Original Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 10, Number 3 (July - August)

Journal homepage: www.ijmm.ir

The evaluation of antimicrobial effect of fermented Probiotic milk produced *lactobacillus casei*،*Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium* and *Bifidobacterium angultum*

Nafiseh Farazandehnia

IC Pharmacy school- Tehran University of medial science, Tehran, Iran

Article Information

Article history:
Received: 2014/06/30
Accepted: 2015/11/30
Available online: 2016/10/16

Article Subject:
Food Microbiology

IJMM 2016; 10(3): 31-38

Corresponding author at:

Nafiseh Farazandehnia

IC Pharmacy school- Tehran University of medial science

Tel:: 02133126501

Email:
farazandeh_2005@yahoo.com

Abstract

Background and Aim: Production of probiotic products could be effective in health and prevention of diseases particularly gastrointestinal and infections. The aim of this study was to evaluate antimicrobial effect of fermented probiotic milk using various strains of *L.casei, L. plantarum, B.bifidum and B.angultum.*

Materials and Methods: In this research, the stability of probiotic milk was studied in three different temperatures conditions (4 ،25 ،37ºC), changes in PH and also antimicrobial effects of probiotic products using two standard bacteria including S.aureus and *S.typhimorium*.

Results: The results of this study showed the maximum growth of probiotic bacteria (10^7 Cfu/m) in 18 hour (t=18) after first time (t=0) which was the same in the next times, any change in pH of fermented probiotic milk wasn't seen and the number of pathogenic bacteria reduced in probiotic product approximately 3 log that represents the antimicrobial effect of probiotic products.

Conclusions: In this study the stability of probiotic bacteria in fermented products, suitable pH of probiotic milk and antimicrobial effects of probiotic products were confirmed.

KeyWords: Probiotic, Fermented product, Antimicrobial effect

Copyright © 2016 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Farazandehnia N. The evaluation of antimicrobial effect of fermented Probiotic milk produced lactobacillus casei ،Lactobacillus plantarum , Bifidobacterium and Bifidobacterium angultum. Iran J Med Microbiol. 2016; 10 (3) :31-38

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۱۰ – شماره ۳ – مرداد و شهریور ۱۳۹۵

Journal homepage: www.ijmm.ir

بررسی اثر ضد میکروبی شیر پروبیوتیک تخمیری تهیه شده با سویه‌های *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتو باسیلوس پلانتاروم*، *بیفیدوباکتر بیفیدوم* و *بیفیدوباکتر آنگولتوم*

نفیسه فرازنده نیا

دانشکده داروسازی، واحد پردیس بین الملل دانشگاه علوم پزشکی، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت:۱۳۹۳/۰۴/۰۹

پذیرش:۱۳۹۵/۰۹/۰۹

انتشار آنلاین:۱۳۹۵/۰۷/۲۵

موضوع:

میکروبیولوژی مواد غذایی

IJMM 1395; 10(3): 31-38

نویسنده مسئول:

نفیسه فرازنده نیا

دانشکده داروسازی، واحد پردیس بین الملل

دانشگاه علوم پزشکی، تهران، ایران

تلفن: ۰۲۱۳۳۱۲۶۵۰۱

پست الکترونیک:

farazandeh_2005@yahoo.com

چکیده

زمینه و اهداف: تولید فرآورده‌های پروبیوتیک می‌تواند در سلامتی و پیشگیری از بیماری‌ها به ویژه بیمارهای گوارشی و عفونت‌ها مؤثر باشند. هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد میکروبی شیر پروبیوتیک تخمیری تهیه شده با استفاده از سویه‌های متنوع *Lactolactobacillus*، *Bifidobacterium* می‌باشد

مواد و روش کار: در این مطالعه پایداری شیر پروبیوتیک در سه شرایط دمایی ۳۷ و ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس تغییرات pH و همچنین اثر ضد میکروبی فرآورده تولیدی با استفاده از دو باکتری استاندارد *Staphylococcus aureus* ATCC 29737 و *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 بررسی شد

یافته‌ها: نتایج عبارت بودند از، حداکثر میزان رشد باکتری‌های پروبیوتیک 10^7 CFU /mL در ساعت هجدهم، بعد از زمان اولیه (t=0) که این تعداد در زمان‌های بعدی آزمایش نیز ثابت ماند، تغییر معنی داری در pH نیز مشاهده نشد و میزان باکتری بیماریزا در فراورده پروبیوتیکی حدود ۳log کاهش پیدا کرد که نشان دهنده اثر ضد میکروبی شیر پروبیوتیک می‌باشد.

نتیجه‌گیری: در این بررسی پایدار بودن باکتری های پروبیوتیک در فرآورده تخمیری،pH مناسب شیر پروبیوتیک تخمیری برای مصرف و اثر ضد میکروبی فرآورده پروبیوتیکی تأیید شد.

کلمات کلیدی: پروبیوتیک، فرآورده تخمیری، اثر ضد میکروبی

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

سال‌های بسیاری است که در فراورده‌های لبنی تخمیری باکتری‌های پروبیوتیک استفاده می‌شوند و فراورده‌های لبنی به عنوان محیط پایه مورد استفاده قرار می‌گیرند در این مطالعه شیر به عنوان محیط پایه انتخاب شده است و باکتری‌های پروبیوتیک به آن اضافه می‌شوند. دلیل استفاده از شیر وجود مزیت‌هایی است که برای این فرآورده وجود دارد که ازجمله آنها تمایل عمومی به استفاده شیر در میان مردم به نحوی که در اغلب افراد شیر به عنوان کالایی ضروری در سبد خانوار است و با توجه به تأثیر مهم آن در سلامت کودکان، نوجوانان و سالمندان تمایلی گسترده در استفاده از آن وجود دارد. به همین جهت با توجه به عمومی بودن مصرف شیر در میان مردم این فرآورده به عنوان محیطی که باکتری‌های پروبیوتیک به آن تلقیح می‌شود انتخاب گردید. در فرآورده‌های پروبیوتیک معمولاً از یک باکتری پروبیوتیک استفاده می‌شود، اما استفاده از چند نوع باکتری به منظور سرعت بخشیدن به مراحل تولید اسید و فراهم کردن طعم مناسب و مطبوع بهتر به نظر می‌رسد.

توجه به این نکته زمینه استفاده از چهار باکتری پروبیوتیک شاخص شامل گونه‌های *Lactobacillus casei* PTCC 1608، *Lactobacillus plantarum* PTCC1058، *Bifidobacterium bifidum* PTCC 1644 و *Bifidobacterium angultum* PTCC 1366 گردید، گفتنی است که گونه‌های *lactobacillus* و *Bifidobacterium*، انتخابی از انواع مهم باکتری‌های پروبیوتیک هستند. که بسیاری از آنها در شیرهای تخمیر شده به مدت ۴-۸ هفته زنده می‌مانند (۱،۲). عواملی مثل باکتری‌های آغازگر (starter)، دمای تخمیر، pH، میزان قند، وجود اکسیژن، بسته بندی مواد و بقیه عوامل در رشد و بقای باکتری‌های پروبیوتیک

موثرند. بنابراین بقای باکتری‌های پروبیوتیک در فرمولاسیون نهایی فراورده باید دوباره تأیید شود. پروبیوتیک ها ممکن است در شیرینی‌های شیری یا بستنی‌ها نیز بکار برده شوند. نکته‌ای که باید در مورد پروبیوتیک ها در نظر گرفته شوند امنیت (Safety) مصرف آنهاست. پروبیوتیک ها نه فقط به عنوان عامل پیشگیری در افراد سالم که باید برای بیماران نیز به عنوان عامل درمانی استفاده شوند البته باد توجه شود که پروبیوتیک مورد نظر باید زنده بماند اما نباید به طور نامحدودی پایدار بماند. پایداری سویه ممکن است بر تعادل میکروفلور نرمال اثر گذاشته و یا باعث جابجایی آن شود. البته این اتفاق زمانی رخ می‌دهد که سیستم ایمنی میزبان تضعیف شده باشد. سویه پروبیوتیک مورد نظر باید برای مشخص شدن قدرت بیماری‌زایی‌اش با استفاده از مدل های In vitro و مدل‌های حیوانی و داوطلبان انسانی سالم آزمایش شده باشند (۳).

با توجه به اهمیت و تأثیر فراورده‌های پروبیوتیکی در سلامت، تغذیه، پیشگیری از بیماری ها و ... انجام تحقیقات در این زمینه به سالیانی قبل بازمی گردد و هر روزه بررسی های تحقیقاتی در این زمینه افزایش می‌یابد. از جمله این مطالعات میتو ان به نوعی فرآورده پروبیوتیکی اشاره کرد که در سال ۲۰۰۵ از جوانه گندم و عصاره مخمر و بیفیدوباکتر تهیه شده است که تعداد باکتری *Bifidobacterium* در طی ۱۶ ساعت در آن $۹/۵ \times ۱۰^{۸}$ CFU /mL بوده و در پیشگیری و درمان بیماری ها مؤثر می‌باشد (۲). همچنین در مقاله‌ای به تولید شیر پروبیوتیکه حاوی *L.plantarum* $۱/۰ \times ۱۰^{۸}$ CFU /mL تا $۳/۶ \times ۱۰^{۸}$ بود اشاره شده است (۳). در مطالعه‌ای ضمن تولید شیر پروبیوتیک به بررسی اثر آن در درمان عفونتهای روده‌ای پرداختند. در مطالعه‌ای دیگر در سال ۲۰۰۳ عصاره تخمیری تهیه کردند که عملکرد مهاری در عفونت‌های باکتریال از خود نشان داد (۴). در این مطالعه به تهیه شیر پروبیوتیک با استفاده از سویه‌هایی لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتر پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

میکروارگانیسم‌ها

باکتری‌های *L. casei* PTCC 1608،PTCC 1058 *L .plantarum* ،*B. bifidumPTCC 1644* و B. *angultum PTCC 1366* گردید، که در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند از آزمایشگاه کنترل غذا و داروی دانشکده داروسازی دانشگاه تهران تهیه شدند، که به ترتیب *L. casei* دارای ویژگی‌های پروبیوتیکی است و مانند *l. acidophilus* دارای اثرات تحریک کننده سیستم ایمنی می‌باشد. این سویه دارای فعالیت‌های آنتاگونیستی بر علیه *E.coli* است و توانایی ساختن اسید آمینه L- لیزین (L-lysine) را دارد. این اسید آمینه دارای فعالیتهای ضد ویروسی است. همچنین می‌تواند مواد مغذی کلیدی و ویتامین‌ها و مواد آنتی اکسیدان را ذخیره کند (۵). در خصوص بیفیدوباکترها تحمل اسیدیته بالا، مقاومت به نمک های صفراوی و مقاومت در برابر آنزیمهای گوارشی از ویژگیهای مورد توجه بوده است (۶).

شناسایی باکتریهای اسید لاکتیک

جهت شناسایی از روش رنگ آمیزی گرم و سپس تست های بیوشیمیایی استفاده شد. از این رنگ آمیزی جهت مشاهده شکل ظاهری میکروب‌های مذکور در زیر میکروسکوپ و کنترل عدم آلودگی کشت‌ها استفاده گردید

تهیه مایع تلقیح

هنگام نیاز به کشت اصلی میکروب‌ها، یک تک کلنی خالص از کشت چهار منطقه‌ای باکتری روی محیط های MRS agar جهت رشد باکتریهای *L. casei* ،*L. plantarum* ،*B. bifidum* و *B. angultum* به ۱۰ میلی لیتر محیط کشت مایع MRS منتقل گردید و پس از رشد (۳۷ °C و ۲۴ h) در شرایط بی هوازی، ۰/۵ میلی لیتر از این محیط مجدداً به ۵۰ میلی لیتر محیط کشت مایع MRS (به نسبت $1\%\frac{V}{V}$) منتقل شد تا فاز تأخیر کوتاه گردد. (جهت اطمینان از Vegetative بودن باکتری ها، می‌توان ازکشت ۲۰ ساعته باکتری‌ها، جهت تلقیح به محیط استفاده کرد).

بدین منظور ۱۰ میلی لیتر از این محیط را در شرایط استریل با دور ۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ کرده و سپس دو بار با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر استریل شستشو داده و مجدداً سانتریفوژ کردیم. رسوب تهیه شده را در ۵ mL شیر حل می‌کنیم رقت سوسپانسیون تهیه شده ($۱۰^{۸}$ CFU /mL) است. لازم به ذکر است رقت مورد نظر با استفاده از روش plate count مورد تأیید قرار گرفت. در این مرحله از سوسپانسیون تهیه شده ۱ mL به ارلن ۱۰۰ mL حاوی شیر پاستوریزه اضافه می‌کنیم. رقت این ارلن $۱۰^{۶}$ CFU /mL است. در مرحله بعد از سوسپانسیون دوم ۱ mL به ارلن ۱۰۰ mL حاوی شیر پاستوریزه

اضافه می‌کنیم رقت ارلن نهایی 10^4 CFU / mL است. در این مرحله جهت طی شدن مدت زمان لازم برای فرآیند تخمیر و به جهت آنکه میزان رقت باکتری به 10^8 CFU /mL برسد به مدت ۱۰ ساعت ارلن حاوی شیر پاستوریزه با رقت 10^4 CFU / mL در انکوباتور ۳۷ c^o قرار داده می‌شود. لازم به ذکر است که زمان ۱۰ ساعت بر اساس آزمایش‌های صورت گرفته با متد اندازه گیری کینتیک رشد به دست آمده است.

روش اندازه گیری کینتیک رشد باکتریها در ۴۸ ساعت

این روش برای بدست آوردن زمانی است که رقت باکتریهای موردنظر به بالاترین میزان خود رسیده باشد. برای این مرحله از روش اندازه گیری با روش بررسی کینتیک رشد استفاده می‌شود. روش کار به این ترتیب است که از زمان t=0 تا سپری شدن ۴۸ ساعت و رسیدن به زمان t= 48 h از ارلن نهایی که دارای رقت 10^4 CFU / mL بود و در گرم خانه ۳۷ ^oC (انکوباتور) قرار دادیم و در فاصله‌های زمانی دو ساعت یک بار، 1 mL برداشته و از آن سری رقت تهیه و سپس به روش شمارش در پلیت (plate count) روی محیط MRS Agar انجام شد. در مرحله بعد پلیت ها در گرم خانه ۳۷ ^oC به مدت ۴۸ ساعت گرم خانه گذاری شد و در نهایت پلیت های حاوی ۳۰ تا ۳۰۰ کلنی مدنظر قرار داده شد (۷). به منظور کاهش خطا هر آزمون با دو بار تکرار انجام شد و ضمن این بررسی مشخص گردید در زمان t= 10 رقت باکتریهای مورد نظر ما به 10^8 cfu/mL رسید.

شمارش میکروارگانیسم‌های زنده (Plate count)

به علت کدورت محیط‌های آزمایش حاوی شیر، اندازه گیری میزان رشد باکتری‌ها به روش کدورت نسبی (OD) ممکن نبود، لذا جهت بالا بردن دقت، از روش Plate count جهت شمارش میکروارگانیسم زنده استفاده شد.

شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها به روش Plate count

از لحظه تلقیح نمونه برداری به فاصله هر ۲ ساعت تا ۳۰ ساعت با استفاده از روش Plate count انجام گرفت. قبل از نمونه گیری، ارلن ها توسط حرکت دورانی تکان داده شد تا نمونه گرفته شده را بتوان نمونه‌ای از کل کشت تلقی نمود، سپس تهیه رقت (Serial dilution) از نمونه‌های موردنظر انجام شد.

بررسی پایداری

بررسی پایداری *B. bifidum* ،*L. plantarum* ،*L. casei* و *B. angultum* در شیر پروبیوتیک تخمیری تهیه شده با این روش در شرایط دمایی متفاوت (محیط، یخچال، انکوباتور) با متد Pour Plate به فاصله هر ۴۸ ساعت انجام گرفت و پایداری آنها به مدت ۱۵ روز در شرایط دمایی مذکور سنجیده شد.

بررسی اثرات ضد میکروبی

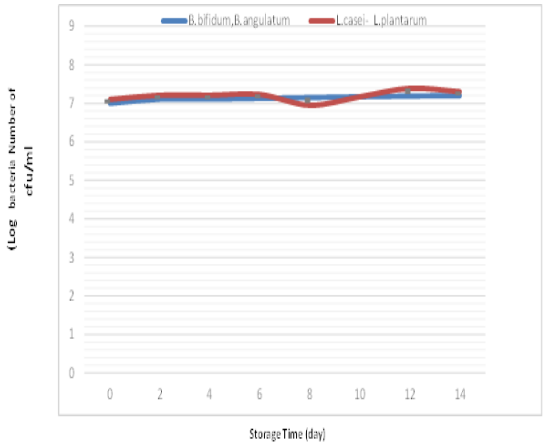
جهت بررسی اثر ضد میکروبی فراورده پروبیوتیک تولیدی از کشت اصلی دو باکتری، *S.aureus* (شاخص باکتری های گرم مثبت بیماری زا) و *S. typhimurium* (شاخص باکتری های گرم منفی بیماری زا) Sub Culture تهیه شد و میزان OD را با دستگاه اسپکتروفتومتر سنجیده تا OD سوسپانسیون میکروبی به ۰,۲۵ برسد. لازم به ذکر است که باکتریهای پاتوژن در رقت میکروبی 10^6 CFU /mL بیماریزا هستند، و در OD مورد نظر رقت سوسپانسیون میکروبی 10^6 CFU /mL است. در این مطالعه طبق همین روش از رقت 10^6 CFU /mL از باکتریهای پاتوژن استفاده شد که بر اساس روش گفته شده تهیه گردید (۷). سپس ۱mL از Sub Culture تهیه شده به شیر پروبیوتیک اضافه گردید و از زمان صفر به مدت ۴۸ h کینتیک رشد باکتریهای پاتوژن اندازه گیری شد تا در نهایت مشخص شود که باکتریهای پروبیوتیک موجود در شیر چه میزان از باکتریهای پاتوژن را از بین برده‌اند.

آنالیز آماری

برای انجام آنالیز آماری از نرم افزار آماری SPSS, version16 استفاده شد. نتایج توسط ANOVA یک طرفه آنالیز شد. همچنین برای مقایسه‌های چندگانه از تست Tukey's post hoc استفاده گردید.

یافته‌ها:

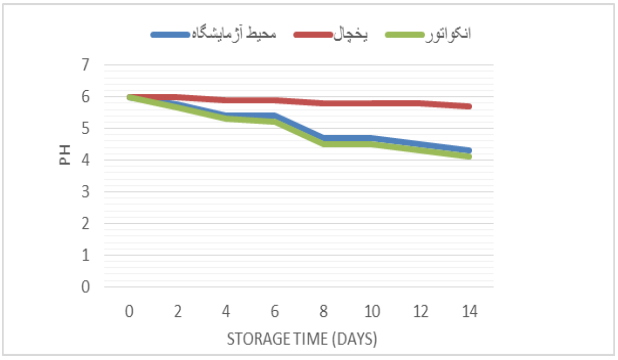
در طی مدت ۱۴ روز میزان لگاریم رشد *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* موجود در شیر پروبیوتیک به مقدار 10^8 CFU/mL رسید که حد مطلوب رشد برای آزمایش ما می‌باشد. لازم به ذکر است رقت مورد نظر با روش Pour plate به تأیید رسید. (نمودار- ۱)



نمودار ۱: نتایج مربوط به تغیرات جمعت میکروبی شیر پروبیوتیک تلقیح شده با *L. casei*، *L. plantarum* *B. bifidum* و *B.angultum*، طی ۱۴ روز در شیر پروبیوتیک تخمیری

تغییرات pH در شیر پروبیوتیکی در طی مدت نگهداری

در این مطالعه میزان pH اولیه شیری که برای تهیه فرآورده استفاده شده برابر با ۶ بود، اما پس از تلقیح باکتری‌های نام برده و طی شدن مدت زمان گرم خانه گذاری، pH کاهش پیدا نمود و به میزان ۴/۳-۵/۸ رسید. این تغییرات pH در نمودارهای مربوطه ذکر شده است و همان طور که در نمودار (۲) مشخص است میزان pH در طول مدت نگهداری شیر، با اندک تغییراتی، تقریباً ثابت مانده است. و تفاوت معنی داری (pH<٪۵) در تغییرات pH در طی روزهای مختلف وجود ندارد، که این نشان دهنده ثابت بودن pH در طول مدت نگهداری فراورده می‌باشد. این امر (ثابت ماندن pH) همانند پایداری باکتری‌های مورد استفاده از مسائل مهم در تهیه یک فراورده پروبیوتیکی می‌باشد زیرا کاهش pH در طی زمان نگهداری محصول تا مقادیر پایین (pH<۳) همراه با افزایش تولید اسید توسط باکتری‌ها می‌باشد، که در طعم و مزه فراورده تأثیر گذاشته و شرایط نامطلوبی را برای محصول ایجاد می‌کند.. گفتنی است که pH نهایی در فرآورده شیر پروبیوتیک تخمیری ایجاد طعم کمی‌ترش می‌کند که این طعم برای هر ذائقه‌ای مورد پسند نمی‌باشد. البته این مساله یک سلیقه تغذیه‌ای است چنانکه در بعضی از کشورها مانند کشور بلغارستان این طعم کمی‌ترش در فرآورده‌های لبنی مورد پسند مردم بوده و براحتی نیز استفاده می‌شود. اما در ایران با توجه به ذائقه عمومی فرآورده مورد نظر، بصورت پودر درآمده و در بسته بندی‌های مناسب جهت استفاده به صورت افزودنی به سالاد و مواد غذایی و به صورت محلول در آب، آبمیوه، مورد استفاده قرار می‌گیرد (نمودار ۲).

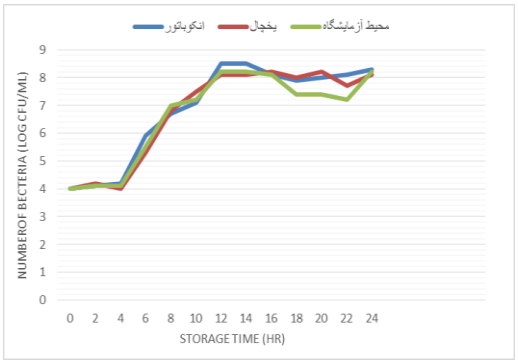


نمودار ۲: نتایج مربوط به تغییرات pH در فرآورده شیر پروبیوتیک تخمیری در شرایط دمایی (انکوباتور ۳۷c°، یخچال و محیط)

نتایج مربوط به بررسی کینتیک رشد باکتری‌ها در شیر پروبیوتیکی

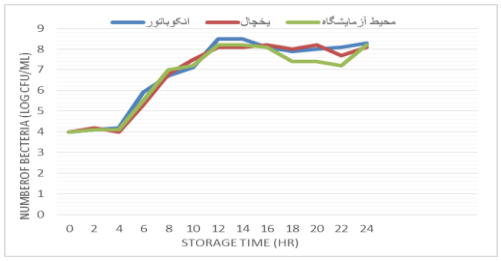
در بررسی نتایج مربوط به کینتیک رشد باکتری‌ها در شیر تهیه شده می‌توان چنین بیان کرد که در مورد *L. casei* تعداد اولیه ۱۰۲ CFU /mL از این باکتری در زمان صفر به تدریج افزایش یافته به طوریکه در ساعت دوازدهم تعداد آن به ۱۰۵ CFU/mL رسیده و هم چنین در ساعت هجدهم نیز به حداکثر میزان رشد خود یعنی ۱۰۷CFU/mL می‌رسد و این تعداد درآن زمان‌های بعدی مورد آزمایش نیز تکرار شده و ثابت می‌ماند و همچنین کینتیک رشد باکتری *L. plantarum* نیز در این آزمایش مشابه با *L. casei* بوده و سیر صعودی رشد آن ادامه دارد چنانکه درساعت هجدهم به ۱۰۷ CFU /mL رسیده و هم چنان طی ساعات بعدی مورد آزمایش نیز تعداد آن ثابت می‌ماند (نمودار ۳).

لازم به ذکر است که به جهت نزدیکی و تطابق مقادیر تعداد دو باکتری در هر یک از سه محیط و در ساعات مورد نظر یک خط در نمودار به عنوان نماد تعداد دو باکتری *L. casei*، *L.plantarum* نشان داده شده است (نمودار ۳).



نمودار ۳: بررسی کینتیک رشد *B. bifidum* و *B. angultum* در نمونه نگهداری شده در سه محیط مورد آزمایش

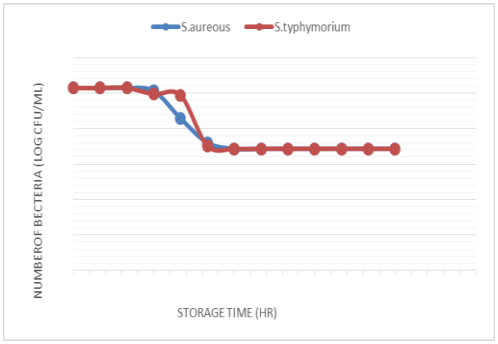
کینتیک رشد باکتری *B. bifidum* و *B. angultum* نیز در روندی مشابه *L. casei* و *L. plantarumL* سیر صعودی رشد داشته و از میزان CFU /mL ۱۰^۲ در زمان صفر به CFU /mL ۱۰^۷ درساعت هجدهم می‌رسد و هم چنان طی ساعات بعدی آزمایش نیز تعداد آن ثابت می‌ماند (نمودار ۴). لازم به ذکر است که به جهت نزدیکی و تطابق مقادیر تعداد دو باکتری در هر یک از سه محیط و در ساعاتِ مورد نظر یک خط در نمودار به عنوان نماد تعداد دو *B. bifidum* و *B. angultum* نشان داده شده است (نمودار ۴).



نمودار ۴: بررسی کینتیک رشد *B. bifidum* و *B. angultum* در نمونه نگهداری شده در سه محیط مورد آزمایش

اثر ضد میکروبی شیر پروبیوتیک تخمیری بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تایفی موریوم*

در بررسی اثر ضد میکروبی با استفاده از محصول پروبیوتیک و اضافه کردن mL ۱ از سوسپانسیون باکتری استاندارد *S. aureus* و *S. typhimurium* بصورت جداگانه به آن مشخص گردید که بعد از ۸ ساعت میزان باکتری بیماری‌زا در حدود log ۳ کاهش پیدا کرد که نشان دهنده اثر ضد میکروبی فرآورده مورد نظر بود (نمودار ۵).



نمودار ۵: اثر ضد میکروبی شیر پروبیوتیک تخمیری بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تایفی موریوم*

بحث:

امروزه پروبیوتیک‌ها در صنایع غذایی و دارویی، به عنوان مکمل‌های طبیعی زنده اهمیت روزافزونی پیدا نموده‌اند و در سیری پیوسته و رو به افزایش هر روزه گزارشات و نتایج جدیدی در مورد اثرات مفید و مؤثر آنها گزارش می‌شود. پروبیوتیک‌ها نه فقط به عنوان عامل پیشگیری در افراد سالم که برای بیماران هم می‌توانند به عنوان عامل درمانی استفاده شوند. البته باید توجه کرد که پروبیوتیک مورد نظر باید زنده بماند اما، نباید به طور نامحدودی پایدار باشد چون پایداری سویه پروبیوتیک موردنظر ممکن است بر تعادل میکروفلور نرمال اثر گذاشته و یا باعث جابجایی آن شود. لازم به ذکر است که این اتفاق زمانی رخ می‌دهد که سیستم ایمنی میزبان تضعیف شده باشد به همین جهت سویه پروبیوتیک مورد نظر باید برای مشخص شدن قدرت بیماری‌زایی اش با استفاده از مدل های Invitro و مدل‌های حیوانی و داوطلبان انسانی سالم آزمایش شده باشند (**۸**).

از جمله این مطالعات میتوان به نوعی فرآورده پروبیوتیکی اشاره کرد که در سال ۲۰۰۵ از جوانه گندم و عصاره مخمر و بیفیدوباکتر تهیه شده است که تعداد باکتری *Bifidubacterium* در طی ۱۶ ساعت در آن CFU/mL ۱۰^۸×۹/۵ بوده و در پیشگیری و درمان بیماری‌ها مؤثر می‌باشد (**۹**). همچنین در مقاله‌ای به تولید شیر پروبیوتیک حاوی ۱۰^۸× ۱/۰ تا ۱۰^۸× ۳/۶ *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بود اشاره شده است (**۱۰**). در مطالعه‌ای ضمن تولید شیر پروبیوتیک به بررسی اثر آن در درمان عفونت‌های روده‌ای پرداختند (**۱۱**). در مطالعه‌ای دیگر در سال ۲۰۰۳ عصاره تخمیری تهیه کردند که عملکرد مهاری در عفونت‌های باکتریال از خود نشان داد (**۱۲**). در این مطالعه به بررسی اثر ضد میکروبی شیر پروبیوتیک تخمیری تهیه شده با

سویه‌هایی لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتر و پرداخته شده است (۱۳).

افزایش مصرف و تنوع در خور توجه فراورده‌های پروبیوتیکی در بعضی از کشورها و همچنین وجود اثرات بسیار مفید استفاده از این محصولات در میزبان، باعث ایجاد زمینه‌ای رو به رشد و مساعد برای انجام تحقیقات درباره باکتری‌های پروبیوتیک شده است (۱۳). اما در کشورِ ما، تا به امروز مطالعات و پژوهش‌ها در این زمینه بسیار اندک بوده و انجام فعالیت‌های گسترده و هدفمند ضروری به نظر می‌رسد چون بی‌تردید در صورت مطالعه از بررسی، تولید و استفاده از این محصولات با نتایج مؤثر و مفید آن روبرو خواهیم شد که منجر به افزایش سطح سلامت و بهبود روند درمان در جهت کاهش استفاده از داروهای شیمیایی و صنعتی خواهد بود. به طور مثال به دنبال مطالعه تولید شیر پروبیوتیکی می‌توان در زمینه تولید سایر فراورده‌های لبنی مانند پنیر و ماست و غیره اقدام نمود و یا در زمینه ژنتیک باکتری‌های پروبیوتیک مطالعاتی انجام داد (۱۴)، هم چنین می‌توان نحوه عملکرد مفید این باکتری‌ها را در شرایط invivo بررسی کرد. و در مورد نحوه عملکرد این میکروارگانیسم‌ها نسبت به پاتوژن ها و بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری‌های پروبیوتیکی و بسیاری موضوعات دیگر اقداماتی مؤثر انجام داد (۱۵) و نتایج به دست آمده از این مطالعات را در موارد مختلف مانند درمان بیماری‌ها، تولید فراورده‌های پروبیوتیکی، تولید دارو و... به نحو مؤثری بکار گرفت. در تحقیقات مختلف مشخص شده است فرآورده‌های لبنی از رایج‌ترین حامل‌های باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشد. به گونه‌ای که این ترکیبات، باکتری‌های پروبیوتیک را از شرایط اسیدی حفاظت می‌کنند و در نتیجه حیات آن‌ها را در محیط معده افزایش می‌دهند. همچنین شیر حساسیت سویه‌های بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیلوس حساس به اسید را در طول عبور از شرایط شبه مجرای گوارش افزایش می‌دهد که طبق نظر Conway و همکارانش این اثر حفاظتی ممکن است به علت افزایش pH روده بعد از اضافه شدن شیر باشد (۱۶). Samona حداقل میزان باکتری پروبیوتیک بکار رفته در فراورده‌های پروبیوتیک را 10^6 Cfu/mL بیان نمود. در این مطالعه نیز تعداد باکتری‌های پروبیوتیک زنده موجود در شیر پروبیوتیک تخمیری در طی ۱۴ روز نگهداری در شرایط دمایی تعریف شده در حد قابل قبول 10^7 Cfu/mL گزارش گردید (۱۷).Georgieva و همکارانش بر روی شیر تخمیر شده با لاکتوباسیلوس پلانتاروم مطالعاتی انجام دادند. در این تحقیق در حدود 10^6 Cfu/mL باکتری به شیر بدون چربی (Skim milk) تلقیح شد. طی زمان تخمیر تعداد باکتری‌ها دو سیکل لگاریتمی افزایش یافت و در زمان نگهداری در یخچال تا روز ۲۸ حیات باکتری‌ها در حد مطلوبی حفظ شد و به حدود 10^7 Cfu/mLl رسید لذا شیر تخمیری حامل مناسبی برای سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم در نظر گرفته شد که می‌تواند حامل تعداد بالایی از سلول‌های زنده در فرآورده نهایی در زمان مصرف باشد (۱۸). در این مطالعه تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در شیر پروبیوتیک تخمیری طی زمان تخمیر سه سیکل لگاریتمی افزایش یافت و در مدت نگهداری در شرایط دمایی تعریف شده هم پایدار ماند. نتایج این تحقیق نشان داد سویه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم استفاده شده طی زمان تخمیر در حد قابل قبولی افزایش می‌یابد. Ronaka و همکارانش نشان دادند pH شیر بدون چربی (Skim milk) تهیه شده با سویه‌های *لاکتوباسیلوس برویس* در مدت ۲۰/۵ ساعت تخمیر در دمای ۳۷ درجه سلسیوس تغییر محسوسی نمی‌کند (۱۹). نتایج این مطالعه نشان داد که در مدت ۲۴ ساعت تخمیر شیر تخمیری تهیه شده با سویه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتر pH تا حدود ۳/۴ - ۵ کاهش می‌یابد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که شیر پاستوریزه می‌تواند به عنوان محیطی مناسب برای تهیه شیر پروبیوتیک تخمیری با استفاده از سویه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتر باشد، علت پایداری شیر پروبیوتیک تخمیری در مقایسه با شیر معمولی را می‌توان به تولید اسید لاکتیک و ترکیبات ضد میکروبی توسط سویه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتر نسبت داد که منجر به حفاظت شیر می‌شود البته خواص ضد باکتری این فرآورده نیز به اثبات رسیده است.

تعارض منافع:

بین نویسندگان و مجله میکروب شناسی پزشکی ایران هیچ گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

References

1. human origin: Correlation with in vivo findings. American Journal of Clinical Nutrition. (2001) 73(2): 386-392.
2. Gill HS. Stimulation of the immune system by lactic cultures. Int. Dairy J. (1998) 8: 535-544.
3. Artih A, Rekhit N, Michael M. Detection of bacteriocins produced bye Lactobacillus plantarum strains isolated from different food. Microbiol J. (1993) 75: 117-123.
4. Waard R, Garssen J, Bokken GCAM, Vos JG. Antagonistic activity of Lactobacillus casei strain Shirota against gastro intestinal Listeria monocytogenes infection in rats. Int. J. Food Microbiol. (2002) 73: 93-100.
5. Colombel JF, Cortot A, Neut C, Romond C. Yogurt with Bifidobacterium longum reduces erythromycin-induced gastrointestinal effects. Lancet. (1987) 2(8549): 43
6. Adams MR. Hall CJ Growth inhibition of food born pathogen by lactic acid and acetic acid and their mixtures. Int. J. Food Science Technol, (1988) 23: 287-92.
7. Fazeli MR, Amirmozafari N, Golbooi nejad R,Jamalifar H. Antagonistic action of watermelon Juiceprobioticated using different strain of Lactobacilli against Salmonella Typhimurium. Iranian J Publ Health 2007, 36(4):70-3
8. Aroutcheva AA, Simoes JA, Faro S. Antimicrobial protein produced by vaginal Lactobacillus acidophilus that inhibits Gradnerella vaginalis. Infect. Dis. Obstet. Gynecol. (2001) 9: 33-39.
9. Bernet MF, Coconnier MH, Kerneis S, Chauviere G, Fourniat J, Servin AL Inhibition of adhesion of enteroinvasive pathogen to human intestinal Caco-2 cells by Lactobacillus acidophilus strain Lb decrease bacterial invasion. FEMS Microbiol. Left. (1993) 110: 299-305.
10. Collins JK, Thornton G, O'Sullivan GO. Selection of probiotics strains for human application. Int. Dairy J. (1998) 8: 487-490.
11. Fuller. R. Probiotics in man and animals: A Review. J. Appl. Bacteriol. (1989) 66: 365-378
12. Ishibashi N, Yamazaki S. Probiotic and safety. Am. J. Clin. Nutr. (2001) 73: 465-470
13. Busta F, Leighton S, Sui J, Brady L. 16s ribosomal DNA analysis of the feacal Lactobacilli composition of human subjects consuming a probiotic strain Lactobacillus acidophilus NCFM(R). J. Appl. Microbiol. (2002) 93: 907-912.
14. Kumar. R, Kumar Mishra. N, Malik. M. A role of probiotic beverages in human health with special references to probiotic milk. Asian Pac. J. Health Sci, 2014; 1(3): 162-173
15. Vrese.Md, Schrezenmeir.J. Probiotics and non-intestinal infectious conditions. British Journal of Nutrition, (2002),88(1):59–66
16. Huang, Y. & Adams M. C. (2004). Invitro assessment of the upper gastrointestinal tolerance of potential probiotic dairy propioni bacteria. International Journal of Food Microbiology, 91, 253-260
17. Ostlie, H. M., Treimo, J. & Narvhus, J. A. (2005). Effect of temperature on growth andmetabolism of probiotic bacteria in milk. International Dairy Journal, 15, 989– 997.
18. Georgieva, R., Iliev, I., Haertle, T., Chobert, J. M. Ivanova, I. & Danova, S. (2009). Technological properties of candidate probiotic Lactobacillus plantarum strains. International Dairy Journal, 19, 696–702.
19. Ronka, E., Malinen, E., Saarela, M., Koski, M. R., Aarnikunnas, J. & Palva, A. (2003). Probiotic and milk technological properties of Lactobacillus brevis.International Journal of Food Microbiology, 83, 63– 74