Archive of SID

نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۱ شماره ۳/ سال ۱۳۹۰

ارزیابی قابلیت خمیرترش مایع حاوی آغازگرهای لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری در جلوگیری از فساد قارچی نان

نیلوفر خراسانچی[۱]، سیدهادی پیغمبردوست[۲*]، ابوالفضل گلشن تفتی[۳]، محمدامین حجازی[۴] و سیدعباس رأفت[۵]

تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۱/۳

۱-دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۲-دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۳- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز و مربی بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمان

۴- استادیار پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمال غرب، تبریز

۵- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

چکیده:

فساد محصولات نانوایی اساساً ناشی از رشد کپک‌ها می‌باشد. امروزه مصرف کننده بدنبال غذاهایی با حداقل استفاده از مواد نگهدارنده شیمیایی و با حداقل فرآوری هستند. این امر محققان را بر آن داشته تا از باکتری‌های اسید لاکتیکی (LAB) به عنوان نگهدارنده‌های طبیعی در مواد غذایی استفاده کنند. باکتری‌های اسید لاکتیکی ترکیبات ضد میکروبی مانند اسیدهای آلی، دی استیل، استون، هیدروژن پراکسید، روتروسایکلین، پپتیدهای ضد قارچی و باکتریوسین تولید می‌کنند که زمان ماندگاری غذا را افزایش میدهد. در این مطالعه خواص ضد کپکی باکتری‌های اسید لاکتیکی شامل لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری مورد استفاده در تهیه خمیرترش در جلوگیری از رشد کپک آسپرژیلوس نایجر و دو نوع کپک جداسازی شده از نان (کپک زرد و کپک سیاه) بررسی شد. نتایج حاصل از آنالیزهای آماری نشان داد که از روز دوم به بعد میزان رشد کپک آسپرژیلوس نایجر در محیط کنترل به‌طور معنی‌داری ($\alpha<0/05$) بیشتر از محیط‌های تهیه شده از مایع رویی خمیرترش بود. محیط‌های تهیه شده از مایع رویی خمیرترش نتوانستند رشد کپک سیاه و زرد را به تأخیر بیاندازند.

واژه‌های کلیدی: کپک، نان، خمیرترش، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس روتری

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluating the ability of liquid sourdough containing *L. plantarum* and *L. reuteri* starters in inhibition of bread mold spoilage

N Khorasanchi [1], S H Peighambardoust [2*], A Golshan Tafti [3], M A Hejazi [4]and S A Rafa[5]

Received: June 14, 2010 Accepted: January 23, 2012
[1]MSc graduated, Department of Food Science, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2]Associate Prof., Department of Food Science, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[3] PhD student, Department of Food Science, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran and Lecture, Department of Agricultural Engineering Research, Agricultural Research Centre, Kerman, I.R. Iran
[4]Assistant Prof., Agricultural Biotechnology Research Institute, Tabriz, Iran
[5]Assistant Prof., Department of Animal Science, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
*Corresponding author: E-mail: peighambardoust@tabrizu.ac.ir

Abstract:
Spoilage of bakery products is mainly caused by molds. Nowadays, consumers demand for minimal use of chemical preservatives in foods. Thus, researchers attempted to use lactic acid bacteria as biopreservatives in food. Lactic acid bacteria produce a number of antifungal metabolites, e.g. organic acids, diacetyl, acetone, hydrogen peroxide, antifungal peptides and bacteriocin, by which the shelf-life of food is prolonged. In this study antifungal properties of lactic acid bacteria including *L. plantarum* and *L. reuteri* in sourdough in inhibition of *Aspergillus niger* and two *Aspergillus* species (yellow and black molds) isolated from bread was investigated. Results showed THAT after 2nd day, *Aspergillus niger* growth was significantly ($P<0.05$) higher in control culture than that of sourdough supernatants cultures. In case of yellow and black molds, sourdough supernatant cultures did not retard mold growth.

Keywords: Mold, Bread, Sourdough, *L. plantarum, L. reuteri*

مقدمه

فساد محصولات نانوایی اساساً ناشی از رشد کپک‌ها است. مهمترین گونه‌های عامل فساد، شامل آسپرژیلوس، فوزاریوم و پنیسلیوم می‌باشد. علاوه بر خسارات اقتصادی ناشی از کپک‌ها، انواع مایکوتوکسین‌های تولید شده توسط آن‌ها نیز باعث بروز مشکلاتی در سلامت افراد می‌شود که از جمله آنها می توان به مایکوتوکسین‌های تولیدی مانند آفلاتوکسین‌ها اشاره کرد.

برای ممانعت از رشد کپک‌ها می‌توان از روش پرتودهی محصولات با اشعه مادون قرمز یا امواج مایکروویو، استفاده از بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده یا افزودن مواد شیمیایی مانند اسید پروپیونیک استفاده نمود (گولد، ۱۹۹۶). مقدار مجاز مصرف پروپیونات در اروپا ۰/۳ درصد می‌باشد (لگان، ۱۹۹۳). البته استفاده از پروپیونات در این غلظت موجبات حصول اطمینان از عدم کپک زدگی محصولات نانوایی را فراهم نمی‌کند (لاورمیکوکا و همکاران، ۲۰۰۰). امروزه مصرف کنندگان خواهان غذایی با حداقل استفاده از نگهدارنده-های شیمیایی و اعمال فرآیند هستند. این امر محققان را بر آن داشت تا از باکتری‌های اسید لاکتیکی (LAB) به عنوان نگهدارنده‌ای طبیعی در صنایع غذایی استفاده کنند (شنورر و مگنوسون، ۲۰۰۵). باکتری‌های اسید لاکتیک گروه مهمی از باکتری‌های آغازگر هستند که در تهیه غذاهای تخمیری مانند ماست، پنیر، کلم ترش و خمیرترش استفاده شده و مسئول تشدید طعم و همچنین افزایش زمان ماندگاری محصول هستند (کاپلایس و فیزگرالد، ۱۹۹۹). باکتری‌های اسید لاکتیکی

www.SID.ir

Archive of SID

یک سری ترکیبات ضد میکروبی مانند اسیدهای آلی (اسید لاکتیک و اسید استیک)، دی استیل، استون، هیدروژن پراکسید، روتروسایکلین، پپتیدهای ضد قارچی و باکتریوسین تولید می‌کنند (مگنوسون و شنورر، ۲۰۰۱)، که دارای ویژگی‌های مطلوبی بوده و آن‌ها را برای استفاده به عنوان نگهدارنده مواد غذایی مطلوب می‌سازد: ۱) عموماً به عنوان ترکیباتی مفید و عاری از ضرر شناخته می‌شوند، ۲) معمولا به تغییرات pH و حرارت مقاوم هستند و ۳) در مقابل طیف وسیعی از پاتوژن‌های بیماری‌زا و عامل فساد فعالیت می‌کنند (گالوز و همکاران، ۲۰۰۷). از جمله باکتری‌های اسید لاکتیک می‌توان به لاکتوباسیلوس پلانتاروم اشاره کرد. فنیل لاکتیک اسید ترکیبی است که به تازگی از محیط کشت این باکتری استخراج شده و دارای خاصیت ضد قارچی بر روی کپک‌های جداسازی شده از نان شامل آسپرژیلوس، پنی‌سیلیوم و فوزاریوم بود و مشاهده گردید که حدود کمتر از ۱۰ mg/mL فنیل لاکتیک اسید لازم است تا ۹۰ درصد از رشد کپک جلوگیری شود (لاورمیکوکا و همکاران، ۲۰۰۳). فعالیت فنیل لاکتیک اسید مرتبط با pH است. نحوه عملکرد آن بر اساس خصوصیات لیپوفیلیکی است که آن را قادر می‌سازد به‌صورت غیر یونیزه از غشاء میکروبی عبور کند (گولد، ۱۹۹۶). همچنین ترکیب دی پپتید سیکلو-L-Leu-L-Pro از لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شد و به عنوان یکی دیگر از عوامل ضد کپک شناسایی گردید (دال بلو و همکاران، ۲۰۰۷). از دیگر ترکیبات ضد کپکی، روتروسایکلین است که از لاکتوباسیلوس روتری استخراج می‌گردد و دارای وزن مولکولی پایینی است (هولتزل و همکاران، ۲۰۰۰). مطالعات نشان داد غلظت کمتر از ۱ mg/L آن بر باکتری‌های گرم مثبت اثرگذار است (گنزل و همکاران، ۲۰۰۰).

با توجه به اینکه در ایران ضایعات نان بویژه در مرحله مصرف خیلی زیاد است لزوم انجام تحقیق برای کاهش ضایعات نان مصرفی در کشور امری ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این تحقیق بررسی خواص ضد کپکی دو گونه باکتری اسید لاکتیکی شامل لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری مورد استفاده در تهیه خمیرترش در مهار کپک آسپرژیلوس نایجر و دو نوع کپک جداسازی شده از نان (کپک زرد و کپک سیاه) از جنس آسپرژیلوس بود.

مواد و روش‌ها

ویژگی‌های آرد مصرفی

برای تهیه نمونه‌های خمیرترش، از آرد گندم دارای ۰/۸۸ درصد خاکستر، ۲۹/۹ درصد گلوتن مرطوب و عدد فالینگ ۴۱۱ ثانیه با میزان جذب آب ۵۵/۵ درصد که با دستگاه فارینوگراف تعیین شده بود، استفاده گردید.

آماده سازی سویه های باکتریایی

باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم ۱۰۵۸ ATCC (باکتری هتروفرمنتاتیو اختیاری) و باکتری لاکتوباسیلوس روتری ۱۶۵۵ ATCC (باکتری هتروفرمنتاتیو اجباری) به صورت آمپول لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی ایران (PTCC) تهیه شد. محیط کشت MRS broth آماده و اتوکلاو شد. آمپول-های لیوفیلیزه در زیر هود بیولوژیک شکسته و باکتری‌ها در شرایط استریل به محیط کشت آماده، تلقیح شد. محیط کشت‌های تلقیح شده در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شد.

تهیه سوسپانسیون باکتریایی برای تلقیح به خمیرترش

انواع مایه تلقیح عبارت بودند از: لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری. میزان مایه تلقیح باکتریایی 10^{7}CFU در یک گرم خمیرترش بود. لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری دو بار در محیط کشت MRS broth کشت داده شد و گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰°C به مدت ۲۴ ساعت انجام شد تا سلول‌ها کاملاً فعال شدند. برای آماده سازی مایه‌های تلقیحی اولیه، حجم مورد نیاز از کشت‌های باکتریایی در دور ۸۰۰۰×g و به مدت۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. در پایان باکتری‌های ته نشین شده

www.SID.ir

Archive of SID

با استفاده از آب مقطر استریل شستشو داده و به سوبسترای خمیر اولیه اضافه شد.

تهیه و تخمیر خمیرترش

نمونه‌های خمیرترش با استفاده از کشت‌های باکتریایی فعال لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری به‌طور جداگانه تهیه شد. سوبسترای تشکیل شده از آرد و آب با راندمان خمیر برابر ۳۰۰ با دو نوع آغازگر اشاره شده و به میزان 10^7 باکتری به ازای هر گرم خمیر تلقیح شد. عملیات تخمیر در فرمنتور New Brunswick Scientific در دمای ۳۷°C (گاگیانو و همکاران، ۲۰۰۷) با دور همزن۳۰۰ rpm تا رسیدن به pH=۴/۳۳ انجام شد و میزان pH ثبت و مقدار اسیدیته قابل تیتراسیون اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتراسیون

برای تعیین مقدار اسیدیته قابل تیتراسیون، ۱۰گرم از هر نمونه با ۹۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد و. محلول به دست آمده با فنل فتالئین مخلوط و با سود ۰/۱ نرمال تیتر گردید تا به pH=۸/۵ رسید و مقدار حجم سود مصرفی به عنوان اسیدیته قابل تیتراسیون عنوان شد (باستتی، ۲۰۰۱).

تهیه مایع رویی حاصل از خمیرهای‌ترش

خمیرترش های به دست آمده از دو نوع آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری طبق روش کام و همکاران (۲۰۰۶) با تغییرات جزئی برای ارزیابی فعالیت ضد کپکی مورد آزمایش قرار گرفتند. به منظور انجام این کار، مقداری از خمیرترش‌های به دست آمده از دو نوع آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری پس از عملیات تخمیر با دستگاه فرمنتور New Brunswick Scientific با دور همزن ۳۰۰ rpm در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد (تا رسیدن به pH ۴/۳۳)، سانتریفیوژ شد (گاگیانو و همکاران، ۲۰۰۷). سانتریفیوژ کردن با شتاب ۶۵۰۰ g و به مدت ۴۰ دقیقه انجام گردید. مایع‌های رویی[1] به دست آمده از عملیات سانتریفیوژ برای اطمینان از عدم حضور باکتری اسید لاکتیکی از فیلتر غشایی ۰/۲ میکرومتر عبور داده شدند و سپس در شرایط و ظروف استریل برای ارزیابی فعالیت ضد کپکی آماده گردیدند.

کشت کپک‌ها و تهیه سوسپانسیون اسپور

کپک‌های استفاده شده در این تحقیق شامل سه نوع کپک آلوده کننده رایج نان شامل آسپرژیلوس نایجر ATCC ۵۰۱۱ تهیه شده از PTCC و دو نوع کپک جداسازی شده از نان (کپک زرد و کپک سیاه) از جنس آسپرژیلوس بود. برای تعیین جنس کپک‌های جداسازی شده از نان، عکسبرداری از این دو نوع کپک توسط میکروسکوپ نوری Axiostar plus در مقیاس ۲۵ میکرومتر انجام شد. برای انجام آزمایش، این سه نوع کپک از کشت های استوک خالص به محیط کشت‌های PDA انتقال یافتند. پلیت‌های کشت داده شده به مدت ۷ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد گرمخانه‌گذاری شدند. بعد از انکوباسیون، اسپورها با استفاده از آب مقطر استریل، شستشو و جمع‌آوری گردیدند. شمارش اسپورها با استفاده از لام هموسیتومتر انجام و غلظت اسپورها تا رسیدن به غلظت نهایی 10^5 اسپور به ازای هر میلی لیتر رقیق گردیدند (کام و همکاران، ۲۰۰۶).

ارزیابی فعالیت ضد کپکی مایع‌های رویی تهیه شده

مایع‌های رویی به دست آمده از مرحله قبل به منظور توانایی در بازدارندگی رشد سه نوع کپک، مورد آزمایش قرار گرفت. برای انجام این آزمایش از روش کام و همکاران (۲۰۰۶) با کمی تغییر استفاده شد. در این روش از مخلوط مایع‌های رویی و محیط کشت PDA به عنوان محیطی برای رشد کپک‌ها استفاده شد. بدین منظور در هر پلیت ۲۰ میلی لیتر محیط کشت سنتزی، مخلوطی از مایع رویی و محیط کشت PDA با دو برابر غلظت با نسبت ۱:۱ ریخته شد. PDA با دو برابر غلظت با استفاده از نصف مقدار آب مورد نیاز به منظور رسیدن به غلظت آگار دلخواه بعد از ترکیب شدن با مایع‌های رویی تهیه شد. از مخلوط مایع رویی خمیر بدون تلقیح استریل و محیط کشت PDA با دو برابر غلظت با نسبت ۱:۱، به عنوان محیط کشت کنترل استفاده شد. در این بخش از آزمایش هر پلیت با ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور تهیه شده در مرحله قبل تلقیح شد. مایع تلقیحی اسپور به‌صورت یک قطره در مرکز سطح آگار قرار داده شد.

[1] Supernatants

www.SID.ir

Archive of SID

سپس همه پلیت‌ها به مدت ۶ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد گرمخانه‌گذاری شد. رشد کپک‌ها با استفاده از اندازه کلونی هر کپک و با ثبت اندازه قطر روزانه هر کلونی مشخص گردید.

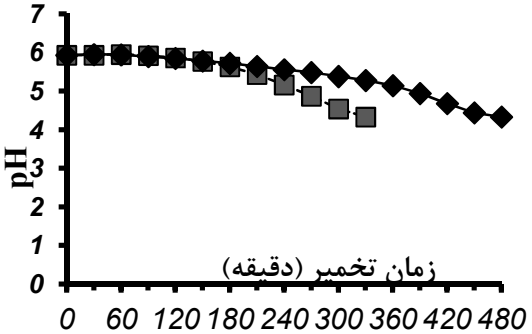
تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز فعالیت ضد کپکی مایع رویی حاصل از خمیرترش‌ها با استفاده از طرح کاملاً تصادفی با رویه مدل‌های خطی تعمیم یافته (GLM)[1] نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با روش توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام گردید.

نتایج و بحث

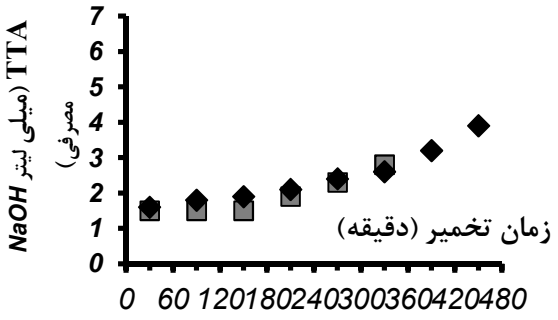
تخمیر خمیرترش

همان‌طور که اشاره شد در این پژوهش از کشت‌های باکتریایی فعال لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری به عنوان آغازگر برای تهیه خمیرترش استفاده گردید. تغییرات pH تا رسیدن به ۴/۳۳ و اسیدیته قابل تیتراسیون (TTA) در طول تخمیر در فرمنتور در دمای ۳۷°C در شکل ۳-۱ نشان داده شده است.



شکل۱- اثر نوع باکتری بر تغییرات pH در تخمیر (دما ۳۷°C):
لاکتوباسیلوس پلانتاروم (■)؛
لاکتوباسیلوس روتری (♦)

[1] General Linear Model



شکل ۲- تغییرات اسیدیته کل قابل تیتر (TTA، برحسب میلی لیتر سود مصرفی ۰/۱ نرمال) در طی تخمیر (دما ۳۷°C)
لاکتوباسیلوس پلانتاروم (■)؛
لاکتوباسیلوس روتری (♦).

همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، باکتری لاکتوباسیلوس روتری دارای سرعت کمتری در کاهش pH خمیر می‌باشد و به دلیل قدرت کمتر اسیدهای تولیدی به وسیله این باکتری در کاهش pH، زمان بیشتری برای تخمیر لازم است تا pH کاهش یافته و به مقدار ۴/۳۳ برسد. بنابراین زمان تخمیر برای کاهش pH به مقدار معین (pH=۴/۳۳) در مورد لاکتوباسیلوس روتری افزایش یافت. البته نتایج حاصله را نمی‌توان به میزان جمعیت اولیه باکتریایی نسبت داد، زیرا که در تمام موارد میزان تلقیح با یکدیگر برابر و تقریباً CFU/g ۱۰۷ بود. مطالعات رابرت و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که باکتری لوکونستوک (هتروفرمنتاتیو اجباری) نسبت به لاکتوباسیلوس پلانتاروم (هتروفرمنتاتیو اختیاری) موجب کاهش سریع‌تر pH خمیرترش شد در حالی که بعد از ۲۰ ساعت تخمیر، میزان pH نهایی درخمیرترش تهیه شده با نژاد هتروفرمنتاتیو اجباری بالاتر بود. بنابراین خصوصیات اسیدی کردن در طی تخمیر خمیرترش، بستگی به گونه و نژاد باکتری اسید لاکتیکی دارد. در این مطالعه می‌توان چنین عنوان کرد از آنجا که در یک pH ثابت میزان pKa اسید لاکتیک (۳/۸) نسبت به اسید استیک (۴/۸) پایین‌تر است و به مقدار

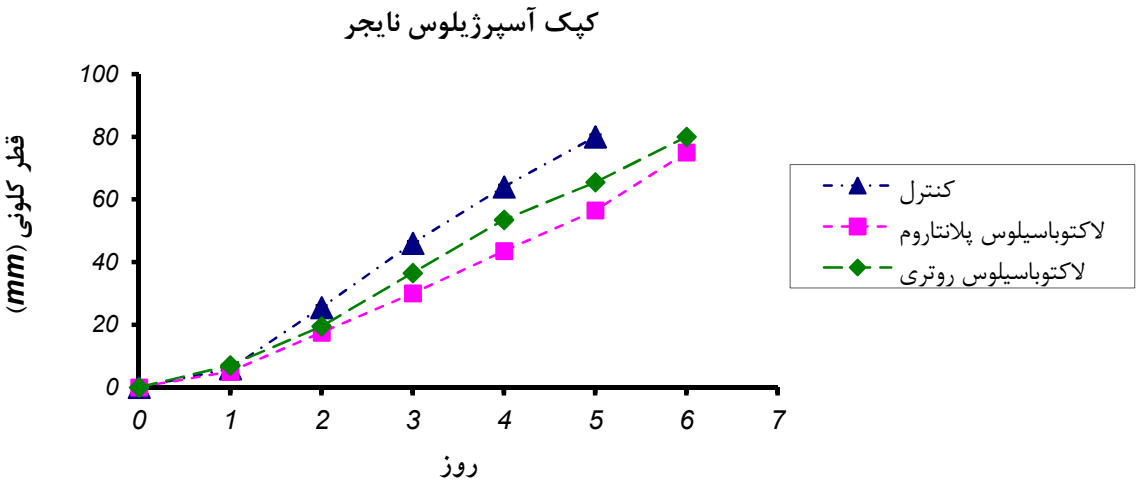
www.SID.ir

Archive of SID

بیشتری به فرم یونیزه شده در محیط وجود دارد، به همین دلیل نسبت به اسید استیک بر تغییرات pH اثرگذارتر است. همچنین همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود در طی تخمیر با کاهش pH، میزان اسیدیته قابل تیتراسیون در کلیه تیمارها افزایش یافت. بنابراین با توجه به یکسان بودن نوع آرد، بین میزان pH و اسیدیته قابل تیتراسیون هماهنگی وجود دارد.

ارزیابی فعالیت ضد کپکی مایع‌های رویی تهیه شده

با استفاده از میانگین اندازه گیری‌های روزانه، منحنی رشد برای هر کپک در حضور مایع‌های رویی تهیه شده از دو نوع خمیرترش، شامل آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم و آغازگر لاکتوباسیلوس روتری، به دست آمد و با مورد کنترل مقایسه شد. فعالیت ضد کپکی خمیرترش‌های تهیه شده در مقابل کپک آسپرژیلوس نایجر شکل ۳ و دو کپک ایزوله شده از نان شامل کپک زرد و سیاه (جنس آسپرژیلوس) در شکل ۴ و ۶ نشان داده شده است.



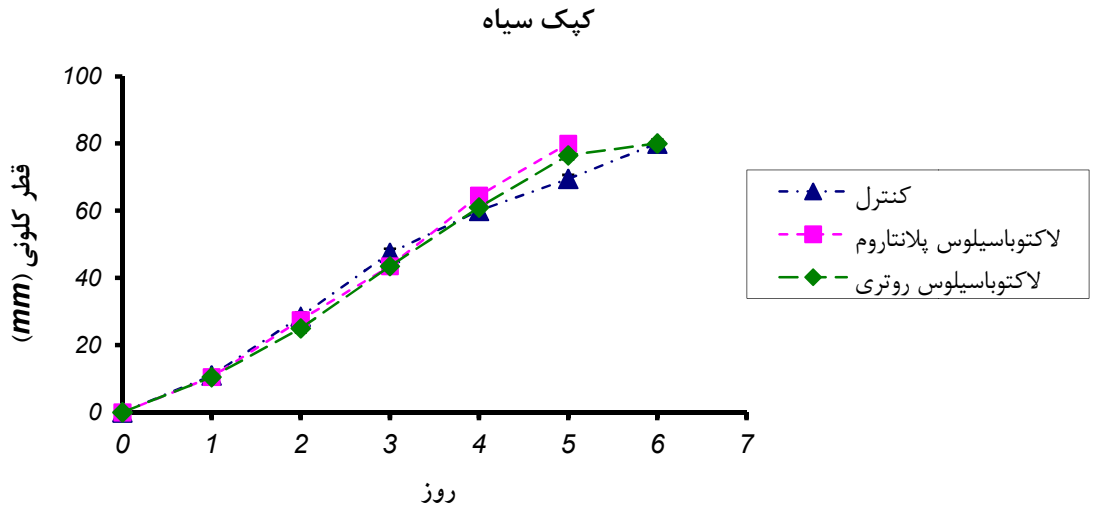
شکل ۳- منحنی رشد کپک آسپرژیلوس نایجر در حضور و عدم حضور (کنترل) مایع های رویی حاصل از دو نوع خمیرترش در طی ۶ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد

نتایج حاصل از آنالیزهای آماری نشان داد که از روز دوم به بعد تفاوت معنی‌داری در میزان رشد کپک آسپرژیلوس نایجر در محیط کنترل نسبت به دو محیط دیگر وجود داشت و رشد این کپک در محیط کنترل بیشتر و در محیط‌های تهیه شده از مایع رویی خمیرترش حاوی آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم و همچنین حاوی لاکتوباسیلوس روتری کمتر بود. همچنین از روز سوم به بعد مشاهده شد که محیط تهیه شده از مایع رویی خمیرترش حاوی آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم نسبت به محیط تهیه شده از مایع رویی خمیرترش حاوی آغازگر لاکتوباسیلوس روتری به‌طور معنی‌داری در مهار رشد کپک آسپرژیلوس نایجر موفق‌تر عمل کرد، به‌گونه‌ای که میزان مهار رشد این کپک در محیط تهیه شده از مایع رویی خمیرترش حاوی آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم نسبت به محیط تهیه شده از مایع رویی خمیرترش حاوی آغازگر لاکتوباسیلوس روتری در روز پنجم به ترتیب ۲۹/۳۷ و ۱۸/۱۲ درصد بود. همان‌طور که در شکل ۳ و ۴ ملاحظه می‌گردد، از آنجا که نرخ رشد کپک آسپرژیلوس نایجر و کپک سیاه در تیمار کنترل بالاتر بود به همین جهت از روز پنجم به بعد به دلیل پر شدن کل پلیت، امکان اندازه‌گیری قطر کلونی مقدور نبود. لاورمیکوکا و همکاران (۲۰۰۰) عنوان کردند که فنیل لاکتیک اسید تولید شده به‌وسیله لاکتوباسیلوس پلانتاروم ITM۲۱B، رشد کپک آسپرژیلوس نایجر را در نان تا ۷ روز به تأخیر می-

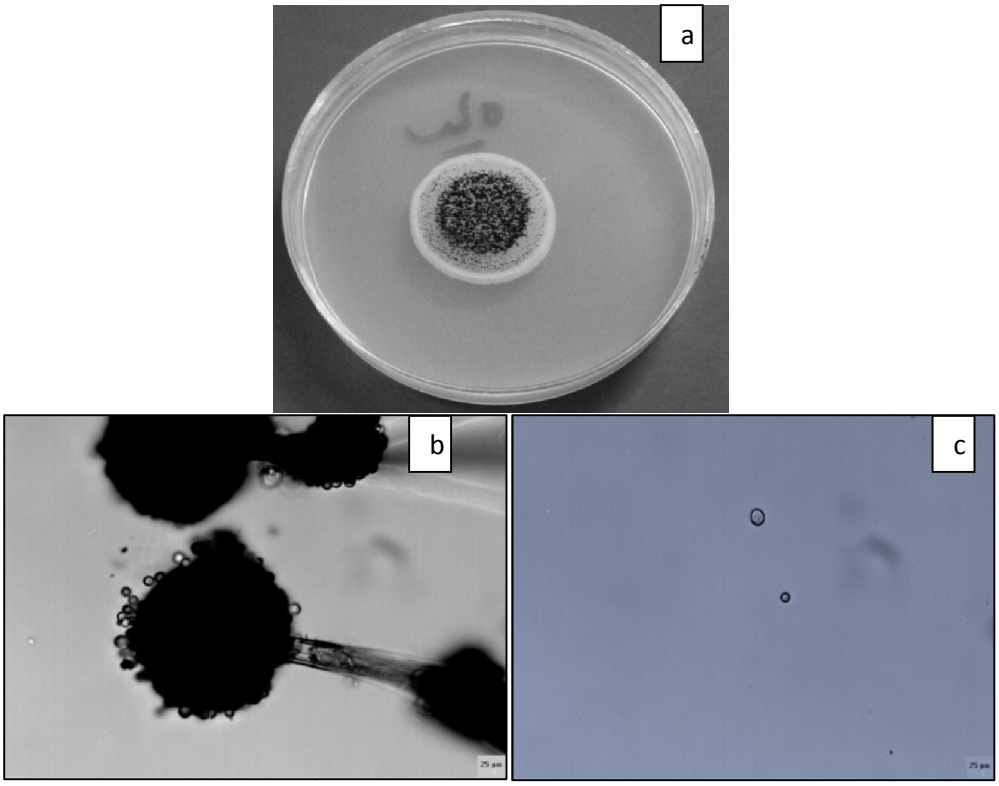
www.SID.ir

Archive of SID

اندازد، در حالی که نان تهیه شده با مخمر ساکارومایسس سرویزیه بعد از دو روز شروع به کپک‌زدگی کرد. همان‌طور که قبلاً اشاره شد میزان pH خمیرترش تهیه شده با این دو نوع باکتری ثابت و برابر ۴/۳۳ بود، بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که علاوه بر نوع و مقدار اسید، دیگر ترکیبات ضد کپکی تولید شده به وسیله باکتری می‌تواند بر مهار رشد کپک مؤثر باشد.



شکل ۴- منحنی رشد کپک سیاه (ایزوله شده از نان) در حضور و عدم حضور مایع های رویی حاصل از دو نوع خمیرترش در طی ۶ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد



شکل ۵- کلونی کپک سیاه روی محیط PDA (a)، سر کندیا (b) و کندیا (c)

www.SID.ir

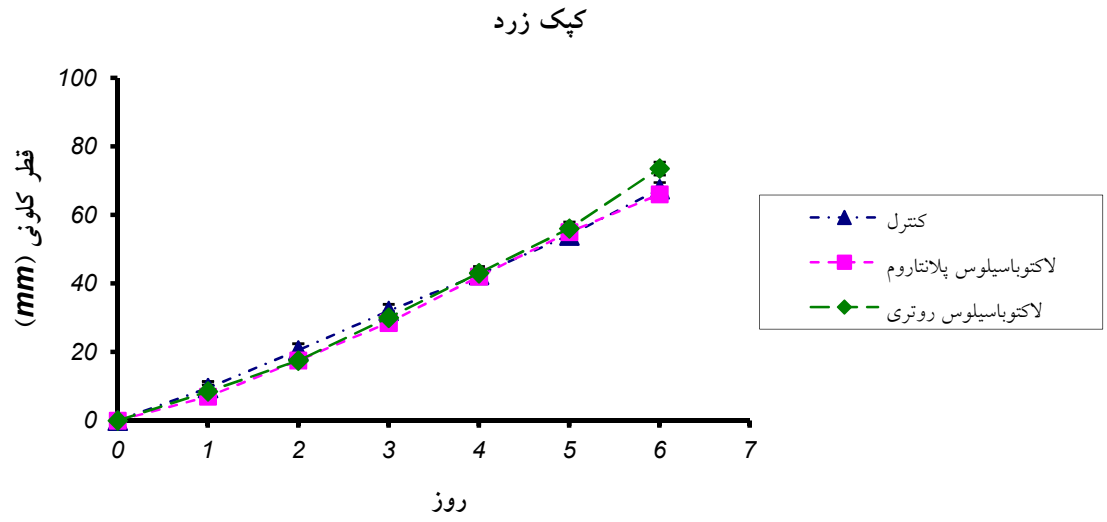
Archive of SID

تفاوت معنی‌داری در میزان رشد کپک سیاه در محیط-های متفاوت تا روز پنجم مشاهده نشد. در روز پنجم، میزان رشد در محیط‌های حاوی مایع رویی حاصل از هر یک از دو نوع خمیرترش تلقیحی با آغازگر نسبت به تیمار کنترل بیشتر بود که این امر نشان دهنده عدم توانایی مایع رویی حاصل از هر یک از دو نوع خمیرترش در مهار رشد کپک سیاه بود.

آنالیز آماری تفاوت معنی‌داری در میزان رشد کپک زرد بین تیمارهای متفاوت نشان نداد. محیط‌های حاوی مایع رویی حاصل از هر یک از دو نوع خمیرترش تلقیحی با آغازگر نسبت به تیمار کنترل، مانع از رشد کپک زرد نشدند.

نتیجه‌گیری

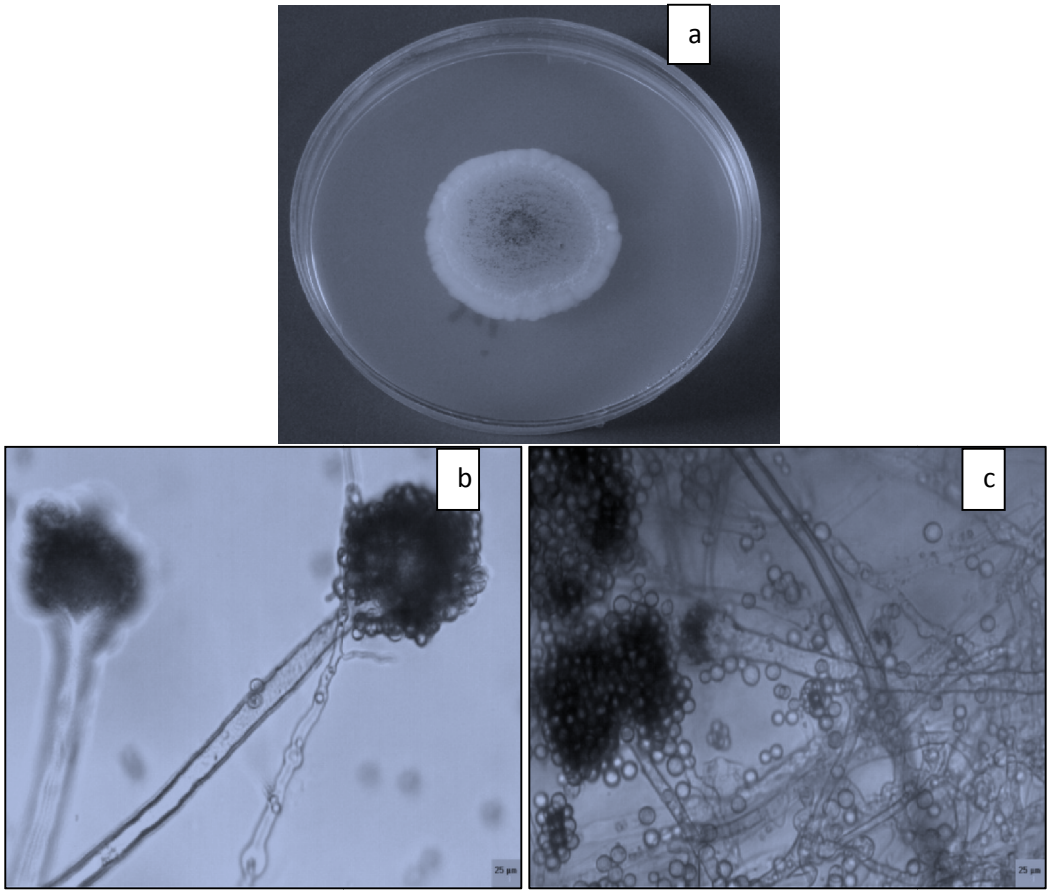
خمیرترش اساساً مخلوط پیچیده‌ای از باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمرها است. فعالیت ضد کپکی باکتری‌های اسید لاکتیک بسیار متنوع است و با توجه به نژاد و گونه آنها متفاوت می‌باشد. عوامل زیادی بر میزان اثرگذاری ترکیبات ضد کپکی تولیدی توسط باکتری‌های اسید لاکتیک مؤثر است که از آن جمله می‌توان به زمان انکوباسیون، pH و ترکیبات محیط اشاره کرد. تحقیق حاضر نشان داد باکتری‌های اسید لاکتیک دارای پتانسیل مناسبی در مهار رشد کپک می‌باشد. البته مطالعات بیشتری برای تعیین اثرات ضد کپکی این باکتری‌ها باید انجام شود. انتظار می‌رود در آینده ترکیبات طبیعی مهارکننده عوامل فساد، از خمیرترش جداسازی شده و به‌منظور افزایش زمان ماندگاری محصولات، به انواع مختلف غذا افزوده گردد.



شکل ۶- منحنی رشد کپک زرد (ایزوله شده از نان) در حضور و عدم حضور مایع های رویی حاصل از دو نوع خمیرترش در طی ۶ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۷- کلونی کپک زرد روی محیط PDA (a)، سر کندیا (b) و کندیا (c).

منابع مورد استفاده

Bastetti G. 2001. Breads produced in Italy. Part I: Sours, preferments and starters. American Institute of Baking, Technical Bulletin, 2001. 23:1-5.

Caplice E and Fitzgerald GF. 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. International Journal of Food Microbiology 50:131- 149.

Dal Bello F, Clarke CI, Ryan LAM, Ulmer H, Schober TJ, Strom K, Sjogren J, van Sinderen D, Schnurer J and Arendt EK. 2007. Improvement of the quality and shelf life of wheat bread by fermentation with the antifungal strain *Lactobacillus plantarum* FST 1.7. Journal of Cereal Science 45:309-318.

Gaggiano M, Di Cagno R, De Angelis M, Arnault P, Tossut P, Fox PF and Gobbetti M. 2007. Defined multi-species semi-liquid ready-to-use sourdough starter. Food Microbiology 24: 15-24.

Gálvez A, Abriouel H, Lucas López R and Ben Omar N. 2007. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. International Journal of Food Microbiology 120: 51-70.

Ganzle MG, Hoeltzel A, Walter J, Jung G and Hammes WP. 2000. Characterization of reutericyclin produced by *Lactobacillus reuteri* LTH2584. Appl. Environmental Microbiology 66:4325–4333.

www.SID.ir

Archive of SID

Gould GW. 1996. Methods for preservation and extension of shelf life. Journal of Food Microbiology 33:51–64.

Holtzel A, Ganzle MG, Nicholson GJ, Hammes WP and Jung G. 2000. The first low-molecular-weight antibiotic from lactic acid bacteria: reutericyclin, a new tetramic acid. Angewandte Chemie International Edition 39:2766–2768.

Kam PV, Bianchin A and Bullerman LB. 2006. Inhibition of mold growth by sourdough bread cultures. RURALS: Review of Undergraduate Research in Agricultural and Life Sciences 1:1-11.

Lavermicocca P, Valerio F, Evidente A, Lazzaroni S, Corsetti A and Gobbetti M. 2000. Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B. Applied Microbiology 66:4084-4090.

Lavermicocca P, Valerio F and Visconti A. 2003. Antifungal activity of phenyllactic acid against molds isolated from bakery products. Applied and Environmental Microbiology 69:634-640.

Legan JD. 1993. Mold spoilage of bread: The problem and some solutions. International biodeterioration and biodegradation 32:33-53.

Magnusson J and Schnürer J. 2001. *Lactobacillus coryniformis* subsp. coryniformis strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound. Applied and Environmental Microbiology 67:1-5.

Robert H, Gabriel V, Lefebvre D, Rabier P, Vayssier Y, and Fontagné-Faucher C. 2006. Study of the behaviour of *Lactobacillus plantarum* and Leuconostoc starters during a complete wheat sourdough breadmaking process. LWT - Food Science and Technology 39:256-265.

Schnurer J and Magnusson J. 2005. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. Trends in Food Science and Technology 16:70-78.

www.SID.ir