مهندسی بیوسیستم ایران، دوره ۴۵، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۳۹۳ (ص ۳۰-۲۳)

توانایی تولید اسید و تحمل به اسید و نمک‌های صفراوی در لاکتوباسیل‌های جداشده از خمیرترش‌های سنتی

اکبر بهرامی[۱]، سیدهادی پیغمبردوست[۲*]، ابوالفضل گلشن تفتی[۳]

۱. کارشناس ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه تبریز

۲. دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه تبریز

۳. استادیار بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمان، کرمان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۶/۲۷- تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۷/۱۶)

چکیده

بررسی ویژگی‌های بیوشیمیایی و فعالیت متابولیکی باکتری‌های لاکتوباسیل به‌منظور انتخاب آن‌ها به‌عنوان کشت‌های آغازگر در تولید نان ضروری است. در این تحقیق، ویژگی‌های بیوشیمیایی، تولید اسیدی، و خواص پروبیوتیکی (مقاومت به اسید و نمک‌های صفراوی) لاکتوباسیل‌های جداشده از خمیرترش‌های سنتی (پلانتاروم، کورواتوس، و پارالیمنتاریوس) ارزیابی شد. هر سه سویه لاکتوباسیل توانایی رشد در دمای ۱۵ درجه سلسیوس و غلظت‌های گوناگون نمک (۲، ۴، و ۶/۵ درصد) و pH (۴/۴ و ۹/۶) را داشتند. لاکتوباسیلوس پلانتاروم در دمای ۴۵ درجه سلسیوس نیز رشد کرد. سویه‌های لاکتوباسیل توانستند طیف وسیعی از کربوهیدرات‌ها را تخمیر کنند. لاکتوباسیل‌های پلانتاروم و کورواتوس قندهای (پنتوز، زیلوز، آرابینوز) را نیز تخمیر کردند. لاکتوباسیلوس کورواتوس و لاکتوباسیلوس پارالیمنتاریوس توانایی تخمیر قند رامنوز را نداشتند. لاکتوباسیل‌های پلانتاروم، کورواتوس، و پارالیمنتاریوس خاصیت اسیدی‌کردن مناسبی داشتند و pH محیط را بعد از ۹ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به ۴/۹-۴/۵ کاهش دادند. آزمون‌های تحمل به اسید و نمک‌های صفراوی نشان داد که لاکتوباسیل‌های پلانتاروم و پارالیمنتاریوس پتانسیل پروبیوتیکی دارند.

کلیدواژگان: اسیدی‌کردن، تخمیر قندی، مقاومت اسیدی، مقاومت صفراوی.

مقدمه

باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌دلیل داشتن تنوعی از ویژگی‌های متابولیکی و ایمن‌بودن، کاربردهای صنعتی گسترده‌ای دارند. این باکتری‌ها در ایجاد طعم و مزهٔ مطلوب، بافت مناسب، و افزایش زمان ماندگاری فراورده‌های تخمیری (ماست، پنیر، و نان‌های خمیرترشی) نقش دارند (Temmerman *et al*., 2004). باکتری‌های اسیدلاکتیک در نحوهٔ متابولیسم کربوهیدرات‌ها بسیار متنوع عمل می‌کنند، ولی عمدتاً به دو گروه جورتخمیر و ناجورتخمیر طبقه‌بندی می‌شوند. متابولیسم کربوهیدرات‌ها برحسب گونه و حتی سویه باکتری، نوع قند، و شرایط فرایند متفاوت است (Won *et al*., 2008). باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌دلیل داشتن خصوصیت اسیدی‌کردن، فعالیت آمیلولیتیکی و پروتئولیتیکی، خواص ضد میکروبی، و تولید ترکیبات فرّار، در افزایش زمان ماندگاری و ایجاد عطر و طعم در نان نقش دارند (Rehman *et al*., 2007). اسیدی‌شدن خمیر به‌دلیل تولید اسیدهای آلی (اسیدلاکتیک، اسیداستیک) فعالیت متابولیکی مهمی در تولید نان به‌شمار می‌آید. اسیدهای آلی که در فرایند تخمیر خمیرترش تولید می‌شوند، در بهبود ویژگی‌های تغذیه‌ای نشاسته و کاهش میزان هضم و جذب آن نقش دارند. اسیدی‌شدن خمیر خواص تغذیه‌ای نان را به علت فعال‌کردن آنزیم فیتاز بهبود می‌دهد (Zotta *et al*., 2008). اسیدهای استیک و لاکتیک روی عطر و طعم نان نیز اثر دارند. به‌هرحال کاهش میزان pH در فرایند تخمیر خمیرترش در جلوگیری از فساد طنابی در نان (Pepe *et al*., 2004) و بهبود خواص حسی و رئولوژیکی نان مؤثر است (Arendt *et al*., 2007).

گونه‌های زیادی از باکتری‌های اسیدلاکتیک جداسازی شده‌اند که عمدتاً از جنس لاکتوباسیل هستند (Clarke & Arendet, 2005). لاکتوباسیل‌ها باکتری‌های میله‌ای شکل، غیرمتحرک، غیر اسپورزا، گرم مثبت، و کاتالاز منفی به‌شمار می‌آیند که معمولاً تحت شرایط میکروآئروفیل تا حد به‌شدت غیرهوازی رشد می‌کنند. باکتری‌های لاکتوباسیل از نظر مورفولوژیکی متفاوت‌اند و ممکن است میله‌ای بلند و مستقیم یا جزئی هلالی یا باسیل‌های کروی باشند. برای کاهش تنوع و بی‌ثباتی خمیرترش، استفاده از کشت‌های آغازگر برای تولید

* نویسنده مسئول: peighambardoust@tabrizu.ac.ir

خمیرترش گسترش پیدا کرده است. امروزه از طریق آماده‌سازی تجاری سویه‌های باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌صورت تک‌سویه یا مخلوطی از چندین‌سویه می‌توان نانی با استاندارد بالا و کیفیت ثابت تولید کرد (Hammes , 1990). خصوصیات متابولیکی باکتری‌های اسیدلاکتیک موجود در خمیرترش مخصوصاً خواص اسیدی‌کردن (اسیدیته کل تیتراسیون‌پذیر، pH، تولید اسیدهای استیک و لاکتیک) و نیز داشتن اطلاعاتی در زمینه ویژگی‌های بیوشیمیایی برای انتخاب این باکتری‌ها به‌عنوان کشت‌های آغازگر اهمیت خاصی دارد (Collar, 1996; Corsetti *et al*., 1998; Hammes & Ganzle, 1998).

باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌عنوان پروبیوتیک نیز شناخته شده‌اند که در جلوگیری از عفونت‌های گوارشی و کاهش اسهال نقش دارند (Adnan & Tan, 2006). اکثر باکتری‌های پروبیوتیک دو جنس لاکتوباسیل و بیفیدیوباکتریوم هستند. البته گونه‌هایی از جنس لاکتوکوکوس، انتروکوکوس، پروپیونی‌باکتریوم، و ساکارومایسس نیز به عنوان میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک شناخته شده‌اند (Won *et al*., 2008). مقاومت در برابر اسید و نمک‌های صفراوی از فاکتورهای مهم در انتخاب پروبیوتیک‌ها به‌شمار می‌آیند. مقاومت به اسید برای زنده‌ماندن باکتری هنگام عبور از معده و نیز مقاومت به نمک‌های صفراوی برای رشد و بقای باکتری در رودهٔ کوچک ضروری است (Conway *et al*., 1987; Morelli, 2000; Fernandez *et al*., 2003; Bezkoravainy, 2001). در خصوص خواص پروبیوتیکی لاکتوباسیل‌های جداسازی‌شده از منابع گوناگون، مطالعات گسترده‌ای در داخل و خارج از کشور صورت گرفته است که می‌توان به بررسی توانایی کلونیزاسیون ۷سویه از لاکتوباسیل جداشده از پنیرهای محلی سمنان، بابل، و قم (Heidary Nasrabadi, 2009) و خواص پروبیوتیکی لاکتوباسیل‌های جداشده از ماست محلی در بنگلادش (Hoque *et al*., 2010) اشاره کرد. Klayraung *et al*. (2008) خصوصیات تحمل به اسید و نمک‌های صفراوی لاکتوباسیل‌های جداشده از ۴ فراوردهٔ تخمیری در تایلند را بررسی کردند. در این مطالعه سه سویه از لاکتوباسیلوس فرمنتوم، زنده‌مانی بالایی را تحت تنش‌های اسیدی و نمک‌های صفراوی نشان دادند.

در مطالعهٔ اخیر ویژگی‌های بیوشیمیایی و خصوصیات تحمل به اسید و نمک‌های صفراوی در لاکتوباسیل‌های پلانتاروم، کورواتوس، و پارالیمنتاریوس بررسی شد. این لاکتوباسیل‌ها از مهم‌ترین سویه‌های لاکتوباسیل جداشده از خمیرترش‌های سنتی آذربایجان شرقی بودند. مطالعهٔ خصوصیات لاکتوباسیل‌های مذکور امکان استفاده از آن‌ها را به‌عنوان کشت‌های آغازگر در تولید فراورده‌های نانوایی عملگرا و طبیعی فراهم می‌سازد.

مواد و روش‌ها

سویه‌های باکتریایی و کشت میکروبی

در این پژوهش، لاکتوباسیل‌های پلانتاروم، کورواتوس، و پارالیمنتاریوس که طی مطالعات قبلی از خمیرترش‌های سنتی جداسازی شده‌اند (Golshan Tafti, 2012)، بررسی شدند. لاکتوباسیل‌ها قبل از انجام آزمون‌ها مجدداً در محیط مایع MRS (de Man Rogosa Sharpe, Merck) تحت شرایط میکروآئروفیل و در دمای ۳۰ درجهٔ سلسیوس، ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند.

ارزیابی ویژگی‌های بیوشیمیایی

ویژگی‌های بیوشیمیایی لاکتوباسیل‌ها با بررسی امکان رشد در دماهای گوناگون (دمای ۱۵ و ۴۵ درجهٔ سانتی‌گراد در محیط کشت MRS broth به‌ترتیب برای ۷ روز و ۴۸ ساعت)، رشد در حضور غلظت‌های گوناگون نمک‌سدیم (۲، ۴، و ۶/۵ درصد)، رشد در محیط‌ها با pH متفاوت (۴/۴ و ۹/۶) و نیز الگوی تخمیر کربوهیدرات‌ها ارزیابی شد. الگوی تخمیر کربوهیدرات‌ها در محیط کشت MRS مایع حاوی معرف فنل‌رد، یک درصد از قندهای گوناگون (گلوکز، لاکتوز، ملیبیوز، آرابینوز، فروکتوز، سلوبیوز، ساکارز، تری‌هالوز، ملزیتوز، رامنوز، رافینوز، ریبوز، مانوز، مانیتول، زایلوز، گالاکتوز، و سالیسین) و میزان تلقیح ۵۰ میکرولیتر تعیین گردید. نتایج براساس تغییر رنگ معرف فنل‌رد از قرمز به زرد در اثر تولید اسید ارزیابی گردید (Ricciardi *et al*., 2005).

توانایی تولید اسید

برای بررسی توانایی تولید اسید به‌وسیلهٔ باکتری از کشت فعال آن استفاده شد. کشت حاصل در دانسیتهٔ نوری ۶۵۰ (۱ = OD_{650}) استاندارد و به میزان ۵ درصد حجمی به محیط مایع MRS اضافه شد (Zotta *et al*., 2008). میزان pH و اسیدیتهٔ تیتراسیون‌پذیر (TTA) در زمان‌های ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲، و ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد و تغییرات اسیدیته بر حسب زمان به صورت منحنی رسم گردید.

بررسی خواص پروبیوتیکی

بررسی میزان تحمل به اسید در لاکتوباسیل‌ها

به‌منظور تعیین مقاومت لاکتوباسیل‌ها به شرایط اسیدی از کشت ۲۴ساعتهٔ آن‌ها استفاده شد. یک میلی‌لیتر از کشت فعال باکتریایی به ۹ میلی‌لیتر PBS (Phosphate- buffered saline, Oxoid) با pH برابر ۲/۵ منتقل و به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۰ درجهٔ سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. درصد بقا از طریق شمارش باکتری‌ها در زمان صفر (لحظهٔ تلقیح) و در پایان گرمخانه‌گذاری ۳ساعته تعیین گردید (Erkkilä & Petäjä, 2000).

بررسی میزان تحمل به نمک‌های صفراوی

از کشت فعال هریک از لاکتوباسیل‌ها به میزان یک درصد به محیط MRS broth (به‌عنوان شاهد) و نیز MRS broth حاوی ۰/۳ درصد نمک صفراوی (Oxgal, Difco, Detroit, USA) اضافه شد و در دمای ۳۰ درجهٔ سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردید. رشد باکتری هر نیم‌ساعت یک‌بار با اندازه‌گیری جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر و برای مدت ۷ ساعت تعیین و منحنی جذب براساس زمان گرمخانه‌گذاری، رسم گردید. تفاوت زمانی بر حسب دقیقه بین افزایش کدورت ۰/۳ واحدی در دو محیط مذکور به‌عنوان زمان تأخیر رشد در نظر گرفته شد (Gilliland & Walker, 1990).

در این پژوهش، آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد و داده‌ها با طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل آماری شدند. برای محاسبهٔ میانگین داده‌ها و رسم نمودارها از نرم‌افزار EXCEL استفاده گردید.

نتایج و بحث

ویژگی‌های بیوشیمیایی سویه‌های لاکتوباسیل

ویژگی‌های بیوشیمیایی لاکتوباسیل‌های پلانتاروم، کورواتوس، و پارالیمنتاریوس جداشده از خمیرترش‌های سنتی در جدول ۱ آورده شده است. همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود هر سه لاکتوباسیل توانایی رشد در غلظت‌های گوناگون نمک (۲، ۴، و ۶/۵ درصد) و pH های برابر ۴/۴ و ۹/۶ را داشتند. لاکتوباسیل‌های کورواتوس و پارالیمنتاریوس نتوانستند در دمای ۴۵ درجهٔ سلسیوس رشد کنند، درحالی‌که سویهٔ لاکتوباسیلوس پلانتاروم در این دما رشد کرد.

به‌هرحال باکتری‌های لاکتوباسیل در برابر شرایط اسیدی مقاوم بودند (Dekker, 2004) و گونه‌هایی نظیر لاکتوباسیلوس پلانتاروم نیز مقاومت بالایی نسبت به نمک داشتند (Vaughn, 1985; Montan *et al.*, 1992; Samelis *et al.*, 1994). رشد گونه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم در دمای ۴۵ درجهٔ سلسیوس را Weiss & Kandler (1986) گزارش کرده‌اند. نتایج آزمون قندها برای سویه‌های لاکتوباسیل نیز در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱. ویژگی‌های بیوشیمیایی لاکتوباسیل‌های جداشده از خمیرترش‌های سنتی

ویژگی*	لاکتوباسیلوس کورواتوس	لاکتوباسیلوس پارالیمنتاریوس	لاکتوباسیلوس پلانتاروم
رشد در غلظت ۲، ۴، و ۶/۵ درصد نمک	+	+	+
رشد در pH های برابر ۴/۴ و ۹/۶	+	+	+
رشد در دمای ۱۵°C	+	+	+
رشد در دمای ۴۵°C	−	−	+
تولید اسید از گلوکز	+	+	+
تولید اسید از لاکتوز	+	+	+
تولید اسید از ملیبیوز	+	+	+
تولید اسید از آرابینوز	+	+	+
تولید اسید از فروکتوز	+	+	+
تولید اسید از سلوبیوز	+	+	+
تولید اسید از ساکارز	+	+	+
تولید اسید از تری‌هالوز	+	+	+
تولید اسید از ملزیتوز	+	+	+
تولید اسید از سالیسین	+	+	+
تولید اسید از رامنوز	−	−	+
تولید اسید از رافینوز	+	+	+
تولید اسید از ریبوز	+	+	+
تولید اسید از مانوز	+	+	+
تولید اسید از مانیتول	+	+	+
تولید اسید از زیلوز	+	−	+
تولید اسید از گالاکتوز	+	+	+

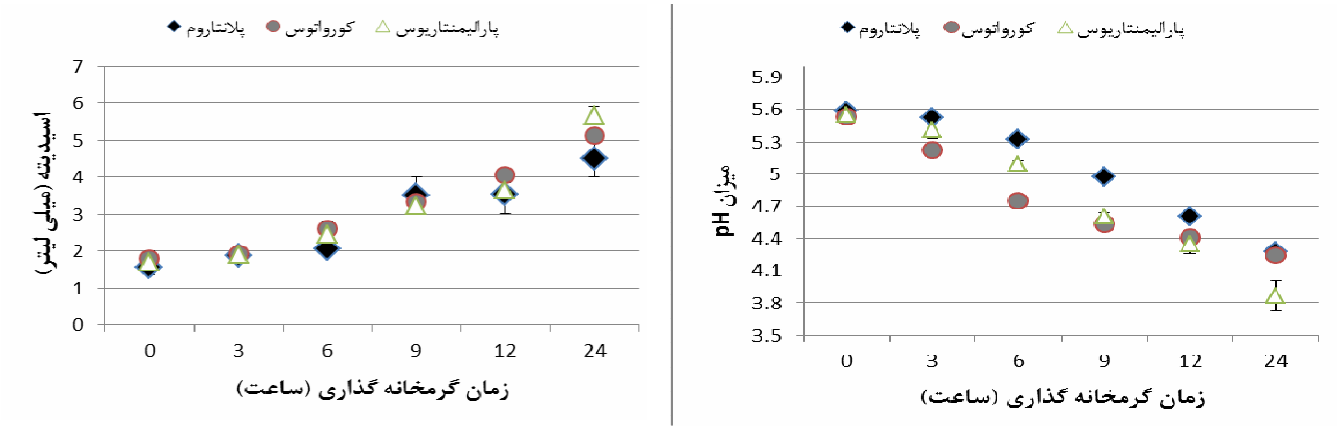
* ویژگی‌ها در سه تکرار بررسی شد * + : رشد ، − : عدم رشد

لاکتوباسیل‌های پلانتاروم، کورواتوس، و پارالیمنتاریوس به جز در زمینهٔ قندهای رامنوز و زایلوز الگوی مشابهی از تخمیر کربوهیدرات‌ها نشان دادند. سویه‌های لاکتوباسیلوس، کورواتوس، و پارالیمنتاریوس توانایی تخمیر قند رامنوز را نداشتند و نیز قند زایلوز با لاکتوباسیلوس پارالیمنتاریوس تخمیر نشد. Schillinger & luecke (1986) گزارش کردند که گونه‌هایی ازلاکتوباسیلوس پلانتاروم توانستند قندهای مانیتول، ریبوز، و رافینوز را تخمیر کنند. Cai *et al.* (1999) گونهٔ جدید لاکتوباسیلوس پارالیمنتاریوس(Lactobacillus Paralimentarius sp. Nov) را در خمیرترش شناسایی کردند. بررسی ویژگی‌های بیوشیمیایی نشان داد که این گونه توانست در pH برابر ۴/۵ و غلظت ۶/۵ درصد نمک رشد کند. همچنین لاکتوباسیلوس مذکور نتوانست ال‌زایلوز، آدونیتول، و رامنوز را تخمیر کند. به‌هرحال مخمرها و

باکتری‌های لاکتوباسیل از میکروارگانیسم‌های کلیدی در خمیرترش هستند و اثر متقابل آن‌ها برای فعالیت متابولیکی خمیرترش اهمیت دارد. توانایی یا عدم توانایی تخمیر قندها به‌وسیلهٔ مخمرها و لاکتوباسیل‌ها در رشد و فعالیت آن‌ها و کیفیت نان‌های خمیرترشی نقش دارد. برای مثال همراه‌بودن لاکتوباسیل‌های پلانتاروم و سانفرانسینسس با مخمر مالتوز منفی اگزیکوس (S. exicus) در سیستم خمیرترش باعث می‌شود که رقابتی بین لاکتوباسیل و مخمر در مصرف قند مالتوز نباشد و راندمان سلول باکتری افزایش یابد (Katina, 2005). توانایی لاکتوباسیل‌ها در تخمیر دامنهٔ وسیعی از کربوهیدرات‌های آرد، رقابت متابولیکی آن‌ها را با مخمر کاهش می‌دهد و نتایج تکنولوژیکی مهمی را در طول فرایند تخمیر خمیرترش در بر خواهد داشت.

تولید اسید

روند تغییرات در میزان pH و اسیدیتهٔ تیتراسیون‌پذیر (TTA) محیط‌های کشت MRS broth حاوی سویه‌های لاکتوباسیل در طول ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰ درجهٔ سلسیوس در شکل ۱ نشان داده شده است. میزان pH محیط‌های کشت حاوی سویه‌های لاکتوباسیل در طول زمان گرمخانه‌گذاری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در هنگام تلقیح (زمان صفر) میزان pH محیط‌های کشت حاوی سویه‌های لاکتوباسیل در حدود ۵/۵ و اسیدیتهٔ تیتراسیون‌پذیر در محدودهٔ ۱/۶-۱/۸ میلی‌لیتر بود. محیط کشت حاوی باکتری لاکتوباسیلوس کورواتوس در زمان‌های گرمخانه‌گذاری ۳، ۶، و ۹ ساعت، کمترین میزان pH را داشت. باکتری لاکتوباسیلوس کورواتوس میزان pH محیط کشت را بعد از ۶ ساعت گرمخانه‌گذاری به‌طور معنی‌داری (pH برابر ۴/۷۵) کاهش داد. باکتری‌های لاکتوباسیلوس کورواتوس و پلانتاروم بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری، سطح مشابهی از تولید اسید را نشان دادند (pH برابر ۴/۲۵–۴/۲۸) درحالی‌که لاکتوباسیلوس پارالیمنتاریوس توانست بیشترین کاهش در میزان pH (۳/۸۶) را بعد از ۲۴ ساعت داشته باشد (شکل ۱). میزان اسیدیتهٔ تیتراسیون‌پذیر محیط‌های کشت حاوی لاکتوباسیل‌ها با گذشت زمان گرمخانه‌گذاری از ۱/۶–۱/۸ میلی‌لیتر به ۴/۵–۵/۶ میلی‌لیتر افزایش یافت. محیط‌های کشت حاوی سویه‌های لاکتوباسیل پس از ۳ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰ درجهٔ سلسیوس از نظر میزان اسیدیتهٔ تیتراسیون‌پذیر اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشت و میزان TTA آن‌ها در حدود ۱/۹ گزارش گردید. لاکتوباسیل‌های کورواتوس و پارالیمنتاریوس توانایی تولید بیشترین میزان اسید را پس از ۶ ساعت گرمخانه‌گذاری داشتند (شکل ۱).



(الف) (ب)

شکل ۱. الف: تغییرات میزان pH، ب: تغییرات اسیدیتهٔ تیتراسیون‌پذیر (TTA) محیط کشت حاوی سویه‌های لاکتوباسیلوس در طول ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰°C. بازه‌های خطا نشان‌دهندهٔ انحراف معیار با احتمال ۹۵ درصد است.

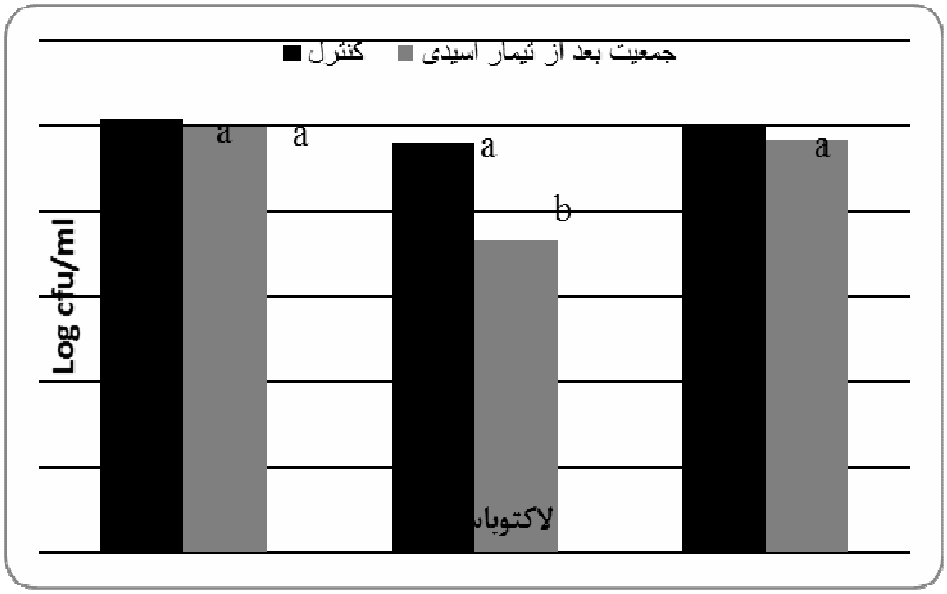
به‌هرحال باکتری‌های موجود در خمیرترش در طول فرایند تخمیر، با استفاده از پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌های آرد، به‌عنوان منابع نیتروژن و کربن، تولید اسیدهای آلی می‌کنند که به کاهش میزان pH و افزایش اسیدیتهٔ محیط می‌انجامد (Clarke, 2003; Katina, 2004). مقدار اسیدهای آلی و ترکیبات فرّار تولیدشده در طول فرایند تخمیر به پارامترهای فرایند (درجهٔ حرارت و زمان تخمیر) و نوع باکتری‌های اسیدلاکتیک بستگی دارد (Katina, 2004). براساس گزارش

Zotta *et al*. (2008)، لاکتوباسیل‌های ناجور تخمیر اجباری و اختیاری توانستند باعث کاهش عمدهٔ pH پس از ۶ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰ درجهٔ سلسیوس شوند. گزارش شده است که باکتری‌های هلوتیکوس، کازئی، و پاراکازئی نیز بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری میزان درخور توجهی از pH کاهش دادند (Piraino *et al*., 2008).

تحمل اسید و نمک‌های صفراوی

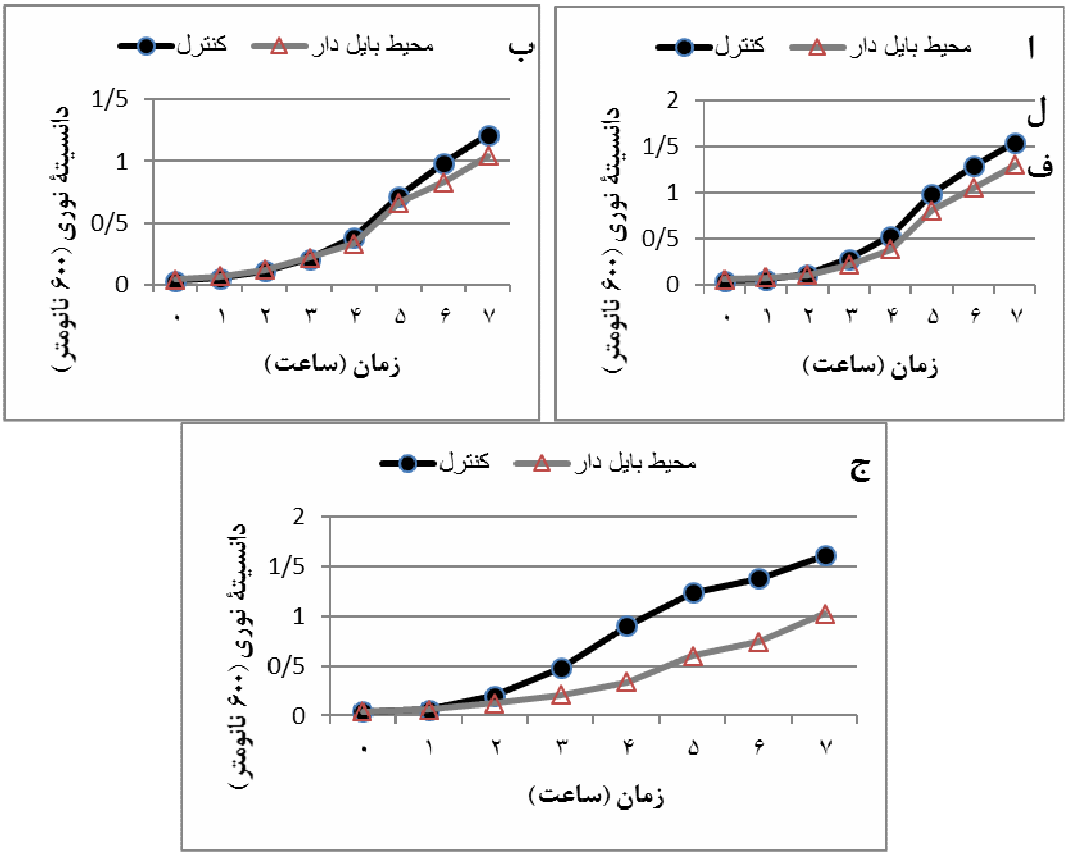
در این پژوهش باکتری‌های لاکتوباسیل از نظر ویژگی‌های پروبیوتیکی نیز ارزیابی شدند. میزان مقاومت به اسید لاکتوباسیل‌های پلانتاروم، کورواتوس، و پارالیمنتاریوس در شکل ۲ نشان داده شده است. لاکتوباسیل‌های پارالیمنتاریوس و پلانتاروم به تیمار اسیدی مقاوم بودند و کاهش جمعیتی نشان ندادند، درحالی‌که لاکتوباسیلوس کورواتوس دو لگاریتم کاهش جمعیت نشان داد. باکتری‌های پروبیوتیک باید توانایی زنده‌ماندن در دستگاه گوارش را برای مدت ۴ ساعت یا بیشتر داشته باشند. میزان زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در رودهٔ کوچک به مقاومت آن‌ها در برابر نمک‌های صفراوی بستگی دارد (Brizuela *et al*., 2001). بنابراین میزان تحمل به اسید و نمک‌های صفراوی از ویژگی‌های با اهمیت در انتخاب باکتری‌ها به‌عنوان پروبیوتیک است. خصوصیت مقاومت به اسید در لاکتوباسیل‌ها علاوه بر پایداری‌شان در معده، در بقای آن‌ها در غذاهای اسیدی نیز اهمیت دارد (Minelli *et al*., 2004). لاکتوباسیل‌ها در محیط کشت مایع بدون نمک‌های صفراوی و دارای ۰/۳ درصد نمک‌های صفراوی کشت داده شدند و توانایی رشد آن‌ها با اندازه‌گیری جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر بررسی شد. نتایج تأثیر نمک‌های صفراوی روی رشد لاکتوباسیل‌ها در شکل ۳ نشان داده شده است. زمان تأخیر رشد لاکتوباسیل‌های پلانتاروم، پارالیمنتاریوس، و کورواتوس به‌ترتیب ۱۰ دقیقه، ۳۰ دقیقه، و ۸۵ دقیقه بود. بنابراین لاکتوباسیل‌های پلانتاروم، پارالیمنتاریوس، و کورواتوس به‌ترتیب در برابر نمک‌های صفراوی مقاوم، متحمل، و غیر مقاوم بودند. برخی از سویه‌های لاکتوباسیل نسبت به نمک‌های صفراوی مقاوم‌اند که دلیل آن وجود آنزیم هیدرولاز نمک صفراوی است (Boonkumklao *et al*., 2006).

اکثر پروبیوتیک‌ها در گروه باکتری‌های اسیدلاکتیک قرار دارند. به دلیل اینکه باکتری‌های اسیدلاکتیک از میکروفلورهای طبیعی تقریباً همهٔ ارگانیسم‌ها هستند، به‌ندرت پاتوژن‌اند، و خواص آنتاگونیست در برابر پاتوژن‌ها دارند (Brizuela *et al*., 2001). سویه‌هایی از لاکتوباسیلوس پلانتاروم گزارش شده است که تحمل بالایی در مقایسه با اسید و نمک‌های صفراوی دارند. در حال حاضر تعدادی از سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم در بازار به‌عنوان پروبیوتیک وجود دارند (De Vries *et al*., 2005).



شکل ۲. میزان مقاومت به اسید در لاکتوباسیل‌های جداشده از خمیرترش‌های سنتی.

ستون‌های با حروف مشابه حداقل در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.



شکل ۳ . تأثیر نمک‌های صفراوی روی رشد لاکتوباسیل‌های جداشده از خمیرترش‌های سنتی. الف: پارالیمنتاریوس، ب: پلانتاروم، ج: کورواتوس

نتیجه‌گیری کلی

لاکتوباسیل‌های پلانتاروم، کورواتوس، و پارالیمنتاریوس جداشده از خمیرترش‌های سنتی توانستند دامنهٔ وسیعی از کربوهیدرات‌ها را تخمیر کنند. هر سه سویهٔ لاکتوباسیلوس، توانایی تولید اسید را داشتند و بنابراین می‌توانند در اسیدی‌کردن خمیرترش نقش مهمی داشته باشند. بررسی دو ویژگی مهم پروبیوتیکی (مقاومت به اسید و نمک‌های صفراوی) در لاکتوباسیل‌ها نشان داد که لاکتوباسیل‌های پلانتاروم و پارالیمنتاریوس پتانسیل پروبیوتیکی دارند.

REFERENCES

Adnan, A. F. M. and Tan, I. K. P. (2006). Isolation of lactic acid bacteria from Malaysian foods and assessment of the isolates for industrial potential. *Bioresource Technology*, 98, 1380-1385.

Bezkorovainy, A. (2001). Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. The American *Journal of Clinical Nutrition*, 73, 399–405.

Brizuela, M. A., Serrano, P. and Perez, Y. (2001). Studies on probiotics properties of two lactobacillus strains. *Brazilian Archires of Biology and Technology*, 44, 95-99.

Boonkumklao, P., Kongthong, P. and Assavanig, A. (2006). Acid and bile tolerance of lactobacillus thermotolerans, a novel species isolated from chicken feces. *Kasetsart Journal*, 40, 13-17.

Cai, Y., Okada, H., Mori, H., Benno, Y. and Nakase, T. (1999). Lactobacillus paralimentarius sp. Nov, isolated from sourdough. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49, 1451-1455.

Clarke, C. I. (2003) *Influence of sourdough and lactic acid bacteria on the quality of cereal products, Thesis of Doctor,* Department of Food and Nutritional Sciences, The National University of Ireland, University College, Cork.

Clarke, C. I. and Arendt, E. K. (2005). A review of the application of sourdough technology to wheat breads. Advances in Food and Nutrition Research, 49, 138-161.

Collar, C. (1996). Biochemical and technological assessment of the metabolism of pure and mixed cultures of yeast and lactic acid bacteria in breadmaking applications. *Food Science and Technology International*, 2, 349–367.

Conway, P. L., Gorbach, S. L. and Goldin, B. R. (1987). Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells. *Journal of Dairy Science*, 70, 1–12.

Corsetti, A., Gobbetti, M., Balestrieri, F., Paoletti, F. and Rossi, J. (1998). Sourdough lactic acid bacteria effects on bread firmness and staling. *Journal of Food Science*, 63, 347–351.

De Vries, M. C., Vaughan, E. E., Kleerebezem, M. and Deros, W. M. (2005). Lactobacillus plantarum: survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract. *International Dairy Journal*, 16, 1018-1028.

Erkkilä, S. and Petäjä, E. (2000). Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use. *Meat Science*, 55, 297-300.

Fernandez, M. F., Boris, S. and Barbes, S. (2003). Probiotic properties of human lactobacilli strains to be used in the gastrointestinal tract. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 449–455.

Gilliland, S. E. and Walker, D. K. (1990). Factors to consider when selecting a culture of Lactobacillus acidophilus as a dietary adjunct to produce a hypocholesterolemic effect in humans. *Journal of Dairy Science*, 73, 905–911.

Golshan Tafti, A. (2012). *Application of fresh and dried sourdough prepared from dominant lactobacilli isolated from local East-Azarbaijan bread doughs in improving bread quality*. Thesis of Doctor of Philosophy, Tabriz University. (In Farsi)

Hammes, W. P. (1990). Bacterial starter cultures in food production. *Food Biotechnology*, 4, 383-397.

Hammes, W. P. and Ganzle, M. G. (1998). *Sourdough breads and related products*. In: B. J. B. Woods (Ed.), Microbiology of fermented foods, 2, 199–216. London: Blackie Academic/Professional.

Haydari Nasrabadi, M., Tajabadi Ebrahimi, M. and Bahrami, H. (2009). Evaluation of colonization of Lactobacilli isolated from local cheese and adhesion to human enterocyte- like Caco-2 cells. *Journal of Animal Biology*, 1, 27-31. (In Farsi).

Hoque, M.Z., Akter, F., Hossain, K.M., Rahman, M.S.M., Billah, M.M. and Islam, K.M.D. (2010). Isolation, identification and analysis of probiotic properties of Lactobacillus Spp. from selective regional yoghurts. *World Journal of Dairy & Food Science* , 5, 39-46.

Kandler, O. and Weiss, N. (1986). Regular, nonsporing Gram-positive rods. In: Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E., Holt, J.C. (Eds.), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2, Willians and Wilkins, Baltimore, MD, pp. 1208–1234.

Katina, K. (2005). Sourdough: a tool for the improved flavour, texture and shelf-life of wheat bread. VTT Biotechnology.

Katina, K., Poutanen, K. and Karin, A. (2004). Influence and interactions of processing conditions and starter culture on formation of acids, volatile compounds, and amino acids in wheat sourdoughs. Cereal Chemistry, 81, 598-610.

Klayraung, S., Viernstein, H., Sirithunyalug, J. and Okonogi, S. (2008). Probiotic properties of Lactobacilli isolated from Thai traditional food. *Sci. Pharm*, 76, 485-503.

Minelli, E. B., Benini, A., Marzotto, M., Sbarbati, A., Ruzzenente, O. and Ferrario, R. (2004). Assessment of novel probiotic Lactobacillus casei strains for the production of functional dairy foods. *International Dairy Journal,* 14, 723.

Montano, A., De Castro, A. and Rejano, L. (1992). Transformaciones bioquimicas durante la fermentacio´n de productos vegetales. *Grasas Aceites*, 43, 352–360.

Morelli, L. (2000). In vitro selection of probiotic lactobacilli: Acritical appraisal. *Current Issues Intestinal Microbiology*, 2, 59-67.

Pepe, O., Blaiotta, 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.

Piraino, P., Zotta, T., Ricciardi, A. and Parente, E. (2005). Discrimination of commercial Caciocavallo cheeses on the basis of the diversity of lactic microflora and primary proteolysis. *International Dairy Journal*, 15, 1138–1149.

Rehman, S. U., Nawaz, H., Hussain, S., Mushtaq Ahmad, M., Murtaza, M. and Saeed Ahmad, M. (2007). Effect of sourdough bacteria on the quality and shelf life of bread. *Pakistan Journal of Nutrition*, 6, 562-565.

Ricciardi, A., Parente, E., Piraino, P., Paraggio, M. and Romano, P. (2005). Phenotypic characterization of lactic acid bacteria from sordoughs for Altamura bread produced in Apulia (Southern Italy). *International Journal of Food Microbiology*, 98, 6372.

Salminen, S., Wright, A. V. and Ouwehand, A. (2004). Lactic acid bacteria: Microbiology and Functional aspects. Marcel Dekker, Inc, New York.

Samelis, J., Maurogenakis, F. and Metaxopoulos, J. (1994). Characterisation of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami. *International Journal of Food Microbiology*, 23, 179–196.

Schillinger, U. and Luecke, K. F. (1987). Identification of lactobacilli from meat and meat products. Food Microbiology, 4, 199–208.

Temmerman, R., Huys, G. and Swings, J. (2004). Identification of lactic acid bacteria: Culture dependent and culture independent methods. *Trends in Food Science and Technology*, 15, 384-359.

Vaughn, R. H. (1985). The microbiology of vegetable fermentations. In: Wood, B.J.B. (Ed.), Microbiology of Fermented Foods, Vol. 1, *Elsevier*, Amsterdam, pp. 49–109.

Won, J. S., Kim. W. J., Lee, K. G., Kim, C. W. and Noh, W. S. (2008). Fermentation characteristics of exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria from sourdough and assessment of the

isolates for industrial potential. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18, 1266–1273.

Zotta, T., Piraino, P. and Parente, E. (2008). Characterization of lactic acid bacteria isolated from sourdoughs for Corneto, a traditional bread produced in Basilicata (Southern Italy). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 1785-1795.