

اثر باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس *PTCC 1336* (پاشش سطحی) و کاربرد پروپیونات کلسیم بر ماندگاری و خواص حسی نان لواش

مینا بارانی^۱، محمد علی نجفی^{۲*}، اسماعیل عطای صالحی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی قوچان

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه زابل

۳- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۵ تاریخ پذیرش: ۹۴/۳/۱۸)

چکیده

از مهمترین عوامل فساد نان می توان به انواع فساد های کپکی اشاره نمود که عمدتاً ناشی از اسپرژیلوس، فوزاریوم و پنی سیلیوم می باشد. باکتری های اسید لاکتیک از جمله نگهدارنده های زیستی هستند که به دلیل خواص ضد میکروبی و در پاره ای از موارد به علت تأثیرات مثبتی که بر خواص ارگانولپتیک دارند، بسیار مورد توجه قرار گرفته اند. در این پژوهش تأثیر محلول پاشی باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس *PTCC 1336* در سه غلظت (۰، ۱۰^۴ و ۱۰^۶ cfu/cm²) و استفاده هم زمان پروپیونات کلسیم در سه غلظت (۰، ۰/۲ و ۰/۴ درصد) بر فعالیت کپک ها، خواص ارگانولپتیک نان لواش و نیز تأثیر آن بر کاهش مقدار مصرف پروپیونات کلسیم بررسی گردید. در نان های تهیه شده، pH، اسیدیته و مقدار کپک زدگی (مشاهده ی ماکروسکوپی و آزمایشگاهی) اندازه گیری شد. نتایج نشان داد پاشش باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس *PTCC 1336* بر سطح نان می تواند با قدرت بیشتری در مقایسه با پروپیونات کلسیم باعث کاهش کپک زدگی گردد. بطوری که کمترین مقدار کپک زدگی در نمونه M3P3 (نمونه حاوی ۱۰^۶ cfu/cm² و ۰/۳٪ پروپیونات کلسیم) مشاهده گردید. همچنین نتایج نشان داد کاربرد هم زمان لاکتوکوکوس لاکتیس *PTCC 1336* و پروپیونات کلسیم بر روی ممانعت از رشد کپک ها اثر تشدید کننده دارند.

کلید واژگان: کپک، لاکتوکوکوس لاکتیس، نان لواش، پروپیونات کلسیم

* مسئول مکاتبات: m.najafi413@uoz.ac.ir

۱- مقدمه

از سال های دور غلات پایه اصلی رژیم غذایی بخش اعظمی از مردم جهان بوده و همچنان این جایگاه را حفظ نموده است. مقدار فروش و مصرف انواع نان ها و دیگر محصولات نانویی در چند دهه گذشته افزایش یافته است. بر اساس آمار موجود حدود ۵۰ درصد از مردم جهان از نان های مسطح در تغذیه استفاده می نمایند [۱].

نان در شکل تکامل یافته خود صدها سال به صورت نازک و مسطح تهیه و مصرف شده است. هنوز در برخی از کشورهای جهان مانند ایران این نوع نان ها تحت نام های لواش، تافتون، سنگک، بربری، نان روستایی و ... تولید و استفاده می شوند [۲].

فساد محصولات نانویی اساساً ناشی از رشد کپک ها می باشد. مهمترین گونه های عامل فساد، شامل اسپرژیلوس، فوزاریوم و پنی سیلیوم هستند. علاوه بر خسارات اقتصادی ناشی از کپک ها، انواع میکوتوکسین های تولید شده توسط آن ها نیز باعث بروز مشکلاتی در سلامت افراد می شود که از جمله آن ها می توان به میکوتوکسین های تولیدی مانند آفلاتوکسین ها اشاره کرد. برای ممانعت از رشد کپک ها می توان از روش پرتودهی محصولات با اشعه مادون قرمز یا امواج مایکروویو، استفاده از بسته بندی با اتمسفر اصلاح شده یا افزودن مواد شیمیایی مانند اسید پروپیونیک استفاده نمود (۲). که عمدتاً تأثیرات کیفی بر نان می گذارند که در بسیاری از موارد مطلوب مصرف کنندگان نبوده، همچنین نیازمند تجهیزات گران قیمت می باشند. مقدار مجاز مصرف پروپیونات در اروپا ۰/۳ درصد می باشد [۳].

البته استفاده از پروپیونات در این غلظت موجبات حصول اطمینان از عدم کپک زدگی محصولات نانویی را فراهم نمی کند [۴]. در سال های اخیر به دلیل بالا رفتن سطح آگاهی افراد، تقاضای مشتریان بر کاهش استفاده از مواد شیمیایی، استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی رو به افزایش است، از طرفی با توجه به افزایش مقاومت کپک ها و مخمرها به ترکیبات آنتی بیوتیک، سوربات ها و بنزوات ها استفاده از نگهدارنده های زیستی مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. باکتری های اسید لاکتیک توانایی تولید ترکیبات ضد قارچی مختلفی را دارند که از این طریق هم جلوی رشد بعضی از قارچ ها را گرفته و هم از تولید میکوتوکسین ها جلوگیری می کنند [۵].

بررسی ها نشان می دهد، تا کنون طرح تحقیقاتی در خصوص بررسی اثر محلول پاشی میکروبی بر سطح نان مسطح صورت نپذیرفته است سیزیکن و همکاران در سال ۲۰۱۳ اثر محلول پاشی باکتری های اسید لاکتیک را بر نان حجیم بررسی کردند [۶]. در این پروژه نان لواش بعنوان یکی از عمومی ترین انواع نان مسطح انتخاب گردید. باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه لاکتیس PTCC 1336 نیز به عنوان یک باکتری پروبیوتیک که دارای تأثیرات مثبت بر خواص حسی می باشد انتخاب گردید. در این طرح اثر میکروب در سه غلظت ۰، ۱۰^۴، ۱۰^۶ cfu/cm² بر روی مدت ماندگاری و کاهش مصرف پروپیونات کلسیم بررسی شده است.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- ویژگی های آرد مصرفی

آرد گندم مصرفی با مشخصات ۱۱/۸٪ رطوبت، ۱۲/۴۸٪ پروتئین، ۱/۲٪ چربی و ۰/۸۶٪ خاکستر (بر مبنای ماده خشک) از کارخانه شهرکی زاهدان تهیه گردید.

۲-۲- تهیه نان لواش

نان لواش بر اساس آیین کار موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به شماره ۵۸۱۰ تهیه گردید. به منظور تهیه نان لواش: ۱ درصد نمک و ۱/۵ درصد خمیر مایه و مقدار کافی آب و آرد را مخلوط کرده و خمیر تهیه شده در مکانی گرم به مدت ۲ ساعت قرار داده شد تا عمل تخمیر انجام شود سپس در دمای ۳۳۰°C پخت گردید [موسسه استاندارد ۱۳۸۲].

۲-۳- تهیه و آماده سازی نمونه های میکروبی

جهت انجام این پژوهش آزمایشگاهی نمونه های قارچ های *Fusarium PTCC 5115* (CBS 620.87) *Aspergillus niger PTCC 5154* (CBS 104.57) و *Penicillium notatum PTCC 5074* (ATCC 9179) به شکل آمپول لیوفیلیزه از سازمان پژوهش های علمی صنعتی ایران تهیه شد.

قارچ ها را بر روی محیط کشت اسلنت (Dextrose Agar) (PDA) کشت داده و به مدت ۸ روز در ۲۵°C گرمخانه گذاری گردید [۱۶].

باکتری *Lactococcus lactis* (PTCC 1336) به شکل لیوفیلیزه از سازمان پژوهش های علمی صنعتی ایران تهیه شد

۲-۷- آزمون کپک زدگی

نمونه های نان تهیه شده توسط چاقوی استریل به قطعاتی به ابعاد ۲۰ × ۲۰ سانتی متر تقسیم و در پوشش پلی اتیلنی و دمای محیط نگهداری شدند. هر ۲۴ ساعت نان ها به لحاظ کپک زدگی به روش مشاهده عینی بررسی و سطح کپک زدگی به کمک ورقه شفاف منقسم به میلیمتر مربع تا زمان مشاهده ۱۰۰٪ کپک زدگی در سطح نان ادامه یافت.

۲-۸- اندازه گیری pH و اسیدیته کل (TTA)

۱۰ گرم نمونه نان با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و پس از همگن شدن مقدار pH به وسیله ی pH متر (۷۳۸، Metrohm، سوئیس) قرائت شد. اسیدیته قابل تیتراژ به روش تیتراسیون با هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال اندازه گیری و بر حسب میلی لیتر سود مصرفی گزارش گردید [۸ و ۷].

۲-۹- اندازه گیری رطوبت

مقدار رطوبت نمونه های نان براساس دستورالعمل شماره ۹۲۵/۰۹ مندرج در AOAC سال ۲۰۰۲ اندازه گیری گردید. در این روش مقدار ۲/۰۰ گرم نمونه در دستگاه آون (دمای ۲ ± ۱۰۰ درجه سانتیگراد و خلاء کمتر از ۲۵ میلی متر جیوه) تا زمان رسیدن به وزن ثابت نگهداری و سپس به دسیکاتور منتقل و پس از آنکه دمای نمونه تا دمای محیط کاهش یافت آن را وزن نموده و مقدار رطوبت محاسبه گردید [۹].

۲-۱۰- آزمون خواص حسی

نان های تهیه شده به لحاظ خصوصیات ظاهری، طعم، قابلیت جویدن، ارزیابی کلی و بیاتی در فواصل زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از پخت، توسط ۳۰ نفر داور به روش اسکالینگ ۵ امتیازی مورد بررسی قرار گرفتند. کلیه ارزیابی ها در یک محیط با دمای مناسب و نور کافی انجام شد. هر کدام از داورها به طور جدا از هم ارزیابی را انجام دادند [۱۰].

۲-۱۱- طرح آماری

این پژوهش بر مبنای طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام گردید. تعیین اختلاف معنی دار میان میانگین داده ها و رتبه بندی آن ها به ترتیب با استفاده از آزمون های فاکتوریل و دانکن و به کمک نرم افزار SAS نسخه ۹٫۱ صورت پذیرفت.

و پس از تلقیح در محیط کشت MRS broth در دمای ۳۰ °C به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری گردید.

۲-۴- تهیه غلظت های میکروبی

برای تهیه غلظت های باکتریایی مشخص از روش پور پلیت و جذب نوری استفاده گردید. بدین منظور از سوسپانسیون میکروبی اولیه در چهار غلظت متفاوت نمونه تهیه گردید، و سپس به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر مدل ۵۴ Gold spectrum lab در طول موج ۶۲۰nm مقدار جذب نور تعیین و منحنی تعداد میکروبی و مقدار جذب به کمک نرم افزار اکسل ۲۰۱۰ رسم گردید. بر همین اساس منحنی جذب نور غلظت های مختلف باکتریایی تهیه و به مقدار ۱۰^۴ و ۱۰^۶cfu/cm^۲ باکتری به سطح نمونه های نان منتقل شد.

۲-۵- روش چاهک (Well Diffusion) Agar

برای تعیین اثر ضد میکروبی باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه لاکتیس PTCC 1336 بر روی کپک ها، مقدار ۵۰ μl از سوسپانسیون حاوی ۱۰^۶ اسپور بر ml از هر قارچ که به کمک لام هموسیستمتر نوپار شمارش گردیده [۱۶]، روی پلیت حاوی محیط کشت PDA تلقیح، سپس به کمک پیت پاستور استریل به قطر ۲/۵ mm، ۴ چاهک روی سطح PDA ایجاد گردید. ۱۰۰ μl از سوسپانسیون ۱۰^۴cfu/ml و ۱۰^۶ باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس PTCC1336 را با آگار ۱/۵ (w/v) سرد شده تا ۴۵ °C مخلوط کرده، درون چاهک ها ریخته و سپس پلیت ها در دمای ۲۵ °C به مدت ۳-۸ روز گرمخانه گذاری گردید [۶].

۲-۶- روش دیسک (Disk Diffusion) Agar

درون ۲ بالن ژوژه به صورت جداگانه محلول های ۰/۲ و ۰/۴ درصد w/w از پروپیونات کلسیم تهیه گردید. از رقت حاوی ۱۰^۶ اسپور در هر میلی لیتر یک از قارچ های مورد مطالعه، ۵۰ μl روی پلیت های حاوی محیط PDA تلقیح شد سپس کاغذ صافی های ۶mm استریل به محلول ۰/۲ و ۰/۴ درصد پروپیونات کلسیم آغشته کرده و روی محیط PDA قرار داده سپس پلیت ها را در دمای ۲۵ °C به مدت ۳-۸ گرمخانه گذاری گردید.

1. Total titratable acidity

2. Association of Official Analytical Chemists

به نمونه M1P2 و M3P3 در روز اول و کمترین مقدار رطوبت مربوط به نمونه M2P1 و M3P1 در روز سوم می باشد [۱۱]. پیغمبر دوست و همکاران در سال ۱۳۹۰ تأثیر باکتری های اسید لاکتیک را بر خواص فیزیکی نان بررسی کردند و گزارش نمودند که رطوبت نان های حاوی باکتری های اسید لاکتیک در مقایسه با نان شاهد کمتر بوده که با نتایج ما مطابقت ندارد و می تواند به دلیل استفاده از باکتری های متفاوت یا نان های مختلف باشد [۱۴].

همبستگی های موجود میان متغیرها و شاخص ها و همچنین شاخص ها با یکدیگر با استفاده از نرم افزار فوق تعیین گردیدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- نتایج pH، TTA و رطوبت

همان طور که جدول شماره ۱- نشان می دهد، در همه ی تیمارها رطوبت نان با افزایش تعداد روز به طور معنی داری ($P < 0.05$) کاهش یافته است. بیشترین مقدار رطوبت مربوط

جدول ۳ مقایسه میانگین غلظت باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس PTCC 1336 جمعیت میکروبی (10^4 cfu/cm²، 10^3 cfu/cm²) در روزهای مختلف (d1: 10^6 cfu/cm²، m3: 10^1 cfu/cm²)، پروپیونات کلسیم (P1: ۰ درصد، P2: ۰/۲ درصد و P3: ۰/۴ درصد وزنی/وزنی) در روزهای مختلف (d1: روز اول، d2: روز دوم و d3: روز سوم) بر صفت درصد کپک زدگی نمونه های نان تهیه شده. ستون های دارای کدهای متفاوت (A-k) در سطح ۵ درصد دارای تفاوت معنی دار هستند ($p < 0.05$).

| نمونه | روز چهارم | روز پنجم | روز ششم | روز هفتم | روز هشتم | روز نهم | روز دهم | روز یازدهم | روز دوازدهم |
|-------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| M1P1 | ۰/۳ ^k | ۴/۴ ^h | ۶/۷ ^g | ۴۵/۰ ^u | ۷۷/۱ ^j | ۸۶/۷ ^g | ۹۰/۸ ^e | ۹۵/۶ ^b | ۹۸/۳ ^a |
| M1P2 | ۰/۳ ^k | ۴/۳ ^h | ۶/۷ ^g | ۴۴/۳ ^u | ۷۶/۱ ^{jk} | ۸۵/۳ ^h | ۸۸/۸ ^f | ۹۲/۲ ^d | ۹۴/۵ ^c |
| M1P3 | ۰/۱ ^k | ۰/۸ ^{jk} | ۲/۱ ⁱ | ۳۵/۳ ^x | ۵۴/۷ ^t | ۶۹/۷ ⁿ | ۸۶/۳ ^{gh} | ۸۹/۱ ^f | ۹۰/۵ ^e |
| M2P1 | ۰/۲ ^k | ۲/۲ ⁱ | ۷/۳ ^g | ۱۸/۵ ^c | ۲۹/۰ ^z | ۷۳/۶ ^l | ۸۶/۰ ^{gh} | ۸۹/۲ ^f | ۹۲/۵ ^d |
| M2P2 | ۰/۳ ^k | ۰/۶ ^{jk} | ۵/۰ ^h | ۱۴/۰ ^e | ۲۵/۰ ^b | ۶۶/۱ ^p | ۷۳/۴ ^l | ۷۹/۲ ⁱ | ۸۹/۰ ^f |
| M2P3 | ۰/۲ ^k | ۰/۴ ^{jk} | ۴/۷ ^h | ۱۰/۵ ^f | ۱۸/۷ ^c | ۲۷/۳ ^a | ۳۲/۳ ^y | ۵۵/۳ ^t | ۷۶/۴ ^{jk} |
| M3P1 | ۰/۱ ^k | ۰/۷ ^{jk} | ۵/۳ ^h | ۱۶/۱ ^d | ۲۵/۷ ^b | ۶۵/۲ ^{pq} | ۷۰/۲ ⁿ | ۷۲/۱ ^m | ۷۵/۳ ^k |
| M3P2 | ۰/۱ ^k | ۰/۲ ^k | ۰/۸ ^{jk} | ۲/۴ ⁱ | ۱۸/۱ ^c | ۳۷/۵ ^w | ۴۵/۴ ^u | ۶۴/۷ ^{qr} | ۶۸/۱ ^o |
| M3P3 | ۰/۱ ^k | ۰/۲ ^k | ۰/۴ ^{jk} | ۱/۵ ^{ij} | ۱۴/۴ ^e | ۳۳/۰ ^y | ۴۱/۸ ^v | ۶۱/۴ ^s | ۶۴/۰ ^r |

مناسب ساکارومایسس سرویزیه در حین تخمیر باشد بیشترین مقدار pH در نمونه های M3P2 و M3P3 در روز اول مشاهده می شود که نشان دهنده ی تأثیر پروپیونات کلسیم بر فعالیت مخمر نان و ممانعت از فعالیت مخمر ساکارومایسس سرویزیه می باشد. در روزهای دوم و سوم کمترین مقدار pH مربوط به نمونه های دارای باکتری یعنی نمونه های M2 و M3 و بیشترین مقدار pH مربوط به نمونه های فاقد باکتری (M1) می باشد که نشان دهنده ی فعالیت باکتری ها بر سطح نان در طول مدت نگهداری است [۱۱].

همان طور که جدول شماره ۱- نشان می دهد، با افزایش مدت نگهداری مقدار pH کاهش یافته است این در حالی است که آنالیز آماری نمونه ها نشان می دهد، در روزهای یکسان، در اکثر موارد تفاوت معنی داری میان نمونه های نان تهیه شده مشاهده نگردید.

اثر متقابل تیمارهای مختلف بر صفت pH در ($P < 0.05$) دارای اثر معنی دار می باشد به طوری که کمترین pH در روز اول در نمونه های M1P1، M2P1 و M3P1 است که می تواند به دلیل عدم حضور پروپیونات کلسیم و در نتیجه فعالیت

های فوزاریوم اکسسپوریوم 5115 و پنی سیلیوم نوتاتوم 5074 تنها بر مرحله اسپورولاسیون اثر بازدارندگی داشت، همچنین هیچ اثر بازدارندگی بر روی کپک اسپرژیلوس نایجر 5154 از خود نشان نداد. در مورد پروپیونات کلسیم هم در هر دو غلظت مورد استفاده نتایج به همین صورت بود. سیزیکین و همکاران در سال ۲۰۱۳ اثر بازدارندگی برخی از باکتری های اسید لاکتیک را بر کپک های مختلف بررسی کردند، نتایج نشان داد باکتری های مختلف اثرات بازدارندگی متفاوتی بر مراحل رشد کپک ها دارند [۶].

۳-۳- ویژگی ضد کپکی در سطح نان

بر اساس جدول ۳- در نمونه های نان دارای درصد بالای باکتری و پروپیونات کلسیم کمترین درصد کپک زدگی مشاهده گردید. در سه روز نخست نگهداری هیچ گونه کپک زدگی مشاهده نگردید بنابراین در این جدول گزارش نشده است. پیغمبر دوست و همکاران در سال ۱۳۹۰ اثر ضد کپکی تعدادی از باکتری های اسید لاکتیک را بررسی کردند و گزارش دادند شروع کپک زدگی در نان شاهد (حاوی مخمر نان) سریع تر از تیمارهای حاوی باکتری های اسید لاکتیک بود و لاکتوباسیلوس روتری به طور موثرتری از رشد کپک در نان جلوگیری کرد [۱۴].

۳-۴- خواص حسی

اثر متقابل تیمارهای مختلف بر خصوصیات ظاهری نان در شکل ۱- نشان داده شده است. در اکثر موارد هیچ اختلاف معنی داری بین نمونه های نان وجود ندارد ($p > 0.05$). در یک بررسی کلی تنها میان نمونه M1P1 با نمونه M1P2 در روز دوم اختلاف معنی دار وجود دارد ($p < 0.05$). بیشترین امتیاز مربوط به نمونه M1P1 در روز دوم و کمترین امتیاز مربوط به نمونه M3P2 در روز اول می باشد. در مجموع می توان گفت غلظت پروپیونات کلسیم و اسپری باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس PTCC 1336 بر خصوصیت ظاهری نمونه های نان تاثیری نداشته است.

پاتیسون و همکاران در سال ۲۰۰۴ تأثیر باکتری های اسید لاکتیک و غلظت های مختلف پروپیونات کلسیم را بر خواص نان های حجیم بررسی و گزارش نمودند با گذشت زمان pH افزایش یافته است که با نتایج بدست آمده در این تحقیق تطبیق ندارد که می تواند ناشی از تفاوت در نوع نان، نوع میکروارگانیسم و نیز نوع نحوه ی بکارگیری باکتری ها در فرایند تهیه نان باشد. به طوری که در این تحقیق میکروارگانیسم های مورد استفاده به صورت زنده بر روی سطح نان محلول پاشی شده اما پاتیسون و همکارانش میکروارگانیسم ها را در فرمولاسیون خمیر استفاده نموده اند که می تواند در حین پخت از بین برود [۱۲].

نجفی و همکاران در سال ۲۰۱۲ تأثیر غلظت های متفاوت باکتریهای اسید لاکتیک بر pH نهایی و اسیدیته کل (TTA) فرآورده نانوائی را بررسی نموده و گزارش نمودند که با افزایش غلظت باکتری امکان کاهش pH و افزایش TTA فرآورده نانوائی وجود دارد. [۱۳].

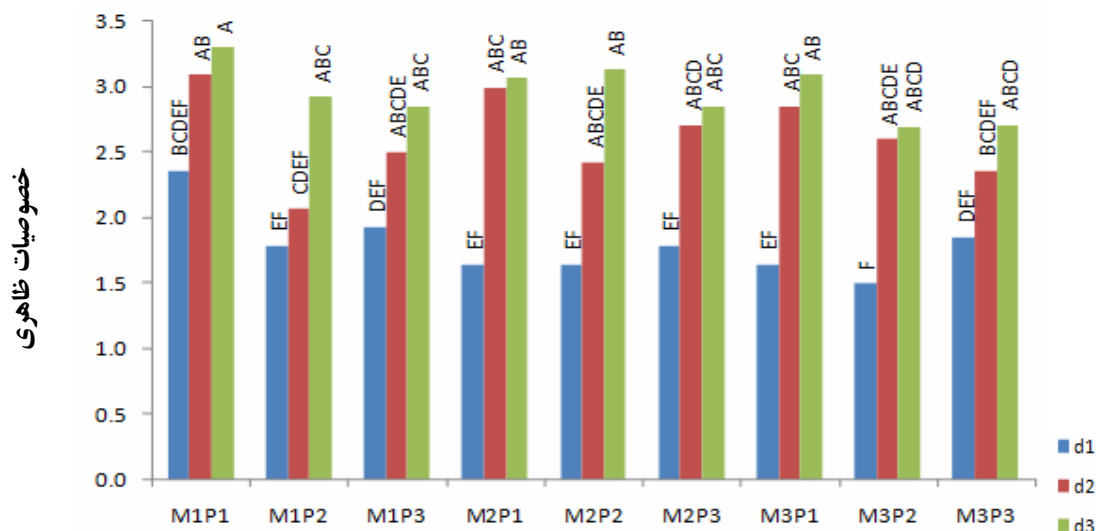
همچنین اثر متقابل تیمارهای مختلف بر صفت TTA در ($P < 0.05$) دارای اثر معنی دار می باشد و در تمامی روزها اسیدیته روند صعودی دارد به طوریکه کمترین مقدار اسیدیته مربوط به نمونه های M3P2 و M3P3 در روز اول و بیشترین مقدار اسیدیته مربوط به نمونه های M3P2، M2P3 و M3P3 در روز سوم می باشد.

۳-۲- خصوصیت ضدکپکی باکتری

لاکتوکوکوس لاکتیس PTCC1336 و

پروپیونات کلسیم

جدول شماره ۲- شدت اثر بازدارندگی باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس PTCC 1336 و نیز غلظت های مختلف پروپیونات کلسیم را بر اسپورولاسیون و نیز رشد کپک های مورد بررسی را در شرایط آزمایشگاهی نشان می دهد. همان طور که مشاهده می شود لاکتوکوکوس لاکتیس و غلظت های مختلف پروپیونات کلسیم نتایج مشابهی را بر روی کپک های مختلف نشان دادند. لاکتوکوکوس لاکتیس بطور کامل از رشد رایزوپوس استولونیفر ممانعت کرد در حالی که بر روی کپک



شکل ۱ مقایسه میانگین غلظت باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس PTCC 1336 جمعیت میکروبی ($m_1: 10^4$ cfu/cm², $m_2: 10^4$ cfu/cm²)، پروپیونات کلسیم (P1: 0 درصد، P2: 0/2 درصد و P3: 0/4 درصد وزنی/وزنی) در روزهای مختلف (d1: روز اول، d2: روز دوم و d3: روز سوم) بر صفت طعم نمونه های نان تهیه شده. ستون های دارای کدهای متفاوت (A-F) در سطح 5 درصد دارای تفاوت معنی دار هستند ($p < 0/05$).

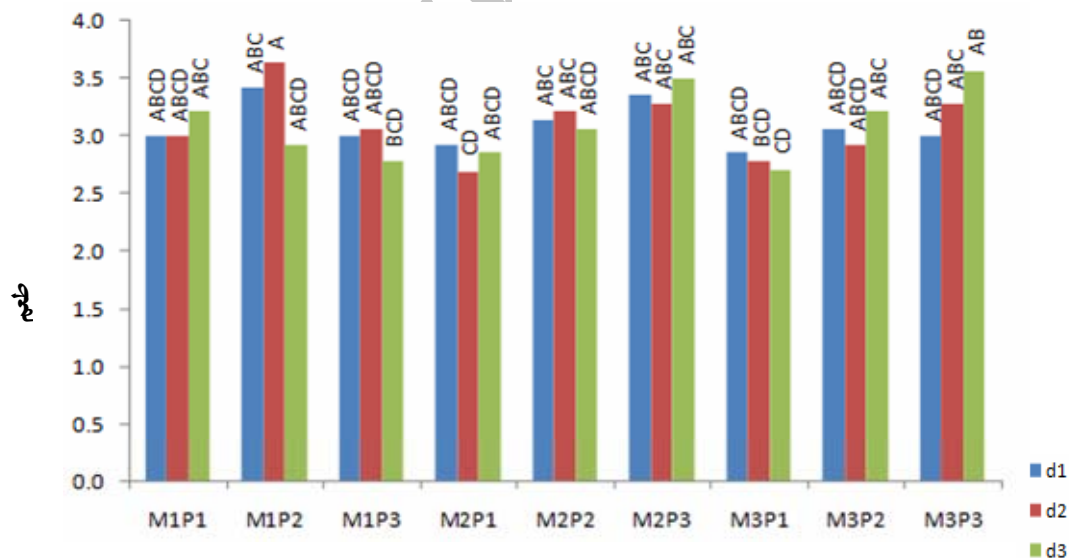
d1: روز اول، d2: روز دوم و d3: روز سوم

طعم نمونه های نان فاقد نظم معین می باشد.

سرافراز و همکاران در سال 1387 نشان دادند که کاربرد LAB

به شکل خمیر ترش طی مدت زمان نگهداری اثرات مثبتی بر خواص حسی نان از جمله عطر و طعم و بیاتی داشته است [15].

همان طور که شکل ۲ نیز نشان می دهد، مقایسه طعم نمونه های نان در هر روز با یکدیگر فاقد هر گونه اثر معنی داری است ($p > 0/05$). در یک بررسی کلی تنها میان نمونه M1P2 با نمونه های M2P1 و M3P1 در روز دوم اختلاف معنی دار وجود دارد ($p < 0/05$). آنچه مشخص است تأثیر زمان بر

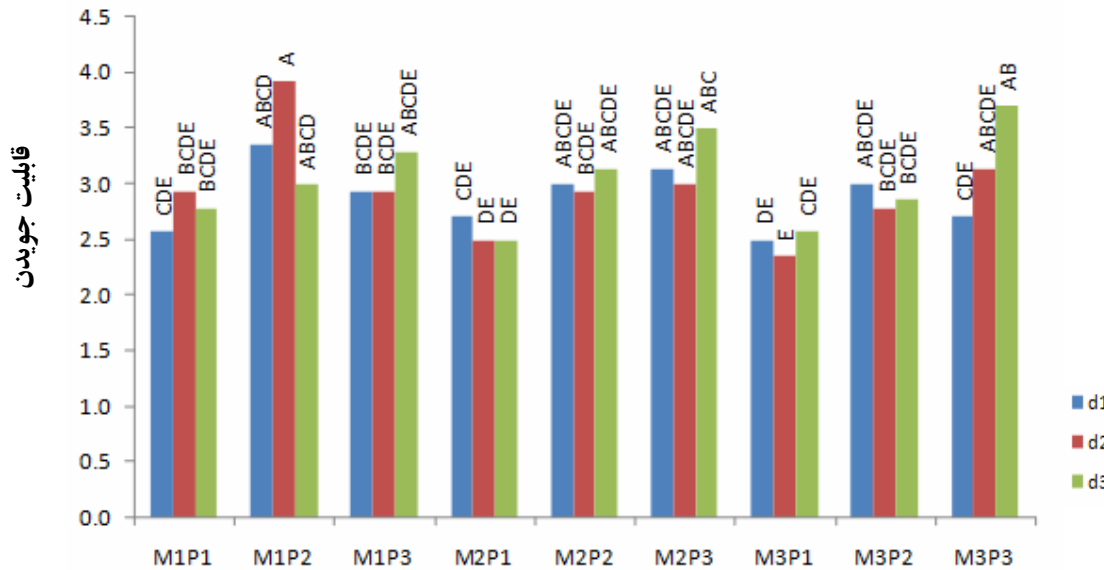


شکل ۲ مقایسه میانگین غلظت باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس PTCC 1336 جمعیت میکروبی ($m_1: 10^4$ cfu/cm², $m_2: 10^4$ cfu/cm²)، پروپیونات کلسیم (P1: 0 درصد، P2: 0/2 درصد و P3: 0/4 درصد وزنی/وزنی) در روزهای مختلف (d1: روز اول، d2: روز دوم و d3: روز سوم) در روزهای مختلف (d1: روز اول، d2: روز دوم و d3: روز سوم) بر صفت طعم نمونه های نان تهیه شده. ستون های دارای کدهای متفاوت (A-D) در سطح 5 درصد دارای تفاوت معنی دار هستند ($p < 0/05$).

d1: روز اول، d2: روز دوم و d3: روز سوم

در روز دوم بیشترین مقدار رطوبت را نشان داد احتمالاً این مهم بر روی قابلیت جویدن تأثیر داشته است. در روز سوم بین نمونه M2P1 با M2P3 و M3P3 اختلاف معنی دار وجود دارد ($p < 0.05$). بیشترین امتیاز مربوط به نمونه M1P2 در روز دوم و کمترین امتیاز مربوط به نمونه M3P1 در روز دوم می باشد.

اثر متقابل تیمارهای مختلف بر قابلیت جویدن نان در شکل ۳ نشان داده شده است. در روز اول بین نمونه های نان تهیه شده اختلاف معنی داری وجود ندارد ($p > 0.05$). در روز دوم بین نمونه M1P2 با نمونه های M1P1، M1P3، M2P1، M2P2، M3P1 و M3P2 اختلاف معنی دار وجود دارد ($p < 0.05$). به نظر می رسد از آنجا که نمونه نان M1P2

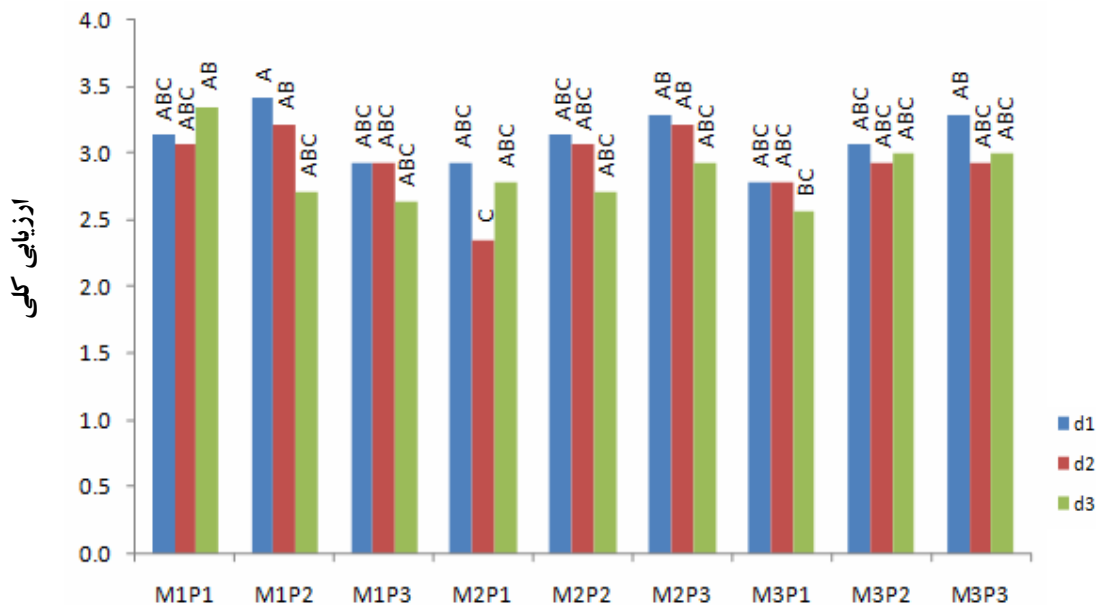


شکل ۳ مقایسه میانگین غلظت باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس *PTCC 1336* جمعیت میکروبی ($m_1: 10^4$ cfu/cm²، $m_2: 10^4$ cfu/cm²، $m_3: 10^7$ cfu/cm²)، پروبیونات کلسیم (P1: درصد، P2: ۰/۲ درصد و P3: ۰/۴ درصد وزنی/وزنی) در روزهای مختلف (d1: روز اول، d2: روز دوم و d3: روز سوم) بر صفت قابلیت جویدن نمونه های نان تهیه شده. ستون های دارای کدهای متفاوت (A-E) در سطح ۵ درصد دارای تفاوت معنی دار هستند ($p < 0.05$).

d1: روز اول، d2: روز دوم و d3: روز سوم

اثر متقابل تیمارهای مختلف بر صفت بیاتی در شکل ۵ نشان داده شده است، به طور کلی با افزایش مدت زمان نگهداری در تمامی نمونه های نان بیاتی افزایش یافته است. بیشترین امتیاز بیاتی به معنای بیاتی بیشتر نان است، در حالی که مقایسه نمونه های نان در هر روز با یکدیگر، هیچ تفاوت معنا داری را نشان نمی دهد. در مقایسه میان روزهای مختلف تنها نمونه های M1P1 و M1P2 در روز سوم با کمترین امتیاز بیاتی با نمونه های M1P1، M2P2، M2P3 و M3P1 در روز اول دارای اختلاف معنادار می باشند ($p < 0.05$).

اثر متقابل تیمارهای مختلف بر ارزیابی کلی نان در شکل ۴ نشان داده شده است. در روز اول بین نمونه های نان تهیه شده اختلاف معنی داری وجود ندارد ($p > 0.05$). در روز دوم بین نمونه M2P1 با نمونه های M1P2 و M2P3 اختلاف معنی دار وجود دارد ($p < 0.05$). در روز سوم بین نمونه های نان تهیه شده اختلاف معنی داری وجود ندارد ($p > 0.05$). بیشترین امتیاز مربوط به نمونه M1P2 در روز اول و کمترین امتیاز مربوط به نمونه M2P1 در روز دوم می باشد. نمونه M2P1 کمترین مقدار رطوبت را در روز دوم داشته است که می تواند ناشی از تأثیر مقدار رطوبت بر خصوصیت ارزیابی کلی نان باشد.



شکل ۴ مقایسه میانگین غلظت باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس *PTCC 1336* جمعیت میکروبی ($m_2: 10^4$ cfu/cm²، $m_1: 10^3$ cfu/cm²)، پروبیونات کلسیم (P1: ۰ درصد، P2: ۰/۲ درصد و P3: ۰/۴ درصد وزنی/وزنی) در روزهای مختلف (d1: روز اول، d2: روز دوم و d3: روز سوم) در روزهای مختلف (d1: روز اول، d2: روز دوم و d3: روز سوم) بر صفت ارزیابی کلی نمونه های نان تهیه شده. ستون های دارای کدهای متفاوت (A-C) در سطح ۵ درصد دارای تفاوت معنی دار هستند ($p < 0.05$).

d1: روز اول، d2: روز دوم و d3: روز سوم

۴- نتیجه گیری کلی

با توجه به آنکه در جهان امروز تحقیقات اندکی در این خصوص انجام شده است، نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد بکارگیری باکتری های اسید لاکتیک می تواند نقش موثری در کاهش و جایگزینی نگهدارنده های شیمیایی در فرآورده های نانوائی داشته باشد. با توجه به هزینه پایین روش اسپری میکروبی و نیز عدم تاثیر منفی آن بر خواص ارگانولپتیک، این روش می تواند جایگزین مناسبی برای نگهداری فرآورده های نانوائی باشد.

۵- منابع

- Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, First year, 1, 7-12. (In Persian).
- [3] Frazier, W. Westhoff, D. 1389, Food Microbiology, Mortazavi, Mashhad Ferdowsi University, 248-250. (In Persian).
- [4] Crowley, S. Mahony, J. Sinderen, D. (2013), Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as Natural bio-preservatives, *Trends in Food Science & Technology* 33, 93-109.
- [5] Muhialdin, B. j. Hassan, Z. Saari, N. (2013), Lactic Acid Bacteria in Biopreservation and the Enhancement of the Functional Quality of Bread, pp:156.
- [6] Cizeikiene, D. Juodeikiene, G. Paskevicius, A. & Bartkiene, E. (2013), Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against pathogenic and spoilage microorganism isolated from food and their control in wheat bread, *Food Control*, 31, 539-545
- [7] Gül H., Özçelik S., Sâğdıç O. And Certel M, 2005, Sourdough bread production with Lactobacilli and *S. cerevisiae* isolated from sourdoughs, *Process Biochem* 40: 691-697.
- [1] Rajabzade, Naser, 1372, Bread Technology, Tehran University, 5-8. (In Persian).
- [2] Erfanian A, Seyed ardebili S.M, Azizi M.H, 1385, Gelatinization of starch in bread by x-ray diffraction technique, *Iranian*

- [13] Najafi. M.A., Rezaei .K., Safari. M., and Razavei. S. H., (2012). Effects of Several Starter Cultures on the Anti-mold Activity and Sensory Attributes of a Traditional Flat Bread (Sangak) from Iran. *Food Science Biotechnology*, 21(1): 113-121.
- [14] Peyghambar dust, S.H. Khorasanchi, N. Golshantafti, A. rafat, S.A. 1390, Drying freeze-dried sourdough application using primers containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus Rotary bread mold*, *Journal of Food*, pp: 21. (In Persian).
- [15] Sarafraz, A. et al, 1387, Interactions between lactic acid bacteria and yeast fermented sourdough bread in liquid, *Journal of Food Industries*, 2, 73-80. (In Persian).
- [16] Kam PV, Bianchin A and Bullerman LB, 2006, Inhibition of mold growth by sourdough bread Cultures, *Review of Undergraduate Research in Agricultural and Life Sciences* 1,1-11.
- [8] Katina K, Salmenkallio M, Partanen R, Forssell P, And Autio K, 2005, Effects of sourdough and enzymes on staling of high-fibre wheat bread, *LWT- Food Sci. Technol*, 39: 479-491.
- [9] AOAC: 2002, Official Methods of Analysis of AOAC International, Horwitz W, 17th Edition, Maryland, USA.
- [10] Meilgaard M, Civille GV, And Carr BT, 1999, Sensory evaluation techniques, Tird edition, CRC Press LLC, pp:12.
- [11] Suhr, K.I. Nielsen, P.V. (2004), Effect of weak acid preservatives on growth of bakery product spoilage fungi at different water activities and pH values, *International Journal of Food Microbiology* 95, 67– 78.
- [12] Pattison, T.L. Lindsay, D. von Holy, A. (2004), Natural antimicrobials as potential replacements for calcium propionate in bread, *South African Journal of Science*, 94-103.

Archive of SID

The effect of *Lactococcus lactis* PTCC 1336 (spraying) and application of calcium propionate on shelf life and organoleptic characteristics of Lavash bread.

Barani, M. ¹, Najafi, M. A. ^{2*}, Ataye Salehi, E. ³

1. M Sc. Student, Department of Food Science and Technology, Ghochan, Islamic Azad University
2. Associate professor, Department of food science and Technology, Faculty of Agriculture, Zabol University
3. Assistant professor, Department of food science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran

(Received: 93/11/5 Accepted: 94/3/18)

Molds can be noted as one of the major factors in bread corruption that mainly caused by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium*. In addition to the economic losses caused by mold, types of toxins produced by them can also cause health problems. Chemical preservative such as propionic and sorbic acids are mainly used for preventing mold growth that it is not receptive to consumers. In recent years due to increasing public awareness, Customers demand to reduce the use of chemicals and the use of natural preservatives. Lactic acid bacteria are one of the biological preservatives that because of the antimicrobial properties and in some cases due to the positive effects on organoleptic properties have received much attention. In this project, the effect of spraying the bacterium *Lactococcus lactis* PTCC 1336 at three concentrations (zero, 10^4 cfu /cm² and 10^6 cfu /cm²) and also the combined use of calcium propionate in three levels , zero, 2 and 4 % (w/w) on improving the duration of preservation and its effect on organoleptic properties of bread and also its effect on reducing the amount of calcium propionate was investigated. In those bread, the quantity of pH, acidity, and the amount of mold formation (macroscopic and laboratory observations) were measured. The results showed Spraying bacterium *Lactococcus lactis* PTCC 1336 on bread Can be more powerful Compared with calcium propionate Compared with calcium propionate reduces the mold. So the least amount of mold at the sample M3P3 (Samples containing 10^6 cfu/cm², 0.4% PC) observed. as well The results showed concomitant use of *Lactococcus lactis* PTCC 1336 and calcium propionate Activity on mold synergistic effects are produced.

Keywords: Mold, *Lactococcus lactis*, Lavash Bread

* Corresponding Author E-Mail Address: m.najafi413@uoz.ac.ir