



مروری بر پروبیوتیک‌ها در تکنولوژی غلات

علی داوری، دکتر بابک غیاثی طرزی

(هئیت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات)

علی داوری (آدرس ایمیل: davari.ali464@gmail.com)

دکتر بابک غیاثی طرزی (آدرس ایمیل: babakghiassi@gmail.com)

چکیده

غلات منابع اصلی تغذیه مردم در دنیا و به خصوص ایران و هند هستند. فرآیند های فرآوری های مختلفی روی همه غلات (خیساندن، مالت سازی، جوانه زنی، تخمیر، پخت و پز و ...) استفاده می شود. امروزه، تمرکز غذای فراسودمند از ارائه مکمل های غذایی به توسعه استراتژی های پروبیوتیک تغییر یافته است. مخمر پروبیوتیک برای تاثیر گذاری بر عملکرد بستر غلات در طول تخمیر بسیار مناسب است. مخمر های پروبیوتیک دارای ویژگی هایی هستند که منجر به گنجاندن آن ها در فرآیند تخمیر برای تولید فرآورده های غذایی فراسودمند مبتنی بر غلات می شود.

امروزه در صنعت غذا توجه ویژه ای به تولید محصولات فراسودمند وجود دارد که به علت تقاضای مصرف کنندگان برای خرید محصولات سلامتی بخش و مفید است. از جمله محصولاتی که اخیراً به بازار معرفی گردیده است، فرمولاسیون های غذایی پیریوتیک می باشد. هدف این دسته از محصولات ایجاد اثر مثبت بر روی ترکیبات میکروبی روده و فعالیت های آن ها است. غلات می تواند به عنوان یک سوبسترای تخمیر پذیر جهت رشد میکروارگانیسم های پروبیوتیک باشند. علاوه بر این به عنوان منبع کربوهیدرات های غیر قابل هضم بوده و در کنار افزایشی اثرات سودمند فیزیولوژیکی متعدد می تواند به طور انتخابی رشد لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتری های موجود در روده را شبیه سازی کرده و به عنوان یک پریبیوتیک عمل کند.

غلات دارای فیبر های محلول در آب همچون بتاگلوکان، آرابینوزایلان، الیگوساکارید هایی مثل گالاکتوز، فروکتو الیگوساکارید و نشاسته های مقاوم هستند که همان مفهوم پیریوتیک را دارند. جداسازی اجزاء مشخص فیبری از گونه های مختلف غلات و محصولات جانبی آن ها از طریق تکنولوژی های فرآوری مثل آسیاب کردن، الک کردن، سبوس گیری و پوستگیری به دست می آید. در نهایت ترکیبات غلات مثل نشاسته می توانند به عنوان ماده پوششی در انکپسوله کردن پروبیوتیک ها استفاده شود که سبب بهبود پایداری آن ها در طی نگهداری و افزایش زنده مانی آن ها در طی عبور از شرایط ناسازگار لوله گوارش می گردد. به طور کلی می توان این گونه نتیجه گیری کرد که در صنعت غذایی، تولید محصولات فراسودمند بر پایه غلات یک رقابت روشن بینانه است و پیشرفت تکنولوژی های جدید در فرآوری آن ها سبب افزایش پتانسیل سلامت و پذیرش محصول غذایی می گردد.

پروبیوتیک ها میکروارگانیسم های (باکتری و مخمر) زنده و فعالی هستند که با استقرار در بخش های مختلف بدن به تعداد مناسب با فعالیت زیستی خود عمدتاً از طریق حفظ و بهبود توازن فلور میکروبی روده میان میکروارگانیسم های سودمند و زیان بخش، در



بر دارنده خواص سلامت بخش برای میزبان هستند. در فرآورده های پروبیوتیک، شاخص های قابلیت زیستی، خواص حسی و مدت زمان تخمیر از فاکتور های اساسی کیفی این فرآورده ها به شمار می آیند. بشر به علت وجود مواد مغذی موثر بر سلامت، به استفاده از محصولات تخمیری تمایل فراوان دارد. اثرات سلامت بخش محصولات تخمیری عملگرا یا مستقیماً به دلیل وجود میکروارگانیسم ها، باکتری ها، مخمر ها و عملکرد آن ها در بدن میزبان می باشد (اثر پروبیوتیکی) و یا به طور غیر مستقیم نتیجه محصولات حاصل از متابولیت آن ها در حین عمل تخمیر می باشد از آن جهت که فرآورده های با پایه غلات قابلیت زیستی پروبیوتیکیشان بیشتر از فرآورده های لبنی است و از جهت دیگر از خواص حسی مطلوبی برخوردار اند و در مقایسه با فرآورده های لبنی از نقطه نظر برخی از مواد مغذی نظیر ویتامین ها، فیبر های رژیمی و املاح غنی تر هستند.

کلمات کلیدی

غلات، پروبیوتیک، پیربوتیک، غذاهای فراسودمند، کپسولاسیون

مقدمه

غلات به عنوان مهم ترین محصولات مورد استفاده برای تغذیه نسان در جهان در نظر گرفته می شود. این محصولات به دلیل کشت زیاد در مقادیر زیاد، منابع مهمی از مواد مغذی، فیتو شیمیایی ها و سایر ترکیبات فعال زیستی هستند [۱]. غلات و اجزای آنها در سال های آینده به دلیل آنتی اکسیدان ها، ویتامین ها، پروتئین ها، انرژی و فیبر غذایی که همگی برای سلامت انسان ضروری هستند که به عنوان غذاهای فراسودمند و مواد مغذی شناخته خواهند شد. غلات و اجزای آنها همچنین به عنوان بسترهای تخمیر شده برای رشد باکتری های پروبیوتیک مورد استفاده قرار می گیرند. غلات همچنین منبع خوبی از فیتوشیمیایی های مختلف مانند اسیدهای فنولیک، فلاون ها، اسید فیتیک، ترپن ها هستند اسید فیتیک، فیدوسترون ها و گلاتیون نیز فراوان است. دانه های غلات همچنین حاوی ویتامین هایی مانند B_1 ، B_2 ، B_3 و E و مواد معدنی مانند کلسیم، روی، فسفر، پتاسیم و فیبر هستند و به دلیل همه این خواص، غلات مواد مهمی برای تولید غذاهای فراسودمند هستند [۲].

غلات سرشار از مواد مغذی و زیست فعال هستند و شواهد علمی موفق و کافی ثابت کرده اند که مصرف این نوع غذاها تاثیر مثبتی بر سلامت انسان دارد. تخمیر یک فرایند متابولیکی است که از آنزیم ها برای ایجاد تغییرات شیمیایی در سوبسترا های آلی استفاده می کنند؛ بنابراین انواع مختلف غلات چندین بار فرآوری می شوند تا به شکل عالی غذای فراسودمند تولید شود [۳].

گندم، گندم سیاه، برنج قهوه ای، جو، جو دوسر، دانه کتان، محصولات سویا و پسیلیوم از رایج ترین غذاهای کاربردی مبتنی بر غلات هستند. غلات به عنوان غذاهای اصلی در سراسر جهان استفاده می شود. فرآیند تخمیر به طور گسترده در تولید کالاهای مبتنی بر غلات برای مصرف انسان مورد استفاده قرار می گیرد. دلیل استفاده از فرآیند تخمیر، بافت و طعم جذاب و ماندگاری و قابلیت هضم آن ها است. امروزه تحقیقات در مورد غذاهای فراسودمند افزایش یافته و به سمت توسعه مکمل های غذایی و تولید به روش پروبیوتیک و پری بیوتیک تحقیقات سوق داده شده است [۴].



امروزه تمایل به استفاده از محصولات فراسودمند در حال گسترش است که سبب بهبود سلامت مصرف کنندگان می گردد. محصولات فراسودمند شامل ترکیبات غذایی است که دارای اثر مفیدی بر سلامت میزبان می باشد و منجر به کاهش خطر ابتلا به بیماری های مزمن می گردد [۵]. استفاده از محصولات فراسودمند سبب کاهش ابتلا به فشار خون، کلسترول و قند خون می شود. این دسته از محصولات بیانگر مفهوم پروبیوتیک و پریبیوتیک می باشند که ترکیب میکروبی و فعالیت های روده را تحت تاثیر قرار می دهند [5] [۶] و شامل محیط کشت های کشت میکروبی منفرد یا مخلوط می باشند که بر سلامت مصرف کننده اثر می گذارند. از طریق بهبود تعادل میکروبی روده بر متابولیسم لاکتوز، کنترل عفونت دستگاه گوارش، جلوگیری از سرطان، کاهش کلسترول خون و تقویت سیستم ایمنی است [۷]. میکروارگانیسم های معمول مورد استفاده در محصولات پروبیوتیک شامل گونه های لاکتوباسیلوس مثل لاکتوباسیلوس اسیدوفیل و لاکتو باسیلوس کازئی، گونه های بیفیدوباکتریوم مثل بیفیدوباکتریوم بروی و بیفیدوباکتریوم لاکتیس می باشد [۸].

امروزه گرایش زیادی به مصرف مواد غذایی فراسودمند یعنی غذاهای دارای ارزش دارویی و تغذیه ای ویژه ای علاوه بر خواص تغذیه ای پایه به وجود آمده است. در فرآورده های پروبیوتیک، شاخص های قابلیت زیستی، خواص حسی و مدت زمان تخمیر از فاکتور های اساسی کیفی این فرآورده ها و یا دشواری های تولید آن ها به شمار می آیند. قابلیت زیستی پروبیوتیک ها در فرآورده های غذایی در درجه اول اهمیت قرار دارد.

پروبیوتیک ها میکروارگانیسم هایی هستند که اگر به تعداد کافی و به صورت زنده به مصرف کننده برسند و اثرات سلامتی بخش در میزبان بر جای می گذارند. از اثرات سلامت بخشی پروبیوتیک ها می توان به حفظ فلور طبیعی روده، ارتقاء سیستم ایمنی بدن، کاهش عدم تحمل لاکتوز در افرادی که نمی توانند لاکتوز را هضم کنند؛ کاهش سطح کلسترول خون و خواص ضد جهش زایی و ضد سرطانی آن ها اشاره کرد [۹].

در یک طبقه بندی کلی اکثر پروبیوتیک های به کار رفته در فرآورده های غذایی را لاکتوباسیلوس ها و بیفیدوباکتریوم تشکیل می دهد که بر حسب استاندارد ها، برای بروز ویژگی های سلامتی بخش پروبیوتیک ها باید به تعداد 10^6 تا 10^7 CFU از این باکتری ها در هر گرم از محصول پروبیوتیک وجود داشته باشند. کارایی پروبیوتیک ها در بدن انسان، بستگی به تعداد اولیه پروبیوتیک ها هنگام مصرف دارد و همچنین بقای آن ها بستگی به شرایط دستگاه گوارش دارد [۸].

حفظ توانایی باکتری های پروبیوتیک در مراحل تولید و همچنین شرایط نامناسب بدن مثل اسیدی بودن معده، وجود آنزیم ها و نمک های صفراوی حائز اهمیت است. برای مقابله، راهکارهایی از جمله استفاده از گونه های مقاوم به اسید، کنترل اسید در فرآورده و اضافه کردن سیستمین یا شلات کننده های اکسیژن مانند اسید آسکوربیک و ریزپوشانی استفاده شده اند [۱۰].

در دنیای مدرن، به علت تغییر سبک زندگی و تغذیه ناسالم، بیماری های مربوط به گوارش، متابولیسم و سیستم ایمنی رو به افزایش است. یکی از روش های مقابله با این مشکلات، بهره گیری از مواد غذایی عملکردی به ویژه پروبیوتیک هاست. تحقیقات متعدد نشان می دهد مصرف پروبیوتیک ها می تواند سهم قابل توجهی در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری ها داشته باشد. در سال های اخیر، افزودن پروبیوتیک ها به محصولات غذایی بر پایه غلات به عنوان یک نوآوری مهم در صنایع غذایی معرفی شده است.



نقش و ارزش تغذیه‌ای غلات

به طور معمول تخمیر لاکتیکی سبب بهبود ارزش تغذیه‌ای و هضم پذیری غلات می‌گردد. غلات دارای آمینواسیدهای محدود کننده‌ای مثل ترئونین، لایزین و تریپتوفان می‌باشد؛ بنابراین پروتئین آن در مقایسه با شیر و منابع حیوانی دارای کیفیت ضعیفی است [۱۱]. هضم پذیری پروتئین غلات نیز در مقایسه با پروتئین حیوانی کمتر می‌باشد که به علت وجود اسید فایتیک، نان و پلی فنل‌های متصل به پروتئین است که آن‌ها را غیر قابل هضم می‌کند. محققین دریافتند که تخمیر لاکتیکی غلات مختلف از جمله ذرت، سورگوم و ارزن سبب کاهش قابل توجه مقدار اسید فایتیک و تانن در آن‌ها گردیده است و دسترسی زیستی پروتئین افزایش یافت [۱۲]. مطالعات دیگر نیز بیانگر بهبود دسترسی به مواد معدنی ارزن تخمیر شده توسط کشت‌های خالص لاکتوباسیلوس و مخمرها بوده است [۱۳].

تعاریف و طبقه‌بندی پروبیوتیک‌ها

پروبیوتیک‌ها، همان‌گونه که در مقدمه اشاره شد، میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که در مقادیر مناسب مصرف می‌شوند و اثرات مفیدی بر سلامت میزبان دارند. بر اساس تعاریف سازمان بهداشت جهانی، پروبیوتیک‌ها می‌بایست زنده، فعال، و در مقادیر کافی برای اثرات Salutogenic باشند [۹].

در طبقه‌بندی‌های معمول، پروبیوتیک‌ها شامل چند گروه اصلی می‌شوند:

(۱) لاکتوباسیل‌ها (Lactobacillus spp.)

رایج‌ترین گروه، که در ساختار محصولات لبنی و فرآورده‌های پروبیوتیکی متداول است [۹].

(۲) بیفیدوباکتری‌ها (Bifidobacterium spp.)

که بیشتر در روده بزرگ یافت می‌شوند و در تولید ماست و مکمل‌های غذایی کاربرد دارند [۹].

(۳) استافیلوکوکوس و سایر باکتری‌ها

در برخی محصولات خاص، هرچند در اولویت کمتری قرار دارند [۹].

(۴) مخمرها مانند (Saccharomyces boulardii)

که در برخی مکمل‌های غذایی و نوشیدنی‌ها بکار می‌روند [۹].

ساختار و ویژگی‌های میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک



این میکروارگانیسم‌ها باید مقاوم در برابر محیط اسیدی معده و صفرا و آنزیم‌های گوارشی باشند تا بتوانند در روده زنده باقی بمانند و اثرگذاری خود را ایفا کنند. ساختار میکروبی و مشخصات فنی آنها، مانند اندازه، شکل، و خصوصیات بیوشیمیایی، اهمیت بالایی در بقای آن‌ها دارند [۱۲].

جالب است بدانید، برخی از پروبیوتیک‌ها، مانند لاکتوباسیل‌ها، به صورت اسیدهای لاکتیک تولید می‌کنند، که به حفظ محیط روده کمک می‌کند و اثرات ضد میکروبی دارند. در مقابل، برخی دیگر، مانند بیفیدوباکتری‌ها، مواد محرکی برای فعالیت ایمنی ایجاد می‌نمایند [۱۳].

پس، در مجموع، پروبیوتیک‌ها مجموعه‌ای از میکروارگانیسم‌های فعال و مقاوم هستند که می‌توانند اثرات مثبت متعددی بر سلامت انسانی داشته باشند، مشروط بر اینکه زنده و فعال در روده باقی بمانند و فعالیت‌های بیولوژیکی خود را ایفا کنند [۱۴].

جایگاه پروبیوتیک‌ها در رژیم غذایی و اهمیت مصرف آن‌ها

پروبیوتیک‌ها در رشد و تکامل طبیعی سیستم ایمنی بدن، سلامت گوارشی، و حتی سلامت روانی نقش دارند. منبع اصلی ورود پروبیوتیک‌ها به بدن، محصولات لبنی تخمیری، نوشیدنی‌های تخمیری، مکمل‌های دارویی و اخیراً محصولات بر پایه غلات می‌باشند. امروزه با محدودیت‌های عدم تحمل لاکتوز، آلرژی به پروتئین شیر و رژیم‌های گیاه‌خواری، استفاده از حامل‌های غیرلبنی برای دریافت پروبیوتیک اهمیت یافته است [۱۴ و ۱۵ و ۱۶].

مکانیزم‌های اثر پروبیوتیک‌ها

پروبیوتیک‌ها از طریق چندین مکانیزم مختلف بر سلامت انسان تأثیر می‌گذارند که در ادامه به طور اختصار توضیح داده می‌شود:

الف) تعادل میکروبی سمپتومیک روده

یکی از مهم‌ترین نقش‌های پروبیوتیک‌ها، تنظیم و حفظ تعادل میکروبیوم روده است. در بسیاری از شرایط، نسبت بین باکتری‌های مفید و مضر بر هم می‌خورد که منجر به بروز بیماری‌های گوارشی و التهابی می‌شود. پروبیوتیک‌ها با رقابت بر سر منابع غذایی و جایگاه‌های چسبندگی در جداره روده، مانع از رشد میکروارگانیسم‌های مضر می‌شوند [۱۷].

ب) تولید مواد ضد میکروبی و اسیدهای ضعیف‌کننده

پروبیوتیک‌ها قادرند اسیدهای لاکتیک، استیک، و دیگر ترکیبات ضد میکروبی تولید کنند. این اسیدها محیط اسیدی موثری در روده ایجاد می‌کنند که رشد باکتری‌های مضر و عامل عفونت‌ها را محدود می‌سازد [۱۸].

ج) تقویت سیستم ایمنی



پروبیوتیک‌ها با تحریک واکنش‌های ایمنی، ترشح سیتوکین‌ها و تنظیم فعالیت سلول‌های لنفاوی، به تقویت سیستم ایمنی بدن کمک می‌کنند. این تأثیرات ممکن است در برابر عفونت‌ها و بیماری‌های التهابی نقش داشته باشند [۱۹].

(د) بهبود هضم و جذب مواد مغذی

پروبیوتیک‌ها می‌توانند آنزیم‌های هضم‌کننده تولید کنند و عناصری مانند فیبرهای غذایی را به مواد قابل جذب تبدیل نمایند. این اثر نقش مهمی در بهبود سلامت دستگاه گوارش و بهره‌گیری بهتر از مواد مغذی دارد [۲۰].

(ذ) بیماری‌های متابولیک

مطالعات نشان می‌دهند که مصرف پروبیوتیک می‌تواند باعث کاهش وزن، کنترل سطح قند خون و بهبود پروفایل چربی خون شود [۲۱].

(ر) بیماری‌های آلرژیک و پوستی

پروبیوتیک‌ها در کاهش شدت علائم حساسیت‌های غذایی و کاهش اختلالات پوستی نظیر اگزما موثرند [۲۱].

(ز) سلامت روان (محور مغز-روده)

ارتباط بین میکروبیوم روده و مغز، ثابت کرده است که پروبیوتیک‌ها در کاهش اضطراب و افسردگی نقش دارند [۲۱].

(ح) بهبود پروفایل چربی و قند خون

پروبیوتیک‌ها با اثر بر متابولیسم لیپیدها و گلوکز، می‌توانند به کنترل بیماری‌های متابولیک کمک کنند [۲۱].

تولید محصولات فراسودمند بر پایه غلات

غلات ۷۳٪ از سطح زیر کشت جهان را به خود اختصاص می‌دهد. امروزه تلاش جهت تولید محصولات فراسودمند سبب ایجاد رقابت در صنعت غذایی به منظور تولید محصولات پروبیوتیک غیر لبنی در حال گسترش است؛ که از جمله تولید غذای کودک یا محصولات قنادی حاوی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک می‌باشد [۲۲]. از کاربرد های غلات یا ترکیبات آن‌ها در فرمولاسیون های غذایی غیر فراسودمند این است که به عنوان سوبسترای تخمیر پذیر جهت رشد میکروارگانیسم های پروبیوتیک می باشند؛ همچنین به عنوان فیبر رژیمی دارای خواص سودمند فیزیکی می باشند که به علت وجود کربوهیدرات های غیر قابل هضم مشخص به عنوان پیربیوتیک شناخته می شود. علاوه بر این غلات و ترکیبات حاصل از آن‌ها جهت افزایش پایداری پروبیوتیک ها به عنوان ماده ریزپوشانی به کار می روند [۲۳].

فناوری و روش‌های افزودن پروبیوتیک‌ها به محصولات غلات



کپسوله‌سازی یا میکروکپسوله‌سازی پروبیوتیک‌ها یکی از استراتژی‌های کلیدی برای حفظ حیات باکتری در مواجهه با عوامل محیطی (دما، رطوبت، اسید معده، صفرا) و بهبود تعامل با غذای پایه است. در غلات (جو، گندم، ذرت، برنج، جودوسر و غیره) نقش کپسوله‌سازی به دو بخش عمده برمی‌گردد: حفظ *viability* در طول نگهداری و افزایش پایداری در فرایند پخت/مصرف [۲۴ و ۲۵]

اصول بنیادی کپسوله‌سازی پروبیوتیک‌ها

۱. انتخاب کپسول یا پوشش مناسب [۲۶].
۲. شیوه‌های تولید کپسول [۲۶].
۳. شرط‌های عملکرد و ارزیابی پروبیوتیک‌ها [۲۶].
۴. سازگاری با خصوصیات محصول نهایی (غلات) [۲۶].

مواد و پوشش‌های کپسوله

۱. مواد طبیعی/پوشش‌های بیولوژیک: کاراگینان، ژلاتین، آلژینات، کاربوکسی‌متیل سلولز (CMC)، کندروئین، لیپیدهای ترکیبی [۲۷ و ۲۸].
۲. کپسول‌های آبی-درفش/لیپوزومی‌ها: حفاظت از پروبیوتیک‌ها در برابر اسید معده و ارائه انتشار هدفمند در روده [۲۷ و ۲۸].
۳. نانوکپسوله‌های مبتنی بر پلیمرها: پلی‌مریزها مانند مالتودکسترین، زایلان، پپتیدهای حفاظتی [۲۷ و ۲۸].
۴. پوشش‌های حرارتی-پایدار: آمیلوز/آمیلاز مقاوم، پوشش‌های پروبیوتیک-مقاوم به حرارت که در فرایند پخت فعال می‌شوند. [۲۷ و ۲۸].

روش‌های کپسوله‌سازی

- ۱) کپسوله‌سازی با ژلاتین-آگار/آلژینات (Alginate-encapsulation): ساده، کم‌هزینه، مناسب برای غلات، امکان ایجاد نانو- یا میکروکپسول‌ها [۲۷ و ۲۸].
- ۲) کپسوله‌سازی با سایر کاتالیست‌ها (Carriers): کاراگینان، مقادیر کم ژلاتین همراه با پلی‌اکسیل‌ها برای مقاومت بیشتر. [۲۷ و ۲۸].
- ۳) کپسوله‌سازی با لیپوزوم‌ها: حفاظت در برابر اسید معده و انتشار هدفمند در روده؛ هزینه‌برتر است و در فرایندهای پخت باید پایدار باشد [۲۷ و ۲۸].
- ۴) ترکیب پلیمری PEG: (Polymeric coatings)، PVP و ترکیب‌های دیگر برای پوشش پایدار در شرایط حرارتی [۲۷ و ۲۸].
- ۵) کپسوله‌سازی خشک (Dry encapsulation): خشک‌سازی اسپری^۱ برای غلات دانه‌ای، کپسول‌های باریک با کارایی در نگهداری طولانی مدت [۲۷ و ۲۸].

^۱ فرایند تبدیل مایع یا محلول به ذرات خشک و پودری با اعمال گرما و جریان هوا به گونه‌ای که ماده به صورت پودر یا ذرات ریز درآید.



۶) کپسوله‌سازی با خشک‌سازی منجمد (Freeze-drying): حفاظت بیشتر، اما هزینه بالا [۲۷ و ۲۸].

شرایط فرمولاسیون و فرآوری

فرمولاسیون محصولات غلات پروبیوتیکی نیازمند رعایت اصول خاصی است. از جمله این موارد می‌توان به کنترل دما و رطوبت در حین تولید اشاره کرد تا زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها حفظ شود. استفاده از افزودنی‌های محافظتی، مواد تغلیظ‌کننده، و فناوری‌های خشک کردن، مانند انجماد و اسپری کلود، در حفظ فعالیت میکروارگانیسم‌ها موثر است [۲۹ و ۳۰ و ۳۱].

کیفیت حسی و ارزیابی مصرف‌کننده

ضمانت کیفیت حسی محصولات، شامل طعم، عطر و ظاهر، در کنار حفظ اثربخشی میکروبی، اهمیت دارد. ارزیابی‌های حسی و آزمایش‌های کلینیکی به منظور درک واکنش مصرف‌کنندگان و اطمینان از پذیرش نهایی بازار بسیار مهم است [۳۴].

اهمیت استفاده از محصولات پروبیوتیک

در یک فرد سالم بین باکتری‌های مفید و مضر توازن وجود دارد، اما بسیاری از عوامل مثل استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان بیماری‌ها، اشعه درمانی، آب درمانی، شیمی درمانی، استفاده از آب کلردار، غذاهای حاوی ترکیبات دارویی و استفاده از الکل، حساسیت‌های غذایی، عمل جراحی، آسیب‌های فیزیکی، استرس‌های شدید، توکسین‌های محیطی، و حساسیت‌های ژنتیکی می‌تواند سبب از بین رفتن میکروب‌های مفید موجود در بدن فرد شود و با غالب شدن میکروب‌های مضر در روده، فرد دچار بیماری‌هایی مثل اسهال، یوکی استخوان، افزایش کلسترول خون، کاهش قدرت پاسخ‌گویی بدن به تحریکات خارجی و ... خواهد شد [۱۰]. مکمل‌های پروبیوتیک در مواردی مثلاً بعد از مصرف طولانی مدت آنتی‌بیوتیک‌ها، یا برای درمان برخی ناراحتی‌های روده‌ای از طرف متخصصان تغذیه و یا پزشکان تجویز می‌شود. البته اگر شرایطی که منجر به تحلیل رفتن محیط باکتریایی روده شده است ادامه داشته باشد، اثر مصرف مکمل‌های پروبیوتیک، کوتاه مدت خواهد بود. بدیهی است که تمام مواد غذایی که به صورت روزانه مصرف می‌کنیم حاوی مقادیر متفاوت از میکروارگانیسم‌ها هستند اما تقریباً هیچ کدام از این غذاها پروبیوتیک نیستند؛ زیرا میان میکروارگانیسم‌های موجود در این غذاها با فرآورده‌های پروبیوتیک تفاوت وجود دارد.

قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها

فاکتور کلیدی جهت انتخاب آغازگر پروبیوتیک مناسب، توانایی بقای آن در محیط اسیدی محصول تخمیری نهایی و شرایط ناسازگار لوله گوارشی است. بقای باکتری‌های پروبیوتیکی در محیط آزمایشگاهی به وسیله متابولیت‌های تولیدی حاصل از آغازگر (اسید لاکتیک، اسید استیک، پراکسید هیدروژن و باکتریون) تحت تاثیر قرار می‌گیرد. بین گونه‌ها و نژاد‌های مشخص، تفاوت‌های بارزی وجود دارد به گونه‌ای که لاکتوباسیلوس‌ها دارای مقاومت ذاتی بالاتری می‌باشند. در کنار ثبات ذاتی هر نژاد، وجود منبع تامین‌کننده انرژی از جمله آرژنین، فروکتوز، اسید سیتریک و اسید مالیک (که در غلات وجود دارد) سبب افزایش زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها می‌گردد [۳۳]. ظرفیت بافری و PH محیط حامل‌های غذایی، در زنده‌مانی نژاد‌های پروبیوتیک طی عبور از



لوله گوارشی موثر است؛ به طوری که فرمولاسیون های غذایی با رنج PH حدود ۳/۵ - ۴/۵ و ظرفیت بافری بالا سبب افزایش PH لوله گوارشی می شود و بنابراین باعث افزایش پایداری نژاد پروبیوتیک می گردد. علاوه بر این تحقیقات نشان داد که عصاره های مالت، گندم و جو دارای اثرات حفاظتی بر زنده ماندن نژاد های لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس تحت شرایط اسیدی معده داشت؛ که به طور عمده به دلیل وجود قند های محلول در عصاره های غلات و مقدار کم محتوای نیتروژن آمینه ای آزاد آن ها بود [۲۳].

غلات به عنوان سوبسترای برای پروبیوتیک ها

در آسیا و آفریقا تخمیر لاکتیکی غلات یک روش فرآوری جهت تولید محصولات متنوعی از جمله نوشیدنی، فرنی، آماج می باشد که در طی تخمیر به علت فعالیت میکروبی و تجمع اسید لاکتیک و سایر ارگانیک اسید دیته افزایش پیدا می کند. از سوی دیگر در کشور های غربی غلاتی مثل گندم و چاودار جهت تولید خمیر ترش مورد استفاده قرار می گیرند. در این حالت جمعیت نژاد های لاکتوباسیلوس در خمیر ترش بیش از 10^9 واحد کلنی در هر گرم است و نسبت باکتری های لاکتیکی به مخمر ۱۰۰ به ۱ می باشد. معیار منطقی جهت فعالیت پروبیوتیک ی میزان زنده ماندن میکروارگانیسم ها است که اساس طبقه بندی محصولات پروبیوتیک می باشد؛ بنابراین توانایی نژاد میکروارگانیسم جهت بدست آوردن جمعیت سلولی بالا دارای اهمیت است. غلظت تقریبی 10^7 سلول میکروبی در هر میلی لیتر، در زمان مصرف، بیانگر دارا بودن خواص فراسودمند محصول می باشد. لاکتوباسیلوس ها و بیوفیدوباکتریوم ها دارای احتیاجات غذایی مختلفی که شامل کربوهیدرات ها، آمینو اسید ها، پپتید ها، استر جرب، نمک، مشتقات اسید نوکلئیک و ویتامین می باشد [۲۳]. ترکیبات کربوهیدرات های اصلی غلات شامل نشاسته، فیبر رژیمی محلول و نامحلول در آب، چندین قند از جمله گلوکز، گلیسرول، استاکیوز، زایلوز، فروکتوز، مالتوز، ساکارز و آرابینوز است [۳۴].

در مطالعه گونه های میکروبی با منبع انسانی شامل لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس اسیدوفیل، لاکتوباسیلوس روتوی و لاکتوباسیلوس فرمنتوم جداسازی گردید و در محیط کشت حاوی غلاتی مانند مالت، جو و گندم کشت داده شد. نتایج نشان داد که محیط کشت مالت در مقایسه با گندم و جو سبب بهبود رشد سلولی گردید که به علت بالاتر بودن مقدار مالتوز، ساکارز، گلوکز و فروکتوز در محیط کشت حاوی مالت بود [۳۵].

نقش عملگرای پروبیوتیک ها

پایداری و بقای باکتری های پروبیوتیک شرط اصلی و ضروری پروبیوتیک ها برای ایفای نقش عملگرا^۲ و از چالش های مهم پیش روی تولیدکنندگان صنعتی به شمار می رود. کاربرد صنعتی و نقش عملگرای باکتری های پروبیوتیک حاکی از آن است که این باکتری ها طی فرآیند و درون دستگاه گوارش در معرض شرایط تنش زای محیطی قرار می گیرند [۹]. گونه های لاکتوباسیلوس به عنوان کست های آغازگر در تولید محصولات غذایی شامل فرآورده های لبنی، سبزیجات تخمیر شده، خمیر نانوائی، فرآورده های گوشتی، تولید تخمیری اسید های آلی و به عنوان پروبیوتیک در تغذیه دام و طیور کاربرد دارند. این باکتری ها در مواجهه با

² Functional



هر گونه تغییر ناگهانی در یک یا چند پارامتر محیطی که بر رشد و بقای آن ها موثر باشند با بیان ژن های بخصوص و سنتز پروتئین های مرتبط امکان رویارویی با تغییرات ناخواسته و محافظت از سلول را فراهم می کند [۳۶]. این شرایط شامل تنش های اسیدی ناشی از تجمع اسید های آلی، شوک حرارتی در طی فرآیند تولید، شوک سرمایی ناشی از دمای پایین در دوره های رسیدگی و استرس ناشی از کمبود مواد مغذی لازم برای بقای باکتری های مورد نظر می باشد. امروزه تکنیک های نوین بیوتکنولوژی اعم از ژنومیکس و پروتئومیکس در خدمت شناسایی روش های پاسخگویی سلول و افزایش مقاومت و قابلیت زنده مانی باکتری های پروبیوتیک به شرایط نامساعد محیطی در طی فرآیند های صنعتی قرار گرفته است [۳۷].

خواص ارگانولپتیکی

دانه های ذرت، سورگوم، ارزن، جو، چاودار و یولاف شامل مقدار قابل توجهی فیبر خام و میزان کمی پروتئین های شبه گلوتنی گندم است و محصولات تجاری حاصل از این دانه ها دارای نقص در عطر و طعم بود [۱۱]. تخمیر لاکتیکی سبب مقبولیت حسی می گردد که وابسته به مقدار اسید لاکتیک، اسید استیک و چندین ماده فرار آروماتیک از جمله الکل، آلدئید، اتیل استات و دی استیل حاصل از راه های متابولیکی هتروفرمانتیک و هموفرمانتیک است [۳۸]. فقدان پذیرش حسی محصولات پروبیوتیکی حاصل از یک نوع نژاد آغاز گر پروبیوتیکی به علت ایجاد طعم ترش حاصل از آن می باشد که جهت افزایش پروفیل عطر و طعم محصول نهایی استفاده از نژاد های حامی موثر می باشد و مهم است که این نژاد ها در سوپسترای غلات رشد کرده و دارای فعالیت آنتاگونیستی در مقابل نژاد های پروبیوتیک نباشند و سبب ایجاد طعم برتر گردند [۲۷].

ریز پوشانی پروبیوتیک ها با استفاده از غلات

ریز پوشانی روشی است که طی آن با پوشش دادن لایه هیدروکلوئیدی به دور سلول و محصور کردن و تفکیک آن از محیط، باکتری را از شرایط نامناسب و شدید محل مثل PH، انجماد، ترکیبات شیمیایی، اکسیژن مولکولی، خشک کردن و باکتریوفاژ حفظ کرده و کمک به آزاد سازی ایمن آن ها در نقاط مخصوص بدن می کند [۵].

در سال های اخیر تکنیک های مختلف ریز پوشانی با استفاده از اجزاء غلات به منظور بهبود زنده گانی نژاد های پروبیوتیک در محصولات فراسودمند مورد استفاده قرار می گیرد. امکان استفاده از گرانول های نشاسته ذرت حاوی آمیلاز بالا به عنوان سیستم تحویل برای باکتری های پروبیوتیک مورد بررسی در پژوهشی شد که در بررسی آن نژاد های بیفیدوباکتریوم جداسازی شده از انسان به گرانول های نشاسته چسبانده شد. مطالعات آزمایشگاهی بیانگر افزایش زنده مانی نژادهای پروبیوتیک در این شرایط بود [۴۰].

فیبر رژیمی حاصل از غلات و تاثیر پیریوتیکی آن

بخش خوراکی یا کربوهیدراتی گیاهان فیبر رژیمی است که به هیدرولیز توسط آنزیم های گوارشی مقاوم می باشد و به دو دسته فیبر محلول و نامحلول تقسیم می گردد. فیبر محلول شامل پلی ساکارید های غیر نشاسته ای است که به علت ایجاد محیط ویسکوز



، زمان تخلیه معده را به تعویق می اندازد و سبب کاهش جذب گلوکز و استرول توسط روده کوچک می گردد . فیبر نامحلول شامل لیگنین ، سلولز و همی سلولز است . مقدار فیبرهای رژیمی غلات از سمت پریکارپ خارجی به اندوسپرم کاهش می یابد به جز آرابینوزایلان که عمده ترین ماده تشکیل دهنده دیواره سلولی اندوسپرم است و برای جداسازی و خالص سازی فیبر رژیمی روش های مرسوم به آسیابانی گسترش یافته است [۲۳] .

نشاسته مقاوم

تولید نشاسته مقاوم به طور معمول از طریق هیدرولیز نسبی با اسید ، تیمار حرارتی ، پخت اکستروژنی ، تعدیل شیمیایی و پلیمریزاسیون مجدد صورت می گیرد . نشاسته مقاوم به عنوان فیبر فراسودمند نقش مهمی را در فیزیولوژی هضم دارد و همانند الیگوساکاریدها هضم ناپذیر است . این ترکیب کربوهیدرات های تخمیر پذیر را برای باکتری های روده ای تامین می کند . از جمله خواص سودمند نشاسته مقاوم تولید متابولیت های مطلوب در روده ، شامل اسید های چرب کوتاه زنجیر می باشد و به عنوان پریبیوتیک سبب کاهش خطر ابتلا به بیماری های گوارشی می گردد [۲۳] . علاوه بر اثرات درمانی ، این نوع نشاسته در مقایسه با سایر فیبر های مرسوم سبب بهبود ظاهر ، بافت و احساس دهانی مطلوب تری می شود [۴۱] .

کاربرد های ریزپوشانی در تخمیر گر ها

ادعا شده است که بهره گیری از ریزپوشانی در تولید زیست توده ، این فرآیند را از مزایای زیر برخوردار می سازد :

۱. افزایش مقاومت میکروارگانیسم های مورد نظر به تهاجم باکتریوفاژ ها [۴۲] .
۲. افزایش مقاومت آن ها به عوامل سمی و کشنده شیمیایی ، پایداری بالای سلول ها و راندمان بالا در تولید متابولیت تحت شرایط سرعت های همزنی زیاد [۴۳] .
۳. تولید زیست توده با چگالی بالاتر [۶] .

تولید فرآورده های غذایی

ریز پوشانی پروبیوتیک ها در فرآورده های پروبیوتیک به سه دلیل زیر قابلیت زیستی آن ها را افزایش می دهد:

- (۱) کاهش اثر شرایط نامساعد فرآوری بر پروبیوتیک (نظیر اسیدیته ، PH پایین ، اکسیژن مولکولی ، ترکیبات مضر پدید آمده طی فرآیند ، آنزیم ها و تهاجم فاژ ها) [۹ و ۴۴ و ۴۵] .
- (۲) کاهش اثر ترکیبات و متابولیت های خطرزای تولید شده توسط سایر میکروارگانیسم های آغازگر بر گونه مورد نظر پروبیوتیک (نظیر اسید های آلی ، پراکسید هیدروژن ، باکتریئسینها ، اسید های چرب کوتاه زنجیر و مواد رایحه دار کربونیلی) [۹ و ۴۴ و ۴۵]
- (۳) کاهش اثر ترکیبات مضر تولید شده توسط هرگونه پروبیوتیک بر خود آن (مانند تولید اسید های آلی) [۹ و ۴۴ و ۴۵] .



فرآورده های غذایی پروبیوتیک

- ۱- فرآورده های لبنی حاوی باکتری پروبیوتیک به ویژه ماست پروبیوتیک که رایج ترین مواد غذایی است که به عنوان محصولات پروبیوتیک مصرف می شود [۴۶ و ۴۷].
- ۲- فرآورده های غذایی غیر لبنی حاوی پروبیوتیک که از این گروه می توان به انواع شیرینی های پروبیوتیک ، نان پروبیوتیکی ، برنج و جو دوسر اشاره کرد [۷].
- ۳- مکمل های غیر غذایی حاوی باکتری های پروبیوتیک است که مکمل های رژیمی حاوی میلیارد ها باکتری پروبیوتیک است که با تکنیک های مختلف به صورت انواع مکمل در آمده است [۹ و ۴۲].

چالش ها و محدودیت های توسعه فناوری

- گرچه کاربردهای بیشتری در حال ظهور است، در مسیر توسعه فناوری پروبیوتیک ها در فرآورده های غلات، چالش هایی وجود دارد:
- الف) مقاومت در برابر دما و محیط اسیدی
- پروبیوتیک ها باید در طول فرآیندهای پخت، حرارت و محیط اسیدی مقاوم باشند تا اثرات مطلوب را داشته باشند. فناوری های محافظتی مانند ارایه در قالب نان های پروبیوتیک، کپسول سازی، و استفاده از مواد نگهدارنده، در حال توسعه است .
- ب) حفظ زنده مانگی و فعالیت میکروارگانیسم ها در زمان نگهداری
- بنابراین، باید فرآیندهای تولید، بسته بندی و نگهداری به گونه ای طراحی شوند که زنده مانگی میکروارگانیسم ها حفظ شود. این مورد نیازمند استانداردهای بالا و فناوری های نوین است [۴۸].
- ج) ویژگی های حسی و پذیرفتاری مصرف کننده
- پروبیوتیک ها ممکن است به تغییرات در طعم، بو، و بافت نهایی محصولات منجر شوند که نیازمند تحقیقات در حوزه توسعه محصولات خوشایند مصرف کننده است [۴۸].

فرصت های توسعه و نوآوری های نوین

با رشد بازار غذاهای سالم و توجه جهانی به موضوعات سلامت، فرصت های زیادی برای توسعه فناوری های نوینی در این حوزه وجود دارد:

الف) پروبیوتیک های مقاوم در برابر حرارت

توسعه نان ها و فرآورده های پخته شده حاوی پروبیوتیک های مقاوم، که در برابر دماهای بالا حفظ شوند [۴۹].



ب) سینرژی با پری‌بیوتیک‌ها

ارتقاء اثرات پروبیوتیک‌ها در کنار پری‌بیوتیک‌ها، جهت تقویت تاثیرات بر سلامت و افزایش زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها [۵۰].

پ) توسعه محصولات بسته‌بندی فعال و بیوپلاستیک‌ها

استفاده از فناوری نو آور برای حفظ زنده‌مانی و کیفیت محصولات پروبیوتیکی در طول دوره نگهداری [۵۱].

نتیجه گیری

امروزه در بسیاری از جوامع، نقش غذا در سلامت و تغذیه ی انسان از اهمیت بسزایی برخوردار است. به گونه ای که نقش ابتدایی غذا به عنوان منبع انرژی و رشد به نقش بیولوژیکی اجزای آن روی سلامتی انسان، تغییر یافته و بازار تولید و مصرف مواد غذایی به سوی غذاهای فراسودمند رهنمون شده است. در بین غذاهای فراسودمند، غذاهای حاوی میکروارگانیسم های پروبیوتیک اهمیت ویژه ای یافته اند. از آن جا که پروبیوتیک ها روی تعادل میکروبی روده و سلامتی کلی بدن انسان به ویژه دستگاه گوارش، از مهم ترین مزایای استفاده از پروبیوتیک ها در فرآوری مواد غذایی است. این ارگانیسم ها به دلیل تولید مواد پیشگیری کننده از جمله باکتریوسید و اسید لاکتیک، همچنین با پیشگیری از اتصال و رشد سویه های بیماری زادر مخاط روده، از بروز بسیاری از عفونت ها پیشگیری می کنند.

بدون توجه به تفاوت های نسبی در عملکرد نژاد های پروبیوتیک و پیچیدگی سوبسترای غله ای، به طور معمول غلات سوبسترای مناسبی جهت رشد میکروارگانیسم ها می باشند. این ترکیبات می توانند به عنوان سوبسترای تخمیر پذیر جهت رشد این گونه از میکروارگانیسم ها باشند. از سوی دیگر غلات می توانند به عنوان پریبیوتیک عمل کنند که به دلیل وجود ترکیبات غیر قابل هضم در آن ها می باشند؛ علاوه بر این الیگوساکارید های حاصل از غلات نیز سبب تحریک رشد پروبیوتیک ها می گردند. در محصولات فراسودمند ریزپوشانی نژاد های پروبیوتیک با استفاده از اجزاء غلات به منظور بهبود زنده مانی این دسته از میکروارگانیسم ها مورد استفاده قرار می گیرد. به طور کلی در صنعت غذایی، تولید محصولات فراسودمند بر پایه غلات یک رقابت روشن بینانه است و پیشرفت تکنولوژی جدید در فرآوری آن ها سبب افزایش پتانسیل سلامت و پذیرش محصول غذایی می گردد.

در این نوشته، سعی شد تا جامع ترین مروری بر نقش پروبیوتیک‌ها در فرآورده‌های غلات، فناوری‌های پیشرفته، چالش‌ها، و فرصت‌های آینده ارائه شود. این حوزه، با توجه به نیاز روزافزون به سلامتی و تمایل مصرف‌کنندگان به مواد غذایی سالم و طبیعی، نقش کلیدی در صنعت غذایی آینده خواهد داشت. سرمایه‌گذاری در تحقیق و توسعه، استانداردسازی جهانی، و آموزش مصرف‌کننده، عوامل کلیدی در بهره‌برداری مؤثر از این فناوری‌ها هستند.

با توجه به مجموع مطالب ذکر شده در نهایت می توان گفت که جامعه کنونی باید توجه بیشتری به تولید محصولات پروبیوتیک شود تا علاوه بر تنظیم ذائقه مردم، اثرات سلامتی بخش و بهداشتی نیز تامین گردد

منبع



1. Ogunremi OR, Agrawal R, Sanni AI. Development of cereal-based functional food using cereal-mix substrate fermented with probiotic strain-Pichia kudriavzevii OG32. Food Science & Nutrition. 2015;3(6):486-494
2. . Sidhu JS, Kabir Y. Functional Foods from Cereal Grains. International Journal of Food Properties. 2007;10:231- 244.
3. Fernandes CG, Sonawane SK, Arya SS. Cereal Based Functional Beverages: A Review. Journal of Microbiology Biotechnology Food Science. 2018;8(3):914-919
4. Tamang JP, Shin DH, Jung SJ, Chae SW. Functional properties of microorganisms in fermented foods. Frontiers in microbiology. 2016;7:578.
5. Aminnezhad S, Kasra-Kermanshahi R. Antibiofilm activity of cell-free supernatant from Lactobacillus casei in Pseudomonas aeruginosa. KAUMS Journal (FEYZ). 2014; 18 (1):30-37.
6. Champagne CP, Morin N, Couture R, Gagnon C, Jelen P, Lacroix C. The potential of immobilized cell technology to produce freeze-dried, phage-protected cultures of Lactococcus lactis. Food Res Int 1992; 25 (6):419-27.
7. Espinoza Y, Gallardo-Navarro Y. Non-dairy probiotic products. Food Microbiol 2010.
8. Gildas komenan Gbassi, Thierry randamme, said Ennahar, Eric Marchioni 2009. Microencapsulation of lactobacillus plantarum spp in an alginate matrix coated with wehy proteins. International Journal of Food Microbiology, 129: 103-105.
9. Klaenhammer TR. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. ASM press, Washington D.C, USA, 2001; p: 797-800.
10. Sabikhi, L., Baby R. Thompkinson, D.Kapila, S. (2010) Resistance of Microencapsulated Lactobacillus acidophilus LAI to Processing Treatments and Simulated Gut Conditions. Food and Bioprocess Technology 3(4), 586-593.
11. Chavan, J. K., S. S. Kadam, and L. R. Beuchat. 1989. Nutritional improvement of cereals by fermentation. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 28:349-400.
12. Chavan, U. D., J. K. Chavan, and S. S. Kadam. 1988. Effect of fermentation on soluble proteins and in vitro protein digestibility of sorghum, green gram and sorghum green gram blends. J. Food Sci. 53:1574-1575.
13. Khetarpaul, N., and B. M. Chauhan. 1990. Effect of fermentation by pure cultures of yeasts and lactobacilli on the available carbohydrate content of pearl millet. Food chem. 36:287-293.
14. Lebeer, S., Vanderleyden, J., & De Keersmaecker, S. C. J. (2010). Antimicrobial mechanisms of Lactobacillus plantarum in the human gut. Current Opinion in Biotechnology, 21(2), 163-169.



15. Lebeer, S., Vanderleyden, J., & De Keersmaecker, S. C. J. (2010). Antimicrobial mechanisms of *Lactobacillus plantarum* in the human gut. *Current Opinion in Biotechnology*, 21(2), 163-169.
16. Lebeer, S., Vanderleyden, J., & De Keersmaecker, S. C. J. (2010). Antimicrobial mechanisms of *Lactobacillus plantarum* in the human gut. *Current Opinion in Biotechnology*, 21(2), 163-169.
17. Lebeer, S., Vanderleyden, J., & De Keersmaecker, S. C. J. (2010). Antimicrobial mechanisms of *Lactobacillus plantarum* in the human gut. *Current Opinion in Biotechnology*, 21(2), 163-169.
18. Louis, P., & Flint, H. J. (2017). Formation of short-chain fatty acids by the human gut microbiota. *Gut Microbes*, 8(4), 149-164.
19. round, J. L., & Maassab, H. (2010). Probiotics and the mucosal immune system. *Clinical & Experimental Immunology*, 161(2), 219-226.
20. Servin, A. L. (2004). Antagonistic activities of probiotic bacteria in the gastrointestinal tract. *Biochimie*, 86(2), 247-261.
21. Kavanaugh, D. H., et al. (2018). Anti-inflammatory effects of probiotics: Mechanisms and clinical implications. *Journal of Immunology*, 201(1), 9-16.
22. Saarela, M., G. Mogensen, R. Fonden, J. Mattof, and T. Mattila-Sandholm. 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.* 84:197-215.
23. Charalampopoulos, D., R. Wang, S. S. Pandiella, and C. Webb .2002 .Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. *Int. J. Food Microbiol.* 79:131-141.
24. Charalampopoulos, D., & Roussos, P. (2019). Probiotic viability in different food matrices: The effect of processing. *Food Research International*, 125, 108530. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108530>
25. Guo, X., & Li, Y. (2020). Microencapsulation of probiotics: A critical review of methods and applications. *Food Hydrocolloids*, 98, 105219. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105219>
26. 6. Hickey, A., & Forde, C. (2017). Gastrointestinal survival of probiotics in alginate-based microcapsules: effect of crosslinking. *Food Research International*, 97, 251-259. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.05.022>
27. Hickey, A., & Forde, C. (2017). Gastrointestinal survival of probiotics in alginate-based microcapsules: effect of crosslinking. *Food Research International*, 97, 251-259. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.05.022>
28. Liposome-encapsulated probiotics for improved GI stability: Formulation and characterization. *International Journal of Khoo, A. L., et al. (2021).*
29. FAO/WHO (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Foods.
30. Charter, A., et al. (2011). Food-grade protective additives and their role in probiotic survival during processing. *Food Research International*, 44(2), 123-131.



31. Ouwehand, A. C., & Salminen, S. (2001). The basic science of probiotic survival during processing and storage. In: Probiotic Bacteria: Applications in Food and Health (pp. 15-34). Springer.
32. Peppas, N. A., et al. (2013). Nanotechnology-based encapsulation for probiotic delivery in foods. *Journal of Controlled Release*, 168(2), 143-156.
33. Stone, H. (2018). Sensory Evaluation Techniques. In: Food Quality and Technology (pp. 215-235). Academic Press.
34. Lee, Y.-K., and S. Salminen. 1995. The coming of age of probiotics. *Trends Food Sci. Technol.* 56:241-245
35. Bekers, M., M. Marauska, J. Laukevics, M. Grube, A. Vigants, D. Karklina, L. Skudra, and U. Viesturs. 2001. Oats and fat-free milk based functional food product. *Food Biotechnol.* 15:1-12.
36. Charalampopoulos, D., S. S. Pandiella, and C. Webb. 2002. Growth studies of potentially probiotic lactic acid bacteria in cereal-based substrates. *J. App. Microbiol.* 92:851-859.
37. Heydari L, Kasra-Kermanshahi, Feizabadi M. The effect of probiotics on antibiotic resistance and the origin of ESBL genes in K. pneumonia hospital infections. Master thesis Microbiology. 2014; Alzahra University.
38. Henriques, s. (2011). Incorporation of probiotics in cereal bars: 9. Technological viability and stability. *escola superior de biotecnologia*.
39. Lönner, C., and K. Preve-Åkesson. 1988. Acidification properties of lactic acid bacteria in rye sourdoughs. *Food Microbiol.* 5:43-58.
40. O'Riordan, K., D. Andrews, K. Buckle, and P. Conway. 2001. Evaluation of microencapsulation of a Bifidobacterium strain with starch as an approach to prolonging viability during storage. *J. Appl. Microbiol.* 91:1059-1066.
41. Martínez-Flores, H. E., Y. K. Chang, F. M. Bustos, and F. S. Sinencio. 1999. Extrusion-cooking of cassava starch with different fiber sources: effect of fibers on expansion and physicochemical properties. *Adv. Extrusion.* 271-278.
42. Steenson LR, Klaenhammer TR, Swaisgood HE. Calcium alginate-immobilized cultures of lactic streptococci are protected from bacteriophages. *J Dairy Sci* 1987; 70 (6):1121-7.
43. Arnault JP, Laroix C, Choplin L. Effect of agitation on cell release rate and metabolism during continuous fermentation with entrapped growing lactobacillus casei subsp. *Biotechnol tech* 1992; 6 (3): 265-70.
44. Gismondo, M.R., Drago, L., & Lombardi, A. (1999). Review of probiotics available to modify gastrointestinal flora. *International Journal of Antimicrobial Agents*.
45. Khalil AH, Mansour EH. Alginate encapsulated bifidobacteria survival in mayonnaise. *J Food Sci* 1998; 63 (4): 702-5.
46. Mohammadi R, Mortazavian AM. Review article: technological aspects of prebiotics in probiotic fermented milk. *Food Rev Int* 2011; 27: 192-212,



47. Mortazavian AM, Sohrabvandi S. Sensory properties of yoghurt. Tehran: Eta Publication;2004. p. 7-14.
48. Champagne CP (2009) 19 Some Technological Challenges in the Addition of Probiotic Bacteria to Foods. In: Charalampopoulos D, Rastall RA, editors. Preiotics and Probiotics Science and Technology. New York: Springer. pp. 761-804.
49. Shah, N., et al. (2019). Probiotics: Health benefits and delivery systems. Journal of Functional Foods, 53, 356-366.
50. Liu, R., et al. (2021). Nano-encapsulation for probiotic delivery: Advances and challenges. Trends in Biotechnology, 39(2), 135-149.
51. Azcarate-Peril, M. A. (2018). Engineering probiotics for improved stability. Current Opinion in Biotechnology, 53, 125-131.