

## بررسی فاکتور های زنده مانی باکتری در دوره نگهداری چیپس سیب زمینی پروبیوتیک

حسنا طالب پور<sup>۱\*</sup>، سید هادی رضوی<sup>۲</sup>، مهناز هاشمی روان<sup>۳</sup>، علی افسر<sup>۴</sup>

۱- دانش آموخته دوره کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا، گروه صنایع غذایی، ورامین، ایران

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، عضو هیأت علمی دانشگاه تهران، گروه صنایع غذایی، تهران، ایران

۳- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا، گروه صنایع غذایی، ورامین، ایران

۴- مربی، عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا، گروه صنایع غذایی، ورامین، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۰/۵/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۲۰)

### چکیده

چیپس سیب زمینی به عنوان یک فرآورده غذایی خشک می‌تواند پروبیوتیک‌ها را در میان مصرف‌کنندگان توزیع کند، اما تاکنون مطالعاتی بر روی امکان افزودن پروبیوتیک‌ها در انواع اسنک‌ها از جمله چیپس سیب زمینی صورت نگرفته است. در این تحقیق، چیپس سیب زمینی پروبیوتیک حاوی دو گونه از باکتری های اسیدلاکتیک به نام لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس رامنوسوس با استفاده از روش های مرسوم تولید چیپس تولید گردیده و سپس زنده مانی باکتری های پروبیوتیک ذکر شده، در طول نگهداری در سه سطح دمایی ۴، ۲۱ و ۳۸ درجه سانتیگراد و بسته بندی های پلاستیکی معمولی (در مجاورت اکسیژن) و پوشش دار (عدم حضور اکسیژن) در مدت زمان دو هفته مورد بررسی قرار گرفت. ریز پوشانی دو گونه ی باکتری در دانک هایی از جنس صمغ عربی در ترکیب با ژلاتین انجام گرفت. نتایج نشان داد که تعداد باکتری های زنده پس از ۱۴ روز به طور معنی داری کاهش می یابد. بین نمونه های نگهداری شده در سه سطح دمایی ۴، ۲۱ و ۳۸ درجه سانتیگراد، در سطح اطمینان یک درصد اختلاف معنی دار مشاهده شد. هم چنین بین نمونه های نگهداری شده در دو نوع بسته بندی، در سطح اطمینان یک درصد اختلاف معنی دار مشاهده گردید. حداکثر زنده مانی در نمونه نگهداری شده در دمای ۳۸ درجه سانتیگراد و بسته بندی پلاستیکی پوشش دار می باشد. تعداد پروبیوتیک زنده در هر گرم از چیپس سیب زمینی بالاتر از ۱۰<sup>۶</sup> بود که مطابق با مقدار توصیه شده از سوی سازمان جهانی غذا و دارو است. با افزایش تعداد اولیه پروبیوتیک های ریز پوشانی شده می توان به استاندارد مورد نظر در محصول نهایی دست یافت.

کلید واژگان: پروبیوتیک، چیپس سیب زمینی، ریز پوشانی، زنده مانی

\* مسئول مکاتبات: talebpour\_h@yahoo.com

## ۱- مقدمه

پروبیوتیک ها باکتری های سودمندی هستند که هنگامی که به میزان مطلوب موجود باشند، اثرات سود بخشی بر سلامت میزبان دارد و این اثرات مفید را از طریق متعادل سازی میکروبی های بومی طبیعی روده بر بدن میزبان اعمال می کنند [۱]. فواید باکتری های پروبیوتیک متعدد می باشد که بعضی از آن ها از نظر علمی ثابت شده اند و بعضی دیگر نیاز به مطالعه بیشتر دارند. آن دسته از مزایای باکتری های پروبیوتیک که از نظر علمی ثابت شده اند شامل کاهش بیماری های قلبی، کاهش خطر ابتلا به سنگ کلیه، [۲]، جلوگیری از سرطان روده [۳]، کاهش کلسترول و فشار خون، افزایش ارزش تغذیه ای غذا با سنتز ویتامین های گروه ب و ک، بهبود جذب املاح کلسیم، مس، فسفر، آهن، روی و منگنز، بهبود عدم تحمل لاکتوز، کاهش نفخ و تورم شکم [۴]، کاهش عوارض بیماری کبدی و هم چنین دارا بودن اثرات ضد میکروبی (علیه باکتری *Helicobacter pylori*) و ضد عفونی می باشد [۵]. مزایای دیگر باکتری های پروبیوتیک که در مواردی مشاهده شده و به مطالعه و بررسی بیشتری نیاز دارند شامل کاهش احتمال ابتلا به آلرژی (با جلوگیری از تماس سلول های روده با عوامل آلرژی زا) و آگزما [۶]، تقویت و تحریک سیستم ایمنی بدن [۷] درمان اسهال روتاویروسی، اسهال مسافرتی و اسهال ناشی از ویروس ایدز، درمان زخم معده و التهاب روده [۸] و همچنین دارای فعالیت ضدجھشی، بهبود دهنده هپاتیت و یبوست می باشد [۹]. اثرات سلامتی بخش پروبیوتیک ها از فعالیت سلول های زنده، سلول های مرده و حتی دیواره سلولی و بخش های سیتوپلاسمی و متابولیت های آن ها در دستگاه گوارش حاصل می شود. سه روش برای افزایش و حفظ جمعیت پروبیوتیک ها و افزایش اثرات سلامتی بخش آن ها در روده وجود دارد که شامل مصرف ترکیبات پروبیوتیک به همراه غذا، پرهیز از عوامل کاهش دهنده جمعیت پروبیوتیک ها در روده مثل رژیم غذایی ناسالم، استرس، بیماری، اشعه و داروها و همچنین مصرف خوراکی پروبیوتیک ها به تعداد زیاد از طریق فرآورده های غذایی و دارویی می باشد. بنابراین خواص سلامتی بخش پروبیوتیک ها شامل هر دو جنبه پیشگیری و درمان (تغذیه ای و دارویی) است. پیشگیری یا درمان با استفاده از پروبیوتیک ها در مقایسه با آنتی بیوتیک ها دارای مزایای

متعددی است. از جمله اینکه با مصرف آنتی بیوتیک، آثار جانبی مضر مانند از بین رفتن فلور میکروبی مفید روده و تضعیف سیستم ایمنی بدن و افزایش خطر ابتلا به امراض عفونی و آلرژی ایجاد می شود و همچنین افزایش خطر مقاوم شدن باکتری های بیماری زا به آنتی بیوتیک را به دنبال دارد [۱۰].

از آنجا که سلول پروبیوتیک برای ساکن شدن در روده و رشد و ازدیاد سلولی و همچنین بروز اثرات سلامتی بخش الزاماً باید زنده به روده برسد، این سؤال پیش می آید که چگونه می توان سلول های پروبیوتیک را به طور زنده وارد روده کرد؟ از طرف دیگر باکتری های پروبیوتیک ها زنده در مقایسه با سلول های غیر زنده، دارای اثرات درمانی بیشتر هستند. یک راه برای افزایش زنده مانی پروبیوتیک ها، محافظت فیزیکی آن ها در مقابل شرایط نامناسب تولید، نگهداری و مصرف غذاست. ریزپوشانی<sup>۱</sup> یا درون کپسولی کردن فرآیندی است که طی آن پوسته ای از مواد محافظت کننده در اطراف ریز زنده های پروبیوتیکی ایجاد شده و به زنده مانی آن ها کمک می کند و مانع از اثر شرایط نامساعد ماده غذایی و شرایط ناملایم اسیدی و قلیایی دستگاه گوارشی بر زنده مانی پروبیوتیک می گردد [۱۱ و ۱۲].

باکتری ها در روده انسان به سه گروه مفید، مضر و بی اثر تقسیم می شوند و اگر نسبت باکتری های مضر به انواع مفید زیاد شود، تولید سم و مواد سرطانزا افزایش می یابد و منجر به کاهش سیستم ایمنی، بروز بیماری های متفاوت و پیری زودرس می شود، هم چنین با افزایش سن، نسبت بیفیدوباکترهای روده ای کاهش یافته و بر تعداد باکتری های گندزا<sup>۲</sup> و بیماری زا افزوده می شود و باکتری های گندزا با تولید ترکیبات سمی در روده بزرگ سلامتی انسان را تهدید می کنند. بنابراین ضروری است که برای حفظ سلامتی در طول زندگی، جمعیت باکتری های روده ای را در حد اولیه (بالا) نگهداشته و از کاهش جمعیت آن ها جلوگیری کنیم. همچنین باید توازن فلور میکروبی روده را به سمت باکتری های مفید تغییر دهیم. یک راه برای رسیدن به این هدف مصرف محصولات حاوی پروبیوتیک هاست [۱۳].

پروبیوتیک ها اغلب به محصولات لبنی تخمیری اضافه می شوند [۱۴]. اما امروزه افزایش تقاضای مصرف کنندگان برای

1. Microencapsulation  
2. Putrefactive

کارایی پروبیوتیک‌ها در ماده غذایی، بستگی به تعداد اولیه پروبیوتیک‌های زنده، دمای نگهداری، نوع بسته بندی در طول نگهداری، مدت زمان نگهداری محصول و نوع ماده غذایی دارد [۱۹]. به نظر می‌رسد که کاهش تعداد پروبیوتیک‌ها در چیپس سیب زمینی پروبیوتیک، در طول نگهداری، ناشی از نوع بسته بندی، دما و مدت زمان نگهداری می‌باشد.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد اولیه

برای انجام این تحقیق شیر کم چرب از شرکت لبنیات پگاه ایران با میزان چربی ۱/۵ درصد و ماده خشک ۱۱-۱۲ درصد، صمغ عربی، ژلاتین و ساکارز از شرکت مرک آلمان و پودر آلومین تخم مرغ از شرکت گل پودر گلستان تهیه گردید.

### ۲-۲- تجهیزات

انکوباتور (از شرکت Memmert آلمان برای گرمخانه‌گذاری نمونه‌ها و کشت‌های میکروبی)، اتوکلاو (از شرکت WEBE CO آلمان برای استریل کردن نمونه‌ها، محیط کشت و سرم فیزیولوژی)، پلیت، پیپت، سرسمپلر CC ۱، سمپلر ۱۰۰۰، آون (برای خشک کردن نمونه و استریل کردن تجهیزات)، ترازوی آنالیتیک (از شرکت Sartorius آلمان، مدل MA30)، دستگاه پرگنه شمار<sup>۴</sup> (از شرکت FUNKE GERBER آلمان، مدل 0612 برای شمارش کلنی‌های باکتری پروبیوتیک) مورد استفاده قرار گرفت.

### ۲-۳- گونه‌های پروبیوتیکی

سویه‌های باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و رامنوسوس به صورت منجمد و لیوفلیزه از شرکت DSM آلمان به صورت تک سویه، تهیه و در  $18^{\circ}\text{C}$  نگهداری شد.

### ۲-۴- فعال‌سازی گونه‌های پروبیوتیکی

پس از تهیه گونه پروبیوتیکی مورد نظر، بسته حامل با دقت در شرایط استریل باز شده و یک گرم از آن در ۱۰۰ میلی‌لیتر ام - آر - اس برات به صورت یکنواخت مخلوط گردیده و در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شد تا گونه پروبیوتیکی با جذب آب از حالت کمون خارج شده و وارد مرحله رشد لگاریتمی شود. روز بعد یک میلی‌لیتر

محصولات پروبیوتیک غیر لبنی وجود دارد [۱۵]. از جمله این محصولات، فرآورده‌های غذایی خشک پروبیوتیکی می‌باشد که چیپس سیب زمینی پروبیوتیک می‌تواند برای توزیع پروبیوتیک‌ها در میان مصرف‌کنندگان به کار رود [۱۶] و تولید آن برای اولین بار مورد مطالعه قرار گرفت و تا بحال در زمینه تولید آن تحقیقاتی صورت نگرفته است. با توجه به اینکه هنگام سرخ کردن سیب‌زمینی در دمای بالا، پیرولیزهای جهش‌زا و اکریلامید که نوعی عامل سرطان‌زا هستند، تولید می‌شوند و از طرف دیگر باکتری‌های گرم مثبت و منفی پروبیوتیک به پیرولیزهای جهش‌زا (تولید شده در طول سرخ کردن در دمای بالا) متصل شده و آن‌ها را در دیواره سلولی خود جذب می‌کنند [۱۷]، این اثر مهم و مفید باکتری‌های پروبیوتیکی از دلایل استفاده از این باکتری‌ها در تولید محصول چیپس سیب‌زمینی حاوی این باکتری‌ها می‌باشد. پروبیوتیک‌های انتخاب شده در این تحقیق شامل دوگونه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس<sup>۱</sup> و لاکتوباسیلوس رامنوسوس<sup>۲</sup> هستند که ایده‌آل‌ترین گونه‌های لاکتوباسیلوس‌ها و جزو گروه ایمن<sup>۳</sup> بوده و به طور عمومی بی‌ضرر معرفی شده‌اند و اثرات منفی نظری که در مورد پروبیوتیک‌ها بیان شده است شامل عفونت‌های سیستمیک و تجزیه مخاط دستگاه گوارش در این دوگونه انتخاب شده برای تولید فرآورده غذایی پروبیوتیکی گزارش نشده است [۱۸]. از طرف دیگر به دلیل افزودن باکتری‌ها پس از اتمام پروسه تولید چیپس سیب زمینی، باکتری‌های پروبیوتیک تحت تاثیر حرارت بالای سرخ کردن قرار نمی‌گیرند.

هدف کلی از این تحقیق تولید چیپس سیب‌زمینی پروبیوتیک با خواص سلامتی‌بخش و ارگانولپتیکی مطلوب و بررسی فاکتورهای زنده مانی در دوره نگهداری چیپس سیب زمینی پروبیوتیک بود. به عبارت دیگر، هدف از اجرای این طرح یافتن پاسخ به این سؤال بود که آیا امکان تولید چیپس پروبیوتیک با خواص کیفی بهینه وجود دارد؟ هم‌چنین حداکثر مدت زمان نگهداری این فرآورده غذایی چند روز می‌باشد که بتواند دوز مؤثر از باکتری‌های پروبیوتیک را دارا باشد؟

1. *Lactobacillus acidophilus*
2. *Lactobacillus rhamnosus*
3. Generally Recognized As Safe (GRAS)

4. Colony conter

## ۷-۲- ریزپوشانی

در این پژوهش، ریزپوشانی باکتری‌های پروبیوتیک به وسیله صمغ عربی و ژلاتین مورد بررسی قرار گرفت. برای ریز پوشانی از روش امولسیون استفاده به عمل آمد [۲۰]. بدین منظور مخلوطی از ۱/۰ درصد صمغ عربی، ۱/۰ درصد ژلاتین، ۳/۰ درصد آلبومین تخم مرغ و ۵/۰ درصد ساکارز برای ریزپوشانی ۱ درصد سلول‌های پروبیوتیکی که به ۵ درصد شیر کم چرب تلقیح شده بود، تهیه شد. ۱ گرم صمغ عربی به ۵۰ میلی‌لیتر شیر کم چرب محتوی سلول‌های پروبیوتیکی افزوده شد و روی هیتر با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به آرامی هم زده می‌شد تا همگن شود و کلوخه‌ای نگردد. سپس ۱ گرم ژلاتین به آرامی اضافه شد و در حالی که با همزن شیشه‌ای استریل هم زده می‌شد، ۳ گرم پودر آلبومین و ۵/۰ گرم ساکارز با درجه خلوص ۹۹/۹ درصد افزوده گردید. همه مراحل فوق در شرایط استریل انجام پذیرفت. امولسیون حاصل در دمای اتاق به مدت دو ساعت به حال خود رها شده و به حالت ژله‌ای درآمد. ترکیب ژله‌ای حاصل در آن با دمای ۴۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و کاملاً خشک گردید [۲۱ و ۲۲].

## ۹-۲- تولید چپیس سیب زمینی پروبیوتیک

۹-۲-۱- آماده سازی سلول‌های پروبیوتیکی ریز پوشانی شده

پس از انجام مراحل خشک کردن سلول‌های پروبیوتیکی به یک ترکیب خشک تبدیل شده و برای به دست آوردن پودر ریز پروبیوتیکی، این ترکیب خشک به آسیاب برقی منتقل شد و به پودر ریزی تبدیل شد که اندازه تقریبی آن حدود ۵۰ تا ۱۰۰ میکرون بود. این پودر حاوی سلول‌های پروبیوتیکی کپسوله شده بوده که پس از شمارش به روش پورپلیت به طور یکنواخت روی تکه‌های چپیس سیب زمینی قابل اسپری کردن می‌باشد [۲۳].

## ۹-۲-۲- روش تهیه چپیس سیب زمینی پروبیوتیک

مطابق استاندارد تولید چپیس سیب زمینی به شماره ۳۷۶۴، تکه های سیب زمینی برای تولید چپیس سیب زمینی آماده و سرخ شده و از روغن بیرون آورده شد. حدود ۵ دقیقه در ظرف قرار داده شد، تا روغن اضافی آن خارج شده و جذب روغن آن به حداقل برسد. پودر سلول‌های پروبیوتیکی که از آسیاب برقی

از کشت حاصل، دوباره با ۹۹ میلی‌لیتر محیط کشت تازه (یک درصد) رقیق گردیده و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد. در طول هفته، کشت مذکور دوبار به محیط کشت تازه انتقال داده شد و پس از ۲۴ ساعت قرار گرفتن در انکوباتور، در یخچال با دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداشته شد. هدف از این عمل، دسترسی دائم به باکتری‌های پروبیوتیک در فاز رشد لگاریتمی بود.

## ۵-۲- ارزیابی تغییرات رشد سلول‌های

### باکتریایی

یک میلی‌لیتر از کشت فعال شده لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس رامنوسوس به ۹۹ میلی‌متر محیط ام - آر - اس - برات تازه تلقیح شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد. پس از طی فاصله‌های زمانی چهارساعته، نمونه برداری از ویال در پایان ۰، ۴، ۸، و ۱۲ ساعت انجام گرفت و شمارش باکتریایی به روش پورپلیت برای همه نمونه‌ها صورت گرفت.

## ۶-۲- ارزیابی تغییرات رشد سلول‌های

### باکتریایی

یک میلی‌لیتر از کشت فعال شده لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس رامنوسوس به ۹۹ میلی‌متر محیط ام - آر - اس - برات تازه تلقیح شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد. پس از طی فاصله‌های زمانی چهارساعته، نمونه برداری از ویال در پایان ۰، ۴، ۸، و ۱۲ ساعت انجام گرفت و شمارش باکتریایی به روش پورپلیت برای همه نمونه‌ها صورت گرفت.

## ۷-۲- تلقیح سوپانسیون باکتری های

### پروبیوتیک به شیر کم چرب

۵۰۰ سیسی سوپانسیون سلول‌های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و ۵۰۰ سیسی سوپانسیون سلول‌های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس رامنوسوس، در انتهای فاز رشد لگاریتمی به ۵۰۰ سیسی شیر کم چرب که در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل شده بود، زیر هود استریل تلقیح شد و شیر حاوی سلول‌های پروبیوتیکی در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و سپس سلول‌های پروبیوتیکی ریز پوشانی شد.

### ۳- نتایج و بحث

نتایجی که از کشت میکروبی چپس سیب زمینی پروبیوتیک و مقایسه آن با نمونه شاهد که باکتری های پروبیوتیکی آزاد بودند که به چپس افزوده نشده بودند، به دست آمد نشانگر این مطلب بود که باکتری ها در چپس سیب زمینی پروبیوتیک رشد مشابهی درمقایسه با نمونه شاهد دارند و در سطح احتمال ادرصد اختلاف معنی داری بین آن ها مشاهده نشد. در واقع فرآورده غذایی چپس سیب زمینی به عنوان حامل باکتری های پروبیوتیک تأثیری روی زنده مانی باکتری ها ندارد.

بین نمونه های نگهداری شده در دمای ۴، ۲۱، و ۳۸ درجه سانتیگراد اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. یعنی میزان بقا و زنده مانی باکتری های پروبیوتیک در برابر دماهای نگهداری متفاوت بود. بیشترین درصد زنده ماندن باکتری ها در دمای ۳۸ درجه سانتیگراد مشاهده شد (نمودار ۴-۱). تعداد باکتری های پروبیوتیک زنده در نمونه های چپس نگهداری شده در دمای ۲۱، ۳۸ و ۳۰ سانتیگراد در سه سطح آماری مختلف قرار دارند و گویای این مطلب می باشد که دما در میزان بقا و زنده مانی باکتری های پروبیوتیک موثر است و باکتری های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و رامنوسوس در دمای یخچال دارای حداقل رشد و فعالیت، در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد دارای متوسط رشد و فعالیت و در دمای ۳۸ درجه سانتیگراد دارای حداکثر رشد و فعالیت هستند. واقع این مسئله به دلیل آن است که دمای اپتیمم رشد و فعالیت باکتری های لاکتوباسیلوس ۳۰-۴۰ درجه سانتیگراد می باشد و در این محدوده دمایی (۳۰-۴۰)، حداکثر بقا و زنده مانی باکتری های پروبیوتیک مشاهده می شود. این اختلاف در زنده مانی باکتری های پروبیوتیک در محصولات پروبیوتیک مشابه چپس پروبیوتیک در سال ۲۰۰۹ توسط Dwivedi گزارش شده است.

هم چنین بین نمونه های نگهداری شده در بسته بندی های معمولی و پوشش اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. به این معنی که میزان زنده مانی باکتری ها در بسته بندی پوشش دار گزارش شد. باکتری های پروبیوتیک در بسته بندی پوشش دار نسبت به بسته بندی معمولی بیشتر زنده می مانند. (نمودار ۴-۲)

قرار گرفتن این دو نوع بسته بندی در دو سطح آماری مختلف، نشانگر اختلاف معنی دار آن ها در سطح احتمال ۱ درصد بوده

خارج شد، به طور یکنواخت روی تکه های چپس سیب زمینی پاشیده شد [۲۴].

تکه های چپس حاوی سلول های پروبیوتیکی در کیسه های پلاستیکی معمولی و پوشش دار بسته بندی شده و در دماهای ۴، ۲۱، ۳۸ درجه سانتیگراد به مدت دو هفته نگهداری گردید. همه مراحل فوق در شرایط استریل و به دور از هر گونه آلودگی میکروبی انجام پذیرفت.

### ۲-۱۰- ارزیابی زنده مانی باکتری های

#### پروبیوتیک در چپس پروبیوتیک

برای این منظور شمارش باکتری های پروبیوتیک صورت گرفت. تعداد باکتری های زنده قبل و پس از نگهداری با گذشت ۷ و ۱۴ روز در دماهای ۴، ۲۱، و ۳۸ درجه سانتیگراد شمارش گردید. کشت میکروبی به روش پورپلیت انجام گرفته و پلیت ها در ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری شدند. برای شمارش تعداد باکتری های زنده ای که به صورت ریزپوشانی شده روی تکه های چپس پوشش داده شده بود، به این ترتیب عمل شد که ابتدا باکتری ها از دانک آزاد شده و سپس کشت گردیدند. برای این منظور ۱ گرم از نمونه چپس در ۹ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار با پهاش هفت به مدت ۱۰ دقیقه هم زده شد تا دانک ها حل شده و باکتری ها آزاد شوند. سپس رقت های  $10^{-5}$ ،  $10^{-6}$ ،  $10^{-7}$  و  $10^{-8}$  تهیه شده و یک میلی لیتر از آن ها برای کشت در محیط ام - آر - اس - آگار در سه تکرار مورد استفاده قرار گرفت. برای شمارش ابتدا در داخل هر تکرار، پلیت ها با تعداد پرگنه قابل شمارش، شمرده شده و در نهایت میانگین سه تکرار محاسبه گردید و سپس شمار باکتری ها برحسب مقدار پرگنه در گرم چپس گزارش گردید.

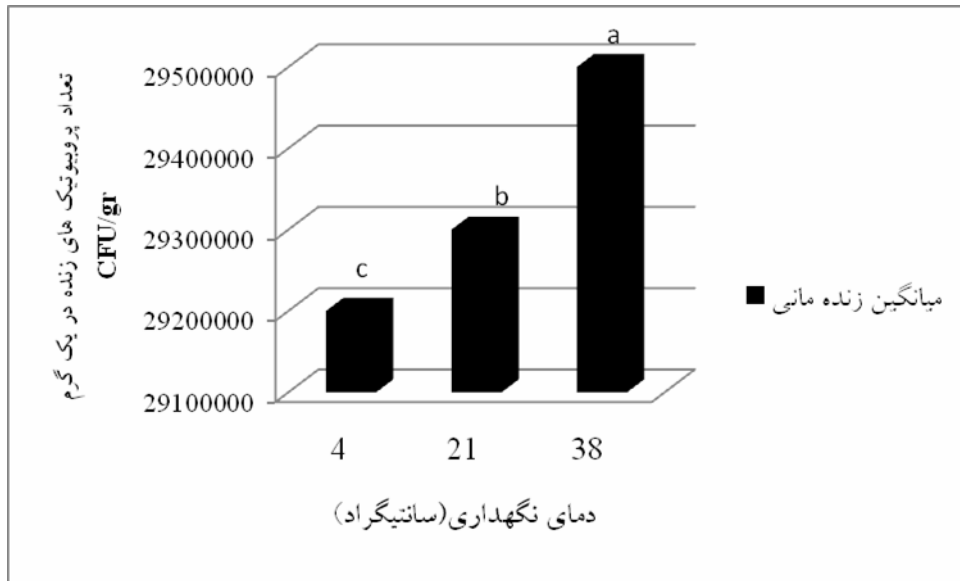
### ۲-۱۰- آنالیز آماری

تمام آزمایشات در سه تکرار و به صورت فاکتوریل (سه فاکتوره  $2 \times 3 \times 3$ ) بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت و داده های به دست آمده توسط نرم افزار MINITAB، آزمون توکی و هم چنین نرم افزار EXEL آزمون TTEST، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

پروبیوتیک گزارش شده است. نگهداری چپس سیب زمینی پروبیوتیک در بسته بندی پوشش دار و در شرایط بی هوازی، رشد و فعالیت بیشتر باکتری های پروبیوتیک را به دنبال داشته و میزان بقا و زنده مانی آن ها را افزایش می دهد. نتایجی که طی آزمایشات شخصی در آزمایشگاه به دست آمد، نظریات دانشمندان پیشین در سال های ۲۰۰۶ تا ۲۰۱۰ را تایید می کند.

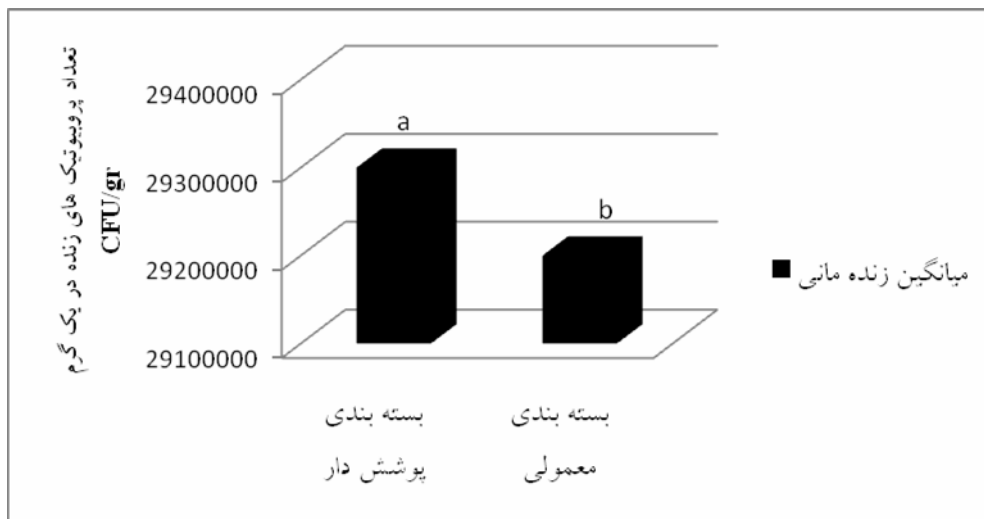
و علت آنکه بیشترین میزان بقا در بسته بندی پوشش دار رخ داده است، بی هوازی بودن باکتری های پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و رامنوسوس) می باشد [۲]. در سال ۲۰۰۹ نیز در محصولات مشابه چپس پروبیوتیک از جمله اسنک میوه ای پروبیوتیک، توسط Dwivedi، اثر مثبت بسته بندی پوشش دار در بقا و زنده مانی باکتری های

نمودار ۱ اثر دما بر روی زنده مانی باکتری های پروبیوتیک در چپس سیب زمینی پروبیوتیک



اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است ( $p \leq 0.05$ )

نمودار ۲ اثر نوع بسته بندی در زنده مانی باکتری های پروبیوتیک در چپس سیب زمینی پروبیوتیک

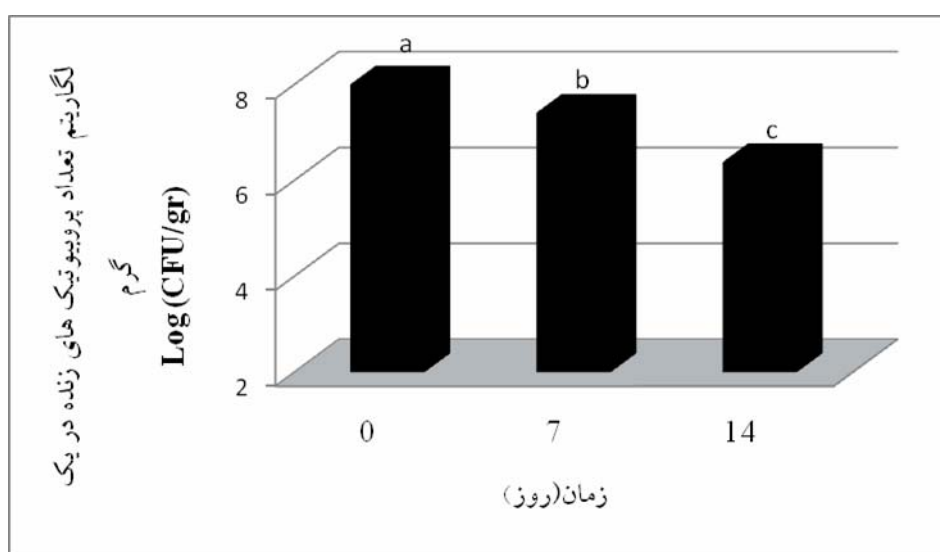


اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است ( $p \leq 0.05$ )

پروبیوتیک، تعداد باکتری های زنده در یک گرم چیپس پروبیوتیک، دو سیکل لگاریتمی کاهش می یابد که این روند کاهش در دیگر محصولات غلات پروبیوتیک در سال ۲۰۰۵ توسط Dutcosky و همکارانش گزارش شده است (نمودار ۳-۴). در واقع با گذشت زمان، مرگ و میر باکتری ها به دلیل کمبود مواد غذایی برای رشد و فعالیت افزایش یافته و پس از ۱۴ روز این روند کاهش به دلیل حداکثر مرگ و میر، تقریباً روند ثابتی پیدا می کند.

هم چنین نمونه های نگهداری شده در دمای ۳۸ درجه سانتیگراد و بسته بندی پوشش دار پس از دو هفته نگهداری نسبت به نمونه ای نگهداری شده در دمای ۴ و ۲۱ درجه سانتیگراد و بسته بندی پوشش دار بیشتر زنده می ماند. کاهش تعداد باکتری های زنده نمونه نگهداری شده در دمای ۴ و ۲۱ و ۳۸ درجه سانتیگراد و در بسته بندی معمولی و پوشش دار تفاوت معنی داری در سطح احتمال یک درصد از خود نشان می دهد. در طول دو هفته نگهداری چیپس سبب زمینی

نمودار ۳ روند تغییرات میانگین زنده مانی باکتری های پروبیوتیک در چیپس سبب زمینی پروبیوتیک در طول ۱۴ روز نگهداری



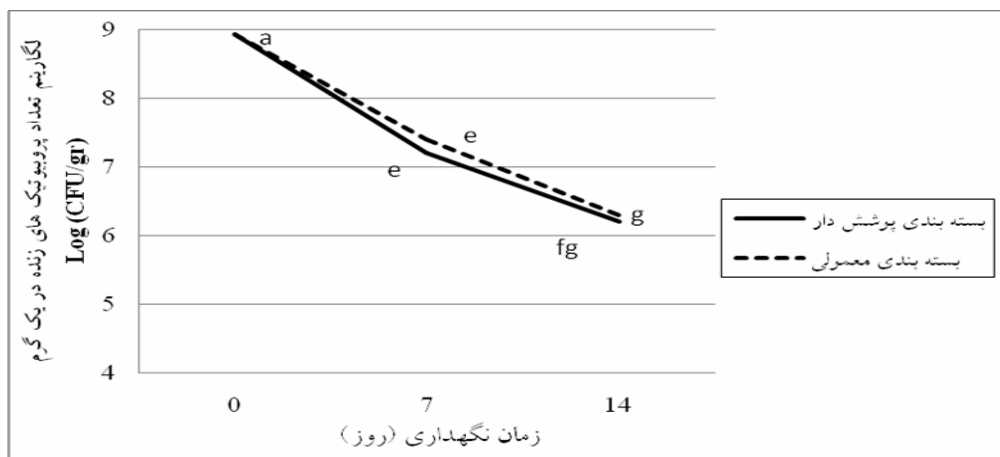
اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است ( $p \leq 0.05$ )

است، در نمونه های چیپس نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتیگراد، بین بسته بندی معمولی و پوشش دار در روز های هفتم و چهاردهم اختلاف معنی دار وجود ندارد. علت عدم وجود اختلاف معنی دار و قرار گرفتن آن ها در سطوح آماری یکسان، این است که در دمای ۴ درجه سانتیگراد (دمای یخچال)، حداقل رشد و فعالیت در باکتری ها وجود دارد و کاهش تعداد باکتری ها در روز های هفتم و چهاردهم تقریباً یکسان بوده و در واقع با غالب بودن فاکتور دما، بین دو نوع بسته بندی تمایزی مشاهده نمی شود.

بنابراین می توان نتیجه گرفت که زنده مانی باکتری های پروبیوتیک در نمونه های نگهداری شده، به دمای نگهداری و نوع بسته بندی و مدت زمان نگهداری بستگی دارد. به طوری که سلولهای پروبیوتیکی در نمونه های نگهداری شده در کیسه پلاستیکی معمولی نسبت به نمونه نگهداری شده در کیسه پلاستیکی پوشش دار با سرعت بیشتری کاهش می یابد و شیب نمودار مربوطه تند تر است ( نمودار (۴-۴)، (۴-۵) و (۴-۶)).

از طرف دیگر همانطور که در نمودار ۴-۴ قابل مشاهده

**نمودار ۴** روند تغییرات زنده مانی باکتری های پروبیوتیک در طول نگهداری چیپس سیب زمینی پروبیوتیک در دمای ۴ درجه سانتیگراد

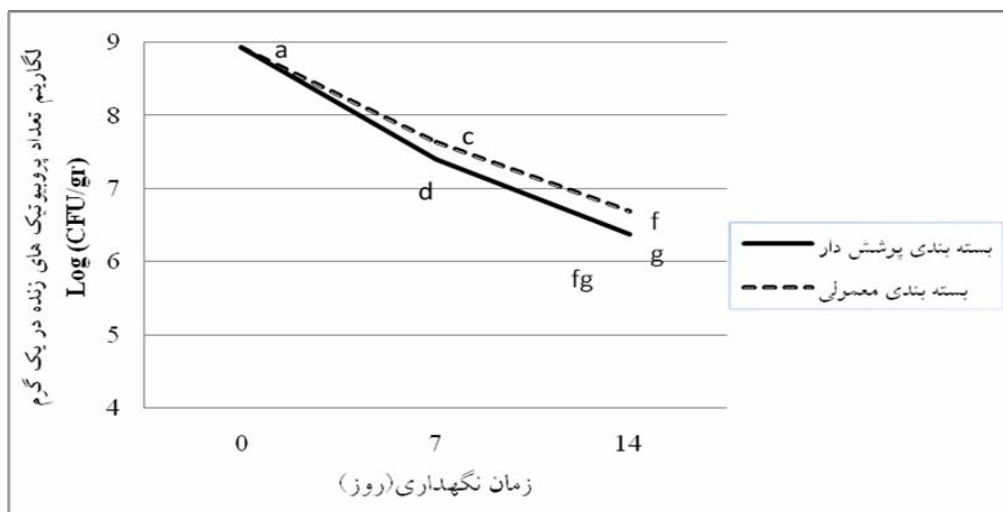


اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است ( $p \leq 0.05$ )

کمتر است و به این ترتیب تمایز بین دو نوع بسته بندی مشاهده شد. اما در روز چهاردهم میزان مرگ و میر باکتری ها افزایش یافته، فاکتور دما غالب شده و دو نوع بسته بندی معمولی و پوشش دار در دو سطح آماری یکسان قرار گرفته و تمایزی بین این دو نوع بسته بندی قابل مشاهده نبود. در واقع از روز هفتم به بعد با افزایش مرگ و میر باکتری ها در نمونه های چیپس پروبیوتیک، اختلاف تعداد باکتری های زنده بین دو نوع بسته بندی به حداقل می رسد. (نمودار ۴-۵)

در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد، بین بسته بندی معمولی و پوشش دار در روز هفتم در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی وجود دارد و در دو سطح آماری مختلف قرار دارند. اما در روز چهاردهم بین بسته بندی معمولی و پوشش دار اختلاف معنی دار وجود ندارد. علت این رویداد این است که باکتری های پروبیوتیک در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد، دارای رشد و فعالیت متوسط بوده و نسبت به نمونه های نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتیگراد، در روز هفتم نگهداری، مرگ و میر

**نمودار ۵** روند تغییرات زنده مانی باکتری های پروبیوتیک در طول نگهداری چیپس سیب زمینی پروبیوتیک در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد



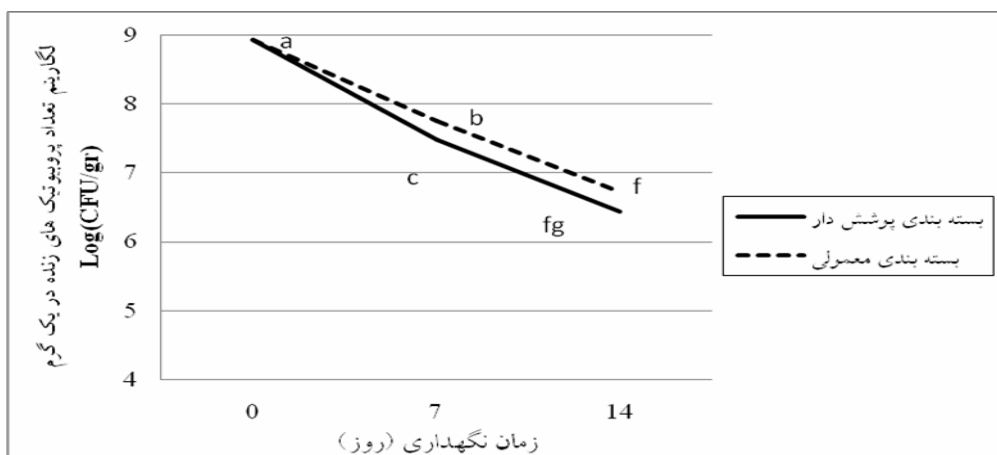
اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است ( $p \leq 0.05$ )

فعالیت بوده و کمترین مرگ و میر در آن ها مشاهده شد. در واقع قرار گرفتن نمونه های چیپس پروبیوتیک در دمای اپتیمم رشد و فعالیت، موجب می شود اختلاف بین تیمار ها به حداکثر برسد. از اینرو در این دما، تمایز بین دو نوع بسته بندی مشاهده شده و حداکثر زنده مانی باکتری های پروبیوتیک در بسته بندی پوشش دار کاملاً مشهود است. (نمودار ۴-۶)

در دمای ۳۸ درجه سانتیگراد، بسته بندی معمولی و پوشش دار در روز های هفتم و چهاردهم در دو سطح آماری مختلف قرار داشته و در سطح احتمال ۱ درصد، بین آن ها اختلاف معنی دار وجود دارد. این مسئله به دلیل آن است که باکتری های لاکتوباسیلوس در دمای ۳۸ درجه سانتیگراد (با توجه به اینکه دمای اپتیمم رشد آنها ۳۰-۴۰ می باشد)، دارای حداکثر رشد و



نمودار ۶ روند تغییرات زنده ماننی باکتری های پروبیوتیک در طول نگهداری چپیس سیب زمینی پروبیوتیک در دمای ۳۸ درجه سانتیگراد



اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است ( $p \leq 0.05$ )

حداکثر زنده ماننی باکتری ها دو هفته می باشد که پس از این مدت زمان، مرگ و میر باکتری ها افزایش یافته و میزان دوز موثر از باکتری های زنده پروبیوتیک را دارا نخواهد بود. تعداد باکتری های پروبیوتیک در چپیس سیب زمینی پس از گذشت ۱۴ روز، بالاتر از  $10^6$  عدد در هر گرم بود که برابر با میزان توصیه شده از سوی فدراسیون جهانی غذا و دارو است. تولید این فرآورده غذایی با فرمولاسیون ذکر شده (۱/۰ درصد صمغ عربی، ۱/۰ درصد ژلاتین، ۳/۰ درصد آلومین تخم مرغ و ۵/۰ درصد ساکارز و ۱ درصد سلول های پروبیوتیکی که به ۵ درصد شیر کم چرب تلقیح شده) عملی بوده و دیگر اسنک ها نیز می توانند با این روند تولید شده و مورد پژوهش های بعدی قرار گیرند. هم چنین انواع دیگر باکتری های پروبیوتیک که به عنوان اجزای غذایی و اساسا ایمن معرفی شده اند، از جمله بیفیدوباکترها می توانند در تولید اسنک های پروبیوتیک و محصولات پروبیوتیک بر پایه غلات به کار رفته و موضوع پژوهش های بعدی قرار گیرند.

## ۵- منابع

- [1] Charteris, W. P., Kelly, P. M., Morelli, L., Collins, J. K. (1998). Antibiotic susceptibility of potentially probiotic Lactobacillus species. Journal of Food Protection, 61:1636-1643.
- [2] Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Matto, J. and Mattila, T. (2000) "Functional and technological properties", Journal of Biotechnology, 84:197-215.

سلول های پروبیوتیکی در دمای ۳۸ درجه سانتیگراد زنده ماننی بیشتری داشته و در طول نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد با سرعت بیشتری از بین می روند. تاثیر دما، بسته بندی و زمان در میزان زنده ماننی باکتری های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و رامنوسوس مشاهده شد ( $p \geq 0.1$ )، که در محصولات غلات پروبیوتیک بر پایه جودوسر نیز در سال ۲۰۱۰ توسط Vladimirovich گزارش شده است.

## ۴- نتیجه گیری و پیشنهادات

چپیس سیب زمینی پروبیوتیک به عنوان یک محصول غیر لبنی پروبیوتیکی، غذای مناسبی برای توزیع پروبیوتیک ها در بین مصرف کنندگان است. در واقع چپیس سیب زمینی پروبیوتیک یکی از محصولات پروبیوتیک بر پایه غلات بوده و با دارا بودن اجزای سلامتی بخش به عنوان جایگزین چپیس سیب زمینی معمولی می تواند معرفی شود. افزودن باکتری های پروبیوتیک به صورت ریز پوشانی شده به چپیس سیب زمینی، بلافاصله پس از تولید، روش مناسبی برای تولید چپیس سیب زمینی پروبیوتیک است و تغییری در خصوصیات حسی محصول در مقایسه با چپیس معمولی ایجاد نمی کند. اما در زمینه شرایط نگهداری این فرآورده غذایی نکاتی وجود دارد. چپیس سیب زمینی پروبیوتیک برای دارا بودن حداکثر اثرات سلامتی بخش باید در بسته بندی پوشش دار قرار گیرد. هم چنین در دمای اپتیم رشد باکتری های پروبیوتیک مورد استفاده در پژوهش (۳۸ درجه سانتیگراد) نگهداری شود.

- [13] DeRoos, N. and Katan, M. (2000). Effect of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71:405-41
- [14] Khosrawi Darani, k and Koushki, M.R. (2007). "Probiotics in dairy and products" , Tehran, Marze Danesh publications ,1-45
- [15] Rivera, Y., Gallardo, Y. (2010). "Non-dairy probiotic product: Review", *Food Microbiology journal*, 27: 1-11.
- [16] Emanuel, M. (2010). " Product containing living probiotic microorganism ", U.S.A Patent Application Publication, US2010/0047394A1.
- [17] Charalampopoulos, D., wang, R., Pandiella, S. S. and Webb, C. (2002). Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 79: 131-141.
- [18] Dennis C. Westhoff and Frazier, W. (2005). "Food Microbiology" ,Mortazavi, A., Kashani nejad, M., Ziaolhagh, H.R., Ferdowsi University of Mashhad Publications , 74-76
- [19] Adams, M.Rand Mrteau, P. (1995). "On the safety of lactic acid bacteria from food", *International Journal of Food Microbiology*, 27: 263-264.
- [20] Vladimirovich, S. (2010). " Probiotic oat-based food and process for making the same ," U.S.A Patent Application Publication , US2010/0098805A1
- [21] Dwivedi, B.K . (2009). " Fruit snack with probiotic and method of manufacturing a fruit snack with probiotics " , U.S.A Patent Application Publication, US2009/0110773A1.
- [22] Dutcosky, S. D., Grossmann, M. V., Rui Sergio, S. F., Welsch, A. K . (2006). "Combined sensory optimization of a probiotic cereal product using multicomponent mixture experiments", *Journal of Food Chemistry*, 630-638.
- [23] Harel, M., Bennett, A . (2010). " Dry food product containing live probiotic " , U.S.A Patent Application Publication , US2010/0074994A1.
- [24] ISIRI number 3764. (2002). Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Chips–fried potato, 1st Revision,
- [3] Davidson R . H ., Duncan S. E ., Hackney C. R ., Eigel W. N. and Boling J. W. (2000) . Probiotic culture survival and implications in fermeted frozen yogurt characteristics. *Journal of Dairy Science*, 83: 666-673.
- [4] Salminen, S., Gorach, S., Lee, Y. K. and Benno, Y. (2004). "Human studies on probiotics: What is scientifically proven today? In: *Lactic Acid Bacteria, Microbiological and Functional Aspects*". Salminen, S., Wright, A. V. and Ouvehand, A. (Eds.). Third Edition, New York, Marcel Dekker, Inc. pp: 515-529.
- [5] Botic T., klingberg, T. D., Weingartl, H and Cencic, A. (2007). A novel eukaryotic cell culture model to study antiviral activity of probiotic and other lactic bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 115(2): 227-234.
- [6] Kaliomaki, M., Salminen, S., Poussa, T., Arvilommi, H. and Isolauri, E. (2003). "Probiotics and prevention of atopic disease": a 4-year follow-up of a randomized placebo-controlled trial. *Lancet*, 361: 1969-1871.
- [7] Sanders, M.E. (1998). "Probiotics". *Food Technology*, 53: 67-75..
- [8] Hirayama, K., Rafter, J . (2000). " The role of probiotic bacteria in cancer prevention " , *Microbes and Infection* , 2 : 681-686.
- [9] Mombelli, B. and Gismondo, M. r. (2000). "The use of probiotics in medical practice " *International Journal of Antimicrobial agents*, 16: 531-536.
- [10] Shah, N.P. (2001). "Functional foods from probiotics and prebiotics" , *Food Technology* , 55: 46–53
- [11] Krasaekoopt, W., Bhandari, B. and Deeth, H. (2003). "Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal*, 13: 3-13.
- [12] Mortazavian, A., Rzavi, S.H., Ehsani, M.R. and Sohrabvandi, S. (2007) . "Principles and methods of microencapsulation of probiotic microorganisms", *Iranian Journal of Biotechnology*, 5(1).

## The effect of different factors on probiotics viability during probiotic potato chips storage

Razavi, H. <sup>1</sup>, Talebpour, H. <sup>2\*</sup>, Hashemi Ravan, M. <sup>3</sup>, Afsar, A. <sup>4</sup>

1. Assosiat Professor, Department of Food Science and Technology, Tehran University.
2. M.Sc. Graduate, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Varamin - Pishvaunit.
3. Assistant Professor, Department of Food science and Technology, Islamic Azad University, Varamin-Pishva unit.
4. Instructor, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Varamin-Pishva unit.

(Received: 90/5/10 Accepted: 91/9/20)

Probiotic potato chips as a dry product can distribute probiotics among consumers but so far sufficient studies have not been done on the possibility of adding probiotics in kind of snacks yet. In this study, probiotic potato chips with two species of lactic acid bacteria such as *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus rhamnosus* were produced by using of standard methods, then survival of mentioned probiotic bacteria was studied during storage of 4, 21 and 38°C temperatures, covered packaging and non-covered packaging in two weeks. Microencapsulation of two mentioned species carried out with arabic gum and gelatin. Results have shown that population of viable bacteria was reduced during 14 days. Stored samples at 4, 21 and 38°C temperatures had significant difference ( $p \geq 0.01$ ). Stored samples in two types of packaging had significant difference too ( $p \geq 0.01$ ). Probiotic potato chips stored in covered packaging at 38°C temperature had maximum viability. Population of viable probiotics per each gram was higher than  $10^6$  and it was according to recommended content by FDA. By adding probiotic bacteria more than applied content, we can reach to a desirable standard in final product.

**Key words:** Probiotic, Potato chips, Microencapsulation, Viability

---

\* Corresponding Author Email\_Address: talebpour\_h@yahoo.com