Archive of SID

بررسی تأثیر افزودن بیوسورفکتانت بر خواص رئولوژیکی خمیر نان بربری

هانیه صادقی[a*]، حمید راشدی[b]، مهناز مظاهری اسدی[c]، وحیده مرادی[d]، عاطفه صادقی[e]

[a] کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاداسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
[b] استادیار دانشکده مهندسی شیمی، پردیس دانشکده های فنی دانشگاه تهران
[c] دانشیار گروه بیوتکنولوژی سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران
[d] کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
[e] کارشناس زیست شناسی- میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۴/۱۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۴/۲۷

چکیده

مقدمه: نان به عنوان مهمترین منبع تأمین کننده انرژی و پروتئین بسیاری از مردم جهان نظیر ایران مطرح است. در تولید صنعتی نان، خواص رئولوژی خمیر بسیار مهم است. گروهی از ترکیبات شیمیایی صنعتی تقویت کننده‌های خمیر هستند که عوامل فعال در سطح (سورفکتانت) می‌باشند. این ترکیبات در تهیه خمیر استفاده می‌شوند تا خمیری با خواص مطلوب حاصل شود. به طور کلی تأثیر این اجزا بر رئولوژی خمیر کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. افزایش آگاهی در میان مصرف کنندگان عامل مؤثری در افزایش درخواست برای ترکیبات غذایی و افزودنی‌های طبیعی به جای ترکیبات شیمیایی است. در عصر جدید و با توسعه فناوری بیوتکنولوژی، گروهی از سورفکتانت‌های طبیعی با منشأ میکروبی تحت عنوان بیوسورفکتانت (Biosurfactant) مطرح می گردد که در این پژوهش بررسی تأثیر بیوسورفکتانت (امولسان) بر خواص رئولوژیکی خمیر نان بربری بررسی شد.

مواد و روش ها: امولسان از باکتری *Acinetobacter calcoaceticus* تولید و با روش سولفات آمونیوم استخراج شد. سپس در سطوح ۰/۰۵ ، ۰/۲، ۰/۵ ، ۰/۷۵ و ۱ درصد به آرد گندم اضافه گردید و ویژگیهای رئولوژیکی آن با ویژگیهای خمیر آرد شاهد توسط دستگاههای فارینوگراف و اکستنسوگراف مورد مقایسه و بررسی قرار گرفت.

یافته ها: بیوسورفکتانت (امولسان) از باکتری *Acinetobacter calcoaceticus* به میزان ۱/۴۹ گرم در هر لیتر محیط کشت تولید شد. طبق نتایج بدست آمده، با افزودن بیوسورفکتانت جذب آب در آردهای حاوی امولسان از ۵۹/۹ در نمونه شاهد به ۶۱/۳، ۶۳/۴، ۶۵/۲، ۶۷/۵، ۶۸/۲ به ترتیب در تیمارهای ۰/۰۵، ۰/۲، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ درصد می رسد. آزمایشات نشان داد که زمان گسترش خمیر نان بربری هنگام استفاده از بیوسورفکتانت نسبت به نمونه شاهد بیشتر است به طوریکه از ۳/۳۵ در نمونه شاهد به ۳/۴۵، ۴، ۴/۵۵، ۴/۶۰و ۴/۷۵ به ترتیب در نمونه های حاوی ۰/۰۵، ۰/۲، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ درصد امولسان افزایش یافته است. همچنین طبق نتایج تیمار امولسان در مقایسه با نمونه شاهد به طور معنی داری کشش پذیری و پایداری خمیر نان بربری را افزایش می دهد به این ترتیب که میزان پایداری از ۳/۲۵ در نمونه شاهد به ۳/۳۵، ۴/۰۵ ، ۵/۵۵ ، ۵/۶۰ و ۵/۹۵ به ترتیب در نمونه های ۰/۰۵، ۰/۲، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ درصد افزایش یافته است.

نتیجه گیری: خمیر نان بربری تهیه شده با بیوسورفکتانت قوی تر بوده و پایداری بیشتری را نسبت به خمیر شاهد نشان می دهد. بهترین نتایج از استفاده ۰/۵ درصد بیوسورفکتانت (امولسان) حاصل شده است.

واژه های کلیدی: *امولسان، بیوسورفکتانت، ویژگیهای رئولوژیکی خمیر*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: hani19s@yahoo.com

jftn.srbiau.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

نان به عنوان مهمترین منبع تأمین کننده انرژی و پروتئین بسیاری از مردم جهان نظیر ایران مطرح است و اهمیت این محصول بر کسی پوشیده نیست (قارونی، ۱۳۸۲). نان به عنوان یک غذای پایه همواره مطرح می باشد. طبق آمار، در کشور ما نان به تنهایی ٪۸۰ از غذای مردم را تشکیل می‌دهد (پایان، ۱۳۸۰). از گذشته تاکنون نانواها، دانشمندان غلات و محققین، علاقمند به درک و فهم و اندازه‌گیری خصوصیات اساسی و مکانیکی خمیر آرد گندم بوده‌اند. این علاقه باعث بوجود آمدن خصوصیات خمیر آرد گندم در قالب رئولوژی خمیر شده است. در تولید صنعتی نان، خواص رئولوژی خمیر بسیار مهم است. با توجه به اهمیت فوق‌العاده رئولوژی خمیر در تمامی مراحل پخت نان، اصول اساسی رئولوژی هنوز در صنعت نانوایی به کار گرفته نمی‌شود. یکی از دلایل آن پیچیدگی رئولوژی خمیر است، زیرا خمیر نان نه تنها یک سیستم چند فازی محسوب می‌گردد بلکه شامل عناصر و اجزاء زیادی بوده که هرکدام بر خواص رئولوژیکی آن تأثیر می‌گذارند. بسیاری از این خواص رئولوژیکی نتیجه فعل و انفعالات ترکیبات خمیر هستند بطوریکه تقریباً تمامی ترکیبات نان بر آن تأثیرگذار می‌باشند (جرارد هیسن هاتل، ۱۳۸۱). گروهی از ترکیبات که در صنعت نانوایی کاربرد دارند تقویت کننده‌های خمیر هستند که عوامل فعال در سطح (سورفکتانت) می‌باشند. این ترکیبات گروهی از ترکیبات شیمیایی صنعتی‌اند که از پرکاربردترین مواد در صنایع و فراورده‌های مختلف به شمار می‌روند (Desai and Banat, 1997). سورفکتانها ترکیبات آمفی فیلیک می‌باشند که از دو بخش هیدروفوبیک (غیر قطبی) و هیدروفیلیک (قطبی) تشکیل شده‌اند. به طور کلی تأثیر این اجزا بر رئولوژی خمیر کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است اگرچه توانایی آنها در افزایش مقاومت خمیر نشانگر این مطلب است که این اجزاء بر اجزای الاستیک موجود در خمیر تأثیر می‌گذارند (Wilson *et al.*, 2004). DATEM، SSL، GMS و پلی سوربات به طور معمول جهت استحکام خمیر استفاده می‌شوند و در نتیجه خمیر حاوی آن حجیم‌تر بوده و ساختار مغز محصول بهبود می‌یابد (Rosell *et al.*, 2001). بنابراین امولسیفایرها برای تهیه خمیر استفاده می‌شوند تا خمیری با خواص مطلوب حاصل شود. بیشترین مصرف امولسیون کننده های (سورفکتانت) غذایی مربوط به محصولات نانوایی است. آمارهای جدید نشان می‌دهند که سالانه حدود ۱۸۰ هزار تن انواع امولسیفایر در صنعت غذا استفاده می شود که حدود ۵۰ ٪ کل این مقدار مربوط به محصولات نانوایی است. تولید سالانه امولسیون کننده های غذایی از رشدی حدود ۳٪ برخوردار است. اغلب امولسیفایرهای موجود از نوع سنتتیک و شیمیایی می باشند (جرارد هیسن هاتل، ۱۳۸۱). در طی نیم قرن گذشته، علاقه مصرف کنندگان به غذاهای طبیعی یا آنهایی که به کمترین میزان فراوری شده‌اند، افزایش یافته است. کشف دیوکسان در پلی سوربات و حذف آنها، علت بسیاری از نگرانی‌ها و اعتراضات مربوط به افزودنی‌های سنتزی را نشان داده است. در سال ۱۹۹۴ مدلی ابداع شد که به کمک آن تأثیر سورفکتانت‌ها بر سلول‌های مخاط معده و روده بررسی می‌شود. بر این اساس هشدارهایی در مورد احتمال نفوذ امولسیون کننده‌های غذایی تک زنجیره مانند لیزوفسفاتیدیل کولین و سدیم استئارویل لاکتیلات بر این سلولها (مخاط معده و روده) داده شده است. بنابراین افزایش آگاهی در میان مصرف کنندگان عامل مؤثری در افزایش درخواست برای ترکیبات غذایی و افزودنیهای طبیعی است. از دیرباز، میکروب‌ها در صنعت غذا برای تولید محصولات کشت داده شده‌ای مانند ماست و پنیر مورد استفاده قرار می گرفته‌اند. با توسعه منطقی این تکنولوژی می‌توان ارگانیسم‌های با درجه خوراکی[1] بدست آورد که سورفکتانت‌های طبیعی (بیوسورفکتانت) تولید کنند. بنابراین در عصر جدید و با توسعه فناوری بیوتکنولوژی دسته دیگری از سورفکتانت‌های طبیعی با منشأ میکروبی تحت عنوان بیوسورفکتانت (Biosurfactant) مطرح می گردد (Toufeili and Shadarevian, 1995). این ترکیبات توسط میکروارگانیسمهای مختلف و با ساختارهای متنوع تولید می‌شوند. از میان بیوسورفکتانتها تنها رامنولیپیدها[2] در صنعت نانوایی مورد بررسی قرار گرفته‌اند (Van Haesendonck and Vanzeveren, 2004). یکی

[1] Food Grade

[2] Rhamnolipids

www.SID.ir

Archive of SID

دیگر از انواع بیوسورفکتانت‌های غذایی امولسانها می‌باشند. امولسان یک بیوسورفکتانت لیپوپلی ساکاریدی خارج سلولی با وزن مولکولی ۱۰۰۰ کیلودالتون است که از باکتری *Acinetobacter calcoaceticus* تولید می‌شود. ساختمان این پلیمر از دو قسمت هیدروفیلیک و هیدروفوبیک تشکیل شده است (Goldman *et al*., 1982). بنابراین انتظارمی رود که افزودن بیوسورفکتانت (امولسان) به فرمولاسیون خمیر نان بربری، بتواند ویژگیهای رئولوژیکی آن را ارتقاء بخشد، به عبارت دیگر باعث افزایش استحکام و قوت خمیر شده و خواص آن را بهبود دهد. همانگونه که ذکر گردید در رابطه با تأثیر انواع مختلف بیوسورفکتانت تنها تأثیر رامنولیپیدها در این رابطه بررسی شده است. در سال ۲۰۰۴ استفاده از رامنولیپیدها (بیوسورفکتانت) در محصولات نانوایی مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش تأثیر رامنولیپید در افزایش حجم نان، پایداری خمیر، بهبود بافت پوسته و مغز نان طی فرایند پخت انجام شد. ارزیابی های انجام شده نشان داد که افزودن حدود ۰/۰۲٪ تا ۰/۵٪(w/w) از رامنولیپید (بیوسورفکتانت) به آرد باعث بهبود استحکام خمیر، افزایش حجم، بهبود بافت و همچنین افزایش پایداری در محصول می‌گردد. بنابر این می‌توان از رامنولیپیدها (بیوسورفکتانت‌ها) به عنوان جایگزین سورفکتانت های شیمیایی استفاده نمود (Van Haesendonck and Vanzeveren, 2004).

در تحقیق حاضر تأثیر افزودن بیوسورفکتانت (امولسان) بر روی خواص رئولوژیکی خمیر نان بربری مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور در فرمولاسیون آن، سطوح ۰/۰۵، ۰/۲، ۰/۵، ۰/۷۵و ۱ درصد (w/w) از این بیوسورفکتانت استفاده شد که ضمن بررسی تأثیر آن بر خصوصیات رئولوژیکی، تعیین میزان درصد بهینه آن نیز از اهداف این تحقیق می باشد.

مواد و روش ها

- میکروارگانیسم مورد استفاده

میکروارگانیسم استفاده شده برای تولید امولسان *Acinetobacter calcoaceticus* بود که از مرکز کلکسیون میکروارگانیسمهای عفونی و صنعتی ایران دریافت شد. باکتری در محیط Nutrient Agar در لوله به صورت اسلنت کشت داده شد. سپس اسلنتها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند (Chamanrokh *et al*., 2008).

- تهیه کشت اولیه (پری کالچر[1])

بدین منظور، ۱۰۰ سی سی محیط کشت نوترینت براث در ارلنهای ۵۰۰ سی سی تهیه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱ اتمسفر درون اتوکلاو استریل گردید. سپس از محیط کشت استریل و خنک شده تحت شرایط استریل لام تهیه شد و پس از اطمینان از غیر آلوده بودن آن، با ۹۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل، سطح اسلنت شسته و سپس ۳ میلی لیتر از سوسپانسیون به درون لوله کوت دستگاه اسپکتروفتومتر کالیبر شده ریخته شد و هنگامی که جذب نوری آن در طول موج ۶۰۰ nm به ۱ رسید، ۱ درصد به محیط پری کالچر تلقیح گردید. سپس پری کالچرها روی شیکر انکوباتور با دور ۱۸۰ rpm در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت و هر چند ساعت (معمولاً ۲ ساعت) OD در ۶۰۰nm اندازه گیری گردید و پس از ۱۷ ساعت در ۶۰۰ nm و انتخاب۱ =OD برای کشت مورد استفاده قرار گرفت(Chamanrokh *et al*., 2008).

- تهیه کشت

هنگامیکه در طول موج ۶۰۰ نانومتر، ۱ = OD شد، به محیط کشت نمکهای معدنی تهیه شده استریل که هر کدام ۱۰۰۰ میلی لیتر بوده و در ارلنهای ۵۰۰۰ میلی لیتر ریخته شده بودند از روغن سویای استریل و ۵٪ از محیط پری کالچر، تحت شرایط استریل تلقیح شد. سپس ارلنها در شیکر انکوباتور با دور ۲۰۰rpm در دمای ۳۰ درجه به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شدند(Chamanrokh *et al*., 2008).

- استخراج فراورده

پس از اتمام زمان اتوگذاری جهت جداسازی باکتریها، محیط کشت با دورrpm ۸۰۰۰ در ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد. سپس به منظور بررسی تولید امولسان در محیط، سوپرناتانت مورد آزمونهای همولیز اریتروسیتهای خون گوسفند و بررسی توانایی امولسیفیکاسیون قرار گرفت.

[1] Preculture

www.SID.ir

Archive of SID

پس از ایجاد نتایج مطلوب در آزمونهای تشخیصی فوق، جهت استخراج امولسان از روش سولفات آمونیوم استفاده شد. برای این منظور حدود۵۰ درصد سولفات آمونیوم اشباع به سوپرناتانت افزوده شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه قرار داده شد. با افزودن سولفات آمونیوم، امولسان رسوب کرده، از طریق سانتریفیوژ جدا شد. رسوب حاصل در ۲ میلی لیتر محلول بافر فسفات قرار گرفت. پس از این مدت، رسوب حاصل مجدداً از طریق سانتریفیوژ (۸۰۰۰ rpm به مدت ۴۰ دقیقه) جدا شده و با روش لیوفیلیزاسیون خشک شد(Gutnick and Moshav, 1989).

- خالص سازی امولسان

پودر امولسان در دستگاه سوکسله با دی اتیل اتر به صورت خالص درآمد (Gutnick and Moshav, 1989).

- آزمایشات رئولوژیکی خمیر

ویژگی های فیزیکوشیمیایی آرد مورد استفاده در جدول ۱ مشخص گردیده است. ویژگیهای رئولوژیکی خمیرهای تهیه شده از آرد شاهد و تیمارهای حاوی ۰/۰۵، ۰/۲، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ درصد (w/w) امولسان، توسط دستگاه فارینوگراف و اکستنسوگراف برابندر و به ترتیب، مطابق با روش AACC شماره‌های ۲۱-۵۴ و ۱۰-۵۴ تعیین شدند (AACC ,1995).

تجزیه و تحلیل آماری

طرح آماری در قالب فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در دو تکرار انجام گرفت. جهت مقایسه میانگینها و بررسی اثرات ساده و متقابل تیمارها از آزمون دانکن استفاده شد و نرم افزار SPSS در این آزمونها بکار برده شد و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

یافته ها

پس از تهیه باکتری *Acinetobacter calcoaceticus* از مرکز کلکسیون میکروارگانیسمهای عفونی و صنعتی ایران، سویه کشت داده شده بر روی اسلنت مورد بررسی مورفولوژیکی قرار گرفت.

به منظور بررسی تولید امولسان در محیط کشت، سوپرناتانت مورد آزمونهای همولیز اریتروسیتهای خون گوسفند و بررسی توانایی امولسیفیکاسیون و کشش سطحی قرار گرفت (Chamanrokh *et al*., 2008; Francy, 1997).

بررسی فعالیت همولیتیک که به وجود بیوسورفکتانت‌ها نسبت داده می شود به علت سادگی و سرعت بالا و عدم نیاز به امکانات پیچیده آزمایشگاهی به عنوان یکی از معیارهای انتخاب اولیه باکتریهای مولد بیوسورفکتانت مورد استفاده قرار گرفت. این کار به منظور اثبات تولید امولسان با استفاده از ویژگی همولیز اریتروسیتهای خون گوسفند صورت گرفت. بیوسورفکتانت‌ها از جمله متابولیتهایی هستند که به دلیل توانایی تخریب غشاء گلبول قرمز در محیطهای خون دار ایجاد همولیز می‌کنند (Rosenberg and Ron, 1999; Chamanrokh *et al*., 2008).

در این تحقیق از روش چاهک آغشته به محیط کشت حاوی امولسان استفاده شد. در پلیتهای Blood Agar حاوی خون دفیبرینه گوسفند چاهکهایی ایجاد شد. سپس محیط کشت حاوی امولسان در آن ریخته و در حرارت ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴–۴۸ ساعت گرمخانه گذاری شد (شکل ۱).

کشش سطحی به روش Du Nouy Ring Method و با استفاده از دستگاه تنسیومتر Kruss مدل K12 اندازه‌گیری شد. دستگاه دارای حلقه‌ای از جنس پلاتین است که در مایع (محیط کشت و سوپرناتانت) غوطه ور می‌شود. در این هنگام نیروی وارد بر این حلقه روی صفر تنظیم می‌گردد. سپس حلقه به آرامی از درون مایع به خارج کشیده می شود. نیرویی که هنگام خارج کردن حلقه از سطح مایع توسط دستگاه ثبت شده است (حداکثر نیروی ثبت شده) به عنوان کشش سطحی در نظر گرفته می‌شود (Gutnick and Moshav, 1989).

جدول ۱- ویژگی های فیزیک و شیمیایی آرد

رطوبت	خاکستر	پروتئین	گلوتن مرطوب	گلوتن خشک	ایندکس گلوتن	عدد زلنی	عدد فالینگ
۱۳/۲۰ درصد	۰/۷۳ درصد	۱۱/۰۲ درصد	۲۶/۹ درصد	۰/۸۷ درصد	۷۷/۸۷ درصد	۱۹/۵میلیمتر	۴۹۰ ثانیه

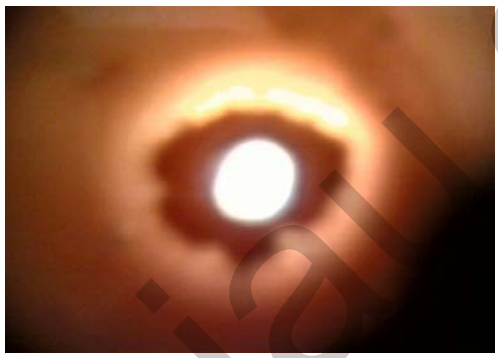
www.SID.ir

Archive of SID

توانایی امولسیفیکاسیون مقیاسی است که توانایی بیوسورفکتانت در امولسیونه کردن هیدروکربنهای مختلف (روغن سویا) را نشان می دهد. علاوه بر دو فاکتور کشش سطحی و همولیز اریتروسیتهای خون گوسفند، بررسی توانایی بیوسورفکتانت در پایدار نمودن امولسیونهای آب نیز یک اندیکاتور متداول از فعالیت سطحی بیوسورفکتانت محسوب می شود جهت بررسی توانایی امولسیفیکاسیون از روش Goldenberg Cooper و از لوله‌های با قطر یکسان استفاده شد. برای این منظور در هر لوله به میزان ۲ میلی لیتر سوپرناتانت ریخته و مقادیر ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی لیتر روغن سویا به آنها اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در درجه حرارت ۳۰ درجه قرار گرفت. ضریب امولسیفیکاسیون با تقسیم طول لایه روغن استریفیه شده نسبت به طول کل محلول × ۱۰۰ بدست آمد. برای هر نمونه یک شاهد (محیط فاقد باکتری) در نظر گرفته شد (Francy, 1997). نتایج حاصل در جدول ۲ آورده شده است.

از آنجا که قبل از پروسه استخراج، تولید امولسان از طریق روشهای فوق به اثبات رسید لذا در این مرحله استخراج به روش سولفات آمونیوم انجام شد (Chamanrokh *et al*., 2008).

نتایج آزمون فارینوگراف در جدول ۳ گزارش شده است. نتایج تأثیر بیوسورفکتانت (امولسان) بر روی پارامترهای آزمون اکستنسوگراف در جدول ۴ و نمودار ۱ آمده است.



شکل ۱- هاله همولیز ایجاد شده در محیط Blood Agar

جدول۲- فعالیت امولسیفیکاسیون

روغن سویا (میلی لیتر)	۰/۵	۱	۱/۵	۲
درصد فعالیت امولسیفیکاسیون محیط کشت حاوی بیوسورفکتانت	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

جدول۳- آزمون فارینوگراف*

	میزان جذب آب (٪)	زمان گسترش خمیر (دقیقه)	زمان مقاومت خمیر (دقیقه)	درجه سست شدن خمیر پس از ۱۰ دقیقه	درجه سست شدن(۲۰ دقیقه)	ارزش والوریمتری
شاهد	۵۹/۵	۳/۳۵ ^{cd}	۳/۲۵ ^{c}	۷۳^{c}	۹۰^{b}	۵۰/۵^{c}
تیمار۰/۰۵	۶۱/۳^{c}	۳/۴۵ ^{d}	۳/۳۵^{c}	۷۲^{c}	۸۷/۵^{b}	۵۱^{c}
تیمار۰/۲	۶۳/۴^{b}	۴b^{c}	۴/۰۵^{b}	۵۹/۵ ^{b}	۷۶/۵ ^{ab}	۵۹/۵^{b}
تیمار۰/۵	۶۵/۲^{a}	۴/۵۵^{ab}	۵/۵۵ ^{a}	۴۶ ^{a}	۶۵^{a}	۷۵^{a}
تیمار۰/۷۵	۶۷/۵^{a}	۴/۶ ^{a}	۵/۶^{a}	۴۴/۵ ^{a}	۶۱/۵^{a}	۷۵/۵^{a}
تیمار۱	۶۸/۲^{a}	۴/۷۵^{a}	۵/۹۵ ^{a}	۴۳/۵ ^{a}	۶۱^{a}	۷۷/۵ ^{a}

*حروف غیر یکسان نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار در سطح ۰/۰۵ > p در هر ستون می باشد.

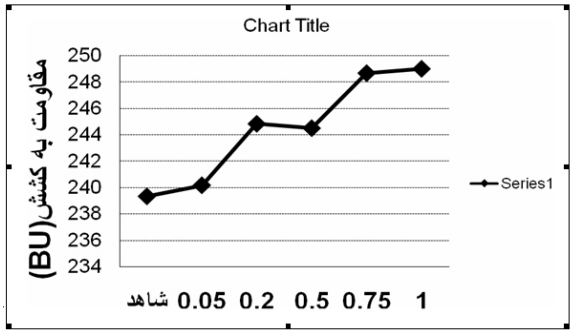
جدول٤- ارتباط بیوسورفکتانت (امولسان) و انرژی صرف شده جهت کشش خمیر

نمونه	شاهد	تیمار۰/۰۵	تیمار۰/۲	تیمار۰/۵	تیمار۰/۷۵	تیمار۱
انرژی (سانتیمتر مربع)	۴۳/۶۷	۴۷/۶۷	۴۸/۱۷	۴۸/۰۰	۴۸/۵۰	۴۹/۶۷

jfn.srbiau.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۱- رابطه سطوح مختلف بیوسورفکتانت (امولسان) بر روی مقاومت به کشش خمیر

بحث

پس از کشت باکتری بر روی اسلنت و بررسی مورفولوژیکی صحت خالص بودن باکتری فوق تأیید گردید. وجود هاله بی رنگ در اطراف چاهک در آزمون همولیز اریتروسیتهای خون گوسفند به عنوان فعالیت همولتیک مثبت در نظر گرفته شد. با توجه به نتایج حاصل از آزمون کشش سطحی، *Acinetobacter calcoaceticus* قادر به کم کردن کشش سطحی تا مقادیر کمتر از ۴۰mN/m بوده که نشان دهنده تولید بیوسورفکتانت (امولسان) می باشد. همچنین طبق نتایج ارائه شده فعالیت امولسیفیکاسیون به طور هماهنگ با رشد باکتری و افزایش بیوماس، افزایش پیدا کرده و با گذشت ۶۴-۴۸ ساعت از رشد باکتری، در زمان ۷۲ ساعت به حداکثر میزان خود (۱۰۰٪) رسیده و از این نقطه به بعد در اندازه ثابتی باقی می ماند. این نتایج نشان می دهد که بیوسورفکتانت در سویه مورد نظر (RAG-1) یک متابولیت اولیه است که تولید آن نیز همراه با تولید و افزایش بیوماس سلولی، افزایش می یابد. به این ترتیب پس از تأیید تولید و حضور امولسان از هر لیتر محیط کشت ۱/۴۹ گرم امولسان استخراج شد.

با توجه به داده های آزمون فارینوگراف در جدول ۳ ، استفاده از بیوامولسیفایر (امولسان) در سطوح مختلف باعث افزایش جذب آب فارینوگراف آرد گندم شده است. به طوریکه درصد جذب آب از ۵۹/۹ در نمونه شاهد به ۶۱/۳، ۶۳/۴، ۶۵/۲، ۶۷/۵ و ۶۸/۲ به ترتیب در تیمارهای ۰/۰۵، ۰/۲، ۰/۵، ۰/۷۵و ۱ درصد می‌رسد. خمیرهایی که برای رسیدن به حد معینی از ویسکوزیته و قوام آب بیشتری جذب کنند و خمیر حاصل از آن دارای الاستیسیته زیاد باشد برای تولید نان مناسب تر بوده و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه تر می باشند. افزایش جذب آب سبب بروز تغییراتی در محصول نهایی می شود که عبارتند از: افزایش زمان ماندگاری با مرطوب نگه داشتن نان و کاهش نسبی از دست رفتن رطوبت فراورده در حین پخت (Wilson *et al.*, 2004). از دیگر نتایج بدست آمده از منحنی فارینوگراف می‌توان به افزایش پارامترهای رئولوژیکی نظیر زمان گسترش خمیر و پایداری آن اشاره کرد. بطوریکه با بالا رفتن سطوح بیوامولسیفایر زمان گسترش و پایداری خمیر بیشتر می‌شود. زمان مورد نیاز برای رسیدن به گسترش یا توسعه کامل خمیر با افزودن بیوامولسیفایر (امولسان) افزایش می یابد و بین تیمارهای مختلف از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p<۰/۰۵$). بین شاهد و نمونه ۰/۲ اختلاف معنی دار نمی باشد بنابراین استفاده از ۰/۲ درصد امولسان تفاوتی در زمان گسترش خمیر نسبت به نمونه شاهد ایجاد نکرده است، در حالیکه نمونه‌های حاوی ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ درصد امولسان بیشترین زمان گسترش را نسبت به سایر نمونه‌ها در خمیر ایجاد کرده‌اند و بین آنها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($p> ۰/۰۵$). پایداری خمیر نیز با افزایش سطوح بیوامولسیفایر افزایش می‌یابد و بین نمونه شاهد با نمونه‌های حاوی امولسان اختلاف معنی داری مشاهده شد ($p< ۰/۰۵$). نمونه های ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ در یک گروه قرار گرفته و با اختلاف معنی داری نسبت به سایر نمونه ها سبب افزایش پایداری خمیر شدند ($p< ۰/۰۵$). این نتایج در تطابق با یافته های باسیل و همکاران می باشد و نشان می دهد که امولسان نیز مانند سورفکتانتهای DATEM، CSL[1]، SSL و EMG[2] سبب افزایش پایداری خمیر خواهد شد (Basil and

[1] Calsiium stearyl lactylate

[2] Ethyoxylated mono glyceride

www.SID.ir

Archive of SID

Kamel, 1993). فاکتورهای زمان گسترش و پایداری بیانگر بهبود کیفیت آرد می‌باشند، بطوریکه مقاومت آن در برابر تغییرات حاصله طی تهیه خمیر و فرایند پخت بیشتر بوده و می‌تواند ساختمان بهتر و یکنواخت تری را ایجاد کند. از آنجا که در خمیر امولسیفایرها موجب کم شدن تورم نشاسته و زیاد شدن دمای ژلاتینه شدن آن شده و نیز به دلیل تشکیل پیوند با لیپوپروتئین‌ها و افزایش استحکام آنها ساختار گلوتن را نیز تقویت کرده و موجب نگهداری بهتر گاز در شبکه گلوتن می‌شوند (جرارد هیسن هاتل، ۱۳۸۱). بنابراین به نظر می‌رسد این بیوامولسیفایر نیز به همین ترتیب شبکه گلوتن را تقویت کرده، باعث افزایش استحکام شبکه و خصوصیات آرد می‌شود. درجه سست شدن خمیر پس از زمانهای ۱۰ و ۲۰ دقیقه با افزودن سطوح مختلف بیوسورفکتانت (امولسان) کاهش یافته و بین گروه شاهد و تیمارهای حاوی امولسان اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده شد ($p< ۰/۰۵$). در زمان ۱۰ دقیقه بین گروه شاهد و تیمار ۰/۰۵ اختلاف معنی داری مشاهده نشد. تیمار ۰/۲ در درجه دوم قرار گرفته و تأثیر آن از تیمارهای ۰/۵، ۰/۷۵و ۱ کمتر می‌باشد، در حالیکه تیمارهای ۰/۵، ۰/۷۵و ۱ در یک گروه قرار گرفته و با اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر نمونه‌ها سبب کاهش درجه سست شدن خمیر شدند ($p< ۰/۰۵$). با توجه به اینکه هر سه نمونه دارای تأثیر مشترکی بر خمیر بوده و در یک گروه قرار دارند به نظر می‌رسد که استفاده از نمونه ۰/۵ علاوه بر تأثیر قابل ملاحظه‌ای در کاهش درجه سست شدن خمیر، از نظر اقتصادی نیز مقرون به صرفه‌تر می‌باشد. کاهش درجه سستی نشانگر افزایش تحمل خمیر نسبت به اختلاط است و این افزایش در تیمارهای حاوی بیوامولسیفایر کاملا بارز است. یکی از مهمترین فاکتورهای اندازه‌گیری شده در فارینوگراف، ارزش نانوایی یا والوریمتری آرد است. به این مفهوم که آرد مورد استفاده تا چه اندازه قابلیت پخت و تولید نان را دارا است. با افزودن بیوامولسیفایر (امولسان) ارزش والوریمتری آرد افزایش می‌یابد. بین گروه شاهد و نمونه حاوی امولسان اختلاف معنی‌دار دیده می‌شود ($p< ۰/۰۵$). در حالیکه طبق تحقیقات انجام شده در رابطه با بررسی تأثیر منوگلیسرید و لستین (سورفکتانت) برخواص رئولوژیکی خمیر نان‌های مسطح، با استفاده از این ترکیبات افزایش معنی‌داری در ارزش والوریمتری ایجاد نشده است (Azizi *et al.*, 2003). بنابراین می‌توان به تأثیر بهتر بیوسورفکتانت نسبت به سورفکتانت‌ها دست یافت.

داده‌های آزمون اکستنسوگراف در نمودار ۱ نشان می‌دهد که مقاومت به کشش در خمیر با افزایش درصد بیوامولسیفایر (امولسان) افزایش می‌یابد. افزایش مقاومت به کشش نشان دهنده افزایش پایداری در خمیر می باشد. مخلوط کردن خمیر باعث ایجاد اتصالات گلوتن/گلوتن از طریق ایجاد پلهای دی سولفیدی می‌شود. معمولا این پلها به صورت کامل ایجاد نشده و خمیر تولید شده ساختمان ضعیفی دارد. گاز ایجاد شده توسط مخمرها از طریق لایه‌های گلوتنی ضعیف خارج می‌شوند. سلولهایی که دیواره گلوتنی ضعیفی دارند تخریب شده و به یکدیگر می‌چسبند (جرارد هیسن هاتل، ۱۳۸۱). از آنجا که سورفکتانت‌ها تعداد اتصال گلوتن/گلوتن را افزایش داده و پلهای دی سولفیدی را تقویت کرده و به این ترتیب باعث تراکم شبکه گلوتن و تقویت خمیر می‌شوند (جرارد هیسن هاتل، ۱۳۸۱). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از بیوسورفکتانت نیز به همین طریق، مقاومت به کشش را افزایش داده و با استفاده از آن خمیری حاصل می شود که مقاومت بیشتری در مقابل کشش دارد. بر طبق داده های ارائه شده، قابلیت کشش خمیر در زمانهای ۴۵، ۹۰ و ۱۳۵ دقیقه با افزایش درصد بیوامولسیفایر (امولسان) کاهش می‌یابد. بین سطوح مختلف و نمونه شاهد از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. کشش پذیری بیانگر مقدار کشش خمیر و نشان دهنده خواص نگهداری آب و گاز در خمیر می‌باشد که در کاهش بیاتی و حفظ تازگی نان مؤثر است. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که مساحت سطح زیر منحنی اکستنسوگراف با افزودن سطوح مختلف بیوامولسیفایر افزایش می‌یابد. نسبت مقاومت به کشش و سطح زیر منحنی نشان دهنده انرژی مصرف شده برای کشش خمیر می باشد. به دلیل افزایش مقاومت به کشش خمیر، مقدار انرژی افزایش می یابد (جدول ۴). این نتایج مطابق با یافته‌های متلر و همکاران می‌باشد. محققان تأثیر DATEM, SSL, CSL و پلی سوربات را بر روی خمیر مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که استفاده از این ترکیبات موجب افزایش استحکام خمیر می‌شود (Mettler and Seibel, 1993).

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان دادند که میزان ۰/۵ درصد بیوامولسیفایر (امولسان) با تفاوت آماری معنی داری نسبت به گروه شاهد سبب بهبود خصوصیات رئولوژیکی خمیر شده است. به عبارت دیگر امولسان باعث افزایش استحکام، پایداری و قوت خمیر شده و خواص آنرا بهبود می‌بخشد که این نتایج مطابق با یافته‌های Kachholz و Schlingmann در سال ۱۹۸۷ می‌باشد بنابراین بیوسورفکتانت (امولسان) می‌تواند به عنوان یک ماده افزودنی بیولوژیک و جدید جایگزینی برای امولسیفایرهای سنتتیک و شیمیایی در جهت بهبود کیفیت خمیر و نان گندم مورد توجه قرار گیرد. در رابطه با بررسی تأثیر انواع دیگر بیوسورفکتانتها در خصوصیات رئولوژیکی خمیر و سطوح مختلف استفاده از آن ها در انواع مختلف نان و سایر محصولات صنایع پخت به تحقیقات بیشتری نیاز داریم.

منابع

جراردهیسن هاتل، ر. (۱۳۸۱). امولسیون کننده های غذایی و کاربرد آنها. ترجمه محسن ضیائیان-تهران: آرون. صفحات: ۱۸-۲۰،۲۷۷،۲۸۱،۳۵۰ .

قارونی، ج. (۱۳۸۲). تکنولوژی نانهای مسطح، ترجمه حجتی، م. و عزیزی، م. ح. نشراندیشمند، صفحه:۳

AACC. (1995). *Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists.* Methods 54-10, 54-21.The Association: ST. Paul, Minnesota, USA.

Azizi, M. H., Rajanzade, N. & Riahi, E. (2003). Effect of monodiglyceride and lecitin on dough rheological characteristics and quality of flat bread. Lebensm-wiss.*U.Technol*. 36:189-193.

Basil, S. & Kamel, S. (1993). Surfactant in Bakery Foods, *Surfactant-tchnical Bulletin*:1-2

Chamanrokh, P., Mazaheriassadi, M., Noohi, A. & Yahyani, S. (2008). Emulsan analysis produced by locally isolated bacteria and Acinetobacter calcoaceticus RAG1.Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng., 5(2): 101-108.

Desai, J. D. & Banat, I. M. (1997). Microbial production of surfactants & their commerical potential. *Microbiol. Mol. Biol*. 61(1): 47-64. Eng, S. (1972). U. S. Patent 3,636.017, January18.

Goldman, S., Shabti, Y., Rubinovitz, C. & Rosenbery, E. (1982). Emulsan in *Acinetobacter calcoaceticus RAG-1*: Distribtion of Cell-Free and Cell-Associated Cross-Associated Cross-Reacting Material, Appl. *Environ, Microbial*, 44(1), P: 165-170

Gutnick, D. & Moshav, S. H. (1989). Bioemulsifier production by *Acinetobacter calcoaceticus* strains. *United States Patent* 4883757.

Francy, D. (1997). Emulsification of hydrocarbons by subsurface bacteria. *Journal of Industrial. Microb.* 8: 237-246.

Kachholz, T. & Schlingmann, M. (1987). Possible food and agricultural applications of micobial surfactants:an assessment. In N. Kosaric, W. L. Carns, & N. C. C. Gray (Eds)., *Biosurfactants and biotechnology* (pp.183-210). New York: Maecel Dekker

Mettler, E. & Seibel, W. (1993). Effects of emulsifier and hydroclloids on whole wheat bread quality; *Cereal Chemistry*, 373-380.

Rosell, C. M., Rojas, J. A., Benedito, D. & Barber, C. (2001). Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality; *Food hydrocolloids*. 15: 75-81.

Rosenberg, E. & Ron, E. Z. (1999). High and low-molecular-mass microbial surfactants. Appl. *Microbiol. Biotechnol*. 52:154-162.

Toufeili, I. & Shadarevian, S. (1995). Effect of shortening and surfactant on selected chemical-physicochemical parameters and sensory quality of Arabic bread; *Food Chemistry*: 253-258.

Van Haesendonck, I. P. H. & Vanzeveren, E. C. A. (2004). Rhamnolipids in bakery products. W.O. 2004/040984, *International application patent* (PCT).

Wilson, R. H., Goodfellow, B. J. & Belton, P. S. (2004). Influence of salt on dough rheology and bread quality*; Journal of Food Science*. 22: 96-105.

www.SID.ir