Archive of SID

مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۳۰ شماره ۱/ سال ۱۳۹۹/ صفحات ۱۳۷ تا ۱۵۰

اثر تخمیر بر میزان ترکیبات فراسودمند آرد مالت برنج قهوه‌ای

سمیه رحیمی[۱] و سولماز صارم نژاد[*۲]

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۸/۲/۸

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی، تهران
[۲] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی، تهران
[*]مسؤل مکاتبه: Email: drsaremnejad@iaups.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: امروزه توجه محققین به فرمولاسیون و تولید محصولات غذایی فراسودمند جلب شده است. با توجه به اینکه نان سهم عمده‌ای از تامین انرژی روزانه افراد جامعه را بر عهده دارد ، می‌توان طی پروسه تولید این فراورده، این محصول را با بسیاری از ترکیبات فراسودمند غنی نمود. **هدف:** هدف این تحقیق بررسی اثر تخمیر بر میزان ترکیبات فراسودمند آرد مالت برنج قهوه‌ای بود. **روش کار:**آرد مالت برنج قهوه‌ای توسط هر یک از میکروارگانیسم‌های *لاکتوباسیلوس ساکئی* و *لاکتوباسیلوس سانفرانسیسنسیس* در دو حالت جداگانه و مخلوط (یک بار با دانسیته نوری ۱/٤٥ معادل CFU/ml ۱۰^۸ × ۰/۵ و بار دیگر با دانسیته نوری ۲/۹ معادل CFU/ml ۱۰^۸) در حضور مخمر نانوایی تا رسیدن به pH ٤/۹ تخمیر شده و تغییرات غلظت ترکیبات فراسودمند شامل ترکیبات فنولی آزاد و باند شده، ظرفیت آنتی اکسیدانی، میزان گاما آمینو بوتیریک اسید و آمینواسیدهای آزاد در نمونه‌های خمیر ترش مطالعه شد. از خمیر تخمیر شده با مخمر نانوایی بعنوان شاهد استفاده شد. **نتایج:** بر اساس نتایج حاصله، تخمیر با دو میکروارگانیسم جه بصورت تکی و چه به صورت مخلوط به ترتیب باعث افزایش و کاهش معنی‌دار میزان ترکیبات فنولی آزاد و باند شده نسبت به میزان این ترکیبات در آرد مالت برنج قهوه‌ای شد ($P\leq ۰/۰۵$). فنول‌های آزاد خمیرترش تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس ساکئی* بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانی را از خود نشان داد، درحالیکه بالاترین ظرفیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی باند شده، مربوط به خمیر حاوی مخلوط دو میکروارگانیسم با دانسیته نوری ٤٥/ ۱ بود. خمیر ترش تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس ساکئی* همچنین بیشترین میزان گاما آمینوبوتیریک اسید و آمینواسیدهای آزاد را داشت. **نتیجه گیری نهایی:** با توجه به نتایج، باکتری *لاکتوباسیلوس ساکئی* را می‌توان به عنوان یک باکتری لاکتیکی مناسب جهت تخمیر آرد مالت برنج قهوه‌ای با هدف تولید ترکیبات فراسودمند بویژه گاما آمینوبوتیریک اسید به صنایع تولید خمیر ترش معرفی نمود.

واژه های کلیدی: آرد مالت برنج قهوه‌ای، فراسودمند، گاما-آمینوبوتیریک اسید، *لاکتو باسیلوس ساکئی*، *لاکتو باسیلوس سانفرانسیسنسیس*

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

برنج قهوه‌ای برنجی بدون پوسته خارجی، دارای لایه سبوس، آندوسپرم و جوانه و حاوی ترکیبات فراسودمند چندی مانند فیبر رژیمی، ویتامین‌ها ، گاما آمینو بوتیریک اسید[1]و گاما اوریزانول[2]است. از سوی دیگر گزارشات علمی فراوانی مبنی بر بهبود ویژگی‌های تغذیه‌ای و شیمیایی دانه غلات در اثر جوانه‌زدن وجود دارد. عمل جوانه‌زنی یا تبدیل دانه به مالت، فناوری‌ای کم هزینه است که با جذب آب توسط دانه شروع و با بیرون زدن ریشه چه خاتمه می‌یابد. در طول این فرایند، فعالیت شدید متابولیسمی منجر به هیدرولیز پروتئین و کربوهیدرات و سنتز و تجمع متابولیت‌هایی با ویژگی‌های فراسودمند و سلامت‌بخش می‌شود، همچنین غلظت فیتیک اسید کاهش و میزان ویتامین‌ها، مواد معدنی، فیبر، فرولیک اسید، گابا وگاما اوریزانول افزایش می‌یابد (تی و همکاران ۲۰۱٤). از سوی دیگر یکی از راههای بهبود بسیاری از ویژگی-های ترکیبات غذایی تخمیر می باشد (دوردویس و همکاران ۲۰۱۰). بسیاری از تغییرات بیوشیمیایی حین تخمیر سبب تغییر نسبت ترکیبات مغذی به غیر تغذیه‌ای می‌شود و می تواند روی زیست دسترسی ترکیبات فراسودمند و قابلیت هضم آنها اثرگذار باشد (کاتینا و همکاران ۲۰۰۷). خمیر ترش از جمله محصولات تخمیری حاصل از مخلوط آب و آرد است که بوسیله باکتریهای تولید کننده اسید لاکتیک و مخمر تخمیر می‌شود. مخمرها و باکتریهای لاکتیکی برای سوخت و ساز، کربوهیدرات-ها، پروتئین‌ها و مواد تجزیه شده حاصل از آنها را مصرف کرده، گاز کربن دی اکسید و همچنین لاکتیک و استیک اسید تولید می‌کنند که منجر به تولید مواد آروماتیک و شکل پذیری خمیر می‌شود (میگنین و همکاران ۲۰۰۱؛ ویوست و همکاران ۲۰۱۷).در فرایند تخمیر خمیر ترش، میزان اسیدیته با گذشت زمان در حال افزایش است و در نتیجه این امکان را برای آنزیم‌های غلات و میکروبی فراهم می‌کند تا روی بافت خمیر تاثیر داشته باشند.وجود انواع لاکتوباسیل‌ها در خمیر باعث می‌شود نگهداری گاز دی‌اکسید کربن درخمیر تقویت شده و حجم نان افزایش یابد (پیغمبردوست و همکاران ۱۳۹۳). مطالعات بسیاری در زمینه اثرات تخمیر بر میزان ترکیبات فراسودمند صورت پذیرفته است. چاندریسکارا و شهیدی (۲۰۱۲) به بررسی زیست دسترسی ترکیبات فنولی دانه ارزن، پتانسیل آنتی اکسیدانی آنها و اثر تخمیر میکروبی بر این ترکیبات پرداختند و نشان دادند که همه ارقام ارزن فعالیت آنتی اکسیدانی موثر داشتند، همچنین ترکیبات فنولی ارزن‌های فراوری شده از نظر زیستی قابل دسترسی برای بدن بودند و تخمیر این مواد در کولون ترکیبات فنولی باند شده را به صورت فیبرهای نامحلول آزاد می‌نمود (چاندریسکارا و شهیدی ۲۰۱۲). لیتیلا و همکاران (۲۰۰۷) به بررسی تغییرات ارزش تغذیه‌ای چاودار طبیعی و جوانه زده در طی تخمیر با *ساکارومایسس سروزیه* پرداختند. میزان فولات‌ها، فنول‌های آزاد، ترکیبات فنولی کل، ترکیبات لیگنان بخصوص در چاودار جوانه زده افزایش یافت (لیتیلا و همکاران ۲۰۰۷). دربررسی ویژگی‌های آنتی اکسیدانی بادام، بذر سدر و بلوط و تاثیر تخمیر بوسیله باکتری‌های *باسیلوس سوبتلیس* و*لاکتوبا سیلوس پلانتاروم* نشان داده شد که تاثیر تخمیر توسط *باسیلوس سوبتلیس* بیشتر از *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* است. نتایج بیانگر توانایی فرآیند تخمیر در افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی بود (ونگ و همکاران ۲۰۱٤). پوتانن وهمکاران (۲۰۰۹) به بررسی جنبه های تغذیه‌ای غلات تخمیر شده و خمیر ترش پرداختند و تخمیر غلات را یکی از راه‌های بهبود ارزش تغذیه‌ای و ایجاد اثرات سلامتی بخش در بدن عنوان کردند (پوتانن وهمکاران ۲۰۰۹). بررسی اثر تخمیر به کمک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *ساکارومایسس سروزیه* بر فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنولی کل جوانه گندم و جو بیانگر امکان افزایش سطح ترکیبات زیست فعال در غلات با استفاده از تخمیر

[1]GABA

[2] Gamma oryzanol

www.SID.ir

Archive of SID

بود (دوردویس و همکاران ۲۰۱۰). استفاده از باکتریهای اسید لاکتیکی در آماده سازی خمیر ترش باعث بهبود خصوصیات حسی و زمان ماندگاری محصولات نانوایی شده ولی اساس نوع باکتری بر خصوصیات خمیر و محصول نهایی اثرگذار است (خراسانچی و همکاران ۱۳۹۲). یکی از میکروارگانیسم‌هایی که به تازگی توجه محققین صنایع غذایی را به خود جلب کرده است *لاکتوباسیلوس ساکئی* است. این باکتری جزء لیست GRAS است (بوردیچون و همکاران ۲۰۱۲) و در صنایع تولید سوسیس‌های خشک تخمیری کاربرد دارد، البته به طور سنتی در کلم تخمیر شده نیز یافت می‌شود (چایلو و همکاران ۲۰۱٤). همچنین اخیرا تحقیقاتی در زمینه استفاده از این باکتری جهت تولید دکستران (پرچتل و همکاران ۲۰۱۸)، پپتیدوگلیکان هیدرولازها (نجاری و همکاران ۲۰۱٦)، باکتریوسین در غذاهای نگهداری شده در دمای یخچالی (باربوزا و همکاران ۲۰۱۸)، بررسی تغییرات کوجی در اثر تخمیر با *لاکتوباسیلوس ساکئی* (اوگورو ۲۰۱۷) و استفاده از خاصیت ضد میکروبی این باکتری در بسته بندی گوشت گوساله تازه با فیلم بر پایه پروتئین آب پنیر (بریستان – بازا وهمکاران ۲۰۱۷) انجام شده است، ولی تا کنون گزارشی مبنی بر اثر تخمیر با باکتری *لاکتوباسیلوس ساکئی* بر ویژگی‌های فراسودمند آرد غلات یا حبوبات گزارش نشده است. با توجه به مطالب مذکور و عنایت به اینکه برنج قهوه‌ای جوانه‌زده یا مالت برنج قهوه‌ای یک منبع مهم ترکیبات فراسودمند می‌باشد و از سوی دیگر فرایند تخمیر می‌تواند بر اساس مطالعات مذکور روی غلظت ترکیبات فراسودمند اثر گذار باشد، به نظر می رسد بررسی تغییرات غلظت ترکیبات فراسودمند مالت برنج قهوه‌ای در اثر تخمیر توسط میکروبها به ویژه باکتری‌های لاکتیکی به جهت استفاده از آنها در فرمولاسیون و تولید بسیاری از فراورده‌های غذایی ضروری است. بدین منظور در تحقیق حاضر تاثیر تک به تک و مخلوط دو باکتری لاکتیکی *لاکتوباسیلوس ساکئی*[1] و *لاکتوباسیلوس سانفرانسیسنسیس*[2] روی خمیر ترش تهیه شده از آرد مالت برنج قهوه‌ای مورد بررسی قرار گرفت تا در صورت تاثیر مثبت میکروارگانیسم‌های مورد نظر بر ویژگی‌های فراسودمند آرد مالت برنج قهوه‌ای بتوان از این نوع خمیر ترش در فرمولاسیون فراورده‌های تخمیری نظیر نان استفاده نمود.

مواد و روش ها

مواد شیمیایی و پودر مالتوز همگی از شرکت مرک آلمان و بقیه مواد اولیه تولید خمیر ترش شامل مخمر خشک فوری (فریمان)، شالی برنج رقم هاشمی گیلان (مرکز تحقیقات برنج کشور)، *لاکتوباسیلوس ساکئی* (PTCC:1712) و *لاکتوباسیلوس سانفرانسیسنسیس* (PTCC:1735) (سازمان پژوهش-های علمی و صنعتی ایران) از داخل کشور تهیه شدند.

روش آماده سازی نمونه ها

روش تولید آرد مالت برنج قهوه‌ای: ابتدا شالی‌های برنج طوریکه سبوس و جوانه آسیب نبینند پوست گیری شده و پس از ضدعفونی در محلول سدیم هیپوکلریت، ابتدا به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور ۳۰ درجه سلسیوس خیسانده و سپس ٤۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس تحت فرآیند جوانه‌زدن قرار گرفتند. نمونه‌های جوانه‌زده در آون ۵۰ درجه سلسیوس تا رسیدن به رطوبت ۱۰٪ ، خشک و سپس آسیاب شد واز الک با مش ٤۰ عبور داده شد (مونگناگرام وساتونگ ۲۰۱۰).

روش کشت باکتری *لاکتوباسیلوس ساکئی* و *لاکتوباسیلوس سانفرانسیسنسیس*:

مقداری از باکتری لاکتوباسیلوس مورد نظر فعال شده روی محیط کشت مادر MRS Agar به ۲٦ میلی لیتر از محیط کشت استریل MRS broth منتقل گردید و داخل انکوباتور شیکردار به مدت ٤۵ ساعت در دمای $^{\circ}C$

[1] *Lactobacillus sakei*

[2] *Lactobacillus sanfranciscensis*

www.SID.ir

Archive of SID

۳۵ گذاشته شد. پس از رشد باکتری برای خالص سازی و آماده نمودن سوسپانسیون میکروبی جهت تلقیح به خمیر ترش، محتویات داخل فالکون (حاوی باکتری و محیط کشت) به مدت ۱۶ دقیقه با دور ۵۶۶ rpm سانتریفیوژ گردید. محیط کشت جمع شده روی فالکون تخلیه شد، سپس ۱ میلی لیتر آب مقطر به محتویات درون فالکون اضافه گردید و پس از مخلوط کردن، دانسیته نوری آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۳۶ نانومتر تنظیم شد (چایلو و همکاران ۲۰۱۴). دانسیته‌های نوری مورد استفاده ۲/۹ و ۱/۴۵ از هریک از دو باکتری لاکتوباسیل مورد استفاده بود که بر اساس شمارش انجام شده دانسیته نوری ۲/۹ تقریبا معادل 10^8 CFU/ml از باکتری و دانسیته نوری ۱/۴۵ از هر سوسپانسیون باکتری معادل $10^8 \times 0/5$ CFU/ml بود. لازم به ذکر است با توجه به این که شمارش تعداد باکتری ها به تفکیک هر باکتری فرایندی زمان بر است، لذا از روش دانسیته نوری برای تعیین غلظت باکتری برای سرعت عمل و امکان استفاده از باکتری‌های تازه و جوان در این کار تحقیقی استفاده شد. برای تبدیل عدد دانسیته نوری به مقدار جمعیت میکروبی، ابتدا رقت‌های مختلفی از هر باکتری تهیه شده و پس از شمارش تعداد باکتری‌های موجود در هر رقت، میزان جذب نور هر رقت در طول موج ۴۳۶ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر تعیین شد. منحنی کالیبراسیون بر حسب تعداد باکتری در رقت-های مختلف در برابر میزان جذب نور آن رسم شد و بر این اساس تعداد باکتری‌های موجود در سوسپانسیون میکروبی با دانسیته نوری ۲/۹ و ۱/۴۵ محاسبه شد (پنولاس- ارکیدس و همکاران ۲۰۱۳).

روش تهیه خمیر ترش: پنج نوع خمیرترش با فرمول‌های ۱۰۰ گرم آرد مالت برنج قهوه‌ای، ۴/۱۱ گرم مخمر نانوایی، ۲/۵ گرم پودر مالتوز و ۳ میلی لیتر سوسپانسیون *لاکتوباسیلوس ساکئی* با دانسیته نوری[1] حدود ۲/۹ برای خمیرترش فرمول شماره یک، سه میلی لیتر *لاکتوبا سیلوس سانفرانسیسنسیس* با دانسیته نوری حدود ۲/۹ برای خمیرترش فرمول شماره دو، مخلوط دو باکتری فوق الذکر از هر یک ۳ میلی لیتر و با دانسیته نوری حدود ۲/۹ برای خمیرترش فرمول سه و مخلوط دو باکتری هر یک به میزان ۳ میلی لیتر و با دانسیته نوری حدود ۱/۴۵ برای خمیرترش فرمول ۴ تهیه گردید. خمیرتهیه شده در دمای ۴۰ درجه سلسیوس انکوبه شد. هر دو ساعت یکبار میزان افت pH توسط pH متر رصد گردیده و هنگام رسیدن pH به ۴/۹ فرایند تخمیر با خنک کردن خمیر متوقف شد. همزمان با فرموله کردن خمیر ترش‌ها یک نمونه خمیر ترش شاهد (صرفا با مخمر نانوایی و بدون تلقیح میکروارگانیسم‌های لاکتیکی) در شرایط اعمال شده برای چهار نوع خمیر ترش بیان شده نیز تهیه گردید. تمامی نمونه‌ها برای ممانعت از پیشرفت میزان تخمیر تا زمان انجام آزمون‌ها در فریزر ۱۸- درجه سلسیوس به صورت منجمد نگهداری شدند.

روش استخراج و اندازه گیری ترکیبات فنولی آزاد و باند شده: به منظور استخراج ترکیبات فنولی آزاد و باند شده، به ۳ گرم خمیر ترش ۳۰ میلی لیتر اتانول ۸۰٪ اضافه و پس از هم‌زدن روی همزن مغناطیسی به مدت ۳۵ دقیقه در دور rpm ۴۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت تهیه شده به عنوان نمونه حاوی ترکیبات فنولی آزاد جمع‌آوری گردید. برای استخراج ترکیبات فنولی باند شده، به رسوبات داخل فالکون حاصل از مرحله استخراج ترکیبات فنولی آزاد، ۳۰ میلی لیتر سود ۴ مولار اضافه شد و پس از هم‌زدن به مدت ۱ ساعت روی همزن مغناطیسی در سانتریفوژ با دور ۴۰۰۰rpm و به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت. سوپرناتانت تهیه شده به عنوان منبع ترکیبات فنولی باند شده جمع‌آوری شد (فدریکا و همکاران ۲۰۱۱). برای اندازه-گیری ترکیبات فنولی آزاد و باند شده، ۱۰۰۰ میکرولیتر از هر یک از سوپرناتانت‌های تهیه شده با ۱ میلی لیتر معرف فولین سیو کالتو[2] و ۱۰ میلی لیتر آب مقطر روی

[1] Optical density (OD)

[2] Folin cio calteu

www.SID.ir

Archive of SID

همزن مغناطیسی به مدت ۵ دقیقه هم زده شد. ۲ میلی لیتر سدیم کربنات ۷/۵ ٪ به آن افزوده و به مدت ۱ ساعت در تاریکی قرار داده شد. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۵۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر (آمریکا، Philler scientific, SU600) خوانده شد (کاریلوتو و همکاران ۲۰۰۶). با توجه به این که بر اساس منابع علمی یکی از راه‌های تعیین مقدار ترکیبات فنولی محاسبه غلظت آنها بر اساس غلظت معادل گالیک اسیداست لذا جهت محاسبه غلظت ترکیبات فنولی بر حسب گالیک اسید، منحنی استاندارد کالیبراسیون گالیک اسید طبق روش ذکر شده برای اندازه گیری ترکیبات فنولی، رسم شد و از واحد معادل گالیک اسید برای تعیین غلظت ترکیبات فنولی آزاد و باند نمونه‌ها استفاده شد (شاو و همکاران ۲۰۱۴).

اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی آزاد و باند شده به روش دی پی پی اچ[2] : ۱۰۰ میکرولیتر از سوپرناتانت حاوی ترکیبات فنولی آزاد یا باند شده با ۳/۹ میلی لیتر محلول دی پی پی اچ ۰/۰۷۵ میلی مولار مخلوط و در تاریکی ۹۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی قرار گرفت. همزمان یک نمونه کنترل نیز تهیه شد (۱۰۰ میکرولیتر اتانول به همراه ۳/۹ میلی لیتر محلول دی پی پی اچ ۰/۰۷۵ میلی مولار). سپس جذب توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۵ نانومتر خوانده شد. تمام آزمایشات در سه تکرار انجام شد (دونکر و همکاران ۲۰۱۲). میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی مطابق رابطه ۱ محاسبه شد.

رابطه [۱] درصد مهار رادیکال دی پی پی اچ= [۱-(جذب نمونه/ جذب کنترل)]×۱۰۰

تعیین پروفایل آمینواسید و میزان گاما آمینو بوتیریک اسید: تعیین مقدار آمینو اسیدهای آزاد و گاما آمینو بوتیریک اسید نمونه‌ها بر اساس روش ارائه شده توسط کولا و همکاران (۲۰۱۶) انجام شد. نمونه‌ها پس از استخراج و خالص سازی به روش تعویض یون در دو مرحله مشتق سازی شده و پس از تهیه مشتق ترکیبات تری فلوئورواستیل‌استر، آنالیز با GC-MS (Thermo Finnigan, Proanalysis, Romania) انجام شد (کولا و همکاران ۲۰۱۶).

شرایط استخراج آمینو اسید از نمونه‌ها به شرح زیر بود:

Cation exchange resin Dowex 50W-X8 100 mesh, 40 × 2 mm column, Activation of resin; Elution with 2 ml 3M NH_4OH and evaporation.

شرایط مشتق سازی آمینو اسیدها:

۱-استریفیکاسیون با ۱۰۰ میکرولیتر بوتانول/ کلریدریک اسید ۳ M به مدت ۱ ساعت در ۱۱۰ °C

۲-انجام فرایند استیلاسیون با ۱۰۰ میکرولیتر تری فلوئورواستیل استر به مدت ۲۰ دقیقه در ۸۰ °C، خشک کردن در ٤٠ °C و افزودن ۱ ml اتیل استات به نمونه

۳-شرایط دستگاه GC:

مشخصات ستون مویین: Rtx- 5 MS, 30 m × 0.25 mm I.D; Film thickness 0. 25 µm, Split mode (10:1)

برنامه دمایی دستگاه:

۵۰ °C به مدت ۱ دقیقه، ٦ °C/ min تا ۱۰۰ °C، 4 °C / min تا ۲۰۰ °C، ۲۰ °C / min تا ۳۰۰ °C،۳۰۰ °C به مدت ۳ دقیقه و گاز حامل هلیم با دبی ۱ml / min

روش آنالیز آماری:

طرح آماری مورد استفاده طرح کاملا تصادفی و تاثیر هر یک از میکروارگانسیم‌های مورد استفاده به طور جداگانه یا به صورت مخلوط روی میزان ترکیبات فراسودمند آرد

[1] Gallic acid equivalent (GAE)

[2] 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH)

www.SID.ir

Archive of SID

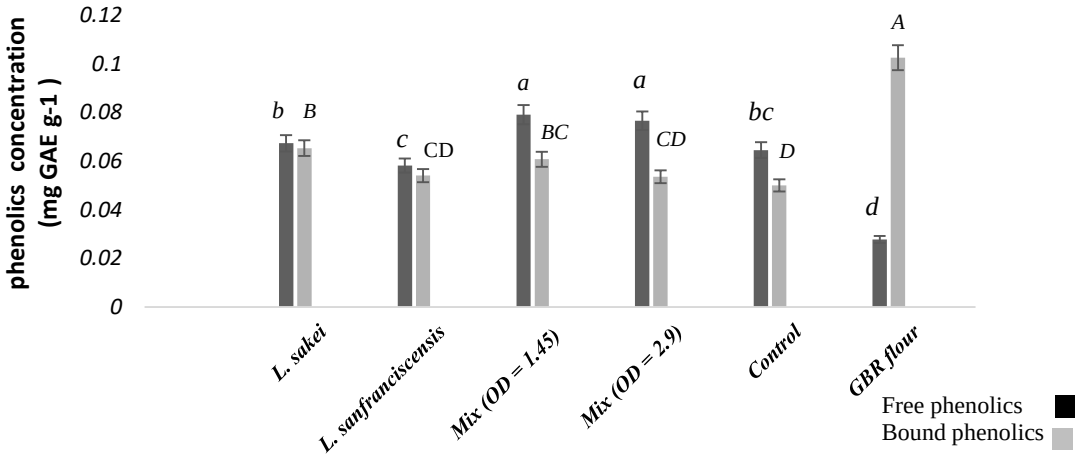
مالت برنج قهوه‌ای با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها و همگن بودن واریانس ها) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح معنی داری ۵ درصد استفاده شد. بدین منظور از نرم افزار آماری SPSS (version 20) بهره برده شد. لازم به ذکر است تمام آزمونها به جز تعیین پروفایل آمینو اسید نمونه‌ها در سه تکرار انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تغییرات ترکیبات فنولی آزاد و باند شده: شکل ۱ بیانگر میزان ترکیبات فنولی آزاد و باند شده در نمونه-های خمیر ترش و آرد مالت برنج قهوه‌ای است. به طور کلی فرایند تخمیر باعث افزایش معنی‌دار میزان ترکیبات فنولی آزاد در نمونه‌های خمیر ترش نسبت به آرد مالت برنج قهوه‌ای شد ($P \leq ۰/۰۵$). خمیر ترش‌های حاوی مخلوط دو میکروارگانیسم با دانسیته نوری ۲/۹ و ۱/۴۵ دارای بالاترین میزان ترکیبات فنولی آزاد بودند و تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد. نکته جالب توجه، افزایش معنی‌دار غلظت ترکیبات فنولی آزاد در اثر تخمیر خمیر ترش شاهد با مخمر بود که ثابت می‌کند فرایند تخمیر آرد مالت برنج قهوه‌ای حتی در حضور مخمر نانوایی به تنهایی قادر به افزایش غلظت ترکیبات فنولی آزاد است. با توجه به این که ترکیبات فنولی داخل نمونه خمیر ترش و آرد مالت به فرم آزاد و باند شده وجود دارند، بررسی میزان تغییرات ترکیبات فنولی باند شده همانند ترکیبات فنولی آزاد حائز اهمیت است. با توجه به شکل ۱ میزان ترکیبات فنولی باند نمونه‌های خمیرترش تفاوت معنی‌دار با آرد مالت داشتند ($p \leq ۰/۰۵$) . به طور کلی فرایند تخمیر باعث افت میزان ترکیبات فنولی باند شده در نمونه‌های خمیرترش نسبت به آرد مالت برنج قهوه‌ای شد، این در حالی است که در نمونه های خمیر ترش حاوی میکروارگانیسم‌های لاکتیکی نسبت به خمیر ترش شاهد، خمیر ترش تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس ساکئی* و خمیر ترش میکس با دانسیته نوری ۱/۴۵ بالاترین میزان ترکیبات فنولی باند را نسبت به نمونه‌های دیگر داشتند. تحقیقات متعددی مقادیر ترکیبات فنولی در غلات را مورد مطالعه قرار داده‌اند. ونگ و همکاران (۲۰۱۴) به بررسی میزان ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدان دانه‌های مختلف غلات تحت تاثیر تخمیر با دو باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* پرداختند و مقادیر بالاتر ترکیبات فنولی و فلاوونوئید کل را در عصاره‌های غلات تخمیر شده نسبت به انواع تخمیر نشده‌ی خود گزارش نمودند (ونگ و همکاران ۲۰۱۴)، همچنین دوردویس وهمکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که مقادیر ترکیبات فنولی کل در دانه غلات تحت تاثیر نوع استارتر تخمیر است و گزارش کردند که غلات تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* ترکیبات فنولی بالاتری نسبت به غلات تخمیر شده با *ساکارومایسس سروزیه* داشتند و دلیل آن را به وجود ترکیبات بیواکتیو سنتز شده در طی تخمیر با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* نسبت دادند، همچنین تجزیه ساختاری دیواره سلولی غلات در اثر تحریک فرایند تخمیر و آزادسازی یا سنتز ترکیبات بیواکتیو گوناگون را محتمل دانستند. در طی فرایند تخمیر آنزیم‌هایی مثل آمیلازها، زایلانازها وپروتئازهای حاصل از دانه و میکروب‌ها با هم در اصلاح ترکیب دانه مشارکت می‌کنند. ترکیبات فنولی باند شده ممکن است از طریق فعالیت آنزیمی نمونه‌ها آزاد شوند (دوردویس و همکاران ۲۰۱۰).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- غلظت ترکیبات فنولی آزاد نمونه های خمیر ترش و آرد مالت برنج قهوه ای

Figure 1- Phenolic compounds concentration of sourdough samples and germinated brown rice flour

Different small and capital letters indicate on significant difference among free and bound phenolics of samples respectiely (P≤0/05)

نتایج تغییرات ظرفیت آنتی اکسیدانی: با توجه به شکل ۲ به جز نمونه خمیر ترش *لاکتوباسیلوس ساکئی*، تخمیر سبب کاهش معنی‌دار ظرفیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی آزاد نسبت به شاهد شد (P≤۰/۰۵). بالاترین و کمترین قدرت مهار رادیکال دی پی پی اچ نتایج بیانگر افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی فنول‌های باند شده در خمیر ترش حاوی مخلوط میکروارگانیسم‌های لاکتیکی با

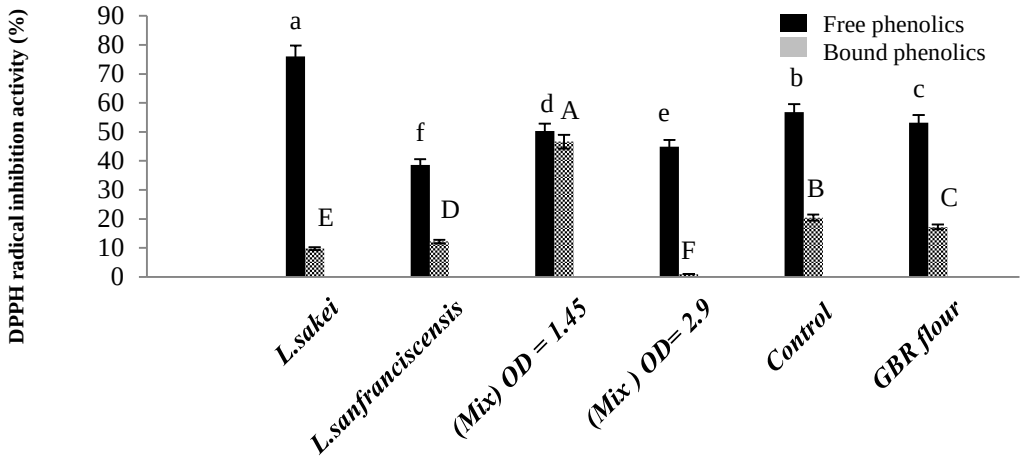
دانسیته نوری ۱/٤٥ بود. نکته جالب توجه، افت شدید قدرت آنتی اکسیدانی فنول‌های باند با افزایش همزمان میزان *لاکتوباسیلوس ساکئی* و *لاکتوباسیلوس سانفرانسیسنسیس* (دانسیته نوری = ۲/۹) بود. به طور کلی نتایج حاکی از بالاتر بودن ظرفیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی آزاد خمیر ترش حاوی *لاکتوباسیلوس ساکئی* و بالاتر بودن قدرت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی باند شده خمیرترش تهیه شده با مخلوط *لاکتوباسیلوس ساکئی و سانفرانسیسنسیس* با دانسیته نوری ۱/٤٥ بود. نکته قابل توجه رفتار متفاوت فلورهای ترکیبات فنولی آزاد به ترتیب مربوط به خمیر ترش *لاکتوباسیلوس ساکئی* و خمیر ترش *لاکتوباسیلوس سانفرانسیسنسیس* بود. تخمیر همچنین سبب تغییر معنی‌دار فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی باند شده گردید (p≤۰/۰۵).

میکروبی گوناگون در بروز فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه-های خمیرترش است. بر اساس نظر برخی محققان سینرژیسم بین آنتی اکسیدان‌ها در یک مخلوط می‌تواند سبب شود که فعالیت آنتی اکسیدانی فقط وابسته به غلظت آنتی اکسیدان نباشد بلکه به ساختار و برهم کنش-های بین آنتی اکسیدان‌ها نیز وابسته است و به این دلیل نمونه‌های با غلظت یکسان ترکیبات فنولی ممکن است دارای فعالیت آنتی اکسیدانی متفاوتی باشند (دوردویس و همکاران ۲۰۱۰). مثال این پدیده را می‌توان در میزان مشابه ترکیبات فنولی باند شده موجود در خمیرترش-های حاوی *لاکتوباسیلوس سانفرانسیسنسیس* و نمونه-های تخمیر شده با مخلوط دو باکتری ملاحظه نمود که با وجود اینکه این سه خمیر ترش دارای ترکیبات فنولی

www.SID.ir

Archive of SID

باند شده با غلظت تقریبا مشابهی هستند ولی ظرفیت آنتی اکسیدانی مربوط به آنها بسیار متفاوت است.



شکل ۲- ظرفیت انتی اکسیدانی نمونه‌های خمیر ترش و آرد مالت برنج قهوه‌ای

Figure 2- Antioxidant capacity of sourdough samples and germinated brown rice flour

Different small and capital letters indicate on significant difference among antioxidant capacity of free and bound phenolics of samples respectively (P≤0/05)

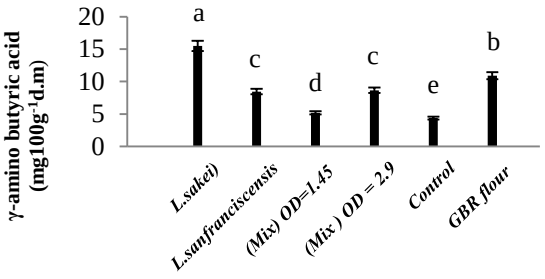
نتایج تغییرات غلظت گابا: گابا یک آمینو اسید چهار کربنه غیر پروتئینی است که در سیستم عصبی مرکزی به عنوان یک انتقال دهنده عصبی بازدارنده عمل می کند. از سایر عملکردهای فیزیولوژیکی این ماده می توان به جلوگیری از افزایش فشار خون، ممانعت از بروز دیابت، اثرات آرام بخش و ضدافسردگی و جلوگیری از تکثیر سلولهای سرطانی اشاره نمود. این ماده به طور گسترده-ای در داروسازی و تهیه غذاهای فراسودمند مثل چای گابارون[1] و شوچو[2] استفاده می شود (کودا و همکاران ۲۰۱۰). گلوتامات دکربوکسیلاز[3] آنزیمی است که تبدیل L- گلوتامات یا نمک های آن را به گابا از طریق α دکربوکسیلاسیون یک مرحله ای کاتالیز می‌کند (یونو ۲۰۰۰). در فرایند تخمیر خمیر ترش، باکتریهای لاکتیکی موجود در خمیر در تولید آمینو اسیدهای آزاد و از جمله گابا نقش دارند (ناکامورا و همکاران ۲۰۰۷، ریزلو و همکاران ۲۰۱۳). در تحقیق حاضر نوع فلور میکروبی مورد استفاده برای تخمیر خمیر دارای اثر معنی داری بر سنتز گابا در خمیر بود. بر اساس شکل ۳، خمیرترش شاهد (فقط حاوی مخمرنانوایی) و خمیر ترش تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس ساکئی* بترتیب دارای کمترین و بیشترین مقدار گابا بودند. دیباربر و همکاران (۱۹۸۹) جذب گابای موجود در خمیر توسط مخمر را گزارش نمودند (دیباربر و همکاران ۱۹۸۹). به نظر می رسد تفاوت در میزان گابای سنتز شده توسط میکروارگانیسم‌های گوناگون در این تحقیق به مقدار حضور آنزیم گلوتامات دکربوکسیلاز که وظیفه تبدیل L- گلوتامات به گابا را به عهده دارد مرتبط باشد. مهمترین گروه باکتری‌ها برای تولید گابا لاکتیک اسید باکتری‌ها (*لاکتوباسیلوس* و *لاکتوکوکوس*) معرفی شده‌اند (ونگ و همکاران ۲۰۱۳). بر اساس تحقیقات نگارنده تاکنون مقاله‌ای در زمینه تولید گابا توسط *لاکتوباسیلوس ساکئی* و *لاکتوباسیلوس سانفرانسیسنسیس* گزارش نشده است. بر

[1] Gabaron tea
[2] Shochu
[3] Glutamate decarboxylase (GAD)

www.SID.ir

Archive of SID

اساس مقالات علمی *لاکتوباسیلوس ساکئی*، لاکتوباسیلی با فاز سکون کوتاه و سرعت رشد زیاد است و قادر به غیر فعال کردن پاتوژنها و میکروب‌های عامل فساد از طریق تولید اسید و باکتریوسین‌ها است و به دلیل عدم دارا بودن اثرات بیماری‌زایی یا سمی بیشتر در صنایع تولید سوسیس تخمیری به عنوان کشت آغازگر استفاده می‌شود (ونگ و همکاران ۲۰۱۳). با توجه به تاثیر *لاکتوباسیلوس ساکئی* در افزایش غلظت گابا در خمیر ترش، این میکروارگانیسم گزینه مناسبی جهت معرفی به صنعت تولید خمیر ترش برای تولید نان فراسودمند تقویت شده با گابا می‌باشد.



شکل ۳- میزان گاما آمینوبوتیریک اسید نمونه‌های خمیر ترش و آرد مالت برنج قهوه‌ای

Figure 3- Gamma aminobutyric acid content of sourdough samples and germinated brown rice flour

Different letters indicate on significant difference among samples (P≤0/05)

نتایج تغییرات پروفایل آمینو اسید: در بررسی تغییرات مجموع آمینواسیدهای آزاد نمونه ها (جدول ۱) ، نمونه های تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس ساکئی* و خمیر ترش شاهد به ترتیب بیشترین و کمترین محتوای آمینواسیدهای آزاد را از خود نشان دادند. به نظر می ر سد میکروارگانیسم *لاکتوبا سیلوس ساکئی* علاوه بر داشتن آنزیم گلوتامات دکربوکسیلاز حاوی آنزیم پروتئاز زیادی نیز می باشد که سبب تجزیه پروتئین موجود در خمیر و آزاد کردن آمینواسیدها در خمیر شده است. در بررسی میزان آمینو اسیدهای ضروری، بالاترین غلظت آمینوا سیدهای ضروری ترئونین، والین، متیونین، لوسین ،ایزولوسین و فنیل آلانین متعلق به خمیر ترش حاوی مخلوط دو باکتری لاکتیکی با دانسیته نوری ۲/۹ بود، در حالیکه بالاترین غلظت تریپتوفان در خمیر ترش حاوی *لاکتوبا سیلوس سانفرانسیسکس* وبالاترین غلظت لیزین در خمیر ترش شاهد مشاهده گردید.

نتیجه گیری کلی

در این تحقیق برای اولین بار اثر تخمیر با باکتری‌های لاکتیکی روی غلظت ترکیبات فراسودمتد آرد مالت برنج قهوه‌ای از یکسو و به طور ویژه اثر باکتری *لاکتوباسیلوس ساکئی* بر ترکیبات مذکور از سوی دیگر مورد بررسی قرارگرفت. براساس مطالعات نگارندگان این مقاله، از *لاکتوباسیلوس ساکئی* تاکنون برای تهیه خمیر ترش نان استفاده نشده و این باکتری صرفا در صنعت تولید سوسیس های تخمیری به کار می‌رود. بر اساس نتایج، بالاترین غلظت تولید گابا، آمینو اسیدهای آزاد و ظرفیت آنتی اکسیدانی در تخمیر آرد مالت برنج قهوه‌ای با *لاکتوباسیلوس ساکئی* حاصل شد، همچنین تخمیر آرد مالت برنج قهوه‌ای با باکتریهای لاکتیکی و مخمر نانوایی سبب افزایش غلظت ترکیبات فنولی آزاد و کاهش میزان ترکیبات فنولی باند شده نسبت به آرد مالت تخمیر نشده گردید. به طور کلی خمیر ترش با پایه آرد مالت برنج قهوه ای و تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس ساکئی* منبعی غنی از گابا، آنتی اکسیدان‌ها و ترکیبات

www.SID.ir

Archive of SID

فنولی است واز آن می توان در تولید نان‌های فراسودمند استفاده نمود.

جدول ۱- میزان آمینواسید در نمونه های خمیر ترش و آرد مالت برنج قهوه‌ای (میلی گرم بر ۱۰۰ گرم ماده خشک)

Table 1- Amino acid contents in sourdough samples and germinated brown rice malt flour (mg. 100 g^{-1} d.m)

Amino acid	*L. sakei*	*L. sanfranciscensis*	Mix OD=2.9	Mix OD =1.45	Control	GBR flour
Lysine	224.81	221.15	204.44	188.46	242.00	190.22
Histidine	193.87	159.61	197.77	163.46	146.00	141.37
Argenin	591.83	346.15	688.88	576.92	362.00	414.76
Aspartic acid	714.28	694.23	633.33	638.46	518.00	626.81
Threonine	255.10	192.30	333.32	275.00	258.00	228.69
Serin	489.79	540.38	444.43	446.16	602.00	413.72
Glutamic acid	1612.24	125.00	1086.66	905.76	560.00	2070.68
Glycine	310.20	253.84	331.11	190.38	324.00	426.19
Alanine	516.32	423.07	551.10	478.84	458.00	510.39
Cystein	85.71	157.69	117.73	76.92	122.00	71.72
Valin	504.08	423.07	508.88	459.64	498.00	405.40
Methionine	224.48	175.00	286.66	194.23	196.00	205.82
Isoleucine	310.20	326.93	331.10	257.69	298.00	258.83
Leucin	634.69	459.61	666.65	538.46	508.00	614.34
Tyrosine	410.20	442.30	422.22	425.00	560.00	406.44
Phenylalanin	391.83	346.15	466.65	361.53	356.00	361.74
Tryptophan	106.12	176.92	128.88	103.84	126.00	137.21
Proline	300.00	213.46	286.66	269.23	264.00	288.98
Total	7875.42	6801.90	7686.60	6550	6398.0	7764.03

منابع مورد استفاده

پیغمبردوست ه، رییسی کاهوری ن و عیوض زاده الف، ۱۳۹۳، اثر خمیر ترش خشک شده حاوی مخلوط گونه‌های لاکتوباسیلوس بر کیفیت آرد گندم و خواص رئولوژیکی خمیر. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲٤(٤).

خراسانچی ن، پیغمبردوست ه، حجازی م و رأفت ع، ۱۳۹۲، استفاده از لاکتو باسیلوس پلانتاروم (ATCC1058) و روتری (ATCC1655) به عنوان آغازگر در تهیه خمیر ترش. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۳۳(۱).

Barbosa M S, Jurkiewicz C, Landgraf M, Todorov S D, Franco BDG M, 2018. Effect of proteins, glucose and NaCl on growth, biosynthesis and functionality of bacteriocins of *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei* 2a in foods during storage at 4 °C: Tests in food models**.** LWT 95: 167-171.

www.SID.ir

Archive of SID

Bourdichon F, Casaregola S, Farrokh C, Frisvad J C, Gerds M L, Hammes W P, Harnett J, Huys G, Laulund S, Ouwehand A, Powell I B, Prajapati J B, Seto Y, Schure E T, Van Boven A, Van Kerckhoven V, Zgoda A, Tuijtelaars S, & Hansen E B, 2012. Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use. International Journal of Food Microbiology 154 (3) : 87–97.

Chaillou S, Christieans S, Rivollier M, Lucquin I, Champomier-Vergès M C, Zagorec M, 2014. Quantification and efficiency of *Lactobacillus sakei* strain mixtures used as protective cultures in ground beef. Meat Science 97(3) : 332-338.

Chandrasekara A, Shahidi F, 2012. Bioaccessibility and antioxidant potential of millet grain phenolics as affected by simulated in vitro digestion and microbioal fermentation. Journal of functional foods 4: 226-237.

Chen H H, Chang H C, Chen Y K, 2016. An improved process for high nutrition of germinated brown rice production: Low-pressure plasma. Food Chemistry 191:120–127.

Coda R, Giuseppe Rizzello C, Gobbetti M, 2010. Use of Sourdough fermentation and pseudo-cereals and leguminous flours for making of a functional bread enriched of γ-aminobutyric acid (GABA). International Journal of Food Microbiology 137: 236–245.

Culea M, Iordache AM, Horj E, Mesaros C, Bleiziffer R, 2016. GC-MS method for amino acids determination in different biological extracts. Studiaubb chemia 61: 213-222.

Debarber C B, Prieto J A, Collar C, 1989. Reversed-phase high-performance liquid-chromatography analysis of changes in free amino-acids during wheat bread dough fermentation. Cereal Chemistry 66: 283-288.

Donker O, Stojanovska L, Ginn P, Ashton J, Vasiljevic T, 2012. Germination of grains: sources of bioactive compounds. Food Chemistry 135: 950-959.

Dordevic TM, Siler-Marinkovic S S, Dimitrijevic´-Brankovic SI, 2010. Effect of fermentation on antioxidant properties of some cereals and pseudo cereals. Food Chemistry 119: 957-963.

Federica B, Emiliano G, Gaetano P, Santina R, 2011. Evaluation of antioxidant, rheological and sensorial properties of wheat flour dough and bread containing ginger powder. Food Sience and Technology 44: 700-705.

Kariluoto S , Aittamaa M , Korhola M, Salovara H, 2006. Effects of yeasts and bacteria on the levels of folates in rye sourdoughs. International Journal of Food Microbiology 106: 137-143.

Katina K , Liukkonen K H , Kaukovirta-Norja A, Adlercreutz H, Heinonen SM, Lampi AM, Pihlava JM, Poutanen K, 2007. Fermntation induced changes in the nutritional value of native or germinated rye. Journal of Cerael Science 46: 348-355.

Laitila A, Katina K , Juvonen R, Likkonen KH, 2007. Bran fermentation as a mean to enhance technological properties and bioactivity of rye. Food Microbiology 24: 175–186.

Meignen B, Onn B, Gelinas P, Infantes M, Guilois S, Cahagnier B, 2001. Optimization of sourdough fermentation with *Lactobacillus brevis* and baker's yeast. Food Microbiology 18:239-245.

Moongnagram A, Satung N, 2010. Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated rough rice and brown rice. Food Chemistry 122: 782-788.

Najjari A, Amairi H, Chaillou S, Mora D and Ouzari H, 2016. Phenotypic and genotypic characterization of peptidoglycan hydrolases of *Lactobacillus sakei*. Journal of Advanced Research 7(1) : 155-163.

Nakamura T, Yoshida A, Kawasumi T, Shima J, 2007. Isolation and characterization of a low molecular weight peptide contained in sourdough. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55: 4871-4876.

Oguro Y, Nishiwaki T,Shinada R, Kobayashi K, Kurahashi A 2017. Metabolite profile of koji amazake and its lactic acid fermentation product by *Lactobacillus sakei* UONUMA. Journal of Bioscience and Bioengineering 124 (2) : 178-183.Peñuelas-Urquides K, Villarreal-Treviño L, Silva-Ramírez B, Rivadeneyra-Espinoza L, Said-Fernández S and Bermúdez de León M, 2013. Measuring of Mycobacterium tuberculosis growth. A correlation of the optical measurements with colony forming units. Brazilian Journal of Microbiology 44 (1) , http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822013000100042 .

Poutanen K , Flander L , Katina K, 2009. Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective. Food Microbiology 26: 693–699.

www.SID.ir

Archive of SID

Prechtl R M, Wefers D, Jakob F, Vogel R F, 2018. Cold and salt stress modulate amount, molecular and macromolecular structure of a *Lactobacillus sakei* dextran. Food Hydrocolloides 82: 73-81.

Rizzello CG, Cassone A , Di Cagno R, Gobbetti M, 2013. Synthesis of angiotensin converting enzyme (ACE)-inhibitory peptides and γ-aminobutyric acid (GABA) during sourdough fermentation by selected lactic acid bacteria. Food Chemistry 56: 6936-6943.

Shao Y, Sun X , Bao J, Beta T, 2014. Identification and quantification of phenolic acids and anthocyanins as antioxidants in bran,embryo and endosperm of white, red and black rice kernels (*oryza sativa L*). Journal of Cereal Science 59:2. 211-218.

Silvia del Carmen Beristain-Bauza S, Mani-López E, Palou E, López-Malo A, 2017. Antimicrobial activity of whey protein films supplemented with *Lactobacillus sakei* cell-free supernatant on fresh beef. Food Microbiology 62 : 207-211.

Ti H, Zhang R, Zhang M, Li Q, Weiz, Zhang Y, Tang X, Deng Y, Liu L, Ma Y, 2014. Dynamic changes in the free and bound phenolic compounds and antioxidant activity of brown rice at different germination stages. Food Chemistry 161: 337-344.

Ueno H, 2000. Enzymatic and structural aspects on glutamate decarboxylase. Journal of Molecular catalysis 10: 67-79.

Vuyst LD, Kerrebroeck SV, Leroy F, 2017. Microbial Ecology and Process Technology of Sourdough Fermentation. Elsevier Inc 100:49-160.

Wang X H , Ren HY, Lin DY, Zhu W Y , Wang W, 2013. Effects of inoculating *Lactobacillus sakei* starter cultures on the microbiological quality and nitrite depletion of chinese fermented sausages. Food Control 32: 591-596.

Wang CY, Wu S J, Shyu Y T, 2014. Antioxidant properties of certain cereals as affected by food-grade bacteria fermentation. Journal of Bioscience and Bioengineering 117: 449-456.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Food Researches/vol.30 No.1/ 2020/pp 137-150
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir

Effect of fermentation on concentration of functional compounds in malted brown rice flour

S Rahimi[1] and S Saremnezhad[2]*

Received: January 19, 2019 Accepted: April 28, 2019
[1]MSc Student, Deparment of Food Sciences and Technology , Faculty of pharmacy, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Iran (IAUPS)
[2]Assistant Professor, Deparment of Food Sciences and Technology , Faculty of pharmacy, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Iran (IAUPS)
*Corresponding author: Email: drsaremnejad@iaups.ac.ir

Introduction: Nowadays, by increasing the awareness of people on the importance of healthy diet and its effects on prevention of many diseases, researchers have been focused on the formulation and production of functional foods for their positive effects on improving the health. Regarding to the role of bread in supplying a major part of the daily energy of community members, it is possible to fortify this product during production process with many functional compounds. Brown rice has high fiber content and is known as a rich source of vitamins and antioxidants due to the presence of bran layer on the seed. Many studies have shown that germination can improve the concentration of functional compounds such as gamma- aminobutyric acid, phenolic compounds and antioxidants in brown rice, so it can be used for production of functional foods or fortification . One of the important processes during the bread making is fermentation. Regarding to the probable effects of fermentationon on the concentration of functional compounds in sourdough, in the present project the effect of fermenting the malted or germinated brown rice flour by two lactic acid bactria, *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus sanfranciscensis*, seperately and in the co-culture form besides the baker's yeast was investigated and the potential of resulted sour doughs for using in the formulation of functional fermented products such as bread was determined.
Materials and methods: The brown rice sample was steeped for 24 hours at 30 °C, then germinated for 48 hours at the same temperature of steeping. The germinated sample was dried to approximately 10% moisture content then ground and sieved to 40 mesh flour.The resulted flour samples were fermented with each of *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus sanfranciscensis*, seperately and in the co-culture form (once with the optical density of 2.9 or 10^8 CFU/ml and another time with the optical density of 1.45 or 0.5×10^8 CFU/ml) in the presence of baker's yeast till reaching to pH=4.9, then changes in the concentrations of the functional compounds such as free and bound phenolic compounds and their related DPPH free radical scavenging capacity, gamma-aminobutyric acid and free amino acids contents of sourdough samples was studied. The gamma-amino butyric acid and amino acid profile were measured by HPLC method, free and bound phenolic compounds were determined by using of folin ciocalteu reagent and DPPH radical scavenging capacities were measured by using of spectrophotometric method in all of the samples. A dough sample which was fermented only by Baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) was used as control. The effect of each independent variable on the concentration of functional compounds was determined by using of one way ANOVA, by SPSS software (version 20). All data were first checked for their normal distribution and also the homogeneity of variances. Duncan' s multiple range test was used for comparing the means at α=0.05 significant level. All tests were performed in triplicate other than amino acid profile determination.
Results and discussion: According to the obtained results, fermenting with *L.sakei* and

www.SID.ir

Archive of SID

L.sanfranciscensis separately or in the co-culture form, caused significant increase and decrease of free and bound phenolic compounds respectively compared to those of malted brown rice flour ($p\leq0.05$). The highest free phenolics content was observed at sourdoughs containing the mixture of lactic acid bacteria with OD of 2.9 and 1.45. Free phenolic compounds of sourdough sample which was fermented by *L.sakei*, showed the highest antioxidant capacity, whilst the highest free DPPH radical scavenging activity of bound phenolic compounds was obsereved in sourdough that was fermented with the mixture of *L.sanfranciscensis* and *L.sakei* with optical density of 1.45. In general, the results indicated on the higher antioxidant activity of free and bound phenolic compounds of *L. sakei* fermented sample and sourdough containing the mixture of *L. sakei* and *L. sanfranciscensis* with optical density of 1.45 respectively. The type of microbial flora for fermenting the dough had significant effect on GABA synthesis. The control sample and the sour dough fermented by *L. sakei* had the lowest and the highest GABA contents respectively. It seems that the difference in the GABA contents of the samples with different starters is related to the presence and amount of glutamate decarboxylase (GAD) in samples. The mentioned enzyme converts the glutamate to GABA. Also, fermenting of sourdough with *L.sakei*, resulted in the most free amino acids contents. The highest essential amino acid contents was observed at sour dough fermented by the mixture of *L.sakei* and *L. sanfranciscensis* with OD of 2.9.

Conclusion: Considering the obtained results, *L.sakei* bacteria can be suggested to sourdough industry as a suitable lactic acid bacteria for fermentation of malted brown rice flour with the aim of improving its functional compounds specially gamma-amino butyric acid. Gamma-amino butyric acid widely known as GABA, is a 4-carbon nonproteinogenic amino acid that is ubiquitous in microorganisms, plants, animals, and humans. It has been reported to possess numerous physiological functions in different organisms. It serves as a major inhibitory neurotransmitter in the central nervous system in humans and animals by mediating inhibitory synaptic currents between the pre- and postsynaptic membrane. It provides beneficial effects for human health by regulating blood pressure and the heart rate, helping with recovery from chronic alcohol-related symptoms, alleviating pain and anxiety, controlling stress and inhibiting cancer cell proliferation. According to the scientific articles, *L.sakei* is a microorganism with short lag phase and high growth rate among other Lactobacilli microorganisms. This bacteria is able to inactivate pathogens and spoilage microorganisms through acid and bacteriocin production and there is no report on its toxic or pathogenic effects, so it is mostly used for fermentation of sausages as starter culture. In the present study, based on the obtained results, the type of the fermenting microorganism and its concentration in the dough affected the functional properties of the resulted sourdough, also using of *L.sakei* for fermenting the malted brown rice flour with the aim of producing a functional sour dough, resulted in improving of the gamma-amino butyric acid concentration and DPPH radical scavenging capacity, so producing of a functional bread rich in gamma-amino butyric acid, free amino acids and free phenolic compounds with antioxidant activity would be possible.

Keywords: Gamma- aminobutyric acid, Functional , *L.sakei, L.sanfranciscensis* , Malted brown rice flour

www.SID.ir