تحقیقات مهندسی صنایع غذایی/جلد ۱۷/ شماره ٦٤/بهار ۱۳۹۷/ص ۹۰-۸۱

بررسی تأثیر دماهای مختلف نگهداری بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس پلانتارم* در سبوس گندم

لاله مشرف*[1]

۱- استادیار، بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت، ۱۳۹۷/۴/۴؛ تاریخ پذیرش:۱۳۹۷/۶/۲۱

چکیده

سبوس منبعی غنی از ترکیبات ارزشمند مانند فیبرهای رژیمی، اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها، و املاح است. ازاین‌رو سبوس، محیط کشتی مناسب برای رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌های مفید برای سلامت انسان است. میکروارگانیسم‌های مفید در پیشگیری و درمان برخی بیماری‌های عفونی، تأثیر بر فلور میکروبی روده، بهبود ایمنی بدن ، و کاهش حساسیت نقش دارند. سیستم آنزیمی قوی این میکروارگانیسم‌ها قادر است برخی از ترکیبات موجود در سبوس مانند اسیدفیتیک را تجزیه کند و باعث بهبود خصوصیات تغذیه‌ای آن شود. تثبیت این میکروارگانیسم‌ها در سبوس کاربرد این محصول پری بیوتیک حاوی میکروارگانیسم‌های مفید را در طیفی وسیع از محصولات غذایی، به‌خصوص محصولات نانوایی، امکان‌پذیر می‌سازد. در این پژوهش از باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتارم* استفاده می‌شود که دارای خواص پروبیوتیک برای انسان است و کیفیت محصولات نانوایی را بهبود می‌بخشد. ابتدا سبوس تخمیر شده با باکتری‌های اسیدلاکتیک در شرایط بهینه رشد تولید شد. پس از آن تأثیر دماهای مختلف نگهداری در یخچال، فریزر، و خشک‌کردن در شرایط محیطی به ترتیب ٤، ۱۸- و ۲۳ درجه سلسیوس بر میزان زنده ماندن *لاکتوباسیلوس پلانتارم* در سبوس گندم بررسی گردید. نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که میزان زنده ماندن این میکروارگانیسم‌ها درروش نگهداری در یخچال، خشک‌کردن در شرایط محیطی، و فریزر به ترتیب حدود ۹۵، ۸، و ۲ درصد است و نگهداری در یخچال، نسبت به دو روش دیگر، شرایط متعادلی برای حفظ وزنده ماندن این میکروارگانیسم‌ها در سبوس گندم فراهم می‌کند.

واژه‌های کلیدی

اسید فیتیک، پروبیوتیک، سبوس تخمیر شده، فیبر رژیمی

مقدمه

سبوس غلات منبعی غنی از فیبرهای رژیمی است که علاوه بر منابع فیبری، حاوی پروتئین‌های باکیفیت بالای تغذیه‌ای (آلبومین و گلوبولین)، آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات زیست‌فعال مانند اسیدهای فنولیک است. به‌رغم مزایا و ارزش تغذیه‌ای که سبوس غلات دارند، کاربرد آنها در محصولات غذایی به دلیل دارا بودن اسید فیتیک محدود می‌شود. اسید فیتیک، ترکیبی ضد تغذیه‌ای در سبوس غلات، مانع از جذب برخی ریزمغذی‌ها مانند آهن، کلسیم، و روی و حتی مانع جذب پروتئین‌ها می‌شود (Mosharraf *et al.*, 2009). میزان اسید فیتیک در سبوس گندم بستگی دارد به واریته گندم، شرایط آب و هوایی کشت، شرایط آسیاب‌شدن گندم از جمله اندازه ذرات، میزان آندوسپرم چسبیده به سبوس، و سایر عوامل (Liu *et al.*, 2007). برای بهبود فعالیت بیولوژیکی و جذب بهتر مواد معدنی در بدن انسان امکان کاهش اسید فیتیک مواد

*نگارنده مسئول: mosharaf@ag.iut.ac.ir

http://doi: 10.22092/fooder.2018.122384.1159

غذایی به روش‌های گوناگونی وجود دارد مانند جوانه‌زدن، شست‌وشوی سبوس با آب گرم، تیمار هیدروترمال سبوس گندم در pH و دمای خاص، پوست‌گیری دانه گندم به‌منظور حذف یا کاهش این ترکیبات، استفاده از آنزیم فیتاز و به‌خصوص آنزیم فیتاز قارچی، و تخمیر. پایه بیشتر این روش‌ها فعال ساختن آنزیم فیتاز، آنزیم هیدرولیز کننده پیوندهای فسفو مونو استر در اسید فیتیک است (Carlson *et al.*, 2003; Gocmen *et al.*, 2007; Mosharraf *et al.*, 2009; Mullaney *et al.*, 2003).

تحقیقات نشان می‌دهد که باکتری‌های اسیدلاکتیک و بیفیدو باکتری‌ها منابع ارزشمند و مطمئن آنزیم فیتاز هستند. فیتاز میکروبی مهمترین منبع برای تولید آنزیم به‌صورت تجاری است. اکثر باکتری‌های اسیدلاکتیک دارای فعالیت فسفاتاز هستند(Palacios *et al.*, 2008). تحقیقات زامودیو (Zamudio *et al.*, 2001) در خصوص فعالیت آنزیم فیتاز در شش گونه از باکتری‌های اسیدلاکتیک نشان می‌دهد که از بین این شش گونه باکتریایی فعالیت آنزیم فیتاز *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* از بقیه بیشتر است. در نان‌هایی که خمیر آنها مرحله تخمیر را می‌گذراند، میکروفلورهای موجود در خمیرترش حاوی مخلوطی از مخمرها (به‌خصوص *ساکارومایسس سرویسیه*[1]) و باکتری‌های تخمیری هومو و هترو اسیدلاکتیک هستند. این میکروارگانیسم‌ها افزایش طول عمر محصول، بهبود بافت، و ایجاد عطروطعم مطلوب محصول نهایی را تضمین می‌کنند. باکتری‌های اسیدلاکتیک باعث اسیدی شدن سریع مواد اولیه طی تولید اسیدهای آلی می‌شوند. مطالعات ثابت کرده است که تخمیر سبوس گندم بر اثر مخلوطی از مخمر و باکتری‌های اسیدلاکتیک به کاهش اسید فیتیک، بهبود حجم نان، بهبود ساختمان بافت مرکزی نان، و افزایش مدت زمان ماندگاری آن می‌انجامد (Gibson & Roberfroid, 1995; Katina *et al.*, 2006). از سوی دیگر، سبوس گندم منبع غذایی مناسب برای تخمیرهای جامد است. این ترکیب مواد غذایی لازم را برای اکثر میکروارگانیسم‌ها دارد و اندازه ذرات آن برای فرایند تخمیر مناسب است به‌طوری‌که در عین دارا بودن نسبت سطح به حجم زیاد، بستر حاصل از آن دارای تخلخل مناسب است و منافذ بستر حجم کافی برای رشد میکروارگانیسم‌ها و جریان هوا دارد. سبوس گندم مخلوطی از ذرات با اندازه‌ها و ترکیب‌های مختلف است که علاوه بر نوع گندم به نحوه آسیاب کردن گندم نیز بستگی دارد.

در پژوهشی مشخص شد باکتری‌های *لاکتوباسیلوس روتری*[2] و *بیفیدوباکتریوم دنتیوم*[3] دارای فعالیت بالای تجزیه فیتات‌ها هستند؛ نان حاصل از آرد کامل گندم با حضور این باکتری‌ها خصوصیات کیفی بهتر و میزان اسید فیتیک کمتری نشان داده است (Palacios *et al.*, 2008). رئال و همکاران (Reale *et al.*, 2007) می‌گویند باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌طور مستقیم در کاهش اسید فیتیک نقشی ندارند و درواقع این باکتری‌ها با تولید اسید و کاهش تدریجی pH شرایط را برای افزایش فعالیت آنزیم فیتاز آندروژن گندم و جذب بالاتر منیزیم فراهم می‌آورند. اما تحقیقات آنجلیس و برخی از محققان دیگر در سال‌های ۲۰۰۳ تا ۲۰۰۸ مبین این مطلب است که باکتری‌های اسیدلاکتیک و بیفیدوباکترها منبع قابل‌توجهی از آنزیم فیتاز هستند (Lioger *et al.*, 2007). باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌عنوان آغازگر فرایند تخمیر در صنایع غذایی استفاده می‌شوند. این باکتری‌ها به همراه مخمر در تخمیر فرایند نانوایی نقش اصلی دارند. ازاین‌رو باکتری‌های اسیدلاکتیک علاوه بر نقش استارتر در خمیرترش می‌توانند به‌عنوان نگهدارنده طبیعی به افزایش طول عمر نگهداری نان و جلوگیری از رشد قارچ‌های فاسد کننده یا بیماری‌زا مثل *آسپرژیلوس*، *فوزاریوم*، و *پنسیلیوم* کمک کنند و جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی در بسته‌بندی نان شوند (Gerez *et al.*, 2009). آغازگرهای خمیرترش شامل غلظت بالایی از میکروارگانیسم‌های ساده یا مخلوطی از میکروارگانیسم‌ها هستند که موجب افزایش

1- *Saccharomyces cervisiae*
2- *Lactobacillus reuteri*
3- *Bifidobacterium dentium*

خصوصیات تغذیه‌ای و بهبود خصوصیات فیزیکوشیمیایی خمیر و نان و موجب افزایش مدت زمان ماندگاری نان تولیدی می‌شوند (Brandt, 2007; Kulp & Lorenz 2003). بنابراین، برای تولید خمیرترش خشک تلاش‌های زیادی شده است. خمیرترش خشک تاکنون با کمک خشک‌کن انجمادی، خشک‌کن با بسترسیال، و خشک‌کن افشانه‌ای تولیدشده است (Brandt, 2007; Decock & Cappelle, 2005). روش‌هایی گوناگون برای محافظت طولانی‌مدت میکروارگانیسم‌ها وجود دارد. نگهداری طولانی‌مدت باکتری‌ها این امکان را می‌دهد که سویه‌های میکروبی ماه‌ها و حتی سال‌ها زنده باقی بمانند. از جمله بهترین روش‌ها می‌توان به خشک‌کردن میکروارگانیسم‌ها به روش خشک‌کردن انجمادی، خشک‌کردن پاششی و خشک‌کردن در بسترسیال اشاره کرد. در تحقیق حاضر اثر چند فرایند مختلف بر زنده‌مانی میکروارگانیسم کشت داده‌شده روی سبوس بررسی شده است که به‌عنوان سبوس فراوری‌شده به روش تخمیر می‌تواند در محصولات نانوایی کاربرد داشته باشد.

مواد و روش‌ها

سبوس گندم مورداستفاده در این تحقیق از رقم گندم سپاهان که در منطقه اصفهان کشت می‌شود، در سال زراعی ۹۵-۹۴ تهیه شد. نمونه‌های گندم در سال ۹۵ به موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر و نهال کرج فرستاده شد. در آنجا پس از آماده سازی دانه‌های گندم (در آب با دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت) سبوس‌گیری با آسیاب بوهلر مدل (Buhler AG, Mlu 202, Switzerland) آغاز و سبوس گندم تهیه شد. درواقع محیط کشت اصلی در این پژوهش به دلیل وجود ترکیبات غذایی و منافذ و تخلخل مناسب، سبوس گندم انتخاب شد. میکروارگانیسم های مورداستفاده نیز شامل یک گونه باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتارم* تهیه‌شده از دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بود.

کشت باکتری به روش تخمیر جامد

برای کشت باکتری بر محیط کشت سبوس، ده گرم سبوس (به‌عنوان محیط کشت) با بیست میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و در ارلن ریخته شد. پس از آن ۱ میلی‌لیتر از پیش‌کشت باکتری (کشت داده‌شده در محیط MRS Broth) حاوی 10^9CFU باکتری، به آن افزوده و پس از اختلاط کامل و قرار دادن درپوش در انکوباتور در شرایط بی‌هوازی در دمای ۳۵ درجه سلسیوس تخمیر شد. شرایط کشت بی‌هوازی برای باکتری شامل استفاده از انکوباتور مجهز به کپسول دی‌اکسید کربن تحت عنوان انکوباتور CO_2 بوده‌است. این انکوباتور شرایط کشت بی‌هوازی را فراهم می‌کند. یادآوری می‌شود که رطوبت محیط کشت اتولیز شده حدود ۵۰ درصد بود و تنظیم اولیه رطوبت ضرورت نداشت (Mosharraf, 2014).

شمارش باکتری‌های زنده (CFU)

با توجه به اینکه حداکثر تعداد باکتری به ازای هر گرم سبوس در این آزمایش‌ها به حدود 10^9 می‌رسد، ۹ لوله حاوی سرم فیزیولوژی به حجم ۹ میلی‌لیتر تهیه و استریل شد. به لوله اول یک گرم از نمونه سبوس فراوری‌شده اضافه شد، سپس رقیق‌سازی به نسبت یک به ده تا لوله شماره ۹ ادامه یافت. از لوله‌های ۷، ۸ و ۹، یک میلی‌لیتر به پلیت‌های نظیر آنها اضافه و سپس محیط ام آر اس آگار به پلیت‌ها افزوده‌شد. پس از بسته شدن محیط، پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور CO_2 انکوبه گردید. پس از طی‌شدن این مدت زمان، کلونی‌ها شمارش و بدین روش تعداد باکتری زنده باقی‌مانده به دست آمد. شمارش باکتری و اندازه‌گیری پارامترهای شیمیایی به مدت ۱۱ ساعت، هر ساعت یک‌بار، نمونه‌برداری و تکرار شد (Mosharraf, 2014).

نگهداری سبوس تخمیر شده در شرایط مختلف دمایی

در این پژوهش، سبوس تخمیر شده با باکتری‌های اسیدلاکتیک در بهترین شرایط رشد یعنی ۸ ساعت پس از کشت، به‌منظور تأثیر شرایط نگهداری موردبررسی قرار گرفت. بهترین شرایط شامل رساندن میزان اسید فیتیک به حداقل و بالاترین جمعیت میکروارگانیسم‌های تکثیر یافته بود. برای بررسی اثر روش نگهداری بر بقای باکتری‌های تکثیرشده در سبوس، سبوس گندم تخمیر شده به سه صورت یعنی در یخچال (دمای ۴ درجه سلسیوس)، فریزر (دمای ۱۸- درجه سلسیوس)، و شرایط محیطی (دمای ۲۳ درجه سلسیوس) به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد. به این صورت که نمونه‌های سبوس تخمیر شده در ارلن‌های استریل با درپوش آلومینیمی گذاشته و در شرایط هوازی در سه محل ذکرشده نگهداری شدند. پس از ۴۸ ساعت، شمارش میکروارگانیسم‌ها به روش ۳-۵ آغاز شد.

آزمون‌های شیمیایی

روش اندازه‌گیری شاخص‌های معرفی‌شده یعنی: رطوبت (با استفاده از آون ۱۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه)، خاکستر (با استفاده از کوره با دمای ۶۰۰-۵۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۱ ساعت)، پروتئین (با روش هضم اسیدی نمونه و تیتراسیون با اسیدسولفوریک)، و فیبر خام (به روش سوزاندن در کوره و سپس هضم اسیدی و قلیایی و قرار دادن در کوره ۵۰۰-۴۰۰ درجه سلسیوس) برای نمونه‌های مورد آزمایش با استفاده از روش‌های مصوب AACC[1] به ترتیب به شماره‌های ۱۶- ۴۴، ۰۷-۰۸، ۱۲-۴۶ و ۱۷-۳۲ در نظرگرفته‌شد (AACC، ۲۰۰۳). روش تعیین میزان اسید فیتیک نیز روش ناهاپتین به‌کارگرفته شد (Nahapetian & Bassiri, 1975). طبق این روش اسید فیتیک با اسیدکلریدریک ۱/۲ درصد حاوی ۱۰ درصد سولفات سدیم استخراج و با سولفات سدیم ۵ درصد رسوب داده شد. رسوب فیتات آهن با سانتریفیوژ کردن از محلول جدا و با محلول غلیظ اسیدسولفوریک و اسید نیتریک هضم شد. پس از هضم و افزودن محلول رنگی هپتا مولیبدات آمونیم و وانادات آمونیم، محلول با آب مقطر به حجم رسانده شد. جذب نمونه ها در ۴۲۰ نانومتر خوانده شد و مقدار اسید فیتیک برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه خشک محاسبه شد.

روش تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

طرح آماری برای آنالیز داده‌ها و بررسی اطلاعات به‌دست‌آمده در این تحقیق به‌صورت طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. آزمایش‌ها به‌طور عمده در سه تکرار دنبال شد و میانگین و انحراف معیار به دست آمد. برای بررسی وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارهای مختلف، از آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. در تمام مراحل تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS ۱۶ استفاده شد.

نتایج و بحث

آزمون‌های شیمیایی سبوس گندم

میزان فیبر و پروتئین در سبوس گندم تابع رقم، نوع خاک، و شرایط آب و هوایی زمان کاشت و برداشت محصول است. تغییرات میزان پروتئین، فیبر، رطوبت، خاکستر و اسید فیتیک نمونه‌های سبوس گندم سپاهان در فرایند تخمیر در جدول (۱) آورده شده است. جدول (۱) نشان می‌دهد که تخمیر سبوس گندم با باکتری‌های *لاکتوباسیلوس پلانتارم* در مدت زمان ۱۰/۵ ساعت ازنظر آماری اثری بر خصوصیات شیمیایی سبوس ندارد و ترکیبات مفید آن مثل پروتئین‌ها و فیبرها را کاهش نداده است. تفاوت میزان رطوبت نمونه‌ها ممکن است به دلیل خطای آزمایشگر یا نوسانات دمایی در حین انکوبه کردن نمونه‌ها باشد که برای رفع این مشکل و به‌دست‌آوردن مقایسه صحیح، محاسبات بر اساس درصد ماده خشک بیان شد.

1- American Association of Cereal Chemists

جدول ۱ - خصوصیات شیمیایی نمونه سبوس (بر اساس درصد ماده خشک)* در اثر تخمیر با *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*

زمان پس از شروع تخمیر (ساعت)	رطوبت (درصد)	پروتئین (درصد)ns	فیبر (درصد)ns	خاکستر (درصد)ns	اسیدفیتیک (میلی گرم/ گرم)
۰	۴/۱۸±۰/۱۱ b	۱۹/۵۲±۰/۰۸	۱۴/۰۹±۰/۰۵	۵/۱۱±۰/۱۵	۲۹/۷±۰/۱۵ a
۵/۵	۴/۳۴±۰/۲۰ b	۱۹/۲۸±۰/۰۹	۱۳/۹۰±۰/۱۵	۵/۳۳±۰/۲۰	۸/۸±۰/۲۵ b
۶/۵	۳/۸۴±۰/۰۶ c	۱۹/۴۹±۰/۰۳	۱۴/۵۶±۰/ ۰۱	۵/۵۷±۰/۰۷	۵/۲±۰/۱۲ c
۷/۵	۶/۱۷±۰/۰۶ a	۱۹/۶۷±۰/۰۸	۱۴/۳۸±۰/۲۰	۵/۲۲±۰/۲۰	۵/۱±۰/۰۵ c
۸/۵	۴/۹۱±۰/۱۴ b	۱۹/۴۴±۰/۱۰	۱۴/۲۰±۰/۰۵	۵/۴۷±۰/۰۳	۴/۹±۰/۱۲ c
۹/۵	۴/۱۸±۰/۱۴ b	۱۹/۳۹±۰/۰۹	۱۴/۷۱±۰/۰۹	۵/۲۴±۰/۲۰	۴/۹±۰/۰۹ c
۱۰/۵	۴/۸۲±۰/۱۴ b	۱۹/۲۶±۰/۰۸	۱۴/۲۰±۰/۰۵	۵/۰۸±۰/۰۹	۴/۸±۰/۱۱ c

* اعداد، میانگین سه تکرار± انحراف معیار هستند. میانگین‌های هر ستون که حروف مشترک دارند فاقد تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ درصد هستند.
ns: فاقد تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ درصد.

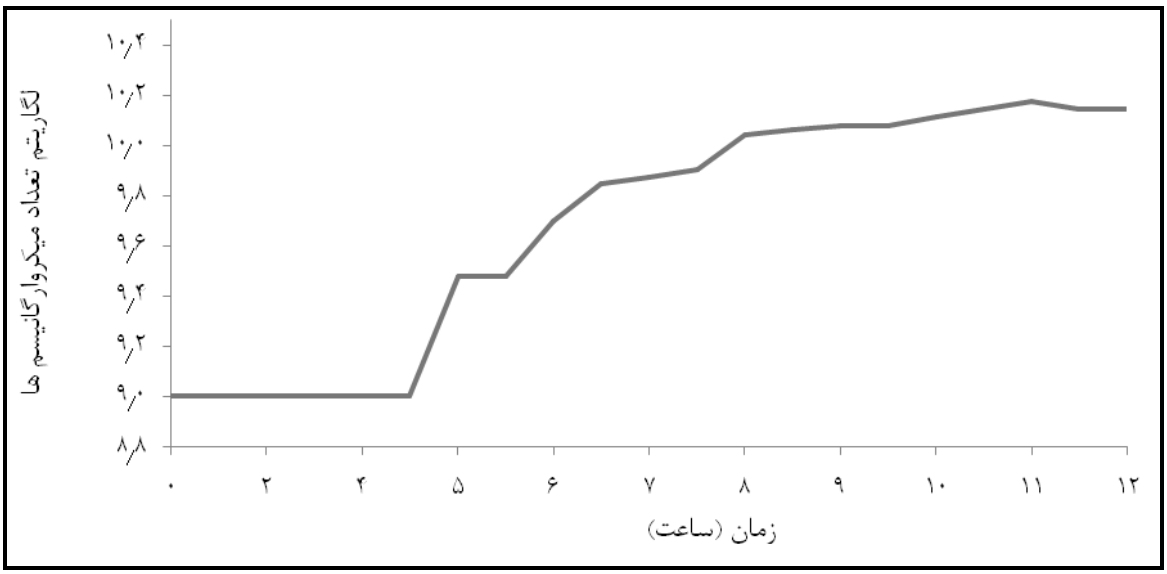
بررسی روند تکثیر *لاکتوباسیلوس پلانتارم* در محیط کشت سبوس گندم

منحنی رشد باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتارم* طی کشت بر محیط سبوس گندم، پس از گذشت ۱۱/۵ ساعت، در شکل (۱) نشان داده‌شده است. در این شکل، رشد نمایی باکتری طی ۱۱/۵ ساعت اولیه تخمیر و پس از گذراندن یک‌فاز تأخیر چندساعته قابل‌مشاهده است.

آزمون‌های اسیدفیتیک نمونه‌های سبوس گندم

نتایج تحقیق محققان در خصوص کاهش میزان اسید فیتیک سبوس به روش تخمیر، حاکی از کاهش میزان اسید فیتیک در اثر فرایند تخمیر توسط لاکتوباسیلوس پلانتارم به میزان ۹۰-۷۸ درصد است (Mosharraf, 2014). جدول (۱) نشان می‌دهد که با رشد و تکثیر باکتری‌های اسیدلاکتیک روی سبوس، ضمن ایجاد محیطی اسیدی، زمینه برای فعالیت آنزیم فیتاز میکروبی فراهم‌می‌شود و با گذشت زمان و با افزایش فعالیت آنزیم فیتاز میزان اسید فیتیک در سبوس کاهش می‌یابد. علت کاهش میزان اسید فیتیک در سبوس گندم در حین تخمیر، افزایش فعالیت فیتاز اندروژن سبوس گندم و فیتاز باکتریایی است. تحقیقات نشان داده است که مخمرها، باکتری‌های اسیدلاکتیک، و بیفیدو باکتریاها منابع ارزشمند و مطمئن آنزیم فیتاز هستند. منبع میکروبی فیتاز مهم‌ترین منبع برای تولید آنزیم به‌صورت تجاری است. اکثر باکتری‌های اسیدلاکتیک دارای فعالیت فسفاتاز هستند (Palacios *et al.*, 2008).

رئال و همکاران در تحقیقی گزارش داده‌اند که باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌طور مستقیم در کاهش اسید فیتیک نقشی ندارند. درواقع این باکتری‌ها با تولید اسید و کاهش تدریجی pH باعث مهیا شدن شرایطی برای افزایش فعالیت آنزیم فیتاز اندروژن گندم و جذب بالاتر منیزیم می‌شوند (Reale *et al.*, 2007). اما تحقیقات آنجلیس و برخی از محققان دیگر در سال‌های ۲۰۰۳ تا ۲۰۰۸ مبین این مطلب است که مخمرها، باکتری‌های اسیدلاکتیک، و بیفیدوباکترها منبع قابل‌توجهی از آنزیم فیتاز هستند (De Angelis *et al.*, 2003).



شکل ۱- منحنی رشد باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتارم* کشت‌شده به روش تخمیر جامد در شرایط بی‌هوازی بر سبوس گندم

تأثیر دما در روش‌های مختلف نگهداری بر بقای میکروارگانیسم‌های سبوس

نتایج بررسی اثر روش نگهداری بر بقای باکتری‌های تکثیرشده در سبوس در شرایط نگهداری در یخچال، فریزر، و شرایط محیطی در جدول (۲) آمده است. نگهداری در فریزر به مدت ۴۸ ساعت موجب مرگ تعداد زیادی از میکروارگانیسم‌های تولیدی شده است، درحالی‌که نگهداری در یخچال قسمت اعظم میکروارگانیسم‌ها را زنده باقی گذاشته است. خشک‌کردن در شرایط محیطی بقای محدودی از میکروارگانیسم‌ها را به دنبال داشته است.

جدول ۲ - تأثیر روش نگهداری بر بقای میکروارگانیسم‌های سبوس گندم

شرایط نگهداری	جمعیت باکتری‌ها (CFU)		رطوبت سبوس (درصد)	
	اولیه	ثانویه	اولیه	ثانویه
یخچال به مدت ۴۸ ساعت	1×10^{10}	$9/55\times10^{9}$	۷۸	۷۸
فریزر به مدت ۴۸ ساعت	1×10^{10}	2×10^{8}	۷۸	۷۸
شرایط محیطی به مدت ۴۸ ساعت	1×10^{10}	8×10^{8}	۷۸	۹/۵

با اینکه گفته می‌شود خشک‌کردن مطمئن‌ترین روش نگهداری سبوس تخمیر شده حاوی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک است، اما نگهداری و خشک‌کردن سبوس فراوری‌شده به روش تخمیر در شرایط محیطی، به دلیل تبخیر آب و کاهش تدریجی فعالیت آبی، باعث مرگ بیش از ۹۰ درصد از میکروارگانیسم‌های زنده موجود در سبوس تخمیری مرطوب می‌شود. بر اساس داده‌های جدول (۲)، نگهداری در یخچال توانسته‌است حدود ۹۵ درصد میکروارگانیسم‌ها را زنده نگه دارد. ولی نگهداری در فریزر یا خشک‌کردن در شرایط محیطی به ترتیب کمتر از ۲ و ۸ درصد از میکروارگانیسم‌ها را زنده نگه داشته‌است. جمعیت اولیه باکتری در سبوس تخمیر شده که در بهترین شرایط کشت داده‌شده قبل از شروع خشک شدن حدود 1×10^{10} عدد به ازای هر گرم وزن خشک سبوس بوده است.

همان‌گونه که مشاهده می‌شود با کاهش رطوبت سبوس تأثیر دمای خشک‌کردن بر مرگ میکروارگانیسم‌ها افزایش‌یافته است. در فرایند خشک‌کردن و فریز کردن، پیوندهای یونی اساساً افزایش پیدا می‌کنند و فعالیت آبی و ایجاد تنش اسمزی کاهش می‌یابد که در این هنگام میکروارگانیسم‌ها با انباشته شدن و به هم چسبیدن با کاهش فعالیت آبی مقابله می‌کنند (Brown, 1976). با ایجادشدن این شرایط، فشار اسمزی متعادل بین سلولی و بین سلول و محیط ایجاد می‌شود که نقش مهمی در پایداری پروتئین و ترکیبات سلول در هنگام کاهش فعالیت آبی دارد (Csonka, 1989). فعالیت متابولیکی میکروارگانیسم‌ها را با نگهداری آنها در دمای بسیار پایین (۱۵۰- تا ۱۹۶- سلسیوس) می‌توان تا حد قابل توجهی کاهش داد. دسترسی به دمای پایین با استفاده از نیتروژن مایع امکان‌پذیر است. در این حالت، ابتدا میکروارگانیسم تا انتهای مرحله لگاریتمی و رسیدن به مرحله ساکن کشت داده می‌شود. پس از آن، سلول‌ها در محیط کشت حاوی معرف محافظت‌کننده در برابر سرما (مانند گلیسرول ۱۰ درصد) به حالت سوسپانسیون درمی‌آیند و پیش از نگهداری در نیتروژن مایع در ظروف مخصوص کاملاً بسته و بدون منفذ منجمد می‌شوند. در پژوهش حاضر از هیچ ماده محافظتی استفاده نشد و فرایندهای موردنظر روی سبوس تخمیر شده بررسی گردید. تحقیقات کومار و همکاران (Kumar *et al.*, 2011) نشان داده‌است که سبوس گندم حاوی قندها، ترکیبات پروتئینی مانند پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه، ویتامین‌های مختلف مانند بیوتین، ریبوفلاوین، تیامین، K، D، E و املاح پتاسیم، منیزیم، روی و آهن هستند که می‌توانند باعث رشد و نگهداری باکتری‌ها شوند و به‌صورت طبیعی اثر محافظت‌کنندگی دارند.

از طرفی، تحقیقات محققان نشان داده است که زنده ماندن میکروارگانیسم‌ها به‌شدت به جنس میکروارگانیسم‌ها و روش مورداستفاده برای نگهداری آنها بستگی دارد. در تحقیقات این محققان مشاهده می‌شود که در روش خشک‌کردن به‌خصوص روش خشک‌کردن پاششی، احتمال زنده ماندن میکروارگانیسم‌ها بیشتر است تا در روش معمول فریز کردن یا استفاده از خشک‌کن تصعیدی، که با نتایج تحقیق ما تطابق دارد (To & Etzel, 2006). در تحقیقی دیگر مشخص گردید دما و مقدار آب ماده، دو عامل مهم برای زنده ماندن میکروارگانیسم‌ها هستند (Brandt, 2007).

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که شرایط یخچال (دمای ۴ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۰ درصد)، نسبت به دو روش دیگر، برای حفظ و زنده ماندن باکتری‌های *لاکتوباسیلوس پلانتارم* متعادل‌تر است.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که اثر سه روش نگهداری (در یخچال، در فریزر، و خشک‌کردن در شرایط محیطی) بر میزان زنده ماندن میکروارگانیسم‌های موجود (باکتری‌های *لاکتوباسیلوس پلانتارم*) متفاوت است. به‌طورکلی میزان زنده ماندن میکروارگانیسم‌ها به روش نگهداری در یخچال، شرایط محیطی، و فریزر به ترتیب حدود ۹۵، ۸، و ۲ درصد است که به نظر می‌رسد روش نگهداری در یخچال (دمای ۴ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۰ درصد) شرایط متعادلی برای حفظ و زنده ماندن این میکروارگانیسم‌ها نسبت به دو روش دیگر است. نتایج این تحقیق مبین این مطلب است که نوع میکروارگانیسم و شرایط مورداستفاده در فراوری بر میزان زنده ماندن میکروارگانیسم‌ها بسیار مؤثر است.

مراجع

American Association of Cereal Chemists. 2003. Approved Methods of the AACC, St Paul. MN.

Brandt, M. 2007. Sourdough products for convenient use in baking. Food Microbiology. 24(2):161-164.

Brown, A.D. 1976. Microbial water stress. Bacteriological Reviews.40(4): 803-846.

Carlson, D. and Poulsen H.D. 2003. Phytate degradation in soaked and fermented activity, PH and temperature. Animal Feed Science and Technology. 103(1-4):141-154.

Csonka, L.N. 1989. Physiological and genetic responses ofbacteria to osmotic stress. Microbiological Reviews. 53(1):121-147

De Angelis, M., Gallo, G., Corbo, MR., McSweenet, PLH., Faccia, M., Giovine, M. and Gobbetti, M. 2003 Phytase activity in sourdough lactic acid bacteria: purification and characterization of a phytase from Lactobacillus sanfrancisensis CB1. Food Microbiology. 87(3):259-270.

Decock, P. and Cappelle, S. 2005. Bread technology and sourdough technology. Trends in Food Science and Technology. 16(1-3):113-120.

Gerez, C. L., Torino, M. I., Rollan, G. and Font de Valdez, G. 2009. Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. Food Control. 20(2):144-148.

Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. Nutrition. 125(6):1401-1412.

Gocmen, D., Gurbuz, O., Kumral, A.Y., Dagdelen, A.F. and Sahin, E. 2007. The effects of wheat sourdough on glutenin patterns, dough rheology and bread properties. European Food Research Technology. 225(5-6):821-830.

Kaenhammer, T. 2000. Probiotic bacteria; today and tomorrow. Journal of Nutrition. 130,451-416.

Katina, K., Salmenkallio-Marttila, M., Partanen, R., Forssell, P. and Autio, K. 2006. Effects of sourdough and enzymes on staling of high-fibre wheat bread. Lebensmittel Wissenchaft und Technology. 39(5):479-491.

Kulp, K. and Lorenz, K. 2003. Handbook of Dough Fermentation. New York: Marcel Dekker, Inc.

Kumar, P., Yadava, R.K. and Gollen, B. 2011.Nutritional contents and medicinal properties of wheat: a review. Life Science and Medicine Research. 22, 1-10.

Lioger, D., Leenhardt, F., Demigne, C. and Remesy, C. 2007. Sourdough fermentation of wheat fractions rich in fibres before their use in processed food. Journal of the Science of Food and Agriculture. 87(7):1368-1373.

Liu, Z.H., Wang, H.Y., Wang, X.E., Zhang, G.P., Chen, P.D. and Liu, D.J. 2007. Phytase activity, phytate, iron, and zinc contents in wheat pearling fractions and their variation across production locations. Journal of Cereal Science. 45(3):319-326.

Mosharraf, L., Kadivar, M. and Shahedi, M. 2009. Effect of hydrothermaled bran on physicochemical, rheological and microstructural characteristics of Sangak bread. Journal of Cereal Science. 49(3): 398-404.

Mosharraf, L. 2014. Investigation of wheat bran fermentation to improve of its nutritional properties Investigation of wheat bran fermentation to improve of its nutritional properties. Agriculture Engineering Research Institute. Research Report No. 45793.

Mullaney, E.J. and Ullah, A.H.J. 2003. The term phytase comprises several different classes of enzymes. Biochemical and Biophysical Research Communications. 312(1):179-184.

Nahapetian, A. and Bassiri, A. 1975. Changes in concentrations and interrelationships of phytate, phosphorus, magnesium, calcium, and zinc in wheat during maturation. Journal of Agricultural Food Chemistry. 23(6):1179-1182.

Palacios, M.C., Haros, M., Rosell, C.M. and Sanz, Y. 2008. Selection of phytate-degrading human bifidobacteria and application in whole wheat dough fermentation. Food Microbiology. 25(1):169-176.

Palacios, M.C., Haros, M., Sanz Y. and Rosell, M.C. 2008. Selection of lactic acid bacteria with high phytate degrading activity for application in whole wheat bread making. LWT-Food Science and Technology. 41(1): 82-92.

Reale, A., Konietzny, U., Coppola, R., Sorrentino, E. and Greiner, R. 2007. The importance of lactic acid bacteria for phytate degradation during cereal dough fermentation. Journal of Agricalture and Food Chemistry. 55(8):2993-2997.

To, B. and Etzel, M. 2006. Spray drying, freeze drying, or freezing of three different lactic acid bacteria species. Journal of Food Science. 62(3):576-578.

Zamudio, M., GonzÂ, A. and Medina, A. 2001. Lactobacillus plantarum phytase activity is due to non-specific acid phosphatase. Letters in Applied Microbiology. 32(3): 181-184.

Food Engineering Research/Vol.17/No.64/Spring 2018/P: 81-90

Study of Differrent Storage Tempratures on Viability of *Lactobacillus Plantarum* in Wheat Bran

L. Mosharraf*

* Corresponding Author: Assistant professor, Agricultural Engineering Research Department, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan, Iran.
Email :mosharaf@ag.iut.ac.ir
Received:25 June 2018, Accepted: 12 September 2018

Wheat bran is a rich source of valuable and nutrient compounds such as dietary fibers, amino acids, vitamins and minerals. Because of these valuable compounds, bran is a suitable medium for growth and reproduction of beneficial microorganisms for human health. Several studies have confirmed the beneficial bacteria have different health benefits. These properties include the prevention and treatment of some infectious diseases, the beneficial impact on the intestinal flora, improve immune function and reduce allergy. Strong enzyme systems of these microorganisms can break down some of the components of the bran such as phytic acid and improve its nutritional properties. By fixing of these microorganisms on bran, prebiotic product containing beneficial microorganisms can be used in a wide range of food products including bakery products. In this study, *Lactobacillus plantarum* which has beneficial properties for human and also improve bread quality were used to ferment the wheat bran. Fermented bran by lactic acid bacteria was produced under optimal growth conditions. Then the effect three methods of storage including drying in ambient condition and storage at refrigerator and freezer temperature at different temperature, 23, 4 and -18 °C, respectively, on survival rate of microorganisms were investigated. It was observed that the survival rate of microorganisms using refrigerator, drying in ambient condition and freezing, was 95, 8 and 2%, respectively. Results showed that storage at refrigerator keeps the balance condition for survival of microorganisms comparing to other studied methods.

KeyWords: Dietary fiber, Fermented bran, Phytic acid, Probiotic