

بررسی ویژگی‌های تکنولوژیکی ایزوله‌های لاکتوباسیل جدا شده از خمیرترش‌های سنتی برای تولید نان

غزال یزدان پناه^۱، ابوالفضل گلشن تفتی^{۲*}، سیده‌های پیغمبر دوست^۳ و محمد حسن فولادی^۴

تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۲۸

^۱ کارشناس ارشد مرکز تحقیقات مهندسی بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

^۲ استادیار موسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج

^۳ استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

^۴ دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

*مسئول مکاتبه: E mail: golshan_ta@yahoo.com

چکیده

باکتری‌های اسید لاکتیک نقش مهمی در کشاورزی و صنایع غذایی دارند. این باکتری‌ها به شکل میله‌ای یا کروی گرم مثبت، کاتالاز منفی، غیرمتحرک و غیربیماری‌زا هستند. ویژگی‌های متابولیکی باکتری‌های اسید لاکتیک جهت انتخابشان به‌عنوان کشت‌های آغازگر در تولید فرآورده‌های تخمیری به ویژه نان حائز اهمیت است. هدف از انجام این پژوهش، بررسی ویژگی‌های تکنولوژیکی ایزوله‌های جدا شده از خمیرترش‌های سنتی به منظور انتخاب ایزوله‌های برتر جهت استفاده در صنایع نانوايي بود. در این پژوهش ویژگی‌های تکنولوژیکی ۷۱ ایزوله لاکتوباسیل جدا شده از خمیرترش‌های سنتی در استان آذربایجان شرقی مورد بررسی قرار گرفت. ویژگی‌های تکنولوژیکی شامل توانایی تولید اسید، فعالیت پروتئولیتیک، فعالیت آمیلولیتیک و تولید اگزوپلی‌ساکارید توسط ایزوله‌های لاکتوباسیل بود. اکثر ایزوله‌های لاکتوباسیل (۹۱/۵۵ درصد)، دارای فعالیت آمیلولیتیکی بودند ولی ایزوله شماره ۵۱ فعالیت آمیلولیتیکی قوی‌تری را از خود بروز داد. نتایج آزمون‌ها نشان داد که تمامی ایزوله‌ها دارای فعالیت پروتئولیتیک و توانایی تولید اگزوپلی‌ساکارید و اسید بودند. ایزوله‌های لاکتوباسیل شماره ۷۱، ۵۱، ۵۲، ۳۱، ۷۰، ۴۷، ۴۴، ۶۴، ۵۷ و ۴۰ بیش‌ترین فعالیت پروتئولیتیک را دارا بودند. توانایی تولید اگزوپلی‌ساکارید نیز در ایزوله‌های لاکتوباسیل شماره ۱۹، ۶۰، ۸، ۳۴، ۳۶، ۶۲، ۵۴، ۴۸، ۶۸، ۱۳، ۵۲ و ۱۲ از سایر ایزوله‌ها بیش‌تر بود. ایزوله لاکتوباسیل شماره ۱۴ از لحاظ تولید اسید بهترین ایزوله بود. برخی ایزوله‌های لاکتوباسیل دارای ویژگی‌های تکنولوژیکی مناسب برای استفاده در صنعت نان بودند که پس از بررسی می‌توان از آن‌ها به‌عنوان کشت‌های آغازگر در تولید نان با کیفیت و عطر طعم مطلوب استفاده کرد.

واژگان کلیدی: باکتری‌های اسید لاکتیک، ویژگی‌های تکنولوژیکی، لاکتوباسیل‌ها، نان

مقدمه

لاکتوباسیل‌ها شامل گروه اکولوژیکی از میکروارگانیسم‌ها هستند که به شکل میله‌ای یا کوکسی و بدون رنگدانه بوده، عموماً بی‌هوازی تا میکروآئروفیل‌اند و همگی گرم مثبت و غیربیماری‌زا هستند و محصول نهایی تخمیر آن‌ها اسید لاکتیک است. این باکتری‌ها همچنین بدون اسپور و غیرمتحرکند. دمای مناسب برای رشد این باکتری‌ها، 30°C تا 40°C است (سهیل و همکاران ۲۰۰۵). برخی از سویه‌های لاکتوباسیل، فلور میکروبی نرمال روده انسان را تشکیل می‌دهند که نقش مهمی در عمل هضم غذا و جلوگیری از اختلال روده‌ای دارند. لاکتوباسیل‌ها همچنین به دلیل داشتن ویژگی‌هایی مانند اثرات ضد توموری، کمک به تعادل فلورمیکروبی روده، تولید ترکیبات ضد میکروبی، تحریک سیستم ایمنی میزبان و غیره تحت عنوان پروبیوتیک معرفی شده‌اند (راچمیلز و همکاران ۲۰۰۴؛ دی‌وست و لری ۲۰۰۷). لاکتوباسیل‌ها کاربردهای زیادی در داروسازی، صنایع غذایی، کشاورزی و نساجی دارند و یکی از کاربردهای مهم آن‌ها به عنوان کشت‌های آغازگر در تولید فرآورده‌های تخمیری است. باکتری‌های اسید لاکتیک با تولید متابولیت‌های مختلف در ایجاد عطر و طعم، افزایش زمان ماندگاری، کنترل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و فساد مواد غذایی و قوام محصول نقش دارند (برکت و همکاران ۲۰۱۱؛ آزادینا و خان ناظر ۲۰۰۹؛ مرتضی و احمد ۲۰۰۷).

لاکتوباسیل‌ها در مواد غذایی مختلفی مانند محصولات لبنی، گوشت و غلات نیز وجود دارند. این باکتری‌ها در تولید فرآورده‌های تخمیری نقش داشته و با تولید اسیدهای مختلف، الکل، دی‌استیل، استالدئید، آمینواسیدهای معطر، کتون‌ها و اگزوپلی‌ساکاریدها در افزایش زمان ماندگاری، بهبود بافت و عطر و طعم فرآورده نهایی مؤثرند (العسکری و همکاران ۲۰۱۲؛ رولان و همکاران ۲۰۱۰؛ کوکوا و همکاران ۲۰۱۱). لاکتوباسیل‌ها دارای ویژگی‌های تکنولوژیکی مختلفی هستند که از جمله می‌توان به فعالیت آمیلولیتیکی،

پروتئولیتیکی، تولید اسید و تولید اگزوپلی‌ساکارید اشاره کرد که هر کدام از این فعالیت‌ها در مواد غذایی باعث تولید ترکیبات معطر و طعم‌دهنده در محصولات شده و طول عمر آن‌ها را بالا می‌برد (گیراد و همکاران ۱۹۹۴؛ کم و همکاران ۲۰۱۲؛ لانگساکال و همکاران ۲۰۰۹؛ ناین و همکاران ۲۰۰۷؛ پپ و همکاران ۲۰۰۴). مارکلیندر و همکاران (۱۹۹۶) به بررسی ویژگی‌های تکنولوژیکی (تولید اسید) خمیرترش‌ها پرداخته و به این نتیجه رسیدند که مقدار اسید لاکتیک در خمیرترش‌ها در محدوده $0/20 - 0/26$ و مقدار اسید استیک در محدوده $0/03 - 0/08$ در هر گرم خمیرترش بود. گرز و همکاران (۲۰۱۲) هیدرولیز گلیادین را در طول فرآیند تخمیر با دو سویه لاکتوباسیل مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج بیانگر کاهش غلظت گلیادین در خمیر و افزایش اسیدهای آمینه و در نتیجه قدرت پروتئولیتیکی باکتری‌های لاکتوباسیل در خمیرترش بود. اُدا و همکاران (۱۹۹۷) تولید اسید لاکتیک را از پسماندهای نان به کمک باکتری‌های اسید لاکتیک آمیلولیتیک مورد بررسی قرار دادند و تولید اسید لاکتیک قابل توجهی را مشاهده کردند. گاله و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی تأثیر اگزوپلی‌ساکاریدها بر کیفیت خمیرترش نان سورگوم پرداختند. در این پژوهش، رئولوژی خمیر و کیفیت نان فاقد گلوتن سورگوم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اگزوپلی‌ساکارید تشکیل شده در طول فرآیند تخمیر خمیرترش را می‌توان با موفقیت در آردهای سورگوم فاقد گلوتن به منظور بهبود پتانسیل‌های تهیه نان استفاده کرد. اگزوپلی‌ساکاریدهای تشکیل شده در طول تخمیر خمیرترش منجر به تولید نان نرم‌تر و تازه‌تر شدند. هر چند در زمینه بهبود کیفیت و کاهش بیایاتی نان مطالعات گسترده‌ای صورت گرفته است ولی هنوز بیایاتی نان منجر به زیان‌های اقتصادی بزرگی در صنایع پخت شده و سالیانه مبالغ هنگفتی صرف ضایعات نان در کشور می‌شود (بلوریان و همکاران ۲۰۱۰). از طرفی، در سال‌های اخیر نیز تقاضا برای

حاوی ۱۰ درصد پودر شیر خشک کشت داده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۵ روز در دمای 30°C گرمخانه‌گذاری شدند. در صورت مشاهده هاله اطراف محل رشد باکتری، فعالیت پروتئولیتیکی ایزوله‌ها مثبت (+) گزارش گردید. باکتری شاهد در مورد آزمون‌های پروتئولیتیک و آمیلولیتیک، باکتری باسیلوس سرئوس بود (محسنی ۱۳۸۹).

تولید اگزوپلی ساکارید

کشت فعال ایزوله‌های لاکتوباسیل به محیط MRS Agar تلقیح و به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. به این محیط کشت، تری کلرو استیک اسید ۸۰ مولار اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه با دور rpm ۲۵۰۰ سانتریفوژ گردید. سپس ۵ میلی‌لیتر از مایع رویی در لوله شیشه‌ای ریخته، ۱۰ میلی‌لیتر از اتانول (نور زکریای رازی) ۹۶ درصد افزوده و به مدت ۱ شب در دمای 4°C قرار داده شد. سپس این محیط برای مدت ۱۵ دقیقه در دور rpm ۲۵۰۰ سانتریفوژ شد. به رسوب حاصله، ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد و ۵ میلی‌لیتر آب مقطر جهت شستشو اضافه گردید و به مدت ۱۰ دقیقه با دور rpm ۲۵۰۰ سانتریفوژ شد. در نهایت، رسوب در یک آون با دمای 80°C تا رسیدن به وزن ثابت خشک و توزین گردید.

توانایی تولید اسید

برای سنجش توانایی تولید اسید، کشت فعال باکتری در دانسیته نوری ۶۵۰ ($\text{OD}_{650}=1$) استاندارد و به میزان ۵ درصد حجمی به محیط MRS Broth اضافه شد. میزان اسیدیته در زمان‌های ۰، ۲، ۴، ۶ و ۲۴ ساعت اندازه‌گیری و نتایج به صورت کاهش در میزان pH گزارش گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های حاصل از آزمون‌های میکروبی با آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

محصولات طبیعی، سالم و با عطر و طعم مطلوب افزایش یافته و مصرف‌کنندگان به دنبال محصولاتی هستند که در تهیه آن‌ها هیچ‌گونه ماده افزودنی شیمیایی به کار نرفته باشد (لونگو و سانرومن ۲۰۰۶؛ پترولاکوا و همکاران ۲۰۰۹). با توجه به موارد ذکر شده، در این پژوهش به بررسی ویژگی‌های تکنولوژیکی برخی ایزوله‌های لاکتوباسیل که طی مطالعات قبلی از خمیرترش‌های سنتی جداسازی شده‌اند، به‌منظور انتخاب ایزوله‌های مناسب در صنایع نانوايي پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی ایزوله‌های لاکتوباسیل

این پژوهش از نوع مشاهده‌ای بود. تعداد ۷۱ ایزوله از باکتری‌های لاکتوباسیل که طی مطالعات قبلی از خمیرترش‌های سنتی استان آذربایجان شرقی جدا شده بودند، به محیط کشت اختصاصی لاکتوباسیل‌ها منتقل شدند. برای این منظور مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از کشت ذخیره هر یک از ایزوله‌های لاکتوباسیل، تحت شرایط استریل به محیط کشت MRS Broth (مرک آلمان) تلقیح شد و در دمای 30°C و شرایط غیرهوازی گرمخانه‌گذاری گردید.

فعالیت آمیلولیتیکی

کشت فعال لاکتوباسیل‌ها با استفاده از لوپ روی سطح محیط Starch Agar غنی شده با عصاره گوشت به حالت خطی کشت داده شد و سپس پلیت‌ها در دمای 30°C گرمخانه‌گذاری شدند. پس از ۵ روز گرمخانه‌گذاری، محلول‌ید به سطح پلیت‌ها اضافه شد. هاله روشن اطراف خط کشت که پس از ریختن محلول لوگول مشاهده شد، بیانگر فعالیت آمیلولیتیکی لاکتوباسیل بود که به صورت مثبت (+) گزارش گردید (تاپا و همکاران ۲۰۰۶).

فعالیت پروتئولیتیکی

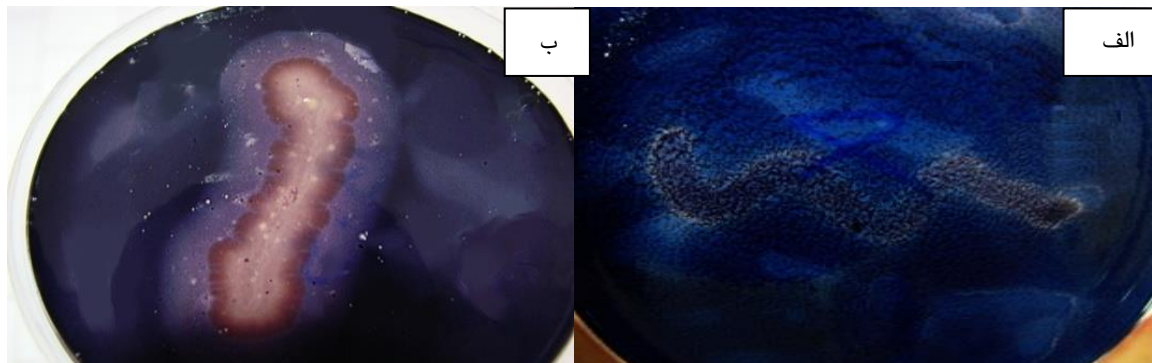
کشت تازه ایزوله‌های لاکتوباسیل با لوپ به‌صورت خطی روی سطح پلیت‌های MRS Agar (مرک آلمان)

نتایج

آزمون آمیلولیتیک

از ۷۱ ایزوله لاکتوباسیل، ۶۵ ایزوله (۹۱/۵۵ درصد) توانایی رشد در محیط حاوی نشاسته برنج را دارا بودند

که در محیط کشت به‌صورت هاله‌ای روشن اطراف پرگنه باکتری مشخص می‌شد. در بین ایزوله‌های لاکتوباسیل، ایزوله شماره ۵۱ از فعالیت آمیلولیتیکی قوی‌تری برخوردار بود.



شکل ۱- فعالیت آمیلولیتیکی در محیط حاوی نشاسته برنج

الف- باسیلوس سرئوس (کنترل مثبت)، ب- فعالیت آمیلولیتیکی مثبت لاکتوباسیل‌ها

آزمون‌های پروتئولیتیک و توانایی تولید اگزوپلی‌ساکارید

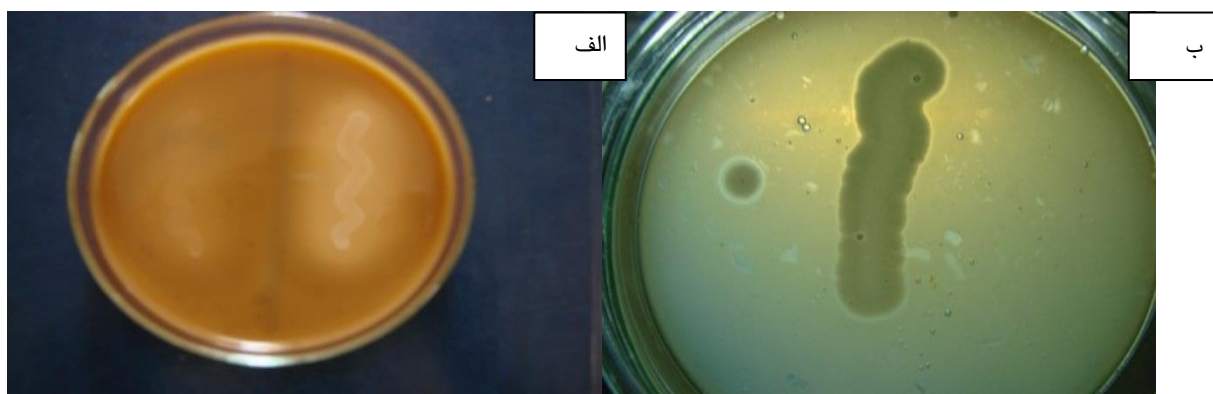
بین ایزوله‌های لاکتوباسیل از لحاظ فعالیت پروتئولیتیکی و تولید اگزوپلی‌ساکارید اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول ۱). کلیه ایزوله‌های لاکتوباسیل دارای فعالیت پروتئولیتیکی بودند (شکل ۲). بیش‌ترین فعالیت پروتئولیتیکی به ایزوله‌های لاکتوباسیل به شماره‌های ۷۱، ۵۱، ۵۲، ۳۱، ۷۰، ۴۷، ۴۴، ۶۴، ۵۷ و ۴۰ اختصاص داشت. غربالگری ۷۱ ایزوله لاکتوباسیل از لحاظ توانایی تولید اگزوپلی‌ساکارید در

سطح آزمایشگاه نیز نشان داد که کلیه ایزوله‌ها قادر به تولید اگزوپلی‌ساکارید بودند ولی تولید اگزوپلی‌ساکارید توسط ایزوله‌های ۱۹، ۶۰، ۸، ۳۴، ۳۶، ۶۲، ۵۴، ۴۸، ۶۸، ۱۳، ۵۲ و ۱۲ به‌طور معنی‌داری بیش از سایر ایزوله‌های لاکتوباسیل گزارش گردید (جدول ۲). مقدار اگزوپلی‌ساکارید تولید شده توسط این ایزوله‌ها در محدوده ۳-۶/۴ میلی‌گرم بود که در این میان ایزوله‌های ۱۹ و ۶۰ بیش‌ترین میزان تولید اگزوپلی‌ساکارید را به خود اختصاص دادند.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس در مورد خصوصیات پروتئولیتیکی و توانایی تولید اگزوپلی‌ساکارید ایزوله‌های لاکتوباسیل

میانگین مربعات			
منابع تغییر	درجه آزادی	فعالیت پروتئولیتیکی	تولید اگزوپلی‌ساکارید
ایزوله لاکتوباسیل	۷۰	۴/۴۵**	۲/۴۶**
خطا		۱۴۲	۱۴۲
CV		۳/۳۱	۸/۳۴

** اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد



شکل ۲- فعالیت پروتئولیتیکی ایزوله‌های لاکتوباسیل در محیط کشت حاوی پودر شیر خشک
الف- باسیلوس سرئوس (کنترل مثبت)، ب- ایزوله لاکتوباسیل با فعالیت پروتئولیتیک مثبت

جدول ۲- تولید اگزوپلی ساکارید در ایزوله‌های لاکتوباسیل

تولید اگزوپلی ساکارید (میلی گرم)	شماره ایزوله	تولید اگزوپلی ساکارید (میلی گرم)	شماره ایزوله
۴ ^c	۵۴	۶/۴ ^a	۱۹
۳/۸ ^{cd}	۴۸	۵/۴ ^b	۶۰
۳/۲ ^{de}	۶۸	۵/۳ ^b	۸
۳/۱ ^{def}	۱۳	۵/۱ ^b	۳۴
۳/۱ ^{def}	۵۲	۴/۸ ^b	۳۶
۳ ^{ef}	۱۲	۴/۸ ^b	۶۲

در هر ستون اعدادی که دارای حروف مشابه نیستند، اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر دارند.

تولید اسید

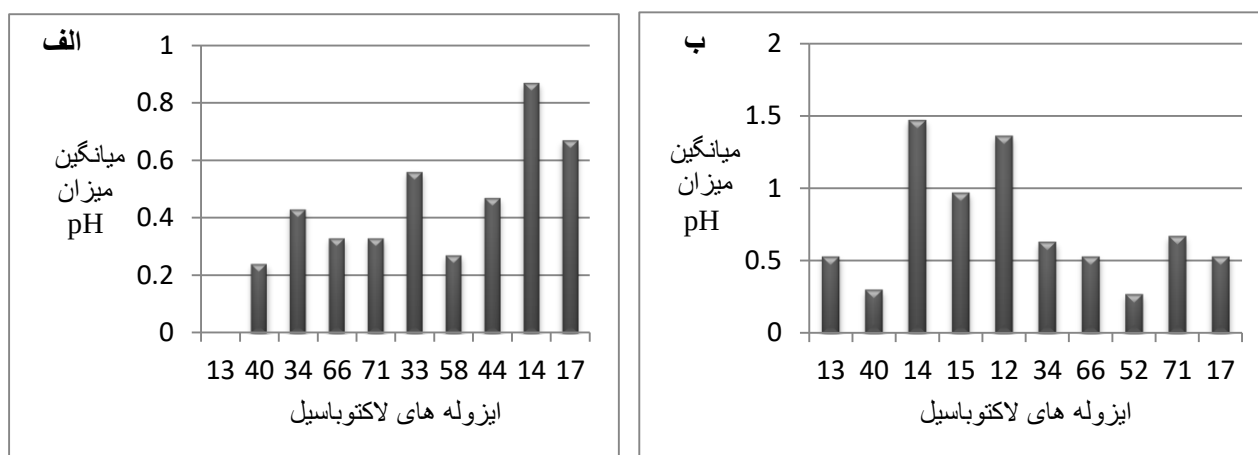
به‌طور کلی، اختلاف معنی‌داری بین ایزوله‌های لاکتوباسیل از لحاظ کاهش در میزان pH در طول گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰°C وجود داشت. در خصوص زمان گرمخانه‌گذاری و اثر متقابل ایزوله‌های لاکتوباسیل و زمان گرمخانه‌گذاری (A*B) نیز تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد. میانگین میزان pH محیط‌های کشت حاوی ایزوله‌های لاکتوباسیل در شروع زمان گرمخانه‌گذاری (زمان صفر) برابر ۵/۳۵ گزارش گردید که بعد از ۲، ۴، ۶ و ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰°C به ترتیب به ۵/۰۷، ۴/۸۰، ۴/۴۵ و ۳/۷۴ کاهش یافت (جدول ۳). مقادیر کاهش در میزان pH بعد از ۲ و ۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای

۳۰°C برای ایزوله‌های لاکتوباسیل در شکل ۳ نشان داده شده است. این ایزوله‌ها بیش‌ترین تولید اسید را از بین ۷۱ ایزوله لاکتوباسیل بعد از ۲ و ۴ ساعت گرمخانه‌گذاری به خود اختصاص دادند. ایزوله‌های لاکتوباسیل ۱۴ و ۱۷ و همچنین ایزوله‌های لاکتوباسیل ۱۴ و ۱۲ بیش‌ترین کاهش را در میزان pH به ترتیب بعد از ۲ و ۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰°C نشان دادند. بنابراین، ایزوله لاکتوباسیل شماره ۱۴ بیش‌ترین تولید اسید را به خود اختصاص داد به‌طوری‌که کاهش در میزان pH بعد از ۲ و ۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰°C برای این ایزوله به ترتیب ۰/۸۷ و ۱/۴۷ گزارش شد (شکل ۳).

جدول ۳- تغییرات در میزان pH در طول زمان گرمخانه‌گذاری ایزوله‌های لاکتوباسیل در دمای ۳۰°C*

زمان گرمخانه‌گذاری (ساعت)	میانگین میزان pH	زمان گرمخانه‌گذاری (ساعت)	میانگین میزان pH
۰	۵/۳۵ ^a	۶	۴/۴۵ ^d
۲	۵/۰۷ ^b	۲۴	۳/۷۴ ^e
۴	۴/۸۰ ^c		

*حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد هستند.



شکل ۳- کاهش در میزان pH بعد از ۲ ساعت (الف) و ۴ ساعت (ب) گرمخانه‌گذاری ایزوله‌های لاکتوباسیل در دمای ۳۰°C

بحث

در این پژوهش، اکثر ایزوله‌های لاکتوباسیل دارای فعالیت آمیلولیتیکی بودند. بررسی‌های انجام شده نیز حاکی از فعالیت آمیلولیتیکی سویه‌های لاکتوباسیل جدا شده از سایر محصولات تخمیری بوده که با نتایج حاصله در این پژوهش مطابقت دارد. بیش‌تر فعالیت‌های تحقیقاتی روی بررسی اثر تخریب نشاسته توسط سویه‌های آمیلولیتیک باکتری‌های اسید لاکتیک مانند لاکتوباسیلوس پلاننتاروم انجام شده که نتایج، نشان‌دهنده اثر تخریبی نشاسته‌ای این سویه‌ها در فرآورده‌های تخمیری مانند کاساوا و غلات (سورگوم، ذرت) بوده است (کستینک و همکاران ۲۰۰۷). باکتری‌های اسید لاکتیک با فعالیت آمیلولیتیکی، به دلیل داشتن آنزیم‌های آلفا آمیلاز قادر به هیدورلیز نشاسته خام بوده و می‌توانند انواع مختلفی از مواد خام

نشاسته‌ای نظیر ذرت، سیب زمینی، کاساوا و نیز سوبستراهای نشاسته‌ای مختلف را تخمیر کنند. سویه‌هایی از لاکتوباسیلوس پلاننتاروم از فرآورده‌های تخمیری بر پایه کاساوا در آفریقا و نیز لاکتوباسیلوس مانیهاتی‌ورنس (*Lactobacillus manihotiverans*) از تخمیرهای نشاسته کاساوا در کلمبیا جداسازی شده‌اند که دارای فعالیت آمیلولیتیکی بودند. سویه‌های آمیلولیتیک لاکتوباسیل‌های پلاننتاروم و فرمنتوم نیز در فرآورده‌های تخمیری سنتی در نیجریه گزارش شده‌اند (ردی و همکاران ۲۰۰۸). سویه‌های آمیلولیتیک لاکتوباسیلوس فرمنتوم جدا شده از خمیرترش ذرت، اولین بار توسط آگاتی و همکاران گزارش شده است (آگاتی و همکاران ۱۹۹۸). هر چند کلیه ایزوله‌های لاکتوباسیل مورد بررسی دارای فعالیت پروتئولیتیکی بودند ولی تعدادی از ایزوله‌ها، فعالیت پروتئولیتیکی قوی

را نشان دادند. در مورد تجزیه پروتئین گلوتن خمیرترش توسط سویه‌های لاکتوباسیل و پدیوکوکسی گزارشاتی در دسترس است (گرز و همکاران ۲۰۱۲). فعالیت پروتئولیتیکی باکتری‌های اسید لاکتیک به مقدار زیادی به سویه آن‌ها بستگی دارد. برخی از سویه‌ها توانایی خاصی در هیدرولیز پروتئین‌های آلبومین، گلوبولین و گلیادین آرد دارند. گزارش‌های اخیر حاکی از آن است که فعالیت پروتئولیتیک لاکتوباسیل‌ها در مقایسه با آنزیم‌های آرد ناچیز است. آنزیم‌های پروتئاز درونی غلات، پرول آمین‌ها را تحت شرایط اسیدی تجزیه می‌کنند. آنزیم‌های پروتئیناز در pH برابر با ۷/۳ فعال هستند. بنابراین، پروتئولیز در طول فرآیند تخمیر خمیرترش به مقدار زیادی به تشکیل اسید وابسته است که باکتری‌های اسید لاکتیک شرایط اپتیم را برای فعالیت آنزیم‌های پروتئیناز فراهم می‌سازند (گرز و همکاران ۲۰۱۲). همان‌طور که گفته شد، تمامی ایزوله‌های لاکتوباسیل قادر به تولید اگزوپلی‌ساکارید بودند. به‌طور کلی، تعداد زیادی از لاکتوباسیل‌ها از لحاظ تولید اگزوپلی‌ساکارید مورد بررسی قرار گرفته‌اند که نتایج به‌دست آمده مشابه نتایج این پژوهش است. لاکتوباسیل‌های کازئی، پاراکازئی، هلوتیکوس، اسیدوفیلوس، ساکی، رامنوسوس، هیلگاردی، فرمنتوم، برویس و پلانتاروم گزارش شده که قادر به تولید اگزوپلی‌ساکارید هستند (ساوادگو و همکاران ۲۰۰۸). زوتا و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که برخی از

سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم و پاراپلانتاروم قادر به تولید اگزوپلی‌ساکارید از قندهای مختلف در محیط کشت جامد هستند. ایزوله‌های لاکتوباسیل باعث کاهش میزان pH محیط کشت در طول زمان گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰°C شدند ولی میزان کاهش pH در زمان‌های مختلف گرمخانه‌گذاری برای ایزوله‌های لاکتوباسیل متفاوت بود. زوتا و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که لاکتوباسیل‌های هتروفرمنتتیو اجباری و اختیاری قادر به کاهش قابل توجهی از pH پس از ۶ ساعت گرمخانه‌گذاری بودند. اسیدی شدن خمیر یک فعالیت متابولیکی مهم در تولید نان به شمار می‌آید. تولید اسیدهای آلی در طول فرآیند تخمیر و کاهش pH به کم‌تر از ۵ در جلوگیری از فساد طنابی نان مؤثر است. همچنین اسیدهای لاکتیک و استیک تولید شده توسط باکتری‌های اسید لاکتیک روی عطر و طعم نان اثر دارند. بررسی ویژگی‌های تکنولوژیکی لاکتوباسیل‌ها به منظور دستیابی به اطلاعات مقدماتی روی نقش این باکتری‌ها در تولید نان و نیز انتخاب کشت‌های آغازگر از اهمیت خاصی برخوردار است. نتایج به‌دست آمده نشان داد که برخی ایزوله‌های لاکتوباسیل مورد بررسی دارای ویژگی‌های تکنولوژیکی مناسبی هستند که استفاده از آن‌ها باید در تولید نان مورد بررسی قرار گرفته و در صورت مثبت بودن نتایج، می‌توان از آن‌ها به‌عنوان کشت‌های آغازگر در تولید نان با کیفیت و عطر و طعم مطلوب استفاده کرد.

منابع مورد استفاده

محسنی م، ۱۳۸۹. تکنیک‌ها در میکروبیولوژی. انتشارات دانشگاه مازنداران، ۲۶۴ صفحه.

- Al Askari G, Kahouadji A, Khedid K, Charof R and Mennane Z, 2012. Screenings of lactic acid bacteria isolated from dried fruits and study of their antibacterial activity. Middle-East Journal of Scientific Research 11: 209-215.
- Agati V, Guyot JP, Morlon Guyot J, Talamond P and Hounhouigan D, 1998. Isolation and characterization of new amylolytic strains of *Lactobacillus fermentum* from fermented maize doughs (Mawe and Ogi) from Benin. Journal of Applied Microbiology 85: 512-520.
- Azadina P and Khan Nazer A, 2009. Identification of Lactic acid bacteria isolated from traditional drinking yoghurt in tribes of fars province. Iranian Journal of Veterinary Research 10: 28-32.

- Barakat OS, Ibrahim G, Tawfik N, El Kholy W and Gad El Rab A, 2011. Identification and probiotic characteristics of *Lactobacillus* strains isolated from traditional Domiati cheese. *International Journal of Microbiology Research* 3: 59-66.
- Bolourian S, Haddad Khodaparast M, Goli MG and Afshary M, 2010. Effect of lactic fermentation (*Lactobacillus plantarum*) on physicochemical, flavour, staling and crust properties of semi volume bread (Bagget). *World Applied Science Journal* 8: 101-106.
- De Vuyst L and Leroy F, 2007. Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology* 13: 194-9.
- Galle S, Schwab C, Dal Bello F, Coffey A, Gänzle MG and Arendt EK, 2012. Influence of in-situ synthesized exopolysaccharides on the quality of gluten-free sorghum sourdough bread. *International Journal of Food Microbiology* 155: 105-12.
- Gerez CL, Dallagnol A, Rollán G and Font de Valdez G, 2012. A combination of two lactic acid bacteria improves the hydrolysis of gliadin during wheat dough fermentation. *Food Microbiology* 32: 427-430.
- Giraud E, Champailier A and Raimbault M, 1994. Degradation of raw starch by a wild amylolytic strain of *Lactobacillus plantarum*. *Applied and Environmental Microbiology* 60: 4319-4323.
- Kam W, Aida W and Sahilah A, 2012. Identification of predominant *Lactobacillus* species in liquid sourdough fermentation. *International Food Research Journal* 19: 1739-1743.
- Kocková M, Gereková P, Petrušáková Z, Hybenová E, Šturdík E and Valík L, 2011. Evaluation of fermentation properties of lactic acid bacteria isolated from sourdough. *Acta Chimica Slovaca* 4: 78-87.
- Kostinek M, Specht I, Edward V, Pinto C, Egounlety M and Sossa C, 2007. Characterisation and biochemical properties of predominant lactic acid bacteria from fermenting Cassava for selection as starter cultures. *International Journal of Food Microbiology* 114: 342-351.
- Longo MA and Sanromán MA, 2006. Production of food aroma compounds: Microbial and enzymatic methodologies. *Food Technology and Biotechnology* 44: 335-353.
- Luangsakul N, Keeratipibul S, Jindamorakot S and Tanasupawat S, 2009. Lactic acid bacteria and yeasts isolated from the starter doughs for Chinese steamed buns in Thailand. *LWT-Food Science and Technology* 42: 1404-1412.
- Marklinder I, Haglund Å and Johansson L, 1996. Influences of lactic acid bacteria on technological, nutritional, and sensory properties of barley sourdough bread. *Food Quality and Preference* 7: 285-292.
- Murtaza MA and Ahmad MS, 2007. Effect of sourdough bacteria on the quality and shelf life of bread. *Pakistan Journal of Nutrition* 6: 562-565.
- Nguyen T, Loiseau G, Icard Verniere C, Rochette I, Trèche S and Guyot JP, 2007. Effect of fermentation by amylolytic lactic acid bacteria, in process combinations, on characteristics of rice/ soybean slurries: A new method for preparing high energy density complementary foods for young children. *Food Chemistry* 100: 623-631.
- Oda Y, Park BS, Moon KH and Tonomura K, 1997. Recycling of bakery wastes using an amylolytic lactic acid bacterium. *Bioresource Technology* 60: 101-106.
- Pepe O, Blajotta G, Anastasio M, Moschetti G, Ercolini D and Villani F, 2004. Technological and molecular diversity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from naturally fermented sourdoughs. *Systematic and Applied Microbiology* 27: 443-453.
- Petruláková Z, Hybenová E, Mikušová L, Gereková P, Kocková M and Šturdík E, 2009. The effect of *Lactobacilli* starter culture on quality of bread. *Acta Chimica Slovaca* 2: 120-128.
- Rachmilewitz D, Katakura K, Karmeli F, Hayashi T, Reinius C and Rudensky B, 2004. Toll-like receptor 9 signaling mediates the anti-inflammatory effects of probiotics in murine experimental colitis. *Gastroenterology* 126: 520-8.
- Reddy G, Altaf M, Naveena B, Venkateshwar M and Kumar EV, 2008. Amylolytic bacterial lactic acid fermentation—a review. *Biotechnology Advances* 26: 22-34.

- Rollan G, Gerez C, Dallagno A, Torino M and Font G, 2010. Update in bread fermentation by lactic acid bacteria. Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology 2: 1168-1174.
- Sawadogo Lingani H, Diawara B, Traoré A and Jakobsen M, 2008. Technological properties of *Lactobacillus fermentum* involved in the processing of dolo and pito, West African sorghum beers, for the selection of starter cultures. Journal of Applied Microbiology 104: 873-82.
- Sohail M, Ahmad A, Shahzad S and Khan SA, 2005. A survey of amylolytic bacteria and fungi from native environmental samples. Pakistan Journal of Botany 37: 155-61.
- Thapa N, Pal J, Tamang P, 2006. Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally processed fish products of the Eastern Himalaya. Interinational Journal of Food Microbiology 107: 33-38.
- Zotta T, Piraino P, Parente E, Salzano G and Ricciardi A, 2008. Characterization of lactic acid bacteria isolated from sourdoughs for Cornetto, a traditional bread produced in Basilicata (Southern Italy). World Journal of Microbiology and Biotechnology 24: 1785-1795.

Technological properties of the *Lactobacilli* isolated from traditional sourdoughs for bread making

GH Yazdanpanah¹, A Golshan Tafti^{2*}, SH Peighambaroust³ and MH Fooladi⁴

Received: September 08, 2015

Accepted: September 18, 2016

¹MSc, Environmental Health Engineering Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

²Assistant Professor, Agricultural Engineering Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

³Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

⁴Associate Professor, College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

*Corresponding author: E mail: golshan_ta@yahoo.com

Abstract

Lactic acid bacteria (LAB) have an important role in agriculture and food industry. Lactic acid bacteria are characterized as Gram-positive cocci or rods, catalase negative, non-pathogenic, and non-motile bacteria. Metabolic properties of lactic acid bacteria are important for their selection as starter cultures in production of fermented products, especially bread. The aim of this study was to examine the technological properties of the sourdough *Lactobacilli* isolates in order to select the proper isolates for bakery industry. In this study, technological properties of 71 lactobacilli isolated from traditional sourdoughs were evaluated. The technological properties included acid production ability, proteolytic and amylolytic activities as well as exopolysaccharides production. Most of the lactobacillus isolates (91.55%) showed amylolytic activity but isolate 51 had the highest amylolytic activity. All the isolates exhibited proteolytic activity, acidifying ability, and exopolysaccharides production. The lactobacillus isolates 31, 40, 44, 47, 51, 52, 57, 64, 70, and 71 showed the highest proteolytic activity. Exopolysaccharides production was also the highest in the isolates 19, 60, 8, 34, 36, 62, 54, 48, 68, 13, 52 and 12. The lactobacillus isolate 14 was reported the best isolate in the case of acidifying ability. Some of the lactobacillus isolates had the proper technological properties for using in bakery industry. Therefore, they could be used as starter cultures in bread production after studying in baking tests.

Key words: Lactic acid bacteria, Technological properties, Lactobacilli, Bread