بررسی تأثیر سطوح مختلف ویتامین D_3، عصاره روغنی زیره سبز و زمان تخمیر با استفاده از روش سطح پاسخ بر بهینه‌سازی تولید ماست پروبیوتیک برای بیماران دیابتی

سمانه شجاعی مهر[۱]، مینا باباشاهی[۱]، مریم میرلوحی[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: در سال‌های اخیر، فواید دریافت پروبیوتیک‌ها، ویتامین D_3 و اسانس روغنی زیره سبز، هر کدام به تنهایی در مدیریت بیماری دیابت مورد توجه قرار گرفته است. در مطالعه حاضر، تولید ماست حاوی غلظت‌های مختلفی از ویتامین D_3 و اسانس روغنی زیره سبز با به کار بردن زمان‌های مختلف تخمیر برای دستیابی به محصول پروبیوتیک با بالاترین شمارش سلولی باکتری پروبیوتیک که به شکل کشت الحاقی به آن افزوده شده بود، مورد بررسی قرار گرفت و تولید فراورده پروبیوتیک با ارزش سلامتی افزوده برای کمک به افراد دیابتی هدف نهایی مطالعه تعیین شد.

روش‌ها: روش سطح پاسخ با مدل مرکب مرکزی برای بررسی تأثیر سه فاکتور متفاوت شامل اسانس روغنی زیره، ویتامین D_3 و زمان تخمیر بر جمعیت سویه پروبیوتیک باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم A_7 مورد استفاده قرار گرفت. غلظت اسانس زیره در چهار سطح ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۳ و ۰/۰۵ درصد و غلظت ویتامین D در پنج سطح ۲۰، ۴۰، ۴۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ IU و طول زمان تخمیر در پنج سطح ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۲۴ ساعت متغیرهای آزمایش تعریف شد. بر اساس مدل مورد استفاده، ۱۵ طرح آزمایشی در ۲۰ تکرار تعیین شد و نتایج در نرم‌افزار SAS (Statistical analysis system) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تأثیر هر یک از متغیرهای مورد بررسی بر نتیجه نهایی در سطح ۵ درصد احتمال معنی‌دار در نظر گرفته شد ($P < ۰/۰۵$).

یافته‌ها: اثر توأم غلظت اسانس زیره و زمان بر نرخ رشد باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم A_7 بیشترین اثر را داشت و به ترتیب بعد از آن اثر توأم زیره و ویتامین D_3، ویتامین D_3 با توان دو و ویتامین D_3 با توان یک بر نرخ رشد بیشینه سویه باکتری واقع شد. بعد از آن، اسانس زیره با توان یک و زمان با توان یک اثر کمی بر نرخ رشد این باکتری نشان داد که شرایط بهینه برای فرمولاسیون حد میانی هر یک از متغیرها تعیین گردید.

نتیجه‌گیری: ماست پروبیوتیک غنی شده با ویتامین D_3 و اسانس زیره می‌تواند حاوی جمعیت بالایی از باکتری زنده (10^7cfu/ml) از سویه پروبیوتیک الحاقی باشد. این محصول می‌تواند به عنوان محصول فراسودمند برای افرادی که از بیماری دیابت رنج می‌برند، مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: ماست پروبیوتیک، زیره سبز، ویتامین D_3، روش سطح پاسخ

ارجاع: شجاعی مهر سمانه، باباشاهی مینا، میرلوحی مریم. **بررسی تأثیر سطوح مختلف ویتامین D_3، عصاره روغنی زیره سبز و زمان تخمیر با استفاده از روش سطح پاسخ بر بهینه‌سازی تولید ماست پروبیوتیک برای بیماران دیابتی.** مجله تحقیقات نظام سلامت ۱۳۹۵؛ ۱۲ (۳): ۳۲۲-۳۱۵

دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۱۰/۲۷ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۱۲/۱۳

مقدمه

غذاهای عملکردی، غذاهایی است که علاوه بر تأمین نیازهای تغذیه‌ای عادی باعث جلوگیری از بیماری‌ها مزمن می‌شود و ماست‌های پروبیوتیکی از مهم‌ترین این گروه مواد غذایی است که امروزه به شکل تجارتی بخش مهمی از بازار مواد غذایی را به خود اختصاص داده است (۱). در سال‌های اخیر، اثر مصرف ماست‌های پروبیوتیکی در درمان و تخفیف عوارض بیماری دیابت به طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته و گزارشات متعددی از ثمربخش بودن چنین مداخلاتی گزارش شده است (۵-۲). از جمله شواهد تأثیر ماست‌های پروبیوتیکی در درمان و کاهش عوارض دیابت می‌توان به مطالعه محمدشاهی و همکاران اشاره کرد که مصرف روزانه ماست پروبیوتیک حاوی جمعیت مشخصی از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک با کاهش عوارض دیابت نوع دو ارتباط مستقیم دارد (۲). همچنین، در مطالعه اجتهد و همکاران از مصرف ماست پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La-5 و بیفیدوباکتریوم لاکتیس (Bb-12) کاهش سطح گلوکز خون و افزایش آنتی‌اکسیدان در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو مشاهده شد (۶). در مطالعه Yadav و همکاران مصرف ماست کم‌چرب پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی در موش‌های دیابتی نوع دو باعث کاهش عوارض دیابت گردید (۴). در تحقیق دیگری فعالیت هایپوگلایسمیک پروبیوتیک‌ها و اثر فعالیت مهارکنندگی آن‌ها در مقابل آنزیم‌های آلفاگلوکوزیداز و آلفاآمیلاز نشان داده شد (۵).

علاوه بر پروبیوتیک‌ها، برخی از ترکیبات شیمیایی عملکردی مانند ویتامین

۱- کارشناس ارشد، گروه بهداشت و ایمنی مواد غذایی، مرکز تحقیقات امنیت غذایی و گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشیار، مرکز تحقیقات امنیت غذایی و گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده مسؤول: مریم میرلوحی Email: m_mirlohi@hlth.mui.ac.ir

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2025-09-05]

D_3 و اسانس‌های گیاهی با قابلیت آنتی‌اکسیدانی در پیشگیری یا کاهش عوارض دیابت در مطالعات انسانی- حیوانی نتایج تأیید شده و مثبتی را نشان داده‌اند (۱۰-۷، ۴). در ارتباط با اثربخشی ویتامین D_3 می‌توان به اثر انکارناپذیر مصرف دوزهای بالایی از این ویتامین در درمان و بهبود دیابت اشاره کرد (۱۸-۱۱). علاوه بر این، اثر درمانی زیره سبز و آثار مفید آن بر افراد دیابتی در مطالعات متعددی اشاره شده است (۲۲-۱۹).

زیره سبز، گیاه علفی یک ساله، ظریف و معطر از خانواده چتریان بوده و با نام علمی Cuminumcyminum معروف می‌باشد (۲۳). در طب سنتی ایرانی اثرات آنتی دیابتیک، آنتی کارسینوژنیک، آنتی موتاژنیک، ضد انقباض و ضد تشنج به زیره سبز نسبت داده شده است (۲۵، ۲۴). با توجه به کاربرد طب سنتی و تأکید بر استفاده از گیاهان دارویی در سال‌های اخیر می‌توان گفت که یکی از جنبه‌های متفاوت به کارگیری گیاهان دارویی استفاده از آن‌ها در فراورده‌های پروبیک است (۲۶). این مطالعه با هدف تولید و بهینه‌سازی فرمولاسیون ماست پروبیوتیک حاوی ویتامین D_3 و غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز برای افراد مبتلا به دیابت طراحی شد. موضوع مورد مطالعه به خصوص از این نظر حایز اهمیت است که تاکنون هیچ فراورده غذایی، به طور اختصاصی برای گروهی از بیماران در ایران تولید نشده است.

با این حال، تولید ماست‌های پروبیوتیکی همواره با چالش‌هایی روبه‌رو است که ادعای مطرح شده در مورد خواص درمانی آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاهش جمعیت زنده باکتری پروبیوتیک به دلیل پیدایش ترکیبات ضد میکروبی در ماست، عدم استفاده از سویه‌های مناسب و عدم انطباق عطر و طعم محصولات فرموله شده با ذایقه افراد که مصرف غذای پروبیوتیک را محدود می‌کند، از مهم‌ترین عوامل عدم موفقیت تولید یک محصول پروبیوتیک برای رسیدن به اهداف سلامتی بخش آن به شمار می‌آید (۳۰-۲۷). در تولید یک ماست پروبیک فرموله شده چالش روبه‌رو بیشتر نیز خواهد بود؛ چرا که در تولید چنین فراورده‌ای، بر همکنش ویتامین D_3 و اسانس زیره بر سلول‌های زنده پروبیوتیک ممکن است که موجب کاهش جمعیت آن‌ها و شکست در تولید محصول نهایی شود. از این‌رو، به کارگیری روش‌های بهینه‌سازی نیاز اساسی و ضروری پیش از مصرف چنین فراورده‌هایی به عنوان یک غذای عملکردی مؤثر می‌باشد.

روش سطح پاسخ، یک روش قدرتمند و رایج در بهینه‌سازی شرایط آزمایش می‌باشد. این متد مجموعه‌ای از روش‌های تجربی، ریاضی و استنتاج آماری است که اثرات متقابل چندین عامل در محدوده متفاوت را ارزیابی می‌کند و ناحیه‌ای که نتایج در محدوده آن قرار دارد را به شکل یک سطح سه بعدی نشان می‌دهد (۳۱).

در مطالعه حاضر با به کارگیری روش سطح پاسخ، بهینه‌سازی ماست حاوی یک سویه بومی لاکتوباسیلوس پلانتارم A_7 با خواص پروبیوتیکی، غنی شده با ویتامین D_3 و اسانس زیره سبز مورد بررسی قرار گرفت؛ به طوری که جمعیت نهایی این باکتری در فراورده تولید شده و خواص حسی محصول تولیدی به عنوان پاسخ در برابر سطوح تغییر، دریافت و مورد ارزیابی قرار گرفت.

باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم A_7 سویه پروبیوتیک بومی است که از دستگاه گوارش کودک ایرانی جدا شده است و منبع اطلاعات علمی NCBI (National center for biotechnology information) با شماره ثبت گردیده است. تاکنون اثر مهاری پاتوژن‌های دستگاه گوارش همچنین، مقاومت نسبت به شرایط دستگاه گوارش، قابلیت متعادل‌سازی چربی‌های خون و مدیریت عوارض دیابت شامل کاهش قند خون و تعادل چربی‌های سرم و همچنین، قابلیت زنده مانی در محیط ماست (۳۳، ۳۲)، از این سویه نشان داده شده است (۳۵-۳۲).

روش‌ها

طراحی آزمایشات برای بهینه‌سازی ترکیب ویتامین D_3 و اسانس زیره و زمان تخمیر ماست برای حفظ بیشترین جمعیت لاکتوباسیلوس پلانتارم A_7

جهت بررسی سه فاکتور غلظت ویتامین D_3، غلظت اسانس زیره سبز و زمان تخمیر از روش سطح پاسخ در قالب طرح آزمایشی مرکب مرکزی با سه متغیر مستقل در نرم‌افزار SAS (Inc verison 9.2 , SAS Institute) استفاده شد. جدول ۱، پنج سطوح واقعی سه متغیر فوق را با کد مربوط آن‌ها مطابق طرح انتخابی نشان می‌دهد. غلظت اسانس زیره در چهار سطح ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۳ و ۰/۰۵ درصد، غلظت ویتامین D در پنج سطح ۲۰، ۴۰، ۴۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ IU و طول زمان تخمیر در پنج سطح ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۲۴ ساعت متغیرهای آزمایش تعریف شد.

با استفاده از روش طرح مرکب مرکزی در برنامه سطح پاسخ، ۱۵ آزمایش با ۶ تکرار در نقطه مرکزی طراحی شد. میانگین مقادیر به دست آمده جمعیت شمارش شده لاکتوباسیلوس پلانتارم A_7 از سه مرتبه تکرار کامل آزمایشات در فاصله زمانی کمتر از یک هفته به عنوان متغیر وابسته (یا پاسخ) در نظر گرفته شد.

مدل عمومی چند جمله‌ای درجه دو برای پیش‌بینی رابطه پاسخ و سه فاکتور قابل کنترل بر اساس رابطه زیر بیان شد.

$$Y = B_0 + \sum_{i=1}^{2} B_i X_i + \sum_{i=1}^{2} B_{ii} X_i^2 + \sum \sum_{i>j=1}^{2} B_{ij} X_i X_j + \varepsilon$$

$$Y = B_0+B_1X_1+B_2X_2+B_3X_3+B_{11}X_1^2+B_{22}X_2^2+B_{33}X_3^2+B_{12}X_1X_2+B_{13}X_1X_3+B_{23}X_2X_3$$

جدول ۱. نمایش سطوح واقعی بر اساس کد تعیین شده برای سه متغیر مستقل شامل غلظت ویتامین D_3، غلظت اسانس زیره سبز و زمان تخمیر بر اساس طرح مرکب مرکزی برای حفظ بالاترین جمعیت سویه پروبیوتیک $L.A_7$

متغیر	کد متغیر	سطوح واقعی متغیرها بر اساس کد نسبت داده شده				
		-۱/۴	-۱/۰	۰	۱/۰	۱/۴
درصد اسانس زیره	X1	۰	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۵
درصد ویتامین D_3	X2	۲۰	۴۰	۴۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰
(ساعت) زمان	X3	۳	۶	۹	۱۲	۲۴

درصد غلظت‌ها، وزنی حجمی سنجیده شده است.

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2025-09-05]
www.mui.ac.ir

در معادله ذکر شده Y پاسخ پیش‌بینی شده، B_0 ضریب ثابت، B_1، B_2 و B_3 اثرات خطی، B_{11}، B_{22} وB_{33} اثرات مربعی و B_{12}، B_{13} و B_{23} اثرات متقابل می‌باشد.

شیر ۱/۵ درصد چربی از شرکت کاله آمل و اسانس زیره از شرکت باریج اسانس اصفهان تهیه شد. ویتامین D_3 IU۱۰۰۰۰۰ در گرم از نوع محلول در آب از شرکت DSM سوئیس خریداری شد.

باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم A_7 و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس از کلکسیون میکروبی دانشکده تغذیه و علوم غذایی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تهیه شد. باکتری استرپتوکوکوس ترموفیلوس در آزمایشگاه تحت شرایط استریل از ماست پاستوریزه تجاری جدا گردید. برای این منظور یک میلی‌لیتر از ماست پاستوریزه تجاری در ۵ میلی لیتر محیط کشت M_{17} مایع به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۲ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردید. سپس، یک میلی‌لیتر از ماست تخمیر شده بر روی محیط کشت M_{17} جهت جداسازی سوش آغازگر استرپتوکوکوس ترموفیلوس کشت سطحی داده شد و در دمای ۴۲ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. در نهایت، از نظر مورفولوژی سلول، کلنی و آزمایشات بیوشیمیایی مورد تأیید قرار گرفت. سویه‌های لاکتیکی جهت فعال‌سازی حداقل ۲ مرتبه در ۵ میلی‌لیتر از محیط کشت MRS (deMan Rogosa sharpe) یا M_{17} به میزان ۱ درصد تلقیح و در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. سپس، رسوبات باکتریایی بعد از ۳ مرتبه سانتریفیوژ به ترتیب با ۱۰۰۰۰، ۸۰۰۰ و ۶۰۰۰ (rpm) به مدت ۱۵ دقیقه با سرم فیزیولوژیک دو بار شستشو داده شده و مایه تلقیح حاوی سلول‌های باکتری‌های استرپتوکوکوس ترموفیلوس، لاکتوباسیلوس پلانتاروم A_7 و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس با دانسیته نوری ۰/۷ در طول موج ۶۲۰ نانومتر در محیط کشت‌های M_{17} و MRS فراهم گردید.

تعداد ۲۰ نمونه ۳۰۰ میلی‌لیتری شیر در ارلن مایر تهیه شد. اسانس زیره استریل به میزان‌های ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۳ و ۰/۰۵ درصد از حجم نمونه شیر به نمونه‌ها اضافه شد. نمونه‌های تخمیر در داخل انکوباتور در شرایط هوازی در دمای ۴۲ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد و در فواصل زمانی ۳ ساعته جهت شمارش میکروبی مورد نمونه‌برداری قرار گرفت. جهت شمارش باکتریایی یک میلی‌لیتر از هر نمونه با استفاده از محلول کلرور سدیم ۰/۸۵ درصد در رقت‌های متوالی تهیه گردید. شمارش لاکتوباسیلوس پلانتاروم A_7 بر محیط سوربیتول آگار با استفاده از روش کشت سطحی انجام شد. کلیه مراحل تهیه ماست برای ۲۰ طرح آزمایشی در سه تکرار انجام شد. آنالیز آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS صورت گرفت و داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف از معیار گزارش شد.

یافته‌ها

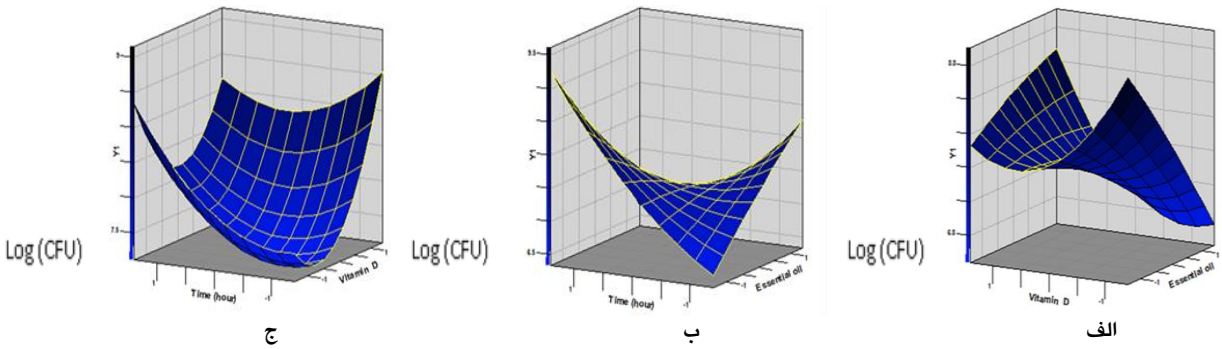
جدول ۲ نتایج به دست آمده از این تحقیق بر اساس ترکیب سه متغیر زمان تخمیر، درصد اسانس زیره و غلظت ویتامین D_3 را بر شمارش نهایی باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم A_7 در ۱۵ طرح آزمایشی نشان می‌دهد.

معادله ۱، مدل به دست آمده برای جمعیت نهایی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (Y_1) A_7 را نشان می‌دهد. در این معادله (x_1) و (x_2) به ترتیب نشان دهنده دو متغیر اسانس زیره سبز و ویتامین D_3 می‌باشد و (x_3) متغیر سوم، زمان تخمیر را نشان می‌دهد.

$$Y1 = ۷/۴۲ - ۰/۲۵X_۱ + ۰/۲۸X_۲ + ۰/۱۹X_۳ - ۰/۰۴X_۱^۲ + ۰/۴۳X_۱X_۲ - ۰/۶۵۵X_۱X_۳ + ۰/۳۹X_۲^۲ - ۰/۲۰X_۲X_۳ + ۰/۱۹X_۳^۲$$

نتایج آنالیز واریانس در جدول ۳ حاکی از آن است که غلظت توأم اسانس زیره و زمان بر نرخ رشد باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* A_7 بیشترین اثر را داشت و به ترتیب بعد از آن غلظت‌های توأم زیره و ویتامین D_3، ویتامین D_3 با درجه دو و ویتامین D_3 با درجه یک بر نرخ رشد بیشینه این باکتری مؤثر واقع شد. بعد از آن، اسانس زیره با درجه یک و زمان با درجه یک اثر کمی بر نرخ رشد این باکتری نشان داد.

شکل ۱ شمای سه بعدی از اثر ترکیبی سه متغیر مستقل مورد بررسی در این مطالعه را به شکل دو به دو بر جمعیت زنده LA_7 نشان می‌دهد. بر اساس نمودار الف در شکل ۱ و اطلاعات جدول ۳ اگرچه عامل زمان تخمیر ماست و غلظت اسانس هر یک به تنهایی تأثیر قابل توجهی بر جمعیت سویه پروبیوتیک نداشت، اما اثر همزمان این دو عامل دارای بالاترین سهم بر تغییرات جمعیت این باکتری بود؛ به طوری که با افزایش زمان تخمیر و افزایش غلظت اسانس اثر بازدارندگی اسانس بر جمعیت زنده باکتری بیشتر شد.



ج ب الف

شکل ۱: بررسی اثر همزمان متغیرهای مستقل بر پاسخ (Y = جمعیت زنده لاکتوباسیلوس پلانتاروم A_7 Log Cfu/ml)، الف- اثر ترکیبی غلظت اسانس زیره و زمان، ب- اثر ترکیبی غلظت اسانس زیره و ویتامین D_3 و ج- اثر ترکیبی ویتامین D_3 و زمان

CFU: Colony form unit

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2025-09-05]

جدول ۲. جدول طراحی آزمایشات و نتایج شمارش جمعیت باکتری پروبیوتیک LA_7 در ۱۵ طرح آزمایشی مختلف (۵ تکرار در نقطه مرکزی) با ترکیب سه متغیر زمان تخمیر، غلظت ویتامین D_3 و غلظت اسانس زیره سبز

L. plantarum A_7* Log(CFU/ml)	زمان تخمیر (ساعت)	غلظت ویتأمین D_3 درصد	اسانس زیره سبز درصد	
Y1	X3	X2	X1	Run
۷/۳۶ (±۱/۲)	−۱	−۱	−۱	۱
۹/۵۷ (±۲/۳)	۱	−۱	−۱	۲
۷/۴۴ (±۱/۵)	−۱	۱	−۱	۳
۸/۴۲ (±۱/۹)	۱	۱	−۱	۴
۷/۳۹ (±۱/۱)	−۱	−۱	۱	۵
۶/۵۶ (±۰/۸۶)	۱	−۱	۱	۶
۸/۷۹ (±۱/۸)	−۱	۱	۱	۷
۷/۵۷ (±۰/۹)	۱	۱	۱	۸
۷/۶۹ (±۱/۱)	۰	۰	−۱/۴	۹
۷/۳۱ (±۰/۹۶)	۰	۰	۱/۴	۱۰
۷/۶۱ (±۱/۴)	۰	−۱/۴	۰	۱۱
۹/۰۸ (±۱/۹)	۰	۱/۴	۰	۱۲
۷/۵۶ (±۰/۴)	−۱/۴	۰	۰	۱۳
۸/۳۴ (±۱/۲)	۱/۴	۰	۰	۱۴
۷/۵۶ (±۱/۱)	۰	۰	۰	۱۵
۷/۴ (±۲/۱)	۰	۰	۰	۱۶
۷/۲۹ (±۰/۶)	۰	۰	۰	۱۷
۷/۳۴ (±۰/۲)	۰	۰	۰	۱۸
۷/۳۸ (±۱/۷)	۰	۰	۰	۱۹
۷/۱۵ (±۱/۹)	۰	۰	۰	۲۰

تکرارهای ۱۵ تا ۲۰ تکرار آزمایش در نقطه مرکزی (نقطه میانی متغیرها و تکرارپذیری فرایند) را نشان می‌دهد؛ * میانگین شمارش لاکتوباسیلوس پلنتاروم A_7 (انحراف معیار)
CFU: Colony form unit

همان طور که در شکل ۱ دیده می‌شود و بر اساس نتایج تجزیه واریانس در جدول ۳، در مطالعه حاضر متغیر غلظت ویتامین D_3 به تنهایی و یا در ترکیب با اثر غلظت زیره نقش مهمی در پاسخ آزمایش داشت. اثر بازدارندگی اسانس زیره بر جمعیت باکتری در غلظت کمتر ویتامین مشاهده شد؛ به طوری که در سطوح بالای غلظت ویتامین این اثر کم رنگ می‌گردد و به نحوی می‌توان گفت که ویتامین D_3 تأثیر محافظتی بر سویه میکروبی در برابر اسانس زیره داشته است. همین نتیجه در منحنی ج نیز مشاهده می‌گردد. بر اساس جدول تجزیه واریانس اگرچه تغییرات ناشی از ترکیب دو عامل غلظت ویتامین D_3 و زمان بر جمعیت باکتری از نظر آماری قابل توجه نبوده است، اما مشاهده روند تغییرات در منحنی ج نشان دهنده افزایش جمعیت باکتری زنده با افزایش غلظت ویتامین D_3 در این مطالعه بوده است.

بر اساس نتایج طراحی آزمایشات شرایط بهینه نرخ رشد بیشینه باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم A_7 در فرمولاسیون ماست پربیوتیک حاوی اسانس زیره و ویتامین D_3 در غلظت اسانس زیره ۰/۰۲ درصد و ویتأمین D_3، ۴۰۰ IU و طول زمان تخمیر ۹ ساعت تعیین گردید.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که جمعیت یک سویه پروبیوتیکی در یک فرمولاسیون عملگرای ماست پروبیوتیک به شدت تحت تأثیر عوامل زیست فعال در فرمولاسیون بود. جمعیت سوش پروبیوتیکی تحت تأثیر اسانس روغنی زیره با افزایش غلظت اسانس و افزایش زمان تخمیر که خود شاخصی از مواجهه بیشتر سوش پروبیوتیک با اسانس در فرمولاسیون بود، به شدت کاهش یافت؛ در حالی که ویتامین D_3 تجارتی مورد استفاده موجب حفاظت و افزایش جمعیت بازیابی شده پروبیوتیک از محیط کشت ماست گردید. کلیه این نتایج نشان می‌دهد که به کارگیری فرمولاسیون‌های ترکیبی نیازمند بهینه‌سازی با استفاده از طراحی مدل‌های ریاضی است.

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2025-09-05]

جدول ۳. جدول تجزیه واریانس نتایج به دست آمده از پاسخ (تعداد جمعیت زنده LA_7) آزمایشات از ترکیب سه متغیر غلظت اسانس زیره، غلظت ویتامین D_3 و زمان تخمیر

منبع	DF	SS	MS	F	مدل کلی Pr>F
۱X	۱	۰/۷۶۱۰۸۶	۰/۷۶۱۰۸۶	۸/۴۸۰۶۱۱	۰/۰۱۵۵
۲X	۱	۰/۹۶۸۶۵۸	۰/۹۶۸۶۵۸	۱۰/۷۹۳۵۴۰	۰/۰۰۸۲
۳X	۱	۰/۴۱۷۹۳۸	۰/۴۱۷۹۳۸	۴/۶۵۶۹۹۳	۰/۰۵۶۳
۱*X۱X	۱	۰/۰۱۳۲۸۶	۰/۰۱۳۲۸۶	۰/۱۴۸۰۴۰	۰/۷۰۸۵
۲*X۱X	۱	۱/۵۱۳۸۰۰	۱/۵۱۳۸۰۰	۱۶/۸۶۷۹۴۰	۰/۰۰۲۱
۳*X۱X	۱	۳/۴۳۲۲۰۰	۳/۴۳۲۲۰۰	۳۸/۲۴۴۲۴۰	۰/۰۰۰۱
۲*X۲X	۱	۱/۲۸۸۱۲۶	۱/۲۸۸۱۲۶	۱۴/۳۵۳۳۱۰	۰/۰۰۳۶
۳*X۲X	۱	۰/۳۲۸۰۵۰	۰/۳۲۸۰۵۰	۳/۶۵۵۳۸۸	۰/۰۸۴۹
۳*X۳X	۱	۰/۳۰۳۰۸۸	۰/۳۰۳۰۸۸	۳/۳۷۷۲۳۹	۰/۰۹۶۰
۱Model	۹	۹/۱۵۰۲۵۸	۱/۰۱۶۶۹۵	۱۱/۳۲۸۸۱۰	۰/۰۰۰۴
Linear	۳	۲/۱۴۷۶۸۲	۰/۷۱۵۸۹۴	۷/۹۷۷۰۴۹	۰/۰۰۵۲
Quadratic	۳	۱/۷۲۸۵۲۶	۰/۵۷۶۱۷۵	۶/۴۲۰۱۹۲	۰/۰۱۰۷
Cross produduct	۳	۵/۲۷۴۰۵۰	۱/۷۵۸۰۱۷	۱۹/۵۸۹۱۹۰	۰/۰۰۰۲
Error	۱۰	۰/۸۹۷۴۴۲	۰/۰۸۹۷۴۴		
Lack of fit	۵	۰/۷۶۲۳۵۹	۰/۱۵۲۴۷۲	۵/۶۴۳۶۲۰	۰/۰۴۰۳
Pure error	۵	۰/۱۳۵۰۸۳	۰/۲۷۰۱۷۰		
Total	۱۹	۱۰/۰۴۷۷۰۰			

DF: Degree of freedom; SS: Sum of squares; MS: Mean square; F: Index match

با توجه رویکرد امروزی و رو به گسترش متخصصان تغذیه در استفاده از ترکیبات غذایی عملگرا و فرا سودمند در سلامت انسان، اهمیت به کارگیری چنین روش‌هایی در تولید فراورده‌های غذایی فراسودمند برای استفاده هرچه بیشتر خواص سلامتی بخش آن‌ها مشخص می‌شود. تولید این گونه فراورده‌های غذایی نه تنها برای عموم افراد بلکه برای گروه‌های خاص بیماران توجیه‌پذیر است. به خصوص بیماری‌های مزمن و شایع مانند دیابت که نقش تغذیه و دریافت‌های غذایی خاص در کاهش و تخفیف اختلالات بیماری در آن‌ها به طور کامل مشخص شده است.

شاخصه اصلی یک محصول پروبیوتیک انتقال جمعیت مشخص و قابل توجهی از میکروارگانیسم پروبیوتیک به میزبان مصرف کننده است و هر عاملی که موجب تقلیل جمعیت از مقادیر استاندارد گردد، کاهش اثربخشی محصول و رد ادعای پروبیوتیکی آن را در پی خواهد داشت و منجر به کاهش جمعیت و حتی مرگ باکتری شاخص پروبیوتیک در آن محصول گردد.

مطالعات زیادی از بررسی بر هم‌کنش کشت آغازگر ماست با سوش‌های پروبیوتیکی تلقیح شده در ماست منتشر شده است. اکثر این مطالعات پدیده‌های بیش اسیدسازی و پس اسیدسازی را طی بر هم‌کنش کشت باکتری‌های آغازگر ماست، سوش پروبیوتیک و تأثیر آن بر جمعیت نهایی سوش پروبیوتیک را مورد نظر قرار داده‌اند. اغلب هدف از انجام چنین تحقیقاتی ارزیابی توانایی سوش‌های پروبیوتیکی جدید و انتخاب سوش‌های مقاوم و جدید پروبیوتیکی بوده است. Donkor و همکاران مشاهده کردند که گونه‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در دوره نگهداری ماست برخلاف کاهش قابل توجه pH پایداری خوبی داشت (۳۶). Martensson و همکاران در مشاهدات خود دریافتند که بقای زیستی گونه‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس روئتری، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس بیفیدیوباکتریوم تحت اثر باکتری‌های استارتر ماست و کاهش pH در طی ۳۰ روز کاهش پیدا می‌کند (۳۷).

میرلوحی و همکاران نشان دادند که زنده مانی لاکتوباسیلوس پلانتاروم A7 تحت تأثیر فعالیت سوش‌های آغازگر ماست با قدرت تولید اسید زیاد قرار نمی‌گیرد (۳۳). همچنین، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس با پروتئولیز کازئین و فراهم آوردن ازت آلی غیر پروتئینی رشد پروبیوتیک‌ها را تشدید می‌کند، اما در ادامه تخمیر با رشد سریع، اسیدسازی شدید، کاهش pH، تولید پراکسید هیدروژن و باکتریسین طی تخمیر و دوره نگهداری بر رشد و قابلیت بقای این باکتری‌ها اثر سوء می‌گذارد (۳۸). اگرچه مطالعات فوق در توجیه مکانیسم‌های آثار هم‌افزایی و بازدارندگی محیط تخمیر مؤثر است، بهینه‌سازی شرایط برای حفظ و تقویت سوش میکروبی به ندرت در این گونه مطالعات مورد توجه قرار گرفته است. با این حال، گروهی از مطالعات اخیر بهینه‌سازی شرایط تهیه ماست را برای افزودن ترکیبات محرک رشد باکتری پروبیوتیک بررسی کرده‌اند. برخی کاربرد روش سطح پاسخ و مدل مرکب مرکزی تأثیر دو متغیر سطح شیر خشک و عصاره مخمر را در حفظ و افزایش جمعیت نهایی بیفیدو باکتریوم سودو کاتنولاتوم بررسی کردند و نسبت‌های دقیقی از دو متغیر را برای حفظ بالاترین جمعیت این سویه گزارش نمودند (۳۹). در مطالعه‌ای دیگر، روش سطح پاسخ با مدل مرکب مرکزی برای بهینه‌سازی عوامل مختلف در شیر بلوط پروبیوتیک استفاده شد و سطوح بهینه گلوکز، فروکتوز اینولین و کشت استارتر برای حصول بالاترین جمعیت سویه پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رئوتری تعیین شد (۴۰).

www.mui.ac.ir

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2025-09-05]

در سال‌های اخیر توجه گروهی از محققان بر استفاده از اسانس‌های گیاهی و گیاهان سنتی در فرمولاسیون‌های پروبیوتیک معطوف شده است. به خصوص، سابقه ذهنی مثبت افراد جامعه از مصرف چنین فراورده‌هایی و نتایج تأیید کننده مطالعات بالینی مبنی بر اثربخش بودن مصرف آن‌ها به شکل مکمل، موجب تقویت فکر تولید محصولات پروبیوتیک متنوع مخلوط با چنین افزودنی‌هایی است. در همین رابطه، مطالعاتی در ارتباط با ارزیابی اثر افزودن آن‌ها بر فعالیت‌های کشت استارتر و لاکتیک اسید باکتری‌ها در محصولات لبنی تخمیری صورت گرفته است (۴۱). Kivanc و همکاران در مطالعه‌ای دریافتند که ادویه زیره در غلظت‌های اسانس ۰/۵، ۱ و ۲ درصد w/w باعث تحریک رشد لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لوکونوستوک مزنتروئیدس در محیط کشت مایع می‌شود. اسانس زیره سبز در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ درصد w/w باعث تحریک رشد لاکتوباسیلوس پلانتاروم و در غلظت‌های بالاتر (۳۰۰-۴۰۰ ppm) مانع رشد آن در طی ۶ روز می‌شود؛ درحالی که بعد از دوره مشخصی، رشد لوکونوستوک مزنتروئیدس در تمام غلظت‌ها مشاهده شد. همچنین، پونه و اسانس آن در تمام غلظت‌ها سبب کاهش رشد هر دو باکتری در هر دو محیط کشت می‌گردد (۴۲). در مطالعه دیگری اثر اسانس گیاهی سرسم (Mentha spicata) بر باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس روتری و بیفیدیوباکتریوم انیمالیس در کشت مایع صنعتی طی یک دوره ۲۰ روزه انبارمانی بررسی شد که نتایج حاصل از آن اثر بازدارندگی این اسانس را بر روی هر دو باکتری در غلظت‌های بالا نشان داد (۴۳).

در مطالعه محمودی استفاده همزمان اسانس زیره سبز و باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی باعث کاهش تعداد این باکتری‌ها در طی دوره نگهداری ماست شد (۴۱). مطالعات فوق اگرچه بر هم‌کنش اسانس‌های گیاهی از جمله اسانس زیره را بر سوش‌های پروبیوتیک بررسی، اما بهینه‌سازی شرایط برای جلوگیری از اثر بازدارندگی غلظت افزوده شده، مانند آن چه در مطالعه حاضر صورت گرفت، تاکنون گزارش نشده شده است. علاوه بر این، بررسی منابع نشان می‌دهد که تاکنون افزودن اثر ویتامین D_3 بر سوش‌های پروبیوتیکی اطلاعاتی منتشر نشده است و مطالعه حاضر اولین گزارش در این مورد بود.

با توجه به اقدامات قبلی صورت گرفته در ایران، استفاده از ماست حاوی پروبیوتیک یا ماست حاوی ویتامین D_3 برای بیماران دیابتی جنبه منطقی در تولید ماست مخصوص این بیماران را توجیه می‌نماید. علاوه بر این، استفاده از اسانس زیره سبز می‌تواند موجب تقویت آثار فراورده نهایی گردد.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که تولید ماست فراسودمند با کاربرد سوش پروبیوتیک بومی، غلظت قابل توجهی از ویتامین D_3 که معادل میزان توصیه شده روزانه است و غلظتی از اسانس زیره سبز که در مطالعات از آن آثار سلامتی بخش مشاهده شده است، قابل تهیه و عرضه به بازار است. استفاده از روش سطح پاسخ در تهیه و بهینه‌سازی فرمولاسیون‌های مشابه توصیه می‌شود..

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مرکز تحقیقات امنیت غذایی در دانشکده تغذیه و علوم غذایی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، در قالب طرح تحقیقاتی مصوب با کد ۲۷۵۰ انجام شد.

References

1. Siro I, Kapolna E, Kapolna B, Lugasi A. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance-a review. Appetite 2008; 51(3): 456-67.
2. Mohamadshahi M, Veissi M, Haidari F, Javid AZ, Mohammadi F, Shirbeigi E. Effects of probiotic yogurt consumption on lipid profile in type 2 diabetic patients: A randomized controlled clinical trial. J Res Med Sci 2014; 19(6): 531-6.
3. Ejtahed HS, Mohtadi-Nia J, Homayouni-Rad A, Niafar M, Asghari-Jafarabadi M, Mofid V, et al. Effect of probiotic yogurt containing Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium lactis on lipid profile in individuals with type 2 diabetes mellitus. J Dairy Sci 2011; 94(7): 3288-94.
4. Yadav H, Jain S, Sinha PR. Antidiabetic effect of probiotic dahi containing Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus casei in high fructose fed rats. Nutrition 2007; 23(1): 62-8.
5. Ju HE, Han JS. Hypoglycemic effect of fermented soymilk added with bokbunja (Rubus coreanus Miquel) in diabetic mice. Food Sci Biotechnol 2010; 19(4): 1041-6.
6. Ejtahed HS, Mohtadi-Nia J, Homayouni-Rad A, Niafar M, Asghari-Jafarabadi M, Mofid V. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. Nutrition 2012; 28(5): 539-43.
7. Ozcan U, Yilmaz E, Ozcan L, Furuhashi M, Vaillancourt E, Smith RO, et al. Chemical chaperones reduce ER stress and restore glucose homeostasis in a mouse model of type 2 diabetes. Science 2006; 313(5790): 1137-40.
8. Srinivasan K. Plant foods in the management of diabetes mellitus: spices as beneficial antidiabetic food adjuncts. Int J Food Sci Nutr 2005; 56(6): 399-414.
9. Platel K, Srinivasan K. Plant foods in the management of diabetes mellitus: vegetables as potential hypoglycaemic agents. Nahrung 1997; 41(2): 68-74.
10. Kwon DY, Daily JW, III, Kim HJ, Park S. Antidiabetic effects of fermented soybean products on type 2 diabetes. Nutr Res 2010; 30(1): 1-13.
11. Luong K, Nguyen LT, Nguyen DN. The role of vitamin D in protecting type 1 diabetes mellitus. Diabetes Metab Res Rev 2005; 21(4): 338-46.
12. Mathieu C, Gysemans C, Giulietti A, Bouillon R. Vitamin D and diabetes. Diabetologia 2005; 48(7): 1247-57.
13. Hypponen E, Laara E, Reunanen A, Jarvelin MR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. Lancet 2001; 358(9292): 1500-3.

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2025-09-05]

14. Sugden JA, Davies JI, Witham MD, Morris AD, Struthers AD. Vitamin D improves endothelial function in patients with Type 2 diabetes mellitus and low vitamin D levels. Diabet Med 2008; 25(3): 320-5.
15. Pittas AG, Dawson-Hughes B, Li T, Van Dam RM, Willett WC, Manson JE, et al. Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. Diabetes Care 2006; 29(3): 650-6.
16. Borissova AM, Tankova T, Kirilov G, Dakovska L, Kovacheva R. The effect of vitamin D3 on insulin secretion and peripheral insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. Int J Clin Pract 2003; 57(4): 258-61.
17. Mitri J, Muraru MD, Pittas AG. Vitamin D and type 2 diabetes: a systematic review. Eur J Clin Nutr 2011; 65(9): 1005-15.
18. Vitamin D supplement in early childhood and risk for Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. The Eurodiab Substudy 2 Study Group. Diabetologia 1999; 42(1): 51-4.
19. Willatgamuwa SA, Platel K, Saraswathi G, Srinivasan K. Antidiabetic influence of dietary cumin seeds (Cuminum cyminum) in streptozotocin induced diabetic rats. Nutr Res 1998; 18(1): 131-42.
20. Dhandapani S, Subramanian VR, Rajagopal S, Namasivayam N. Hypolipidemic effect of Cuminum cyminum L. on alloxan-induced diabetic rats. Pharmacol Res 2002; 46(3): 251-5.
21. Jagtap AG, Patil PB. Antihyperglycemic activity and inhibition of advanced glycation end product formation by Cuminum cyminum in streptozotocin induced diabetic rats. Food Chem Toxicol 2010; 48(8-9): 2030-6.
22. Mohiti Ardekani J, Akbarian Z, Nazarian A. Effects of cumin(Cuminum Cyminum L) Oil on serum glucose and lipid levels of rats. J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci 2011; 19(3): 388-97. [In Persian].
23. Haghirossadat F, Bernard F, Kalantar M, Sheikhha M, Hokmollahi F, Azimzadeh M, et al. Bunium Persicum(Black Caraway) of Yazd province: Chemical assessment and Evaluation of its Antioxidant Effects. J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci 2010; 18(3): 284-91. [In Persian].
24. Gachkar L, Yadegari D, Rezaei MB, Taghizadeh M, Astaneh SA, Rasooli I. Chemical and biological characteristics of Cuminum cyminum and Rosmarinus officinalis essential oils. Food Chem 2007; 102(3): 898-904.
25. Johri RK. Cuminum cyminum and Carum carvi: An update. Pharmacogn Rev 2011; 5(9): 63-72.
26. Larijani B, Esfahani MM, Moghimi M, Shams Ardakani MR, Keshavarz M, Kordafshari G, et al. Prevention and Treatment of Flatulence From a Traditional Persian Medicine Perspective. Iran Red Crescent Med J 2016; 18(4): e23664.
27. Clark PA, Martin JH. Selection of bifidobacteria for use as dietary adjuncts in cultured dairy foods. III. Tolerance to simulated bile concentrations of human small intestines. Cultured Dairy Products Journal 1994; 29(3): 18.
28. Klaver FA, Kingma F, Weerkamp AH. Growth and survival of bifidobacteria in milk. Neth Milk Dairy J 1993; 47: 151-64.
29. Gilliland SE, Speck ML. Antagonistic Action of Lactobacillus acidophilus Toward Intestinal and Foodborne Pathogens in Associative Cultures. J Food Prot 1977; (12): 820-3.
30. Lourens-Hattingh A, Viljoen BC. Yogurt as probiotic carrier food. Int Dairy J 2001; 11(12): 1-17.
31. Khuri Ai, Mukhopadhyay S. Response surface methodology, Advanced Review. Comput Stat 2010; 0(2): 128-49.
32. Fazeli H, Sameti A. Antimicrobial of lactic probiotics isolated from the intestinal flora of children against common gastrointestinal pathogens. Iran J Infect Dis 2008; 13(42): 25-30.
33. Mirlohi M, Soleimanian-Zad MS, Dokhani S, Sheikh-Zeinodin M. Microbial and physiochemical changes in yoghurts containing different Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus strains in association with Lactobacillus plantarum as an adjunct culture. Int J Dairy Technol 2014; 67(2): 246-54.
34. Fazeli H, Moshtaghian J, Mirlohi M, Shirzad M. Reduction in serum lipid parameters by incorporation of a native strain of Lactobacillus Plantarum A7 in Mice. Journal of Diabetes and Metabolic Disorders 2010; 9: 22.
35. Mirelahi M, Soleymanianzad S, Dokhani Sh, Sheykh Zeyn Aldin M, Abghari A. Investigation of acid and bile tolerance of native lactobacilli isolated from fecal samples and commercial probiotics by growth and survival studies. Iranian Journal of Biotechnology 2009; 7(4): 233-40.
36. Donkor ON, Henriksson A, Vasiljevic T, Shah NP. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. Int Dairy J 2006; 16(10): 1181-9.
37. Martensson O, Oste R, Holst O. The effect of yoghurt culture on the survival of probiotic bacteria in oat-based, non-dairy products. Food Res Int 2002; 35(8): 775-84.
38. Kailasapathy K, Rybka S. Acidophilus and bifidobacterium spp: their therapeutic potential and survival in yogurt. Australian Journal of Dairy Technology 1997; 52(1): 28-35.
39. Stephenie W, Kabeir BM, Shuhaimi M, Rosfarizan AM. Growth optimization of a probiotic candidate,Bifidobacterium pseudocatenulatum G4, in milk medium using response surface methodology. Biotechnol Bioprocess Eng 2007; 12(2): 106-13.
40. Bernat N, Chafer M, Gonzalez-Martinez C, Rodriguez-Garcia J, Chiralt A. Optimisation of oat milk formulation to obtain fermented derivatives by using probiotic Lactobacillus reuteri microorganisms. Food Sci Technol Int 2015; 21(2): 145-57.
41. Mahmoudi R. Improvement the hygienic quality and organoleptic properties of bioyoghurt using Cuminum cyminum L. essential oil. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies 2013; 19(4): 405-12.
42. Kivanc M, Akgul A, Dogan A. Inhibitory and stimulatory effects of cumin, oregano and their essential oils on growth and acid production of Lactobacillus plantarum and Leuconostoc mesenteroides. Int J Food Microbiol 1991; 13(1): 81-5.
43. Seyedyousefi L, Golestan L, Kaboosi H. Inhibitory effect of essential oil of Mentha spicata on the viability of probiotic bacteria in industrial liquid Kashk. Journal of Innovation in Food Science and Technology 2013; 5(3): 13-22. [In Persian].

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2025-09-05]

Journal of Health System Research
Vol. 12, No. 3, Autumn 2016
Received: 17.01.2016
Accepted: 03.06.2016

The Effect of Different Concentrations of Vitamin D_3, Cuminum Cyminum Essential Oil, and Fermentation Time Using Response Surface Methodology on the Optimization of Probiotic Yogurt

Samaneh Shojaiemeher[1], Mina Babashahi[1], Maryam Mirlohi[2]

Original Article

Abstract

Background: In recent years, the functional benefits of probiotics, vitamin D_3, and Cuminum cyminum essential oil have been separately considered in diabetes management. In this study, production of probiotic yogurt containing different concentrations of vitamin D3 and C. cyminum essential oil through applying different fermentation times was investigated in order to develop a new probiotic product with the highest probiotic bacterial cell count which was added through response surface methodology (RSM). The ultimate goal of the study was the production of a probiotic product with additional health benefits for diabetes patients.

Methods: RSM with central composite rotatable design was used to analyze the effect of different factors (essential oil extract, vitamin D3, and fermentation time) on the population of Lactobacillus plantarum A7 probiotic strain in the product. C. cyminum essential oil concentrations of 0.01, 0.02, 0.03, and 0.05%, vitamin D_3 concentrations of 20, 40, 400, 1000, and 2000 IU/100ml, and fermentation time of 3 6, 9, 12, and 24 hours were considered as the variables of the study. According to the model used, 15 experimental designs were determined in 20 replications and the results were analyzed using Statistical Analysis System (SAS) software. The effect of each factor was considered significant at $P < 0.05$.

Findings: The interactive effect of C. cyminum essential oil and fermentation time was the most significant effect, followed by the interactive effect of C. cyminum essential oil and vitamin D_3, and vitamin D_3 with power of 2 and D3 with power of 1 on the maximum bacterial strain growth rate, respectively. C. cyminum essential oil with a power of 1 and time power of 1 had a minor effect on bacterial growth rate. Optimized conditions for production of a probiotic with highest possible probiotic strain were obtained for the median level of all three variables.

Conclusion: The probiotic yogurt formula optimized with vitamin D3 and C. cyminum essential oil allows probiotic survival of 10^7 cfu/ml. This product can be considered as a functional food for individuals with diabetes

Keywords: Probiotic yogurt, Cuminum cyminum, Vitamin D_3, Response surface methodology

Citation: Shojaiemeher S, Babashahi M, Mirlohi M. **The Effect of Different Concentrations of Vitamin D_3, Cuminum Cyminum Essential Oil, and Fermentation Time Using Response Surface Methodology on the Optimization of Probiotic Yogurt.** J Health Syst Res 2016; 12(3): 315-22.

1- Department of Food Safety and Hygiene, Food Security Research Center AND Department of Food Science and Technology, School of Nutrition and Food Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Associate Professor, Food Security Research Center AND Department of Food Science and Technology, School of Nutrition and Food Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Maryam Mirlohi, Email: m_mirlohi@hlth.mui.ac.ir

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2025-09-05]