مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هفتم، شماره ۵، ویژه‌نامه زمستان ۱۳۹۱، صفحات ۷۰-۶۱

غنی‌سازی پرک ذرت به وسیله باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس روتری*

مهرناز دادگر[۱]، کیانوش خسروی دارانی[۲]، سارا سهراب‌وندی[۳]، نگین احمدی[۴]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا، ورامین، ایران

۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه تحقیقات صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. پست الکترونیکی: kiankh@yahoo.com

۳- استادیار گروه تحقیقات صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: امروزه پرک ذرت (Corn flakes) معمول‌ترین شکل از غلات صبحانه است که قابلیت غنی‌سازی و تبدیل به صورت یک غذای فراسودمند را دارد. در این مطالعه تولید غله صبحانه سینبیوتیک به‌وسیله غنی‌سازی پرک ذرت توسط باکتری پروبیوتیک *ل. روتری* و همچنین فیبر پری‌بیوتیک جو دوسر و مالت بررسی شد.

مواد و روش‌ها: برای بررسی اثر ۱۱ متغیر (در دو سطح) بر زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک توسط طرح آماری پلاکت- برمن استفاده شد. به این منظور ۱۲ تیمار در سه تکرار انجام شده و نتایج توسط نرم افزار Minitab 11 در سطح معنی‌دار α=۰/۰۱ بررسی شد. طعم، عطر و پذیرش کلی غله سینبیوتیک حاوی بیشترین تعداد باکتری زنده از طریق مقیاس هدونیک ۹ تایی با نمونه شاهد (پرک ذرت غنی‌نشده) مقایسه شدند و نتایج توسط طرح کاملاً تصادفی و آزمون F بررسی شد. مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح معنی‌دار ٪۵=α توسط نرم افزار SPSS 11 انجام شد.

یافته‌ها: بالاترین میزان زنده مانی *ل. روتری* پس از کشت در محیط حاوی (w/v) ٪۵ عصاره مالت و MRS Broth به مدت ۴۸ ساعت و تلقیح به میزان ۲/۵ ٪ درصد وزنی به پرک ذرت حاوی (w/w)٪۲۰ فیبر مالت و نگه‌داری محصول در شرایط بی‌هوازی درون کیسه فریزر (دمای ۲۰ $^{\circ}C$ به مدت ۲ هفته) معادل ۱۲۳×۱۰^{۶} $cfu.g^{-1}$ به دست آمد. خواص حسی (طعم، عطر و پذیرش کلی) و فعالیت آبی (aw) نمونه‌ها با نمومه شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p>۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: عصاره غلات (مالت یا جو دوسر) بر پایداری و زنده‌مانی *ل. روتری* در محصول *موثر* بوده است. فیبر مالت (آرد مالت) در مورد تأثیر بهتری نسبت به فیبر جو دوسر (آرد جو دوسر) داشت که انتظار می‌رود به علت میزان قند بالای مالت باشد.

واژگان کلیدی: پرک ذرت، سینبیوتیک، پروبیوتیک، پری‌بیوتیک، طراحی پلاکت برمن، *ل. روتری*

مقدمه

غلات در واقع گونه‌ای از خانواده گندمیان (گرامینه‌ها) هستند، گیاهان علفی تک لپه‌ای بوده و دانه‌های ریز آن‌ها، مصرف خوراکی دارد. غلات حاوی هیدرات کربن، پروتئین، چربی، مواد معدنی و انواع ویتامین بوده و هزاران سال است که این گونه گیاهان، در تأمین غذای بشر نقش حیاتی ایفا می‌کنند (۱). دانه‌های غلات منابع طبیعی ویتامین B_6، اسید فولیک، اسید پنتوتنیک، روی، آهن، منگنز و مس هستند. روغن‌های گیاهی دانه‌های غلات، غنی از ویتامین E بوده و چربی‌های غلات نسبتاً غنی از لینولئیک (یک اسید چرب ضروری برای انسان) می‌باشند. اگر پروتئین غلات طی فرآیند آن‌ها حفظ شود، می‌تواند اثری مثبت بر رژیم غذایی داشته باشد. غلات آماده خوردن، دانه‌های فرآیند شده‌ای هستند که بدون نیاز به پخت یا فرآیند اضافی برای مصرف مناسب هستند. گندم، ذرت، برنج، جو دوسر و جو دانه‌های اصلی مورد استفاده در غلات صبحانه می‌باشند. امروزه پرک ذرت، معمول‌ترین شکل غلات صبحانه است که در مرحله آخر

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

تولید ویتامین‌هایی که در اثر پخت کاهش یافته و طعم‌دهنده به آن اضافه می‌شود (۲). در کشور ما نیز غلات بخش اعظم غذای روزانه را تشکیل می‌دهد. با توجه به اینکه امروزه از زمان لازم برای تهیه و خوردن غذای مغذی در زندگی شهری و صنعتی کاسته می‌شود غلات صبحانه به‌عنوان صبحانه آماده خوردن در مناطق شهری و صنعتی بیشتر مصرف می‌شود و مصرف‌کنندگان آن روز به روز افزایش می‌یابند (۳).

"غذای هدفمند" به محصولی گفته می‌شود که به جزء خصوصیاتی که به عنوان غذا دارد (ارزش غذایی، طعم و بافت مناسب) تأثیر سلامتی بخش داشته باشد. امروزه در راستای افزایش علاقه به غذاهای هدفمند نیاز به محصولاتی با اثرات سلامت بخش چندگانه افزایش یافته است. واژه *پروبیوتیک* از واژه یونانی پروبیوس به معنای حیات‌بخش یا زیست‌بخش یا زیست- یار اقتباس شده است و از نظر مفهوم در مقابل واژه پادزیست به معنای ضد حیات قرار دارد. پروبیوتیک‌ها ریززنده‌های (باکتری و مخمر) زنده‌ای هستند که با استقرار در بخش‌های مختلف بدن (اساساً روده)، با عمل زیستی خود، عمدتاً از طریق حفظ و بهبود توازن فلور میکروبی روده (میان ریززنده‌های سودمند و زیان‌بخش)، سبب ایجاد خواص سلامت‌بخش برای میزبان می‌شوند. مهم‌ترین و مرسوم‌ترین پروبیوتیک‌ها به جنس‌های *لاکتوباسیلوس* و *بیفیدوباکتر* تعلق دارند (۴). خواص سلامتی بخش پروبیوتیک‌ها عبارتند از: ضدجهش‌زایی، ضد سرطان‌زایی، تحریک، تقویت و تنظیم سیستم ایمنی، خواص پاد-عفونی و بهبود ناسازگاری لاکتوز (۶، ۵).

در ابتدا پروبیوتیک‌ها به ماست و لبنیات تخمیر شده اضافه می‌شدند، اما امروزه تولید محصولات غیرلبنی پروبیوتیک (به دلیل مشکل عدم تحمل لاکتوز و یا چربی مواد لبنی) مانند نوشیدنی‌ها، گوشت و غلات مورد توجه قرار گرفته است (۷). پری‌بیوتیک‌ها ترکیباتی هستند که در برابر آنزیم‌ها و ترکیبات ترشح شده در بزاق و روده کوچک هضم ناپذیر یا اندک- هضم باشند تا به‌عنوان منبع کربن یا انرژی، رشد و یا فعالیت این ریززنده‌ها را به‌طور انتخابی تحریک کنند. مواد غذایی دارای هر دو عامل پروبیوتیکی و پری-بیوتیکی را سینبیوتیک می‌نامند. اخیراً تولید غذاهای سینبیوتیک، به ویژه در غذای گروه‌های آسیب‌پذیر مانند نوزادان و سالخوردگان، افزایش قابل ملاحظه داشته است. مصرف غذاهای سینبیوتیک میزبان را از دو مزیت سلامت-بخش برخوردار می‌سازد

- اثرات ناشی از افزایش پروبیوتیک‌ها در بدن
- خواص سودمند خود ترکیبات پری‌بیوتیک (۴).

غلات می‌توانند به‌عنوان منبع کربوهیدرات‌های غیر قابل هضم استفاده شوند که حاوی فیبرهای محلول در آب مثل بتا- گلوکان، آرابینواکسی‌لان، الیگوساکاریدها مثل گالاکتو و فروکتو الیگوساکارید و نشاسته پایدار هستند. این فیبرها در کنار آثار مفید فیزیولوژیکی می‌توانند بطور انتخابی رشد پروبیوتیک‌ها را در کولون تحریک کنند و نقش پری‌بیوتیک داشته باشند (۸). اثر تحریک کنندگی محیط‌های غذایی با پایه غلات بر رشد باکتری‌های اسید لاکتیک به اثبات رسیده است. هم‌چنین فرآورده‌های با پایه جو دوسر، دارای اثر تحریک‌کنندگی بر رشد این باکتری‌ها هستند و جمعیت آن‌ها را در مدفوع افزایش می‌دهند. از مزایای دیگر ترکیبات یادشده به کار رفتن آن‌ها در ساخت اگزوپلی- ساکاریدهای باکتریایی است. در عین حال ادعا شده است که این ترکیبات از خاصیت کاهش کلسترول سرم برخوردارند و به دلیل دارا بودن ساختار بتا- گلوکانی نوعی فیبر رژیمی به شمار می-روند که خواص پری‌بیوتیکی دارند (۹). استفاده از دکسترین و پلی‌دکستروز گندم به‌عنوان حاملی مؤثر در گونه‌های مختلف *ل. رامنوسوس* طی فرایند خشک کردن انجمادی و انبارکردن به اثبات رسیده است. این امر منجر به پایداری بیشتر گونه‌های مورد مطالعه در دمای ۲۰°C در غلات صبحانه حاوی پوشش شکلات نسبت به آب سیب (دارای pH پایین‌تر نسبت به شکلات) شده است (۱۰). تثبیت پروبیوتیک بر فیبر غلات و همچنین حضور عصاره غلات در فرآورده نهایی، باعث افزایش مقاومت باکتری طی مرحله هضم در دستگاه گوارش شده و به بالا رفتن توان زنده‌مانی *ل. پلانتاروم* در شیره معده کمک می‌کند (۱۱).

عصاره مالت، گندم و جو اثر حفاظتی بر زنده‌مانی *ل. پلانتاروم*، *ل. اسیدوفیلوس* و *ل. روتری* در حضور فسفات بافر با pH= ۲/۵ داشتند و عصاره مالت نسبت به جو اثر بهتری بر بقای باکتری در مقابل شیره معده و صفرا نشان داده است (۱۲). تثبیت *ل. کازئی* خشک شده در خلاء بر سبوس جو دوسر باعث افزایش قدرت زنده‌مانی باکتری، نسبت به حالت آزاد (باکتری بدون حضور فیبر) می‌شود. به این ترتیب باکتری، در طول دهیدراسیون و انبارمانی، زنده مانده و در شرایط گوارشی، محافظت می‌شود (۱۳).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

هدف از تحقیق حاضر، غنی‌سازی پرک ذرت با باکتری پروبیوتیک ل. روتری و فیبرهای مالت و جو دوسر به‌عنوان پری‌بیوتیک و تولید یک محصول سینبیوتیک بوده است.

مواد و روش‌ها

میکروارگانیسم‌ها و طریقه نگه‌داری: *ل. روتری* PTCC 1655 به‌صورت کشت زنده در محیط جامد از پژوهشکده علمی صنعتی ایران خریداری شده و در $4^{\circ}C$ درجه نگه‌داری شد. از این باکتری ماهانه بر روی آگار MRS درون پلیت کشت فرعی تهیه شد این کار به‌منظور تازه ماندن باکتری انجام شد. به‌منظور فعال‌سازی و آماده‌سازی باکتری هر هفته باکتری از پلیت مذکور وارد محیط براث MRS شد (پیش‌کشت) تا بتوان از آن در آزمایشات استفاده کرد. لوله‌ها به‌صورت بی‌هوازی (درون جار بی‌هوازی) در انکوباتور ºC ۳۷ برای ۱۶ ساعت قرار داده شدند و به‌مدت یک هفته در یخچال برای انجام ادامه آزمایشات قابل نگه‌داری بودند (۱۴).

برای ایجاد شرایط یکسان در تیمارها و تکرارهای آزمایش، منحنی کالیبراسیون رسم شد. بدین منظور OD (دانسیته نوری) نمودار x و شمارش تعداد باکتری‌ها نمودار y را تشکیل دادند. برای محاسبه OD در طول موج ۶۰۰nm از لوله‌های پیش کشت برای هر دو نوع گونه باکتری سری رقت‌ها در سه تکرار تهیه شدند و OD این نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. شمارش مستقیم تعداد باکتری‌ها از رقت‌های 10^{-5}-10^{-1} در سه تکرار توسط میکروسکوپ و ضمن رنگ آمیزی ساده و لام نئوبار انجام شد. در نهایت پس از رسم منحنی، فرمول خط نیز به دست آمد (۱۵).

تهیه عصاره جو دوسر و مالت: برای تهیه عصاره ۱۰ درصد و ۵ درصد جود سر، به ترتیب ۱۰ و ۵ گرم جو دوسر آسیاب شده، به ۹۰ و ۹۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. سوسپانسیون حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در بن‌ماری ۸۰ºC قرار داده شد. سپس در لوله‌های آزمایش تقسیم شده و لوله‌ها درون سانتریفوژ قرار گرفت (۳۵۰۰ rev/min، ۱۰min) بعد به آرامی سوپرناتانت از رسوبات حاصله جدا شد. مقداری از سوپرناتانت حاصله به تنهایی و مقداری از آن هم با محیط MRS Broth مخلوط شده و به‌عنوان محیط مغذی برای رشد باکتری استفاده شد. این مراحل برای مالت هم به‌طور مشابه انجام شد (۱۲).

توسعه تلقیح از پیش کشت به محیط مغذی: لوله‌های پیش‌کشت توسط شیکر کاملاً یکنواخت شده سپس توسط سمپلر به میزان ۱٪ V/V از آن برداشت شده و به محیط مغذی (عصاره یا عصاره بعلاوه MRS Broth) تزریق شد و لوله‌های جدید به‌شکل بی‌هوازی (درون جار بی- هوازی) برای ۲۴ ساعت و بیشتر از آن (۲۴h و ۴۸h) درون انکوباتور ۳۷ºC قرار گرفت. OD لوله پیش کشت توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰nm خوانده شد و توسط منحنی کالیبراسیون تعداد باکتری‌ها محاسبه شد تا در آزمایشات بعدی تعداد باکتری‌ها در هنگام انتقال از پیش کشت به محیط مغذی با آزمایشات قبلی همسان باشد و شرایط آزمایش یکسان نگه داشته شود.

از آنجایی که در این تحقیق از پروبیوتیک تازه استفاده شد، لذا نیاز به اعمال حرارت حذف شده و متابولیت‌های موجود در محیط از دست نمی‌روند. پس بدون نیاز به اعمال حرارت تثبیت پروبیوتیک بر پرک از طریق خشک کردن جذبی صورت پذیرفت. بدین صورت که ماده غذایی خشک سریع آب همراه باتوده زیستی را جذب می‌کند و a_w محصول افزایش قابل توجهی نمی‌یابد. در این تحقیق اثر ۱۱ متغیر مطابق جدول ۱ در دو سطح بر زنده‌مانی باکتری مذکور در محصول توسط طرح آماری پلاکت- برمن مطابق جدول ۲ بررسی شده است.

آماده سازی محصول: پرک ذرت در بسته‌های ۴۰ گرمی توزین شد. مقدار ۱۰٪ یا ۲۰٪ از غله آسیاب شده به عنوان فیبر به آن، اضافه و سپس استریل شد. مراحل تلقیح مطابق روش زیر انجام شد. لوله‌های حاوی باکتری که درون محیط مغذی کشت شده بودند درون سانتریفیوژ با ۳۵۰۰rev/min به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. مایع رویی، به آرامی خارج و رسوبات باکتریایی، نگه داشته شد. سپس توده زیستی (بیومس) با محلول نمک w/v ٪۰/۹استریل، در دو تکرار، شسته و در محلول نمک w/v ٪۰/۹ معلق شد. در نهایت، سوسپانسیون به دست آمده، در مقادیر w/w ٪۲/۵ و ٪۵ درصد توسط نمک‌دان استریل بر روی محصول پاشیده شد. در نهایت محصول در ۲ نوع بسته بندی (کیسه فریزر، فویل آلومینیومی) به دو شکل هوازی و بی‌هوازی و در درجه حرارت‌های $4^{\circ}C$ و $20^{\circ}C$ به‌مدت ۱ و ۲ هفته نگه‌داری شد (۱۶).

شمارش باکتری زنده: برای شمارش سلول زنده از روش پور پلیت استفاده شد بدین صورت که نمونه‌ها با محلول

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

سرم استریل رقیق شده (10^{-6}-10^{-1}) و بر روی MRS Agar کشت داده شدند و در انکوباتور ۳۷ºC برای ۴۸ ساعت انکوبه شدند. سپس کلنی‌های مشخص شده توسط کلنی-کانتر شمارش شده و به شکل $cfu.g^{-1}$ گزارش شد. این کار در شروع نگه‌داری و در طول نگه‌داری انجام گرفت.

محاسبه a_w: نمونه‌ای که بیشترین تعداد باکتری زنده را داشت انتخاب شده و a_w محصول توسط دستگاه سنجش فعالیت آب در دو مرحله اندازه‌گیری شد. در مرحله اول a_wپرک ذرت (محصول) به‌عنوان نمونه شاهد قبل از انجام هرگونه تیمار بر روی آن اندازه‌گیری شد و در مرحله دوم بعد از تولید پرک ذرت سینبیوتیک و نگه‌داری آن به ۲ هفته a_w مجددا مورد ارزیابی قرار گرفت. ابتدا نمونه خوب همگن شده و مقداری از آن آسیاب شد سپس نمونه آسیاب شده وارد دستگاه شد و میزان a_w آن توسط دستگاه خوانده شد (۱۰).

آنالیز حسی: محصول، توسط ۳۰ پانلیست آموزش ندیده با مقیاس هدونیک ۹ تایی چشیده شد و برای بررسی نتایج، از آزمون دانکن و جدول ANOVA با سطح معنی‌داری ۵ درصد استفاده شد. در این مقیاس، انتخاب امتیاز ۱ به معنای حداقل علاقه و انتخاب امتیاز ۹ به معنای حداکثر علاقه است (۱۳). پانلیست‌ها بدون داشتن اطلاعات در مورد محصول، آن را خورده و امتیاز خود را اعلام داشتند. بدین منظور، تیماری که بیشترین تعداد باکتری زنده را داشت به-عنوان بهترین تیمار، با نمونه شاهد مقایسه شد.

طرح آماری: برای تعیین تیمارهای مورد آزمایش، از روش آماری پلاکت- برمن که از زیر شاخه‌های طرح عاملی کسری ۲k یا به عبارتی، یکی از طرح‌های عاملی کسری ۲ سطحی است، استفاده شد. این طرح، از روش‌های معروف غربال‌سازی است و در پژوهش‌های زیست فناوری، کاربردهای متعددی دارد. طراحی پلاکت- برمن برای بررسی اثر متغیرهای فرآیندهای تخمیری، مخصوصاً در زمینه تحقیقات بیوتکنولوژی به وفور استفاده می‌شود (۱۸، ۱۷). نوعی از این طراحی برای بررسی K فاکتور دو سطحی با N آزمایش مناسب می‌باشد (K=N-1)، که در آن N مضربی از ۴ است. با داشتن یازده متغیر در دو سطح و درجه آزادی= ۱-، طبق طراحی با کمک این روش، نیاز به انجام ۱۲ آزمایش خواهد بود. جدول ۱ ماتریس یک طرح ۱۲ آزمایشی پلاکت- برمن برای متغیرهای به کار رفته در این تحقیق را نشان می‌دهد. علامت‌های مثبت و منفی در جدول، نشان دهنده سطح بالا و پایین هر متغیر می‌باشد. بعد از انجام این ۱۲ آزمایش در ۳ تکرار نتایج توسط نرم افزار Minitab (version=11.0) آنالیز شد.

جدول ۱. طراحی پلاکت- برمن برای ۱۱ متغیر در ۲ سطح

شماره آزمایش	نوع محیط کشت	نوع عصاره	مقدار عصاره	نوع بسته‌بندی	شرایط نگه‌داری محصول	نوع فیبر	مقدار فیبر	سن تلقیح	درصد تلقیح	درجه حرارت انبار	زمان نگه‌داری محصول
۱	+	−	+	−	−	−	+	+	+	−	+
۲	+	+	−	+	−	−	−	+	+	+	−
۳	−	+	+	−	+	−	−	−	+	+	+
۴	+	−	+	+	−	+	−	−	−	+	+
۵	+	+	−	+	+	−	+	−	−	−	+
۶	+	+	+	−	+	+	−	+	−	−	−
۷	−	+	+	+	−	+	+	−	+	−	−
۸	−	−	+	+	+	−	+	+	−	+	−
۹	−	−	−	+	+	+	−	+	+	−	+
۱۰	+	−	−	−	+	+	+	−	+	+	−
۱۱	−	+	−	−	−	+	+	+	−	+	+
۱۲	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

اهمیت متغیرهای وابسته انتخابی و سطوح آن‌ها: با هدف زنده‌مانی باکتری، متغیرها و سطوح آن‌ها با توجه به گزارشات محققان دیگر و تجربیات قبلی انتخاب شدند. علت اهمیت این متغیرها در جدول ۲ بیان شده است.

نتایج تعداد باکتری‌های زنده محصول: شمارش باکتری در تمام طول نگهداری بررسی شد و در نمودار ۱ ارائه شده است. در برخی از آزمایش‌ها تعداد باکتری با گذشت زمان افزایش و در بعضی کاهش یافته است. بالاترین میزان زنده مانی *ل. روتری* (تیمار شماره ۱۱) در پی کشت در محیط حاوی ۵٪ عصاره مالت و MRS Broth به مدت ۴۸ ساعت و سپس تلقیح به میزان ۲/۵ ٪ درصد وزنی به پرک ذرت حاوی (w/w) ۲۰٪ فیبر مالت و شرایط بی‌هوازی در کیسه فریزر (دمای C ° ۲۰ به مدت ۲ هفته) معادل $۱۲۳\times۱۰^{۶}\ cfu.g^{-1}$ به دست آمد.

آنالیز آماری زنده‌مانی باکتری: از طرح آماری پلاکت- برمن برای بررسی اثر ۱۱متغیر بر زنده‌مانی باکتری استفاده و نتایج در نمودار ۲ آورده شده است. تمام متغیرهای عملیاتی بر زنده‌مانی *روتری* موثر بوده و به ترتیب عبارتند از نوع فیبر، شرایط نگه‌داری محصول به شکل هوازی یا بی- هوازی، نوع عصاره به کار رفته در محیط کشت، مقدار فیبر اضافه شده به محصول و نوع محیط کشت به کار رفته برای کشت باکتری.

نتایج اندازه‌گیری a_w محصول: a_w نمونه شاهد و نمونه شماره ۱۱ (دارای بیشترین تعداد *L. reuteri*) به وسیله دستگاه a_w سنج اندازه‌گیری شد که نتایج آن به ترتیب شامل ۰/۰۱ ±۰/۲۲، و ۰/۰۱ ±۰/۲۹ بود. نمونه ۱۱ به عنوان بهترین نمونه انتخاب شد .a_w نمونه۱۱ نسبت به نمونه شاهد (بدون حضور فیبر و باکتری) افزایش کمی داشته است ($p>۰/۰۵$) که می‌توان علت این افزایش را استفاده از توده زیستی تازه دانست. در تیمار ۱۱ به علت حضور درصد بالاتر فیبر افزایش کمتری مشاهده شده است.

جدول ۲. متغیرهای مستقل موثر بر تولید پرک ذرت پروبیوتیک و سطوح انتخابی

علامت اختصاری	متغیر وابسته	سطح بالا	سطح پایین	اهمیت متغیر	منبع
A	نوع محیط کشت	عصاره غلات	عصاره غلات+MRS broth	اثر مثبت عصاره بر رشد باکتری‌های اسید لاکتیک	(۸ ،۱۲)
B	نوع عصاره	مالت	جو دوسر	مالت و جو دوسر دارای قند و فیبرهای پری‌بیوتیک هستند	(۸ ،۱۲)
C	مقدار عصاره(%w/v)	۱۰	۵	باکتری به غلظت محدودی از قند اثر مثبت نشان می‌دهد.	(۱۱)
D	نوع بسته‌بندی	فویل آلمینیومی	کیسه فریزر	اثر نفوذ اکسیژن به داخل بسته بر زنده‌مانی باکتری	-
E	شرایط نگه‌داری محصول	بی‌هوازی	هوازی	باکتری انتخابی بی‌هوازی اختیاری است.	(۱)
F	نوع فیبر	مالت	جو دوسر	نقش حفاظتی فیبرها برای باکتری پروبیوتیک	(۱۱)
G	مقدار فیبر(% w/w)	۲۰	۱۰	تاثیر میزان فیبر بر زنده‌مانی باکتری و خواص حسی محصول	(۲۳)
H	سن تلقیح(h)	۴۸	۲۴	طولانی شدن فاز تاخیر با الیگوساکاریدها	(۲۲)
J	درصد تلقیح(%w/w)	۵	۲/۵	اثر میزان تلقیح بر تولید توده زیستی	(۱۶)
K	درجه حرارت انبار(°C)	۲۰	۴	دمای C ۲۰° و ۴° به‌عنوان دمای محیط و دمای یخچال	(۱۰)
L	زمان نگه‌داری محصول	۲ هفته	۱ هفته	_	_

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

جدول ۳. نتایج حاصل از ارزیابی حسی پرک ذرت سینبیوتیک حاوی بیشترین میزان زنده‌مانی باکتری *L. reuteri* و مقایسه آن با نمونه شاهد

نمونه	شاخص‌های حسی			
	مزه	عطر	پذیرش کلی	مجموع امتیاز
شاهد	۶/۵	۵	۶/۵	۱۸
۱۱	۵/۳	۴/۵	۴/۹	۱۴/۷
ضریب طعم (مزه و عطر): ۰/۶				

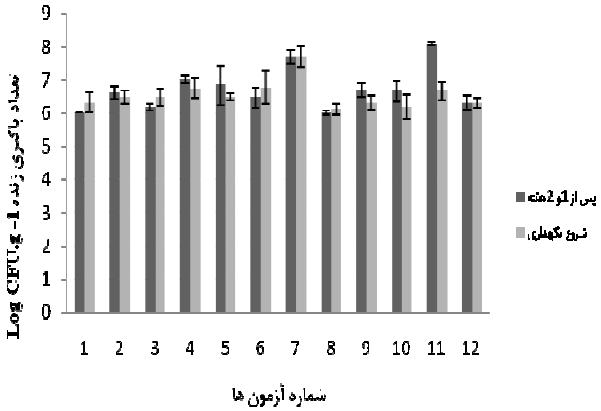
آنالیز حسی: با توجه به نتایج به‌دست آمده از زنده‌مانی پروبیوتیک مورد نظر تیمار شماره ۱۱ و یک نمونه شاهد (پرک ذرت بدون هیچ گونه تغییری) توسط مقیاس هدونیک ۹ تایی به‌وسیله‌ی ۳۰ ارزشیاب (افراد معمولی که هیچ اطلاعی از تفاوت بین تیمارها نداشتند) مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۳).

با استفاده از جدول ANOVA و آزمونF نتایج بررسی شد. F>۰/۰۵ بدست آمد، در نتیجه تیمار ۱۱ تفاوت معنی‌داری از نظر مزه، عطر و پذیرش کلی نداشت. میانگین‌ها با آزمون مقایسه میانگین Dunkan در سطح معنی‌دار ۵٪ بررسی شد و تمامی آن‌ها در یک گروه دسته بندی شدند یعنی تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند.

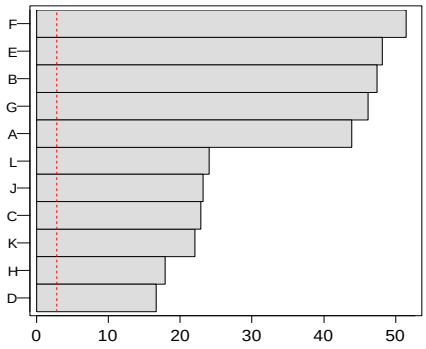
بحث

همان‌طور که اشاره شد محیط حاوی عصاره غله و MRS Broth برای باکتری مناسب بود. MRS Broth یک محیط مغذی مناسب برای رشد تمامی پروبیوتیک‌ها است و عصاره غلات هم منبع خوبی از گلوکز، مالتوز و آمینو نیتروژن آزاد (FAN) است در نتیجه ترکیب این دو با هم نتیجه بهتری داشت. در ضمن عصاره مالت تاثیر بهتری نسبت به جو دوسر داشت. علت آن را می‌توان میزان قند احیا و قند کلی بالاتر مالت نسبت به جو دوسر دانست که طی شکستن نشاسته در پروسه مالتینگ بوجود آمده است. با این وجود در مورد *L. reuteri* عصاره مالت با درصد پایین ((w/v)۵٪) برای باکتری مناسب بود. علت این امر را می‌توان افزایش فشار اسمزی محیط در پی حضور میزان بالای قند عصاره مالت دانست. در مطالعات دیگر هم زمانی که مقدار مالتوز یا گلوکز (هر دو در عصاره غلات حضور دارند) از میزان g/L ۸/۳۳ تجاوز کرده باعث کاهش زنده‌مانی باکتری شده است (۱۲). بسته‌بندی محصول درون کیسه فریزر برای *L. reuteri* موثر واقع شده است که علت آن را می‌توان چنین دانست: کیسه فریزر (پلی‌اتیلن با دانسیته پایین= LDPE) یک سد کاربردی محسوب می‌شود. می‌توان گفت که سد مناسبی برای رطوبت است ولی گازهایی مثل اکسیژن را بیشتر عبور می‌دهد. در ضمن، *L. reuteri* معمولا در شرایطی با اکسیژن محدود کشت می‌شود. شاید بتوان نتیجه گرفت که مهاجرت اکسیژن از محیط به محصول برای زنده‌مانی باکتری اثر مثبت را بازی کرده است. نگه‌داری محصول در شرایط بی‌هوازی با توجه به رفتار بی‌هوازی اختیاری باکتری، حضور (w/w) ۲۰٪ فیبر مالت (برای تهیه فیبر، دانه کامل غله آسیاب شد) با داشتن فیبرهای پری‌بیوتیک و مواد مغذی مورد نیاز باکتری، برای رشد باکتری مناسب بوده است. این ادعا با اظهارات محققان در مورد اثرات مثبت فیبر بر زنده‌مانی باکتری و اثر مثبت افزایش درصد فیبر بر زنده‌مانی باکتری مشابه است (۱۳، ۱۱). سن تلقیح مناسب برای باکتری *L. reuteri* ۴۸h تخمین زده شد. حضور گالاکتوالیگوساکاریدها و فروکتوالیگوساکاریدها و فیبرهای محلول عصاره غلات در محیط کشت به‌عنوان منبع کربن باعث طولانی شدن فاز تاخیر لاکتیک اسید باکتری‌ها می‌شود (۲۲، ۲۱). حضور الیگوساکاریدها (فیبر پری‌بیوتیک) می‌تواند باعث طولانی شدن فاز تاخیر *L. reuteri* حتی برای بیش از ۲۴ ساعت شود (۲۰). هرگاه تعداد باکتری‌ها در یک مقدار مشخصی از محیط (محصول) کمتر باشد به علت دسترسی بیشتر به مواد مغذی زنده‌مانی بیشتری هم حاصل شده در نتیجه میزان تلقیح (w/w) ۲/۵٪ برای باکتری مناسب واقع شد (۱۶). با توجه به رشد بسیار کند باکتری در دمای $4^{\circ}C$، دمای نگه‌داری $20^{\circ}C$ اثر بهتری نشان داد. ۲ هفته نگه‌داری محصول نیز مناسبتر بود زیرا به باکتری زمان لازم برای سازگار شدن با محیط داده شده است.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]



شکل ۱. تغییرات قابلیت زیستی *L. reuteri* تلقیح شده در پرک ذرت غنی‌شده با فیبر مالت یا جو دوسر قبل و بعد از نگه‌داری



شکل ۲. سطح تاثیر متغیرها بر قابلیت زیستی *L. reuteri* تلقیح شده برپرک ذرت در طی نگه‌داری

a_w محصول: فعالیت آب در نمونه شماره ۱۱ نسبت به نمونه شاهد (بدون حضور فیبر و باکتری) افزایش کمی داشته است ($p>۰/۰۵$) می‌توان علت این افزایش را استفاده از توده زیستی تازه **دانست**. در تیمار ۱۱ به علت حضور درصد بالاتر فیبر افزایش کمی مشاهده شد. در واقع محصول خشک (پرک ذرت) آب بیومس تازه را به خود جذب کرده و a_w کمی افزایش یافته است اما تفاوت معنی‌داری بین محصول با نمونه شاهد ایجاد نشده که باعث ایجاد مشکلات ثانویه برای محصول شود یا نیاز به خشک کردن مجدد باشد (۱۶).

نتیجه‌گیری

همان طور که در یافته‌ها مشخص شد تیمار شماره ۱۱شرایط بهینه را برای باکتری فراهم آورده است. محیط MRS Broth که توسط عصاره مالت (w/v) ۵٪ غنی‌شده بهترین تأثیر را نسبت به محیط‌های دیگر بر رشد باکتری *L. reuteri* داشته به طوری که تمام نیازهای باکتری را برآورده و باکتری را دچار استرسی (مثل فشار اسمزی حاصل از میزان بالای قند) نکرده است. درصد بالای فیبر مالت در محصول با داشتن میزان بالای قند از جمله: گلوکز و مالتوز، به‌خصوص مالتوز توانسته در طول دو هفته نگه‌داری باعث سازگار شدن باکتری با محیط شود. وقتی باکتری از محیط حاوی عصاره مالت به محصول دارای فیبر مالت تلقیح شده است بر سازگار شدن باکتری با محصول موثر واقع شده است. در تحقیق کنونی که بر میزان زنده‌مانی باکتری در طی انبارداری متمرکز شده است، فیبر مالت (آرد مالت) در مورد *L. reuteri* تأثیر بهتری نسبت به فیبر جو دوسر (آرد جو دوسر) داشت علت این تفاوت را می‌توان به میزان زیاد قند در مالت نسبت داد. گلوکز، مالتوز و سوکروز برای باکتری نقش حفاظت کننده بازی می‌کنند و پایداری باکتری را در طی انبارداری بالا می‌برند. البته حضور عصاره غلات در محیط کشت همراه با فیبر غلات در محصول یک اثر هم-افزایی بر زنده‌مانی باکتری داشته است. تلقیح باکتری به پرک ذرت (حامل مناسب برای پروبیوتیک‌ها) و به غنی‌سازی آن به‌وسیله آرد غلات که حاوی مواد مورد نیاز باکتری و فیبر پری‌بیوتیک از جمله بتا- گلوکان است، زنده‌مانی خوبی در طی انبارداری را نتیجه داده است و با حضور قندهایی مثل سوکروز و فیبرهای پری‌بیوتیکی مثل بتا- گلوکان انتظار می‌رود که زنده‌مانی باکتری در برابر اسید معده و شیره صفرا نیز مناسب باشد. محصول تولید شده از نظر ویژگی‌های حسی با محصول غنی‌نشده تفاوت معنی‌داری نداشت و a_w محصول هم افزایش قابل توجهی نداشت. در نتیجه استفاده از فرمولاسیونی که حاوی فیبر غلات باشد نه تنها ارزش تغذیه‌ای محصول را بالا برده و امکان ایجاد محصول سینبیوتیک را ایجاد می‌کند بلکه می‌تواند راه حلی باشد بر وارد شدن سبوس غلات در غذای انسان که دارای خواص سلامت‌بخش فراوانی هستند.

سپاسگزاری

این مقاله از پایان‌نامه‌ی دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و کمک کمیته تحقیقات دانشجویی این دانشگاه برگرفته شده‌است.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

References

1. Font de Valdez G, Gerez CL, Torino MI, Rollán G. New Trends in Cereal - based Products Using Lactic Acid Bacteria. In: Mozzi F, Raya R, Vignolo G editors. Biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications. 1st ed. Iowa: John Wiley and Sons; 2010: 289-273.

2. Sumithra B, Bhattacharya S. Toasting of corn flakes: product characteristics as a function of processing conditions. J Food Eng 2008; 88: 428-419.

3. Jessri M, Mirmmiran P, Golzarand M, Rashidkhani B, Hosseini-Esfahani F, Azizi F. Comparison of trends in dietary pattern in Iran, Middle Eastern and North African countries from 1961 to 2005. Pejouhandeh 2011; 16(1): 10-1.

4. Mortazavian AM, Sohrabvandi S. Review of Probiotics and Probiotic Food Products (with enphasis on dairy products). 1st ed. Tehran: Ata 2007. p. 147-2.

5. Espinoza Y, Gallardo-Navarro Y. Non-dairy products. Food Microbiol 2010; 27: 11-1.

6. Ranadheera R, Baines SK, Adams MC. Importance of food in probiotic efficacy. Food Res Int 2010; 43: 7-1.

7. Yoon KY, Woodams E, Hang Y. Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria. The J Microbiol 2004; 4: 318-315.

8. Charalampopoulos D, Wang R, Pandiella SS, Webb C. Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. Int J Food Microbiol 2002; 79: 141-131.

9. Sindhu SC, Khetarpaul N. Probiotic fermentation of indigenous food mixture: effect on antinutrients and digestibility of starch and protein. J. Food Compos Anal 2001; 14: 609-601.

10. Saarela M, Virkajarvi I, Nohynek L, Vaari A, Matto J. Fibres as carriers for Lactobacillus rhamnosus during freeze drying and storage in apple juice and chocolatecoated breakfast cereals. Int J Food Microbiol 2006; 112: 178-171.

11. Michida H, Tamalampudi S, Pandiella S, Webb C, Fukuda H, Kondo A. Effect of cereal extracts and cereal fiber on viability of Lactobacillus plantarum under gastrointestinal tract conditions. Biochem Eng J 2006; 28: 78-73.

12. Charalampopoulos D, Pandiella SS, Webb C. Evaluation of the effect of malt, wheat and barley extracts on the viability of potentially probiotic lactic acid bacteria under acidic conditions. Int J Food Microbiol 2003; 82: 141-133.

13. Guergoletto K, Magnani M, San Martin J, Andrade C, Garcia S. Survival of Lactobacillus casei (LC1) adhered to prebiotic vegetal fibers. Innov Food Sci Emerg Technol 2010; 11: 421-415.

14. Anonymous. Quality control for commercially prepared microbiological culture media. Approved Standard Seventh Edition 19 2004.

15. Shariatzadeh SMA, Majd A. Practical Guide for Cell & Molecular Biology. 2nd ed. Arak: Arak University 2010.p. 83-69.

16. Riveros A, De Reu J, Wood R, Daebyshire R, Knauf H, Cavadini. Consumable product containing probiotics. Eur Pat Off 2004; 18-1.

17. KhosraviDarani K, Zoghi A. Comparison of pretreatment strategies of sugarcane baggase: experimental design for citric acid production. BioresourTechnol 2008; 99: 6993–6986.

18. KhosraviDarani K, VasheghaniFarahani E, Shojaosadati SA. Application of the Plackett Burman design for the optimization of poly(βhydroxybutyrate) production by Ralstonia eutropha. Iran J Biotechnol 2003; 1(3): 161-155.

19. Charalampopoulos D, Pandiella S. Survival of human derived Lactobacillus plantarum in fermented cereal extracts during refrigerated storage. Food Sci Technol 2010; 43:431-5.

20. Zwietering MH, Jongenburger I, Rombouts FM, Riet K. Modeling of the bacterial growth curve. Appl Environ Microbiol 1990; 56: 1881-1875.

21. Emanuel V, Adrian V, Ovidiu P, Gheorghe C. Isolation of a Lactobacillus plantarum strain used

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

for obtaining a product for the preservation of fodders. African J Biotechnol 2005; 4: 408-403.

22. Kneifel W, Rajal A, Kulbe K.D. Invitro behavior of probiotic bacteria in culture with carbohydrates of prebiotic importance. Microb Ecol Health Disease 2000; 12: 34-27.

23. Dutocosky S, Grossmann V, Silva RS, Welsch A. Combined sensory optimization of a prebiotic cereal product using multicomponent mixture experiments. Food Chem 2006; 98: 638-630.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

Enrichment of Corn Flakes by *Lactobacillus reuteri*

Dadgar M[1], Khosravi-Darani K[2], Sohrabvandi S,[3] Ahmadi N[4]*

1- Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

*2*Corresponding author: Associate prof (in Research), Dept. of Food Technology Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: kiankh@yahoo.com*

3- Assistant prof , Dept. of Food Technology Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Students` Research Committee, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Background and Objective: Nowadays corn flakes are the most common form of breakfast cereals which Vitamins that declined during baking and sweet flavors are added in the final step. In this research, production of synbiotic corn flakes by *Lactobacillus reuteri* as well as incorporation of oat and malt fiber as prebiotics has been studied.

Materials and Methods: Plackett-Burman statistical design was used to evaluate the impact of 11 process variables (in 2 levels) on the viability of probiotic bavterium. So, 12 treatments were conducted in triplicates and analyzed statistically by software Minitab (11.0) in the significance level of α= 1%. Flavor, odor and overall acceptabilitty of Synbiotic Corn Flakes contain the highest number of viable bacteria were compared with control sample by the scale Hedonic 9 pieces and results were analyzed by a completely randomized design and F test. Also mean comparison was conducted by Dunkan method by SPSS software (11.0) in the significance level of α= 5%.

Results: The highest survival of *L. reuteri* (123 ×106 cfu/g) was achieved when the 48h cultured bacteria grown in medium contacting 10% malt extract (and MRS Broth) was inoculated (2.5%w/w) to corn flakes enriched by 20% malt fiber, and kept in anaerobic conditions inside the polypropylene cover at 20°C for 2 weeks. Sensory parameters (flavor, odor and overall acceptability) and water activity did not show any significant difference with control ($p>0.05$).

Conclusion: Malt fiber (malt flour) shows a significant impact on stability and viability of *L. reuteri* in product. Oat fiber (oat flour) has greater effect due to high content of sugar in malt.

Keywords: Corn flakes, Synbiotic, Probiotic, Prebiotic, Plackett-Burman design, *L. reuteri*

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]