Archive of SID

کد مقاله: Foodconf-10040

کاربرد فشار همگن بالا (HPH) جهت بهبود عملکرد و کیفیت پروبیوتیک‌ها

حدیث آریایی*[۱]، سمیه رهایی[۲]، امین بختیاری[۳]

۱ و ۳- دانشجوی دکترای تخصصی میکروبیولوژی مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی، آمل، ایران۲- استادیار، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

*s.rahaiee@ausmt.ac.ir

چکیده

پروبیوتیک ها مکمل های غذایی از میکروارگانیسم های زنده ای هستند که وقتی در مقادیر کافی در دستگاه گوارش موجود باشند، تاثیرات سودمندی بر میزبان به جای می گذارند. امروزه مصرف فرآورده های پروبیوتیک که اغلب لبنیات را شامل می شوند به دلیل دارا بودن خواص منحصر به فرد و سلامتی بخش از محبوبیت زیادی برخوردار است. محصولات پروبیوتیک علاوه بر تامین باکتری های زنده، مواد مغذی با ارزشی مانند کلسیم و ترکیبات زیست فعال را در اختیار بدن قرار می دهند. چربی شیر تمایل زیادی به جدا شدن از شیر و تشکیل گویچه های بزرگ تر را دارد. هموژنیزاسیون یا همگن کردن، به منظور انتشار یکنواخت گویچه های چربی صورت می گیرد و با افزایش فشار هموژنیزاسیون، اندازه ذرات کوچک تر و پراکندگی ذرات بیش تر می شود. فرآیند فشار همگن بالا (HPH)، یک فرایند غیر حرارتی است که دارای توانایی مطلوبی جهت تولید و اصلاح رئولوژیکی غذاهای فراسودمند به ویژه محصولات پروبیوتیک می‌باشد. لذا استفاده از چنین فرآیندهایی برای حفظ ویژگی های بهتر طعم و ارزش تغذیه‌ای فراورده لبنی و عملکرد گونه های پروبیوتیک ها بخصوص در غذاهای فراسودمند حائز اهمیت است. در این مطالعه مروری، اثر فشار همگن بالا بر بهبود عملکرد و کیفیت پروبیوتیک ها مورد بررسی قرار گرفته است.

کلمات کلیدی: پروبیوتیک‌ها، فشار همگن بالا، غذاهای فراسودمند

مقدمه

محصولات غذایی پروبیوتیکی که امروزه یکی از مباحث جذاب غذایی، تغذیه ای و درمانی را به خود اختصاص داده اند، جزء غذاهای فراسودمند طبقه بندی می شوند[۱]. در حال حاضر، افزایش تقاضا برای غذاهای فراسودمند موجب تشویق صنعتگران و محققان برای بررسی تکنیک‌های نوظهور، فرآوری مواد غذایی شده است. از جمله این تکنولوژی‌های نوظهور می‌توان به میدان الکتریکی پالسی(PEF)، فشار هیدرواستاتیک بالا(HHP)، فشار همگن بالا(HPH)، امواج فراصوت، نوسانات میدان مغناطیسی(oscillating magnetic fields) و پالس‌های نوری قوی(high-intensity light pluses) اشاره نمود که به عنوان تکنیک‌های جایگزین، تیمارهای حرارتی به منظور میکروب‌زدایی مورد توجه قرار گرفته‌اند [۱۵] . در میان این تکنیک‌ها، اخیرا فرآیند فشار همگن بالا، توانایی مطلوبی را برای تولید غذاهای فراسودمند به ویژه محصولات پروبیوتیکی نشان داده است [۶].

سهم عمده محصولات پروبیوتیک را لبنیات تشکیل می دهند و چربی شیر تمایل زیادی به جدا شدن از شیر و تشکیل گویچه های بزرگ تر را دارد. و جذب سطحی ماده فعال کننده سطحی (عمدتا میسل های

The 2nd National Conference of Novel Findings in Food Industries & Healthy Nutrition
www.foodconf.ir
www.SID.ir

Archive of SID

کازئینی و پروتئین های سرمی) اتفاق می افتد [۲]. هموژنیزاسیون یا همگن کردن، به منظور انتشار یکنواخت گویچه های چربی صورت می گیرد و با افزایش فشار هموژنیزاسیون، اندازه ذرات کوچک تر و پراکندگی ذرات بیش تر می شود [۳]. همچنین، برای اصلاح خواص رئولوژیکی و ساختار میکروسکوپی مواد غذایی بکار برده می‌شود. از جمله نکات بسیار مهم در مورد تکنیک فشار همگن بالا نسبت به تیمارهای حرارتی می‌توان به حفظ هرچه بهتر طعم، ارزش تغذیه‌ای و ویتامین‌های موجود در محصول اشاره نمود [۱۵]. مفهوم پروبیوتیک برای اولین بار در قرن بیستم توسط الی مچینکف[1] روسی ارائه و معروف شد. پروبیوتیک‌ها میکروب‌های زنده‌ای هستند که وقتی وارد دستگاه گوارش می‌شوند در یک شمار معینی یک یا چند اثر سلامتی بخش روی میزبان می‌گذارند [۱۰]. در این مقاله مروری به بررسی اثر فشار همگن بالا بر کیفیت و عملکرد پروبیوتیک‌ها پرداخته شده است.

اثر فرآیند فشار همگن بالا بر ویژگی‌های عملکردی لاکتوباسیل‌های پروبیوتیک

هموژنیزاسیون ممکن است به صورت یک یا دو مرحله ای باشد. گلبول های چربی در هموژنیزاسیون یک مرحله ای، کوچکتر و متراکم می شوند و ویسکوزیته محصول نهایی را افزایش می دهند ولی در هموژنیزاسیون دو مرحله ای، گلبول های چربی به ذرات بسیار ریزی شکسته می شوند. در نتیجه ویسکوزیته محصول کاهش می یابد [۴]. مرحله دوم در هموژنیزاسیون دو مرحله ای، افزایش دناتوراسیون پروتئن های آب پنیر را باعث می شود [۱۶]. تکنیک فشار همگن بالا برای اصلاح فعالیت آنزیمی، متابولیکی و ویژگی‌های عملکردی لاکتیک اسید باکتری‌ها توسط لانسیوتی[2] و همکاران (۲۰۰۷)، مورامالا[3] و آریانا[4] (۲۰۱۱) و تابانلی[5] و همکاران (۲۰۱۲ و ۲۰۱۳) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تحقیقات آن‌ها نشان می‌دهد هنگامی‌که فرآیند فشارهمگن بالا در سطوح کمتر از ۱۰۰ مگاپاسکال بکار گرفته می‌شود توانایی کنترل سرعت تخمیر سلول‌های استارتر را دارد و موجب اصلاح مشخصات متابولیکی‌شان می‌گردد، همچنین خصوصیات حسی شدیدتر و متمایزتری را ایجاد می‌کند. علاوه بر این، حتی اگر پاسخ‌ها بر اساس خصوصیات هر سویه متفاوت باشد، با افزایش فشار هموژنیزاسیون فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیکی موجود در فضای خارج سلولی بدون تاثیر بر زنده‌مانی باکتری‌ها افزایش می‌یابد.

علاوه بر این، پاتریگنانی[6] و همکاران دریافتند که هموژنیزاسیون فشار بالا موجب تحریک پدیده اتولیتیک در مخمرهای مورد استفاده به عنوان استارتر در صنعت مشروبات الکلی می‌شود[۱۵].

در ارتباط با سویه‌های پروبیوتیک، مورامالا و آریانا (۲۰۱۱) اثر فشارهای پایین هموژنیزاسیون را بر خصوصیات استارتر ماست و *Lactobacillus acidophilus* بررسی نمودند. این محققان دریافتند که تیمارهای ۱۳/۸۰ و ۶/۹۰ مگاپاسکال اگر پنج مرتبه تکرار شوند موجب بهبود ویژگی مقاومت به اسید و صفرا در باکتری می‌گردند، اما هیچ اثری بر فعالیت پروتئازها و رشد پروبیوتیک‌ها مشاهده نگردید.

1- Elie Metchnikoff
1- Laciotti
2- Muramalla
3- Aryana
4- Tabanelli
5- Patrignani

The 2nd National Conference of Novel Findings in Food Industries & Healthy Nutrition
www.foodconf.ir
www.SID.ir

Archive of SID

همچنین تابانلی و همکاران (۲۰۱۳)، این تکنیک را برای اصلاح و افزایش برخی از ویژگی‌های عملکردی و بیولوژیکی سویه‌های پروبیوتیکی شناخته و ایزوله شده از محصولات آرژانتینی پیشنهاد کردند [۱۵].

تاثیر لاکتوباسیلوس‌های تیمار شده با فرآیند فشار همگن بالا بر سلول‌های تولید کننده ایمونوگلوبین A

پژوهش‌های بسیاری نشان می‌دهند که لاکتوباسیلوس‌های موجود در مواد غذایی تخمیری و پروبیوتیک‌ها قادر به افزایش ایمنی در برابر پاتوژن‌ها می‌باشند و موجب افزایش قابلیت ایمنی مخاط روده می‌گردند [۹]. گزارشات بسیاری حاکی از آن است که تولید ایمونوگلوبین A در روده به عنوان شاخص مطلوبیت عملکرد پروبیوتیک ها است و پژوهشگران متعددی خاطر نشان شدند که ویژگی برجسته ناشی از مصرف میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک و یا شیرهای تخمیری، افزایش تعداد سلول‌های تولید کننده ایمونوگلوبین است. باکتری‌های پروبیوتیک با سلول‌های اپیتلیال و سلول‌های ایمنی در روده ارتباط متقابل برقرار می‌کنند و این رفتار در روده وابسته به فرآیند متقابل می‌باشد و در نتیجه به ویژگی‌های سطحی سلول‌های باکتریایی بستگی دارد. گزارشات بسیاری در رابطه با ویژگی ظاهری سلول‌ها برای توانایی چسبندگی سویه به اپیتلیال روده وجود دارد[۱۵] و حاکی از آن است که این ویژگی یک فاکتور مهم برای ارتباط متقابل باکتری‌های پروبیوتیک با روده و سلول‌های ایمنی واقع در آن به شمار می‌رود [۵]. با توجه به این ملاحظات، هنگامی‌که تیمار فشار همگن بالا به میزان ۵۰ مگاپاسکال بر باکتری‌های پروبیوتیک اعمال می‌شود، نشان‌گر تغییر ظاهری برخی سویه‌ها می‌باشد. همچنین، پژوهشگران اثر این تیمار را بر توانایی ارتباط لاکتوباسیل‌های پروبیوتیک با روده موش و توانایی تحریک تولید سلول‌های ایمونوگلوبین را بررسی نمودند [۱۵]. در این پژوهش‌ها *Lactobacillus paracasei* به علت افزایش خصوصیات ظاهریش در اثر تیمار هموژنیزاسیون و *Lactobacillus acidophilus* به علت کاهش خواص ظاهریش انتخاب شدند. سپس این دو سویه برای ارزیابی تولید ایمونوگلوبین‌ها به موش تزریق گردید. تعداد سلول‌های تولید کننده ایمونوگلوبین در روده با روش ایمنوهیستوشیمی مورد مطالعه قرارگرفت و دریافتند که پروبیوتیک‌های تیمار شده با فشار همگن بالا موجب تولید هرچه بیشتر ایمونوگلوبین A می‌گردند. هدف اصلی در تیمارهای هموژنیزاسیون، ساختار خارج سلولی میکرو ارگانیسم است. لذا این تکنیک می‌تواند منجر به تغییرات ظاهری در این بخش از سلول‌ها شود که موجب اصلاح اتصال باکتریایی با سلول‌های ایمنی روده می‌گردد [۱۲].

اثر فرآیند فشار همگن بالا بر ترکیبات غشایی لاکتوباسیل‌های پروبیوتیک

تغییر در نسبت اسیدهای چرب اشباع به غیر اشباع، سیس به ترانس و منشعب به غیر منشعب به عنوان پاسخی در مقابل استرس‌های محیطی و فیزیکوشیمیایی در سلول باکتری گزارش شده‌اند. علی‌رغم کاربر گسترده فرآیند هموژنیزاسیون فشار بالا، پژوهش در مورد اثر این تکنیک بر تعدیل اسیدهای چرب غشای سلولی باکتری بسیار محدود می‌باشد. گورزونی[۷] و همکاران (۱۹۹۹)، اثر قابل ملاحظه تیمار هموژنیزاسیون به همراه سایر تنش‌ها همچون غلظت اتانول و دما بر افزایش اتیل استر اسید چرب زنجیر متوسط موجود

1- Guerzoni

The 2nd National Conference of Novel Findings in Food Industries & Healthy Nutrition
www.foodconf.ir
www.SID.ir

Archive of SID

در غشای *Saccharomyces cerevisiae* را نشان دادند. در حقیقت تنش‌ها موجب کاهش سیالیت غشای سلولی می‌شوند که از طریق افزایش مقدار اسیدهای چرب غیر اشباع برای حفظ حالت کریستالی مایع غشایی، جبران می‌گردند [۱۵]. از سوی دیگر، لانسیوتی و همکاران (۱۹۹۷)، اثر فشار هیدرواستاتیک را بر سویه‌های *Yarrowia lipolytica* بررسی نمودند و متوجه تغییرات فیزیکی و بیوشیمیایی متعددی شدند که شامل افزایش حضور اسیدهای چرب چند غیر اشباعی و تک غیر اشباعی است. تعدیل ترکیب اسیدهای چرب غشایی در اثر شرایط محیطی می‌تواند بر ظاهر سلول و متعاقبا بر توانایی و ویژگی‌های عملکردی سلول تاثیر بگذارد [۸]. همچنین، تابانلی و همکاران (۲۰۱۴)، ترکیب اسیدهای چرب غشای سلول‌ها را قبل و بعد از اعمال ۵۰ مگاپاسکال تیمار هموژنیزاسیون بررسی نمودند که بهبود در عملکرد سلول‌ها مشاهده گردید [۱۳].

اثر فشار همگن بالا بر افزایش ویژگی‌های کیفی و پروبیوتیکی دوغ و پنیر

تابانلی و همکاران (۲۰۱۳)، زنده‌مانی و مقاومت به شرایط معده را در سویه‌های پروبیوتیکی تیمار شده با فشار ۵۰ مگاپاسکال فرآیند هموژنیزاسیون در باتر میلک اسیدی و طی نگهداری در دمای ۴ درجه به مدت ۳۰ روز بررسی نمودند. تیمار هموژنیزاسیون بکار گرفته شده، زنده‌مانی سلول‌ها را طی نگهداری‌شان در یخچال بهبود می‌بخشد. علاوه بر این، پس از ۳۰ روز نگهداری، مقاومت *Lactobacillus paracasei* به شرایط معده بطور قابل ملاحظه‌ای در سلول‌های تیمار شده افزایش یافت. همچنین، تحلیل ترکیبات آروماتیک باتر میلک تلقیح شده با سویه‌های مد نظر به منظور بررسی تغییرات احتمالی در آرومای محصول لبنی فراسودمند، انجام شد. نتایج حاکی از افزایش تولید مولکول‌های مثبت موثر بر پروفایل حسی پس از اعمال فشار می‌باشد. به منظور بررسی بیشتر برخی ویژگی‌های تکنولوژیکی و پروبیوتیکی سویه‌های تیمار شده، محصول در طی نگهداری مورد ارزیابی آزمایشگاهی قرار گرفت[۱۷]. پاتریگنانی و همکاران (۲۰۱۲)، سلول‌های *Lactobacillus paracasei* را تحت تیمار ۵۰ مگاپاسکال قرار دادند و برای تولید پنیر سنتی ایتالیایی (کاسیوتا) استفاده نمودند. پنیر کاسیوتای حاصل به کمک سویه‌های پروبیوتیک با پنیر سنتی (شاهد) مقایسه گردید. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، ارگانولپتیکی، آروماتیکی، الگوی پروتئولیتیکی و لیپولیتیکی پنیر و زنده‌مانی استارترها و سویه‌های پروبیوتیک بعد از تهیه پنیر و پس از ۵-۱ هفته پس از رسیدن پنیر مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر این، مقاومت *Lactobacillus paracasei* در برابر اسید معده در طول رسیدن پنیر ارزیابی گردید. نتایج حاکی از آن است که؛ سویه های تیمار شده با فشار همگن بالا، زنده‌مانی بالاتری را نسبت به سویه‌های شاهد تا ۱۴ روز نگهداری نشان می‌دهد و همچنین بیشترین مقدار مقاومت به اسید معده را دارا هستند. این نتایج نشان داد که عملکرد پنیر پروبیوتیک حاصل با استفاده از استارترهای سنتی و سلول‌های *Lactobacillus paracasei* تیمار شده می‌تواند در طی ۱۴ روز نگهداری افزایش یابد. از سوی دیگر، برای این نوع پنیر تحلیل آزمون‌های الکتروفورز و پنل، پروتئولیز سریع‌تر و بهبود ویژگی‌های ارگانولپتیک در دوره نگهداری را نشان می‌دهد. این یافته‌ها بیانگر، پایداری روند این تکنیک و کاهش زمان رسیدن و هزینه است. همچنین این نتایج نشان دهنده پتانسیل بالقوه فرآیند فشار همگن بالا برای افزایش و بهبود عملکرد محصولات لبنی می‌باشد[۱۵].

The 2nd National Conference of Novel Findings in Food Industries & Healthy Nutrition
www.foodconf.ir
www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری

فرآیند فشار همگن بالا دارای پتانسیل مطلوبی برای افزایش ویژگی‌های پروبیوتیکی و بهبود ویژگی‌های عملکردی و تکنولوژیکی مواد غذایی می‌باشد. با این وجود، بایستی تغییرات غشایی مربوط به بیان ژن و پتانسیل این تکنیک در تولید محصولات پروبیوتیکی با خواص بهبود یافته بطور کامل بررسی شود. در حقیقت، اگرچه اطلاعاتی در مورد القای مقاومتی لاکتیک اسید باکتری‌ها و پروبیوتیک‌ها در پژوهش‌ها گزارش نشده است بنابراین استفاده از این تکنیک در مقیاس صنعتی نیازمند تحقیقات بیشتری در رابطه با زمان القای این فرآیند بر سلول‌ها می‌باشد. همچنین، این تکنولوژی دارای قابلیت‌های جالب توجهی برای تولید محصولات لبنی فراسودمند می‌باشد و موجب بهبود خواص ارگانولپتیک این محصولات می‌گردد و پژوهش های بیشتر برای استفاده از این روش در صنایع غذایی پیشنهاد می گردد.

منابع

[۱]-مرتضویان،ا.م؛سهراب وندی،س [۱۳۸۵] پروبیوتیک ها و فراورده های غذایی پروبیوتیک. تهران: انتشارات اتا. ۴۸۳.

[۲]-پوراحمد،ر و فدائی،و. [۱۳۸۸]. صنایع لبنی ۱. ورامین: انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی ورامین-پیشوا.۲۲۹.

[۳]-فرهنودی، ف. [۱۳۷۷]، صنعت شیر،جلد اول، تهران: انتشارات شرکت جهاد تحقیقات و آموزش. ۳۷۴.

[۴]-مرتضوی، ع.؛ قدس روحانی، م.؛ جوینده، ح.[۱۳۸۰]،تکنولوژی شیر و فرآورده های لبنی. مشهد: انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.۴۱۱.

[5]-Burns, P., Reinheimer, J., and Vinderola, G. Impact of bile salt adaptation of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* 200 on its interaction capacity with the gut. *Research in Microbiology* 162 (2011): 782–790.

[6]-Diels, A.M.J. and Michiels, C.W. High-pressure homogenization as a non-thermal technique fort the inactivation of microorganisms. *Critical Reviews in Microbiology* 32 (2006): 201–216.

[7]-Dogi, C.A. and Perdigón, G. Importance of the host specificity in the selection of probiotic bacteria. *Journal of Dairy Research* 73 (2006): 357–366.

[8]-Kankaanpää, P.E, Yang, B.R., Kallio, H. P et al. Effects of polyunsaturated fatty acids in growth medium on lipid composition and on physicochemical surface properties of lactobacilli. *Applied and Environmental Microbiology* 70 (2004): 129–136.

[9]-Maldonado-Galdeano, C., de Moreno de LeBlanc, A., Vinderola, G. et al. Proposed model: Mechanisms of immunomodulation induced by probiotic bacteria. *Clinical and Vaccine Immunology* 14 (2007): 485–492.

[10]-Navarro, J.L., Izquierdo, L., Carbonell, J.V. et al. Effect of pH, temperature and maturity on pectinmethylesterase inactivation of citrus juices treated by high-pressure homogenization. *LWT—Food Science and Technology* 57 (2014): 785–788.

[11]-]Paéz, R., Lavari, L., Vinderola, G. et al. Effect of heat treatment and spray drying on lactobacilli viability and resistance to simulated gastrointestinal digestion. *Food Research International* 48 (2012): 748–754.

[12]-Skurnik, D., Merighi, M., and Grout, M. Animal and human antibodies to distinct *Staphylococcus aureus* antigens mutually neutralize opsonic killing and protection in mice. *Journal of Clinical Investigation* 120 (2010): 3220–3233.

[13]-Tabanelli, G., Patrignani, F., Gardini, F. et al. Effect of a sub-lethal high pressure homogenization treatment on the fatty acid membrane composition of probiotic lactobacilli. *Letters in Applied Microbiology* 58 (2014): 109–117.

The 2nd National Conference of Novel Findings in Food Industries & Healthy Nutrition
www.foodconf.ir
www.SID.ir

Archive of SID

[14]-Thiebaud, M., Dumay, E., Picart, L. et al. High pressure homogenisation of raw bovine milk. Effects on fat globule size distribution and microbial inactivation. *International Dairy Journal* 13 (2003): 427–439.
[15]-V Raishankar Rai, Jamuna A. Bai., 2015, Beneficial Microbes in Fermented and Functional Foods, U.S. Government works, Taylor & Francis Group, an Informa business. Boca Raton, FL 33487-2742.
[16]-Vinderola, G.C., Duarte, J.M.C., Thangavel, D. et al. Immunomodulating capacity of kefir. *Journal of Dairy Research* 72 (2005): 195–202.
[17]-Volcova,A.,Rodular,R. 1986. The use of whey in Milk products. *International Journal of Dairy Science*,48:281-287.

کنفرانس ملی دستاوردهای نوین در
صنایع غذایی و تغذیه سالم

www.SID.ir