دانشگاه ارومیه

دانشکده کشاورزی

گروه علـــوم و صنـــایـــع غذایی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته علوم و صنایع غذایی

موضوع:

مطالعه تأثیر ترکیب صمغ عربی، WPC و MPC بر ویژگیهای کیفی ماست سین بیوتیک حاوی ترانسگلوتامیناز

اساتید راهنما:

دکتر محمود رضازاد باری **دکتر محمدعلیزاده خالدآباد**

اساتید داور:

دکتر اصغر خسروشاهی اصل **دکتر فریبا زینالی**

تنظیم و نگارش:

آیدا صالح

شهریور ۹۱

نقدیم به

اولین و عزیزترین استادم **پدرم**

فرشته جاودان زندگیام **مادرم**

و همراهان همیشگی بی ریای زندگیم **خواهر و برادرم**

به نام یگانهی، هستی بخش

ایجاد در سرزمین من مهر جاریست و مهربانی، همیشگی ترین جویبار زندگی است. عاطفه را سرتمام طاق چ هالمس میکنی و از تمام باغچه ها هدلی به مشام می رسد.

مردمان خوب این خاک وقتی دورند، دستهای اجابتشان به دعای تو بلند است و وقتی نزدیکند آیه های متین عشقند.

من خوشبخت ترینم که عطر پاک سرشتانی را نفس کشیده ام که حضورشان صلابت الوند است، صبور و بی منت.

از تمامی عزیزانم سپاسگزارم. آنان که خواسته هایم را پابه پادست گرفته اند تا توانستن را به تماشا بنشینم، از داشته هایشان گذشتهاند که داشته باشم .

پدرم که خداوندگار نجابت و عشق است، اسطوره به تجسم درآمده از صبر و صداقت و پناهگاه بزرگ همه بی تابی هایم .

مادرم که عاشقانه ترین غزل دنیاست، پری واری در قالب آدمی، پرستگاه من.

خواهرم که همدم و همراز من است و برادرم چشمه زلال محبت .

استاد گرانقدرم جناب آقای دکتر رضانژاد باری به پاس همی راهنماییها و الطاف بیدریغشان و استاد ارجمندم جناب آقای دکتر علیزاده که حضورشان دلگرمی بود و علم کمترین آموختهام از ایشان است. این عزیزان به حق سزاوار کلمه بلند معلمند.

و در پایان با تمام وجود از محبت های تمامی دوستان مهربان و همکلاسی های عزیزم سپاسگزارم.

خداوندا آنان که طریق علم میروند رهروان نورند و میدانم که دوستشان می داری، از آنانم بدار و چنانم کن که تو خواهی

چکیده:

ماست یکی از محصولات لبنی پرمصرف در جهان به شمار می‌آید. امروزه به دلیل تمایل مصرف‌کنندگان به محصولاتی که اثر سلامت‌بخشی دارند مواد غذایی پروبیوتیک و سین بیوتیک مورد توجه قرار گرفته‌اند. هدف از این بررسی، مطالعه تأثیر مخلوط ۳ جزئی صمغ عربی، WPC (Whey protein Concentrate) و MPC (Milk protein concentrate) بر خصوصیات کیفی ماست سین‌بیوتیک حاوی آنزیم ترانس گلوتامیناز می باشد. میزان این اجزا متغیر (٪۱/۵-۰) و از مقدار معمول مورد استفاده در صنعت کمتر بود. آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی در مقادیر مختلف (U/l_{milk} ۱۰-۳۰-۵۰)، قبل یا بعد از پاستوریزاسیون به شیر افزوده شد. تأثیر فاکتورهای ذکر شده طی ۲۱ روز نگهداری بر خواص کیفی ماست مورد ارزیابی قرارگرفت. نتایج آزمایشات نشان داد که مقدار آنزیم، مخلوط ۳ جزئی و زمان نگهداری بر زنده‌مانی *بیفیدوباکتر انیمالیس* (BB12) به طور معنی داری مؤثر بود ($P < 0.05$). جمعیت پروبیوتیک به مرور زمان کمتر شد. در بین مخلوط ۳ جزئی، MPC در افزایش زنده مانی پروبیوتیک تأثیر بیشتری نسبت به سایر اجزا داشت. در میزان ثابتی از این مخلوط با افزایش مقدار آنزیم زنده‌مانی کاهش یافت. زمان افزودن آنزیم بر میزان اسیدیته و pH طی دوره‌ی نگهداری اثر معنی داری داشت ($P < 0.05$). ظرفیت نگهداری آب با گذشت زمان توسط مخلوط ۳ جزئی افزایش و سینرزیس کاهش یافت. این اجزا همچنین باعث بهبود ویسکوزیته شدند. بنابراین با استفاده از ترکیب اجزاء پروتئینی و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز می‌توان مقدار مصرفی آنزیم و کنسانتره‌های پروتئینی را کاهش داد ضمن اینکه زنده‌مانی *بیفیدوباکتر انیمالیس* و ویژگی‌های کیفی ماست سین‌بیوتیک را بهبود بخشید.

واژه‌های کلیدی: ماست سین بیوتیک، ترانس‌گلوتامیناز، زنده‌مانی

فهرست مطالب:

عنوان **صفحه**

کلیات ۱

بررسی ادبیات موضوع و سابقهی تحقیق ۴

۲-۱- خواص تغذیه ای ماست ۴

۲-۲- مراحل صنعتی تولید ماست ۵

۲-۲-۱- استاندارد سازی ماده خشک بدون چربی (SNF) ۵

۲-۲-۲- هموژن کردن ۶

۲-۲-۳- عملیات حرارتی ۶

۲-۲-۴- تلقیح مایه کشت و تخمیر ۷

۲-۲-۵- سرد کردن ۸

۲-۲-۶- بسته بندی ۹

۲-۳- جلوگیری از بیش اسیدی شدن ۹

۲-۴- انواع ماست ۱۰

۲-۵- غذای عملگرا ۱۱

۲-۵-۱- پروبیوتیک ها ۱۱

۲-۵-۲- ایمنی در مصرف پروبیوتیک ها ۱۲

۲-۵-۳- اثرات پروبیوتیک بر میزبان ۱۲

۲-۵-۴- بیفیدوباکتر ۱۴

۲-۵-۵- پتانسیل اکسیداسیون احیا ۱۶

۲-۵-۶- دشواری های تولید ماست پروبیوتیک ۱۷

فهرست جداول:

عنوان **صفحه**

۲-۱- تأثیر روش های مختلف افزایش SNF بر اجزا شیر ۵

۲-۲- انواع غذاهای عملگرا ۱۳

۲-۳- گونه های بیفیدوباکتر پرکاربرد در صنایع غذایی ۱۴

۲-۴- اجزا لبنی در غذاهای عملگرا محل اثر آنها ۱۶

۳-۱- مشخصات شیر به کار گرفته شده جهت تولید ماست ۲۷

۳-۲- طرح آماری تأثیر مخلوط ۳ جزئی، مقدار آنزیم، زمان افزودن آنزیم و زمان نگهداری بر خواص کیفی ماست ۳۱

فهرست تصاویر:

عنوان **صفحه**

شکل ۲-۱- برهمکنش میسل های کازئین و پروتئین های آب پنیر ۷

شکل ۲-۲- صمغ عربی ۱۸

شکل ۲-۳- نحوهی عملکرد ترانس گلوتامیناز و ایجاد اتصال بین لیزین و گلوتامین..... ۲۲

شکل ۴-۱- برهمکنش زمان نگهداری و زمان تلقیح آنزیم بر اسیدیته در مقدار حداکثر آنزیم ۳۴

شکل ۴-۲- برهمکنش زمان نگهداری و زمان تلقیح آنزیم بر اسیدیته در مقدار حداقل آنزیم ۳۴

شکل ۴-۳- کانتورپلات تأثیر زمان نگهداری و مقدار آنزیم بر pH و تلقیح آنزیم بعد از پاستوریزاسیون ۳۶

شکل ۴-۴- کانتورپلات تأثیر زمان نگهداری و مقدار آنزیم بر pH و تلقیح آنزیم قبل از پاستوریزاسیون ... ۳۶

شکل ۴-۵- تأثیر مخلوط ۳ جزئی بر ویسکوزیته ۳۸

شکل ۴-۶- کانتورپلات اثر مخلوط ۳ جزئی بر ویسکوزیته ۳۸

شکل ۴-۷- نمودار روند تغییرات سینرزیس به مرور زمان ۳۹

شکل ۴-۸- کانتورپلات اثر صمغ، WPC، MPC بر WHC در روز ۱ ..... ۴۱

شکل ۴-۹- کانتورپلات اثر صمغ، WPC، MPC بر WHC در روز ۱۱ ..... ۴۳

شکل ۴-۱۰- کانتورپلات اثر صمغ، WPC، MPC بر WHC در روز ۲۱ ..... ۴۳

شکل ۴-۱۱- کانتورپلات تأثیر مقدار آنزیم و زمان نگهداری بر زنده مانی پروبیوتیک.....۴۶

شکل ۴-۱۲- کانتورپلات تأثیر مخلوط ۳ جزئی بر زنده مانی ۴۶

شکل ۴-۱۳- کانتورپلات اثر صمغ، MPC و مقدار آنزیم بر زنده مانی پروبیوتیک ۴۷

شکل ۴-۱۴- کانتورپلات اثر WPC، MPC و مقدار آنزیم بر زنده مانی پروبیوتیک ۴۷

کلیات

تغییر نحوه زندگی افراد و ماشینی شدن زندگی، افزایش میزان ارتباط بین رژیم غذایی و سلامت و همچنین پیشرفت روش‌های جدید فرایند مواد غذایی باعث افزایش شدید مصرف غذاهای آماده، غذاهای جدید و عرضه بیشتر محصولات غذایی با ارزش تغذیه‌ای بالاتر شده‌است.

تاریخچه ماست مربوط به ۶۰۰۰ سال پیش می‌باشد. اعتقاد بر این است که کلمه Yogurt از کلمه ترکی jugurt مشتق شده‌است. بر اساس تعریف اتحادیه اروپا در سال ۱۹۹۹، به غذایی عملگرا گفته می‌شود که علاوه بر فواید تغذیه‌ای، اثر مثبت آن بر یک یا چند فعالیت درون بدن انسان به اثبات رسیده باشد، به نحوی که سبب بهبود سلامتی و یا کاهش خطر بیماری شود. متداولترین فراورده‌های لبنی عملگرا، فراورده‌های پروبیوتیک هستند که گاهی با ترکیبات پری‌بیوتیک غنی می‌شوند. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که در صورت مصرف به میزان لازم، اثرات سلامت‌بخشی مؤثری برای میزبان خود دارند. در هر ماده غذایی عملگرا یک یا چند ترکیب اساسی و مؤثر وجود دارد که خواص مطلوب مذکور را ایجاد می کند.

پری بیوتیک‌ها ترکیباتی غیر قابل هضم هستند که به طور انتخابی باعث تحریک رشد و یا فعالیت یک یا تعداد معدودی از باکتری‌های روده می‌شوند (Ramchandran, 2009). صمغ عربی، صمغ مترشحه از درخت آکاسیا است و سابقه تجارت آن به دوران باستان بر می‌گردد (Cherbut et al., 2003).

این صمغ پلی‌ساکاریدی با وزن مولکولی بالاست و متشکل از واحدهای آرابینوز، گالاکتوز، رامنوز و گلوکورونیک اسید می‌باشد. اجزا مذکور ۷۰٪ وزن صمغ عربی را تشکیل می‌دهند. در ساختار این صمغ یک بخش پروتئینی (۲٪ wt) نیز وجود دارد (Al-Assaf et al., 2009; Dorr et al., 2005). Cherbut و همکاران در سال ۲۰۰۳ گزارش کردند که مصرف روزانه ۱۵-۱۰ گرم از صمغ عربی اثر پری‌بیوتیکی دارد و در واقع باعث افزایش تعداد بیفیدوباکترها خواهد شد.

با توجه به اینکه در فراورده‌های لبنی، بالا بودن درصد چربی علاوه بر نقش تغذیه‌ای آن، ویژگی‌های رئولوژیکی و حسی غذاها مانند طعم و مزه، احساس دهانی و نیز بافت محصول را تحت تاثیر قرار می‌دهد، از این رو حذف

چربی از محصولات غذایی به راحتی امکان‌پذیر نیست. هیدروکلوئیدها مقدار پایین چربی را به وسیله توانایی در جذب آب و داشتن ویژگی‌های بافت‌دهندگی جبران می‌کند. تولیدکنندگان ماست پروبیوتیک به دنبال افزایش پروتئین شیر تا ۴۰-۵۰g/kg هستند. برای این منظور می‌توان ازمواد مختلفی استفاده‌کرد. با استفاده از اجزاء لبنی مثل WPC[۱] وMPC[۲] می‌توان ضمن افزایش مقدار مادهخشک، مقدار پروتئین را نیز افزایش داد.

صرفنظر از میزان پروتئین افزوده شده، نوع پروتئین نیز بر ویژگی‌های فیزیکی و رئولوژیکی ماست مؤثر است (Farnsworth et al., 2006). میزان پروتئین MPC بین ۸۶-۵۲٪ متغیر است. کازئین و پروتئین آب پنیر به همان صورت که در شیر هستند در این ترکیب نیز وجود دارند. از MPC می‌توان برای افزایش میزان پروتئین بدون بالابردن میزان لاکتوز، بهبود طعم، بافت و نیز کاهش سینرزیس استفاده کرد. به طور معمول در صنعت برای بهبود ویژگی‌های کیفی ماست حدوداً ۳٪ از این ترکیبات به محصول اضافه می‌شود.

WPC یک ترکیب طبیعی جایگزین چربی است که به منظور افزایش مادهخشک[۳] و پروتئین به شیر افزوده می‌گردد. این ترکیب ظرفیت بافری بالایی داشته و محرک رشد پروبیوتیک نیز به شمار می‌رود. در نتیجه باعث کاهش اسیدی شدن ماست طی نگهداری شده و ماندگاری محصول را افزایش می‌دهد. بررسی‌ها نشان داده‌اند که WPC بیشتر از فروکتوالیگوساکاریدها بر افزایش زندهمانی بیفیدوباکتریوم مؤثر بوده‌است (Christopher et al., 2009).

Martinez و همکاران در سال ۲۰۰۳ گزارش کردند که پروتئین افزوده شده به شیر مخصوصاً از نوع پروتئین آب پنیر اثر متفاوتی بر ساختار ماست دارد. ماست تهیه شده با MPC از لحاظ طعم و ویژگی‌های رئولوژیکی بهتر می‌باشد.

ساختار ماست ناشی از واکنش‌های هیدروفوب، اتصالات عرضی کووالان دی سولفیدی بین کازئین و پروتئین آب پنیر دناتوره شده می‌باشد. پروتئین یکی از اجزای مهم غذایی است. این اجزا گاهی ویژگی‌های مطلوب مورد نظر را ندارند و در نتیجه اصلاح آنها ضروری است. اصلاح آنزیمی یکی از روش‌های مطمئن و کارا بدین منظور می‌باشد.

ترانس‌گلوتامیناز (EC 2.3.2.13) یک آسیل ترانسفراز است که تشکیل اتصالات عرضی کووالان را کاتالیز می‌کند و نقش مهمی در فرآیندهای غذایی ایفا می‌کند (Yüksel & Erdem, 2010). کازئین سوبسترای مناسبی برای این آنزیم می‌باشد. ترانس گلوتامیناز می‌تواند قسمت هیدروفیل کاپا کازئین به نام کازئو ماکرو پپتید (CMP) را تحت تأثیر قراردهد (Mirela et al, 2008). این آنزیم باعث ایجاد پیوندهای درون و بین مولکولی پروتئین‌ها می‌گردد. در نتیجه پلیمرهای با وزن مولکولی بالا بوجود می‌آید که باعث تغییر و اصلاح پروتئین‌ها و

۱- whey protein concentrate

۲- Milk protein concentrate

۳- Total solid

خواص کاربردی آن‌ها می‌شود. استفاده از ترانس‌گلوتامیناز در ماست افزایش ویسکوزیته، افزایش استحکام ژل، افزایش ظرفیت نگهداری آب[۴]، کاهش آب اندازی[۵]، بهبود خواص بافتی و رئولوژیکی را در پی دارد (Mirela et al, 2008).

ماست یک ژل اسیدی است که اصولاً خواص بافتی، جدا شدن سرم و WHC، در ارزیابی کیفیت آن مهم هستند. این خصوصیات ممکن است با تشکیل پیوندهای کووالان اصلاح گردد (Yüksel & Erdem, 2010).

O'Sullivan و همکاران در سال ۲۰۰۱ بیان کردند که اتصالات عرضی پروتئین‌های شیر توسط ترانس-گلوتامیناز سبب اصلاح خواص کاربردی از جمله توانایی هیدراسیون، خواص رئولوژیکی و امولسیونی محصولات غذایی می‌شود.

Farnsworth و همکاران در سال ۲۰۰۳ به این نتیجه رسیدند که استفاده از ترانس‌گلوتامیناز در تولید ماست قالبی[۶] باعث افزایش مقاومت ژل[۷] و ویسکوزیته شده و از طرف دیگر سینرزیس را کاهش می‌دهد.

همچنین Özer و همکاران در سال ۲۰۰۷ تأثیر اتصالات عرضی ایجاد شده توسط ترانس‌گلوتامیناز را بررسی کرده و به این نتیجه رسیدند که این اتصالات باعث کاهش نفوذپذیری ژل شده و نهایتاً سفتی و پایداری بیشتر ساختار محصول را به دنبال دارند.

هدف از این پژوهش کاهش مقدار پودرهای مورد استفاده با به کارگیری آنزیم و همچنین مطالعه تغییرات فیزیکوشیمیایی و میکروبیولوژیکی ماست، تولید محصول با ماندگاری بالاتر و بهبود خواص کیفی ماست سین بیوتیک می‌باشد.

---

[۴] - Water holding capacity (WHC)

[۵] - Syneresis

[۶] - set

[۷] - permeability

بررسی ادبیات موضوع و سابقه‌ی تحقیق

مطابق منابع موجود منشأ اولیه ماست، بالکان و خاورمیانه بوده است. برای مردمی که در این نقطه زندگی می‌کنند، این محصول تخمیری بعنوان محصول شیرین نشده و طبیعی شناخته شده‌است. علی‌رغم همجواری اروپا با خاورمیانه تمایل به مصرف ماست تا سال ۱۹۶۰ گسترش پیدا نکرد تا اینکه در سوئیس پیشرفت قابل توجهی در صنعت ماست با ورود ماست میوه‌ای و شیرین به بازار صورت گرفت. از این زمان به بعد پذیرش و تمایل به مصرف این محصول لبنی به سایر نقاط دنیا گسترش یافت و باعث افزایش مصرف آن گردید. ماست یک فرآورده لبنی حاصل از تخمیر لاکتیکی شیر توسط باکتری‌های سنتی است و در هرم غذایی، در گروه شیر و لبنیات جای دارد و یک واحد مصرفی آن معادل یک لیوان می‌باشد (Lee & Lucey, 2010).

۲-۱- خواص تغذیه‌ای ماست :

گونه‌های باکتریایی مورد استفاده برای تخمیر فراورده‌های لبنی مانند ماست خواص ضد بیماریزایی و ضد التهابی دارند. این میکروارگانیسم‌ها در مقابل باکتری‌های بیماری‌زا در روده مقاومت می‌کنند. در فرآورده‌های تخمیری، قسمت عمده لاکتوز به اسید لاکتیک تبدیل می‌شود. در نتیجه مقدار لاکتوز درماست کمتر از شیر بوده و به این علت ماست برای افرادی که با هضم لاکتوز مشکل دارند مناسب است (Garfield, 1980).

مقدار پروتئین ماست تجاری نیز بالاتر از مقدار پروتئین شیر است و راحت‌تر از پروتئین شیر هضم می‌شود زیرا باکتری‌های ماست پروتئین شیر را با استفاده از آنزیم‌های پروتئولتیک تجزیه می‌کنند و در نتیجه مقدار اسیدهای آمینه بویژه پرولین وگلایسین در ماست بیشتر از شیر است. در طول تخمیر، گرما و تولید اسید منجر به تولید لخته کازئین نرم می‌گردد که ممکن است باعث افزایش قابلیت هضم پروتئین در ماست گردد(Sodini et al, 2005).

ماست محصولی غنی از کلسیم است. علاوه بر این ماست یک ماده غذایی بسیار مناسب برای افراد فاقد آنزیم لاکتاز بوده که بدلیل عدم تحمل لاکتوز از مصرف محصولات غیر تخمیری شیر اجتناب می‌نمایند و نیز گزینه‌ی مناسبی برای سلامتی در تمام مراحل زندگی محسوب می‌شود (Tamime & Robinson, 1999).

اگر چه ماست از شیر حیوانات گوناگون در سراسر جهان تولید می‌شود اما به طور تجاری و صنعتی، بیشترین میزان تولید ماست در سطح جهان از شیر گاو می‌باشد. در فرآورده‌های لبنی تخمیری پروبیوتیک، خواص مفید و سلامتی‌بخش پروبیوتیک‌ها با خواص سلامتی بخش فرآورده‌های شیری همراه می‌گردد. مطالعات نشان داده که این ترکیبات همراه با هم منبع مهمی از کلسیم، ویتامین‌ها و دیگر املاح، پروتئین‌ها، اسید لینولئیک و بوتیریک می‌باشند (خسروی دارانی و کوشکی، ۱۳۸۷).

مواد غذایی شیری از باکتری‌های پروبیوتیک محافظت می‌کنند. تعداد زیادی از این باکتری‌ها در عبور از دستگاه گوارش به دلیل اسیدیته‌ی بالای معده و غلظت زیاد اسیدهای صفراوی روده کوچک، از بین می‌روند. دمای انبارداری فرآورده‌های شیری به ثبات پروبیوتیک‌ها کمک می‌کند.

فاکتورهای مختلفی بر ویژگی‌های ساختاری ماست مؤثر است از جمله: ماده خشک، تیمار حرارتی، دمای انکوباسیون شیر و ...

۲-۲- مراحل صنعتی تولید ماست

۲-۲-۱- استاندارد سازی ماده خشک بدون چربی (SNF)[۸]:

حداقل ماده خشک بدون چربی شیر[۸] توصیه شده در استاندارد بسیاری از کشورها ۸/۶-۸/۲٪ می‌باشد (Lee & Lucey, 2010). codex نیز میزان حداقل پروتئین را ۲/۷٪ و بالاترین مقدار چربی را ۱۵٪ اعلام نموده‌است. معمولاً هدف از استانداردسازی، افزایش ماده خشک بدون چربی شیر جهت داشتن یک ژل مستحکم و ویسکوز و با خاصیت پخش‌پذیری خوب در ماست می‌باشد. جهت افزایش میزان MSNF شیر روش‌های متفاوتی وجود دارد که عبارتنداز:

- اواپراسیون
- افزودن پودرهای شیر (MP)
- افزودن پودر کره شیر (BP)
- افزودن پودرهای آب پنیر یا پودرهای آب پنیر تغلیظ شده (WPC ,WP)
- افزودن کازئین
- استفاده از تکنولوژی غشاءها مثل اولترافیلتراسیون UF یا اسمز معکوس RO

جدول ۲-۱- تأثیر روش‌های مختلف افزایش SNF بر اجزاء شیر

Method	Fat	Protein	Lactose	Ash
Boiling	+	+	+	+
Addition of SMP	–	+	+	+
Addition of BP	–[a]	+	–	+
Addition of WPP or WPC	–	+	–	–
Addition of WP or WC	–[b]	+[c]	+	+
Addition of caseinate	–	+	–	–[d]
Evaporation	+	+	+	+
UF	+	+	–	–[d]
RO	+	+	+	+

[a] Fat content is slightly increased due to the trace amount of phospholipids.
[b] Fat content is increased since the additives contain low level of milk fat (0.5–0.6%).
[c] Contains mainly WP fractions.
[d] Mineral contents of yogurt is increased due to casein micelle-bound minerals.

۱- Milk solid non fat (MSNF)

شیر کم چرب تغلیظ شده، شیر خشک کم چرب، شیر خشک پر چرب، پودرهای پروتئینی تغلیظ شده و... اغلب جهت افزایش ماده خشک بدون چربی استفاده می‌شوند (Tamime& Robinson, 1999).

۲-۲-۲- هموژن کردن:

هموژناسیون یک فرایند مکانیکی است که گلبول‌های چربی تحت فشار خاصی شکسته می‌شوند و میانگین قطر گلبول‌های چربی کاهش و سطح گلبول‌های چربی افزایش می‌یابد. هدف اصلی از هموژن کردن، اطمینان از توزیع یکسان چربی در کل شیر است. فرآیند هموژناسیون تأثیرات مثبتی روی ویسکوزیته و میزان آب‌اندازی ماست دارد. در شیرهای هموژن، کازئین‌ها و پروتئین‌های سرمی بر روی سطح گلبول‌های چربی تشکیل غشا داده و به این ترتیب باعث افزایش بر همکنش آنها با شبکه ژلی می‌شود. به علاوه پروتئین‌های سرمی دناتوره می‌توانند با میسل‌های کازئینی موجود در سرم یا پروتئین‌های متصل به سطح چربی‌ها نیز پیوند برقرار کنند (Tamime & Robinson, 2007). به طور عمومی توصیه شده‌است که هموژن کردن شیر برای محصولات تخمیری در فشار ۱۵ مگاپاسکال و دمای ۶۰ تا ۷۰ درجه سانتی گراد، قبل یا بعد از تیمار حرارتی انجام پذیرد تا بهترین حالت فیزیکی در فرآورده ایجاد گردد.

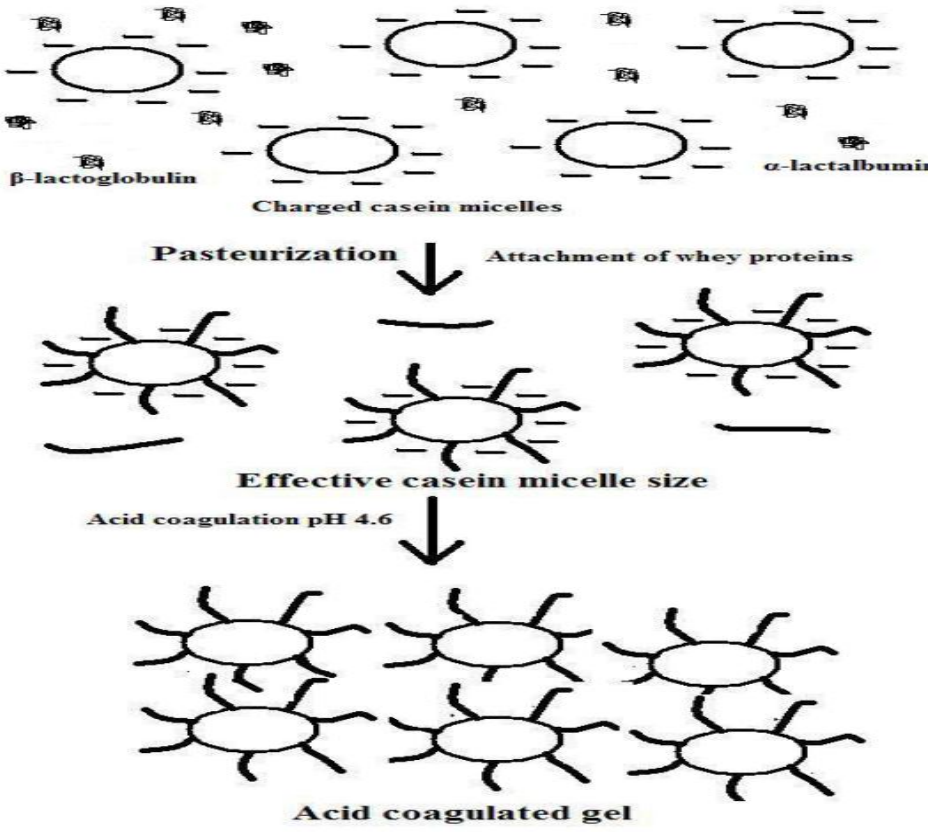
ماست دارای یک شبکه ویسکوالاستیک ضعیف و ساختارسه بعدی است (Ozer et al, 2007) که می‌توان گفت عواملی چون پیوندهای پروتئین – پروتئین، حرارت، درصد پروتئین، اسید تولید شده و گلبول‌های چربی به دام افتاده در شبکه از عوامل مهم و اثرگذاری بر روی کیفیت ماست و شکل‌گیری ساختار ژل می باشند.

۲-۲-۳- عملیات حرارتی:

پروتئین‌ها اجزاء تعیین کننده خواص فیزیکی ماست هستند. مهمترین نقش عملیات حرارتی تأثیر بر پروتئین‌های آب پنیر است. ترکیب حرارت و زمان تعیین کننده میزان دناتوره شدن این پروتئین‌ها و نسبت آلفالاکتالبومین به بتالاکتوگلوبولین جذب شده بر سطح میسل‌های کازئین است.

هدف از تیمار حرارتی از بین بردن میکروارگانیسم‌های مضر و از بین بردن شرایط رقابتی برای باکتری‌های استارتر می‌باشد. از طرف دیگر چون استارتر به اکسیژن حساس است تیمار حرارتی با کاهش اکسیژن محلول باعث بهبود رشد استارتر می‌گردد (Tamime & Robinson, 2007).

مشخص شده‌است که دماهای بالاتر از ۹۰ ^{o}C بمدت ۱۰ دقیقه باعث ایجاد بهترین خواص بافتی در ماست می‌شود که در این حالت بتالاکتوگلوبولین با میسل‌های کازئین پیوند می‌دهد و متعاقباً میزان نگهداری آب پروتئین‌ها و خواص آبدوستی آن‌ها نیز افزایش می‌یابد. ساختار ماست ناشی از واکنش‌های هیدروفوبیک، اتصالات عرضی کازئین، اتصال کووالان دی سولفیدی بین کازئین و پروتئین‌های دناتوره شده آب پنیر است.



شکل ۲-۱- برهمکنش میسل‌های کازئین و پروتئین‌های آب پنیر

در کارخانجات تولیدکننده ماست، شیر قبل از افزودن استارتر حرارت داده می‌شود. ترکیب دما- زمانی که معمولاً در صنعت برای عملیات حرارتی غیرمداوم استفاده می‌شود ۸۵ ℃ به مدت ۳۰ دقیقه و یا ۹۵-۹۰ ℃ به مدت ۵ دقیقه می‌باشد. اگرچه دمای خیلی بالا زمان کم (۱۳۰-۱۰۰ ℃، ۴ تا ۱۶ثانیه) و یا شرایط UHT در (۱۴۰ ℃، ۴ تا ۱۶ ثانیه) نیز گاهی استفاده می‌شود (Lee & Lucey, 2010).

۲-۲-۴- تلقیح مایه کشت و تخمیر:

آنچه در تولید انواع ماست‌ها مهم است وابستگی بین دو باکتری *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* است. هر دوی این میکروارگانیسم‌ها می‌توانند مستقل از هم رشد کنند اما میزان اسید تولید شده در هنگام استفاده از این دو میکروارگانیسم مهم است (Yildiz, 2010). ابتدا *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* به سرعت رشد کرده و تولید اسید و دی اکسید کربن می‌کند. تولید دی اکسید کربن باعث تحریک رشد *لاکتوباسیلوس دلبروکی* شده و فعالیت پروتئولیتیکی لاکتوباسیلوس‌ها باعث تولید پپتید و آمینواسید شده که توسط *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* مورد استفاده قرار می‌گیرد. امروزه شرکتهای

بزرگ و معتبری همچون ویسبی[۹]، کریستین هانسن، ساکو[۱۰] و DSM در دنیا انواع مختلفی از چنین کشتهای آغازگری را برای تولید انواع فرآورده‌های شیری پروبیوتیکی استفاده می‌نمایند (خسروی دارانی و کوشکی، ۱۳۸۷).

این کشتهای آغازگر به شکل‌های مختلف تک سوش و یا مخلوط دو یا چند سوش مختلف در کنار باکتری-های پروبیوتیک و یا باکتری‌های لاکتیک دیگر مثل باکتری‌های ماست موجود هستند. اخیراً نیز استفاده از کشت‌های آغازگر حاوی دو باکتری *بیفیدوباکتر لاکتیس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* با نسبت ۱ : ۱ در شیر پیشنهاد شده است زیرا این نسبت، همیاری مناسبی بین این دو باکتری برقرار می‌کند. تلقیح استارتر ممکن است به دو صورت انجام پذیرد یعنی به صورت مستقیم یا غیر مستقیم باشد. درحالت دوم شیر بیشتر در معرض آلودگی قرار دارد و در صورت توسعه آلودگی، ممکن است تعادل و نسبت سوش‌ها بر هم زده شود. بنابراین امروزه روش مستقیم مرسوم‌تر است. در مورد استفاده از کشت‌های غیر مستقیم معمولاً میزان تلقیح در حدود ۲ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر می‌باشد. میزان تلقیح مایه کشت‌ها بسته به توصیه شرکت‌های سازنده آن متفاوت است (Robinson et al, 2006) . در روش مستقیم مایه کشت به صورت تغلیظ شده، منجمد و یا خشک شده انجمادی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گونه مایه کشت‌ها لزوم به کارگیری اتاق کشت را منتفی کرده و هزینه عملیات و تجهیزات را کاهش می‌دهند. دمای بهینه برای فعالیت استارترها ℃ ۴۰-۴۵ می‌باشد (Tamime & Robinson, 2007). دمای عمومی و رایج تخمیر ماست ℃ ۴۲ است. اگرچه بعضی از تولیدکنندگان ماست دمای ℃ ۴۰ را ترجیح می‌دهند. در دمای پایین زمان تشکیل ژل افزایش خواهدیافت و سایز اجزاء کازئین هم متعاقباً بزرگتر خواهندبود (به علت کاهش بر همکنش‌های هیدروفوب). در نهایت یک لخته سفت ایجاد شده و در نتیجه آب‌اندازی کمتر می‌گردد (Lucey, 2002). استارتر ماست، لاکتوز شیر را برای نیازهای انرژی مصرف کرده و اسید لاکتیک و ترکیبات دیگری تولید می‌کند. با تولید تدریجی اسید لاکتیک به علت حل شدن فسفات یا سیترات کلسیم میسل کازئین ناپایدار شده و به دنبال آن پروتئین‌های آب پنیر نیز دناتوره می‌شود. تجمع میسل‌های کازئین با رسیدن به نقطه ایزوالکتریک تشدید می‌شود (Tamime & Robinson, 2007).

۲-۲-۵- سرد کردن:

ماست پس از مرحله تخمیر باید سریعاً تا دمای ℃ ۵-۴ سرد شود تا از بروز پدیده پس اسیدسازی جلوگیری به عمل آید. بهترین روش سرد کردن بسته‌های ماست قالبی استفاده از حمام آب یخ است که راندمان حرارت‌گیری بالاتری در مقایسه با جریان هوای سرد دارد.

Weisby -1
Saco -2

۲–۲–۶– بسته بندی:

بسته بندی مناسب ماست باعث افزایش ماندگاری محصول تا زمان مصرف می‌شود. برای محصولات پروبیوتیک خصوصاً محصولاتی که دارای بیفیدوباکتر هستند مسئله بسته‌بندی بسیار مهم می‌باشد چرا که پتانسیل اکسیداسیون احیا و حضور اکسیژن در زنده‌مانی آنها بسیار اثرگذار می‌باشد. برای این منظور ظروف شیشه‌ای در مقایسه با ظروف پلاستیکی مناسب‌تر هستند. همچنین باید از آلوده نشدن ماست پس از فرآیند حرارتی اطمینان حاصل شود، زیرا آلودگی علاوه بر عوارض سوء احتمالی بر خواص حسی فرآورده، منجر به تولید ترکیبات مضر شده و از قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها می‌کاهد.

۲–۳– جلوگیری از بیش اسیدی شدن:

بیش اسیدسازی پدیده‌ای است که با تنظیم pH (بیشتر از ۵) و اعمال شوک حرارتی به ماست (قبل از افزودن کشت پروبیوتیک) به راحتی قابل کنترل می‌باشد. همچنین دماهای پایین نگهداری (۴-۳ ℃) و بهبود ظرفیت بافری ماست با روش‌های مختلف از جمله افزدن پروتئین تغلیظ شده آب پنیر (WPC) می‌تواند مانعی برای این رخداد به شمار رود (Christofer et al, 2009 ; Kneifel et al, 1993).

ثابت شده‌است که افزودن پروتئین آب پنیر تغلیظ شده با بالا نگهداشتن pH طی دوره نگهداری قابلیت رشد پروبیوتیک‌ها را افزایش می‌دهد. در واقع می‌توان گفت عوامل رشد ترکیباتی هستند که به طور مستقیم به عنوان منابع غذایی یا انرژی به مصرف باکتری‌ها می‌رسند، حال آنکه ترکیبات محرک رشد ترکیباتی هستند که به نحوی به رشد پروبیوتیک‌ها کمک می‌کنند. مشتقات پروتئینی آب پنیر از جمله‌ی عوامل محرک رشد به شمار می‌روند. پروتئین آب پنیر تغلیظ شده، غنی از اسیدهای آمینه گوگرددار است (Christofer et al, 2009). این اسیدهای آمینه طی حرارت‌دهی آزاد شده و پتانسیل احیا را کاهش می‌دهند.

۲-۴- انواع ماست:

- ✓ **ماست قالبی**[11]:

ماستی که عمل تشکیل لخته در داخل ظروف بسته بندی صورت می‌گیرد، بدون اینکه بافت آن به هم خورده شود.

- ✓ **ماست هم زده**[12] :

در پروسه‌ی تولید این محصول عمل تشکیل لخته در تانک‌ها صورت گرفته و سپس به ظروف بسته بندی منتقل می‌گردد. این ماست از نظر بافت نسبت به ماست قالبی دارای بافتی به همخورده و شکسته شده‌است و کاربرد تجاری دارد.

- ✓ **ماست میوه‌ای**:

به ماستی گفته می‌شود که از تکه‌های میوه، پالپ یا پوره میوه در آن استفاده شده‌است و تکه‌های میوه در ته ظرف یا بالای ظرف مشاهده می‌شوند.

- ✓ **ماست پنیری**:

همان پنیر تازه یک روزه که از جداشدن پروتئین آب پنیر به دست می‌آید. طعم و مزه آن شبیه خامه ترش شده و از نظر بافت مثل پنیر خامه‌ای تازه است. مدت زمان نگهداری این ماست ۱۴-۷ روز می-باشد.

- ✓ **ماست منجمد**:

به ماستی گفته می‌شود که پس از تولید منجمد می‌شود.

- ✓ **ماست نوشیدنی شیرین**:

ماست هم زده‌ای است که به آن شیر و مواد طعم‌دهنده مثل تکه‌های میوه افزوده شده‌است. مدت زمان نگهداری چنین ماستی ۱۰-۴ روز است چون بعد از افزودن شیر تازه pH ماست افزایش می یابد.

- ✓ **ماست خشک شده**[13]:

ماستی که توسط آفتاب برای مدت طولانی خشک شده و در ترکیه kurut نامیده می‌شود.

1- set yoghurt
2- stirred yoghurt
3- kurut

۲–۵– غذای عملگرا[۱۴]:

اهمیت ارتباط تغذیه مناسب و صحیح بر سلامت انسان بر هیچ کس پوشیده نیست. در نتیجه لازم است محصولات غذایی و غذاهای فرآوری شده، مواد مغذی خود را حفظ نماید. مفهوم غذای فراسودمند یا عملگرا اولین بار در ژاپن و بعد از سال ۱۹۸۰ معرفی گردید. به عبارتی غذاهایی که با ترکیبات خاصی غنی‌سازی شده و بر روی یک یا چند عملکرد ویژه در بدن مؤثرند، غذای عملگرا نامیده می‌شوند. در دهه‌ی اخیر، تولید غذاهای فراسودمند با سرعت بالایی رو به رشد است. تولیدات پروبیوتیکی بدلیل اثرات مفیدشان در ارتقاء سلامت روده و توانایی در پیشگیری و درمان بیماری‌ها، از پیشرفت بالقوه‌ای برخوردار هستند.
ممکن است به جای غذاهای عملگرا، از اسامی چون مواد مغذی، غذاهای درمانی و یا غذاهای داروئی نیز استفاده شود.

۲–۵–۱– پروبیوتیک ها:

کلمه پروبیوتیک از واژه یونانی پروبیوس به معنای حیات‌بخش گرفته شده و متضاد کلمه پادزیست به مفهوم ضد حیات است. پروبیوتیک‌ها باکتری‌های سودمندی هستند که در بسیاری از مواد غذایی وجود دارند و می‌توانند به منظور ایجاد اثرات سلامتی بخش به مواد غذایی از جمله ماست اضافه گردند. شیر و محصولات لبنی یکی از ۴ گروه عمده از غذاهایی هستند که تعادل را در رژیم غذایی ایجاد می‌کنند (Ramchandran , 2009).

علاقه انسان به استفاده از پروبیوتیک‌ها برای حصول سلامتی به سال ۱۹۰۸ بر می‌گردد. زمانی که الی مچینکف روسی اظهار کرد که بشر می‌تواند از شیر تخمیر شده با لاکتو باسیلوس برای طولانی شدن عمر استفاده کند (Tamime et al, 2005).

جنس لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتر دو نوع معمول پروبیوتیک استفاده شده در فراورده‌های شیری هستند. طبق تعریف، پروبیوتیک عبارتست از مکمل میکروبی که از طریق متعادل‌سازی میکروب‌های بومی روده، اثرات مفید بر بدن اعمال می‌کند (Charteris et al, 1997).

اگر تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در حین ورود به دستگاه گوارش و روده انسان از حد مشخصی کمتر باشد قادر به ایفای اثرات سودمند سلامت‌بخش و درمانی خود نخواهند بود (Souza & Saad, 2009). طبق توصیه IDF و بسیاری از مقالات، حداقل میزان باکتری پروبیوتیک در محصولات لبنی باید 10^{6}-10^{7} cfu/g باشد. در استاندارد برخی کشورها مانند آرژانتین، پروگوئه، برزیل و ایران تعداد $\geq 10^{6}$ و در ژاپن $\geq 10^{7}$ پذیرفته شده‌است. عوامل متعددی از جمله pH پایین، حضور هیدروژن پراکسید و اکسیژن محلول، غلظت متابولیت‌هایی چون اسیدلاکتیک (پس اسیدسازی) و اسیداستیک، ظرفیت بافری محصول، دمای نگهداری، ترکیبات آنتی باکتریال و وجود محلول-ها (فشار اسمزی بالا) بر زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک مؤثر است. همچنین اسیدیته پایین محصولات تخمیری شیر علت زنده مانی پایین باکتری‌های پروبیوتیک در این محصولات است (Donkor et al, 2006).

Functional foods - 1

از دیگر محصولات پروبیوتیک موجود در بازارهای جهانی می توان به آبمیوه‌ها، دسرها، انواع پنیر، شیرهای تخمیری، ماست‌های نوشیدنی و منجمد، بستنی و محصولات تخمیری سویا اشاره کرد (Bolduc et al., 2006).

بنابراین بهبود زنده‌مانی پروبیوتیک در محصولات غذایی مختلف، مخصوصاً محصولات لبنی تخمیری و نیز در دستگاه گوارش از جمله مهمترین نگرانی‌ها در صنایع غذایی می‌باشد.

۲-۵-۲- ایمنی در مصرف پروبیوتیک‌ها:

امروزه به علت اثرات سلامت بخشی پروبیوتیک، این باکتری‌ها در فرمولاسیون بسیاری از غذاها و داروها به خصوص فراورده‌های شیری تخمیری به کار گرفته می‌شود. گونه‌های پروبیوتیکی مورد استفاده روز به روز در حال افزایش هستند و این مسأله احتمال خطر را در پی مصرف آن‌ها مطرح کرده‌است. مسئله ای که باید بیشتر مورد ارزیابی قرار گیرد شناخت بیشتر و کامل‌تر واکنش پروبیوتیک‌ها با میزبان و میکروب‌های کلونیزه شده از طریق استفاده از تکنولوژی‌های توالی‌یابی ژنومیک ارزان‌قیمت و در دسترس است که برای اطمینان خاطر از ژن‌های نگران‌کننده برای گونه‌های پروبیوتیک مدنظر طراحی شده‌اند. بعضی از گونه‌های لاکتوکوکوس و لاکتوباسیلوس جزو گروه GRAS معرفی شده‌اند اما انواع پاتوژن آن‌ها نیز وجود دارد. دانشمندان به صورت تئوری اثرات جانبی را برای باکتری‌های پروبیوتیک عنوان کرده‌اند که به صورت زیر می‌باشد:

عفونت‌های سیستماتیک، فعالیت‌های مضر متابولیکی، تغییر در سیستم دفاعی و انتقال ژن.

۲-۵-۳- اثرات پروبیوتیک بر میزبان:

مطالعات گسترده‌ای که در زمینه پروبیوتیک‌ها و اثرات آن بر میزبان صورت گرفته، نتایج مفید و درمانی آن-ها را تصدیق کرده‌است. به گونه‌ای که امروزه پروبیوتیک‌ها و محصولات پروبیوتیک به عنوان مواد سالم شناخته می‌شوند. استفاده از پروبیوتیک‌ها به حفظ سلامت و قدرت بدن، مبارزه با بیماری‌های روده‌ای و سایر بیماری‌ها کمک می‌کند(Robinson, 1999) . در پی مطالعات کلینیکی روی تعدادی از پروبیوتیک‌های خاص که به عنوان میکروب بی‌خطر برای بیمارانی که سیستم ایمنی ضعیفی داشتند (مبتلایان به HIV، نوزادان، افراد مسن و ..) مشخص شد که استفاده از این باکتری‌ها عوارض خاصی را در پی نداشته‌است.

اگرچه مشخص شده که در مورد بیمارانی که سیستم ایمنی ناکارامد دارند قبل از استفاده باید تحقیقات مناسب و کافی صورت پذیرد و استفاده از مدل‌های حیوانی برای بررسی عفونت‌زایی پروبیوتیک‌های خاص، قبل از استفاده برای انسان لازم و ضروری است.