تحقیقات مهندسی صنایع غذایی/جلد۲۴ / شماره /۷۶ / بهار و تابستان/ ۱۴۰۳ /ص : ۱۲۸ - ۱۱۵

سایت مجله: https://fooder.areeo.ac.ir

نوع مقاله: پژوهشی

بررسی فعالیت ضدمیکروبی و تأثیر خمیرترش دو سویه باکتری اسید لاکتیک غالب در آرد پوسته برنج بر میزان فیتیک اسید در نان نیمه حجیم

عباس عابدفر*

* استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ ارسال: ۱۴۰۳/۰۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۳۰

چکیده

هدایت تخمیر با عملکرد بالقوه خمیرترش آرد پوسته برنج با ویژگی‌های ضدمیکروبی در تکنولوژی‌های نوین تخمیری به منظور کنترل میزان فیتیک اسید روزبه‌روز در حال افزایش است. هدف از اجرای این پژوهش، بررسی تأثیر خاصیت ضدمیکروبی دو سویه لاکتیک جدا شده از خمیرترش آرد پوستهٔ برنج است بر دو باکتری بیماری‌زای شاخص *اشریشیا کلای* و *استافیلوکوکوس اورئوس*، و دو کپک عامل فساد مواد غذایی به‌خصوص فراورده‌های نانوایی شامل (*آسپریلوس نایجر* و *نوروسپورا سیتوفیلا*) به ترتیب با روش نفوذ در چاهک و لکه گذاری اسپور همراه. علاوه بر این، مقادیر فیتیک اسید در ساختار نان حجیم تولیدی با روش جذب‌سنجی مبتنی بر تعیین میزان آهن نیز ارزیابی گردید. نتایج تحقیق نشان داد که اختلاف معناداری بین فعالیت ضدمیکروبی سوسپانسیون کشت فعال فاز لگاریتمی و فاز سکون در روش چاهک وجود ندارد و بیشترین هالهٔ عدم رشد مرتبط با باکتری *اشریشیا کلای* با مقادیر ۱/۱۳± ۱۳/۲۲ میلی‌متر مشاهده گردید. گونهٔ *لاکتی‌پلنتی‌باسیلیوس پلانتاروم* فعالیت ضد کپکی به مراتب بالاتری در مقایسه با *پدیوکوکوس پنتازسئوس* علیه هر دو کپک نشان داد، در واقع کپک *آسپرژیلوس نایجر* در برابر متابولیت‌های تولیدی گونه *لاکتی‌پلنتی‌باسیلیوس پلانتاروم*، در مقایسه با *نوروسپورا سیتوفیلا*، حساسیت بیشتری داشت. مقدار فیتیک اسید در تخمیر کنترل شده با هر یک از آغازگرها روند نزولی داشت، در این میان، تأثیر آغازگر *پدیوکوکوس پنتازسئوس* در کاهش مقدار فیتیک اسید به مراتب بیشتر بود تا گونهٔ *لاکتی‌پلنتی‌باسیلیوس پلانتاروم*، که در حقیقت تأثیر افزایش اسیدیته در تخمیر هدایت شده آن سبب کاهش مقدار فیتیک اسید با بیشترین خاصیت ضد میکروبی و هاله عدم رشد گردید.

واژه‌های کلیدی: خمیرترش آرد پوستهٔ برنج (RHFS)، خاصیت ضد باکتریایی، خاصیت ضد کپکی، محتوی فیتیک اسید

مقدمه

امروزه گستره تحقیقات غذایی از نقش مواد غذایی در تأمین انرژی، عاری از نگهدارنده شیمیایی، متحمل کمترین میزان فرآوری و رفع نیازهای ساختاری بد، به سمت بررسی موشکافانه ترکیبات غذایی تغییر یافته است که از نظر بیولوژیکی فعال و دارای ویژگی‌های غذا-دارویی هستند. بی شک این موضوع اهمیت و کاربرد استفاده از کشت‌های میکروبی محافظت‌کننده را بیش از بیش افزایش می‌دهد. بنابراین، انتخاب و به‌کارگیری سویه‌های میکروبی که قادر به تولید ترکیباتی با قابلیت ضدمیکروبی هستند مانند نگهدارندهٔ زیستی می‌تواند مطلوب باشد (Suskovic *et al.*, 2010). نگهدارندهٔ زیستی در واقع به کنترل یک میکروارگانیسم توسط میکروارگانیسم دیگر با هدف حفظ زمان ماندگاری مواد غذایی، سلامت غذا را به‌دلیل فلور میکروبی طبیعی و تولید متابولیت‌های ضد میکروبی بهبود می‌بخشد (Magnusson *et al.*, 2003). به کارگیری باکتری‌های اسید لاکتیک و

نویسنده مسئول: Email: a.abedfar@guilan.ac.ir

http://doi: 10.22092/FOODER.2024.365712.1390

© 2023,The Author(s). Published by Agricultural Engineering Research Institute. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

متابولیت‌های آن‌ها در صنایع غذایی موجب کاهش یا حذف نگهدارنده‌های شیمیایی و تیمارهای شدید حرارتی می‌گردد که نتیجهٔ آن حفظ خواص تغذیه‌ای مادهٔ غذایی است (Coda *et al.*, 2011). باکتری‌های اسید لاکتیک با تولید ترکیبات ضد میکروبی مانند اسیدهای آلی (لاکتیک اسید و استیک اسید)، ترکیبات اکسیژن‌دار همچون پراکسید هیدروژن، روتروسایکلین و ترکیبات پروتئینی مانند باکتریوسین‌ها، پپتیدهای با وزن مولکولی پایین و پروتئین‌های ضد قارچی قادر هستند میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و عامل فساد را در مواد غذایی کنترل کنند (Herreros *et al.*, 2005; Servin, 2004). علاوه بر این، بسیاری از محصولات تخمیری ویژگی‌های عطر و طعم خود را مدیون فلور لاکتیکی می‌دانند و بر این اساس از طرف اتحادیهٔ اروپا با توجه به سابقهٔ طولانی مدت استفادهٔ ایمن از این باکتری گواهی دو عنوان GRAS (Generally Recognized as Safe) و QPS (Qualified Presumption of Safety) را دریافت کرده‌اند (EFSA, 2007; EFSA, 2012). بنابراین شناسایی، دسته‌بندی و حفظ گونه‌های میکروبی مفید در تولید و بهبود کیفیت مواد غذایی، بالاخص خمیرترش، در هر کشور اهمیت فوق العاده‌ی خواهد داشت. تخمیر هدایت شدهٔ خمیرترش آرد پوستهٔ برنج[1] در فناوری‌های نوین تخمیری در حضور باکتری‌های اسید لاکتیک سبب بهبود ویژگی‌های کیفی نان می‌شود و با تجزیهٔ فیتات میزان دسترسی به املاح را افزایش می‌دهد (De Angelis *et al.*, 2003). در واقع، به کمک برخی از آنزیم‌های تولید شده توسط آغازگرهای لاکتیکی خمیرترش می‌توان اثرهای نامطلوب عوامل ضد تغذیه‌ای فرآورده‌های غلات همچون فیتیک اسید را برطرف و حتی کمبود اسیدهای آمینه مانند لیزین را نیز جبران کرد (Reale *et al.*, 2007).

در تحقیقات متعددی ویژگی‌های ضد میکروبی و عملکرد تخمیر بر کاهش میزان فیتیک اسید بررسی شده است. برای مثال، لیو و همکاران (Liu, *et al.*, 2013) باکتری‌های *لاکتوپلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* CCFM233 جدا شده از خمیرترش آرد گندم را برای تعیین فعالیت آنتاگونیستی علیه *اشریشیای کلای* به‌عنوان پاتوژن غذایی و تحمل شرایط شبیه‌سازی شدهٔ روده بررسی کردند و دریافتند که باکتری مذکور ضمن دارابودن خواص پروبیوتیکی، قابلیت مهار *اشریشیای کلای* را نیز دارد. شمشک و همکاران (Şimşek, *et al.*, 2006) نیز خواص ضد میکروبی جدایه‌های لاکتیکی خمیرترش با روش انتشار چاهک را بررسی کردند و به سویه‌هایی با قابلیت ضد میکروبی مانند *لاکتوباسیلوس برویس* زیر-گونهٔ *لیندری*، *لاکتوباسیلوس وریدسن*، *پدیوکوکوس* ای ۵ و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* دست یافتند. ابراهیمی و همکاران (Ebrahimi, *et al.*, 2017) نیز فعالیت ضدکپکی روماند خام و خنثی شدهٔ حاصل از فاز رشد لگاریتمی و سکون چند جدایه لاکتیکی علیه *آسپرژیلوس نایجر* و *آسپرژیلوس فلاووس* را ارزیابی کردند و نشان دادند فعالیت ضد کپکی روماند حاصل از فاز سکون یک جدایه لاکتیکی (*پدیوکوکوس لولی*) در برابر کپک *آسپرژیلوس نایجر* نسبت به *آسپرژیلوس فلاووس* بیشتر است. این پژوهشگران می‌افزایند عمده متابولیت‌های ضد کپکی در فاز سکون رشد جدایه‌های لاکتیکی تولید می‌شود. لینهارت و همکاران (Leenhardt *et al.*,. 2005) نیز تغییر میزان هیدرولیز فیتات به واسطهٔ تخمیر خمیرترش را ارزیابی کردند و نشان دادند میزان فیتیک اسید در خمیرهای

[1] Rice Husk Flour Sourdough (RHFS)

دارایpH حدود ۴ تا ۴/۵ نسبت به خمیرهای دارای pH بالاتر به مراتب کمتر است و افت جزئی pH تا حدود ۵/۵ منجر به کاهش چشمگیر مقدار فیتات (تا حدود ۳۵ درصد) در محصول تولیدی می‌شود. دو آنجلیس و همکاران (De Angelis, *et al.*, 2003) نیز قابلیت تجزیه فیتات توسط ۱۲ جنس از باکتری‌های اسید لاکتیک خمیرترش را مطالعه کردند و دریافتند این ویژگی با توجه به جنس و نژاد آغازگر لاکتیکی بسیار متفاوت است.

با توجه مطالعات گسترده در جهان در خصوص خمیرترش و عملکرد آن، هدف اصلی از این پژوهش، ارزیابی خاصیت ضد میکروبی (ضدکپکی و ضد باکتریایی) سویه‌های *پدیوکوکوس پنتازسئوس* و *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* غالب جدا شده از خمیرترش آرد پوستهٔ برنج و تأثیر تخمیر خمیرترش حاوی آن‌ها بر میزان فیتیک اسید نان نیمه حجیم است که کمتر در این خصوص مطالعه شده است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش دو سویهٔ *پدیوکوکوس پنتازسئوس* و *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* غالب جدا شده از خمیرترش آرد پوستهٔ برنج استفاده شد. این سویه‌ها با روش‌های وابسته و مستقل از کشت مبتنی بر شناسایی مولکولی تائید و بعد از نگهداری کوتاه مدت (Slant Culture) در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس به‌کارگرفته شدند. کشت‌های لیوفیلیزه باکتری‌های شاخص بیماری‌زایی مانند *اشریشیا کلای* (PTCC 1399)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1112) و کپک‌های عامل فساد غذایی *آسپرژیلوس نایجر* (PTCC 5319) و *نوروسپورا سیتوفیلا* (PTCC 5291) از مرکز کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. مواد شیمیایی و محیط‌های کشت مصرفی (MRS Broth/Agar، YGC Agar و Brain Heart Infusion Broth/Agar) در این پژوهش نیز از شرکت مرک آلمان و شرکت شارلو اسپانیا به‌کارگرفته شدند.

آماده‌سازی و فعال‌سازی سویه‌های میکروبی

نخست برای احیای سویه‌های غالب خمیرترش آرد پوستهٔ برنج نگهداری شدهٔ کوتاه مدت، کشت ذخیره آن‌ها بعد از خروج از فریزر ۲۰- درجه سلسیوس در ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت مغذی اختصاصی MRS broth تلقیح گردید و پس از آن به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۸ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. باکتری‌های شاخص بیماری‌زا در این پژوهش در محیط کشت BHI broth به مدت یک شبانه روز (Over night) در دمای ۳۷ درجه سلسیوس فعالسازی شدند.

آماده‌سازی سوپرناتانت (پالیدهٔ کشت فعال) حاصل از دو سویه *پدیوکوکوس پنتازسئوس* و *لاکتی‌پلنتی باسیلوس پلانتاروم*

بعد از فعال‌سازی سویه‌های مذکور پالیده کشت آن‌ها تحت سانتریفوژ (۶۰۰۰ *g* طی مدت ۱۰ دقیقه) در دمای محیط قرار گرفت. بخش فاقد تودهٔ زیستی به‌منظورحصول اطمینان از حذف کامل سلول‌های باکتریایی از فیلتر سرنگی با قطر ۰/۲۲ میکرومتر عبور داده شد. بخش شفاف عبور داده شده برای هر یک از سویه‌های غالب خمیرترش آرد پوستهٔ برنج برای آزمون‌های اختصاصی در یخچال دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد (Oldak *et al.*, 2017).

بررسی فعالیت ضد باکتریایی دو سویهٔ *پدیوکوکوس پنتازسئوس* و *لاکتی‌پلنتی باسیلوس پلانتاروم* با روش انتشار چاهک

در روش انتشار چاهک، ابتدا جذب کشت‌های تازهٔ دو سویهٔ *پدیوکوکوس پنتازسئوس* و *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* غالب جدا شدند و خمیرترش آرد پوستهٔ برنج و باکتری‌های *اشریشیای کلای* و *استافیلوکوکوس ارئوس* به صورتی تنظیم شدند که جمعیت میکروبی آن‌ها معادل نیم

مک فارلند (10^8 * ۱/۵) باشد. صد میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری‌های بیماری‌زا روی محیط کشت حاوی BHI آگار به صورت سطحی کشت داده شد. پس از حدود ۳۰ دقیقه، در مرکز این پلیت‌ها چاهک با قطر ۶ میلی‌متر ایجاد گردید و ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون کشت فعال جدایه‌های لاکتیکی و سوپرناتانت‌های فاقد تودهٔ زیستی هر یک از سویه‌ها در این چاهک‌ها به‌طور جداگانه تزریق شد. پلیت‌ها به گرمخانه با دمای ۳۷ درجه سلسیوس منتقل شدند و قطر هالهٔ عدم رشد ایجاد شده در اطراف چاهک‌ها به کمک خط‌کش اندازه‌گیری و برحسب میلی‌متر گزارش گردید (Herreros *et al*, 2005; Oldak *et al*., 2017).

بررسی فعالیت ضد کپکی دو سویهٔ *پدیوکوکوس پنتازسئوس* و *لاکتی‌پلنتی باسیلوس پلانتاروم* با روش لکه‌گذاری اسپور

برای بررسی خاصیت ضدکپکی سوپرناتانت پالیده کشت فعال در فاز لگاریتمی و سکون حاصل از دو سویهٔ *پدیوکوکوس پنتازسئوس* و *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* غالب جدا شده از خمیرترش آرد پوستهٔ برنج با روش لکه‌گذاری اسپور توسط روش Ebrahimi و همکاران (۲۰۱۷) استفاده گردید. به‌طور مختصر، ۱۰ سی سی از مخلوط محیط کشت اختصاصی کپک و مخمر در واقع YGC agar و سوپرناتانت فاقد سلول از پالیده کشت فعال در فاز لگاریتمی و فاز سکون حاصل از دو سویهٔ *پدیوکوکوس پنتازسئوس* و *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* به‌طور جداگانه با نسبت‌های (۱۰ تا ۵۰ درصد) در پلیت‌های با قطر ۶ سانتی‌متری اضافه شد. علاوه بر این، نمونهٔ کنترل به‌منظور مقایسه نیز از یک نمونه پلیت محتوی YGC agar برای هر سویه فاقد سوپرناتانت استفاده گردید. پنج ماکرولیتر از سوسپانسیون اسپور با رقت 10^5 اسپور در هر میلی‌لیتر (spores/mL) هر یک از کپک‌های *آسپرژیلوس نایجر* و *نوروسپورا سیتوفیلا* در مرکز پلیت لکه‌گذاری شد. نمونه‌های پلیت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند و قطر رشد میسلیوم کپک در آن‌ها تا زمانی‌که کپک در نمونه کنترل به طور کامل سطح پلیت را محصور کرد اندازه‌گیری شد (Ebrahimi *et al*., 2017).

بررسی میزان فیتیک اسید نان نیمه‌حجیم خمیرترش آرد پوستهٔ برنج از دو سویهٔ *پدیوکوکوس پنتازسئوس* و *لاکتی‌پلنتی باسیلوس پلانتاروم*

برای تهیهٔ نان نیمه حجیم خمیرترشی نسبت ۲۵ درصد وزنی از خمیرترش آرد پوستهٔ برنج تحت تیمار تخمیر کنترل شده به خمیر متشکل از مخلوط آرد نول، آب، ۱/۲ درصد نمک، ۱/۵ درصد شکر و ۱/۵ درصد وزنی از مخمر خشک فعال *ساکارومایسس سرویزیه* با میزان آب مورد نیاز معادل ۵۸ درصد اضافه گردید، برای ایجاد شرایط تخمیر اولیه، دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه تنظیم شد و تخمیر نهایی آن پس از تقسیم کردن به قطعات ۱۵۰gr در دمای ۴۵ درجه سلسیوس به مدت ۹۰ دقیقه صورت پذیرفت. نمونه های تولیدی در دمای ۵±۲۲۰ درجه سلسیوس و به مدت ۱۵ دقیقه در فر پخت مستقیم (مدل KGS، ایتالیا)، پخته شدند. پس از تولید نان نیمه‌حجیم خمیرترشی دارای کشت‌های آغازگر اختصاصی از دو سویه غالب در دو حالت پالیده کشت فعال لگاریتمی و سکون، مقدار فیتیک اسید آن‌ها، در مقایسه با نمونهٔ شاهد، براساس آزمون جذب‌سنجی مبتنی بر میزان آهن ارزیابی شد. در این پژوهش، نخست فیتیک اسید با محلول آهن سه ظرفیتی (با مقدار آهن مشخص)، رسوب داده شد و کاهش مقدار آهن در بخش فاز رویی به عنوان شاخصی از میزان فیتیک اسید ارزیابی گردید. برای استخراج فیتیک اسید از نمونه‌های نان حجیم حاوی خمیرترش آرد پوستهٔ برنج سویهٔ غالب *پدیوکوکوس پنتازسئوس* و *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* به‌طور جداگانه از هضم با اسید کلریدریک ۰/۵ مولار به مدت ۱۸۰ دقیقه و در ادامه با سانتریفوژ با سرعت g ۳۰۰۰

طی زمان ۳۰ دقیقه در دمای محیط استفاده شد. به ۰/۵ سی‌سی از محلول استخراج شده، ۱ میلی‌لیتر از محلول سولفات آهن آمونیومی افزوده شد و این مخلوط پس از ۳۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به دمای محیط روی یخ خشک قرار داده شد. پس از آن ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول ۲-۲ بی‌پیریدین ۱ درصد به محلول قبلی اضافه گردید و جذب نمونه با اسپکتروفتومتر (Hanon, China) در طول موج ۵۱۹ نانومتر خوانده شد و در مقایسه با منحنی استاندارد فیتیک اسید، مقدار آن تعیین گردید (Haug & Lantzsch, 1983).

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصل از این پژوهش در قالب طرح کاملا تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ تجزیه و تحلیل شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌داری (LSD) در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ با سه تکرار صورت گرفت.

نتایج و بحث

شناسایی بخش رشد نمایی و سکون منحنی رشد دو سویهٔ *پدیوکوکوس پنتازسئوس* و *لاکتی‌پلنتی باسیلوس پلانتاروم*

نتایج به دست آمده از تعیین بخش‌های تروفوفاز (فاز رشد لگاریتمی) و آیدیوفاز (فاز سکون) دو سویه غالب *پدیوکوکوس پنتازسئوس* و *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* جدا شده از خمیرترش آرد پوستهٔ برنج در شکل (۱) نشان داده شده است. بر این اساس، *پدیوکوکوس پنتازسئوس* بعد از ۱۷ ساعت و *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* بعد از ۱۴ ساعت به انتهای فاز رشد لگاریتمی در بخش تروفوفاز با قابلیت تولید متابولیت اولیهٔ خود رسیدند. این در حالی‌است که بیشترین افزایش تودهٔ زیستی در مرحلهٔ آیدیوفاز برای دو سویه غالب به‌ترتیب ۲۶ و ۲۸ ساعت حاصل گردید. برای ارزیابی خاصیت ضد باکتریایی پالیده کشت این جدایه‌ها در فازهای رشد لگاریتمی و سکون به ترتیب برای *پدیوکوکوس پنتازسئوس* (۱۶ و ۲۸ ساعت) و *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* بعد از (۱۳ و ۲۸ ساعت) پس از کشت جدایه‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه-گذاری شد. لی و همکاران (Lee, *et al*., 2016) با بررسی منحنی رشد باکتری‌های اسید لاکتیک در محیط کشت MRS Broth در دمای ۳۷ درجه سلسیوس مشاهده کردند *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* بعد از ۹ ساعت به انتهای فاز لگاریتمی خود رسیده است. قاعدتاً میکروارگانیسم‌های مختلف منحنی رشد متفاوتی دارند و برای دستیابی به متابولیت‌های تولیدی در فازهای رشد لگاریتمی و سکون باید منحنی رشد آن‌ها رسم شود.

ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی دو سویهٔ *پدیوکوکوس پنتازسئوس* و *لاکتی‌پلنتی باسیلوس پلانتاروم* جدا شده از خمیرترش آرد پوستهٔ برنج

نتایج حاصل از ارزیابی آزمون انتشار در چاهک در جدول (۱) نشان می‌دهد دو سویهٔ غالب بر هر دو باکتری پاتوژن گرم مثبت و منفی تأثیر گذار هستند، در حالی که عملکرد فعالیت ضد میکروبی آن‌ها با توجه به نوع ماهیت سویه و پالیده‌های فاز لگاریتمی و سکون جدایه‌ها متفاوت است. بر این اساس، بیشترین قطر هالهٔ عدم رشد ایجاد شده دو سویهٔ غالب خمیرترش آرد پوستهٔ برنج و به‌ترتیب پالیدهٔ حاصل از فاز سکون *لاکتی‌پلنتی‌باسیلیوس پلانتاروم* در برابر *اشیریشیا کلای* و فاز رشد لگاریتمی *پدیوکوکوس پنتازسئوس* در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* است. نسبت اختلاف قطر هالهٔ عدم رشد در کشت فعال *پدیوکوکوس پنتازسئوس* با کشت فعال *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* در فاز رشد لگاریتمی در سطح ۵ درصد

معنی‌دار است. تأثیر هالهٔ عدم رشد پالیده‌های کشت فعال در فاز سکون *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* علاوه بر *اشیریشیا کلای* در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* نیز تأثیر بازدارندگی محسوسی دارد. این در حالی‌است که در پالیدهٔ فعال *پدیوکوکوس پنتازسئوس* تنها روی *استافیلوکوکوس اورئوس* موثر بوده و بر *اشیریشیا کلای* اختلاف معنی‌داری (p>۰/۰۵) نداشته است. علاوه بر این، متابولیت تولیدی در بخش آیدوفاز تولیدی توسط *لاکتی‌پلنتی باسیلوس پلانتاروم* به مراتب قابلیت بازدارندگی بیشتری داشته است تا پدیوکوکوس. نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج تحقیقات شهرام-پور و همکاران (Shahrampour, *et al*., 2019) همخوانی دارد، در واقع پالیدهٔ کشت فعال *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* بیشترین هالهٔ عدم رشد علیهٔ باکتری *اشیریشیا کلای* از خود نشان داده است. نتایج به‌دست آمده همچنین با نتایج پژوهش‌های اولداک و همکاران (Oldak, *et al*., 2017) مطابقت دارد. این مجققان گزارش داده‌اند سویه‌های *لاکتی‌پلنتی‌باسیلیوس پلانتاروم* جدا شده از یک نوع پنیر محلی تخمیری خاصیت ضدمیکروبی (هالهٔ عدم رشد) بیشتری در برابر باکتری شاخص بیماری‌زایی *اشیریشیا کلای* نسبت به *لیستریا مونوسایتوژنز* دارند. این نتیجه‌گیری با نتایج تحقیقات زاگو و همکاران (Zago *et al*., 2011) مغایرت دارد که گزارش داده‌اند از ۹۸ سویهٔ خالص شدهٔ *لاکتی‌پلنتی‌باسیلیوس پلانتاروم* از پنیرهای ایتالیایی و آرژانتینی هیچ یک خاصیت بازدارندگی در مقابل باکتری‌های پاتوژن را نداشته است. پاپامانولی و همکاران (Papamanoli, *et al*., 2003) هالهٔ عدم رشد *لیستریا مونوسایتوژنز* را در برابر باکتری‌های لاکتیک اسید مطالعه و ۲ تا ۱۰ میلی‌متر گزارش کردند. سیزی‌کین و همکاران (Cizeikiene, *et al*., 2013) با بررسی خاصیت ضد میکروبی متابولیت‌های تولید شده توسط باکتری‌های لاکتیک اسید دریافتند که پالیدهٔ کشت *پدیوکوکوس پنتازسئوس* و *پدیوکوکوس اسیدلاکتسیتی* روی *باسیلوس سوبتلیس*، *لیستریا مونوسایتوژنز* و *اشیریشیا کلای* خاصیت بازدارندگی دارند. نگی و نگوین (Nghe & Nguyen, 2014) نیز بیشترین فعالیت ممانعت کنندگی *پدیوکوکوس پنتازسئوس* را در انتهای فاز رشد لگاریتمی آن مشاهده کردند که معادل با اثر ضد میکروبی سفالوسپورین علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* بوده است. اسیدهای آلی، دی استیل، استون، پراکسید هیدروژن، روتروسایکلین، پپتیدهای ضد قارچی، باکتریوسین‌ها و ترکیبات شبه باکتریوسینی از مهم‌ترین عوامل ضد میکروبی باکتری‌های اسید لاکتیک به شمار می‌آیند (Tejero-Sarinena *et al*, 2012). در مطالعات زیادی، تولید اسیدهای آلی مانند لاکتیک و استیک، تولید متابولیت‌های ضد میکروبی و همچنین اثر متقابل اسیدهای آلی با دیگر متابولیت‌های ضد میکروبی، عامل اصلی فعالیت ضد میکروبی در باکتری‌های اسید لاکتیک گزارش شده است (Zhang *et al*, 2011; Essid *et al*, 2009).

جدول ۱- قطر هالهٔ عدم رشد *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* و *پدیوکوکوس پنتازسئوس* (میلی‌متر) در روش انتشار چاهک

Table 1- Diameter of inhibition halo (mm) *Lpb. plantarum* and *P. pentosaceus* in well diffusion method

Type of bacteria (RHFS)	پالیده فاز رشد لگاریتمی		پالیده فاز سکون	
	E. coli	***St. aureu***	***E. coli***	***St. aureu***
Lpb. plantarum	10.98± 1.69 $^{a\ A}$	9.71± 1.06 $^{a\ A}$	13.22± 1.13 $^{a\ A}$	11.09± 1.41 $^{b\ A}$
P. pentosaceus	11.78± 1.57 $^{b\ A}$	12.59± 1.29 $^{b\ B}$	11.67± 1.91 $^{b\ B}$	11.93± 1.16 $^{b\ A}$

میانگین ± انحراف معیار

حروف غیر یکسان بزرگ (A-B)، نشانگر تفاوت معنی‌داری دوباکتری پاتوژن مختلف بر روی یک باکتری لاکتیکی در سطح α=۰/۰۵ در هر ردیف می‌باشد. نتایج آنالیز انجام شده با حروف کوچک (a-b) اختلاف معنی‌داری هر باکتری پاتوژن در مقابل دو باکتری لاکتیکی در هر ستون را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵).

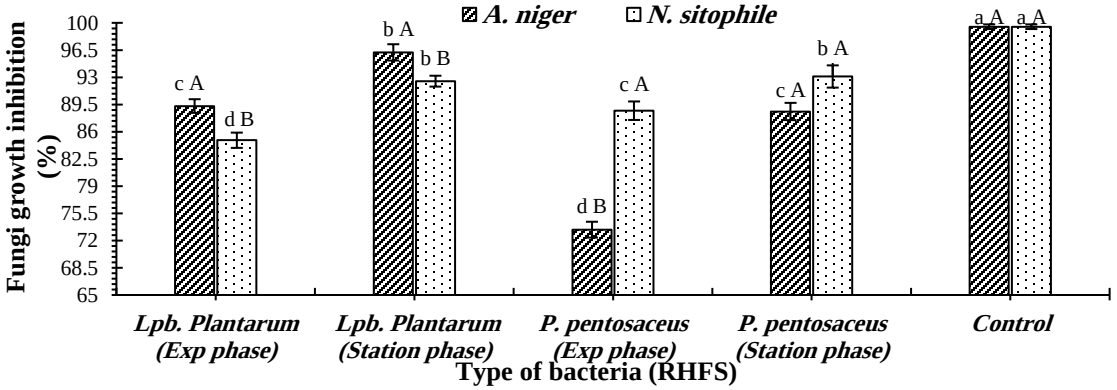
Results expressed as mean values of triplicates ± standard deviation.

$^{a-b}$ Different superscript letters in the same column between samples denote signifcant differences (P< 0.05)

$^{A-B}$ Different superscript letters in the same row between samples denote signifcant differences (P< 0.05)

ارزیابی فعالیت ضد کپکی دو سویه *پدیوکوکوس پنتازسئوس* و *لاکتی‌پلنتی باسیلوس پلانتاروم* جدا شده از خمیرترش آرد پوستهٔ برنج

نتایج حاصل از بررسی ویژگی‌های ضد کپکی علیه دو کپک *آسپرژیلوس نایجر* و *نوروسپورا سیتوفیلا* در شکل (۲) نشان داد شده است. بر این اساس، پالیده‌های کشت فعال در فاز سکون گونهٔ *لاکتی‌پلنتی‌باسیلیوس پلانتاروم*، در مقایسه با *پدیوکوکوس پنتازسئوس*، فعالیت ضد کپکی بالاتری ($p<۰/۰۵$) علیه دو گونه *آسپرژیلوس نایجر* و *نوروسپورا سیتوفیلا* نشان می‌دهد. در واقع، کپک *آسپرژیلوس نایجر* در برابر متابولیت‌های تولیدی گونهٔ *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* حساسیت بیشتری در مقایسه با *نوروسپورا سیتوفیلا* دارد. علاوه بر این، اختلاف معنی‌داری در مهار رشد کپک *نوروسپورا سیتوفیلا* در پالیدهٔ کشت فاز سکون سویهٔ *پدیوکوکوس پنتازسئوس*، در مقایسه با پالیدهٔ کشت فعال در فاز لگاریتمی، وجود دارد. می‌توان این گونه برداشت کرد که تأثیر متابولیت‌های ثانویهٔ تولیدی از هر یک از جدایه‌های تولیدی خمیرترش آرد پوستهٔ برنج در فاز سکون قابلیت مهار بالاتری در رشد کپک‌های مولد فساد را خواهد داشت. تأثیر سطوح مختلف غلظتی بالاخص محدودهٔ غلظت ۳۰ درصد از سوپرناتانت کشت فعال در فاز سکون و محدودهٔ غلظت ۴۰ درصد کشت فعال در فاز رشد لگاریتمی قابلیت مهار هر دو کپک *آسپرژیلوس نایجر* و *نوروسپورا سیتوفیلا* را داشته‌اند (جدول ۲). نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج تحقیقات ابراهیمی و همکاران (Ebrahimi, *et al*., 2017) مطابقت دارد، در واقع فعالیت ضدکپکی سوپرناتانت حاصل از فاز سکون جدایهٔ لاکتیکی پدیوکوکوس لولی دربرابر کپک *آسپرژیلوس نایجر* نسبت به *آسپرژیلوس فلاووس* بیشتر است. این محققان می‌افزایند عمده متابولیت‌های ضد کپکی در فاز سکون رشد جدایه‌های لاکتیکی تولید می‌گردد. صادقی و همکاران (Sadeghi, *et al*., 2016 a) نیز در ارزیابی فعالیت ضدکپکی دو جدایهٔ لاکتیکی حاصل از خمیرترش آرد کامل گندم، قابلیت ضدکپکی بالاتر *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* نسبت به *لاکتوباسیلوس سیکی* در مهار رشد کپک *آسپرژیلوس فلاووس* و کاهش آفلاتوکسین B_1 اشاره کرده‌اند.



شکل ۱- درصد مهار رشد قارچ‌های *آسپرژیلوس نایجر* و *نوروسپورا سیتوفیلا* مولد فساد مواد غذایی در حضور جدایه لاکتیکی *P. pentosaceus* و *Lpb. plantarum*

* تیرک‌های رسم شده روی نقاط نشانگر انحراف معیار می‌باشد

Fig 1- Percentage of fungi growth inhibition in presence of *Lpb. plantarum* and *P. pentosaceus*

Results expressed as mean values of triplicates ± standard deviation.

[a-b] Different superscript letters in presence of *A.niger* & *N. sitophila* between samples denote signifcant differences (P< 0.05)

[A-B] Different superscripts in each bacteria indicate significant differences between samples (P< 0.05)

جدول ۲- رشد کپک در حضور سوپرناتانت فاز لگاریتمی و سکون جدایه لاکتیکی *Lpb. plantarum* و *P. pentosaceus*

Table 2- Fungi growth in presence of supernatant (exponential growth and stationary phase) of *Lpb. plantarum* and *P. pentosaceus*

% supernatant in YGC agar	سطوح مختلف غلظت				
	٪10	٪20	٪30	٪40	٪50
			پالیدهٔ فاز رشد لگاریتمی (*Lpb. plantarum*)		
A. niger	+	+	+	-	-
N. sitophile	+	+	+	-	-
			پالیدهٔ فاز رشد لگاریتمی (*P. pentosaceus*)		
A. niger	+	+	+	-	-
N. sitophile	+	+	+	-	-
			پالیدهٔ فاز سکون (*Lpb. plantarum*)		
A. niger	+	-	-	-	-
N. sitophile	+	+	-	-	-
			پالیدهٔ فاز سکون (*P. pentosaceus*)		
A. niger	+	+	-	-	-
N. sitophile	+	+	-	-	-

+ growth, - no growth

نتایج به‌دست آمده از این پژوهش با نتایج بررسی‌های محققانی چون لوز و همکاران (Luz, *et al*., 2018) و گوپتا و سریواستاوا (Gupta & Srivastava, 2014) در خصوص قابلیت باکتری *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* در مهارکنندگی رشد و تولید اسپور در بسیاری از کپک‌های عامل فساد غذایی مانند *آسپرژیلوس، پنی سیلین، فوزاریوم و کالدسپوریوم* مطابقت دارد. فعالیت ضدکپکی جدایه‌های لاکتیکی به قابلیت تولید ترکیبات خارج سلولی مانند اسیدهای آلی، ترکیبات پروتئینی، اسیدهای چرب هیدروکسیل، فنیل لاکتیک اسید، بنزوئیک اسید و بسیاری از دی پپتیدهای حلقوی مربوط می‌شود (Sangmanee & Hongpattarakere, 2014).

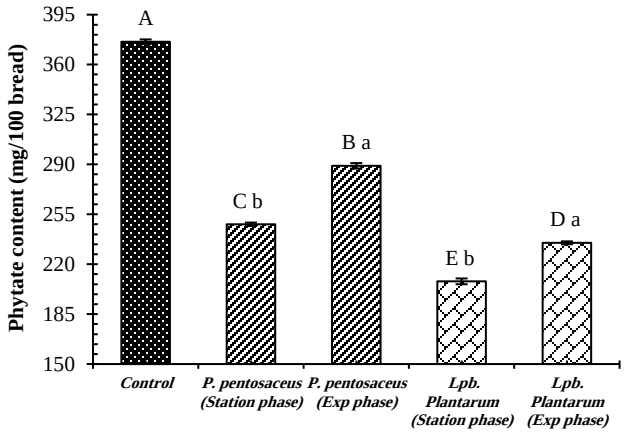
ارزیابی مقادیر فیتیک اسید نان نیمه حجیم خمیرترش آرد پوستهٔ برنج از دو سویه *پدیوکوکوس پنتازسئوس* و *لاکتی‌پلنتی باسیلوس پلانتاروم*

در شکل (۳) نتایج به طور کاملا موثر، هیدرولیز فیتیک اسید یا کاهش مقدار فیتات را در مقایسه با نمونه کنترل نشان می‌دهد. در این میان، نسبت افت مقدار فیتیک اسید (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم نان) در نمونهٔ نان حاوی خمیرترش *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* در فاز سکون بیشتر است ($p<0/05$) تا در فاز رشد نمایی آن در شرایط بهینهٔ تخمیر. خمیرترش محتوی سویهٔ *پدیوکوکوس پنتازسئوس* در فاز سکون اختلاف معنی‌داری در کاهش مقدار فیتیک اسید نسبت به تابع نمایی رشد استارتر مذکور در شرایط بهینه تخمیر دارد که این اختلاف در سطح ۵ درصد کاملا معنی‌دار است. مقدار فیتیک اسید در نمونهٔ شاهد برابر با (۳۷۶ میلی‌گرم به ازای ۱۰۰ گرم نان) است که در این میان بیشترین مقدار فیتیک اسید در نمونهٔ نان خمیرترشی محتوی باکتری *پدیوکوکوس پنتازسئوس* در فاز لگاریتمی با مقدار (۲۸۹ میلی‌گرم به ازای ۱۰۰ گرم نان) و کمترین آن در نمونهٔ نان خمیرترشی محتوی *لاکتی‌پلنتی‌باسیلیوس پلانتاروم* در فاز سکون با مقدار (۲۰۸ میلی‌گرم به ازای ۱۰۰ گرم نان) است.

اختلاف مقدار فیتیک اسید (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم) در هر دو نمونه نان نیمه حجیم خمیرترشی، در مقایسه با نمونهٔ

شاهد (فاقد خمیرترش آرد پوستهٔ برنج)، کاملا مشهود است (p<۰/۰۵). نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج تحقیقات بودریک و همکاران (Buddrick, *et al*., 2014) مطابقت دارد. خمیرترش به‌طور کلّی به نحو کاملاً موثر، هیدرولیز فیتیک اسید و دسترسی به املاح را افزایش می‌دهد (Frontela *et al*., 2011).

در پژوهشی دیگر، فعالیت فیتازی گونه‌های لاکتیک اسید باکتریایی خمیرترش در مطالعات دو آنجلیس و همکاران (De Angelis, *et al*., 2003) روی گونهٔ لاکتیکی *لاکتوباسیلوس سانفرانسیس* و همچنین در مطالعات پالاسیوس و همکاران (Palacios, *et al*., 2008) روی گونهٔ لاکتیکی *لاکتوباسیلوس رئوتری* گزارش شده است. لینهارت و همکاران (Leenhardt, *et al*., 2005) تأثیر افزایش اسیدیتهٔ قابل تیترکردن خمیرترش به واسطهٔ تشکیل کمپلکس‌های انحلال‌پذیر از فیتیک اسید توسط اسیدهای آلی تولیدی را عامل تجزیه قابل توجه اسید فیتیک دانستند. در واقع، محققان یادشده دریافتند که به جز فعالیت فیتازی آغازگرهای لاکتیکی خمیرترش، اثر متقابل pH پایین ناشی از تولید اسیدهای آلی بر فعالیت فیتازی دانهٔ غلات نیز در کاهش فیتیک اسید نقش دارد. تخمیر با کمک مخمر نانوایی در شرایط ایده‌ال ۳۸ درصد از فیتیک اسید موجود را هیدرولیز می‌کند که در مقایسه با اکوسیستم تخمیر خمیرترش این میزان تا ۶۲ درصد افزایش می‌یابد که احتمالا دلیل کاهش این ترکیب را می‌توان به فعالیت فیتاری متابولیت‌های تولیدی باکتری‌های اسید لاکتیک نسبت داد.



شکل ۲- ارزیابی تغییرات فیتیک اسید نان در حضور آغازگرهای مختلف خمیرترش آرد پوستهٔ برنج

* تیرک‌های رسم شده روی نقاط نشانگر انحراف معیار می‌باشد

Fig2- Evaluation of phytic acid changes in bread dough in the presence of different RHFS starters.

Results expressed as mean values of triplicates ± standard deviation.

a-b Different superscript letters in presence of *Lpb. plantarum* and *P. pentosaceus* between samples denote signifcant differences (P< 0.05).

A-B Different superscripts in all sample indicate significant differences between samples (P< 0.05)

صادقی و همکاران (Sadeghi, *et al*., 2016 b) با بررسی تخمیر خمیرترش حاوی جدایه‌های لاکتیکی بر میزان اسید فیتیک نشان دادند که با برقراری روابط رگرسیونی و همبستگی بالا میان اسیدفیتیک نان سنگک با تغییرات اسیدیتهٔ قابل تیترکردن طی تخمیر روند نزولی در حضور جدایه‌های لاکتیکی حاصل گردید. لوپز و همکاران (Lopez, *et al*., 2003) نیز نشان دادند که استفاده از نان خمیرترشی در وعده‌های غذایی موش آزمایشگاهی، نسبت به رژیم غذایی حاوی

نان غیر خمیرترشی، سبب افزایش میزان آهن سرم، هموگلوبین و هماتوکریت می‌شود که دلیل آن فعالیت بالای فیتازی متابولیت‌های تولیدی باکتری‌های اسید لاکتیک خمیرترش اعلام شده است.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، فعالیت ضدکپکی و ضدباکتریایی سوپرناتانت پالیده کشت فعال در دو فاز تروفوفاز و آیدیوفاز از دو سویهٔ *پدیوکوکوس پنتازسئوس* و *لاکتی‌پلنتی‌باسیلیوس پلانتاروم* غالب بومی جدا شده خمیرترش آرد پوستهٔ برنج به ترتیب توسط آزمون‌های نفوذ در چاهک و لکه گذاری اسپور ارزیابی شد. نتایج تحقیق نشان داد که همهٔ سویه‌های مورد بررسی قابلیت بازدارندگی خوبی در برابر باکتری‌های بیماری‌زای شاخص غذازاد مانند *اشریشیا کلای* و *استافیلوکوکوس ارئوس* و کپک‌های عامل فساد *آسپرژیلوس نایجر* و *نوروسپورا سیتوفیلا* دارند. در این میان، بیشترین قطر هالهٔ عدم رشد به‌ترتیب پالیدهٔ حاصل از فاز سکون *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* در برابر *اشریشیا کلای* و فاز رشد لگاریتمی *پدیوکوکوس پنتازسئوس* در برابر *استافیلوکوکوس ارئوس* بود. در واقع نسبت قطر هالهٔ عدم رشد در کشت فعال *پدیوکوکوس پنتازسئوس* با کشت فعال *لاکتی‌پلنتی‌باسیلوس پلانتاروم* در برابر *استافیلوکوکوس ارئوس* در فاز رشد لگاریتمی اختلاف معنی‌دار ($p<0/05$) داشت. تأثیر متابولیت‌های ثانویهٔ تولیدی از هر یک از جدایه‌های لاکتیکی در فاز سکون قابلیت مهار بالاتری را در رشد کپک‌های مولد فساد خواهد داشت. سویه‌های آغازگر درشرایط تخمیر خمیرترش آرد پوستهٔ برنج به نحو موثری مقدار فیتیک اسید نان حجیم را کاهش می‌دهند و منجر به افزایش دسترسی به املاح موجود در آن می‌شوند. اختلاف مقدار فیتیک اسید (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم) در هر دو نمونه نان حجیم خمیرترشی، در مقایسه با نمونهٔ شاهد (فاقد خمیرترش آرد پوستهٔ برنج)، کاملا مشهود است ($p<0/05$). از نتایج این پژوهش می‌توان برای حذف فیتیک اسید نان نیمه‌حجیم به کمک استارترهای بومی خمیرترشی و مقابلهٔ آن با فقر املاح معدنی (منیزیم) خصوصاً آهن کی‌لیت شده با فیتیک اسید استفاده کرد.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه گیلان که هزینه‌های اجرای این پژوهش را در قالب طرح دانشگاهی تامین کردند تشکر می‌شود. همچنین از آقای دکتر امیر پورفرزاد برای هماهنگی در جهت تهیهٔ آرد پوستهٔ برنج از شرکت گیلتاز (لنگرود) و سرکار خانم مهندس رحمانی کارشناس بخش میکروبی آزمایشگاه تخصصی ویرومد رشت قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

نویسنده متعهد می‌گردد نتایج حاصل از پژوهش مذکور را در مجله‌ی دیگری ارسال نکرده و در این راستا منافع تجاری وجود نداشته و در قبال ارائه اثر خود وجهی دریافت ننموده است

منابع

Buddrick, O., Jones, O. A., Cornell, H. J., & Small, D. M. 2014. The influence of fermentation processes and cereal grains in wholegrain bread on reducing phytate content. J. Cereal Sci. 59(1), 3-8.

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(2), 539-545.

Coda, R., Cassone, A., Rizzello, C. G., Nionelli, L., Cardinali, G., & Gobbetti, M. 2011. Antifungal activity of Wickerhamomyces anomalus and Lactobacillus plantarum during sourdough fermentation: identification of novel compounds and long-term effect during storage of wheat bread. Appl. Environ. Microbiol. 77(10), 3484-3492.

De Angelis, M., Gallo, G., Corbo, M. R., McSweeney, P. L., Faccia, M., Giovine, M., & Gobbetti, M. 2003. Phytase activity in sourdough lactic acid bacteria: purification and characterization of a phytase from Lactobacillus sanfranciscensis CB1. Int. J. Food Microbiol. 87(3), 259-270.

Ebrahimi, M., Khomeiri, M., Masoudi-Nejad, A., Sadeghi, A., Sadeghi, B., & Kashaninejad, M. 2017. Inhibitory effects of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented foods against aflatoxigenic Aspergillus spp. Comp. Clin. Path. 26, 1083-1092.

EFSA - European Food Safety Authority. 2007. Definition and description of ‘emerging risks’ within EFSA's mandate. EFSA/SC/415 Final.

EFSA - European Food Safety Authority. 2012. Panel on Biological Hazards (BIOHAZ); Scientific Opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and feed (2012 update). EFSA Journal. 10 (12), 1-84, 3020.

Essid, I., Medini, M., & Hassouna, M. 2009. Technological and safety properties of Lactobacillus plantarum strains isolated from a Tunisian traditional salted meat. Meat Sci. 81(1), 203-208.

Frontela, C., Ros, G., & Martínez, C. 2011. Phytic acid content and “in vitro” iron, calcium and zinc bioavailability in bakery products: The effect of processing. J. Cereal Sci. 54(1), 173-179.

Gupta, R., & Srivastava, S. 2014. Antifungal effect of antimicrobial peptides (AMPs LR14) derived from *Lactobacillus plantarum* strain LR/14 and their applications in prevention of grain spoilage. Food Microb. 42, 1-7.

Haug, W., & Lantzsch, H. J. 1983. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. J. Sci. Food Agric. 34(12), 1423-1426.

Herreros, M. A., Sandoval, H., González, L., Castro, J. M., Fresno, J. M., & Tornadijo, M. E. 2005. Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats’ milk cheese). Food Microb. 22(5), 455-459.

Lee, K. H., Bong, Y. J., Lee, H. A., Kim, H. Y., & Park, K. Y. 2016. Probiotic effects of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides* isolated from kimchi. J Korean Soc Food Sci Nutr. 45(1), 12-19.

Leenhardt, F., Levrat-Verny, M. A., Chanliaud, E., & Rémésy, C. 2005. Moderate decrease of pH by sourdough fermentation is sufficient to reduce phytate content of whole wheat flour through endogenous phytase activity. J Agric Food Chem. 53(1), 98-102.

Liu, X., Liu, W., Zhang, Q., Tian, F., Wang, G., Zhang, H., & Chen, W. 2013. Screening of lactobacilli with antagonistic activity against enteroinvasive Escherichia coli. Food Control. 30(2), 563-568.

Lopez, H. W., Duclos, V., Coudray, C., Krespine, V., Feillet-Coudray, C., Messager, A., & Rémésy, C. 2003. Making bread with sourdough improves mineral bioavailability from reconstituted whole wheat flour in rats. Nutrition. 19(6), 524-530.

Luz, C., Izzo, L., Graziani, G., Gaspari, A., Ritieni, A., Mañes, J., & Meca, G. 2018. Evaluation of biological and antimicrobial properties of freeze-dried whey fermented by different strains of *Lactobacillus plantarum*. Food & function. 9(7), 3688-3697.

Magnusson, J., Ström, K., Roos, S., Sjögren, J., & Schnürer, J. 2003. Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. FEMS Microb letters. 219(1), 129-135.

Nghe, D., & Nguyen, T. 2014. Characterization of antimicrobial activities of Pediococcus pentosaceus Vtcc-B-601. J. Appl. Pharm. Sci. 4(5), 061-064.

Oldak, A., Zielińska, D., Rzepkowska, A., & Kołożyn-Krajewska, D. 2017. Comparison of antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from two different kinds of regional cheeses from Poland: Oscypek and Korycinski cheese. Biomed Res. Int. 1-10.

Palacios, M. C., Haros, M., Sanz, Y., & Rosell, C. M. 2008. Selection of lactic acid bacteria with high phytate degrading activity for application in whole wheat breadmaking. LWT. 41(1), 82-92.

Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E., & Kotzekidou, P. 2003. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. Meat Sci. 65(2), 859-867.

Reale, A., Konietzny, U., Coppola, R., Sorrentino, E., & Greiner, R. 2007. The importance of lactic acid bacteria for phytate degradation during cereal dough fermentation. J. Agric. Food Chem. 55(8), 2993-2997.

Sangmanee, P., & Hongpattarakere, T. 2014). Inhibitory of multiple antifungal components produced by *Lactobacillus plantarum* K35 on growth, aflatoxin production and ultrastructure alterations of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. Food Control. 40, 224-233.

Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Raeisi, M. 2016 a. Evaluating the potential of *Lactobacillus* isolated from whole wheat sourdough in reduction of Aflatoxin B1. J. of Food Microb. 2(4), 1-14 (In Persian).

Sadeghi, A., Raeisi, M., Ebrahimi, M., Abedfar, A. 2016 b. Evaluating the Effect of Controlled Fermentation of Sourdough containing *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus Brevis* on Phytate Content in Produced Dough and Bread. J Mazandaran Univ Med Sci. 26 (141), 16-25 (In Persian).

Servin, A. L. 2004. Antagonistic activities of lactobacilli and *bifidobacteria* against microbial pathogens. FEMS Microb reviews. 28(4), 405-440.

Şimşek, Ö., Çon, A. H., & Tulumoğlu, Ş. 2006. Isolating lactic starter cultures with antimicrobial activity for sourdough processes. Food Control. 17(4), 263-270.

Suskovic, J., Kos, B., Beganović, J., Leboš Pavunc, A., Habjanič, K., & Matošić, S. 2010. Antimicrobial activity–the most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. FTB. 48(3), 296-307.

Shahrampour, D., Khomeiri, M., Kashiri, M., Razavi, S. A. 2019. Evaluation of antibacterial and antifungal activity of indigenous *Lactobacillus plantarum* strains isolated from various foods. J. of food Sci & Tech. 85 (15), 327-336 (In Persian).

Tejero-Sariñena, S., Barlow, J., Costabile, A., Gibson, G. R., & Rowland, I. 2012. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of a range of probiotics against pathogens: evidence for the effects of organic acids. Anaerobe. 18(5), 530-538.

Zago, M., Fornasari, M. E., Carminati, D., Burns, P., Suàrez, V., Vinderola, G., & Giraffa, G. 2011. Characterization and probiotic potential of Lactobacillus plantarum strains isolated from cheeses. Food Microb. 28(5), 1033-1040.

Zhang, J., Liu, W., Sun, Z., Bao, Q., Wang, F., Yu, J., & Zhang, H. 2011. Diversity of lactic acid bacteria and yeasts in traditional sourdoughs collected from western region in Inner Mongolia of China. Food Control. 22(5), 767-774.

Food Engineering Research/Vol.24/No.76/ Spring& Summer/ 2024/P: 115-128

Journal Home page: https://fooder.areeo.ac.ir/

Original Research

Investigation of the antibacterial and antifungal performance of *P. pentosaceus* and *Lpb. plantarum* strains isolated from RHFS and the effect of sourdough fermentation containing them on the amount of phytic acid in semi pan bread.

A. Abedfar *

Corresponding Author: Department of Food Science & Technology, University of Guilan, Rasht, Iran.
Email: A.abedfar@guilan.ac.ir
Received:9 May 2024 **Accepted**: 20 July 2024
http://doi: 10.22092/fooder.2024.365712.1390

Abstract

Fermentation with the potential sourdough function of Rice Husk Flour Sourdough (RHFS) with antimicrobial properties is increasing day by day in new fermentation technologies to control the amount of phytic acid. The aim of this research is to investigate the effect of antimicrobial properties of two dominant lactic acid strains isolated from traditional sourdough on two major pathogens (*Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*) and two food spoilage moulds, specifically bakery products (*Aspergillus niger* and *Neurospora sitophila*) was associated with the agar well diffusion method and spore staining, respectively. In addition, the content of phytic acid in the structure of pan bread was evaluated by the absorption method based on the determination of the amount of iron. The results showed that there was no significant difference between the antimicrobial activity of the active culture suspension in the logarithmic phase and the resting phase in the well diffusion method, and the highest aura of non-growth related to *E. coli* bacteria was observed with the values (13.22±1.13). Furthermore, *Lactiplantibacillus plantarum* species showed a much higher antifungal activity compared to *Pediococcus pentosaceus* against both moulds, with *A. niger* mold being more sensitive to the metabolites produced by *Lpb. plantarum* species compared to *N. sitophila*. The content of phytic acid in the controlled fermentation with each of the starters had a downward trend, among which the effect of the Pediococcus *pentosaceus* starter in reducing the amount of phytic acid was much higher than that of the *Lactiplantibacillus plantarum* species, which actually had the effect of increasing the acidity in the controlled fermentation. It caused a decrease in the content of phytic acid with the most antimicrobial properties and lack of growth.

Keyword: Rice husk flour sourdough (RHFS), antibacterial property, antifungal property, phytic acid content

© 2023,The Author(s). Published by Agricultural Engineering Research Institute. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).