

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



# چالشها و جنبه های کلیدی اساسی در تولید فرآورده های لبنی پروبیوتیک

وحید مفید ، علی اکبریان

- امروزه بویژه در کشورهای توسعه یافته نظیر اتحادیه اروپا ، یکی از معیارهایی که در انتخاب غذا بیشتر مد نظر قرار می گیرد ویژگی سلامتی آن است و این روند که مردم مایلند سلامتی خود را از طریق غذاهایی که می خورند مدیریت کنند روز به روز و به طور پیوسته در حال گسترش است .
- نتیجه چنین تفکری این است که تعداد و تنوع غذاهایی که به نوعی حامل پیام سلامتی هستند (Functional Foods) در بازار روبه افزایش باشد.
- در چنین شرایطی وظیفه صنعت تامین بیشتر رضایت و خواسته مشتریان با تولید محصولات سلامتی بخش متنوع و با کیفیت برای اغنای هر سلیقه و ذائقه ایست.

## مقدمه

- تولید این محصولات دارای دانش فنی و حساسیتهای خاص خود می باشد.
- محصولات فراسودمند تولیدی می بایست:
- - الزامات قانونی نظیر حداقل دوز یا در مورد پروبیوتیکها حداقل زنده ماننی باکتریها را تامین نمایند
- - تامین کننده خواست مشتریان در زمینه های مطلوبیتهای ذائقه ای و نیز اثرات سلامتی بخش باشند که بعضا اینها با هم در تضادند

به عنوان مثال دوز بالای پروبیوتیکها ممکن است منجر  
به عطر و طعم نامطلوب فرآورده گردد که می بایست  
این موضوع مدیریت شده و مرتفع گردد .



## مقدمه

■ در اروپا بازار محصولات فراسودمند در سیطره محصولات مربوط به سلامتی دستگاه گوارش و روده ، بویژه پروبیوتیکهاست ( میکروارگانیسمهای زنده ای که در صورت مصرف به مقدار کافی اثرات سلامتی بخش بر میزبان خود دارند) .

■ در ایران نیز اولین محصول پروبیوتیک تولیدی ماست پروبیوتیک بود که شاید به عنوان اولین محصول زمان و انرژی زیادی هم به لحاظ تحقیقاتی وهم به لحاظ بازاریابی و بازاریابی مصرف خود کرد .

■ به طور کلی تولید کیفی محصولات غذایی پروبیوتیک و به طور اخص محصولات لبنی تخمیری و غیر تخمیری پروبیوتیک بواسطه حساسیتهای خاص این میکروارگانیسمها با چالشهایی مواجه است که سعی می شود در اینجا به طور مختصر مورد بحث قرار گیرد.

# چالشها و موارد مرتبط با تولید

■ سویه پروبیوتیک

■ ماتریکس و خصوصیات ذاتی فرآورده لبنی

■ فرمولاسیون

■ فرآیند

■ بسته بندی

■ دوره رسیدن

■ دوره نگهداری

## سویه پروبیوتیک

- صنعت غذا برای موفقیت در ترغیب مصرف کنندگان به مصرف این گونه غذاها مجبور است نیازها و خواسته های مصرف کنندگان را برآورده نماید .
- مصرف کنندگان انتظار دارند که محصولات غذایی پروبیوتیک ضمن داشتن اثرات سلامتی بخش ، ایمن بوده و از طعم و مزه خوبی برخوردار باشند .
- غذاهای پروبیوتیک می بایست در طول زمان نگهداری حاوی میزان مناسب از یک سویه خاص پروبیوتیک باشند .
- برخی گزارشات و مقالات نشان می دهند که زنده مانی پروبیوتیکها همیشه مناسب نبوده و بعضا با چالش روبرو بوده است که با دقت در انتخاب سویه پروبیوتیک و بعضا تغییرات در فرایند قابل حل می باشد.

## سویه پروبیوتیک

■ پایه های تئوری انتخاب میکروارگانیسمهای پروبیوتیک نیز براساس همین موارد و نیازها بوده و شامل سه جنبه

❖ ایمنی

❖ عملکردی

❖ تکنولوژیکی

می باشد.



## سویه پروبیوتیک

جنبه های ایمنی :

که البته موضوع اصلی این مقاله نیست اما شامل مواردی نظیر غیر بیماریزا بودن ، عدم سابقه همراهی با ناراحتی های سیستم گوارش ، منشا انسانی داشتن (برای مصارف انسانی) و ... بوده و به طور کاملتر می تواند در مقالات مروری مربوط به معیارهای ایمنی پروبیوتیکها دنبال بشود.

## سویه پروبیوتیک

جنبه های عملکردی :

خصوصیات عملکردی شامل مواردی نظیر

- مقاومت به اسید و شیره معدی انسان
- مقاومت به نمکهای صفراوی
- اتصال به سطوح اپیتلیال
- تحریک سیستم ایمنی
- فعالیت آنتاگونیستی علیه پاتوژنها
- و خصوصیات آنتی موتاژنیک و آنتی کارسینوژنیک

بوده که در هنگام انتخاب یک سویه پروبیوتیک معمولاً مد نظر قرار می گیرد .

## سویه پروبیوتیک

### جنبه های تکنولوژیکی

■ جنبه های مربوط به تولید و فرآوری نیز همانند جنبه های مربوط به ایمنی و عملکرد پروبیوتیکها از اهمیت ویژه ای برخوردار است. حتی در صورتیکه یک سویه پروبیوتیک تمام معیارهای ایمنی و عملکردی را داشته باشد تا زمانیکه نتوان آن را تولید و به صورت صنعتی مورد استفاده قرار داد برای مصرف کنندگان مثر ثمر نخواهد بود.

■ جنبه های تکنولوژیکی که در انتخاب پروبیوتیکها مد نظر قرار می گیرد به طور کلی شامل مواردی نظیر

❖ خصوصیات حسی خوب

❖ مقاومت به فاژ

❖ زنده مانی در حین فرآیند و بقا و پایداری در محصول بویژه در هنگام نگهداری است

## سویه پروبیوتیک

### جنبه های تکنولوژیکی

- زنده مانی و فعالیت خوب پروبیوتیکها به عنوان یک پیشنهاد برای عملکرد بهینه آنها محسوب می شود گرچه برخی مطالعات نشان داده اند که پروبیوتیکهای غیر زنده **non-viable** هم می توانند اثرات مفیدی در میزبان داشته باشند .
- اینکه یک سویه پروبیوتیک به طور صنعتی (در مراکز تولید کالچر) قابل تولید بوده و نیز بتواند زنده مانی و خصوصیات عملکردیش را به شکل کالچر لیوفیلیزه یا منجمد و نیز در محصول غذایی که نهایتا به آن افزوده می شود حفظ نماید از اهمیت بسزایی برخوردار است .

## سویه پروبیوتیک

### جنبه های تکنولوژیکی

■ اکثر تولیدکنندگان پیشرو در صنعت استارتر کالچر امروزه قادر به تولید تجاری کالچر پروبیوتیکها هستند. این کالچرهای تجاری می توانند به صورت تک سویه یا مرکب از چند سویه مختلف پروبیوتیک باشند. در هر صورت لازم است اطلاعات خاص هر سویه جهت بهینه سازی فرایند در دسترس باشد.

■ اکثر کالچرهای تجاری پروبیوتیکها به شکل تغلیظ شده تهیه شده و به صورت مستقیم یا **DVS (directvat set)** قابل استفاده هستند. به دلیل مشکلاتی که در تکثیر میکروارگانیسمهای پروبیوتیک در سایتهای تولیدی وجود دارد مصرف کالچرهای پروبیوتیک بیشتر به همین صورت **DVS** است.

## سویه پروبیوتیک

### جنبه های تکنولوژیکی

■ در دنیا کالچرهای **DVS** به دو شکل

❖ کالچرهای منجمد و

❖ کالچرهای لیوفیلیزه

وجود داشته و مورد استفاده قرار می گیرند اما در ایران عمدتاً کالچرهای لیوفیلیزه مورد استفاده هستند.

■ به دلیل حساسیت بالای این کالچرها ، بسته بندی آنها می بایست با گاز پر شده و نسبت به نور نفوذ ناپذیر باشد تا کالچرها را در مقابل نور و رطوبت محافظت نماید. به همین منظور اغلب از پوچها یا ساشه های واجد لایه آلو-فویل استفاده می شود .

## سویه پروبیوتیک

### جنبه های تکنولوژیکی

- از آنجائیکه این کالچرها بسیار حساس هستند ، نگهداری و جابجایی آنها می بایست مطابق دستورالعمل های سازندگان صورت بگیرد.
- معمولا کالچرهای منجمد حاوی بیش از  $10^{10}$  cfu/g باکتری و کالچرهای لیوفیلیزه حاوی بیشتر از  $10^{11}$  cfu/g سلوی باکتریایی هستند . غلظت سلولی در هر گرم از محصول بسته به نوع کالچر و نوع ارگانسمی که استفاده می شود می تواند متغییر باشد.
- تلقیح مستقیم محصولات لبنی با یک کالچر منجمد که حاوی  $10^{11}$  cfu/g\* 10-15 باکتری زنده باشد به نسبت 05-1 mg/L از شیر توصیه می شود .

## سویه پروبیوتیک

### جنبه های تکنولوژیکی

■ در محصولات پروبیوتیک تخمیری مهم است که ویژگیهای حسی فرآورده خوب باقی بماند. به همین لحاظ به طور معمول باکتریهای پروبیوتیک همراه با سایر انواع باکتریهایی که برای تخمیر آن فرآورده خاص مناسب هستند مورد استفاده قرار می گیرند.

■ برای محصولاتیکه پایه شیری دارند **milk-based products** سویه های پروبیوتیکها اغلب با *S. thermophilus* و *L. delbrueckii* جهت دستیابی به طعم و بافت مناسب همراه می شوند.



## سویه پروبیوتیک

### جنبه های تکنولوژیکی

- از آنجائیکه محیط داخلی روده با محیط غذا کاملا متفاوت است لذا پروبیوتیکها در اغلب موارد استارترهای خوبی نیستند .
- سرعت رشد آنها ممکن است بسیار کند بوده و ممکن است ایجاد بوهای نامطلوب **off-flavours** بنمایند .
- برای رفع این مشکل پیشنهادات مختلفی توسط محققین ارائه شده است

## سویه پروبیوتیک

### جنبه های تکنولوژیکی

■ به عنوان مثال یک پیشنهاد می تواند تغییر شرایط فرآوری و یا اضافه کردن موادی به غذا جهت بهبود شرایط محیطی آن به عنوان سوبسترای پروبیوتیکها باشد. که می تواند شامل موارد مختلفی نظیر افزودن منبع انرژی (نظیر گلوکز) ، فاکتورهای رشد ( نظیر عصاره مخمر و هیدرولیزات پروتئین ) ، ویتامینها ، املاح و یا آنتی اکسیدانهای مناسب باشد. اما معمولا با وجود چنین راهکارهایی گرچه کارآیی پروبیوتیکها به عنوان استارتر بهتر می گردد اما این افزایش کارآیی کافی نیست.

■ استفاده از یک استارتر کمکی علاوه بر پروبیوتیکها راهکار دیگری است که البته معمولا مشکل را حل می نماید

## سویه پروبیوتیک

### جنبه های تکنولوژیکی

- هنگامیکه هدف تولید یک محصول پروبیوتیک تخمیری است معمولاً دمای تخمیر **37-43°C** جهت انجام تخمیر توصیه می شود چراکه در این دامنه دمایی اغلب سویه های پروبیوتیک می توانند به خوبی رشد داشته باشند .
- سویه های پروبیوتیک می توانند جزئی از خود استارتر بوده که در این صورت به صورت همزیست با سایر سویه های موجود در داخل استارتر می بایست بتوانند رشد نمایند .

## سویه پروبیوتیک

### جنبه های تکنولوژیکی

- در برخی محصولات خاص شیری نظیر محصولات شیرین **sweet products** نیز پروبیوتیکها به گونه ای به محصول اضافه می شوند که ضمن حفظ زنده مانی بوسیله سرد نگه داشتن از تکثیر آنها جلوگیری شود .
- متابولیسم پروبیوتیکها نیز از نکات شایان توجه در تولید فراورده تخمیری پروبیوتیک است . برای مثال ، لاکتوباسیلهای هتروفرمنتاتیو که **CO2** به عنوان متابولیت تولید میکنند در مواردیکه تولید گاز اثر منفی روی کیفیت فراورده دارد مناسب نیستند .

## سویه پروبیوتیک

جنبه های تکنولوژیکی / اثرات متقابل پروبیوتیکها و باکتریهای استارتر

- اثرات متقابل باکتریهای استارتر و پروبیوتیکها ممکن است روی کیفیت محصول تاثیر بگذارد.
- مطالعات نشان داده اند که می توان با استفاده همزمان از ارگانوسمهای پروبیوتیک و استارتر ، محصولات لبنی تخمیری بسیار عالی از نظر خصوصیات حسی و نیز بقا باکتریهای پروبیوتیک تولید کرد.
- حتی اگر برخی اثرات متقابل منفی بین آنها مشاهده شود به نظر می رسد که بتوان از بین استارترهای موجود یک استارتر مناسب برای هر سویه پروبیوتیک خاص پیدا کرد.

## سویه پروبیوتیک

جنبه های تکنولوژیکی / اثرات متقابل پروبیوتیکها و باکتریهای استارتر

- که مناسب ترین ترکیب استارتری برای هر میکروارگانیزم پروبیوتیک می بایست از طریق یک فرآیند غربالگری که اثر استارترهای مختلف را روی خصوصیات حسی و بقا سویه های پروبیوتیک بررسی می نماید مشخص گردد.
- در این فرایند غربالگری می بایست چند اصل کلی را مد نظر قرار داد:
- در صورت امکان پروبیوتیک مورد نظر بتواند در طی تخمیر رشد نماید که این موضوع دو مزیت خواهد داشت اول اینکه در هنگام تخمیر تعداد باکتریهای پروبیوتیک افزایش می یابد که نتیجه آن کاهش هزینه تولید است و دوم اینکه باکتریهای پروبیوتیک بیشتر با محیط غذا آداپته و سازگار می شوند

## سویه پروبیوتیک

جنبه های تکنولوژیکی / اثرات متقابل پروبیوتیکها و باکتریهای استارتر

- از آنجائیکه اکثر باکتریهای پروبیوتیک در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  خوب رشد می نماید لذا استارترهای ترموفیل نسبت به مزوفیل ها ارجحیت دارند.
- نرخ رشد استارتر می بایست متوسط بوده تا اجازه رشد باکتریهای پروبیوتیک را بدهد.
- قبل یا همزمان با باکتریهای استارتر به غذا اضافه شوند زیرا افزودن پروبیوتیکها بعد از تخمیر نه تنها اجازه رشد به آنها را نمی دهد بلکه ممکن است باعث کاهش زنده مانی آنها در طی نگهداری بشود .

## سویه پروبیوتیک

جنبه های تکنولوژیکی / اثرات متقابل پروبیوتیکها و باکتریهای استارتر

■ باکتریهای استارتر ممکن است بوسیله تولید ترکیبات مورد نیاز برای رشد پروبیوتیکها یا کاهش فشار اکسیژن باعث بهبود شرایط رشد پروبیوتیکها بشوند. بیفیدوباکترها کاملاً به اکسیژن حساسند اما با انتخاب سویه های خاص *S. thermophilus* که مصرف اکسیژن بالایی دارند امکان افزایش بقای آنها وجود دارد.

■ یا سویه هایی از *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* ممکن است بوسیله فعالیت پروتئولیتیکی خود که نتیجه آن افزایش میزان دسترسی به والین ، گلايسين و هیستیدین و .. می باشد باعث افزایش رشد بیفیدوباکترها بشوند.



## سویه پروبیوتیک

جنبه های تکنولوژیکی / اثرات متقابل پروبیوتیکها و باکتریهای استارتر

- در انتخاب استارتر مناسب اثرات منفی آنها روی زنده ماننی پروبیوتیکها نیز می بایست مد نظر قرار گیرد.
- زنده ماننی باکتریهای پروبیوتیک ممکن است بوسیله متابولیت هائیکه توسط استارترها تولید می شوند نظیر اسید لاکتیک ، پراکسید هیدروژن و باکتریوسین ها تحت تاثیر قرار بگیرد. به عنوان مثال *L. delbrueckii subsp. Bulgaricus* که جزئی از استارتر ماست به حساب می آید حتی بعد از تخمیر و در هنگام نگهداری در شرایط سردخانه ای D-اسید لاکتیک تولید می کند اما خوشبختانه اثر D-لاکتات روی پروبیوتیکها از یک سویه به سویه دیگر متفاوت است .

## سویه پروبیوتیک

جنبه های تکنولوژیکی / اثرات متقابل پروبیوتیکها و باکتریهای استارتر

- بعضی از محققین نشان داده اند که سویه های بیفیدوباکتر در حضور کالچرهای ماست نمی توانند رشد نمایند اما با انتخاب ترکیب مناسب سویه های استارتر و پروبیوتیک می توان از افت شمارش سلولی بیفیدوباکترها جلوگیری نمود.
- به نظر می رسد که استارترهای حاوی فقط *S. thermophilus* برای پروبیوتیکهای حساس به اسید و pH پایین عملکرد بهتری داشته باشند. چراکه اینها اسید کمتری هم در تولید و هم در طی نگهداری تولید می نمایند.

## ماتریکس و خصوصیات ذاتی فرآورده لبنی

- بیفیدوباکترها و لاکتوباسیلها در شرایط روده ای انسان بقا و رشد خوبی دارند. در روده کوچک و کولون pH معمولاً نزدیک به خنثی، دما ثابت ( $37-39^{\circ}\text{C}$ )، اکسیژن کم و یک منبع مغذی ترکیبی همیشه در دسترس است.
- این شرایط نسبت به آن چیزی که در ماتریکس غذا **food matrices** و شرایط فرآوری غذا یافت می شود بسیار متفاوت است.
- با این وجود باکتریها توانایی خوبی برای بقا در محیط های مختلف داشته و پروبیوتیکها نیز تا یک حدی، در شرایط محیطی غذا زنده باقی می مانند.

## ماتریکس و خصوصیات ذاتی فرآورده لبنی

- با این وصف ، اولین گام در تولید فرآورده پروبیوتیک تعیین میزان سازگاری میان سویه پروبیوتیک و شرایط محیطی است که در آن قرار می گیرد.
- بنابراین در هنگام توسعه محصولات جدید پروبیوتیک ممکن است نیازمند انجام تحقیقات باشیم تا مطمئن شویم که سویه انتخاب شده:
- قادر است به خوبی در محیط غذا بقا داشته باشد ،
- خصوصیات تکنولوژیک خوبی را نشان دهد (مثلا توانایی تولید اسید در هنگام تخمیر ، در صورت نیاز)
- و مهمتر اینکه سویه اضافه شده روی بو ، مزه و بافت فرآورده تاثیر منفی نگذارد.

# ماتریکس و خصوصیات ذاتی فرآورده لبنی

## ماتریکس غذا

- بافت و ماتریکس غذا خود ممکن است اثر محافظت کنندگی روی باکتریهای پروبیوتیک داشته باشد.
- یک مثال بارز آن پنیر است . پنیر به دلیل میزان چربی بالا ، خاصیت بافبری و محیط بی هوازی تر ماتریکس آن ، به حفاظت از باکتریهای پروبیوتیک هم در محصول و هم در هنگام عبور از دستگاه گوارش کمک می نماید.

# ماتریکس و خصوصیات ذاتی فرآورده لبنی

## pH و اسیدیته

- گرچه لاکتوباسیلها و بیفیدوباکترها خود تولید کننده اسیدهای ارگانیک بواسطه متابولیسم کربوهیدراتها هستند اما با این وجود اسیدیته و pH یکی از مهمترین فاکتورهای موثر در بقا آنها محسوب می شود.
- همانطوریکه اشاره شده pH بهینه برای رشد این باکتریها بویژه بیفیدوباکترها نزدیک pH خنثی است (بیفیدوباکترها ۶/۵-۷ و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ۵/۵-۶).
- بیفیدوباکترها به اندازه لاکتوباسیلها نسبت به اسید مقاوم نبوده و بقا اکثر سویه های آنها در محصولات تخمیری دارای pH کمتر از ۴/۶ ضعیف است.

# ماتریکس و خصوصیات ذاتی فرآورده لبنی

## pH و اسیدیته

- در عمل می بایست در استفاده از اکثر سویه های بیفیدوباکترها pH فرآورده بالاتر از ۴/۶ باشد در غیر این صورت جمعیت آنها در طی نگهداری با سرعت کاهش خواهد داشت.
- البته این موضوع وابسته به سویه بوده و برخی سویه ها نیز وجود دارند که مقاومت اسید بهتری داشته و در غذاهای اسیدی تر قابل استفاده هستند.
- (نظیر *B. animalis* subsp. *Lactis* که نسبت به سویه های انسانی مقاومت به اسید بهتری دارند)

# ماتریکس و خصوصیات ذاتی فرآورده لبنی

## فعالیت آب Water Activity

- در محصولات خشک و پودری، فعالیت آب یکی از فاکتورهای کلیدی موثر در بقا باکترهای پروبیوتیک در هنگام نگهداری است.
- به طور کلی با افزایش رطوبت و فعالیت آب در این فراورده ها میزان بقا باکتریهای پروبیوتیک کاهش می یابد.
- در فراورده های خشک، پروبیوتیکها در دوره های نگهداری طولانی (مثلا یک سال یا حتی بیشتر) در دمای معمولی قادر به حفظ بقا هستند مشروط به اینکه امکان حفظ رطوبت غذا در سطوح پایین (حداقل فعالیت آب زیر ۰/۲ - ۰/۳) میسر باشد.



# ماتریکس و خصوصیات ذاتی فرآورده لبنی

## فعالیت آب Water Activity

- بعضاً به لحاظ تکنولوژیکی محدودیتهای در کاهش فعالیت آب تا این سطوح بسیار پایین وجود دارد که مواردی نظیر هزینه و انرژی مورد نیاز، تاثیر منفی روی خصوصیات حسی و خصوصیات حل شوندگی پودر تولیدی از آن جمله هستند.
- راه‌های دیگری نظیر میکروانکپسولاسیون و یا استفاده از بسته‌بندیهای بهتر به لحاظ خاصیت نفوذ پذیری نسبت به رطوبت نیز وجود دارد که می‌تواند منجر به بهبود بقا باکتریهای پروبیوتیک گردد.

## نمک

■ نمک یکی از اینگر دینتهای است که در برخی فرآورده با اهداف مشخصی استفاده می شود. به عنوان مثال نمک در پنیر یک اثر کاملاً مشخص روی بهبود طعم فرآورده داشته و همچنین واکنشهای بیوشیمیایی که منجر به عطر و طعم در طی نگهداری می شوند را کنترل می کند.

■ اما در سطوح خاصی از نمک، فعالیت و بقا باکتریها بسته به سویه آنها محدود می شود. بنابراین لازم است یا از سویه مقاومتر استفاده کرد و یا اینکه راهکارهایی را استفاده کرد که ضامن حفظ بقا پروبیوتیکها باشد. در این رابطه راهکارهای مختلفی نظیر میکروانکپسولاسیون و یا قرار دادن پروبیوتیکها در شرایط **Sub-lathal** برای افزایش مقاومت آنها قابل طرح است.

## فرمولاسیون

### نمک

- میکروانکپسولاسیون راه حل جالبی است که در برخی مواردی که استفاده شده منجر به بهبود بقا باکترهای پروبیوتیک شده ضمن اینکه تاثیر منفی روی بافت، طعم و مزه، بو و پذیرش محصول از طرف مصرف کننده نداشته است.
- در بعضی مواقع جهت کاهش نمک  $\text{NaCl}$  از نمک  $\text{KCl}$  استفاده می شود. نشان داده شده است که  $\text{KCl}$  خاصیت ممانعت کنندگی کمتری نسبت به  $\text{NaCl}$  دارد.
- همچنین به نظر میرسد که باکتریهای استارتر حساسیت بیشتری در مقایسه با پروبیوتیکها نسبت به نمک داشته باشند. به علاوه در بین پروبیوتیکها نیز سویه های بیفیدوباکتر به طور کلی نسبت به لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به نمک حساستر هستند

## قند

- در برخی محصولات نظیر نوشیدنیها و ماست های میوه ای از قند جهت شیرین کردن فراورده و ایجاد خصوصیات مطلوب طعمی استفاده می شود .
- بسته به نوع فرآورده ، مجموع میزان قند فرآورده ( که عمدتاً ساکارز و لاکتوز می باشد) می تواند از ۵ تا ۲۱٪ متغیر باشد .
- حساسیت نسبت به قند ها بین باکتریها بسیار متغیر است اما مطالعاتی که در این زمینه انجام شده اند در مجموع نشان داده اند که باکتریهای پروبیوتیک نسبت به باکتریهای لاکتیک حساسیت کمتری نسبت به حضور قند در فرآورده دارند .

## فرمولاسیون

### قند

البته حساسیت نسبت به قند یک موضوع کاملا وابسته به جنس ، گونه و سویه بوده و بعضا در مطالعاتی که انجام شده مشاهده شده که حتی در غلظت ۱۵-۲۰٪ هم رشد برخی باکتریهای بیفیدوباکتر محدود نشده و برعکس در حضور ۵٪ قند رشد برخی باکتریها نظیر لاکتوکوکوس لاکتیس کاملا متوقف شده است .

به هر حال حساسیت به قند می بایست برای هر سویه ای که مد نظر است در فرآورده مورد استفاده قرار گیرد از طریق انجام پیش تستهایی مورد ارزیابی قرار گیرد.

## فرمولاسیون

### شیرین کننده های مصنوعی

- در دنیا استفاده از شیرین کننده های مصنوعی نظیر **acesulfame** و **aspartame** در برخی فراورده ها معمول است.

- این شیرین کننده ها در غلظتهایی که به طور معمول در نوشیدنیهای تخمیری لبنی (۰/۰۳٪) استفاده می شوند تاثیر منفی روی باکتریها لاکتیک و نیز پروبیوتیکها ندارند. البته در غلظتهای بالاتر (مثلا ۰/۱۲٪) مشخص شده که می توانند روی رشد برخی سویه تاثیر ممانعت کنندگی داشته باشد.

## فرمولاسیون

### پری بیوتیک ها

- غذاهای فراسودمندی که علاوه بر پروبیوتیکها ، حاوی پری بیوتیک نیز باشند تحت عنوان سینبیوتیک نامگذاری شده اند . لاکتولوز ، گالاکتو و فروکتوالیگوساکاریدها و نشاسته مقاوم مثالهایی از پری بیوتیکها هستند .
- انتظار این است که با افزودن پری بیوتیکها رشد و بقا باکتریهای پروبیوتیک بهبود یابد
- بعضا این طور نیست که می تواند به توانایی سویه خاص در مصرف پری بیوتیک مورد استفاده و یا مناسب نبودن شرایط محیطی برای مصرف آن معطوف باشد.
- این نکته نیز می بایست مد نظر باشد که افزودن پری بیوتیک ممکن روی اثرات متقابل استارتر و پروبیوتیک تاثیر گذاشته و شرایط را به نفع پروبیوتیکها تغییر دهد.

## فرمولاسیون

### میوه ها و عصاره طبیعی آنها

- در برخی از انواع ماست میوه از خود میوه استفاده می شود . متاسفانه اطلاعات کاملی در رابطه با تاثیری که این میوه ها روی بقا میکروفلور ماست می توانند داشته باشند وجود ندارد . به علاوه در موارد محدودی هم که روی این موضوع کار شده بسته به نوع میوه و سویه پروبیوتیک تاثیر میوه کاملا متغیر بوده است .
- باکتریهای استارتر لاکتیک و اساسا استرپتوکوکوسها و لاکتوکوکوسها در مقایسه با پروبیوتیکها نسبت به عصاره میوه ها حساستر هستند .
- گزارش شده است که عصاره های میوه ای خنثی شده **Neutralized juices** روی رشد هیچ یک از باکتریهای استارتر و باکتریهای پروبیوتیک تاثیر ممانعت کننده ندارد که بیانگر خاصیت ممانعت کننده اسید میوه روی باکتریها است.



## آنتی اکسیدانها

- برای سویه های حساس به اکسیژن یکی از راهکارهای که ارائه شده استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدان جهت جلوگیری از خاصیت سمی اکسیژن در بافت ماده غذایی است.
- نشان داده شده که افزودن ترکیبات آنتی اکسیدانی نظیر آسکوربیک اسید و سیستئین می توانند باعث بهبود بقا باکتریهای پروبیوتیک گردد.

## فرمولاسیون



### سایر افزودنیهای غذایی

- در برخی از کشورها استفاده از مواد افزودنی جهت بهبود طعم، ظاهر، قوام و یا حتی عمر ماندگاری برخی محصولات مجاز بوده و مورد استفاده قرار می گیرد.
- با این وجود تاثیر آن ها روی باکتریهای پروبیوتیک به طور گسترده مورد مطالعه قرار نگرفته است البته گزارشاتی دال بر موارد ذیل وجود دارد:
- ❖ عدم تاثیر رنگهای طبیعی بیکسین و کارمین روی باکتریهای پروبیوتیک
- ❖ عدم تاثیر برخی ترکیبات عطری و طعمی روی پروبیوتیکها و تاثیر شدید ترکیبات رنگی - طعمی روی آنها

## سایر افزودنیهای غذایی

❖ عدم تاثیر ناتامایسین که یک آنتی بیوتیک ضد کپک است روی باکتریها پروبیوتیک و لاکتیک

❖ تاثیر نایسین روی برخی سویه های پروبیوتیک بویژه بیفیدوباکترها

❖ تاثیر لیزوزیم روی برخی سویه های پروبیوتیک و لزوم انتخاب سویه مقاوم به آن

که البته در صورت مجاز به مصرف بودن یک ماده افزودنی در یک فرآورده ، قطعا به لحاظ تکنولوژی لازم است اثر آن روی بقا و فعالیت پروبیوتیکها مورد بررسی قرار گیرد.

## روش افزودن پروبیوتیکها

- استفاده از یک تخمیر دو مرحله ای برای محصولات لبنی تخمیری ، نشان داده است که این روش درافزایش زنده مانی باکتریهای پروبیوتیک موثر است ، چراکه با این روش پروبیوتیکها اجازه پیدا میکنند قبل از افزودن باکتریهای استارتر فلور غالب محصول گردند.
- از آنجائیکه باکتریهای استارتر می توانند تولید ترکیبات ممانعت کننده نمایند و از طرفی سرعت رشدشان نیز بالاتر است لذا می توانند باعث کاهش زنده مانی پروبیوتیکها بشوند . گزارش شده که تخمیر بوسیله باکتریهای پروبیوتیک ۲ ساعت قبل از افزودن باکتریهای استارتر ممکن است در بهبود زنده مانی پروبیوتیکها و نتیجتا شمارش سلولی بالاتر آنها کمک نماید.

# فرآیند

## دمای فرآوری / تیمار حرارتی

- در تولید محصولات تخمیری لبنی هرچه دمای تخمیر نزدیک به دمای بهینه رشد باکتریهای پروبیوتیک باشد بهتر است.
- دمای بهینه برای رشد اکثر پروبیوتیک بین ۳۷ تا ۴۳ درجه سانتیگراد است .
- معمولاً بیفیدوباکترها در دمای زیر ۲۰ و بالای ۴۶ رشدی نشان نمی دهند . لاکتوباسیل‌های پروبیوتیک نیز در دامنه دمایی مشابهی خوب رشد می کنند البته بعضاً تا دمای ۴۴ درجه و بالای دمای ۱۵ درجه هم می تواند هنوز رشد داشته باشند.

## فرآیند

### دمای فرآوری / تیمار حرارتی

- در طی فرایند ، دماهای بالای ۵۰ درجه روی بقا پروبیوتیکها تاثیر گذار است . در دماهای بالاتر ، زمان کمتری برای کاهش شدید تعداد باکتریهای پروبیوتیک لازم است که از زمان چند ساعت یا دقیقه در دمای ۴۵ تا ۵۰ درجه به چند ثانیه در دماهای بالاتر متغیر است.
- بدیهی است که باکتریهای پروبیوتیک می بایست بعد از فرایندهای حرارتی ، پختن و پاستوریزاسیون به فرآورده اضافه شود .

## فرآیند

### هموژنیزاسیون و مخلوط کردن با سرعت بسیار بالا

- بیفیدوباکترها و لاکتوباسیل‌های پروبیوتیک، باکتریهای گرم مثبت با دیواره سلولی ضخیم هستند که همین دیواره ضخیم آنها را قادر می‌سازد تا نیروی برشی موجود در اکثر مراحل تولید غذا را تحمل نمایند.
- با این وجود برخی از فرایندهای واجد نیروی برشی بالا نظیر هموژنیزاسیون و همزدن با سرعت بالا ممکن است منجر به انهدام سلول وافت در زندمانی باکتریهای پروبیوتیک گردند. که تا حد امکان می‌بایست از انجام این فرآیندها با شدت بالا روی فراورده حاوی باکتری پروبیوتیک خودداری گردد.

## فرآیند

### هواگیری

- از آنجائیکه سمیت اکسیژن گاهی می تواند روی بقا باکتریهای پروبیوتیک تاثیر بگذارد لذا استفاده از فرآیند هواگیری و نیز جلوگیری از فرایندهایی که باعث هوادهی درباقت محصول می گردند بویژه در مواقعی که از بیفیدوباکترها استفاده می شود قابل توصیه است.



## فرآیند

### انجماد

- انجماد سلولهای پروبیوتیک باعث آسیب رساندن به غشا سلولی می شود که مشخصا روی زنده مانی آنها تاثیر می گذارد. معمولا برای کاهش آسیب های سلولی از ترکیبات محافظت کننده استفاده می شود
- بعد از انجماد ، پروبیوتیکها معمولا می توانند در دوره های طولانی عمر ماندگاری در محصولاتی مثل بستنی و ماست منجمد زنده باقی بمانند .
- واجد شرایط کردن سلولهای پروبیوتیک با استرس های پیش انجمادی می تواند به طور قابل ملاحظه ای بقا سلولها را افزایش دهد.

## بسته بندی

■ بسته بندی می بایست به عنوان یک مرحله بسیار مهم در تولید محصولات لبنی پروبیوتیک نقلی شود چرا که در صورت عدم انتخاب یک سیستم بسته بندی مناسب زنده مانی باکتریهای پروبیوتیک بویژه بیفیدوباکترها تحت تاثیر قرار می گیرد.

■ به طور کلی فرآورده های لبنی پروبیوتیک در بسته بندیهای پلاستیکی بسته بندی می شوند که سطوح مختلفی از نفوذ پذیری نسبت به اکسیژن دارند. این موضوع بواسطه اینکه اکثر اعضا این گروه میکروبی بواسطه متابولیسم بی هوازیشان نسبت به اکسیژن حساس هستند بعضا مشکل ساز می شود.

## بسته بندی

- مواد بسته بندی با قابلیت نفوذ ناپذیری بالا نسبت به اکسیژن نظیر **PVDC** و **EVOH** به مراتب کارآیی بالاتری در حفظ بقا باکتریهای بیفیدو باکتر در مقایسه با **polyethylene** و **polystyrene** (که به طور معمول در بسته بندی مواد غذایی استفاده می شوند) دارند.
- یک راه دیگر نیز افزایش ضخامت بسته بندیها به جهت کاهش نفوذ پذیری آنها نسبت به اکسیژن است.

## بسته بندی

- به علاوه می توان از بسته بندیهای **active packaging** نیز استفاده کرد . در این بسته بندیها از جاذب های اکسیژن در زیر درب یا در ساختار پلیمر استفاده می شود که می توانند اکسیژن موجود در بسته بندی را کاهش دهد.
- بعضی از محققین نیز از بسته بندی تحت خلا استفاده کرده اند که می تواند به عنوان یک راه جایگزین مد نظر قرار گیرد.
- به هر حال بسته بندی در توسعه محصولات جدید پروبیوتیک یکی از مراحل بسیار مهم است که می بایست به دقت مورد آنالیز و بررسی قرار گیرد

## دوره رسیدن

- در پنیرهایی که واجد دوره رسانیدن هستند این مرحله نیز با چالشهای برای زنده ماندن پروبیوتیکها مواجه است .
- فرایند رسیدن یک فرایند بسیار پیچیده ، همراه با تغییرات بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی است که نتیجه آن ایجاد بافت و طعم مخصوص در آن پنیر خاص می باشد.
- در طول این دوره امکان پیش بینی بقای پروبیوتیک ها با دقت امکان پذیر نمی باشد چراکه تغییرات بیوشیمیایی ، همراه با افت فعالیت آب و نیز گاهی اوقات کاهش pH شرایط سخت و پراسترسی را برای پروبیوتیکها مهیا می کند .

## دوره رسیدن

- به علاوه مشکل دیگری که در این مرحله وجود دارد غالب شدن جمعیت باکتریهای **non-starter lactic acid bacteria** یا **NSLAB** در طی فرایند رسیدن است که با باکتریهای پروبیوتیک برای نوترینتها رقابت می کنند .
- باکتریهای پروبیوتیک معمولاً روی پروتئولیز اولیه و لیپولیز اثری ندارند و از این بابت بهبود یا نقصانی ایجاد نمی کنند.

## دمای نگهداری

- دمای نگهداری یک اثر کلیدی روی بقا و زنده ماندن باکتریهای پروبیوتیک دارد. در عمل، هرچه بتوان محصول را سردتر نگهداری کرد، بقا باکتریهای پروبیوتیک بهتر خواهد بود.
- متأسفانه دمای بالای اکثر نقاط عرضه در بازار اثر منفی روی بقای باکتریهای پروبیوتیک داشته ضمن اینکه باعث تغییرات نامطلوب در خصوصیات بافتی، طعمی و رنگ محصول نیز می گردد.

## دوره نگهداری

### دمای نگهداری

- برای پروبیوتیکهای که در محصولات غیر خشک اضافه شده اند نگهداری در سرما یک ضرورت بوده و کنترل سخت گیرانه این پارامتر بسیار اهمیت دارد چرا که خروج از زنجیره سرما باعث به خطر افتادن وضعیت سلامتی بخشی فراورده شده ضمن اینکه احتمال رشد سایر باکتریهای مضر نیز در دمای بالا فراهم می گردد.
- در مورد محصولات پودری که در دمای معمولی نگهداری می شوند حفظ رطوبت پایین فراورده از اهمیت بسزایی برخوردار است.



## دوره نگهداری

### سیکلهای انجماد – رفع انجماد تکراری

■ در مورد محصولات منجمد نظیر بستنی پروبیوتیک می بایست از سیکلهای تکراری انجماد-رفع انجماد پرهیز گردد چراکه روی بقا باکتریهای پروبیوتیک به لحاظ آسیب رسانی روی غشا سلولی به طور جدی تاثیر منفی دارد .

■ حتی چنین حالتی باعث می شود که باکتریهای پروبیوتیک نسبت به سایر استرسهای محیطی نظیر اسیدیته نیز حساسیت بیشتری داشته باشند.

## جمع بندی

■ پروبیوتیکها حساسیتهای خاصی دارند لذا لازم است در توسعه محصولات لبنی پروبیوتیک جهت دستیابی به نتایج مطلوب، ویژگیهای سویه های پروبیوتیک، خصوصیات ذاتی غذا سازگار بودن سویه و غذا و اصلاحات مورد نیاز، فرمولاسیون، شرایط فرآوری، رسیدن و نگهداری به طور دقیق مورد ارزیابی قرار گیرد.

■ گرچه در حال حاضر دانش فنی تولید محصولات لبنی پروبیوتیک گسترش خوبی به لحاظ علمی داشته و مفهوم پروبیوتیک در محافل علمی و صنعتی گسترش خوبی داشته اما هنوز نیاز به انجام تحقیقات برای روشن شدن زوایای مبهم تولید و اثر گذاری این فراورده ها وجود دارد تا بتوان از این پتانسیل بسیار عالی جهت تامین زندگی سالمتر و با کیفیت تر آحاد جامعه بهره کاملتری برد.