



اثرات ضد دیابتیک شیر پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس IBRC-M 10754

در مدل حیوانی موش ویستار و بررسی زنده مانی باکتری در شیر در شرایط سرد

ماهرخ مظفری^۱، مژگان امتیازجو^{۲*}، امیر علی انوار^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران - ایران

۲* - دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران - ایران

۳- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران - ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

در پژوهش حاضر بررسی زنده مانی لاکتوباسیلوس رامنوسوس IBRC-M 10754 در شیر بعنوان پروبیوتیک و ارزیابی اثرات ضد التهابی آن مورد بررسی قرار گرفته است. پس از کشت باکتری در محیط MRS، و افزودن آن به شیر، تیمارهایی حاوی 10^7 ، 10^8 و 10^9 cfu/ml از شیر پروبیوتیک تهیه شد. زنده مانی باکتری در بازه زمانی ۵ روز بررسی گردید. سپس با گاوآذ شیر حاوی پروبیوتیک به موش های نر نژاد Balb/C که با استفاده از استرپتوزوسین به دیابت مبتلا شده بودند، در مقابل موش های شاهد و اثرات ضد دیابتیک شیر حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس با سنجش میزان گلوکز خون و وزن در آنها بررسی شد. نتایج نشان داد بالاترین تعداد باکتری های زنده دردمای ۴ درجه سانتی گراد شیر مربوط به روز اول نگهداری بوده و از روز دوم تا انتهای دوره نگهداری تعداد آنها اختلاف معناداری نداشت. در مجموع با گذشت زمان جمعیت باکتری های در شیر به صورت معنی داری ($p \leq 0/05$) کاهش یافت. افزودن مایه تلقیح اولیه 10^9 cfu/ml نشان داد که در پایان روز پنجم جمعیت باکتری در شیر به میزان لازم در شیر پروبیوتیک تا پایان دوره سردخانه گذاری بود. بررسی وزن موش ها بیانگر آن است که وزن موش های شاهد در طول دوره نگهداری افزایش ولی موش های دیابتی در این بازه زمانی ابتلا کاهش یافت. شیر به همراه باکتری لاکتوباسیلوس تلقیح شده در موش های دیابتی شده در دوزهای مختلف تلقیح منجر به کاهش معنادار ($p < 0/05$) قند خون در دوره نگهداری ۲۱ روزه آنها شدند. این کاهش از روز چهاردهم تغذیه با شیر پروبیوتیک مشهودتر است.

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۸/۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۳/۱۰

کلمات کلیدی:

پروبیوتیک،

شیر،

ضد دیابت،

لاکتوباسیلوس رامنوسوس

DOI: 10.22034/FSCT.20.138.16

DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.138.2.4

* مسئول مکاتبات:

Moz_emyvazjoo@yahoo.com,

M_emyvazjoo@iau-tnb.ac.ir

۱- مقدمه

پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که در صورت مصرف به مقدار کافی و منظم مزایای سلامت بخشی را برای میزبان خود به ارمغان می‌آورند [۱]. استفاده از پروبیوتیک‌ها در تولید و فرموله کردن مواد غذایی فراسودمند یک استراتژی مؤثر برای مدیریت و کنترل کردن بیماری‌های مزمن و بیماری‌های متابولیکی تشدید شونده با سبک زندگی نامناسب نظیر چاقی [۲ و ۳]، دیابت نوع دوم [۴ و ۵]، بیماری‌های قلبی-عروقی [۶] و سرطان [۷] است. در بین پروبیوتیک‌ها لاکتوباسیلوس‌ها مورد توجه بیشتری قرار دارند. مهم‌ترین اثر پروبیوتیک‌ها جایگزینی آنها در روده کوچک بوده [۸] که باعث تحریک روده و پاکسازی آن شده [۹] به این صورت مانع چسبیدن پاتوژن‌ها و مهار اثر سمی توکسین‌ها می‌شود [۱۰]. تاکنون در چندین پژوهش حیوانی اثر پروبیوتیک‌هایی نظیر لاکتوباسیلوس کازهای در کاهش قند خون و به تأخیر انداختن بروز افزایش قند خون و مقاومت انسولینی در موشهای دیابتی گزارش شده است. اثری که پروبیوتیک‌ها بر سوخت و ساز گلوکز می‌گذارند، به احتمال زیاد ناشی از ویژگی‌های تعدیل ایمنی توسط آنها می‌باشد [۱۱].

برخی از گونه‌های خاص پروبیوتیک‌ها با تأثیر بر ترکیب فلور میکروبی روده و بهبود عملکرد روده می‌توانند موجب مهار انتقال اندوتوکسین‌های باکتریایی به جریان خون و کاهش لیپوپلی‌ساکاریدها و سیتوکین‌های پیش التهابی در گردش خون شوند [۱۲] و از این راه موجب کاهش التهاب و در نتیجه کاهش مقاومت انسولینی و جلوگیری از تخریب سلول‌های بتا پانکراس شوند [۱۳]. پروبیوتیک‌ها از راه ممانعت از تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن، خاصیت آنتی اکسیدانی و افزایش زیست-دسترسی به داروهای دیابتی نیز می‌توانند در کنترل قند خون مؤثر باشند [۱۴].

دیابت شایع‌ترین بیماری متابولیک و یک معضل سلامت که منجر به ایجاد عوارض متعدد، ناخوشی، کاهش کیفیت زندگی افراد مبتلا و در نتیجه مرگ و میر آنها می‌شود. دیابت یک اختلال متابولیکی در هموستاز سوخت بدن است که ویژگی آن هیپر گلاسمی و تغییرات متابولیسم لیپید می‌باشد که در اثر پاسخ‌دهی ناکافی سلول‌های بتای پانکراس و بافت چربی در پاسخ به پرخوری، کم تحرکی ظاهر می‌شود. عوامل خطر دیابت شامل عوامل ژنتیکی و محیطی، افزایش سن، رژیم غذایی نامناسب و سابقه دیابت بارداری می‌باشد که با بهره از رژیم مناسب غذایی، کاهش وزن و همچنین افزایش فعالیت بدنی می‌توان از ابتلا به آن پیشگیری نمود [۱۵ و ۱۶]. این بیماری به عنوان یکی از مشکلات سلامت عمومی شایع در جهان است که تمام نژادها را درگیر می‌سازد و یکی از ده علت اصلی مرگ و میر در جهان می‌باشد. احتمال ابتلای افراد دیابتی به لحاظ عدم کنترل گلوکز به نفروپاتی، رتینوپاتی و بیماری‌های قلبی-عروقی زیاد می‌باشد. بدیهی است این افراد مستعد ابتلا به هیپرلیپیدمی، آرترواسکلروز، بیماری‌های کلیوی و سیستم عصبی می‌باشند [۱۷]. بر اساس گزارش فدراسیون بین المللی دیابت (IDF) 425 میلیون بزرگسال مبتلا به دیابت در جهان وجود دارد. شیوع دیابت بین افراد ۲۰ تا ۷۹ سال حدود ۷/۳ درصد می‌باشد که پیش بینی می‌شود تا سال ۲۰۴۵ به ۸/۳ درصد برسد [۱۸]. بر اساس مطالعات اپیدمیولوژیک مشخص گردیده در ایران بیش از ۱/۵ میلیون نفر از بیماری دیابت رنج می‌برند [۱۹]. براساس آخرین آمار موجود در ایران انتظار می‌رود که تا سال ۱۴۰۴، از هر ۷ نفر ایرانی یک نفر به دیابت مبتلا باشد [۲۰].

با توجه به بیماری زایی و مرگ و میر ناشی از دیابت، مشکلات اجتماعی، اقتصادی و مخاطرات سلامت افراد در خصوص بروز این بیماری؛ استفاده از روش‌های آسان‌تر و کم هزینه‌تر مبتنی بر پیشگیری بسیار با اهمیت

۱-۴-۲- آماده سازی موش

۳۰ سر رت نر ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم از انستیتو پاستور کرج تهیه گردید. جهت نگهداری موش‌ها ۶ سر موش در هر قفس با ۱۲ ساعت سیکل روشنایی- تاریکی، درجه حرارت ۲۵-۲۳ درجه سانتیگراد و رطوبت ۵۰ درصد و جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاهی به مدت دو هفته با آب و غذای معمولی تغذیه شدند. جهت القاء دیابت در موش‌ها از داروی استرپتوزوتوسین استفاده شد. ۵۰۰ میلی گرم آزوکسی متان را در داخل ۱۰ میلی لیتر بافر سیترات سرد با $\text{pH} = 4/5$ حل و بخوبی مخلوط گردید و سپس استرپتوسیتوزین داخل بافر سیترات سدیم حل و بر اساس دوز 65 mg/kg وزن بدن موش به صورت داخل صفاقی تزریق شد [۲۴]. به منظور تأیید اثرات ماده مزبور، بر سلول‌های پانکراس، غلظت گلوکز سرم، از روز سوم تا یک هفته بعد از تزریق و در حالت ناشتا (۸-۱۲ ساعت)، تعیین گردید. ملاک دیابتی شدن حیوانات در مرحله اول علائم پرنوشی، پر خوری، پر ادراری و قند خون بیشتر از ۲۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر خون بود [۲۵ و ۲۶].

۲-۴-۲- طراحی آزمایش

موش‌های نر دیابتی به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم گردیدند. گروه اول: کنترل دیابت، حیوانات این گروه با داروی استرپتوزوتوسین دیابتی شده و در طی دوره تیمار تنها آب و غذای معمول را دریافت نموده‌اند. گروه دوم: کنترل، حیوانات این گروه با داروی استرپتوزوتوسین دیابتی شده و در طی دوره تیمار با میزان ۰/۵ سی سی شیر بدون باکتری پروبیوتیک به مدت ۲۱ روز گاوآژ شدند. گروه سوم: حیوانات این گروه دیابتی شده و در طی دوره تیمار با میزان ۰/۵ سی سی سوسپانسیون 10^7 باکتری و شیر به مدت ۲۱ روز گاوآژ شدند و به همین ترتیب گروه چهارم: گاوآژ سوسپانسیون 10^8 باکتری و شیر و گروه پنجم: گاوآژ سوسپانسیون 10^9 باکتری و شیر [۲۵ و ۲۶].

۳-۴-۲- اندازه گیری وزن

می باشند. از جمله این اقدامات می‌توان به استفاده از غذاهای فراسودمند بویژه محصولات پروبیوتیکی اشاره کرد. در این پژوهش از لاکتوباسیلوس رامنوسوس به عنوان یک باکتری پروبیوتیک در شیر استفاده شد و زنده ماننی باکتری در طول دوره نگهداری ۵ روزه ارزیابی و تأثیر مصرف شیر پروبیوتیکی بر میزان قند خون و همچنین وزن موش‌های مبتلا شده به دیابت مورد مطالعه قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۱-۲- تهیه مواد و وسایل

۱-۲-۱- تهیه سویه باکتریایی

باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس از مرکز تحقیقات ژنتیک، بانک باکتری‌های لاکتیک بصورت پلیت فعال با کد IBRC-M 10754 تهیه و در محیط کشت MRS broth برای ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد کشت داده شد.

۲-۲-۲- شیر پروبیوتیک

لاکتوباسیلوس رامنوسوس در تیمارهای جمعیتی 10^7 و 10^8 و 10^9 و در سه تکرار کشت و آماده شد. جمعیت سنجی با اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر، کشت به روش پورپلیت و مقایسه با لوله مک فارلند انجام شد. پس از اطمینان از جمعیت باکتری زنده، حجم سنجی انجام و به شیر اضافه و یخچال گذاری گردید [۲۱].

۳-۲- کینتیک رشد باکتری در شیر

بررسی کینتیک رشد باکتری در طول ۵ روز نگهداری، به صورت روزانه و پس از تهیه رقت‌های سریالی با استفاده از کشت میکروبی به روش کشت گسترده برای تعیین تعداد کلنی‌ها انجام شد. محیط کشت مورد استفاده MRS آگار و دوره انکوباسیون ۴۸ ساعت و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد بود [۲۳ و ۲۲].

۴-۲- بررسی اثر ضد دیابتیک شیر پروبیوتیک

زمان نگهداری است و پس از آن روز تلقیح می‌باشد و از روز دوم تا انتهای دوره نگهداری، تفاوت معناداری در تعداد باکتری‌های باقیمانده در شیر مشاهده نشد.

زنده‌مانی لاکتوباسیل‌ها در شیر تحت تأثیر چندین فاکتور از جمله اسید تولید شده در طی دوره تخمیر، محتوای اکسیژن موجود در محصول و عبور اکسیژن از جداره بسته‌بندی قرار دارد [۳۱]. همچنین عوامل سرما، گرما، اکسیژن، فعالیت آبی محیط، اسیدیته محصول، نوع و میزان کربوهیدرات‌های در دسترس، درجه هیدرولیز پروتئین‌های شیر، ترکیب و درجه هیدرولیز چربی‌ها از جمله عواملی هستند که در حفظ جمعیت پروبیوتیک‌ها در محصول از زمان تولید تا پایان تاریخ انقضای آن بسیار حائز اهمیت هستند. همانگونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، بیشترین جمعیت باکتری پروبیوتیکی مورد آزمون مربوط به روز اول از زمان نگهداری است و پس از این زمان، جمعیت باکتری در شیر تقریباً ثابت باقی می‌ماند. در این راستا Barona و همکاران رشد لاکتوباسیلوس /سیدوفیلوس را در شیر بررسی نموده و به این نتیجه رسیده‌اند که با گذشت ۱۲ الی ۲۴ ساعت از زمان گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، جمعیت این باکتری به بالاترین حد خود می‌رسد [۳۲]. Sanders و همکاران نیز گزارش کردند که جمعیت استرپتوکوکس‌ها، لاکتوباسیل‌ها و بیفیدوباکترها در شیر مایع در طی ۲۱ روز انکوباسیون بسیار پایدار است [۳۳] که در نتیجه می‌توان گفت ثبات جمعیت باکتری‌ها پس از روز دوم تا انتهای دوره نگهداری ۵ روزه تأیید کننده یافته‌های این محقق است.

وزن موش‌ها در طول دوره نگهداری ۲۱ روزه به صورت روزانه با استفاده از ترازوی آزمایشگاهی اندازه‌گیری شد.

۴-۴-۲- اندازه‌گیری قند خون

پس از بیهوشی رت‌ها خون‌گیری از چشم صورت گرفت و سپس سرم خون با استفاده از دستگاه میکروویژر با دور rpm ۳۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه جداسازی شده و بلافاصله به فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد منتقل و تا انجام آزمون سنجش گلوکز خون در به صورت منجمد نگهداری شد. جهت سنجش گلوکز سرم خون، سرم‌های فریز شده به آزمایشگاه منتقل شده و با استفاده از کیت سنجش گلوکز و به روش گلوکز اکسیداز ارزیابی گردید. میزان تغییر رنگ صورتی حاصل از واکنش با معرف با دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری شد [۲۹].

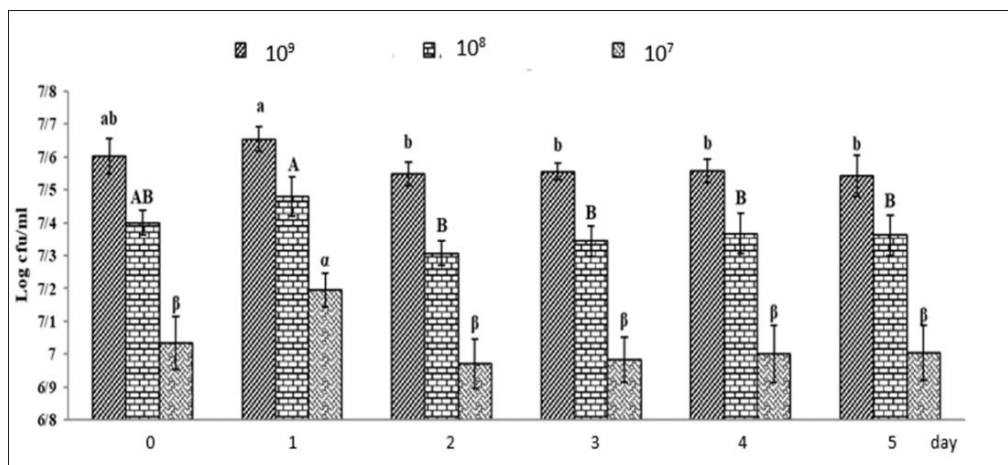
۵-۲- تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار صورت گرفت. تجزیه و تحلیل نتایج در چارچوب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌ها و بررسی معنی‌داری بین تیمارها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح اطمینان ۹۵ درصد) و از طریق نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام گرفت [۳۰].

۳- یافته‌ها

۱-۳- ماندگاری باکتری در شیر

جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس /امنوسوس تلقیح شده در نمونه‌های شیر در طول دوره نگهداری ۵ روزه در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج حاکی از آن است که در سه دوز تلقیحی 10^7 ، 10^8 و 10^9 ، بالاترین جمعیت باکتری در مقایسه با سایر زمان‌های ارزیابی، مربوط به روز اول از



Survival of the *Lactobacillus rhamnosus* in milk during the five days Figure1-maintenance period
Different letters indicate a significant difference ($P < 0.05$) of treatments over different time periods.

۳-۲- ارزیابی اثرات ضد دیابتیک شیر پروبیوتیک

۳-۲-۱- نتایج سنجش وزن

داده های خام حاصل از سنجش وزن موش مورد تحلیل آماری قرار گرفت و نتایج میانگین وزن موش ها در تیمار های مختلف در شکل ۲ ارائه گردیده است. همانگونه که مشاهده می شود وزن موش های کنترل نرمال و کنترل

تغذیه شده با شیر معمولی بعد از گذشت ۲۱ روز از زمان نگهداری افزایش یافته است. ولی موش های دیابتی تغذیه شده با شیرهای حاوی دوزهای مختلف باکتری تلقیح شده، در مقایسه با روز تلقیح، روند کاهش وزن را نشان می دهند و می توان گفت که موش های دیابتی به طور معناداری نسبت به نمونه های کنترل کاهش وزن داشته اند.

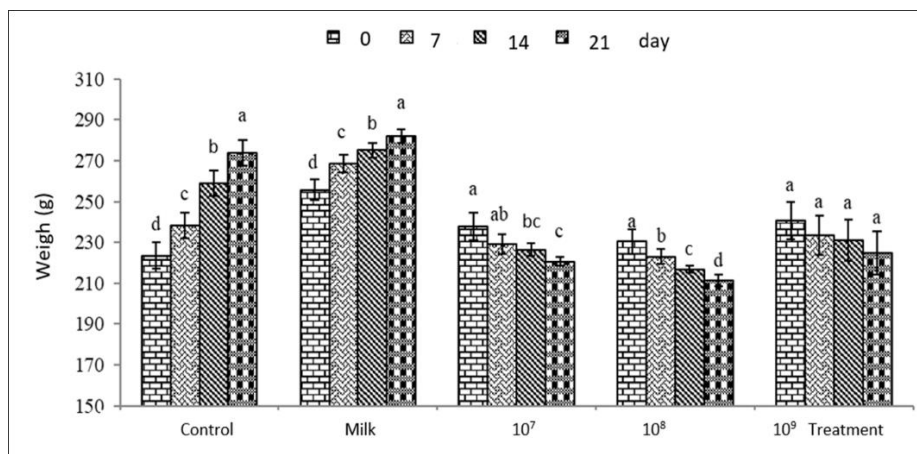


Figure 2-Weight of mice fed with probiotic milk *Lactobacillus rhamnosus*
Different letters indicate a significant difference ($P < 0.05$) of treatments over different time periods.

محققان نمی‌توان تأثیر قطعی پروبیوتیک‌ها بر افزایش و یا کاهش موش‌ها را تأیید کرد.

۲-۳-۲- نتایج سنجش قند خون در موش‌ها

طی دوره زمانی ۲۱ روزه میزان قند خون موش‌های دو گروه کنترل و تحت تیمار اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل در شکل ۳ ارائه شده است. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان مشاهده کرد که میزان قند خون در نمونه‌های کنترل و نمونه‌های کنترل تغذیه شده با شیر از نظر آماری تفاوت معناداری نداشتند ولی در سایر نمونه‌های دیابتی شده و تغذیه شده با دوزهای مختلف باکتری، از این نظر تفاوت معنادار مشاهده می‌شود.

روند تغییر وزن موش‌های سالم و دیابتی شده مشاهده شده در تحقیق حاضر منطبق بر یافته‌های بادکویه و همکاران است [۳۴]. در واقع فلور میکروبی روده به عنوان یک فاکتور محیطی می‌تواند میزان ذخیره چربی در بدن موش‌ها را تنظیم کند [۳۵] میکروارگانیزم‌های فلور روده توانایی برداشت انرژی بیشتر از رژیم غذایی دریافتی فرد را دارند. علاوه بر این می‌توانند با تنظیم مسیرهای بیوشیمیایی توازن و تعادل انرژی و متابولیسم در بدن میزبان ایجاد کنند [۳۶]. Bejar و همکاران، کاهش معناداری در وزن نمونه‌های دریافت کننده پروبیوتیک نسبت به نمونه‌های کنترل مشاهده نمودند ولی Yun و همکاران، افزایش و جلوگیری از روند کاهش وزن نمونه‌ها را گزارش کردند [۳۷ و ۳۸]. در نتیجه با توجه به تناقضات مشاهده شونده در یافته‌های سایر

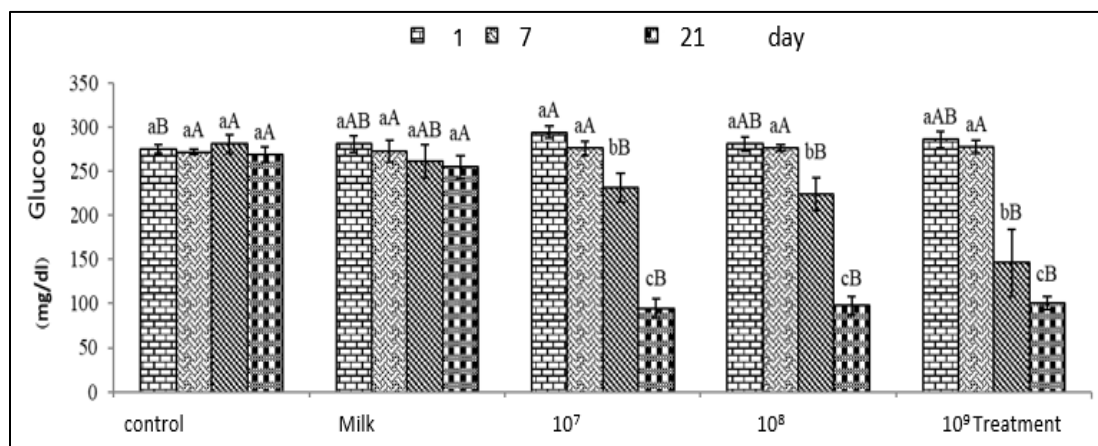


Figure 3. Blood sugar levels of mice fed with different doses of *Lactobacillus rhamnosus* inoculated into milk. Different lowercase letters indicate a significant difference ($P < 0.05$) in the samples in one group. Different uppercase letters indicate a significant difference ($P < 0.05$) in the samples in the corresponding treatments in different groups.

انسولین و همچنین جلوگیری از تخریب سلول‌های β جزایر لانگرهانس در موش‌های دیابتی اشاره کرد [۱۳]. علاوه بر این پروبیوتیک‌ها به واسطه افزایش رونویسی ناقل گلوکز منجر به افزایش حساسیت به انسولین می‌شوند [۳۹]. پروبیوتیک‌ها تأثیر معنادار در جهت کاهش قند خون ناشتا دارند. در مقایسه باکتری کشته شده با حرارت و باکتری زنده پروبیوتیکی *L. rhamnosus GG*، نتیجه شد که تنها باکتری زنده توانایی کاهش قند خون را به واسطه تأثیر

نتایج نشان دهنده آن است که با گذشت زمان نگهداری (از روز ۱ تا ۲۱) میزان قند خون سیر نزولی داشته و می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس طی دوره مذکور توانایی کاهش قند خون موش‌ها را داشته است. اثرات ضد دیابتیک باکتری‌های پروبیوتیک در مطالعات مختلف عنوان شده است. از جمله مکانیسم‌های مؤثر در این مورد می‌توان به بهبود اتصال

treatment in obesity: a review. *Beneficial microbes*, 5(1), 19-28.

[3] Pech-Canul, A.C., Ortega, D., García-Triana, A., González-Silva, N. & Solis-Oviedo, R.L. (2020). Brief Review of Edible Coating Materials for the Microencapsulation of Probiotics, *Coatings*, 10, 197. Doi.org/10.3390/coatings10030197

[4] Mengual, L., Roura, P., Serra, M., Montasell, M., Prieto, G. & Bonet, S. (2010). Multifactorial Control And Treatment Intensity Of Type-2 Diabetes In Primary Care Settings In Catalonia. *Cardiovascular Diabetology*, 9(1), 14-21.

[5] Sáez-Lara, M., Robles-Sanchez, C., Ruiz-Ojeda, F., Plaza-Díaz, J., & Gil, A. (2016). Effects of probiotics and synbiotics on obesity, insulin resistance syndrome, type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease: a review of human clinical trials. *International journal of molecular sciences*, 17(6), 928.

[6] Thushara, R. M., Gangadaran, S., Solati, Z., & Moghadasian, M. H. (2016). Cardiovascular benefits of probiotics: a review of experimental and clinical studies. *Food & function*, 7(2), 632-642.

[7] Wollowski, I., Rechkemmer, G., & Pool-Zobel, B. L. (2001). Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer-. *The American journal of clinical nutrition*, 73(2), 451s-455s.

[8] Sheehan, V. M., Ross, P. & Fitzgerald, G. F. (2007). Assessing The Acid Tolerance And The Technological Robustness Of Probiotic Cultures For Fortification In Fruit Juices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(2), 279-284.

[9] Farnworth, E., Mainville, I., Desjardins, M.-P., Gardner, N., Fliss, I. & Champagne, C. (2007). Growth Of Probiotic Bacteria And Bifidobacteria In A Soy Yogurt Formulation. *International Journal Of Food Microbiology*, 116(1), 174-181.

[10] Afzaal, M., Khan, A.U., Saeed, F., Ahmed, A., Haseeb Ahmad, M., Maan, A.A., Tufail, T., Anjum, F.M. & Hussain, S.H. (2019). Functional exploration of free and encapsulated probiotic bacteria in yogurt and simulated gastrointestinal conditions, *Food science and nutrition*, 3931-3940.

[11] Strowski, M.Z. (2009). Wiedenmann B. Probiotic carbohydrates reduce intestinal permeability

گذاری بر فرایندهای متابولیکی بدن جاندار دارا است [۱۲ و ۴۰]. در واقع با افزایش لاکتوباسیل‌ها در روده باریک میزان تقاضا برای گلوکز نیز زیاد و در نتیجه باعث کاهش میزان غلظت گلوکز رها شده در سرم و اندام‌های مختلف حیوان می‌شود. همچنین میکروفلور روده در تعیین میزان التهاب مؤثر در دیابت نقش دارد. بدین صورت که وقتی تعادل در میکروفلور روده از بین می‌رود نسبت باکتری‌های گرم مثبت به گرم منفی در روده کاهش می‌یابد در نتیجه میزان جذب لیپوپلی ساکاریدها و سایر مولکول‌های پیش التهابی و انتقال آنها به گردش خون افزایش می‌یابد و همین موضوع باعث افزایش ترشح سیتوکین‌ها، فعالیت ماکروفاژها و بروز التهاب در بدن می‌شود. سیتوکین‌های التهابی باعث اختلال در عملکرد گیرنده‌های انسولین و در نتیجه باعث مقاومت به انسولین می‌گردد، هم چنین با القای آپوپتوز سلول‌های بتا پانکراس باعث کاهش ترشح انسولین توسط این سلول‌ها می‌شود [۳۴ و ۳۳].

۴- نتیجه گیری:

در مجموع می‌توان گفت جمعیت باکتری پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس/امنوسوس در شیر در روز اول بیشتر بوده و در طول دوره نگهداری ۵ روزه و با دوزهای اولیه تلقیح مختلف اختلاف معناداری نداشت و در نتیجه باکتری مورد آزمون توانایی زنده‌مانی بالایی در شیر دارد پژوهش حاضر نشان داد تغذیه با شیر پروبیوتیک سبب کاهش معنی‌داری در قند خون گردید و کاهش گلوکز از روز چهاردم تغذیه با شیر پروبیوتیک مشهودتر است.

۵- منابع

[1] Betoret, E.; Betoret, N.; Vidal, D. & Fito, P. (2011). Functional foods development: Trends and technologies. *Trends in Food Science & Technology*, 22, No. 9, p. 498-508.

[2] Mekkes, M. C., Weenen, T. C., Brummer, R. J., & Claassen, E. (2013). The development of probiotic

- Ho, U.Y. (2014). Probiotic potential of *Lactobacillus* strains with antimicrobial activity against some human pathogenic strains. *Biomed Res, Int.* ,927268. doi: 10.1155/2014/927268.
- [22] Hawaz, E. (2014) Isolation and identification of probiotic lactic acid bacteria from curd and in vitro evaluation of its growth inhibition activities against pathogenic bacteria. *Afr J Microbiol Res.* 8:1919–425.
- [23] Das, K., Tiwari, R. K. S. & Shrivastava, D. K. (2014) Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2, 104-111.
- [24] Davari, S., Talaei, S., Soltani, M., Allaei, H., Sallami, M., (2014). Effect of co-administration of different lactobacilli probiotics and lactobacillus bifidobacteria on learning, memory and oxidative stress factors in diabetic rats. *Tehran Univ Med J*, 70 (9): 539-531.
- [25] Farzadi, L., Khaki, A., Ouladsahebmadarek, E., Ghadamkheir, E., & Khaki, A. A. (2011). Effect of rosmarinic acid on sexual behavior in diabetic male rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(16), 1906-1910.
- [26] Shapiro, K., & Gong, W. C. (2002). Natural products used for diabetes. *Journal of the American Pharmaceutical Association* , 42(2), 217-226.
- [27] Deeds, M.C., Anderson, J.M., Armstrong, A.S., Gastineau, D.A., Hiddinga, H.J., Jahangir, A., Eberhardt, N.L. & Kudva, Y.C. (2011). Single dose streptozotocin-induced diabetes: considerations for study design in islet transplantation models. *Lab Anim*, 45(3):131-40.
- [20] Ejtahed, H.A., Mohtadi nya, J., Homayoni rad, E., Neya far, M., Asghari jafarabadi, M., Mofied, V. (2013). Effect of Probiotic and Ordinary Yogurt on Blood Sugar Indices and Insulin Resistance in Patients with Type 2 Diabetes: Accidentally Controlled Clinical Trials, *Iranian Journal of Endocrinology & Metabolism*, (13), N:1, p: 1-8.
- [30] Omid, B., Fazeli, M., Amozegar, M.A., Mortazavi, P. (2013). Investigation of the anti-diabetic effect of Iranian yellow carrot juice probiotic by *Lactobacillus acidophilus*. *Comparative Pathobiology j.* (8), N:1, P: -395- 402.
- [31] Shah, N. P. (2000). Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of dairy science*, 83(4), 894-907.
- and inflammation in metabolic diseases. *Gut.* ,58(8):1044-5.
- [12] Laitinen, K., Poussa, T. & Isolauri, E. (2008). Probiotics And Dietary Counselling Contribute To Glucose Regulation During And After Pregnancy: A Randomised Controlled Trial. *British Journal Of Nutrition*, 101(11), 1679-1687.
- [13] Lye, H.-S., Kuan, C.-Y., Ewe, J.-A., Fung, W.-Y. & Liong, M.-T. (2009). The Improvement Of Hypertension By Probiotics: Effects On Cholesterol, Diabetes, Renin, and Phytoestrogens. *International Journal Of Molecular Sciences*, 10(9), 3755-3775.
- [14] Harisa, G., Taha, E., Khalil, A. & Salem, M. (2009). Oral Administration Of *Lactobacillus Acidophilus* Restores Nitric Oxide Level In Diabetic Rats. *Aust J Basic Appl Sci*, 3(3), 2963-2969.
- [15] Franz, M.J. (2004). Medical nutrition therapy for diabetes mellitus and hypoglycemia of nondiabetic origin. Krause's food
- [16] Hoseinzadeh, M. & Hadizadeh, M. (2005). *Harrison Principles of Internal Medicine Diseases Endocrinology, Metabolism and Nutrition: Tibb Publication*; 1384.
- [17] Evans, J.L., Goldfine, I.D., Maddux, B.A. & Grodsky GM. (2002). Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev.* 23(5):599-622.
- [18] Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., Unwin, N., Colagiuri, S., Guariguata, L., Motala, A.A., Ogurtsova, K., Shaw, J.E., Bright, D. & Williams, R. (2019) Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition, *Diabetes Research and Clinical Practice*, 1:10 .
- [19] Esteghamaeti, A., Gouya, M.D., MPH, Abbasi, M., Delavari, A., Alikhani, S., Alaedini, F., Safaie, A., Forouzanfar, M. & W. Gregg, E.W. (2003). Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in the adult population of Iran. *Diabetes care*, 31(1):96-98.
- [20] Razmposh, A., Ejtahed, H.A., Mirmiran, P. & Javadi, M., (2017). The role of probiotics in glycemic control and body weight in type 2 diabetes: A structured review of human and animal studies. *Endocrine glands and metabolism – Iran*, 30(1), p:63-87.
- [21] Shokryazdan P, Sieo CC, Kalavathy R, Liang JB, Alitheen NB, Faseleh Jahromi, M. &

- [32] Barona, M., Roy, D., & Vuilleumard, J. C. (2000). Biochemical characteristics of fermented milk produced by mixed-cultures of lactic starters and bifidobacteria. *Le Lait*, 80(5), 465-478.
- [33] Sanders, M. E., Walker, D. C., Walker, K. M., Aoyama, K., & Klaenhammer, T. R. (1996). Performance of commercial cultures in fluid milk applications. *Journal of Dairy Science*, 79(6), 943-955.
- [34] Badkooyeh, H., Jafari .P., Akbari, N., (2015). Consideration the effect of *Lactobacillus casei* TD2 cardia as a native strain on blood sugar levels in diabetic visrar rats, *Animal Physiology and Development j.*, (6), N: 3, P: 17-22.
- [35] Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V., Koh, G. Y., Nagy, A., Semenkovich, C.F. & Gordon, J.I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the national academy of sciences*, 101(44), 15718-15723.
- [36] Everard, A., & Cani, P. D. (2013). Diabetes, obesity and gut microbiota. *Best practice & research Clinical gastroenterology*, 27(1), 73-83.
- [37] Bejar, W., Hamden, K., Salah, R. B. & Chouayekh, H. (2013). *Lactobacillus plantarum* TN627 significantly reduces complications of alloxan-induced diabetes in rats. *Anaerobe*, 24, 4-11.
- [38] Yun, S., Park, H. & Kang, J. (2009). Effect of *Lactobacillus gasseri* BNR17 on blood glucose levels and body weight in a mouse model of type 2 diabetes. *Journal of applied microbiology*, 107(5), 1681-1686.
- [39] Firouzi, S., Barakatun-Nisak, M. Y., Ismail, A., Majid, H. A., & Azmi, K. N. (2013). Role of probiotics in modulating glucose homeostasis: evidence from animal and human studies. *International journal of food sciences and nutrition*, 64(6), 780-786.
- [40] Razmpoosh, E., Javadi, M., Ejtahed, H. S., & Mirmiran, P. (2016). Probiotics as beneficial agents in the management of diabetes mellitus: a systematic review. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 32(2), 143-168.



**Anti-diabetic effect of probiotic milk containing
Lactobacillus rhamnosus IBRC-M10754 in animal model of wistar rat and survive it in cold
storage conditions**

Mahrokh mozafari¹, Mozhgan Emtiazjoo², Amir Ali Anvar³

1-Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch,

Tehran- Iran

2-Associate prof., Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran -Iran

3-Assistant prof., Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran -Iran

ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate the viability of *Lactobacillus rhamnosus* IBRC-M 10754 in milk as a probiotic in cold storage and to evaluate its anti-diabetic effects. After bacterial culture in MRS medium and addition to milk, treatments containing 10^7 , 10^8 and 10^9 cfu / ml of probiotic milk were prepared. Bacterial viability was performed for 5 days by sequential dilution and extensive culture in three replicates. Then, gavage containing probiotic-containing milk to Balb/C male rats that were infected with Streptozotocin was compared with anti-diabetic rats fed *L. rhamnosus* milk by measuring their blood glucose and weight. The results showed that the highest number of live bacteria in milk at 4°C, belonged to the first day of storage and there was no significant difference from the second day until the end of storage period. Overall, the bacterial population in milk decreased significantly ($p \leq 0.05$) over time. Addition of 10^9 cfu/ml primary inoculum showed that at the end of the fifth day the bacterial population in the milk was as high as that in the probiotic milk by the end of the cold storage. Mice weighing showed that the weight of control rats increased during the storage period, but diabetic rats decreased during this time. Milk with *Lactobacillus* inoculated in diabetic rats at different doses of inoculation resulted in a significant ($P < 0.05$) decrease in blood glucose during their 21-day storage period. The decline of the fourteenth day of feeding probiotics is more evident.

ARTICLE INFO**Article History:**

Received: 2021/6/29

Accepted: 2022/5/31

Keywords:

Probiotic,

Milk,

Anti-diabetic,

Lactobacillus rhamnosus

DOI: 10.22034/FSCT.20.138.16

DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.138.2.4

*Corresponding Author E-Mail:

Moz_emyazjoo@yahoo.com,

M_emyazjoo@iau-tnb.ac.ir