مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال سوم، شماره۲، تابستان ۱۳۸۷ ، صفحات ۸۰-۷۳

اثرات متقابل باکتری‌های لاکتیک اسید و مخمر نانوایی در تخمیر خمیرترش مایع

امین سرفراز[۱]، محمدحسین عزیزی[۲]، زهره حمیدی اصفهانی[۳]، محمدامیر کریمی ترشیزی[۴]، علی ظفری[۵]
۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس
۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، پست الکترونیکی: azizit_m@modares.ac.ir
۳- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس
۴- استادیار گروه پرورش طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس
۵- مدیر تحقیق و توسعه شرکت نان‌آوران سبوس

تاریخ دریافت: ۸۷/۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۸۷/۶/۱

چکیده

سابقه و هدف: تخمیر به واسطه خمیرترش با اثرات متقابل باکتری‌های لاکتیک اسید و مخمرها نقش مهمی در بهبود طعم، بافت و ماندگاری فراورده‌های نانوایی ایفا می‌کند. هدف از تحقیق حاضر، بررسی خصوصیات اسیدیفیکاسیون کشت‌های آغازگر مختلف در تخمیر خمیرترش مایع و انتخاب مایه تلقیح مناسب بر اساس خصوصیات کیفی و ماندگاری نان حاصل بود.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های خمیرترش مایع با استفاده از کشت‌های *لاکتوباسیلوس کازئی+ ساکارومایسس سرویزیه* (T۱)، *لاکتوباسیلوس فرمنتوم+ ساکارومایسس سرویزیه* (T۲) و *لاکتوباسیلوس کازئی+ لاکتوباسیلوس فرمنتوم+ ساکارومایسس سرویزیه* (T۳) تخمیر شد و به میزان ۱۵٪ وزن آرد، به فرمول خمیر نان اضافه شد و عملکرد فنی (رطوبت، حجم مخصوص، ویژگی‌های حسی) و ماندگاری (بیاتی) نان‌های خمیرترش با نان کنترل (T۰) مقایسه شد.

یافته ها: خمیرترش‌های تخمیر شده توسط مایه تلقیح T۱ و T۳ با کمی اختلاف، سرعت کاهش pH مشابهی داشتند و مایه تلقیح T۳ بیشترین سرعت اسیدیفیکاسیون را نشان داد. مایه تلقیح T۲ سرعت تولید اسید کمتری نشان داد (pH> ۴). نان‌های تهیه شده توسط خمیرترش مایع، حجم مخصوص بالاتری نسبت به نان کنترل داشتند و نان T۳ بالاترین امتیاز حسی را کسب کرد. نان‌های خمیرترش (T۱ و T۳) بیاتی کمتری نسبت به نان کنترل داشتند و نان T۳ بیاتی بیشتری در مقایسه با نان T۱ نشان داد (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: با افزودن خمیرترش مایع، ویژگی‌های حسی، عطر، طعم، حجم مخصوص و ماندگاری نان در مقایسه با نان کنترل، افزایش یافت. مایه تلقیح *لاکتوباسیلوس کازئی+ لاکتوباسیلوس فرمنتوم+ ساکارومایسس سرویزیه* بر اساس ویژگی‌های اسیدیفکاسیون و کیفیت حسی نان حاصله، برتر شناخته شد.

واژگان کلیدی: اسیدیفیکاسیون، باکتری‌های لاکتیک اسید، خمیرترش مایع، نان

• مقدمه

استفاده از خمیرترش (sourdough) به منظور ور آوردن خمیر نان، یکی از قدیمی‌ترین فرایندهای زیست فناوری در تولید مواد غذایی است. در سال ۱۵۰۰ میلادی، به منظور افزایش تولید گاز در حین تخمیر، مخمرهای حاصل از تخمیر آبجو به خمیرترش افزوده شد (۱). گسترش این ابتکار به پیشرفت تولید مخمر خشک و کاهش اهمیت خمیرترش در ورآوری خمیر گندم منجر شد (۲). با وجود استفاده روزافزون از مخمر نانوایی در قرن بیست و یکم به عنوان عامل پوک کنندهٔ بهتر در عرصه تولید نان، تخمیر توسط خمیرترش هنوز نقش مهمی در تولید نان چاودار و نان‌های تهیه شده از آردهای مخلوط ایفا می‌کند. همچنین، کاربرد خمیرترش در تولید نان گندم در حال توسعه است (۳).

با استفاده از خمیرترش در تولید نان، امکان ورآوری خمیر نان با افزودن مقدار کم یا بدون افزودن مخمر نانوایی فراهم می شود، ویژگی‌های خمیر، بهبود می‌یابد و بافت، عطر و طعم چنین نانی در مقایسه با نان ورآمده توسط مخمر نانوایی برتر خواهد بود. همچنین، با افزودن

Archive of SID
www.SID.ir

خمیرترش، زمان ماندگاری نان طولانی‌تر می‌شود و کپک‌زدگی و فساد طنابی (ropy spoilage) در نان به تاخیر می‌افتد. این مزایا در نتیجه سازوکار مشترک مخمرها و باکتری‌های لاکتیک اسید LAB (Lactic Acid Bacteria) فراهم می‌شود که میکروارگانیسم‌های غالب در خمیرترش‌های طبیعی هستند. سازوکار LAB با تولید اسیدهای آلی همراه است و مخمرها مسئول تولید ترکیبات معطر هستند (۴، ۳). تعداد LAB و مخمرها در خمیرترش‌ها به ترتیب 10^{8} تا 10^{9} cfu/g و 10^{6} تا 10^{7} است (۵). طبق تعریف، خمیر تخمیر شده توسط LAB و مخمر، خمیرترش نامیده می‌شود (۶).

خمیرترش‌ها را براساس فناوری‌های تولید به سه دسته تقسیم می‌کنند: ۱. خمیرترش سنتی که بر اساس تکثیر مداوم میکروارگانیسم‌ها در دمای محیط (۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد) استوار است (فرایند زمان‌بر). ۲. خمیر ترش مایع که توسط فرایند تخمیر یک مرحله‌ای و با صَرف زمان کمتر و دماهای بالاتر از $30^{\circ}C$ حاصل می‌شود. ۳. خمیرهای نوع سوم شامل انواع پودری و خشک شده خمیر که در عرصه صنعتی تخمیرهای مایع، بسیار مورد توجه هستند، اما آنها به اسیدیفیکاسیون سریع‌تری نیاز دارند (۷).

مزیت سامانه مایع این است که عوامل محیطی (از قبیل دسترسی به مواد مغذی) در سرتاسر این سامانه یکنواخت است. در محیط مایع، کنترل اسیدیته، آزادسازی آمینواسیدها و تولید ترکیبات طعمی مختلف، به راحتی امکان‌پذیر است و می‌توان محصولی با اسیدیته بالاتر یا پایین‌تر، مطابق بافت و طعم فراورده نهایی تهیه کرد (۸). مطالعات محدودی در زمینه کاربرد تخمیر خمیرترش مایع در نانوایی انجام شده است و بررسی‌های بیشتری در خصوص بهینه‌سازی ترکیب محیط مایع تخمیر (آرد، مخمر و قند) و متغیرهای فرایند (سرعت هم‌زدن، دما و زمان تخمیر) مورد نیاز است (۳). عملکرد جدا شده‌های LAB، با تعیین خصوصیات اسیدیفیکاسیون از جمله pH، اسیدیته کل قابل تیتر یا TTA (Total Titrable Acidity) و تولید لاکتیک اسید و استیک اسید طی تخمیر خمیرترش بررسی می‌شود. میزان لاکتیک اسید و استیک اسید، نقش مهمی در توسعه عطر و طعم نان‌های تهیه شده از خمیرترش دارد. ضریب تخمیر (نسبت مولی لاکتیک اسید به استیک اسید) در خمیرترش باید حدود ۴ باشد تا نانی با طعم متعادل فراهم آید (۵، ۴). گزارش‌هایی مبنی بر کاهش، افزایش یا عدم تاثیر خمیرترش بر زمان ماندگاری نان وجود دارد. این تاثیر به شرایط تخمیر و فراوری خمیرترش بستگی دارد. بهبود زمان ماندگاری نان در برخی موارد به تاخیر در رتروگراداسیون (retrogradation) نشاسته مربوط است (۱۰، ۹).

در مطالعه Corsetti و همکارن (۲۰۰۰) نان تولید شده توسط خمیرترش تخمیر شده خود به خودی با pH پایین و نسبت لاکتیک اسید و استیک اسید بالا، بیشترین حجم و کمترین میزان بیاتی را در طول ذخیره نشان داد (۱۰).

Gull و همکاران (۲۰۰۵) نمونه‌های خمیرترش را از نانوایی‌های مختلف ترکیه جمع آوری، LAB خمیرترش‌ها را جدا و اثرات متقابل LAB جدا شده و مخمر را ارزیابی کردند. نمونه‌های نان تهیه شده با ۱/۵ درصد *لاکتوباسیلوس آمیلوفیلوس* و ۱/۵ درصد *ساکارومایسس سرویزیه* بهترین نتایج را بر خصوصیات رئولوژیکی نان داشت. سویه‌های LAB به کار رفته در تولید نان خمیرترش، ماندگاری نان را افزایش داد و بیاتی را به تأخیر انداخت (۱۱). Robert و همکاران (۲۰۰۶) ویژگی‌های اسیدیفیکاسیون، فعالیت متابولیکی و عملکرد فنی چهار آغازگر لیوفیلیزه *لاکتوباسیلوس پلانتارم* و *لوکونوستک* را طی فرایند تولید نان از خمیرترش گندم با اضافه کردن ۰/۲ درصد مخمر نانوایی بررسی کردند. بررسی تخمیر همزمان خمیرترش توسط LAB و مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* نشان داد که در حضور LAB، اتانول کمتر ولی گلیسرول بیشتری تولید شد. از سوی دیگر، حضور *ساکارومایسس سرویزیه*، تولید مانیتول و استیک اسید توسط LAB را افزایش داد، بدون اینکه تاثیری بر تعداد سلول‌های نهایی LAB و تولید لاکتیک اسید داشته باشد (۴). Gaggiano و همکاران (۲۰۰۷) با غربال‌سازی سویه‌های LAB خمیرترش بر اساس سرعت تولید اسید و کاربرد سویه‌های با توانایی اسیدیفیکاسیون سریع در تخمیر خمیرترش نیمه مایع آماده (semi-liquid ready-to-use sourdough) دریافتند که با استفاده از سلول‌های رشد یافته تا فاز رشد لگاریتمی و تعداد مایه تلقیح 10^{8}-10^{9} *cfu/g*، pH خمیرترش به خوبی کاهش می‌یابد (۱۲). Plessas و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی کاربرد *کلویورومایسس مارکسیانوس* (*Kluyveromyces marxianus*)، *لاکتوباسیلوس*

Archive of SID

www.SID.ir

دلبروکی زیرگونه *بولگاریکوس* ATCC 11842 (*Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) و *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* ATCC 15009 (*L. helveticus*) به عنوان کشت‌های آغازگر برای تولید نان خمیرترش دریافتند که با استفاده از کشت‌های مخلوط، TTA بالاتر و غلظت‌های لاکتیک اسید بیشتری در مقایسه با نان‌های تهیه شده سنتی فراهم شد (۱۳). هدف از تحقیق حاضر، بررسی کاربرد کشت‌های آغازگر LAB و مخمر در تخمیر خمیرترش مایع و انتخاب مناسب‌ترین ترکیب آغازگر به کار رفته برای تخمیر خمیرترش مایع بر اساس اسیدیفیکاسیون خمیر در مدت زمان کوتاه و ایجاد طعم مطلوب در نان بود.

• مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی و محیط‌های کشت مورد استفاده در این تحقیق از شرکت Merck آلمان تهیه شد.

کشت‌های آغازگر: کشت‌های لیوفیلیزه LAB شامل *لاکتوباسیلوس کازئی* زیرگونه *کازئی* ATCC 9338 (*L. casei* subsp *casei*) (باکتری هتروفرمانتاتیو اختیاری[1]) و *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*[2] ATCC 39392 (باکتری هتروفرمانتاتیو اجباری[3]) از *مرکز کلکسیون باکتری‌ها و قارچ‌های سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران* (PTCC) تهیه شد. برای نگهداری طولانی مدت کشت‌های لاکتوباسیل، ابتدا پودرهای لیوفیلیزه باکتری‌ها در 5ml محیط کشت[4] MRS broth (درون لوله آزمایش) در شرایط سترون کشت داده شد و در دمای ۳۰°C به مدت ۱۶ تا ۲۰ ساعت در شرایط هوازی گرمخانه‌گذاری شد. سپس در سرعت g ×۸۰۰۰ به مدت ۸ دقیقه سانتریفوژ شد و مایع رویی حذف شد. توده سلول‌های باکتری در 5ml محیط انجمادی (مخلوط MRS broth: glycerol ۵:۱) مخلوط و در ۸۰°C- به حالت منجمد نگهداری شد. قبل از تلقیح خمیرترش، LAB از محیط انجمادی مایع، دو بار در محیط کشت MRS broth کشت داده شد و گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰ °C به مدت ۲۴ ساعت انجام شد تا سلول‌ها کاملاً فعال شدند (۱۴). مخمر نانوایی *ساکارومایسس سرویزیه*[5] (IADY) از شرکت *ایران مایه* تهیه شد و به میزان ۰/۰۴ گرم (۱۰^۶ CFU در یک گرم خمیرترش) در ترکیب نمونه‌های خمیرترش به کار رفت. میزان مایه تلقیح باکتریایی ۱۰^۷ CFU در یک گرم خمیرترش بود. انواع مایه تلقیح عبارت بودند از: *لاکتوباسیلوس کازئی+ ساکارومایسس سرویزیه* (T1)، *لاکتوباسیلوس فرمنتوم+ ساکارومایسس سرویزیه* (T2) و *لاکتوباسیلوس کازئی+ لاکتوباسیلوس فرمنتوم+ ساکارومایسس سرویزیه* (T3).

ویژگی‌های آرد مصرفی: برای تهیه نمونه‌های خمیرترش مایع، آرد گندم تیره دارای ۱/۶ درصد خاکستر (AACC 08-01)، ۳۴ درصد گلوتن مرطوب (AACC 38-10) و عدد فالینگ ۳۱۵ ثانیه (AACC 56-81) و برای پخت نان، *آرد ستاره* با ۰/۶۸ درصد خاکستر، ۳۶ درصد گلوتن مرطوب و عدد فالینگ ۴۲۵ ثانیه به کار رفت (۱۵).

تهیه و تخمیر نمونه‌های خمیرترش مایع: نمونه‌های خمیرترش مایع (۵۰۰ گرم) با استفاده از ترکیب کشت‌های آغازگر لاکتوباسیل و مخمر و سوبسترای تشکیل شده از آرد گندم (۱۵۰ گرم)، آرد چاودار (۲۵ گرم)، آرد مالت (۵ گرم)، مالتوز (۲ گرم)، پودر عصاره مخمر (۲ گرم) و آب (۳۰۰ میلی‌لیتر) در ارلن مایر ۵۰۰ میلی‌لیتری آماده شد. مواد اولیه جهت تهیه خمیرترش در ظروف شیشه‌ای، توزین و به ارلن مایر منتقل شد. اختلاط خمیر روان، درون ارلن با استفاده از قاشق پلاستیکی تا مخلوط شدن کامل انجام شد. ارلن حاوی نمونه در گرمخانه مجهز به همزن در دمای ۳۰°C و سرعت ۱۵۰ rpm به مدت ۲۰ ساعت گرمخانه-گذاری شد تا عمل تخمیر انجام شود (۱۶).

شمارش میکروبی: برای تجزیه میکروبی ۱۰ گرم نمونه خمیرترش با ۹۰ml محلول سترون NaCl ۰/۸۵ درصد وزنی-حجمی (به عنوان رقیق‌کننده) توسط مخلوط‌کُن، همگن شد. رقت‌های بیشتر با همان رقیق کننده تهیه شد. شمارش LAB با استفاده از روش کشت عمقی (poul plate) در محیط کشت MRS agar بعد از گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰°C به مدت ۲ روز صورت گرفت. برای جلوگیری از رشد مخمر و باکتری‌های لاکتیکی، مقدار ppm ۲۵ ناتامایسین به محیط کشت MRS agar اضافه شد. شمارش مخمرها به روش کشت سطحی در محیط کشتYGC agar (Yeast extract Glucose Chloramphenicol) با گرمخانه‌گذاری در دمای ۲۵°C به مدت ۳ روز انجام شد (۱۷).

1. *Facultatively heterofermentative*
2. *L. fermentum*
3. Obligately heterofermentative
4. Man Rogona Sharp
5. Instant active dry yeast

Archive of SID

www.SID.ir

آزمون‌های شیمیایی: برای تعیین مقدار pH نمونه‌های خمیرترش، ۱۰ گرم از هر نمونه با ۹۰ml آب مقطر مخلوط شد و مقدار pH این محلول ۱۰ درصد اندازه‌گیری شد. اسیدیته با استفاده از تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به pH نهایی ۸/۵ اندازه‌گیری و مقدار TTA بر حسب مقدار سود مصرفی بیان شد (۱۸).

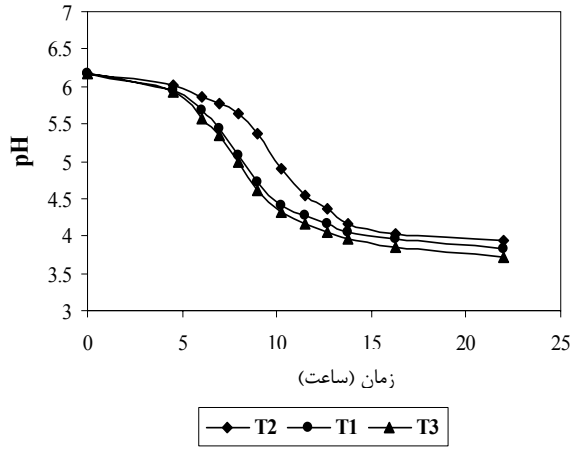
برای اندازه‌گیری اسیدهای آلی از دستگاه HPLC ساخت شرکت Waters آمریکا با ستون Vertex Column Prontosil 120- 3 C18 AQ (250×46mm, dp=3µm) (Knauer, Germany) استفاده شد. از فسفریک اسید با غلظت ۵۰ میلی‌مولار و سرعت جریان ۰/۷ میلی لیتر در دقیقه به عنوان فاز متحرک استفاده شد. حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر و جداسازی در دمای اتاق با شناسایی توسط آشکارساز UV مدل ۲۴۸۷ شرکت Waters در طول موج ۲۰۵ نانومتر انجام گرفت (۱۹). جهت حذف ذرات معلق، نمونه‌های ۱۰ گرمی تهیه شده ابتدا با ۶۰ml آب مقطر سرد، همگن و وزن نمونه‌ها به ۱۰۰ گرم رسانده شد. سپس سانتریفوژ در ۴۰۰۰× g به مدت ۵ دقیقه در دمای ۱۵°C انجام شد. ۲۰ میلی‌لیتر از جزء رویی (Supernatant) برداشته و با ۵ میلی‌لیتر محلول Carrez I (Zinc sulfate, 0.25 M) و محلول Carrez II (Zinc sulfate, 0.25 M) مخلوط شد. سپس مخلوط حاصل توسط سود ۰/۵ مولار تا رسیدن به pH نهایی ۸/۵ خنثی شد. حجم مخلوط را با آب مقطر به حدود ۵۰ میلی‌لیتر رسانده و سپس مخلوط به منظور حذف ذرات معلق ۲ بار صاف شد (ابتدا با صافی واتمن شماره ۴۱ و سپس با صافی استات سلولزی ۰/۲۲ میکرون). از نمونه‌های صاف شده برای تزریق به دستگاه HPLC استفاده شد (۴).

پخت نان: برای تولید خمیر نان بر پایه ۱۰۰ گرم آرد از چنین فرمولی استفاده شد: آرد ستاره (۱۰۰ گرم)، نمک (۱/۵ گرم)، مخمر نانوایی (۲ گرم)، شکر (۱ گرم)، چربی (۱ گرم) و بهبود دهنده تجاری (۱ گرم). نمونه‌های نان حاوی خمیرترش، با افزودن مقدار ۱۵٪ خمیرترش مایع (بر مبنای وزن آرد) به خمیر نان تهیه شدند. نان کنترل بدون خمیرترش، توسط مخمر نانوایی *ساکارومایسس سرویزیه* به عنوان مایه تلقیح (T۰) فراهم شد. ابتدا اختلاط خمیر در دمای ۲۷-۲۶ °C انجام شد و خمیر آماده شده پس از ۲۰ دقیقه توسط دستگاه تقسیم کننده خمیر به چانه‌های خمیر ۹۰۰ گرمی تبدیل شد. گرد کردن چانه‌ها دستی انجام گرفت. بعد از تخمیر میانی (Intermediate proofing) (۱۰ دقیقه روی میز)، قطعات خمیر در قالب قرار داده شد و بعد از گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۲°C و رطوبت نسبی ۷۵ تا ۸۰ درصد به مدت ۶۰ دقیقه برای تخمیر نهایی، پخت نان در دمای ۲۳۰ °C به مدت ۳۵ دقیقه انجام شد (۱۴).

برای ارزیابی کیفیت نان، آزمون‌های رطوبت (AACC44-16)، حجم مخصوص به روش جابه‌جایی دانه کلزا (Rapeseed displacement method) (۱۷)، ارزیابی حسی با بررسی ویژگی‌های ظاهری، داخلی و مزه و عطر نان (۲۰)، بیاتی نان با روش حسی (AACC 74-30) و اندازه‌گیری سفتی مغز نان توسط اینستران (AACC 74-09) انجام شد. برای ارزیابی داده‌ها، آنالیز واریانس در سطح P<۰/۰۵ انجام شد که در صورت معنی‌دار بودن، آزمون حداقل اختلاف معنی‌داری (LSD: Least significant difference) در سطح P<۰/۰۵ برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد. برای تجزیه داده‌ها از نرم افزار SAS 9.1 استفاده شد.

• یافته‌ها

تمام نمونه‌های خمیرترش مایع، در ابتدا مقدار pH مشابهی در حدود۶/۲ داشتند که با گذشت زمان و تولید اسید توسط گونه‌های میکروبی مایه تلقیح، pH کاهش یافت و بعد از مدت زمان ۱۵ تا ۲۰ ساعت، تقریباً تولید اسید متوقف شد و تغییرات pH به کمترین مقدار رسید (شکل ۱).



T۱: *لاکتوباسیلوس کازئی+ ساکارومایسس سرویزیه*، T۲: *لاکتوباسیلوس فرمنتوم+ ساکارومایسس سرویزیه* T۳: *لاکتوباسیلوس کازئی+ لاکتوباسیلوس فرمنتوم+ ساکارومایسس سرویزیه*

شکل ۱- تغییرات pH با گذشت زمان در خمیرترش مایع تخمیر شده توسط مایه تلقیح T۱، T۲ و T۳

Archive of SID

www.SID.ir

مقدار pH نهایی نمونه‌های تخمیر شده توسط مایه تلقیح T۱ و T۳ کمتر از ۴ بود. مایه تلقیح T۲ کمترین سرعت تولید اسید را نشان داد و خمیرترش تخمیر شده توسط مایه تلقیح T۲ دارای pH بالاتر از ۴ بود. نمونه تخمیر شده توسط T۱ بیشترین مقدار لاکتیک اسید و کمترین مقدار استیک اسید را نشان داد. کمترین میزان لاکتیک اسید در خمیرترش تخمیر شده توسط T۲ یافت شد (جدول ۱). نمونه‌ای از کروماتوگرام HPLC اسیدهای آلی تولید شده در خمیرترش مایع تخمیر شده، در شکل ۲ نمایش داده شده است.

مقایسه میزان رطوبت (درصد) نان‌های مورد بررسی (جدول ۲) نشان داد که بین رطوبت نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۵). اول، نان T۲ و سپس نان کنترل (T۰) بیشترین میزان رطوبت را داشتند. کمترین میزان رطوبت مربوط به نان T۱ بود. اختلاف معنی‌داری بین میزان رطوبت نان T۱ و T۳ وجود نداشت (P>۰/۰۵).

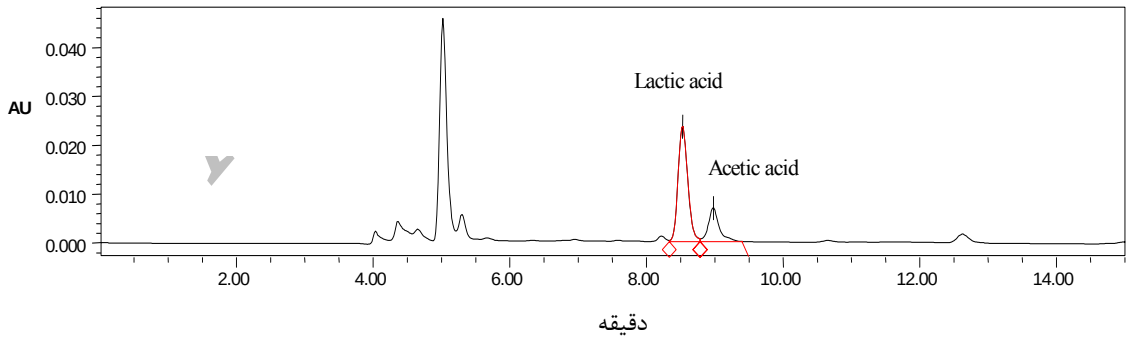
نتایج آنالیز واریانس حجم مخصوص نان‌های تولید شده، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌ها بود (P<۰/۰۵). نان‌های تهیه شده توسط خمیرترش مایع، حجم مخصوص بالاتری نسبت به نان کنترل داشتند و نان T۳ بالاترین حجم مخصوص را نشان داد. همان طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، اختلاف معنی‌داری بین میزان حجم مخصوص نمونه‌های خمیرترش (T۱، T۲ و T۳) وجود نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۱- ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی خمیرترش‌های تخمیر شده به مدت ۲۰ ساعت توسط مایه تلقیح T۱، T۲ و T۳*

مایه تلقیح	pHمقدار	مقدار لاکتیک اسید (mg/۱۰۰ g)	مقدار استیک اسید (mg/۱۰۰ g)	تعداد لاکتوباسیل‌ها (cfu/g خمیر)	تعداد مخمرها (cfu/g خمیر)
T۱	۳/۸۳±۰/۰۴	۹۸۴/۳۴±۱۲/۳۵	۲۲/۷۱±۰/۲۹	۳/۱±۰/۱ × ۱۰^۹	۵/۴±۰/۱ × ۱۰^۷
T۲	۴/۳۱±۰/۰۱	۲۹۶/۸۳±۱۲/۷۳	۷۵/۶۶±۷/۵۴	۲/۵±۰/۱ × ۱۰^۹	۶/۰±۰/۱ × ۱۰^۷
T۳	۳/۷۲±۰/۰۲	۷۵۳/۹۲±۱۳/۶۴	۴۲/۱۳±۱/۳۰	۳/۲±۰/۲ × ۱۰^۹	۵/۳±۰/۱ × ۱۰^۷

* اعداد در جدول به صورت انحراف استاندارد ± میانگین بیان شده است.

T۱: لاکتوباسیلوس کازئی+ ساکارومایسس سرویزیه، T۲: لاکتوباسیلوس فرمنتوم+ ساکارومایسس سرویزیه T۳: لاکتوباسیلوس کازئی+ لاکتوباسیلوس فرمنتوم+ ساکارومایسس سرویزیه



شکل ۲- نمونه کروماتوگرام HPLC اسیدهای آلی تولید شده در تخمیر خمیرترش مایع

(شرایط آزمون: نوع ستون: Prontosil 120-3 C18 AQ (250×46mm, dp=3µm) Vertex Column (Knauer, Germany)، فاز متحرک: فسفریک اسید با غلظت ۵۰ میلی مولار (M ۰/۰۵) و سرعت جریان ۰/۷ میلی لیتر بر دقیقه، حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر، تشخیص با آشکارساز UV مدل ۲۴۸۷. در طول موج ۲۰۵ نانومتر).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- میانگین میزان رطوبت و حجم مخصوص نان‌های تولید شده با تیمارهای مختلف*

مایه تلقیح	میزان رطوبت (درصد)	حجم مخصوص (cm^3/g)
T۰	^{b} ۴۰/۴۳±۱/۱۶	^{b}۳/۹۵±۰/۱۲
T۱	^{c}۳۹/۵۷±۱/۴۶	^{ab}۴/۱۹±۰/۱۳
T۲	^{a}۴۱/۲۳±۱/۳۶	^{a} ۴/۲۵±۰/۱۳
T۳	^{c} ۳۹/۶۳±۱/۱۵	^{a}۴/۴۳±۰/۱۳

*اعداد در جدول به صورت انحراف استاندارد ± میانگین بیان شده است.

abc مقادیر با حروف مشابه، نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار است.

T۰: ساکارومایسس سرویزیه، T۱: لاکتوباسیلوس کازئی+ ساکارومایسس سرویزیه،T۲: لاکتوباسیلوس فرمنتوم+ ساکارومایسس سرویزیه T۳: لاکتوباسیلوس کازئی+ لاکتوباسیلوس فرمنتوم+ ساکارومایسس سرویزیه

نتایج ارزیابی حسی نان‌های خمیرترش و نان کنترل (جدول ۳) نشان داد که نان‌های خمیرترش (بجز نان T۲) ویژگی‌های ظاهری، درونی و امتیاز حسی بهتری نسبت به نان کنترل داشتند. البته لازم به ذکر است که نان T۲ به دلیل دارا بودن عطر و طعم نامناسب و رنگ مغز نامطلوب توسط ارزیاب‌ها مورد قبول واقع نشد. با توجه به ویژگی‌های اسیدیفیکاسیون، خمیرترش تخمیر شده توسط مایه تلقیح T۲، غلظت لاکتیک اسید بسیار کمتری در مقایسه با آغازگر T۱ و T۳ نشان داد که وقوع ضریب تخمیر پایین (در نتیجه عدم تعادل نسبت اسیدهای آلی) یا حضور اسیدهای آلی و متابولیت‌های میکروبی دیگر در خمیرترش T۲ مسئول طعم نامطلوب این نان بود. با توجه به عطر و طعم نامطلوب و سرعت اسیدیفیکاسیون کمتر نان T۲، خمیرترش تخمیر شده توسط آغازگر T۲ نامناسب تشخیص داده شد و برای آزمایش‌های بعدی (آزمون بیاتی) کنار گذاشته شد. نان T۱ دارای عطر و طعم قوی‌تری بود، اما به علت ترشی و طعم اسیدی نسبت به نان T۳ (با عطر و طعم دلپذیر نان خمیرترش)، خمیرترش مایع تخمیر شده با مایه تلقیح T۳ از نظر ویژگی‌های حسی نان تولید شده توسط ارزیاب‌ها بیشتر ترجیح داده شد.

میانگین کلی بیاتی (سفتی مغز نان بر حسب نیوتن) نمونه‌های آزمون، در جدول۴ با همدیگر مقایسه شده است. همان طور که ملاحظه می‌شود، بیاتی نان‌های خمیرترش (T۱ و T۳) نسبت به نان کنترل (T۰) کمتر است و نان T۳ بیاتی بیشتری در مقایسه با نان T۱ دارد (P<۰/۰۵). به طور کلی، میزان بیاتی در تمام نمونه‌ها با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت. نتایج ارزیابی بیاتی نان توسط آزمون حسی (جدول ۵) نشان داد که نان‌های خمیرترش، طی مدت زمان نگهداری، در مقایسه با نمونه کنترل، بیاتی کمتری داشتند. نان T۳ نسبت به نان T۱ بیاتی کمتری در طول زمان نگهداری نشان داد.

جدول ۳- مقایسه میانگین ویژگی‌های مربوط به ارزیابی حسی نان‌های تولید شده با تیمارهای مختلف*

مایه تلقیح	ویژگی‌های ظاهری	ویژگی‌های درونی	ویژگی‌های کلی
T۰	^{b}۲۳/۲±۲/۷	۵۳/۴±۵/۷^{c}	۷۶/۷±۷/۷^{c}
T۱	۲۷/۸±۰/۴^{a}	۵۹/۱±۴/۸^{b}	۸۶/۹±۴/۶^{b}
T۲	۲۶/۷ ±۰/۵^{a}	۴۲/۲±۵/۱^{d}	۶۸/۹±۵/۶^{d}
T۳	۲۸/۵±۱/۲^{a}	۶۶/۸±۳/۱^{a}	۹۵/۲±۳/۴^{a}

جدول ۴- مقایسه میانگین بیاتی نان‌های مورد بررسی در روزهای مختلف توسط اینستران*

	روز ۱	روز ۳	روز ۵	روز ۷
T۰	۳/۶۳±۰/۱۵ ^{g}	۵/۱۷±۰/۰۶^{ef}	۷/۸۳±۰/۴۰^{b}	۱۰/۸۳±۰/۳۵^{a}
T۱	۲/۸۳±۰/۲۵^{i}	۳/۴۰±۰/۱۰^{gh}	۵/۲۷±۰/۰۶^{e}	۷/۲۳±۰/۲۵^{c}
T۳	۳/۱۷±۰/۲۵^{hi}	۴/۸۰±۰/۱۰^{f}	۶/۵۳±۰/۲۵^{d}	۷/۶۳±۰/۲۵^{bc}

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۵- مقایسه میانگین بیاتی نان‌های مورد بررسی در روزهای مختلف با آزمون حسی*

	روز ۱	روز ۳	روز ۵	روز ۷
T۰	۵/۰±۰/۶^{b}	۳/۶±۰/۵^{cd}	۱/۶±۰/۵^{f}	۱/۰±۰^{g}
T۱	۵/۹±۰/۴^{a}	۳/۹±۰/۷^{c}	۲/۳±۰/۵^{e}	۱/۰±۰^{g}
T۳	۶/۰±۰^{a}	۴/۶±۰/۵^{b}	۳/۱±۰/۴^{d}	۲/۰±۰^{ef}

*اعداد در جداول به صورت انحراف استاندارد ± میانگین بیان شده است.
abc مقادیر با حروف مشابه نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار است.
T۰: *ساکارومایسس سرویزیه*
T۱: *لاکتوباسیلوس کازئی+ ساکارومایسس سرویزیه*
T۲: *لاکتوباسیلوس فرمنتوم+ ساکارومایسس سرویزیه*
T۳: *لاکتوباسیلوس کازئی+ لاکتوباسیلوس فرمنتوم+ ساکارومایسس سرویزیه*

• بحث

نتایج به دست آمده از ویژگی‌های تولید اسید آغازگرهای مورد بررسی (T۱، T۲ و T۳) در تخمیر خمیرترش مایع نشان داد که کشت‌های T۱ و T۳ در مدت زمان تخمیر ۲۰ ساعت، pH خمیرترش را به کمتر از ۴ کاهش دادند و سرعت کاهش pH نزدیک به هم بود. اما کشت T۲ سرعت تولید اسید کمتری داشته و pH نهایی بالاتری نشان داد. در ضمن، کشت‌های T۱ و T۳ غلظت لاکتیک اسید بالاتری در خمیرترش تولید کردند. کشت‌های T۱ و T۳ با کاهش سریع pH، در نتیجه تولید اسیدهای آلی، ویژگی‌های اسیدیفیکاسیون مناسبی از خود نشان دادند که با نتایج Robert و همکاران (۲۰۰۶) هماهنگی دارد.

مقایسه مقادیر رطوبت و حجم مخصوص نان‌های تهیه شده توسط خمیرترش و نان کنترل نشان داد که با افزودن خمیرترش، حجم مخصوص نان در مقایسه با نمونه کنترل افزایش می‌یابد که با یافته‌های دیگران (۲۲، ۲۱) مطابقت دارد. Clarke و همکاران نشان دادند که نان‌های خمیرترش در مقایسه با نان‌های اسیدی شده شیمیایی و نان کنترل، حجم مخصوص بالاتری دارند (۲۰). بین میزان رطوبت نان‌های خمیرترش، در مقایسه با نان کنترل، رابطه مشخصی مشاهده نشد که نشان می‌دهد، تاثیر خمیرترش مایع بر میزان رطوبت نان به سویه‌های تخمیر کننده و شرایط تخمیر بستگی دارد. بهبود حجم نان‌های خمیرترش ممکن است تا اندازه‌ای به واسطه محلول شدن آرابینوزیلان‌ها و تولید اگزوپلی‌ساکاریدها باشد (۲۲). نتایج تحقیقات Katina (۲۰۰۵) نشان داد که خمیرترش مناسب برای بهبود طعم نان دارای اسیدیته متوسط بود، مقادیر بالای آمینواسید آزاد و ترکیبات فرّار داشته باشد (۲۳). خمیرترش تخمیر شده توسط مایه تلقیح T۱ در مقایسه با مایه تلقیح T۳، غلظت لاکتیک اسید بالاتر و استیک اسید کمتری دارد. ممکن است شدت طعم ترشی نان T۱ به دلیل غلظت بالای لاکتیک اسید و بالاتر بودن ضریب تخمیر مایه تلقیح T۱ نسبت به T۳ باشد. مقایسه روش ارزیابی بیاتی توسط اینستران و آزمون حسی، نشان‌دهنده وجود اختلاف در نتایج این دو روش بود. با اندازه‌گیری بیاتی نمونه‌ها توسط اینستران در روزهای ۱، ۳، ۵ و ۷، نان خمیرترش T۱ کمترین سفتی را نشان داد و بیاتی کمتری داشت، در حالی که با آزمون حسی توسط ارزیاب‌ها، نان خمیرترش T۳ کمترین بیاتی را در روزهای آزمون نشان داد. اما در هر دو روش استفاده شده برای ارزیابی بیاتی، نان‌های خمیرترش (T۱ و T۳) نسبت به نان کنترل بیاتی کمتر و ماندگاری بیشتری داشتند. Brandt و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که کاربرد LAB به شکل خمیرترش، اثرات مثبت بر بیاتی نان داشته و حجم قرص نان بهبود می‌یابد که با کاهش سرعت بیاتی نان، مرتبط است. اثرات ضد بیاتی خمیرترش، وابسته به سویه آغازگر تخمیر بوده و به دینامیک کاهش pH بستگی دارد. این گزارش‌ها با نتایج به دست آمده در این تحقیق، هماهنگی دارد. به طور کلی، نان‌های خمیرترش (بجز نان T۲)، نسبت به نان کنترل کیفیت حسی بالاتری داشته و عطر و طعم بالاتری نشان دادند. مایه تلقیح *لاکتوباسیلوس کازئی+ لاکتوباسیلوس فرمنتوم+ ساکارومایسس سرویزیه* بر اساس ویژگی‌های اسیدیفکاسیون و کیفیت حسی نان حاصله، برتر شناخته شد.

با توجه به نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر پیشنهاد می‌شود که تاثیرتعداد سلول‌ها، سن مایه تلقیح و میزان خمیرترش مایع اضافه شده به خمیر نان بر ویژگی‌های کیفی و زمان ماندگاری فیزیکی (بیاتی) و میکروبی نان، مورد مطالعه قرار گیرد.

سپاسگزاری

از مسئولان محترم شرکت *نان‌آوران سبوس* و همچنین *مرکز رشد سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران* در اجرای این طرح قدردانی می‌شود.

Archive of SID
www.SID.ir

- **References**

1. Decock P, Cappelle S. Bread technology and sourdough technology. Trends Food Sci Technol 2005; 16: 113-120.
2. Shahedi M, Kabir G, Sanei R. Optimizing fermentation conditions of Taftoon bread. The Second International Fair in bread and bread machinery, Tehran, Iran; 2002. 69-89.[in persian]
3. Kulp K, Lorenz K. Handbook of Dough fermentations, New York: Marcell Dekker Inc; 2003. p. 10-45.
4. Robert H, Gabriel V, Lefebvre D, Rabier P, Vayssier Y, Faucher C. Study of the behaviour of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough bread making process. LWT 2006; 39: 256-265.
5. Hui YH, Goddic LM, Hansen AS, Josephsen J, Nip WK, Stanfield PS. Handbook of food and beverage fermentation technology, New York: Marcell Dekker, Inc, 2004.
6. Brandt MJ. Sourdough products for convenient use in baking. Food Microbiol 2007; 24: 161-164.
7. Messens W, Neysens P, Vnsieleghem W, Vanderhoevem J, De Vuyst L. Modeling growth and bacteriocin producing by *Lactobacillus amylovorus* DCE 471 in response to temperature and pH values used for sourdough fermentations. Appl Environ Microbiol 2002; 68: 1431-1435.
8. Carnevali P, Ciati R, Leporati A, Paese M. Liquid sourdough fermentation: industrial application perspectives. Food Microbiol 2007; 24: 155-160.
9. Barber B, Ortola C, Barber S, Fernandez F. Storage of packaged white bread. Effects of sourdough and addition of acids on bread characteristics. Z Lebensm Unters Forsch 1992; 194: 442-449.
10. Corsetti A, Gobbetti B, De Marco B, Balestrieri F, Paoletti F, Rossi J. Combined effect of sourdough lactic acid bacteria and additives on bread firmness and staling. J Agric Food Chem 2000; 48: 3044-3051.
11. Gül H, Özçelic S, Sağdiç O, Cartel M. Sourdough bread pruduction with *Lactobacilli* and *S.cerevisiae* isolated from sourdoughs. Process Biochem 2005; 40: 691-697.
12. Gaggiano M, Cogno RD, Angelis MD. Defined multi-species semi-liquid ready-to-use sourdough starter. Food Microbiol 2007; 24: 15-24.
13. Plessas S, Bekatorou A, Gallanagh J, Nigam P, Koutinas AA, Psarianos C. Evolution of aroma volatiles during storage of sourdough breads made by mixed cultures of *Kluyveromyces marxianus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* or *Lactobacillus helveticus*. Food Chem 2008; 107: 883-889.
14. Esteve CC, Barber CB, Martinez-Anaya M. Microbial sourdoughs influence acidification properties and breadmaking potential of wheat dough. J Food Sci 1994; 59: 629-633.
15. AACC. Approved Methods of Analysis of the American Association of Cereal Chemist. St. Paul, Minnesota, USA; 1995.
16. Gelinas P, Lachance O, Audet J, inventors; Flavorants for enhancing the taste and flavor of bakery products and process of making. US Patent 5,108,766. 1992.
17. Paramithiotis S, Chouliaras Y, Tsakalidou E, Kalantzopoulos G. Application of selected starter cultures for the production of wheat sourdough bread using a traditional three-stage process. Process Biochem 2005; 40: 2813-2819.
18. Martinez-Anaya MA, Collar C, Benedito, Barber C. Cereal Foods World 1995; 40: 605 –610.
19. Arabi A. Study the quantity of pomegranate juice organic acids and their change during storage. [dissertation]. Teharan: Tarbiat Modares University, Agricultural Faculty; 2006. [in persian]
20. Matz SM. Bakery technology and engineering. Westport USA: AVI Publishing company; 1960.
21. Hansen Å, Hansen B. Flavour of sourdough wheat bread crumb. Z Lebensm Unters Forsch 1996; 202 (3): 244-249.
22. Clarke CI, Schober TJ, Arendt EK. The effect of single strain and traditional mixed strain starter cultures on rheological properties of wheat dough and bread quality. Cereal Chem 2002; 79: 640-647.
23. Katina K, Arendt E, Liukkonen KH, Autio K, Flander L, Poutanen K. Potential of sourdough for healthier cereal products. Trends Food Sci Technol 2005; 16: 104-112.
24. Molard R, Chagnier B. Bildung von essigsäure und mildchsäure imverlauf der teighfurhrung auswirkungen auf den brotgeschmack. Getreide Mehl Brot 1980; 34: 147-149.

Archive of SID

www.SID.ir