ ماه و با افزایش سطح تلقیح اولیه به $۱۰^{۹}$ واحدهای تشکیل‌دهنده

کلنی در هر میلی‌لیتر تا ۲ ماه و پنیر ABY+R با افـزایش سطح تلقیح اولیه به $۱۰^{۹}$ واحدهای تشکیل‌دهنده کلنـی در هر میلی‌لیتر، تـا ۱۵ روز بـه‌عنـوان پنیرهـای پروبایوتیـک معرفی می‌شوند.

منابع

1.Arroyo, L., Cotton, L.N., and Martin, J.H. 1994. Evaluation of media for enumeration of Bifidobacterium adolescentis, B. infantis and B. longum from pure culture. Cultured Dairy Products Journal, 29: 2. 20-24.

2.Boylston, T.D., Vinderola, C.G., Ghoddusi, H.B., and Reinheimer, J.A. 2004. Incorporation of bifidobacteria into cheese: challenges and rewards. International Dairy Journal, 14: 375-387.

3.Corbo, M.R., Albenzio, M., Angelis, M.D., Sevi, A., and Gobbetti, M. 2001. Microbiological and Biochemical properties of Canestrato Pugliese Hard Cheese supplemented with Bifidobacteria, Journal of Dairy Science, 84: 551-56.

4.Gobbetti, M., Corsetti, A., Smacchi, E., Zocchetti, A., and De Angelis, M. 1998. Productiion of Crescenza cheese by incorporation of Bifidobacteria. Journal of Dairy Science, 81: 37-47.

5.Gomes, A.M.P., Malcata, F.X., Klaver, F.A.M., and Grande, H.J. 1995. Incorporation and survival of Bifidobacterium sp. Strain Bo and Lactobacillus acidophilus strain Ki in a cheese product. Netherlands Milk and Dairy Journal, 49: 71-95.

6.Gomes, A.M.P., and Malcata, F.X. 1999. Bifidobacterium spp. and Lactobacillus acidophilus: Biological biochemical, technological, and therapeutical properties relevant for use as probiotics. Trends in Food Science and Technology, 10: 130-157.

7.Joint FAO/WHO Expert Consultation, 2001.Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Córdoba, Argentina, 1-4 October (A Report).

8.Metchnikoff, E. 1907. The prolongation of life. Heinemann, London.

9.Mortazavian, A.M., and Sohrabvandi, S. 2006. a Review of probiotics and probiotic food products(with emphasis on dairy products). Eta Publication,Tehran, 485p. (In Persian).

10.Ong, L., Henriksson, A., and Shah, N.P. 2006. Development of Probiotic Cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* and *Bifidobacterium* spp. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid, International Dairy Journal, 16: 446-456.

11.Pagano, J.C. 1998. Nueva legislacion del Mercosur para leches fermentadas. Industria Lechera, 713: 8-13.

12.Robinson, R.K., and Samona, A. 1992. Health aspects of bifido products- a review. International Journal of Food Science and Nutrition, 43: 175-180.

13.Robinson, R.K. 1987.Survival of *Lactobacillus acidophilus* in fermented products. *Suid-Afrikaanse Tydskrif Vir Suiwelkunde*, 19: 25-7.

14.Samona, A., and Robinson, R.K. 1994. Effect of yogurt culture on the survival of bifidobacteria in fermented milks. Journal of the society of Dairy Technology, 46: 58-60.

15.SAS. 1990. SAS/STAT User's Guide, Version 6, SAS Institute, Inc., Carry, NC, USA.

16.Shah, N.P. 1997. Isolation and enumerationof bifidobacteria in fermented milk products- a review. Milchwissenschaft, 52: 72-76.

17.Shah, N.P. 2000. Some beneficial effects of probiotic bacteria. Biosciences and Microflora, 19: 99-106.

18.Shah, N.P., Lankauthra, W.E.V., Britz, M.L., and Kyle, W.S. 1995. Survival of Latobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum in commercial yogurt during refrigerated storage, International. Dairy Journal, 5: 515-521.

19.Stanton, C., Gardiner, G., Meehan, H., Collins, K., Fitzgerald, G., Lynch, PB., and Ross, RP. 2001. Market potential for probiotics. *The American Journal Clinical Nutrition*, 73 (suppl): 476S-83S.

20.Vinderola, C.G., Prosello, W., Ghilberto, D., and Reinheimer, J.A. 2000. Viability of Probiotic (Bifidobacterium, Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus casei) and Nonprobiotic Microflora in Argentinian Eresco Cheese. Journal of Dairy Science, 83: 1905-1911.

21.Vinderola, C.G., Mocchiutti, P., and Reinheimer, J.A. 2002. Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. Journal of Dairy Science. 85: 721-729.

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 16(2), 2009
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

Survival of *Bifidobacterium lactis BB12* and *Lactobacillus acidophilus LA5* in white brined cheese

E. Ansari Pour[1], *M. Khomeiry[2], M. Kashani Nejad[2] and H. Mirzaei[2]
[1]M.Sc. Student Dept. of Food Science & Technology Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, Iran, [2]Assistant Prof., Dept. of Food Science & Technology Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, Iran

Abstract

The brine white cheese produced by using starter bacteria (*Streptococcus thermophilus, Lactococcus lactis* subsp *lactis* and *Lactococcus lactis* subsp *cremoris, Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus)* and probiotic bacteria (*Bifidobacterium lactis BB12* and *Lactobacillus acidophilus LA5*) were studied in two types of starter combination: ABY-2 and ABY-2+R-703 during 4 months to determine the survival of probiotic bacteria during processing, ripening and storage. The results showed that *Bifidobacterium lactis BB12* in all produced cheeses had better survival compared with *Lactobacillus acidophilus LA5*. ABY-2+R-703 and ABY-2 cheeses with primary inoculation level of 10^7 cfu/ml of BB12 showed 1.85 and 2.72 Log cfu/g reduction until 120 and 45 days, respectively. Therefore two types of cheeses kept their level of bacterial population to suggested levels to show health effects. *Lactobacillus acidophilus LA5* couldn't kept its survival ability in desired level until 4 months for any types of cheese, but probiotic value increased with increasing the primary inoculation level up to10^9 cfu/ml in ABY-2 cheese after 2 months and in ABY-2+R-703 cheeses after 15 days. Therefore two types of produced cheeses can be suggested as probiotic cheeses.

Keywords: Probiotic; Survival; Cheese

*- Corresponding Author; Email: mkhomeiri@yahoo.com