(مقاله پژوهشی)

تولید پودر تخمیری و پروبیوتیک غیرلبنی برپایه جنین‌گندم با به‌کارگیری باکتری‌های لاکتیکی اسیدوفیلوس و پلانتاروم

احسان دیوان خسروشاهی[۱]، سید هادی رضوی[۲*]، حسین کیانی[۳]، علی آقاخانی[۳]

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۲-استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران ، تهران، ایران.

۳-استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران ، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۲۸ تاریخ پذیرش:۱۳۹۹/۰۴/۰۱

چکیده

تقاضای روزافزون برای محصولات پروبیوتیکی به دلیل تغییر سبک زندگی و افزایش آگاهی عمومی درباره اثرات مفید پروبیوتیک‌ها بر سلامت انسان، بسیاری از محققین را ترغیب به تولید محصولات جدید پروبیوتیکی کرده است. در این پژوهش، از جنین‌گندم به عنوان ترکیبی با ارزش تغذیه‌ای بالا که از محصولات جانبی صنایع آردسازی می‌باشد و به دلیل محتوای روغنی زیاد و حضور آنزیم‌های لیپاز و لیپوکسیژناز دارای ماهیت ناپایداری است، در جهت تولید پودر پروبیوتیک استفاده شده است. در مرحله اول، به منظور افزایش عمرماندگاری جنین‌گندم، تأثیر تخمیر توسط *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بر فعالیت لیپاز و لیپوکسیژناز جنین گندم در غلظت‌های مختلف (۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد، تخمیر باعث کاهش معنی‌دار در فعالیت لیپاز و لیپوکسیژناز شد و بیشترین میزان کاهش فعالیت هردو آنزیم، مربوط به نمونه تخمیرشده توسط *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در سطح غلظت ۲۰ درصد جنین‌گندم می‌باشد (۷۱/۴۳ درصد برای لیپاز و ۶۵ درصد برای لیپوکسیژناز) که برای مراحل بعدی آزمایش مورد استفاده قرارگرفت. تعداد اولیه باکتری‌ها، قبل از فرایند خشک‌کردن Log CFU/g ۰/۰۳ ± ۱۳/۳۸ بود و بلافاصله پس از فرآیند خشک‌کردن انجمادی Log CFU/g ۱/۱ کاهش یافت. سپس در طول دوره نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ، در هفته اول و دوم، کاهش معنی‌داری در تعداد باکتری‌ها مشاهده نشد. در نهایت پس از ۱۰ هفته، تعداد باکتری‌ها در پودر تولیدی به Log CFU/g ۰/۱۶ ± ۶/۶۸ کاهش یافت که هم‌چنان بیش از میزان پیشنهادی برای تأمین اثرات سلامتی‌بخش پروبیوتیک‌ها ($< 10^6$ CFU) می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، جنین‌گندم، تخمیر لاکتیکی، لیپاز، لیپوکسیژناز.

[*] مسئول مکاتبات: srazavi@ut.ac.ir

۱- مقدمه

گسترش علم تغذیه و مطالعات جدید بر مبنای رابطه‌ی رژیم غذایی و جلوگیری از بیماری‌های سخت و مزمن و افزایش تقاضای مردم برای استفاده از مواد غذایی سالم‌تر، منجر به توسعه‌ی مفهوم غذاهای فراسودمند[1] در صنایع غذایی شده است. مواد غذایی فراسودمند، غذاهایی هستند که علاوه بر فواید تغذیه‌ای خود، اثرات مفیدی بر سلامت میزبان دارند و یا خطر ابتلا به بیماری‌های مزمن را کاهش می‌دهند (۳). از مهم‌ترین غذاهای فراسودمند می‌توان محصولات پروبیوتیک و پری‌بیوتیک را نام برد. پروبیوتیک‌ها[2]، باکتری‌های زنده‌ای هستند که در صورت مصرف به میزان کافی اثرات مختلفی بر سلامت میزبان خود اعم از تقویت سیستم ایمنی، بهبود بیماری‌های التهابی روده، مهار عفونت *هلیکوباکترپیلوری*[3]، کاهش کلسترول، بهبود متابولیسم لاکتوز و خواص ضدسرطانی و ضدمیکروبی خواهند داشت (۱۰، ۱۷). در حال حاضر، محصولات پروبیوتیک لبنی انواع رایج غذاهای فراسودمند هستند که اثرات سودمند آن‌ها به خوبی شناخته شده است (۴، ۸). آلرژی به محصولات لبنی، محتوای کلسترول، عدم تحمل لاکتوز و تمایلات افراد گیاه‌خوار از اشکالات عمده در استفاده از محصولات لبنی پروبیوتیکی برای درصد زیادی از افراد جامعه می‌باشد. به همین دلیل محصولات غذایی پروبیوتیکی که از غلات، میوه‌ها و سبزی‌ها تهیه شده‌اند مورد توجه پژوهشگران و مصرف‌کنندگان قرارگرفته‌اند (۵، ۹، ۱۸). همچنین، اکثر محصولات پروبیوتیک لبنی در فرم مایع هستند و در طول زمان نگهداری و حمل‌ونقل نیازمند دمای کم می‌باشند که تأمین این دما بسیار هزینه‌بر بوده، لذا تولید پودر پروبیوتیکی غیرلبنی که نیازمند نگهداری در دمای یخچال نباشد، قابلیت مصرف توسط درصد بیشتری از افراد جامعه را خواهد داشت و هزینه‌های نگهداری و حمل‌ونقل را کاهش می‌دهد (۵). غلات منابعی ارزان قیمت می‌باشند که به میزان زیادی در دسترس قرار دارند و به دلیل ترکیبات مغذی متنوعی که دارند، می‌توانند به عنوان ترکیبات پری‌بیوتیک عمل کنند و بستر مناسبی برای رشد باکتری‌های پروبیوتیک باشند، همچنین تخمیر غلات از دیرباز به عنوان روشی برای افزایش ماندگاری آن‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفته است (۱۱، ۱۸). در میان غلات، گندم (حدود ۷۵۴/۱ میلیون تن) از نظر میزان تولید در سال ۲۰۱۸ در سراسر دنیا پس از ذرت (حدود ۱۰۴۶ میلیون تن) در رتبه دوم قرار دارد (۷). جنین‌گندم[4] یکی از محصولات فرعی صنایع آردسازی می‌باشد که ۳-۲ درصد کل دانه‌ی گندم را در برمی‌گیرد و به علت وجود ترکیبات متعدد با ارزش تغذیه‌ای زیاد مانند اسیدهای‌آمینه ضروری، اسیدهای چرب غیر اشباع، مواد معدنی، ویتامین‌های B و E، فیبرهای رژیمی و استرول‌های گیاهی، مغذی‌ترین بخش دانه‌ی گندم در نظر گرفته می‌شود (۲). میزان محتوای روغنی زیاد به‌همراه فعالیت شدید آنزیم‌های لیپاز و لیپوکسیژناز، باعث عمر ماندگاری پایین آن شده است، لذا در طول فرآیند آرد سازی از دانه‌ی گندم جدا می‌شود. بنابراین قابلیت استفاده‌ی بهینه و مصارف انسانی از این ماده بسیار باارزش محدود بوده و در حال حاضر اکثر جنین‌گندم تولیدی، برای تغذیه‌ی دام مورد استفاده قرار می‌گیرد و مصارف دیگر آن به طور کامل مورد بررسی قرار نگرفته است (۲۶، ۲۷). صنعت آردسازی هرساله مقادیر زیادی از این ماده‌ی مغذی را به عنوان محصول جانبی تولید می‌کند و میزان تولید جهانی جنین گندم سالانه حدود ۲۵ میلیون تن تخمین زده می‌شود که با توجه به ارزش تغذیه‌ای و میزان حجم تولید، محصول جانبی مهمی می‌باشد. با توجه به عمر ماندگاری کوتاه جنین گندم، تکنیک‌های دقیقی برای پایدارسازی و افزایش عمر ماندگاری در کنار حفظ ارزش تغذیه‌ای آن (۲) و پژوهش‌های بیشتری برای استفاده‌ی بهینه از جنین گندم به عنوان مکمل غذایی و همچنین در مواد غذایی فراسودمند مورد نیاز است (۱۵).

1- Functional Foods
2- Probiotics
3- *Helicobacter pylori*
4- Wheat Germ

غیر فعال کردن آنزیم‌های اکسیداتیو (لیپاز و لیپوکسیژناز) یا جداکردن روغن، برای داشتن جنین‌گندمی پایدار ضروری است که این کار را می‌توان به طرق مختلف فیزیکی (حرارت، پرتوافکنی، حرارتی- مکانیکی)، شیمیایی (قلیایی، اسیدی) و زیستی (تخمیر) انجام داد (۲). با این حال، تخمیر به عنوان روشی ایمن و ارزان، همواره به عنوان یکی از بهترین روش‌ها مطرح می‌باشد زیرا این روش باعث اثرات ضدتغذیه‌ای نمی‌شود و حتی خواص تغذیه‌ای را بهبود می‌بخشد. به نظر می‌رسد تخمیر لاکتیکی با کاهش فعالیت آنزیم‌های لیپاز و لیپوکسیژناز، از فساد زودرس جنین گندم جلوگیری کند و شرایط را برای استفاده بهینه از این ترکیب باارزش در جهت تولید محصولی فراسودمند فراهم آورد. با توجه به مطالب ذکر شده، هدف از این مطالعه در مرحله اول بررسی تاثیر تخمیر توسط *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (*DSM 20079*) [1] و *لاکتوباسیوس پلانتاروم* (*DSM 20179*) [2] بر فعالیت لیپاز و لیپوکسیژناز جنین‌گندم می‌باشد. در مرحله بعد، تولید پودری پروبیوتیک با روش خشک‌کن انجمادی[3] بر پایه‌ی جنین‌گندم انجام گرفت و در نهایت مورفولوژی پودر تولیدی و همچنین قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در محصول تولیدی در طول دوره نگهداری به مدت ۱۰ هفته در دمای ۲۵ درجه سلسیوس مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

لیست مواد مورد استفاده در آزمون‌های شیمیایی و میکروبی در جدول ۱ ذکر شده اند.

جدول ۱- لیست مواد مورد استفاده

مواد	شرکت سازنده
جنین‌گندم خام و تازه	کارخانه آردسازی ورامین
محیط کشت MRS	مرک آلمان
اتانول ۹۶ درصد	رازی
لینولئیک اسید ۹۹ درصد	سیگمای امریکا
روغن زیتون	شرکت دانزه
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس(DSM 20079)	گروه صنایع غذایی دانشگاه تهران
لاکتوباسیلوس پلانتاروم(DSM 20179)	گروه صنایع غذایی دانشگاه تهران

1- *Lactobacillus acidophilus DSM 20079*
2- *Lactobacillus plantarum DSM 20179*
3- Freeze-dryer

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- تهیه سوسپانسیون جنین‌گندم با آب

جنین‌گندم خام و تازه (واریته پیشتاز) را آسیاب کرده، سپس جهت تهیه سوسپانسیون‌های ۱۰، ۱۵ و۲۰ درصد جنین گندم، به ترتیب ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرم از جنین‌گندم به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و سپس با استفاده از حمام آب گرم به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۸۵ درجه‌ی سانتی‌گراد پاستوریزه گردید.

۲-۲-۲- آماده‌سازی مایه‌ی تلقیح

سوش باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش (*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (DSM 20079)* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم (DSM 20179)*) پس از دو بار پاساژ موفق در محیط MRS Broth و فعال‌سازی باکتری‌های مورد نظر، در مرحله اول به منظور تعیین میزان دقیق باکتری‌های مورد نیاز برای تلقیح (10^9 log CFU^1/mL)، منحنی رشد میکروارگانیسم‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که در ۱/۶ = Optical (OD) density، باکتری‌های پلانتاروم و اسیدوفیلوس به تعداد مورد نظر برای تلقیح خواهند رسید.

۲-۲-۳- انتقال باکتری‌های فعال به سوسپانسیون جنین گندم و انجام عمل تخمیر

حجم مایه‌ی تلقیح مورد استفاده ۱ درصد حجمی_حجمی (10^9 Log CFU/mL) بود. بدین منظور ۱۰ میکرولیتر از میکروارگانیسم‌های رشد یافته در محیط MRS Broth، تحت شرایط کاملاً استریل هود لامینار، کنار شعله به پنج میلی‌لیتر محیط کشت MRS Broth اضافه شد و پس از رسیدن به تعداد مورد نیاز اولیه برای تلقیح (10^9 Log CFU/mL)، به منظور جداسازی محیط کشت، عملیات سانتریفیوژ به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت و دو بار با آب مقطر استریل شست‌وشو داده شد و در نهایت به نمونه مورد نظر تلقیح گردید. پس از تلقیح باکتری‌ها، نمونه‌های تلقیح شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری (WET binder ، آلمان) شدند.

۲-۲-٤- اندازه‌گیری pH

جهت اندازه‌گیری pH نمونه‌ها، ابتدا pH متر (METROHM 744، آلمان) را با محلول‌های بافر ۴ و ۷ کالیبره کرده و سپس الکترود دستگاه را که قبل از استفاده با آب مقطر تمیز و خشک شده است درون نمونه‌ها قرار داده و پس از ثابت شدن عدد، pH نمونه خوانده شد.

۲-۲-۵- اندازه‌گیری فعالیت لیپاز جنین‌گندم

اندازه‌گیری فعالیت لیپاز با استفاده از روشKumar و همکاران (۲۰۱۳) با کمی تعدیل مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۲). در این آزمون، روغن زیتون (دانزه، ایران) به عنوان سوبسترای آنزیم استفاده شد. ۵۰۰ میلی‌گرم جنین گندم به ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و با سدیم فسفات بافر pH را روی ۸ تنظیم گردید. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه، میزان اسیدهای چرب آزاد شده با تیتر کردن در مقابل سود ۰/۰۵ مولار اندازه‌گیری شدند. برای هر نمونه، آزمون‌های مربوطه در سه تکرار انجام گرفت.

۲-۲-٦- اندازه‌گیری فعالیت لیپوکسیژناز جنین‌گندم

روش Xu و همکاران (۲۰۱۳) با کمی تعدیل برای اندازه‌گیری فعالیت لیپوکسیژناز از طریق اسپکتروفتومتری (VWR UV-6300PC، امریکا) مورد استفاده قرار گرفت (۲۶). در این روش هیدروپراکسیدهای تولید شده که دارای بیشترین جذب در ۲۳۴ نانومتر هستند، اندازه گیری شده‌اند.

۲-۲-٦-۱- استخراج آنزیم

یک گرم جنین گندم با ۵ میلی‌لیتر پتاسیم فسفات بافر (۰/۱ مولار pH=۶) مخلوط شد و به مدت یک ساعت عمل استخراج در دمای ۴ درجه سلسیوس با استفاده از همزن انجام

گرفت. سوسپانسیون‌های به‌دست آمده در ۱۱۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سپس محلول به‌دست آمده توسط میکروفیلترهایی به قطر ۰/۲ میکرون صاف گردید و از محلول شفاف بدست آمده به عنوان منبع آنزیم استفاده شد.

۲-۲-۶-۲- تهیه محلول سوبسترا

برای تهیه سوبسترا، ۰/۵ میلی‌لیتر اسیدلینولئیک خالص (سیگما، امریکا) به صورت قطره قطره به ۰/۵ میلی لیتر توئین شماره ۲۰ و ۱۰ میلی لیتر بافر بورات (۰/۱ مولار ۹ =pH) اضافه شد. سپس ۱/۳ میلی لیتر هیدروکسیدسدیم ۱ مولار به‌منظور شفاف‌سازی، به محلول مورد نظر اضافه گردید. بعد از آن به محلول حاصل ۹۰ میلی‌لیتر بافر بورات اضافه و حجم نهایی به حجم ۲۰۰ میلی لیتر رسانده شد.

۲-۲-۶-۳- واکنش آنزیم و سوبسترا

چهل میکرولیتر از سوبسترا با ۲/۹ میلی‌لیتر از پتاسیم فسفات بافر (۰/۱ مولار ۶ =pH) ترکیب شده و ۴۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شده به آن‌ها اضافه گردید. سپس تغییر در طول موج ۲۳۴ نانومتر به مدت ۵ دقیقه مورد ارزیابی قرار گرفت و میزان فعالیت لیپوکسیژناز از رابطه زیر محاسبه گردید.

$$X(\%) = \frac{\Delta Abs234\ nm/min sample}{\Delta Abs234\ nm/min control} \times 100$$

Xمیزان فعالیت نسبی لیپوکسیژناز (٪) ، Δ Abs234 nm/minsample و Δ Abs nm/mincontrol به‌ترتیب میزان تغییرات جذب نمونه و نمونه کنترل در طول زمان آزمایش می‌باشند.

۲-۲-۷- خشک‌کن انجمادی

نمونه‌های تخمیر شده، منجمد شدند و سپس توسط خشک‌کن انجمادی (Dena Vacuum Industry Co. Ltd., Tehran, Iran) در مدت ۲۴ ساعت عمل خشک کردن انجام گرفت.

۲-۲-۸- بررسی ریزساختار پودر تولیدی

نمونه‌های جمع‌آوری شده ابتدا تحت فرایند طلاپوشانی قرار گرفتند و سپس بررسی ریز ساختار پودر تولیدی توسط میکروسکوپ الکترونی (VEGA3 TESCAN ، جمهوری چک) در ولتاژ کاری ۱۵ kV و فاصله عملیاتی بین ۶-۸ mm انجام گرفت.

۲-۲-۹- زنده‌مانی باکتری‌ها

شمارش تعداد سلول‌های زنده، قبل و بعد از عمل‌خشک کردن و در طول دوره نگهداری پودر تولیدی، هر هفت روز یک‌بار به مدت ۷۰ روز انجام گرفت. به‌منظور شمارش باکتری‌ها قبل از تخمیر، ۱میلی‌لیتر از نمونه مورد نظر به ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی (۰/۹ درصد) اضافه گردید و پس از یکنواخت سازی، سایر رقت‌ها از آن تهیه شد و سپس در محیط MRS-Agar (Merk, Darmstadt, Germany) کشت و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردید. در نهایت، تعداد کلنی‌ها بر مبنای ماده خشک نمونه بیان گردید. داده‌های گزارش شده میانگین سه داده بدست‌آمده از تکرار آزمایشات می‌باشد.

۲-۲-۱۰- تجزیه و تحلیل آماری

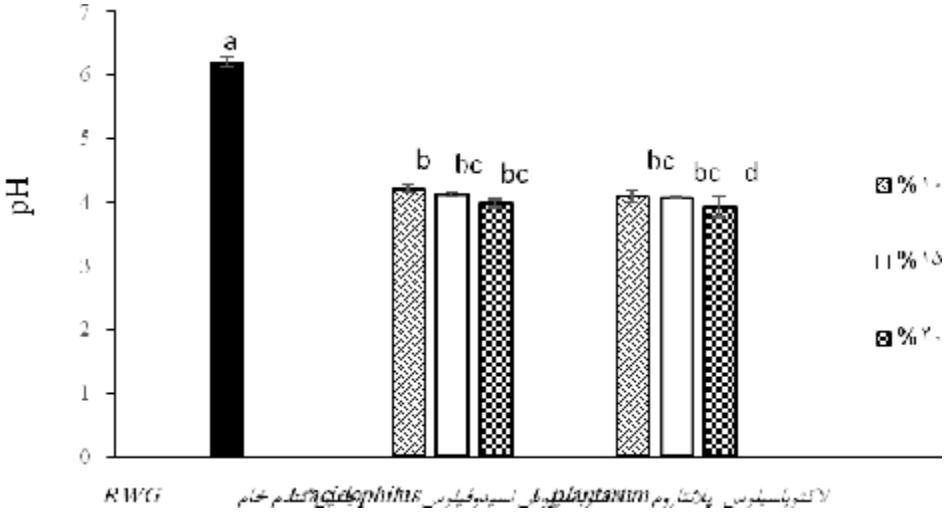
در این پژوهش اثر باکتری‌های مختلف تخمیر کننده و سطوح مختلف غلظت سوبسترا (جنین گندم) در غیرفعال‌سازی آنزیم‌های لیپاز و لیپوکسیژناز در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار Minitab 18 در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. میانگین نتایج به دست آمده به روش دانکن در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد مقایسه شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تغییرات pH

pH نمونه جنین‌گندم خام و تخمیر نشده ۰/۰۶ ± ۶/۲ بود و همان‌گونه که در شکل ۱ قابل مشاهده است، pH در تمامی نمونه‌ها پس از تخمیر با توجه به فعالیت باکتری‌های لاکتیکی

کاهش معنی‌داری یافته است ($p < ۰/۰۵$). با دقت در شکل می‌توان دریافت که با افزایش غلظت جنین‌گندم در سوسپانسیون تولیدی، میزان فعالیت هردو باکتری آغازکننده‌ی تخمیر، افزایش یافت و در نتیجه باعث کاهش بیشتری در میزان pH می‌شود به نحوی که غلظت ۲۰ درصد جنین گندم کم‌ترین pH و پس از آن غلظت ۱۵ و سپس غلظت ۱۰ درصد پایین‌ترین pH را داشتند. از طرف دیگر بررسی تأثیر آغازگرهای مختلف نشان داد که *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، در تمامی غلظت‌های جنین‌گندم کاهش بیشتری در میزان pH در مقایسه با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* ایجاد کرده است که نشان‌دهنده‌ی فعالیت بیشتر این باکتری در بستر جنین‌گندم می‌باشد. در نتیجه، بررسی اثر متقابل نوع آغازگر و غلظت جنین‌گندم نشان داد که، کم‌ترین میزان pH پس از تخمیر مربوط به نمونه تخمیری با *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در سطح غلظت ۲۰ درصد (۳/۹۲) و بیشترین میزان pH مربوط به نمونه تخمیری توسط *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در سطح غلظت ۱۰ درصد می‌باشد (۴/۲۱).

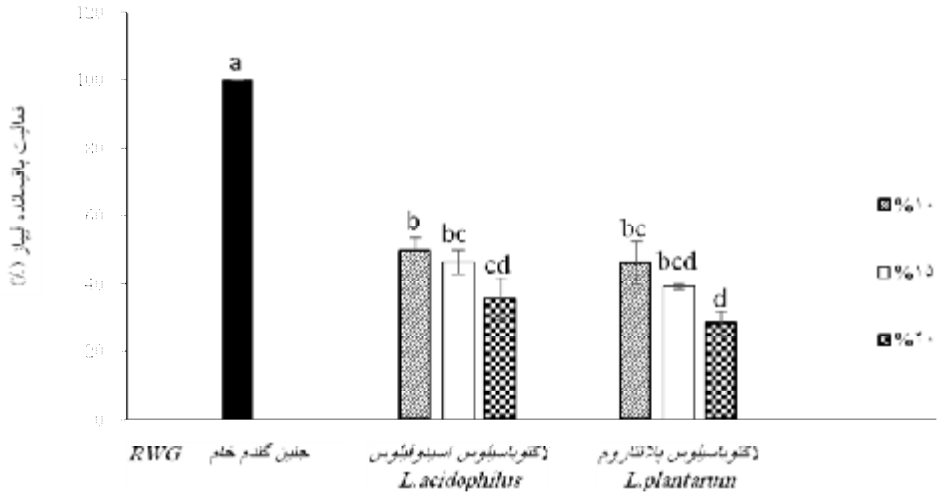


شکل ۱- تغییرات pH جنین گندم (غلظت‌های ۱۰ ، ۱۵ و ۲۰ درصد) توسط *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*

در محصولات تخمیری، سطح pH را می‌توان به عنوان شاخصی از فعالیت و رشد باکتری‌ها در نظر گرفت. اختلاف در مقادیر pH پس از تخمیر در بین گونه‌های مختلف می‌تواند به دلیل توانایی سازگاری آن‌ها با محیط‌های مختلف و همچنین توانایی آن‌ها در تولید متابولیت‌های مختلف در طول فرایند تخمیر باشد (۸). با توجه به نتایج حاصل از تغییرات pH پس از تخمیر جنین‌گندم، می‌توان نتیجه گرفت که هر دو باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در بستر جنین‌گندم به خوبی رشد و فعالیت داشته‌اند. با افزایش غلظت جنین‌گندم، توانایی رشد و فعالیت هر دو باکتری افزایش یافته است و جنین‌گندم با دربرداشتن ترکیبات متعدد تغذیه‌ای باعث تحریک رشد هر دو باکتری شده است. در نهایت هم می‌توان گفت که لاکتوباسیلوس پلانتاروم در مقایسه با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در بستر جنین‌گندم از رشد و فعالیت بیشتری برخوردار می‌باشد.

مطالعات پیشین نشان داده‌اند که باکتری‌های اسید لاکتیک در طی رشد و فعالیت خود در سوبستراهای مناسب، با تولید اسیدهای‌آلی(اسیدلاکتیک، اسیداستیک واسید پروپیونیک) pH را تا حدود ۴ کاهش می‌دهند که ضمن افزایش عمر ماندگاری محصول مورد نظر، رشد و فعالیت باکتری‌های عامل فساد را محدود کرده و از رشد برخی پاتوژن‌ها جلوگیری می‌کنند (۱۱). در پژوهشی که توسط Rizzello و همکاران (۲۰۱۰) صورت گرفت، مشخص گردید که جنین‌گندم سوبسترای مناسبی برای فعالیت باکتری‌های لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم (LB1)* و *لاکتوباسیلوس روزئی (LB5)* می‌باشد و pH اولیه جنین گندم خام و تازه از ۰/۰۸ ± ۶/۳۴ قبل از تخمیر به ۰/۰۵ ± ۴/۱۵ پس از ۲۴ ساعت تخمیر در دمای ۳۰ درجه سلسیوس توسط *لاکتوباسیلوس پلانتاروم (LB1)* و *لاکتوباسیلوس روزئی (LB5)* کاهش می‌یابد (۲۲).

۳-۲- تغییرات فعالیت لیپاز



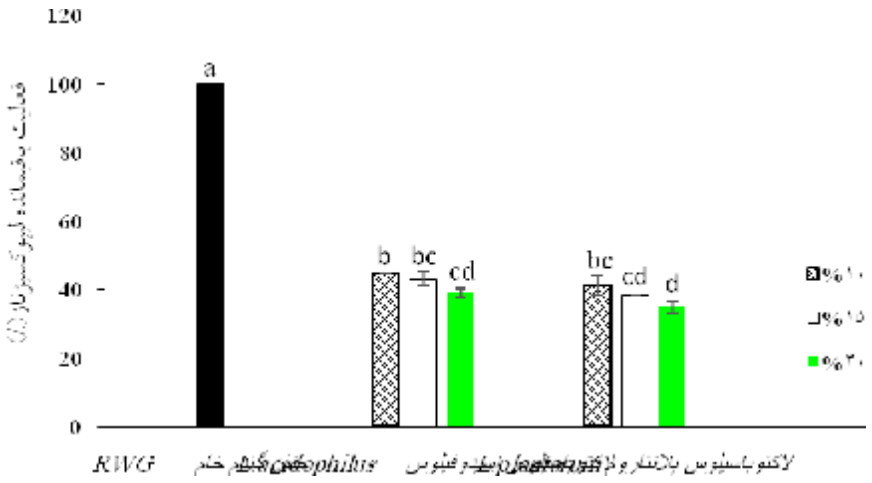
شکل ۲- تغییرات فعالیت لیپاز در جنین گندم تخمیر شده (غلظت‌های۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد) توسط لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس پلانتاروم

میزان تغییر فعالیت لیپاز نمونه‌ها در شرایط مختلف تخمیر در شکل۲ نمایش داده شده است. همانطور که در شکل مشخص است، فعالیت لیپاز در تمامی شرایط تخمیر در این پژوهش کاهش یافته است. نتایج آماری داده‌های مرتبط با فعالیت لیپاز نشان می‌دهند که، میزان کاهش فعالیت لیپاز در تمامی نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری با میزان فعالیت نمونه‌ی شاهد (جنین‌گندم خام) دارد ($p <$ ۰/۰۵). همچنین بررسی تأثیر غلظت در میزان کاهش فعالیت جنین‌گندم نشان

می‌دهد که در هر دو آغازگر، افزایش غلظت جنین گندم باعث کاهش بیشتری در میزان فعالیت آنزیم می‌شود. از طرف دیگر بررسی نوع آغازگرهای تخمیر نشان می‌دهند که، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* توانایی بیشتری در کاهش فعالیت لیپاز در تمامی غلظت‌ها در مقایسه با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* دارد به طوری که بیشترین معنی‌داری در کاهش فعالیت لیپاز مربوط به نمونه جنین‌گندم در غلظت ۲۰ درصد (۷۱/۴۳ درصد کاهش) که توسط *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* تلقیح شده و تحت فرایند تخمیر قرار گرفتند مشاهده شد (p< ۰/۰۵). عمده‌ترین عامل محدود کننده‌ی عمرماندگاری و استفاده بهینه از جنین‌گندم، میزان بالای روغن و وجود آنزیم‌های لیپاز و لیپوکسیژناز آن می‌باشد که با تجزیه‌ی چربی‌ها باعث ایجاد فساد در جنین‌گندم می‌شوند (۲۵). در نتیجه غیر فعال کردن آنزیم‌های ذکر شده به منظور افزایش عمر ماندگاری و فراهم کردن شرایط برای استفاده بهینه از آن امری ضروری می‌باشد. لیپازها را می‌توان زیر مجموعه‌ای از استرازها و از گروه اصلی هیدرولازها دانست که قادر به هیدرولیز استرها هستند و نقش اختصاصی تبدیل تری گلیسریدها به گلیسرول و اسید چرب را بر عهده دارند. آنزیم‌ها معمولا دارای pH بهینه‌ی فعالیت هستند که در آن pH بهترین فعالیت را دارند و در خارج از آن pH با تحت تأثیر قرار گرفتن ساختار آنزیم‌ها و کاهش حساسیت آنزیم به سوبسترا، از میزان فعالیت آنزیم کاسته می‌شود. پروفایل فعالیت لیپاز نشان می‌دهد که pH بهینه‌ی فعالیت لیپازهای مختلف در محدوده pH خنثی می‌باشد و در محدوده pH اسیدی (حدود pH ۳) و همچنین در محدوده pH بازی (حدود pH ۱۲) دارای حداقل میزان فعالیت می‌باشند. همچنین مشخص گردید که، pHهای شدیداً اسیدی و قلیایی می‌توانند ساختار آنزیم را به‌طور کلی دچار تغییر کنند و مانع از فعالیت آن شوند. لیپاز جنین‌گندم دارای pH بهینه فعالیت حدود ۸-۷ می‌باشد و در خارج از این pH، میزان فعالیت آن کاهش خواهد یافت (۲۰). همان‌گونه که ذکر شد، pH جنین‌گندم پس از تخمیر در تمامی نمونه‌ها کاهش معنی‌داری داشته است که با توجه به مطالب بالا با تغییر ساختار قسمت فعال (Active site) آنزیم لیپاز، باعث کاهش معنی‌دار در فعالیت آنزیم پس از تخمیر تحت شرایط مختلف این پژوهش شده است (p<۰/۰۵). اختلاف در میزان کاهش فعالیت لیپاز در نمونه‌های مختلف تخمیر شده، احتمالاً مرتبط با سطح نهایی pH در هرکدام از نمونه‌ها می‌باشد و همان‌طور که قبلاً اشاره شد، نمونه‌ی جنین‌گندم تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در غلظت ۲۰ درصد با پایین‌ترین میزان pH (۳/۹۲) پس از فرایند تخمیر نسبت به سایر نمونه‌ها، در اینجا بیشترین میزان کاهش فعالیت لیپاز را نشان می‌دهد (۷۱/۴۳درصد).

۳-۳- تغییرات فعالیت لیپوکسیژناز

بررسی نتایج به دست‌آمده از میزان فعالیت لیپوکسیژناز (شکل۳) نشان می‌دهد که روند تغییرات در کاهش میزان فعالیت لیپوکسیژناز در شرایط مختلف تخمیر در این مطالعه، مشابه روند تغییرات آنزیم لیپاز بوده و میزان فعالیت لیپوکسیژناز در تمامی نمونه‌ها پس از تخمیر اختلاف معنی‌داری با نمونه شاهد دارد (P< ۰/۰۵) با این تفاوت که میزان نهایی باقیمانده فعالیت آنزیم‌ها با هم تفاوت می‌کنند به نحوی که بیشترین میزان کاهش در فعالیت لیپوکسیژناز، در نمونه‌ی ۲۰ درصد جنین گندم تلقیح شده با *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، ۶۵ درصد و کمترین میزان کاهش مربوط به نمونه ۱۰ درصد جنین‌گندم تلقیح شده با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، ۵۵/۵ درصد می‌باشد.



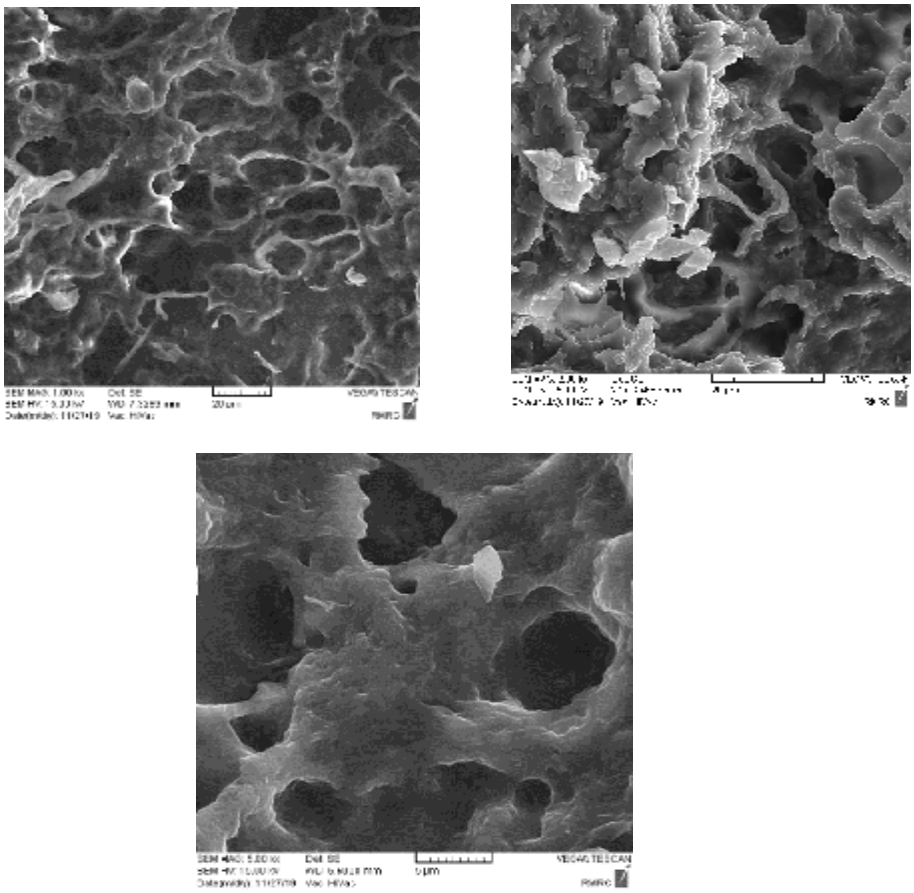
شکل ۳- تغییرات فعالیت لیپوکسیژناز در جنین گندم تخمیر شده (غلظت‌های ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد) توسط *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*

لیپوکسیژناز از دسته اکسیدوردوکتازها و یک آنزیم دی‌اکسیژناز است. دی‌اکسیژنازها قادرند دو اتم اکسیژن مولکولی را به مولکول سوبسترا اضافه کنند که با تشکیل هیدروپراکسیدها همراه است. لیپوکسیژناز یکی از این آنزیم‌ها می‌باشد که نام سیستماتیک آن لینولئات اکسیژن اکسیدوردوکتاز است. این آنزیم فوق‌العاده اختصاصی عمل کرده و داکسیژناسیون اسیدهای چرب چند غیر اشباع سیس، سیس- ۱، ۴- پنتادی‌ان (Cis- cis, 1,4 panta diene) را به مشتقات هیدروپراکسی سیس، ترانس دی‌ان (Cis- trans, diene) کاتالیز می‌کند. اغلب سوبسترای خاص این آنزیم‌ها ایزومرهایی از سه واحد اسیدچرب ضروری لینولئیک، لینولنیک و آراشیدونیک می‌باشند. همان‌طور که در بالا ذکر شد، اسیدی شدن توسط تخمیر با کاهش حساسیت قسمت فعال آنزیم به سوبسترا، از میزان فعالیت آنزیم می‌کاهد. لذا بررسی‌ها نشان می‌دهند که کاهش فعالیت لیپوکسیژناز در تمامی نمونه‌ها، همچون لیپاز نسبت به جنین گندم تخمیر نشده معنی‌دار می‌باشد و با افزایش غلظت جنین‌گندم و تغییر باکتری آغازگر تخمیر از *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* باعث کاهش بیشتر فعالیت آنزیم می‌شود ($p< ۰/۰۵$). با توجه به نتایج بالا، نمونه جنین‌گندم تخمیر شده توسط *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در سطح غلظت ۲۰درصد برای مراحل بعدی آزمون‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

۳-٤- بررسی ریزساختار پودر تولیدی

شکل۴ تصاویر میکروسکوپ الکترونی حاصل از پودرهای تولیدی به روش خشک‌کن انجمادی را نشان می‌دهد. ارزیابی ساختار میکروسکوپی ذرات تولیدی اهمیت فراوانی دارد زیرا نحوه‌ی ساختار ذرات در ظرفیت محافظت پلیمرهای مختلف از باکتری‌ها نقش دارند و این ظرفیت نگهداری به میزان یکپارچگی موجود در ذرات تولیدی وابسته است. همانطور که در تصاویر مشاهده می‌شود، ذرات تولیدی به روش خشک‌کن انجمادی دارای برآمدگی‌ها و فرورفتگی‌هایی در سطوح مختلف خود هستند و با دقت در شکل می‌توان دریافت که این ذرات ساختاری اسفنج مانند و متخلخل دارند. نتاج این پژوهش تأییدی بر نتایج پژوهش Rajam و همکاران (۲۰۱۲) می‌باشد که بیان نموده‌اند ذرات تولیدی به روش خشک‌کن انجمادی دارای اشکالی چندوجهی بوده و ساختاری اسفنجی دارند (۱۹). Saika و همکاران (۲۰۱۵) تأثیر خشک‌کردن انجمادی و خشک‌کردن پاششی را بر روی ریزساختار پودرهای تولیدی به دست آمده از نوعی گیاه به نام *carambola* و پوست

نوعی انگور مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل نشان داد که ذرات حاصل از خشک‌کن پاششی، تقریباً کروی شکل و ذرات حاصل از خشک‌کن انجمادی، متخلخل بوده‌اند که با نتایج این پژوهش در تطابق می‌باشند (۲۳).

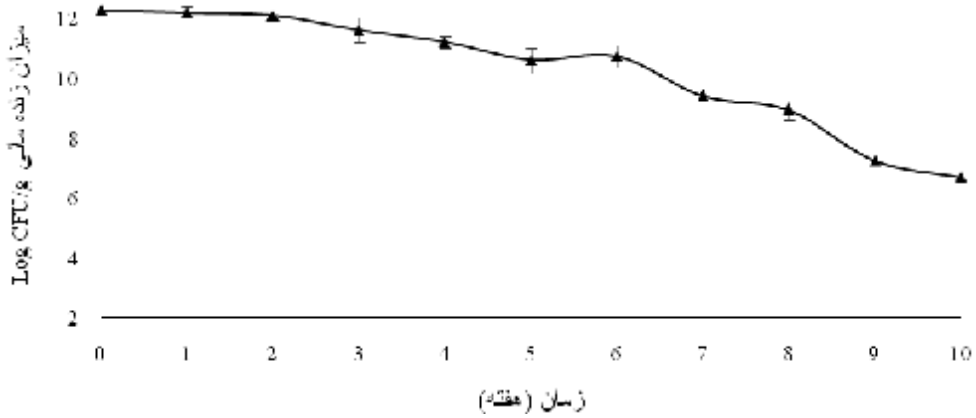


شکل٤- تصاویر میکروسکوپ الکترونی مربوط به پودرهای تولیدی به روش خشک کن انجمادی

۳-۵- بررسی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در طول دوره نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس

نکته اساسی در تولید محصولات پروبیوتیکی، حفظ بقای باکتری‌های پروبیوتیکی در طی فرایند تولید و نگهداری می‌باشد تا بتوانند اثرات مفید خود را بر سلامتی میزبان ایفا کنند. شکل ۵ روند کاهش تعداد باکتری‌های پروبیوتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* را پس از فرایند خشک‌کن انجمادی نمایش می‌دهد. تعداد باکتری‌ها پیش از خشک‌کردن نمونه بر حسب ماده خشک، Log CFU/g ۱۳/۳۸ ± ۰/۰۳ بود. در پایان فرآیند خشک‌کردن، Log CFU/g ۱/۱ کاهش در تعداد باکتری‌ها مشاهده گردید که احتمالا تشکیل کریستال در حین انجماد با آسیب رساندن به غشای سلول باکتری‌ها باعث از بین رفتن آن‌ها شده است (۷). پس از فرایند خشک‌کردن و در طول دوره نگهداری، تعداد باکتری‌ها در دو هفته اول تقریباً ثابت بود و کاهش معنی‌داری در تعداد باکتری‌ها مشاهده نگردید. سپس در هفته سوم حدود Log CFU/g ۰/۵ کاهش در تعداد باکتری‌ها مشاهده شد و پس از آن در طی دوره نگهداری این روند نزولی ادامه یافت تا در نهایت پس از ۱۰ هفته نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، تعداد باکتری‌ها در پودر تولیدی به Log CFU/g ۰/۱۶ ± ۶/۶۸ کاهش یافت که همچنان بیش از میزان پیشنهادی برای تأمین اثرات سلامتی‌بخش پروبیوتیک‌ها ($< 10^6$ CFU) می‌باشد. روش خشک‌کن انجمادی همواره از بهترین روش‌ها برای افزایش

حفظ زنده‌مانی پروبیوتیک باکتری‌ها مطرح است که دارای کمترین اثرات مخرب بر باکتری‌ها می‌باشد. در فرایند خشک‌کردن انجمادی، تشکیل کریستال‌ها یا باعث مرگ سلول‌ها در حین انجماد شده و یا باعث آسیب به غشای سلولی می‌شود و بعدها در طول دوره‌ی نگهداری به مرور باعث از بین رفتن سلول باکتری می‌شود(۱۰، ۱۶). پژوهش‌های مختلفی به منظور افزایش زنده‌مانی باکتری‌های مختلف پروبیوتیکی با استفاده از روش خشک‌کردن انجمادی صورت گرفته است. به طور مثال در پژوهش‌های جداگانه‌ای، تأثیر فرایند خشک‌کن انجمادی بر میزان زنده-مانی *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* توسط Dianawati و Shah درسال ۲۰۱۱ (۶) و بررسی تأثیر فرایند خشک‌کن انجمادی بر میزان زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم* **لانگوم** به منظور تولید پودر پروبیوتیک توسط Amine و همکاران در سال ۲۰۱۴ (۱) مورد ارزیابی قرار گرفتند و با توجه به میزان زنده‌مانی بالای پروبیوتیک‌ها، این روش به عنوان روشی کارامد در تضمین زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها پیشنهاد گردید. در پژوهش که توسط Zaeim و همکاران (۲۰۱۸) صورت گرفت، **لاکتوباسیلوس** *پلانتاروم* همراه محلول ۳۵ درصد صمغ عربی تحت فرایند خشک کن انجمادی قرار گرفت و حدود ۸۹ درصد باکتری‌ها زنده ماندند که معادل Log ۱ کاهش در تعداد اولیه باکتری‌ها پس از فرایند خشک‌کردن می‌باشد (۲۸). میزان زنده‌مانی **لاکتوباسیلوس** *رامنوسوس (ATCC)* پس از فرایند خشک‌کردن به روش انجمادی در سه ماتریکس ایزوله‌ی پروتئین آب پنیر، اینولین + ایزوله‌ی پروتئین آب پنیر و اینولین + ایزوله‌ی پروتئین آب پنیر + صمغ فارسی در طول دوره‌ی نگهداری به مدت ۲۴ هفته در دمای ۲۵ درجه سلسیوس توسط Moayyedi و همکاران (۲۰۱۸) مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان دادند که میزان زنده‌مانی باکتری-ها پس از خشک‌کن انجمادی در هر سه ماتریکس قابل توجه بود و بهترین ماتریکس برای حفظ زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها ترکیبی از هر سه ماتریکس می‌باشد که در آن تعداد باکتری‌ها از Log CFU/g ۰/۰۱ ± ۱۰/۶۰ در هفته اول به Log CFU/g ۰/۰۴ ± ۱۰/۴۴ در هفته آخر نگهداری رسیده است (۱۶).



شکل ۵- زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیکی (Log CFU/g) در پودرتولیدی به روش خشک‌کردن انجمادی درطول دوره نگهداری به مدت ۱۰ هفته در دمای ۲۵ درجه سلسیوس

٤- نتیجه گیری

در این پژوهش، با توجه به تقاضای روزافزون برای محصولات پروبیوتیکی و ضرورت نیاز به محصولات متنوع پروبیوتیکی به خصوص محصولات پروبیوتیکی غیرلبنی به منظور افزایش قابلیت مصرف توسط طیف وسیع‌تری از افراد جامعه و همچنین اهمیت استفاده بهینه از محصولات جانبی صنایع مختلف تبدیلی، تولید پودر تخمیری و پروبیوتیک بر پایه جنین‌گندم مورد مطاله قرار گرفت. نتایج اولیه نشان داد که، تخمیر جنین‌گندم توسط *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به طور معنی‌داری باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های لیپاز و لیپوکسیژناز و در نتیجه جلوگیری از فساد زودرس جنین‌گندم می‌شود. همچنین مشخص گردید، به‌کارگیری غلظت‌های بالاتر جنین‌گندم (۲۰ درصد) باعث رشد و فعالیت بهتر هردو باکتری به خصوص *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و در نتیجه کاهش بیشتر فعالیت هردو آنزیم شده است. در نهایت، بررسی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها نشان داد که تعداد باکتری-های پروبیوتیکی پس از ۱۰ هفته نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس همچنان بیشتر از حد قابل قبول برای محصولات پروبیوتیکی ($<10^6$ CFU) می‌باشد. لذا، پودر تولیدی برپایه جنین‌گندم محیط مناسبی برای حفظ زنده‌مانی بپروبیوتیک‌ها بوده و می‌توان از آن به عنوان حاملی برای انتقال پروبیوتیک‌ها استفاده کرد. چنین مطالعاتی می‌توانند با استفاده‌ی بهینه از محصولات جانبی، ارزش افزوده‌ی بالایی ایجاد کنند و روند توسعه محصولات پروبیوتیکی غیرلبنی، که از لحاظ تغذیه‌ای منحصربه‌فرد هستند و قابلیت مصرف بیشتری دارند را بهبود بخشند.

٥-منابع

1. Amine, K. M. *et al.* 2014. Effect of palmitoylated alginate microencapsulation on viability of Bifidobacterium longum during freeze-drying, *LWT - Food Science and Technology*, Elsevier Ltd, 56(1):111–117.
2. Boukid, F. *et al.* 2018. A compendium of wheat germ : Separation , stabilization and food applications. *Trends in Food Science & Technology*, Elsevier, 78(June):120–133.
3. Bultosa, G. 2015. Dietary Fibers, Prebiotics, Probiotics, and Synbiotics. 2nd edn, Encyclopedia of Food Grains' *Functional Foods*, Second Edition. 2nd edn. Elsevier Ltd.
4. Carolinne Odebrecht Dias, J., Dos, S .and de, A. 2018. Development and physico-chemical characterization of microencapsulated bifidobacteria in passion fruit juice: A functional non-dairy product for probiotic delivery', *Food Bioscienceo*, Elsevier Ltd, 92(23): 26–36.
5. Chavan, M. *et al.* 2018. Development of non-dairy fermented probiotic drink based on germinated and ungerminated cereals and legume. *LWT - Food Science and Technology*. Elsevier, 91(February):339–344.
6. Dianawati, D. and Shah, N. P. 2011. Survival, Acid and Bile Tolerance, and Surface Hydrophobicity of Microencapsulated B. animalis ssp. lactis Bb12 during Storage at Room Temperature. *Journal of Food Science*, 76(9):592–599.
7. FAO, 2018. *Crop prospects and food situation* . Food and Agriculture Organization of the United Nations Quarterly Global Report (available online at: www.fao.org/giews).
8. Gupta, M. and Bajaj, B. K. 2017. Development of fermented oat flour beverage as a potential probiotic vehicle. *Food* Bioscience. Elsevier Ltd, 20(August):104–109.
9. Gupta, S. and Abu-Ghannam, N. 2012. Probiotic fermentation of plant based products: Possibilities and opportunities', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(2): 183–199.
10. José, M. *et al.* 2015. Microencapsulation of bacteria : A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. *LWT - Food Science and Technology*.27, pp. 15–25.
11. Kohajdová, Z. 2017. Fermented Cereal Products, *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier B.V.
12. Kumar, Pankaj. et al 2013. Lipase Inactivation in Wheat germ by gamma irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*, vol. 86, Elsevier, pp. 136–39,
13. Kuck, L. S. and Noreña, C. P. Z. 2016. Microencapsulation of grape (Vitis labrusca var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food Chemistry*. E*lsevier Ltd*, 194:569–576.
14. Librán, C. M., Castro, S. and Lagaron, J. M. 2017. Encapsulation by electrospray

acerola (Malpighia emarginata DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. *Food Chemistry*. Elsevier, 254(February):281–291.

22. Rizzello, R., Giuseppe, Carlo., Nionelli, Luana., Coda, Rossana., De Angelis, Maria., et al 2010. Effect of Sourdough Fermentation on Stabilisation , and Chemical and Nutritional Characteristics of Wheat Germ. *Food Chemistry*, 119(3): 1079–89,

23. Saikia, S., Mahnot, N. K. and Mahanta, C. L. 2015. Optimisation of phenolic extraction from Averrhoa carambola pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. *Food Chemistry. Elsevier Ltd,* 171: 144–152.

24. Sharma, M., Mridula, D. and Gupta, R. K. 2014. Development of sprouted wheat based probiotic beverage., 51(12):3926–3933.

25. Tolouie, Haniye. et al 2018. The Impact of Atmospheric Cold Plasma Treatment on Inactivation of Lipase and Lipoxygenase of Wheat Germs. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 47:. 346–52.

26. Xu, B. *et al.* 2013. Study on the stabilization effect of continuous microwave on wheat germ. *journal of food engineering. Elsevier Ltd*, 117:1–7.

27. Xu, B. I. N. *et al.* 2015. Termal versus microwave inactivation kinetics of lipase and lipoxygenase from wheat germ *Journal of Food processing engineering*, 247–255.

28. Zaeim, D. *et al.* 2018. Electrospray-assisted drying of live probiotics in acacia gum microparticles matrix. *Carbohydrate Polymers*. Elsevier, 183(July 2017:183–191.

coating atomization of probiotic strains. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. Elsevier Ltd, 39, pp. 216–222.

15. Liu, F. *et al.* 2017. Effect of fermentation on the peptide content, phenolics and antioxidant activity of defatted wheat germ. *Food Bioscience*. Elsevier Ltd, 20(October): 141–148.

16. Moayyedi, M. *et a*l. 2018. E ff ect of drying methods (electrospraying , freeze drying and spray drying) on survival and viability of microencapsulated Lactobacillus rhamnosus ATCC 7469. *Journal of Functional Foods*. Elsevier, 40(July 2017): 391–399.

17. Moumita, S. *et al.* 2017. Evaluation of the viability of free and encapsulated lactic acid bacteria using in-vitro gastro intestinal model and survivability studies of synbiotic microcapsules in dry food matrix during storage', *LWT - Food Science and Technology*. Elsevier Ltd, 77: 460–467.

18. Mridula, D. and Sharma, M. 2015. Development of non-dairy probiotic drink utilizing sprouted cereals, legume and soymilk. *LWT - Food Science and Technology*. Elsevier Ltd, 62(1): 482–487.

19. Rajam, R. *et al.* 2012. Effect of whey protein - alginate wall systems on survival of microencapsulated Lactobacillus plantarum in simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Functional Foods. Elsevier Ltd*, 4(4):. 891–898.

20. Rao, K., Sudhindra, et al 1991. Structural Stability of Lipase from Wheat Germ in Alkaline PH. *Journal of Protein Chemistry. 1.* Vol. 10, no. 3.

21. Rezende, Y. R. R. S., Nogueira, J. P. and Narain, N. 2018. Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from

(Original Research Paper)

Production of non-dairy Fermented Probiotic Powder Based on Wheat Germ Using *Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus* Plantarum

Ehsan Divan. Khosroshahi [1], Seyyed Hadi Razavi [2*], Hossein Kaini [3], Ali Aghakhani [3]

1- MSc Student of Food Science Biotechnology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran.

2- Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran.

3- Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran.

Received: 17/02/2020 Accepted:21/06/2020

Abstract

The growing demand for probiotic products due to changing lifestyle and increasing public awareness of the beneficial effects of probiotics on human health has prompted many researchers to develop new probiotic products. In this study, wheat germ as a high nutritional compound that is a by-product of the flour processing industry and due to its high lipid content and presence of lipase and lipoxygenase enzymes has an unstable nature, is used for the production of probiotic powder. In the first step, in order to extend the shelf-life of wheat germ, the effect of fermentation by Lactobacillus plantarum and Lactobacillus acidophilus on the lipase and lipoxygenase activity of wheat germ at different concentrations (10, 15 and 20%) was investigated. The results showed that fermentation caused a significant decrease in lipase and lipoxygenase activity and the highest reduction in the activity of both enzymes was observed in the fermented sample by Lactobacillus plantarum at 20% concentration of wheat germ (71.43 % for lipase and 65% for lipoxygenase) which was used for later stages of experiments. The initial bacterial count was 13.38 ± 0.03 Log CFU/g before the drying process and decreased by 1.1 Log CFU/g immediately after the freeze-drying process. Then, there was no significant decrease in the number of bacteria during the storage period at 25 ° C in the first and second weeks. Finally, after 10 weeks, the number of bacteria in the powder decreased to 6.68 ± 0.16 Log CFU/g, which is still more than the recommended level for providing health effects of probiotics (> 106 CFU).

Keywords: Probiotic, Wheat Germ, Lactic Fermentation, Lipase, Lipoxygenase.

*Corresponding Author: srazavi@ut.ac.ir