بیست و یکمین کنگره ملی
علوم و صنایع غذایی ایران
۷ تا ۹ آبان ۱۳۹۲ – دانشگاه شیراز
21st National Congress of Food Science and Technology

پروبیوتیک در محصولات گوشتی

نگین بهنام فر[1*] ، پیمان مهستی شتربانی[2] ، نفیسه سلطانی زاده[3]

*1- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم وتحقیقات تهران

2-دانشیار گروه علوم وصنایع غذایی دانشگاه علوم وتحقیقات تهران

3-استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه صنعتی اصفهان

Behnamfar@hotmail.com

چکیده : باکتری‌های پروبیوتیک به واسطه اثرات مفیدی که بر سلامتی انسان دارند، در تولید مواد غذایی به‌کار می‌روند. از جمله این اثرات می‌توان به بهبود عملکرد سیستم ایمنی و جلوگیری از سرطان و تصلب شراین اشاره نمود. همچنین این میکروارگانیسم‌ها به واسطه تولید باکتریوسین و ترکیبات ضد میکروبی با جرم مولکولی کم، از رشد پاتوژن‌ها جلوگیری می‌نمایند. .برای دستیابی به اثرات سلامت بخش این گونه فراورده‌ها، تعداد نهایی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک باید به 10^6 در هر گرم افزایش یابد. فرآورده‌های گوشتی محیط مناسبی برای رشد باکتری‌های پروبیوتیک هستند اما برای تولید این محصولات باید بر محدودیت‌هایی از جمله میکرو فلور طبیعی گوشت، استفاده از نیتریت و نمک، a_w پائین و عدم وجود ترکیبات قندی فائق آمد.

واژه های کلیدی : "*پروبیوتیک*"؛ *محصولات گوشتی تخمیری*"*باکتری های اسید لاکتیک*.

مقدمه

در میان انواع متفاوت غذاهای فراسودمند، پروبیوتیک‌ها سهم زیادی از بازار اینگونه مواد غذایی را به خود اختصاص داده‌اند. اگرچه پروبیوتیک‌ها بیشتر در نوشیدنی‌های لبنی، فرآورده‌های غله‌ای و آب‌میوه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند اما صنعت گوشت نیز در راستای تولید محصولات جدید، به تولید اینگونه محصولات پرداخته است. اگرچه اخیراً فرآورده‌های گوشتی به خاطر میزان چربی و استفاده از برخی افزودنی‌ها در فرمولاسیون توسط مردم، به عنوان محصولات ناسالم در نظر گرفته می‌شوند اما افزودن پروبیوتیک می‌تواند باعث بهبود اثرات سلامت‌بخش در ارتباط با باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) شود و به افزایش مصرف محصولات کمک کند. در تولید محصولات گوشتی پروبیوتیک، تنها استفاده از گونه‌های باکتریایی با ویژگی‌های پروبیوتیکی مستند مجاز است. اینها معمولاً گونه‌های جدا شده از روده انسان هستند که باید بتوانند با باکتری‌های موجود در گوشت و محیط، رقابت کنند و همچنین توانایی زنده ماندن در فرایند تخمیر، خشک کردن، سرد کردن و نگهداری را داشته و با تکثیر به تعداد زیاد، اثرات مفیدی بر سلامتی به جا گذارند. بنابراین انتخاب گونه میکروبی مناسب مهم خواهد بود.

فرآورده‌های گوشتی تخمیری

نگهداری گوشت توسط تخمیر از طریق میکروارگانیسم‌های طبیعی برای هزاران سال مورد استفاده بوده است. در طی این واکنش‌ها مواد زیادی از جمله اسید لاکتیک، اسید پیرویک، الکل‌ها، آلدئیدها، کتون‌ها و اسید کربوکسیلیک در محصولات تشکیل می‌شود که بر کیفیت و ماندگاری محصول اثر می‌گذارد. سوسیس تخمیری به عنوان مخلوطی از گوشت لخم، چربی، نمک، شکر و ادویه که در پوشش قرار داده می‌شود و در معرض تخمیر و خشک کردن قرار می‌گیرد، تعریف می‌شود. تخمیر به صورت خود به خودی توسط عملکرد باکتری‌های طبیعی موجود در گوشت اتفاق می‌افتد. در فرایند صنعتی، فلور میکروبی که مسئول تخمیر است به عنوان کشت آغازگر شناخته می شود. کشت آغازگر از مخلوط انواع متفاوت میکروارگانیسم‌ها تشکیل شده که هرکدام عملکرد خاصی دارند. کشت‌های آغازگر گونه‌های هتروفرمنتاتیو اختیاری هستند که از هگزوزها، اسید لاکتیک و همچنین از پنتوزها، اسید لاکتیک و اسید استیک تولید می کنند. بیشتر گونه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک معمول در کشت‌های آغازگر *Lactobacillus sakei, L. curvatus, L. Plantarum, L. Lactis, L. Casei, Pediococcus Pentosaceus, p. Acidilactici* می باشند. *L. plantarum, L. curvatus, L. sakei* بیشترین LAB جدا شده از سوسیس‌های تخمیری هستند که خودشان را با محیط وفق داده، طی تخمیر در سوسیس غالب شده و فرایند رسیدن و رشد میکروارگانیسم‌های نامطلوب را کنترل می‌کنند. گونه‌های متفاوت LAB، مقدار متفاوتی اسید لاکتیک تولید می‌کنند که باید در هنگام انتخاب گونه‌های LAB برای محصولات گوشتی خاصی در

نظرگرفته شود. برای اینکه فرایند تخمیر مناسب باشد و مقدار اسید لاکتیک مطلوب حاصل شود سوسیس باید در دمای مناسب برای باکتری‌های اسید لاکتیک (^{o}C 38-27) برای 15-10 ساعت نگهداری شود. بنابراین باکتری‌ها شروع به رشد کرده و کربوهیدرات‌ها به اسید لاکتیک تبدیل می شوند.

جدول 1- گونه‌های میکروارگانیسمی رایج که معمولاً به عنوان کشت آغازگر در فرآورده‌های گوشتی تخمیری به کار می روند.

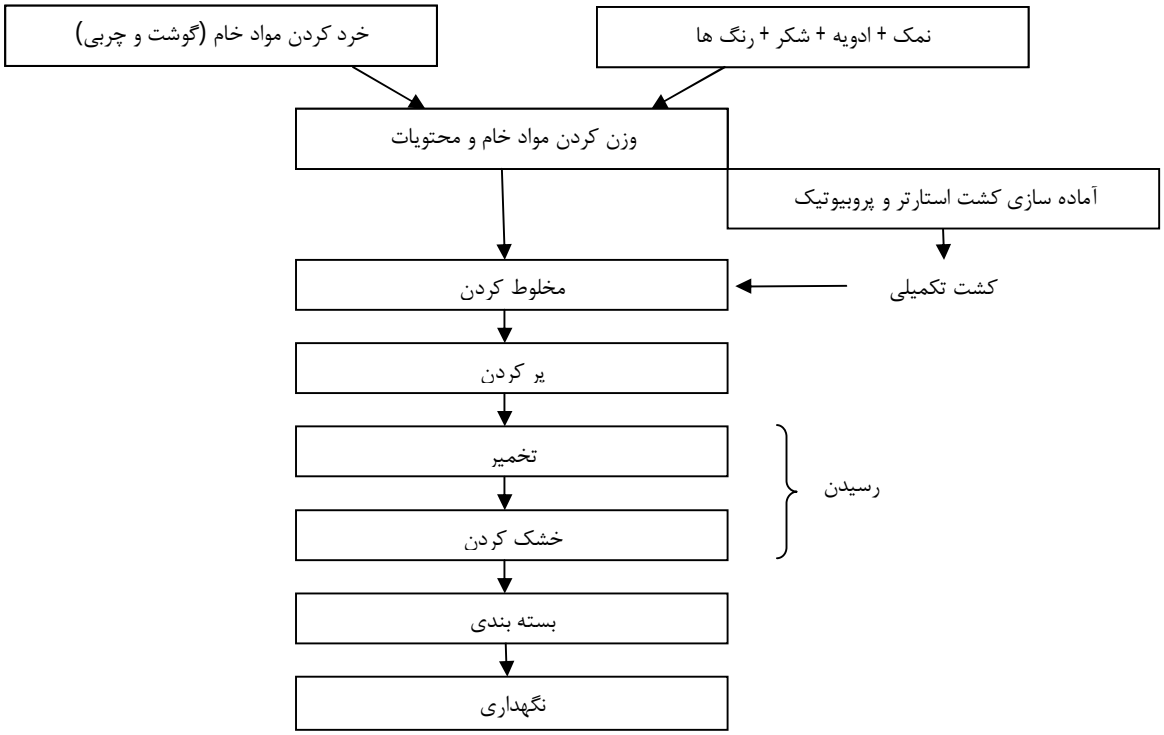
میکروارگانیسم	گونه ها
باکتری های اسید لاکتیک	*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، المنتاریوس ،بروویس ،کاسئی ، کرواتوس ،فرمنتوم ، پلانتاروم، پنتوسوس ، ساکئی ،لاکتیس پدیوکوکوس اسیدی لاکتیس ،پنتوساسئوس*
اکتینوباکتر	*استرپتومایسس گریزئوس ، بیفیدوباکتریوم*
استافیلوکوکوس	*استافیلوکوکوس زایلوز، کارنوسوس ، یوتیلیس ، اکوروم*
هالوماناداسه	*هالوموناس الونگاتا*
انتروباکتر	*آئروموناس*
کپک	*پنی سیلیوم نالژیونس ، کریزوژئوم ، کاممبرتی*
مخمر	*دربایومایسس هانسنی ، کاندیدا فاماتا*

فرآورده‌های گوشتی پروبیوتیک

باکتری‌های پروبیوتیک باید پایداری خود را در شرایط نامطلوب تولید سوسیس تخمیری مانند pH پائین(کمتر از5)، مقدار نمک (3-2%) و نیتریت زیاد (حدود 120ppm) و a_w پائین (کمتر از0/85) حفظ کنند. کشت‌های پروبیوتیک باید توانایی رشد سریع در طی تخمیر داشته باشد و به آسانی در مقیاس‌های صنعتی رشد کنند و به فرایند لیپوفیلیزاسیون و انجماد مقاوم بوده، عمر ماندگاری طولانی‌تری را فراهم کنند و هم چنین به کیفیت حسی محصول نهایی کمک نمایند. براساس Arihara و Itoh (2000) و Sameshima و همکاران (1998) افزودن 3% کلرید سدیم و 200ppm سدیم نیتریت به سوسیس تخمیری در ژاپن به منظور حفظ امنیت میکروبی محصول اجباری می‌باشد. بنابراین استفاده محیط مقاوم به نمک اولین شرط برای تولید سوسیس با ویژگی‌های پروبیوتیک است. Sameshima و همکاران (1998) مقاومت 202 گونه *لاکتوباسیلوس* با منشا روده‌ای به سدیم نیتریت و سدیم کلرید در محیط کشت مایع را آزمایش کرده و دریافتند که گونه‌های *L. acidophilus, L. rhamnosus, L. paracasei* به این نمک‌ها مقاوم هستند. نتایج مشابهی توسط Macedo و همکاران (2005) به دست آمد و مشخص گردید *L. rhamnosus ,L. casei, L. paracasei* به استفاده همزمان از نیتریت سدیم و کلرید سدیم به ترتیب با غلظت 200ppm و 3% مقاوم هستند. مقاومت به اسید و نمک دو ویژگی اصلی هستند که توانایی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک برای زنده ماندن به هنگام عبور از ناحیه معده‌ای-روده‌ای را نشان می‌دهند. Erkkila و Petaja (2000) مقاومت گونه‌های *L. pentosus, L. sakai, Pediococcus pentosaceus, P. acidilactici* به pH پائین را گزارش دادند و مشاهده کردند که در H 4 و 5 تعداد سلول‌های مقاوم این گونه‌ها در مقایسه با حجم اولیه بدون تغییر باقی می‌ماند و نشان می‌دهد که میزان رشد کشت پروبیوتیک توسط pH پائین تحت تاثیر قرار نمی‌گیرد. براساس مطالعات Erikkila و Petaja (2000) و Pennacchia و همکاران (2004) غلظت متوسط نمک درناحیه روده‌ای انسان 0/3% است بنابراین این غلظت بحرانی قابل استفاده برای انتخاب باکتری پروبیوتیک است.

در میان باکتری‌های اسید لاکتیک آغازگر*Lactobacillus brevis, L. plantarum, L. fermentum, pedioccus pentosaceus* به عنوان پروبیوتیک مشخص شده‌اند. همچنین گونه‌های *L. sakei, L. acidilactici* به خاطر زنده ماندن آنها تحت شرایط اسیدی و غلظت بالای نمک به‌عنوان پروبیوتیک بالقوه در فرآورده‌های گوشتی مورد استفاده قرار می‌گیرند. محصولات گوشتی تخمیری خشک، معمولا حرارت داده نمی شوند یا فقط حرارت ملایمی داده می شوند که برای انتقال باکتری های پروبیوتیک به ناحیه معده‌ای-روده‌ای انسان مناسب است به علاوه شبکه گوشت از زنده ماندن لاکتوباسیل‌های پروبیوتیک طی هضم معده‌ای-روده‌ای حمایت می‌کند. محیط کشت پروبیوتیک باید به خوبی با شرایط موجود در محصولات تخمیری وفق داده شود. بنابراین اثرات منفی بالقوه محیط گوشت و پایداری سلول به خصوص در ارتباط با میزان زیاد نمک، a_w و pH پائین به خاطر اسیدی شدن و خشک کردن باید در نظرگرفته شود. تولید محصولات گوشتی پروبیوتیک بسیار مشکل‌تر از دیگر محصولات پروبیوتیک است که دلیل آن در خصوصیات مواد خام یافت شده است. گونه‌های باکتری‌های پروبیوتیک که در تولید محصولات گوشتی تخمیری می‌تواند استفاده شود باید در محصولات تخمیری زنده بمانند و بر دیگر میکروارگانیسم‌های موجود در محصول چیره شوند. لاکتوباسیل‌ها بیشترین اهمیت را در تخمیر گوشت به خاطر توانایی آنها در اسیدی کردن و تخمیر موثر و سریع دارند. بنابراین از پیشرفت فساد و رشد باکتری‌های بیماری‌زا جلوگیری می‌کنند. پروبیوتیک‌ها عمدتاً سویه‌هایی از جنس *بیفیدوباکتر* و *لاکتوباسیلوس* می‌باشند. همچنین *لاکتوکوکوس، انتروکوکوس، پروپیونی‌باکتریوم* و *ساکارومایسس* به خاطر توانایی در بهبود سلامتی میزبان، به عنوان پروبیوتیک در نظر گرفته می‌شوند. Arihara و همکاران (1998) استفاده از *Lactobacillus gasseri* برای بهبود امنیت میکروبی محصولات گوشتی تخمیری را مطالعه کرده‌اند. همچنین استفاده از *Lactobacillus rhamnosus, L. Paracasei* برای تخمیر محصولات گوشتی، توسط Sameshima و همکاران (1998) مورد مطالعه قرار گرفته است.

کشت پروبیوتیک می‌تواند به عنوان بخشی از کشت استارتر یا به عنوان کشت تکمیلی طی مخلوط کردن به سوسیس‌های تخمیری افزوده شود. کشت پروبیوتیک می تواند به خمیر سوسیس به صورت مایع در غلظت بالا یا به صورت لیپوفیلیزه شده افزوده شود. اگرچه افزودن کشت لیپوفیلیزه شده می‌تواند زمان تخمیر را به تاخیر اندازد و پایداری محیط را در محصول نهایی کاهش دهد. برای کاهش چنین مشکلاتی بهتر است میکروارگانیسم‌ها قبل از لیپوفیلیزه شدن، انکپسوله شوند.



نمودار 1: نمودار فرایند سوسیس های تخمیر خشک با افزودن باکتری های پروبیوتیک

ترکیبات تولیدی توسط میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در فرآورده‌های گوشتی

یکی از مهمترین خصوصیات *لاکتوباسیلوس* در محصولات گوشتی تخمیری تولید اسید لاکتیک است. تولید اسید اثر مثبتی بر ایمنی و خصوصیات حسی محصول دارد. کاهش pH در سوسیس تخمیری موجب کوآگولاسیون پروتئین‌های میوفیبریلی شده، منجر به افزایش سفتی و انسجام محصول نهایی می‌شود و به طعم و رنگ قرمز محصول کمک می‌کند. جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های عامل فاسد و بیماری‌زا با کاهش سریع pH و تولید اسیدلاکتیک در مقادیر مناسب امکانپذیر است. همچنین کاهش سریع pH طی تخمیر به جلوگیری از تجمع آمین‌های بیوژنیک که برای سلامتی مضر هستند، کمک می‌کند. باید توجه نمود که باکتری‌های اسید لاکتیک که به عنوان پروبیوتیک استفاده می‌شوند ایزومر (+) L اسید لاکتیک تولید نموده و ایزومر (-) D اسید لاکتیک تولید نمی‌کنند. (+)L اسید لاکتیک اثر بازدارندگی بیشتری بر میکروارگانیسم‌های نامطلوب دارد. علاوه بر این، فرم (-) D اسید لاکتیک توسط بدن انسان متابولیزه نمی‌شود و می‌تواند مشکلات سلامتی در مصرف کننده ایجاد کند.

تعدادی از محققان دریافتند که برخی از باکتری‌های پروبیوتیک مانند *لاکتوباسیلوس* و *بیفیدوباکتریوم* با تبدیل اسیدهای چرب غیراشباع به اسید لینولئیک مزدوج (CLA) از طریق ایزومریزاسیون، هیدروژنیزاسیون و دهیدراسیون بر پروفیل اسید چرب اثر می‌گذارند. با تولید ترکیبات بهبود دهنده سلامتی مثل CLA، پروبیوتیک‌ها نقش فراسودمند خود را نشان می‌دهند. باکتریوسین‌ها، پپتیدها یا پروتئین‌هایی هستند که توسط میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شوند و از رشد باکتری‌های گرم مثبت به خصوص *لیستریا منوسیتوژنز* جلوگیری می‌کنند یا آنها را از بین می‌برند. استفاده از کشت‌های تولید کننده باکتریوسین در فرآورده‌های گوشتی، اثرات مفید قابل توجهی برای سلامتی مصرف کنندگان و امنیت محصول در بر دارد.از آنجایی که مصرف باکتریوسین‌ها مسمومیت ایجاد نمی‌کند، این ترکیبات می‌توانند به عنوان نگهدارنده‌های طبیعی مورد استفاده قرار گیرند. تولید باکتریوسین‌ها در تعدادی از باکتری‌های اسیدلاکتیک جدا شده از فرآورده‌های گوشتی مانند *L. sakei, L. curvatus, L. plantarum, L. brevis, L. casei* مشخص شده است.

آمین‌های بیوژنیک توسط دکربوکسیلاسیون میکروبی اسیدهای آمینه موجود در گوشت یا به طور طبیعی توسط میکروارگانیسم‌ها یا کشت‌های آغازگر تولید می‌شوند. آمین‌های بیوژنیک مثل اسپرمیدین، پوتریسین، کاداورین، تیرامین، هیستامین و تیرپتامین می‌توانند باعث اثرات مسمومیت‌زایی به خصوص در مصرف کنندگان با نقص آمینو اکسیداز شوند. در محصولات گوشتی تخمیری، میکروارگانیسم‌های تولید کننده آمین‌های بیوژنیک به خاطر میزان پروتئین زیاد و فعالیت پروتئولیتیکی که در طی زمان رسیدگی طولانی رخ می‌دهد محیط مطلوبی برای فعالیت دارند. برخی گونه‌های *لاکتوباسیلوس* توانایی تولید آمینو اسید دکربوکسیلاز دارند که از تجمع آمین‌های بیوژنیک در محصول جلوگیری می‌کند. بنابراین انتخاب باکتری‌های پروبیوتیک برای استفاده در محصولات گوشتی تخمیری باید بر اساس توانایی آنها در اکسید کردن آمین‌های بیوژنیک تولید شده در محصول باشد و از تشکیل آمین‌های جدید، از طریق کاهش pH که مانع رشد میکروارگانیسم‌های تولید کننده آمین می شوند، جلوگیری نمود. در محصولات گوشتی تخمیری، فعالیت آمین اکسیداز در *L. casei* و *L. plantarum* مشخص شده است.

عمر ماندگاری فرآورده‌های گوشتی پروبیوتیک

عمر ماندگاری محصولات گوشتی تخمیر شده معمولاً توسط فساد باکتریایی محدود نمی‌شود اما فساد فیزیکی و شیمیایی بر عمر ماندگاری مؤثرند. مقاومت چربی به اکسیداسیون، محدودیت اصلی در عمر ماندگاری محصولات گوشتی تخمیر شده خشک است.Navarro و همکاران (1997) گزارش کردند که هیدرولیز آنزیمی طی تخمیر به پراکسیداسیون چربی در طی تخمیر سرعت می دهد. علاوه بر این، ارتباط قوی بین اکسیداسیون میوگلوبین و لیپید، به خصوص در گوشت تازه، ثابت شده است. بسیاری از تحقیقات انجام شده در مورد استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک در مواد غذایی فقط بر بقای آنها در طی تولید و نگهداری متمرکز شده و مطالعات کمی اثر کمک فرایندها بر مقاومت اکسیداتیو محصولات گوشتی خام را در نظر گرفته‌اند. فرایند اکسیداسیون در فرآورده‌های گوشتی پروبیوتیک منجر به تجزیه چربی و پروتئین شده و سبب تخریب رنگ، بافت و مزه می‌گردد. این امر طعم، رنگ، ارزش تغذیه‌ای و ماندگاری سوسیس تخمیری خشک را کاهش می‌دهد. برای افزایش عمر ماندگاری محصولات گوشتی، آنتی اکسیدان‌های خاصی به آن افزوده می‌شوند. سدیم آسکوربات معروف‌ترین ترکیب آنتی‌اکسیدان افزوده شده به سوسیس تخمیری خشک در صنعت گوشت است. مصرف کنندگان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مثل رزماری، مریم گلی و عصاره چای سبز را ترجیح می‌دهند که نه تنها به خاطر ویژگی‌های بهبود سلامتی بلکه به خاطر ویژگی‌های آنتی اکسیدانی بهتر آنها در مقایسه با آنتی اکسیدان‌های سنتزی است.

نتیجه گیری

فرآورده‌های گوشتی محیط مناسبی برای رشد باکتری‌های پروبیوتیک هستند اما برای تولید این محصولات باید بر محدودیتهایی از جمله میکرو فلورطبیعی گوشت، استفاده از نیتریت و نمک ، a_w پائین و عدم وجود ترکیبات قندی فائق آمد. گونه های باکتری پروبیوتیک که می تواند در محصولات گوشتی تخمیر شده استفاده شود باید توانایی زنده ماندن در شرایط محصولات تخمیری داشته باشد و هم چنین بر میکروارگانیسم های دیگر در محصول نهایی چیره شوند. کیفیت محصول نهایی به شدت به دوره رسیدگی و انبارداری وابسته است زیرا بر ویژگی های حسی، تغذیه ای و ایمنی اثر می گذارد .در کنار اثرات مفید استفاده از پروبیوتیک ها ، آمین های بیوژنیک، یکی از عوامل خطر در ارتباط با مصرف این نوع فراورده های گوشتی هستند.بدین منظور نه تنها کشت های مورد استفاده نباید آمین بیوژنیک تولید کنند بلکه باید مانع از رشد باکتری های تولید کننده این ترکیبات نیز شوند.

مراجع

1. Kołozyn-Krajewskaa, D., Z. J. Dolatowski. 2012. Probiotic meat products and human nutrition. *Process Biochemistry*. 47: 1761–1772.

2. Vuyst, L. D., G. Falony, F. Leroy. 2008. Probiotics in fermented sausages. *Meat Science*. 80: 75–78.

3. Macedo, R. E. F., S. B. Pflanzer and C. L. Gomes. 2012. Probiotic meat products. PP. 85-102. *In*: E. Regobelo. *Probiotic in Animals*. InTech.

4. Pennacchia C, Eracolini D, Blaiotta G, Pepo O, Mauriello G, Villani F. *2004*. selection of lactobacillus strain from fermented sausages for their potential use as probiotic. *Meat Science. 67 :309-317*

5. Erkkila S, Petaja E. *2000*. screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use. *Meat Science . 55 :297-300*

6. Arihara K, Itoh M. 2000. UV-induced *Lactobacillus gasseri* mutant resisting sodium choloride and sodium nitrite for meat fermentation. *International Journal of food Microbiology*.56:227-230

7. Arihara K, Ota H, Itoh M, Kondo Y, Sameshim T, Yamanaka H. 1998. *Lactobacillus acidophilus* group lactic bacteria applied to meat fermentation. *Journal of food science*. 63 :544-547

8. Navarro JL, Nadal MI, Izquierdo L, Flores J. 1997. Lipolysis in dry cured sausage as affected by processing condition. *Meat Science*. 45: 161-168