

تأثیر خمیرترش خشک شده با روش پاششی بر تشکیل شبکه گلوتن با مطالعه ریزساختار خمیر

آیلا آیرملو^۱، پریرسا جعفریان^{۲*}، سیده‌های پیغمبر دوست^۳

- ۱- کارشناس ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده پردیس بین‌الملل، دانشگاه تبریز، ایران
۲- دانشجوی دکتری مهندسی علوم و صنایع غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران
* نویسنده مسئول (parisajafarian@yahoo.com)
۳- دانشیار، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۸/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۱۸

واژه‌های کلیدی

خمیر
خمیرترش خشک
ریزساختار
گلوتن

چکیده

خمیرترش سیستم بیولوژیکی پیچیده‌ای است که شامل اجزایی نظیر کربوهیدرات‌های غله‌ای، پروتئین‌ها، باکتری‌های اسیدلاکتیک، مخمرها و آنزیم‌های مختلف می‌باشند. خمیرترش نقش کلیدی در بهبود طعم، بافت، خصوصیات تغذیه‌ای و زمان ماندگاری فرآورده‌های نانویی دارد. در این مطالعه از خمیرترش خشک شده به روش پاششی که حاوی ۳ نوع باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس کورواتوس و لاکتوباسیلوس پارالیمانتاریوس بود به میزان ۱۵ درصد استفاده و تأثیر آن بر تشکیل شبکه گلوتنی و ریزساختار خمیر با استفاده از میکروسکوپ نوری اپی فلورسنس مطالعه گردید. با توجه به نتایج حاصله از مشاهده‌های میکروسکوپی و رنگ‌آمیزی هم‌زمان نمونه‌های خمیر با رودامین ۰/۱ درصد و فلوروسین ایزوتیوسیانات (FITC) ۱ درصد تهیه شده در حلال دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) مشخص شد که شبکه گلوتنی به صورت پیوسته و لایه‌لایه است و آثاری از تخریب دیده نشد. بنابراین می‌توان گفت با استفاده از روش اسیدی کردن بیولوژیکی (استفاده از میکروارگانیسم‌ها) در طی تخمیر خمیرترش، در خمیر مقدار ترکیبات مولد عطر و طعم بیشتری تولید شده و شبکه گلوتنی به خوبی تشکیل شد.

مقدمه

سديم استفاده می‌شد که این امر همچنان ادامه دارد و متأسفانه از لحاظ بهداشتی و تأثیر بر سلامت افراد جامعه دارای آثار سوئی می‌باشد (امین‌پور، ۱۳۷۴). به‌عنوان یک تعریف، خمیرترش عبارت است از یک خمیر متشکل از آرد غلات (و سایر مواد در صورت نیاز)، مایعات و میکروارگانیسم‌هایی نظیر باکتری‌های اسیدلاکتیک و مخمرها در حالت فعال آنها که به‌ترتیب مسئول اسیدی کردن و ورآمدن (انبساط) خمیر می‌باشند (Ananta et al., 2005).

مطالعه‌های میکروبیولوژیکی نشان می‌دهند که بیش از ۵۰ گونه از باکتری‌های اسیدلاکتیک (عمدتاً

نان به‌عنوان کالای اساسی و ضروری دارای اهمیت ویژه‌ای در سبد مصرفی خانوارها بوده است و غذای اصلی و پایه بسیاری از مردم در کشورهای جهان را تشکیل می‌دهد. روزانه قسمت اعظم انرژی، پروتئین، املاح معدنی، ویتامین‌های گروه ب (تیامین، ریوفلاوین و نیاسین) مورد نیاز بدن را تأمین می‌نماید. در گذشته در واحدهای سنتی طبخ نان به‌ویژه در شرایطی که تعداد نانوائی‌ها کم و مشتریان آن زیاد بود، جهت صرفه‌جویی در زمان، افزایش سرعت و سهولت انجام کار از ماده شیمیایی بی‌کربنات

(2005). همچنین پیغمبر دوست و همکاران (۱۳۷۵) ریزساختار خمیرهای ^{11}ZD و خمیرهایی که در معرض نیروهای برشی قرار گرفته بودند و ذرات گلوئین موجود در این خمیرها را با میکروسکوپ کونفوکال لیزری بررسی کردند (IDF, 1993). هزینه‌های بالا و پیچیدگی‌های دستگاهی روش‌های فوق، استفاده از آنها را در بررسی ریزساختار خمیر، محدود می‌نماید. در روش جایگزین که برای اولین بار در این مطالعه ارائه گردیده است از میکروسکوپ نوری اپی‌فلورسنس (EFLM) برای مطالعه ریزساختار خمیر براساس مشاهده هم‌زمان شبکه گلوئنی و فاز نشاسته از طریق رنگ‌آمیزی مزدوج طراحی گردیده است.

همچنین اسیدیفیکاسیون القاء شده توسط میکروارگانسیم‌های خمیرترش و نیز تأثیر افزودن خمیرترش خشک‌شده با روش پاششی بر تغییرات شبکه گلوئنی خمیر و اثرات متعاقب آن بر ریزساختار را با استفاده از میکروسکوپ EFLM بررسی شده است.

در پژوهش حاضر اسیدیفیکاسیون القاء شده توسط میکروارگانسیم‌های خمیرترش و نیز تأثیر افزودن خمیرترش خشک‌شده با روش پاششی بر تغییرات شبکه گلوئنی خمیر و اثرات متعاقب آن بر ریزساختار را با استفاده از میکروسکوپ EFLM بررسی شد و مطالعه ریزساختار خمیر براساس مشاهده هم‌زمان شبکه گلوئنی و فاز نشاسته از طریق رنگ‌آمیزی مزدوج طراحی گردید.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده برای تهیه خمیر

آرد روشن با درجه استخراج ۷۸ درصد، از شرکت آرد تبریزکار (تبریز) تهیه شد.

مواد شیمیایی

سرم فیزیولوژی، هیدروکسید سدیم، رد امین B، FITC، دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) که همه ساخت شرکت مرک آلمان بود.

جنس لاکتوباسیلوس^۱ و بیش از ۲۰ گونه از انواع مخمر به‌ویژه گونه‌های جنس ساکارومایسس^۲ و کاندیدا^۳ در سیستم خمیرترش حضور دارند. برای فعالیت مناسب در سیستم خمیرترش بایستی نسبت باکتری‌های اسیدلاکتیک به مخمر ۱۰۰ به ۱ باشد (Bache et al., 1998). باکتری‌های اسیدلاکتیک موجود در خمیرترش می‌توانند از فلور طبیعی آرد، آلودگی‌های موجود در مخمر نانوایی و یا محیط پخت نشئت گرفته باشند که غیر از جنس لاکتوباسیلوس، جنس‌های پدیوکوکوس^۴، انتروکوکوس^۵، لاکتوکوکوس^۶ و لوکونوستوک^۷ را نیز شامل می‌شود (Augustin et al., 2008). فعالیت باکتری‌های اسیدلاکتیک در سیستم خمیرترش باعث ایجاد شرایط اسیدی و تجزیه پروتئین‌ها می‌شود. تجزیه پروتئین طی تخمیر خمیرترش یک پدیده کلیدی است که کیفیت نان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. واکنش‌های پروتئولیتیک اسیده‌های آمینه‌ای آزاد می‌کند که پیش‌سازهای عطر و طعم می‌باشند. نتیجه دیگر پروتئولیز تغییر در رئولوژی خمیر و بافت نان است (Bahraei et al., 2004).

بیشتر مطالعه‌ها روی ساختار شبکه گلوئن در خمیر، آرد و نان گندم با استفاده از میکروسکوپ نوری، الکترونی روبنده^۸ (SEM) و روبنده محیطی^۹ (ESEM)، و کونفوکال لیزری^{۱۰} (LSCM) انجام گرفته است که از میان آنها می‌توان به موارد زیر اشاره نمود. بررسی ریزساختار خمیرهای مختلف و گلیادین و گلوئین استخراج شده از آنها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبنده صورت گرفت (Herman et al., 1998). همچنین مطالعه ساختار شبکه گلوئنی در خمیرهای در معرض تنش و اثر مقادیر مختلف هیدراسیون روی ساختار خمیر با میکروسکوپ الکترونی روبنده محیطی بررسی شد (Ananta et al.,

¹ *Lactobacillus*

² *Saccharomyces*

³ *Candida*

⁴ *Pediococcus*

⁵ *Enterococcus*

⁶ *Lactococcus*

⁷ *Leuconostoc*

⁸ Scanning Electron Microscope

⁹ Environmental Scanning Electron Microscope

¹⁰ Laser Scanning Confocal Microscope

¹¹ Zero-mechanical energy Developed Dough

کوروواتوس و مخلوط این دو به‌عنوان آغازگر به‌طور جداگانه تهیه شد. مقدار خاکستر آرد از جمله فاکتورهای مهم در تعیین خصوصیات خمیرترش و نان حاصله می‌باشد، به‌طوری‌که در محدوده خاکستر ۰/۶۵ درصد رابطه خطی بین میزان خاکستر آرد و تولید اسید و ترکیبات فرار وجود دارد. در صورت بالابودن درصد استخراج آرد، میزان مواد مغذی آرد افزایش‌یافته و به‌دلیل وجود اسیدفیتیک در لایه آلرون، ظرفیت بافنی آرد افزایش می‌یابد. این فاکتورها باعث تحریک فعالیت بیوشیمیایی و رشد میکروفلور خمیرترش و در نتیجه تولید اسیدها و ترکیبات طعمی دیگر می‌شود (Hansen, 1994). سوبسترای تشکیل‌شده از آرد با درصد استخراج ۹۸ درصد و آب با راندمان برابر ۳۵۰ خمیر با سه نوع آغازگر اشاره‌شده و به میزان 10^8 باکتری به‌ازای هر گرم خمیر تلقیح شد. فرایند تخمیر در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۰ ساعت در یک انکوباتور شیکردار در ۱۵۰ دور در دقیقه انجام شد (Robert et al., 2006).

تهیه خمیرترش خشک

خمیرترش تازه تولیدشده توسط پمپ به محفظه داخلی دستگاه خشک‌کن پاششی (شکل ۱-۲)، ساخت شرکت مهام صنعت نیشابور) واقع در کارگاه تکنولوژی غلات خلعت‌پوشان انتقال داده شد. دستگاه مجهز به اتومایزر چرخشی و فن با حداکثر ۲۴۸۰ دور بر دقیقه بود. خشک‌کردن با جریان هوای موازی و دمای هوای ورودی ۱۸۵-۱۸۰ درجه سانتی‌گراد و دمای هوای خروجی ۹۵-۹۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. پودر خمیرترش پس از بسته‌بندی در کیسه‌های نایلونی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا مرحله تهیه خمیر نگهداری شد (پیغمبردوست و همکاران، ۱۳۹۳).

تهیه خمیر با استفاده از پودر خمیرترش خشک در این پژوهش ۵ تیمار به شرح زیر مورد بررسی قرار می‌گیرد. یک تیمار نمونه شاهد می‌باشد، خمیری که بدون استفاده از خمیرترش تهیه شده است. تیمار دوم، خمیر تهیه‌شده با استفاده از خمیرترش معمولی (خمیر سنتی) به میزان ۲۰ درصد می‌باشد. ۳ تیمار دیگر خمیرهای تهیه‌شده از خمیرترش خشک‌شده حاوی لاکتوباسیلوس پلانتروم، لاکتوباسیلوس

سویه‌های باکتریایی

باکتری لاکتوباسیلوس پلانتروم^۱ ۱۰۵۸ (ATCC)^۲ (باکتری هتروفرمنتاتیو اختیاری) و باکتری لاکتوباسیلوس کوروواتوس^۳ ۱۶۵۵ (ATCC) (باکتری هتروفرمنتاتیو اجباری) و لاکتوباسیلوس پارالیمانتاریوس^۴ که قبلاً جداسازی شده از خمیرترش نان‌های سنتی استان آذربایجان شرقی (Golshan Tafti et al., 2013) به‌صورت آمپول لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون فارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی ایران (PTCC)^۵ تهیه شد.

محیط کشت میکروبی

محیط کشت MRS broth ساخت شرکت مرک آلمان، پودر شیر بدون چربی^۶ از شرکت پگاه آذربایجان شرقی تهیه شد.

روش‌ها

تهیه سوسپانسیون باکتریایی برای تلقیح به خمیرترش

سویه‌های لاکتوباسیلوس جداشده از خمیرترش‌های سنتی (لاکتوباسیلوس پلانتروم، لاکتوباسیلوس کوروواتوس، لاکتوباسیلوس پارالیمانتاریوس) دو مرتبه در محیط مایع MRS، تحت شرایط هوازی و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت کشت و گرم‌خانه‌گذاری شدند. توده سلولی با سانتریفیوژ کردن (دور $3000 \times g$ به مدت ۱۵ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد)، شست‌وشوی مجدد با آب مقطر استریل و تعلیق‌کردن در آب مقطر استریل به‌دست‌آمده از توده سلولی جهت تهیه خمیرترش استفاده شد (Robert et al., 2006).

تهیه و تخمیر خمیرترش تازه

نمونه‌های خمیرترش مایع با استفاده از کشت‌های باکتریایی فعال لاکتوباسیلوس پلانتروم، لاکتوباسیلوس پارالیمانتاریوس و لاکتوباسیلوس

¹ *Lactobacillus plantarum*

² American Type Culture Collection

³ *Lactobacillus Curvatus*

⁴ *Lactobacillus Paralimentarius*

⁵ Persian Type Culture Collection

⁶ Skim Milk

لاکتوباسیلوس پلانتروم و لاکتوباسیلوس کورواتوس) در جدول (۱) آمده است. مقدار pH و TTA کلیه پودرهای خمیرترش به ترتیب در دامنه ۳/۵۶-۳/۲۸ و ۵۹/۲-۴۷/۵ به دست آمد. خصوصیات پودر بر تغییرات پودر حین نگهداری و فرایندها تأثیرگذار است و خصوصیات شیمیایی مخصوصاً اسیدیت، ویژگی‌های تکنولوژیکی محصول را نشان می‌دهد. اسیدیت پودرهای خمیرترش می‌تواند در دامنه ۶۰-۱۵ (میلی لیتر سود ۰/۱ نرمال مصرفی بر ۱۰ گرم نمونه) یا ۲۲۰-۴۰ (kam et al., 2006) بسته به فرایند تولید خمیرترش، مواد اولیه مصرفی و تکنیک خشک کردن قرار گیرد. نوع آرد تأثیر قابل توجهی بر خصوصیات اسیدی شدن خمیرترش و خواص نان خمیرترش تولیدی دارد. مقدار اسید و ترکیبات طعمی در خمیرترش تهیه شده از آرد با درجه استخراج بالا (با مقدار خاکستر ۱/۸ درصد) نسبت به خمیرترش تهیه شده از آرد با درصد خاکستر ۰/۶۶ درصد، بالاتر بود (Hansen, 1994). بنابراین به دلیل اینکه خمیرترش در این تحقیق از آرد کامل تهیه شده بود، مقدار pH برای پودرهای خمیرترش نسبتاً پایین بود. میزان رطوبت و فعالیت آبی پودرهای خمیرترش به ترتیب در محدوده ۴/۴۲-۳/۲۷ درصد و ۰/۱۸-۰/۱۶ بود. مقدار رطوبت و فعالیت آبی فاکتورهای مهم برای پایداری پودرها در حین نگهداری می‌باشند. در مورد پودرهای غذایی حاوی پروبیوتیک، فعالیت آبی باید زیر ۰/۲۵ درصد و مقدار رطوبت زیر ۵ درصد برای تضمین پایداری حین نگهداری باشد (Piazza et al., 1995). پودرهای خمیرترش حاوی حدوداً ۱/۹ درصد خاکستر بودند. علت اصلی بالا بودن مقدار خاکستر پودرها استفاده از آرد با درصد استخراج بالا (۹۸ درصد) برای تولید خمیرترش بود. نوع آرد مورد استفاده در تهیه خمیرترش یک فاکتور مهم و تأثیرگذار بر ویژگی‌های خمیرترش و نان می‌باشد. با افزایش درصد استخراج آرد مقدار مواد تغذیه‌ای مانند ویتامین B و مواد معدنی خمیرترش افزایش می‌یابد (Bahraei et al., 2004). غلظت لاکتیک‌اسید تهیه شده از آرد کامل ۳۰ تا ۵۰ درصد بالاتر از آردهای با درجه استخراج پایین تر بود. لاکتیک‌اسید و استیک‌اسید ترکیبات طعمی مهم در نان گندم هستند (Wilson et al., 1997).

پارالیمانتاریوس و لاکتوباسیلوس کورواتوس بود که از هر کدام به میزان ۱۵ درصد به خمیر اضافه شد و به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در آون استراحت داده شد سپس همه تیمارها در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد به منظور بررسی تغییرات انجام شده روی شبکه گلوتهنی و ریزساختار خمیر نگهداری شد (پیغمبردوست و همکاران، ۱۳۹۳).

مشاهده ریزساختار خمیرهای تهیه شده با خمیرترش نمونه‌های خمیر منجمد شده توسط مایکروتوم دستی در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد برش داده شدند که به موجب آن یک سطح خیلی صاف برای مشاهده‌های میکروسکوپی قابل دسترس می‌گردد. تکه‌های خمیر حاصله با ضخامت ۳-۵ میلی‌متر روی لام‌های شیشه‌ای گرفته و مخلوطی با نسبت ۱:۱ از محلول‌های رنگی یاد شده برای رنگ‌آمیزی نمونه‌های خمیر استفاده شد و سپس با استفاده از میکروسکوپ فلورسنس بررسی نمونه‌ها انجام شد.

نمونه‌های خمیر نسبت ۱:۱ از FITC ۱ درصد تهیه شده در حلال DMSO و ردامین B ۰/۱ درصد به صورت رنگ‌آمیزی مزدوج یا توأم^۱ رنگ‌آمیزی شده و پس از سپری شدن مدت زمان ۱ ساعت به منظور پخش رنگ در نمونه‌ها، مشاهده‌های میکروسکوپی انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق کلیه آزمون‌ها در ۳ تکرار انجام گرفت. داده‌ها با استفاده از طرح کاملاً تصادفی با رویه مدل‌های خطی تعمیم یافته (GLM)^۲ نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. آزمون مقایسه میانگین‌ها با روش دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. برای بررسی داده‌های حاصل از مشاهده‌های میکروسکوپی از نرم‌افزار Image Analysis استفاده شد.

نتایج و بحث

خصوصیات فیزیکی شیمیایی پودر خمیرترش خصوصیات فیزیکی شیمیایی پودر خمیرترش (حاوی آغازگر باکتری لاکتوباسیلوس پارالیمانتاریوس،

¹ Double staining

² General Linear Model

جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی پودرهای خمیر ترش حاوی کشت‌های آغازگر لاکتوباسیلوس

پودر خمیر ترش حاوی لاکتوباسیلوس	pH	TTA اسیدیته (میلی لیتر سود مصرفی)	فعالیت آبی (aw)	رطوبت (درصد)	خاکستر (درصد)	حجمی (گرم/سانتی متر مکعب)	دانسیتة حجمی	قابلیت رطوبت‌پذیری (ثانیه)	قابلیت تعلیق‌شدن (درصد)
کورواتوس	۳/۵۶ ^b	۴۷/۵ ^a	۰/۱۶۲ ^c	۳/۲۷ ^a	۱/۸۸ ^a	۶۴۱ ^a	۴۸/۶۶ ^a	۳۰/۱۹ ^a	
پلانتاروم	۳/۵۳ ^b	۴۸/۲ ^b	۰/۱۸۰ ^a	۴/۴۲ ^b	۱/۸۷ ^a	۶۱۲ ^{bc}	۵۲ ^b	۲۹/۱ ^b	
پارالیمنتاریوس	۳/۲۸ ^a	۵۹/۲ ^c	۰/۱۶۰ ^c	۳/۷۱ ^c	۱/۹ ^b	۶۱۰ ^c	۶۲ ^c	۲۸/۸ ^b	

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند از نظر آزمون دانکن در سطح آماری ۹۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

گرم بود. خشک کردن پاششی باعث کاهش تعداد کل لاکتوباسیلوس‌های خمیر ترش و رسیدن جمعیت میکروبی آنها به $10^5 \times (1/17-8/07)$ واحد کلونی در هر گرم در پودر خمیر ترش شد. باکتری‌های اسیدلاکتیک در معرض گرما و آسیب‌های دهیدراسیون حین خشک کردن پاششی قرار گرفتند. نوع گونه باکتریایی و دمای هوای خروجی مهم‌ترین فاکتورهای تأثیرگذار بر بقای باکتری‌ها هستند (Shinohara et al., 2008). در این پژوهش جهت کاهش محتوای رطوبتی پودر خمیر ترش به زیر ۵ درصد و در نتیجه حصول قابلیت نگهداری بالاتر آن، دمای هوای خروجی خشک‌کن در ۹۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد، که این دما احتمالاً باعث مرگ سلولی باکتری‌ها شده است. چند محقق از بقای پایین میکروبی در دمای هوای خروجی ۹۰ درجه سانتی‌گراد را گزارش کرده‌اند (Meuser et al., 1995).

جدول ۲ - نتایج شمارش باکتری پودرهای خمیر ترش حاوی کشت‌های آغازگر لاکتوباسیلوس

پودرهای خمیر ترش حاوی لاکتوباسیلوس	تعداد کل لاکتوباسیلوس‌ها (کلونی در هر گرم)
کورواتوس	$10^5 \times 1/17$
پلانتاروم	$10^5 \times 8/07$
پارالیمنتاریوس	$10^5 \times 3/69$

نتایج مشاهده‌های ریزساختاری نمونه‌های خمیر تهیه شده با پودر خمیر ترش حاوی لاکتوباسیلوس پارالیمنتاریوس

تفاوت‌های ریزساختاری خمیر رنگ‌آمیزی شده با FITC ۱ درصد و رد امین B ۰/۱ درصد در شکل (۱)

دانسیتة حجمی یک فاکتور مهم است که می‌تواند بر خصوصیات فیزیکی پودر مانند قابلیت تعلیق‌شدن، رطوبت‌پذیری^۱ و قابلیت فوری بودن تأثیرگذار باشد. فاکتورهای خشک‌کردن، نوع پودر کردن و همچنین توزیع اندازه ذرات و شکل و حالت پودر نقش مهمی در مقدار دانسیته حجمی نهایی پودر دارند (Shinohara et al., 2008). دانسیته حجمی پودرهای خمیر ترش حدوداً ۰/۶ گرم بر سانتی‌متر مکعب بود که در حد شیر خشک بدون چربی می‌باشد. در هنگام مخلوط کردن، حمل و نقل، ذخیره سازی و بسته بندی مواد غذایی نظیر انواع پودرها و آردها دانستن چگالی توده بسیار حائز اهمیت است. وقتی چنین موادی درون ظرف ریخته می‌شوند حجم زیادی از فضای اشغال شده توسط ماده غذایی را هوا تشکیل می‌دهد. بنابراین، چگالی توده مواد غذایی بستگی به عوامل مختلفی نظیر چگالی واقعی، شکل هندسی، اندازه، خواص سطحی، مقدار رطوبت و روش اندازه گیری دارد. بنابراین، به خوبی می‌توان دریافت که پیچیدگی عوامل مؤثر بر چگالی حجمی نسبت به چگالی واقعی بیشتر است (Kuktaite et al., 2004).

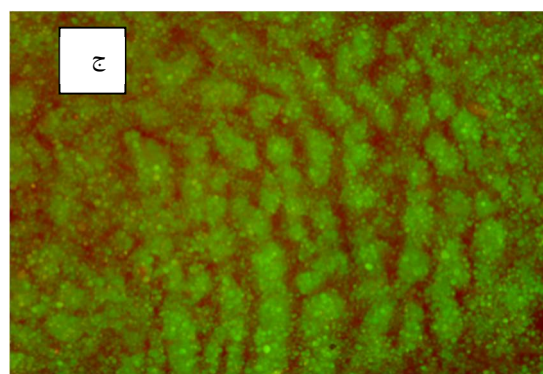
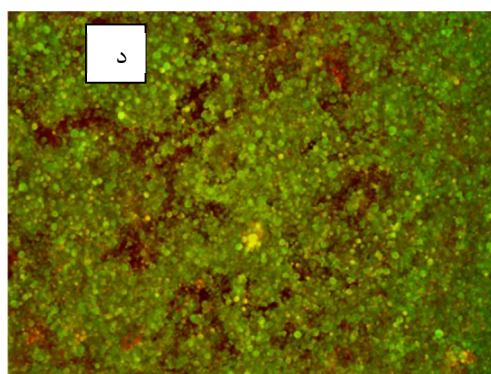
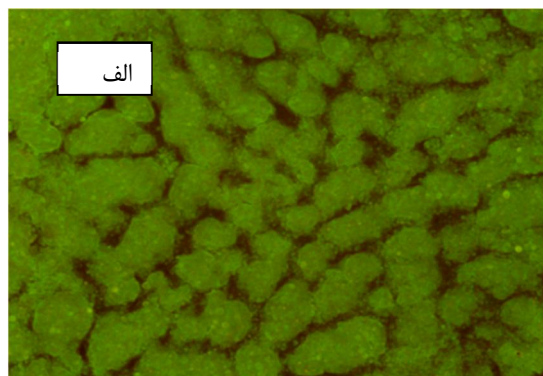
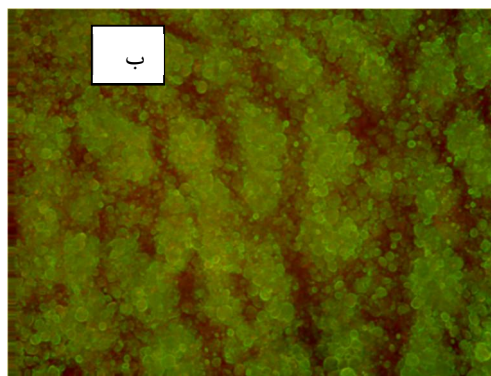
آنالیز میکروبی پودر خمیر ترش

پودرهای خمیر ترش از لحاظ وجود لاکتوباسیلوس‌ها نیز مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج شمارش تعداد کل لاکتوباسیلوس‌ها در پودرهای خمیر ترش در جدول (۲) آورده شده است. جمعیت باکتریایی اولیه سوسپانسیون خمیر ترش تولیدی که به آرد برای تولید خمیر ترش افزوده شد 10^8 واحد کلونی در هر

^۱ Hygroscopicity

خمیر ترش حاوی لاکتوباسیلوس پارالیمنتاریوس را با بزرگ‌نمایی کوچک و شکل (۱-ب) و (۱-ج)، ریزساختار آنها را با بزرگ‌نمایی بزرگ‌تری نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل (۱) ملاحظه می‌شود شبکه گلوتهنی به صورت پیوسته و لایه‌لایه است و آثاری از تخریب دیده نمی‌شود. شکل (۲-الف)، (۲-ب) و (۲-ج) تصاویر مربوط به ریزساختار نمونه‌های خمیر تهیه‌شده با خمیر ترش حاوی لاکتوباسیلوس کورواتوس را نشان می‌دهد که در آنها شبکه گلوتهنی به خوبی تشکیل شده است.

در دو بزرگ‌نمایی مختلف نشان داده شده است. ۱ ساعت بعد از رنگ‌آمیزی انتشار کامل فلورسین و ردآمین انجام شده و گرانول‌های نشاسته به رنگ سبز و مولکول‌های پروتئین به رنگ قرمز نمایان می‌گردند. همچنین فلورسین نمونه‌ها به میزان مطلوبی افزایش می‌یابد رنگ قرمز موجود در شکل (۱) مربوط به پروتئین رنگ‌آمیزی‌شده با ردآمین B و رنگ سبز مربوط به گرانول‌های نشاسته رنگ‌آمیزی‌شده با FITC می‌باشد. شکل (۱-الف) و (۱-د)، ریزساختار نمونه‌های خمیر تهیه‌شده با

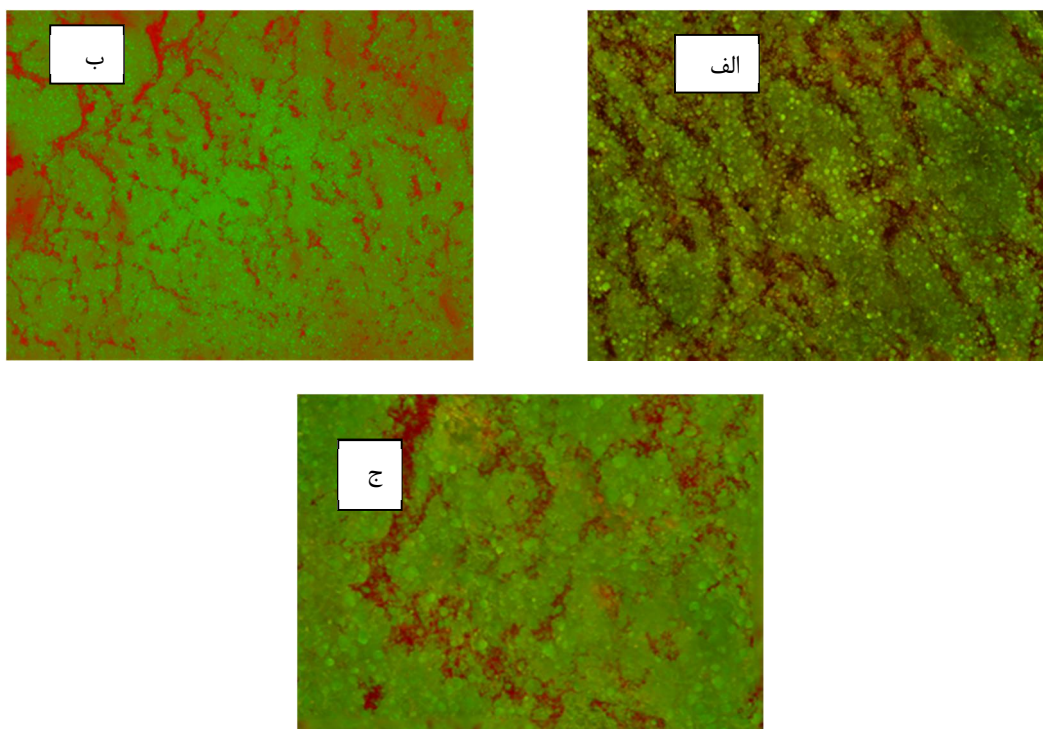


شکل ۱- تصاویر مربوط به ریزساختار نمونه‌های خمیر تهیه‌شده با خمیر ترش حاوی لاکتوباسیلوس پارالیمنتاریوس. (الف) مقیاس ۵ میکرومتر، (ب) مقیاس ۱۰ میکرومتر، (ج) مقیاس ۱۰ میکرومتر، (د) مقیاس ۵ میکرومتر

گلوتهنی کاملاً گسسته و پراکنده شده درآید (Peighamardoust *et al.*, 2006). همان‌طور که ملاحظه می‌شود افزودن پودر خمیر ترش حاوی لاکتوباسیلوس کورواتوس تأثیری بر پیوستگی شبکه پروتئینی نداشته و شبکه پروتئینی به صورت پیوسته به رنگ قرمز و به صورت لایه‌لایه دیده می‌شود. که می‌توان آن را به کافی نبودن مقدار میکروارگانیسم‌ها، کمبودن زمان استراحت بعد از تهیه خمیر و یا کافی نبودن فعالیت میکروارگانیسم‌ها نسبت داد.

نتایج مشاهده‌های ریزساختاری نمونه‌های خمیر تهیه‌شده با پودر خمیر ترش حاوی لاکتوباسیلوس کورواتوس

ریزساختار خمیر رنگ‌آمیزی‌شده با FITC ۱ درصد و ردآمین B ۰/۱ درصد در شکل (۲-الف) و (۲-ب)، با بزرگ‌نمایی کوچک و شکل (۲-ج)، با بزرگ‌نمایی بزرگ‌تری نشان داده شده است. براساس گزارش‌های موجود در منابع علمی انتظار می‌رود که شبکه گلوتهنی به صورت توده‌های پراکنده گلوتهنی به صورت فاز

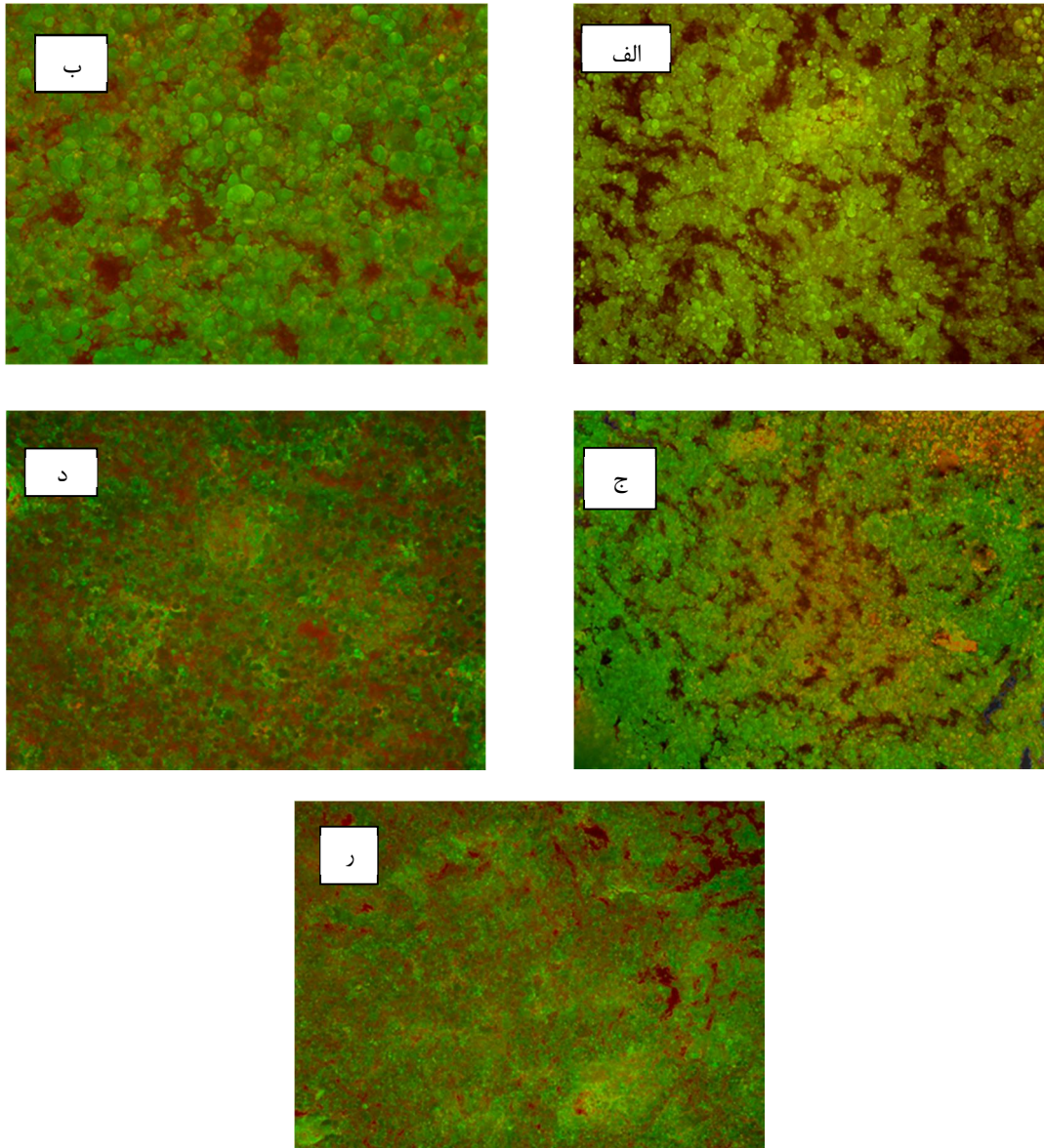


شکل ۲- تصاویر مربوط به ریزساختار نمونه‌های خمیر تهیه شده با خمیر ترش حاوی لاکتوباسیلوس کورواتوس. الف) با مقیاس ۵ میکرومتر، ب) با مقیاس ۵ میکرومتر، ج) با مقیاس ۱۰ میکرومتر

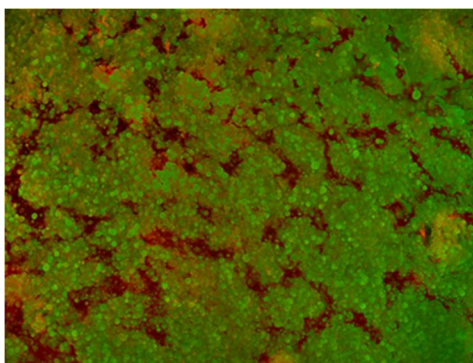
مشاهده می‌باشند (Dominguez *et al.*, 2003) فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک برخی از لاکتوباسیلوس‌های خمیر ترش را اندازه‌گیری کرده و پروتئولیز گلوتن را مشاهده کردند که در تناقض با نتایج این مطالعه می‌باشد. این محققین نشان دادند که پپتیدهای مشتق شده از گلوتن طی تخمیرهای خمیر ترش آزاد و وارد محیط شدند و آنها این پپتیدهای آزاد شده را به فعالیت پروتئولیتیک باکتری‌های اسیدلاکتیک نسبت دادند. شایان ذکر است که گلوتن (سوبسترا) مورد استفاده در آزمایش آنها از آرد گندم تهیه شده و احتمالاً حاوی برخی از پروتئازهای گندم بوده است.

نتایج مشاهده‌های ریزساختاری نمونه‌های خمیر تهیه شده با پودر خمیر ترش حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم

بررسی تصاویر میکروسکوپی حاصل از خمیر تهیه شده با پودر خمیر ترش حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم با میکروسکوپ اپی‌فلورسنس که با FITC ۱ درصد و رد امین B ۰/۱ درصد رنگ آمیزی شده بود، ۱ ساعت پس از پخش رنگ مشاهده گردید شبکه گلوتنی پیوستگی خود را حفظ نموده است و برخلاف تصور که انتظار می‌رفت تجمع مولکول‌های پروتئین در قسمت‌های مختلف ایجاد گردد، یک شبکه پیوسته مشاهده می‌شود که در شکل (۳) به رنگ قرمز مشخص شده است. شکل (۳-الف)، (۳-ب)، (۳-ج)، (۳-د) و (۳-ر) شبکه گلوتنی تشکیل شده در این خمیرها و پراکندگی کاملاً یکنواخت مولکول‌های پروتئین در قسمت‌های مختلف را نشان می‌دهد. در تصاویر به دست آمده گرانول‌های نشاسته به رنگ سبز و پروتئین موجود در نمونه‌های خمیر به رنگ قرمز قابل



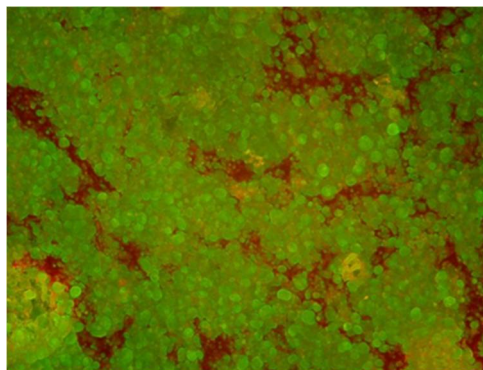
شکل ۳- تصاویر مربوط به ریزساختار نمونه‌های خمیر تهیه‌شده با خمیر ترش حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم. الف) با مقیاس ۱۰ میکرومتر، ب) با مقیاس ۱۶ میکرومتر، ج) با مقیاس ۶/۲۵ میکرومتر، د) با مقیاس ۱۰ میکرومتر، ر) با مقیاس ۴ میکرومتر



شکل ۴- تصویر مربوط به ریزساختار نمونه‌های خمیر تهیه‌شده بدون خمیر ترش (شاهد) با مقیاس ۲/۵ میکرومتر

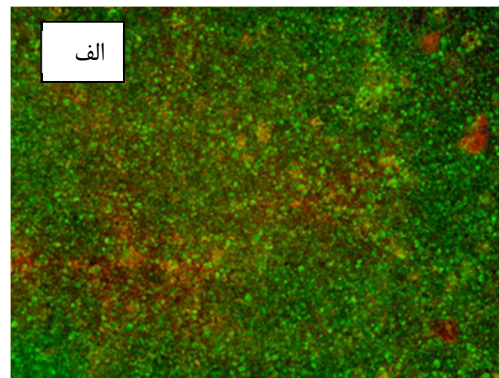
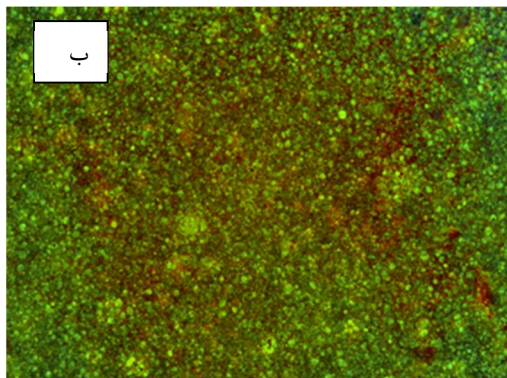
خمیر تهیه‌شده بدون خمیر ترش (شاهد)
بررسی ریزساختار خمیر شاهد نشان داد همان‌طور که انتظار می‌رفت به دلیل عدم حضور میکروارگانیسم‌های خمیر ترش، شبکه گلوآنی پیوسته و یکنواخت تشکیل شده و با رنگ قرمز در شکل (۴) با بزرگ‌نمایی کوچک و شکل (۵) با بزرگ‌نمایی بزرگ مشخص می‌باشد.

تهیه شده با خمیر ترش سنتی در دو بزرگ‌نمایی مختلف می‌باشد. رنگ قرمز موجود در شکل‌ها مربوط به پروتئین رنگ‌آمیزی شده با رودامین و رنگ سبز مربوط به گرانول‌های نشاسته رنگ‌آمیزی شده با FITC می‌باشد. همان‌طور که در تصاویر ملاحظه می‌شود گلوتن موجود در خمیر به میزان کافی توسعه نیافته و پروتئین‌ها به صورت تجمع یافته در تصویر دیده می‌شوند که این مسئله بیانگر پخش غیر یکنواخت و ناهمگن مولکول‌های پروتئین و عدم توسعه آن در این نمونه‌هاست. از این رو، می‌توان گفت، در خمیر سنتی اثرات تخریبی میکروارگانیسیم‌ها بیشتر بوده و تخریب شبکه گلوتهنی بیشتر است این نتایج با مشاهده‌های Peighambaroust و همکاران (۲۰۰۶) با روش میکروسکوپ روبنده کونفوکال لیزری تطابق دارد.



شکل ۵- تصویر مربوط به ریزساختار نمونه‌های خمیر تهیه شده بدون خمیر ترش (شاهد) با مقیاس ۱۰ میکرومتر

نتایج مشاهده‌های ریزساختاری نمونه‌های خمیر تهیه شده با خمیر ترش سنتی
شکل (۶) تصاویر مربوط به ریزساختار نمونه‌های خمیر



شکل ۶- تصاویر مربوط به ریزساختار نمونه‌های خمیر تهیه شده با خمیر ترش سنتی. الف) با مقیاس ۵ میکرومتر، ب) با مقیاس ۵ میکرومتر

نتیجه‌گیری
نتایج حاصل بیانگر این مطلب است که میکروسکوپ اپی فلورسنس جایگزین بسیار مناسبی برای میکروسکوپ کونفوکال در بررسی نمونه‌های خمیر بوده و تصاویر آن با تصاویر برداشت شده توسط میکروسکوپ کونفوکال برابری می‌کند، درحالی‌که هزینه و زمان کمتری را در بررسی نمونه‌ها صرف می‌کند. از سوی دیگر به علت تفکیک مناسب رنگ و میدان دید وسیع، تخریب فلورسنس نمونه‌ها بسیار پایین‌تر است. با توجه به اینکه میکروسکوپ اپی فلورسنس در مقایسه با میکروسکوپ الکترونی روبنده، از طریق گوناگونی رنگ، تفکیک ریزساختارها را به نحو مطلوب‌تری انجام می‌دهد می‌توان آن را بر میکروسکوپ الکترونی روبنده که تصاویر سیاه و سفید

(مونوکروم) می‌دهد، ارجح دانست. به منظور بررسی ساختار شبکه‌های پروتئینی موجود در نمونه‌های خمیر ترش، با استفاده از روش‌های مختلف رنگ‌آمیزی، نتیجه‌گیری شد که رنگ‌آمیزی مزدوج یا توأم با استفاده از نسبت ۱:۱ FITC ۱ درصد تهیه شده در حلال DMSO و رودامین B. ۰/۱ درصد، بهترین تصاویر میکروسکوپی را ارائه می‌نماید. بررسی ریزساختاری نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده نشان داد که شبکه گلوتهنی به صورت پیوسته و لایه لایه است و به خوبی تشکیل گردیده و آثاری از تخریب دیده نمی‌شود که می‌توان آن را به کافی نبودن مقدار میکروارگانیسیم‌ها، کم بودن زمان استراحت بعد از تهیه خمیر و یا کافی نبودن فعالیت میکروارگانیسیم‌ها نسبت داد.

منابع

- ۱- امین‌پور، آ.، ۱۳۷۴. ارزش تغذیه‌ای نان و مناسب‌ترین الگوی مصرف آن در تأمین نیازمندی‌های مردم. مجموعه مقالات اجلاس تخصصی نان. انیستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، ۳۶۳: ۲۸-۳۹.
- ۲- پیغمبردوست، س.ه.، رئیسی کاهوری، ن. و عیوض‌زاده، ا. ۱۳۹۳. اثر خمیرترش خشک‌شده حاوی مخلوط گونه‌های لاکتوباسیلوس بر کیفیت آرد گندم و خواص. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۴(۴): ۶۱۴-۶۲۳.
- ۳- پیغمبردوست، س.ه. ۱۳۷۵. بررسی تأثیر درجهٔ استخراج آرد روی ترکیب آرد، خواص رئولوژیک خمیر و کیفیت نان‌های مسطح ایران. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.
- 4- Ananta, E., Volkert, M., & Knorr, D. 2005. Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus* GG. *International Dairy Journal*, 15(4): 399-409.
- 5- Augustin Clarke, P., Chandan, R.C., Kilara, A., & Shah, N.P. 2008. Dry Milk Products. *Dairy Processing & Quality Assurance*, 15(3): 265-270
- 6- Bache, I.C., & Donald, A.M. 1998. The structure of the gluten network in dough: a study using Environmental Scanning Electron Microscopy. *Cereal Science*, 28(2): 127-133.
- 7- Bahraei, S., Saidi, A., & Alizadeh, D. 2004. High molecular weight glutenin subunits of current current bread wheats grown in Iran. *Euphytica*, 137(2): 173-9.
- 8- Dominguez, G., Neyra-Guevara, M., Farrera-Rebollo, R., Arana-Erassquin, R., & Mora-Escobedo, R. 2003. Structural and farinographic change during mixing of a yeast sweet dough. *Nahrung-Food. Molecular Nutrition & Food Research*, 47(5): 312-319.
- 9- Golshan Tafti, A., Peighambardoust, S.H., Hesari, J., Bahrami, A., & Shakuoie Bonab, A. 2013. Physico-chemical and functional properties of spray-dried sourdough in breadmaking. *Food Science and Technology International*, 19(3):271-278.
- 10- Hansen, A., & Hansen, B. 1994. Volatile compounds in wheat sourdoughs produced by lactic acid bacteria and sourdough yeasts. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 198(3):202-209.
- 11- Herman, B. 1998. *Fluorescence Microscopy*. BIOS Scientific Publisher. Second Edition. 200-230.
- 12- IDF, D. 1993. Dried Milk and Dried Cream. Determination of Water Content. *International Dairy Federation Standard 26A*.
- 13- Kam, P.V., Bianchin, A., & Bullerman, L.B. 2006. Inhibition of mold growth by sourdough bread cultures. *Review of Undergraduate Research in Agricultural and Life Sciences*, 2(1): 1-11.
- 14- Kuktaite, P. 2004. Protein Quality in Wheat: Change in Protein Polymer Composition during Grain Development and Dough Processing. Doctoral Thesis Swedish University of Agricultural Sciences Alnarp.
- 15- Meuser, F., Barber, B., & Fischer, G. 1995. Determination of the microbial activity of dried sourdoughs by revitalization of their lactic acid bacteria and yeasts. *Food Control*, 6(3):147-154.
- 16- Peighambardoust, S.H., Van der Goot A.J., Van Vliet, T., Hamer, R.J., & Boom, R.M. 2006. Microstructure formation and rheological behaviour of dough under simple shear flow *Journal of Cereal Science*, 43(2): 183-97.
- 17- Peighambardoust, S.H., Van Der Goot, A.J., Hamer, R.J., & Boom, R.M. 2005. Effect of simple shear on the physical properties of Glutenin Macro Polymer (GMP). *Journal of Cereal Science*, 42(1): 59-68.
- 18- Piazza, L., & Masi, P. 1995. Moisture redistribution throughout the bread loaf during staling and its effect on mechanical properties. *Cereal Chemistry*, 72(3): 320-325.
- 19- Robert, H., Gabriel, V., Lefebvre, D., Rabier, P., Vayssier, Y., & Fontagné-Faucher, C. 2006. Study of the behaviour of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough breadmaking process. *LWT-Food Science and Technology*, 39(3): 256-265.

- 20- Shinohara, M.Y., Sukenobe, J., Imaizumi, T., & Nakahara, T. 2008. Survival of freeze-dried bacteria. *Journal of General and Applied Microbiology*, 54(1):9-24.
- 21- Wilson, A.J., Wooding, A.R., & Morgenstern, M.P. 1997. Comparison of work input requirement on laboratory-scale and industrial-scale mechanical dough development mixers. *Cereal Chemistry*, 74(6): 715.

The Effect of Spray Dried Sourdough Process on Gluten Development by Studying Dough Microstructure

Ayla Ayramloo¹, Parisa Jafarian^{2*}, Seyed Hadi Peighambardoust³

1- MSc Student, Pardis International Campus, University of Tabriz, Tabriz, Iran

2- Ph.D. Student of Food Science, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

* Corresponding author (parisajafarian@yahoo.com)

3- Associate Professor, Department of Food Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Abstract

Sourdough is a complex biological system, consisting of such components as cereal carbohydrates and proteins, lactic acid bacteria and yeasts and different enzymes from which each of these taste, flavor and shelf life of bread can be improved with optimal use of sourdough. The aim of this study was to determine the effect of spray dried sourdough addition on gluten development through studying dough microstructure using epi-fluorescence microscope. Therefore, the traditional dough was prepared by adding 15% sourdough powders containing three lactobacillus strains, which were previously isolated from Iranian traditional sourdoughs (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus* and *Lactobacillus Paralimentarius*), to the dough. According to microscopic observation with simultaneous staining of dough samples with rhodamine 1% and FITC 0.1%, it was showed that samples had continuous gluten network layer and protein network was not destroyed. Which can be attributed to the insufficient amount of microorganisms, low resting after preparing the dough and insufficient activity of microorganisms.

Keywords: Dough, Dried Sourdough, Gluten, Microstructure