

## مقاله پژوهشی

## بهینه‌سازی تخمیر کنترل‌شده خمیر ترش سبوس برنج و ارزیابی خصوصیات کیفی نان حجیم با استفاده از روش (RSM)

عباس عابدفر<sup>۱</sup>، مرضیه حسینی‌نژاد<sup>۲\*</sup>، علیرضا صادقی<sup>۲</sup>، فاطمه عباس زاده<sup>۴</sup>

۱. دانشجوی دکتری، گروه زیست فناوری مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد

۲. دانشیار، گروه زیست فناوری مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد

۳. دانشیار، گروه زیست فناوری مواد غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۴. دانشجوی دکتری، گروه فناوری مواد غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۹۷/۹/۱۷، تاریخ آخرین بازنگری: ۹۸/۲/۲۴، تاریخ پذیرش: ۹۸/۴/۲۴

## چکیده

بهینه‌سازی کنترل تخمیر با عملکرد مناسب خمیر ترش سبوس برنج در توسعه و ارزش تغذیه‌ای و عملگرایی نان حجیم به‌منظور ایجاد جایگزین‌های مناسب برای افزودنی‌های نانوائی، روز به روز در حال افزایش است. در این پژوهش پس از جداسازی آغازگر غالب موجود در خمیر ترش سنتی حاصل از آرد سبوس برنج و تایید شناسایی آن با استفاده از PCR دارای پرایمر اختصاصی، از آغازگر مذکور جهت تولید خمیر ترش و بررسی خصوصیات کیفی نان حجیم خمیر ترشی به روش RSM تحت تاثیر زمان تخمیر (۸، ۱۶ و ۲۴ h)، دمای تخمیر (۲۶، ۳۲ و ۳۸ °C) و محتوی شکر (۱/۵، ۳ و ۴/۵٪) استفاده گردید. نتایج حاصل از این پژوهش با ارزیابی تناسب مدل‌های برازش شده نشان داد که با افزایش دما و زمان تخمیر به ازای محتوی شکر ثابت، اسیدیته قابل تیتر، پایش جمعیت میکروبی، حجم مخصوص، تخلخل، شاخص اختلاف کلی رنگ پوسته نان به ترتیب روند افزایشی و پیوستگی آن نیز به‌طور معنی‌داری روند کاهشی را نشان داد. همچنین، سفتی ارزیابی پذیرش کلی بافت نان نیز روند کاهشی داشت ( $p < 0.05$ ). علاوه بر این در یک دمای تخمیر ثابت، تاثیر زمان تخمیر و محتوی شکر سبب بهبود خصوصیات کیفی نان حجیم در سطح ۵٪ گردید در حالی که اثر متقابل دمای تخمیر و مقدار شکر با زمان تخمیر ثابت در مدل درجه دوم برازش شده، کاهش سفتی و بهبود سایر ویژگی‌های کیفی نان را به دنبال داشت ( $p > 0.05$ ). براساس نتایج حاصل از این پژوهش برای هر متغیر وابسته، مدلی تعریف گردید و سپس به‌منظور ارزیابی صحت مدل‌های برازش یافته، بهینه‌سازی تناسب شرایط دلخواهی و آزمون ضعف برازش تعیین شدند.

واژه‌های کلیدی: تخمیر کنترل‌شده، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، خمیر ترش سبوس برنج، خصوصیات کیفی نان خمیر ترشی، روش سطح پاسخ.

\* نویسنده مسئول: [m.hosseininezhad@rifst.ac.ir](mailto:m.hosseininezhad@rifst.ac.ir)

## ۱. مقدمه

مولکولی پایین را محدود کرده و سبب کاهش بلوری شدن نشاسته و کاهش بیاتی نان می‌گردد، همچنین با کاهش pH سبب بهبود حجم، حفظ رطوبت در شبکه خمیر، فعال نمودن آنزیم لیپواکسیژناز و همچنین انحلال بخشی از فیبرهای رژیمی می‌شود [۹، ۱۰]. تاثیر تخمیر کنترل شده خمیرترش سبوس برنج بر بهبود طعم محصول نهایی نیز بر پایه سه عامل اصلی تولید اسید، ایجاد پیش‌ماده‌های طعمی نظیر اسیدهای آمینه و تولید ترکیبات فرار، استوار است [۱۱]. باکتری‌های اسید لاکتیک از قابلیت تولید ترکیبات ضد میکروبی نظیر اسیدهای آلی، دی‌استیل، استون، پراکسید هیدروژن، پپتیدهای ضد قارچی و باکتریوسین‌ها نیز برخوردارند که در مقابل طیف وسیعی از عوامل بیماری‌زا و مولد فساد موثر می‌باشند [۱۲، ۱۳]. برخی از متابولیت‌های تولیدی توسط باکتری‌های اسید لاکتیک موجود در خمیرترش نظیر پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی و آنزیم‌های پروتئولیتیک و آمیلولیتیک آن‌ها نیز در تاخیر بیاتی نان حجیم موثر هستند [۱۴، ۱۵] بهبود ویژگی‌های تغذیه‌ای نان و غنی سازی آن با ترکیبات مختلف نظیر سبوس برنج با هدف ارتقاء ارزش غذایی و کیفیت محصول با بهینه‌سازی شرایط فرایند امکانپذیر می‌گردد از این رو تکنیک سطح پاسخ (RSM)، مجموعه‌ای از تکنیک‌های ریاضی و تجربی مفید برای بررسی تاثیر چند متغیر بر عملکرد و کیفیت محصول و یا فرایند تحت بررسی با هدف مدل‌سازی و بهینه‌یابی فرایندهای پیچیده است. این روش، نه تنها تعامل بین متغیرهای مستقل را ارزیابی می‌کند بلکه برای تعیین اثرات متقابل آن‌ها به منظور کاهش تعداد آزمون و هزینه‌های کلی نیز به طور کامل کارآمد می‌باشد [۱۶، ۱۷]. بر این اساس ارزیابی شرایط بهینه و کنترل خصوصیات کیفی محصول نهایی با هدف ارتقاء ارزش غذایی و قابلیت ماندگاری مورد توجه محققین فراوانی قرار گرفته است. هدف از انجام این پژوهش، بهینه‌سازی تخمیر کنترل شده با لاکتوباسیلوس /اسیدوفیلوس در خمیرترش سبوس برنج و ارزیابی خصوصیات کیفی نان حجیم با استفاده از روش RSM بود.

## ۲. مواد و روش‌ها

## ۲.۱. مواد خام

آرد نول مورد استفاده جهت تهیه نان حجیم و سبوس برنج برای آماده‌سازی خمیرترش سبوس برنج به ترتیب از کارخانه آرد

نان غذای اصلی آحاد جامعه بشری بوده و در اشکال گوناگون به‌عنوان یک کالای اساسی و استراتژیک در سبد غذایی مردم محسوب می‌شود، بنابراین بهبود خواص تکنولوژیکی و افزایش ارزش تغذیه‌ای آن از مهم‌ترین مسائل مورد توجه محققین بوده است [۱]. بررسی‌ها نشان می‌دهد ۳۰٪ گندم تولید شده در زنجیره گندم و ۱۶/۳٪ نان کشور از طریق عواملی از قبیل عدم پخت صحیح نان، بی‌دقتی و ناآگاهی کنشگران دخیل در فرایند تولید هدر می‌رود که با توجه به تنگناهای ارزی موجود، ارزش این ضایعات حائز اهمیت است [۲]. یکی از این ضایعات، سبوس بوده که با توجه به خواص سلامتی بخش سبوس، افزودن آن به جهت بالا بردن ارزش غذایی نان توسط بسیاری از محققان پیشنهاد شده است [۳]. فیبرهای محلول در آب موجود در سبوس با کلاسترول و اسیدهای صفراوی موجود در معده و روده پیوند یافته و مقدار جذب آن‌ها را در بدن کاهش می‌دهند. همچنین فوایدی همچون پیشگیری از بیماری‌های التهابی روده و سرطان روده بزرگ و کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی از مصرف فیبر سبوس برنج گزارش شده است [۴]. تمایل به مصرف فراورده‌های نانوائی حاوی حداقل میزان نگه‌دارنده‌ها و بهبود دهنده‌های شیمیایی و به‌کارگیری از سبوس برنج و گندم روز به روز در حال افزایش می‌باشد. یکی از مناسب‌ترین جایگزین‌ها برای این ترکیبات نیز خمیرترش سبوس دارای کشت‌های آغازگر اختصاصی است [۵] که سبب افزایش قابلیت ماندگاری و بهبود خصوصیات کیفی و حسی محصول تولیدی از طریق قدرت اتصال به آب بالا، توانایی امولسیفایری عالی، قابلیت تشکیل کف و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی آن سبب شده که این فراورده را برای کاربرد در صنعت نانوائی منحصر به فرد نماید [۶]. نتایج پژوهش‌های اخیر نشان می‌دهد که خمیرترش دارای کشت آغازگر اختصاصی ضمن افزایش کیفیت و زمان ماندگاری نان [۷]، در بهبود ارزش تغذیه‌ای این فراورده و ارتقاء قابلیت‌های سلامتی - بخش آن نیز موثر می‌باشد [۸]. تخمیر خمیرترش سبوس گندم بر پایه تخمیر لاکتیکی و الکلی است و به میزان زیادی تحت تاثیر فلور میکروبی آن و شرایط تخمیر کنترل شده با تولید آنزیم‌های پروتئاز و آمیلاز قرار می‌گیرد. خمیرترش سبوس برنج با ممانعت از فعالیت بیش از حد آنزیم آلفا آمیلاز آرد، میزان آبکافت نشاسته را کاهش می‌دهد که این امر، آزادسازی دکسترین‌های با وزن

با ۹۰ ml آب مقطر، مخلوط و یکنواخت گردید. سپس محلول مذکور با فنل فتالین، مخلوط و توسط NaOH با نرمالیت ۰/۱ تا pH معادل ۸/۵ تیترو و اسیدیتته بر حسب میلی‌لیتر NaOH مصرفی محاسبه گردید [۷].

### ۳.۲. فراوری نان‌های حجیم خمیرترش حاصل از تخمیر مایه لاکتیکی انتخابی و نان شاهد

برای تهیه نان شاهد از مخلوط آرد نول، آب، ۱/۲٪ نمک، ۱/۵٪ شکر و ۱/۵٪ وزنی از مخمر خشک فعال ساکارومایسس سروویزیه استفاده شد. میزان آب مورد نیاز معادل ۵۶٪ و همچنین شرایط مخلوط کردن برای تهیه خمیر نان حجیم با توجه به درصد جذب آب به آرد تعیین گردید. مرحله نخست تخمیر خمیر نان شاهد در دمای ۳۰ °C به مدت ۳۰ min و تخمیر نهایی آن پس از تقسیم کردن به قطعات ۱۵۰ g در دمای ۴۵ °C به مدت ۹۰ min صورت پذیرفت. سپس نمونه‌های تولیدی در دمای ۲۲۰±۵ °C و به مدت ۱۵ min در فر پخت مستقیم با مدل Ariston ساخت کشور ایتالیا پخته شدند [۱۳]. برای تهیه نان حجیم خمیرترشی نیز نسبت ۲۵٪ وزنی از خمیرترش سبوس گندم تحت تیمار تخمیر کنترل شده به خمیر مشابه نمونه شاهد افزوده و سپس تحت شرایط یکسان تخمیر و پخت با نمونه شاهد، فراوری گردید. مقدار خمیرترش مذکور قبل از تخمیر نهایی به خمیر نان افزوده شد [۹].

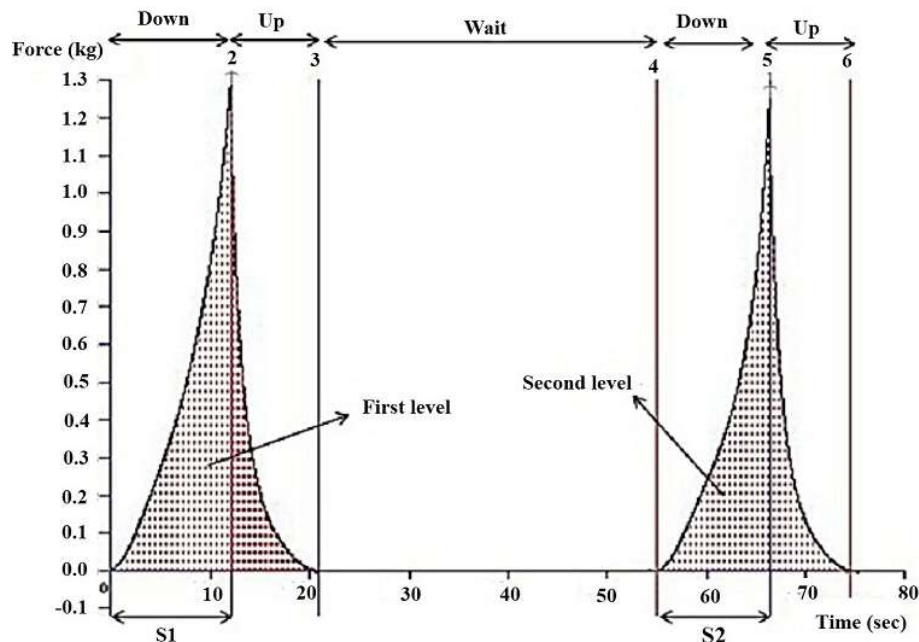
### ۴.۲. ارزیابی خصوصیات بافت نان‌های حجیم خمیرترشی

برای ارزیابی تغییرات سفتی بافت نان‌های حجیم تولیدی به‌عنوان معیاری از بیاتی و بررسی خصوصیات ویسکوالاستیک آن از آزمون بافت‌سنجی استفاده شد (شکل ۱). بدین منظور آزمون پروفایل بافت نان (TPA) در نمونه‌های نان حجیم به‌وسیله دستگاه بافت‌سنج مدل TAXT Plus Stable Micro System ساخت کشور انگلستان با پروب استوانه‌ای به قطر ۵ cm، سرعت پروب ۱ mm/s و نقطه شروع ۵۰ g انجام گرفت. نیروی لازم جهت ایجاد ۵۰٪ فشردگی در ضخامت اولیه با رسم منحنی نیرو-فاصله، به‌عنوان سفتی بافت مغز نان در حالت تازه‌خوری اندازه‌گیری گردید. در طی آزمون نیرو در مقابل زمان ثبت گردید، بر این اساس مساحت پیک مثبت دوم به مساحت پیک مثبت اول به‌عنوان پیوستگی نان، از تقسیم فاصله طی شده در سطح دوم

زرین مشهد و کارخانه دستاس بر اساس استاندارد ملی ایران با شماره ۱۰۳ تهیه گردید [۱۸]. خصوصیات شیمیایی آردهای مصرفی نظیر ارزیابی درصد رطوبت، درصد استخراج، درصد گلوتن مرطوب، اسیدیتته قابل تیترو و درصد خاکستر بر حسب وزن خشک بر اساس روش‌های مدون [۱۹] تعیین شد. مخمر خشک فوری ساکارومایسس سروویزیه از شرکت خمیرمایه رضوی تهیه گردید. محیط‌های کشت مصرفی شامل ام. آر. اس برات، ام. آر. اس آگار، نوترینت برات، نوترینت آگار و پتیتو دکستروز آگار از شرکت‌های شارلو اسپانیا و مرک آلمان تامین شدند. مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش نیز از شرکت مرک آلمان تهیه گردید.

### ۲.۲. تخمیر کنترل شده خمیرترش سبوس برنج

آغازگر لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس مورد استفاده در این پژوهش و حدود ۹۹٪ همسان‌سازی در پایگاه NCBI از تک پرگنه کشت خطی جداپه‌های سوسپانسیون میکروبی خمیرترش سبوس برنج که با توالی‌یابی محصولات PCR دارای پرایمر اختصاصی تایید شناسایی گردید، استفاده شد [۲۰]. در ادامه برای تهیه خمیرترش سبوس برنج با ضریب عملکرد ۳۵۰ به همراه آغازگر اختصاصی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس، باکتری مذکور در محیط کشت MRS Broth در دمای ۳۷ °C به مدت ۴۸ h تا ایجاد  $10^8$  Cfu/g کشت داده شد. سپس با سانتریفیوژ یخچال‌دار زیست‌توده تولیدی در ۶۰۰۰g در شرکت هرمل با مدل Z36 HK ساخت کشور آلمان انتقال داده شد و در ۴ °C و به مدت ۱۵ min سلول‌های تازه میکروبی از محیط کشت جدا گردید [۲۱]. خمیرترش سبوس برنج دارای کشت آغازگر اختصاصی به میزان ۱٪ به محیط خمیرترش اضافه شد و با ایجاد شرایط تخمیر کنترل شده در گرمخانه شیکردار مدل Vs-8480 ساخت شرکت فراز طب تجهیز، در دمای ۳۷ °C با دور همزن ۳۰۰ rpm تا رسیدن به pH برابر با ۴/۳۳ برای ارزیابی شرایط بهینه به روش RSM تحت تاثیر پارامترهای مستقل نظیر زمان تخمیر (۸، ۱۶ و ۲۴ h)، دمای تخمیر (۲۴، ۳۲ و ۳۸ °C) و محتوی شکر (۱/۵، ۳ و ۴/۵٪) مورد بررسی قرار گرفت. جهت بررسی پایش جمعیت میکروبی در مقایسه با استاندارد مک فارلند و اسیدیتته قابل تیترو خمیرترش (بر حسب اسید لاکتیک) در شرایط تخمیر کنترل شده، معادل ۱۰ g از خمیرترش مورد نظر



شکل (۱) تغییرات نیرو-زمان در آزمون TPA در نمونه نان حاوی تیمارهای خمیرترشی  
 Fig. 1 The force-time changes in the TPA test samples containing treated sourdough bread

روش جایگزینی دانه کلزا، بر اساس استاندارد A-A-20126E Metric، تعیین و با نمونه شاهد مقایسه گردید. نمونه‌های مورد استفاده دارای وزن یکسان بوده و از مرکز هندسی نان تهیه شدند.

### ۶.۲. ارزیابی خصوصیات رنگی پوسته نان حجیم خمیرترش

آنالیز رنگ پوسته نان در فاصله زمانی ۲ h پس از پخت (تازه-خوری)، از طریق تعیین سه شاخص  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  صورت پذیرفت. جهت اندازه‌گیری این شاخص‌ها ابتدا برشی به ابعاد  $4 \times 4 \text{ cm}^2$  از پوسته نان تهیه گردید و به‌وسیله اسکنر با وضوح ۶۰۰ پیکسل تصویر برداری شد، سپس تصاویر در اختیار نرم افزار Image J قرار گرفت. با فعال کردن فضای Lab در بخش Plugins، شاخص‌های فوق محاسبه می‌شود [۲۴، ۲۵]. در نهایت برابری اختلاف رنگی (Total Color Difference) نیز از معادله (۱) تعیین گردید، که در آن  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  ابعاد رنگ مربوط به نان حاوی تیمارهای خمیرترشی و  $L_0^*$ ،  $a_0^*$  و  $b_0^*$  ابعاد رنگ مربوط به نان شاهد بود [۲۴].

$$TCD = \sqrt{(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2} \quad (1)$$

(S<sub>2</sub>) به فاصله طی شده در سطح اول (S<sub>1</sub>) مقدار الاستیسته و حالت ارتجاعی و در انتها مقاومت در برابر جویدن از حاصلضرب مجموع سفتی، پیوستگی و حالت ارتجاعی محاسبه می‌گردد [۲۲].

### ۵.۲. اندازه‌گیری حجم مخصوص و تخلخل نان حجیم خمیرترش

برای ارزیابی میزان تخلخل مغز نان حجیم تولیدی در فاصله زمانی ۲ h پس از پخت (تازه‌خوری)، از تکنیک پردازش تصویر استفاده شد. بدین منظور برشی به ابعاد  $2 \times 2 \text{ cm}^2$  از مغز نان تهیه گردید و به‌وسیله اسکنر مدل HP Scanjet G3010 ساخت کشور چین با وضوح ۴۰۰ پیکسل، تصویر برداری شد. سپس تصویر تهیه شده در اختیار نرم افزار Image J (نسخه، ۱/۴۵) قرار گرفت. تصاویر موجود در این نرم افزار، مجموعه‌ای از نقاط تاریک و روشن است که با محاسبه نسبت نقاط روشن به تاریک به‌عنوان شاخصی از میزان تخلخل در نمونه‌ها برآورد می‌گردد [۲۳]. حجم مخصوص نان‌های تولیدی در فاصله زمانی ۲ h پس از پخت، به‌طور جداگانه و در شرایط معین، درون بسته‌های استریل پلی‌اتیلنی درب‌دار و دمای گرمخانه‌گذاری  $28^\circ \text{C}$  به

سطح ارزیابی گردید. بر اساس آنالیز مذکور برای هر یک از پاسخ-های مورد ارزیابی نیز یک مدل دارای چند متغیر (معادله ۲) برای پیش‌بینی اثر متغیرها تعریف شد که در آن  $\beta_0$  ضریب ثابت،  $\beta_1$ ،  $\beta_2$ ،  $\beta_3$  ضرایب خطی،  $\beta_{11}$ ،  $\beta_{22}$ ،  $\beta_{33}$  اثرات مربعی و  $\beta_{12}$ ،  $\beta_{13}$ ،  $\beta_{23}$  اثرات متقابل می‌باشند [۹، ۲۷].

(۲)

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_{12} + \beta_{22} X_{22} + \beta_{33} X_{32} + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$$

تیمارهای اعمال شده در این پژوهش در جدول (۱) ارائه گردیده است.

### ۳. نتایج و بحث

#### ۱.۳. خصوصیات فیزیکوشیمیایی، ارزیابی میزان اسیدیته

##### قابل تیتر و جمعیت میکروبی (Cfu/g) خمیرترش

ارزیابی خصوصیات شیمیایی آرد و سبوس برنج مورد استفاده در این پژوهش براساس استاندارد AACC در جدول (۲) آمده است.

همچنین تغییرات اسیدیته قابل تیتر و پایش جمعیت فلور میکروبی خمیرترش سبوس برنج به‌عنوان تابعی از دما، زمان تخمیر و مقدار شکر در شکل (۲) نشان داده شده است. بر این اساس با افزایش زمان و دمای تخمیر در محدوده ۸ تا ۲۴ h، ۲۶ تا ۳۸ °C و افزایش غلظت شکر در محدوده ۱/۵ تا ۴/۵٪ با تلقیح لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس، اسیدیته قابل تیتر و پایش جمعیت میکروبی خمیرترش با روند مشخصی افزایش و pH آن نیز کاهش

#### ۷.۲. ارزیابی پذیرش کلی نمونه نان حجیم خمیرترش

خصوصیات حسی نان‌های تولیدی در فاصله زمانی ۲ h پس از پخت (تازه‌خوری)، از طریق آزمون چشایی ارزیابی شد. تیم ارزیابی حسی، شامل تعدادی ارزیابان حسی نیمه آموزش دیده در بازه سنی ۲۵ تا ۴۵ سال از مرد و زن، به‌طور کاملاً تصادفی به بررسی خصوصیات نان‌های تولیدی در جهت تعیین میزان پذیرش کلی، رنگ پوسته، قابلیت جویدن، سفتی بافت، طعم، تخلخل و خاصیت ارتجاعی بر مبنای مقیاس ۵-۱ (۱ کمترین و ۵ بیشترین امتیاز) پرداختند و در نهایت بدون اعمال ضریب ارزشیابی برای هر صفت، پذیرش کلی کیفیت نان ارزیابی گردید [۲۶]. جهت بهینه‌سازی بهترین نمونه نان تنها ارزیابی پذیرش کلی در نمونه‌های نان مورد بررسی قرار گرفت.

#### ۲-۸- آنالیز آماری نتایج

آنالیز آماری نتایج برای ارزیابی اسیدیته قابل تیتر و جمعیت میکروبی براساس طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی با نرم افزار SAS نسخه ۹ انجام گردید و در ادامه برای سایر آزمون‌ها به روش سطح پاسخ بر اساس طرح مکعب مرکزی با ۳ تکرار در نقطه مرکزی با استفاده از نرم افزار Design Expert نسخه ۹ صورت گرفت. پاسخ‌های مورد بررسی (Y) شامل سفتی بافت نان، قابلیت جوندگی، حجم مخصوص، تخلخل، خصوصیات رنگی و پذیرش کلی نان حجیم خمیرترشی تولیدی تحت تاثیر سه متغیر مستقل دمای تخمیر ( $X_1$ )، زمان تخمیر ( $X_2$ ) و محتوی شکر ( $X_3$ ) در سه

جدول (۱) تیمارهای اعمال شده خمیرترش سبوس برنج

Table 1 Treated rice bran sourdough

محتوی شکر Sugar content (%)	زمان تخمیر Fermentation time (h)	دمای تخمیر Fermentation temperature (°C)	تیمار Treatment	محتوی شکر Sugar content (%)	زمان تخمیر Fermentation time (h)	دمای تخمیر Fermentation temperature (°C)	تیمار Treatment
4.5	16	32	10	4.5	24	26	1
1.5	24	38	11	3	24	32	2
3	8	32	12	3	16	32	3
1.5	16	32	13	1.5	8	26	4
1.5	8	38	14	3	16	26	5
3	16	32	15	4.5	8	26	6
3	16	38	16	3	16	32	7
1.5	24	26	17	4.5	8	38	8
				4.5	24	38	9

درجه دوم، برای پیشگویی رفتار پاسخها و اثرات متقابل پارامترهای متغیر، مدل مناسبی تعیین گردید. در مدل‌های گزینش شده نیز آزمون عدم برازش برای تمام صفات اندازه‌گیری شده، معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ) که در واقع، تفسیر مناسب روند تغییر داده‌ها توسط مدل‌های انتخابی را نشان می‌داد. مقادیر ضریب تبیین متناسب و قابل قبول در پاسخ‌های مورد استفاده در این پژوهش معیاری از صحت درجه تناسب مدل برازش یافته می‌باشد [۳۱].

تجزیه و تحلیل جدول ANOVA حاصل از تلقیح باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در خمیرترش سبوس برنج و متعاقباً تهیه نان حجیم خمیرترشی در پاسخ‌های مورد ارزیابی نشان داد که به ترتیب تاثیر متغیر زمان و دمای تخمیر در سطح ۵٪ برای اکثر پاسخ‌ها معنی‌دار بوده و به‌عنوان تیمار مستقل تاثیرگذار در بین سایر تیمارها تعیین گردید. لازم به ذکر است که از نظر آماری، مدلی مناسب است که آزمون ضعف برازش آن معنی‌دار نبوده و دارای بالاترین مقدار  $R^2$  adjusted و  $R^2$  predicted باشد.

### ۳.۳. بررسی سفتی و پیوستگی بافت نان‌های حجیم

سفتی، Hardness، نشان دهنده نیروی اعمال شده برای گاز زدن نمونه است. فرایند سفت شدن بافت نان به‌طور عمده به دو علت می‌باشد؛ سفتی که ناشی از انتقال رطوبت از مغز به پوسته است و سفت شدن ذاتی مواد سلول که به کریستالیزاسیون مجدد نشاسته بر می‌گردد [۳۲]. نتایج حاصل از اندازه‌گیری سفتی بافت مغز نان با دستگاه بافت‌سنج در نان‌های خمیرترشی تولیدی حاصل از آرد سبوس برنج توسط تیمارهای متفاوت خمیرترش در حالت تازه‌خوری در شکل (۳) نشان داده شد. بر این اساس، تاثیر متغیر مستقل دمای تخمیر به تنهایی بیشترین تاثیر را بر خصوصیات سفتی بافت نان حجیم داشت که این عملکرد در

یافت. آنالیز واریانس تغییرات اسیدیته در سطح ۵٪ نیز نشان داد که سطوح مختلف زمان، دمای تخمیر و درصد شکر، تاثیر معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) بر میزان تغییرات اسیدیته قابل تیترا خمیرترش و پایش جمعیت میکروبی در هر گرم خمیرترش (Cfu/g) دارند. بیشترین و کمترین مقدار اسیدیته قابل تیترا خمیرترش و لگاریتم Cfu/g به ترتیب در نمونه‌های حاصل از ۲۴ h تخمیر، دمای ۳۸ °C و محتوی ۴/۵٪ شکر و ۸ h تخمیر، دمای ۲۶ °C و محتوی ۱/۵٪ شکر در مقایسه با نمونه شاهد مشاهده گردید. محصول عمده تخمیر فراورده‌های غنی از فیبرهای رژیمی توسط خمیرترش نیز اسید آلی است که بر روی اجزای نشاسته و پروتئین آرد تاثیر گذاشته و با کاهش pH سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و پروتئاز آرد و تغییر رفتار گلوتن شده و لذا در کاهش بیاتی نان تاثیر دارد [۲۸، ۲۹]. تحقیقات کاتینا [۷] و برانت و هامز [۳۰] مؤید نتایج حاصل از این تحقیق می‌باشد.

### ۲.۳. ارزیابی تناسب مدل‌های برازش شده

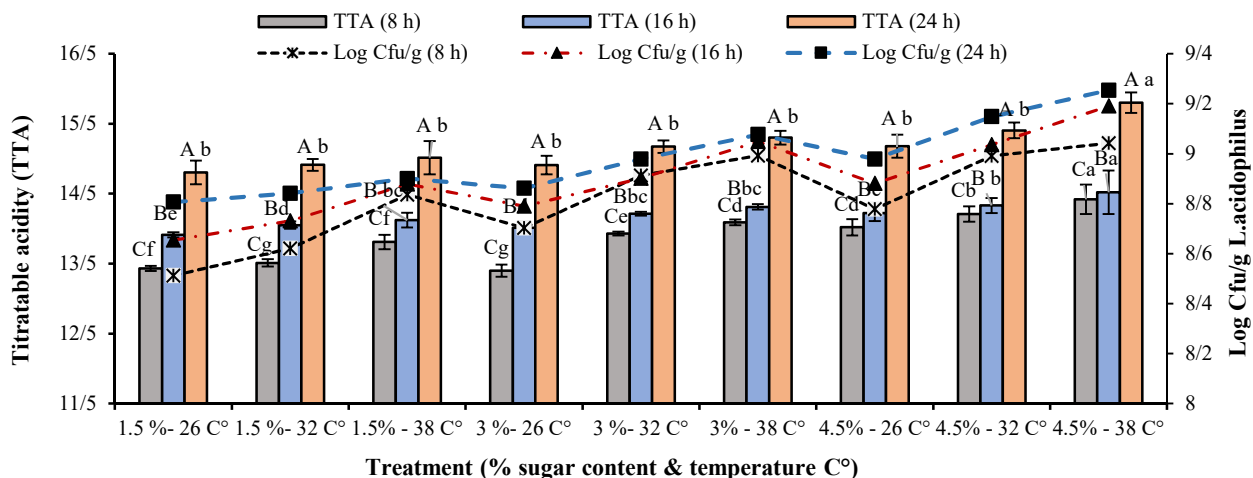
نتایج حاصل از این پژوهش برای هر متغیر وابسته، مدلی تعریف گردید و سپس به‌منظور ارزیابی صحت مدل‌های برازش یافته، آزمون ضعف برازش و همچنین مقادیر ضریب تغییرات، ضریب تبیین  $R^2$  (adj)،  $R^2$  و P value تعیین شدند. آزمون F نیز جهت تایید واریانس به‌دست آمده از مدل رگرسیونی با ارزیابی معنی‌داری آن نسبت به واریانس باقی مانده و همچنین بررسی تعیین عدم برازش مدل (خطای مدل) مورد استفاده قرار گرفت. ارزش جدول تحلیل آماری در بخش آنالیز واریانس، متغیر ضعف برازش بود که نشان دهنده مناسب یا نامناسب بودن مدل مهیا شده برای هر پاسخ است. علاوه بر این، هرچه مقدار مطلق F، بزرگ‌تر و مقدار P کوچک‌تر باشد نیز عملکرد مدل در میزان معنی‌داری پاسخ‌ها بیشتر خواهد بود [۲۷]. بر این اساس مدل

جدول (۲) نتایج حاصل از خواص فیزیکی و شیمیایی آرد سبوس برنج و آرد نول

Table 2 The results of physical and chemical properties of rice bran flour and null flour

خاکستر (بر اساس وزن خشک) Ash (dry bases)	اسیدیته Acidity	گلوتن مرطوب Wet gluten (%)	پروتئین Protein (%)	رطوبت Moisture (%)	چربی Fat (%)	نمونه Sample
0.46±0.01	2.44±0.2	24.4±0.3	8.54±0.31	14.22±0.42	1.53±0.02	آرد نول Null flour
10.07±0.01	4.11±0.03	-	14.81±0.02	9.39±0.15	22.40±0.23	سبوس برنج Rice bran





شکل (۲) سفتی بافت نان حجیم خمیرترش سبوس برنج تحت تاثیر پارامترهای متغیر در نمودار سطح پاسخ  
 Fig. 2 Response surface plot of interactive effects of independent variables on sourdough pan bread hardness

نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج گیانو و همکاران [۳۳] مطابقت داشت به طوری که، با مدل سازی فعالیت کشت های آغازگر اختصاصی و تغییرات بیوشیمیایی در حین تخمیر خمیرترش نشان دادند که به موازات افزایش زمان تخمیر خمیرترش و سوبسترای قابل دسترس، اسیدیته قابل تیتراژ خمیرترش نیز افزایش یافته و سبب ایجاد تغییراتی در رفتار گلوتن گردید که یکی از دلایل اصلاح رئولوژی خمیر و کاهش سفتی بافتی در نان حاصل از خمیرترش در مقایسه با نمونه شاهد گردید. همچنین جذب آب بالای ترکیبات فیبری نظیر سبوس گندم و برنج از اتلاف آب جلوگیری کرده و از طرفی واکنش بین ترکیبات فیبری و مولکول های نشاسته فرایند رتروگراداسیون را در بافت نان در طول دوره نگه داری نان به تاخیر می اندازد. نیروی لازم برای فشردن نان در نمونه های تهیه شده از خمیرترش در زمان های تخمیر کوتاه تر، به مراتب بیشتر است. احتمالاً در این بازه زمانی هنوز تخمیر آغازگر انتخابی، کامل نشده و لذا متابولیت های میکروبی اثر مشهودی بر سفتی بافت نان تولیدی نداشتند. همچنین بافت نان های حاصل از زمان های تخمیر طولانی تر شرایط را برای تولید متابولیت های میکروبی نظیر پلی- ساکاریدهای خارج سلولی و یا آنزیم هایی فراهم می آورد که باعث نرمی بافت نان می شوند. لاکاز و همکاران [۳۴] و آرنند و همکاران [۲۸] نیز نتایج مشابهی به دست آورده اند.

پیوستگی در واقع بیانگر مقاومت درونی ساختار ماده غذایی است یا به بیان دیگر پیوستگی به میزان تجزیه در دهان و جداسازی آسان در دست نسبت داده می شود [۳۵]. نتایج آنالیز

سطح ۵٪ معنی دار بود. تاثیر دمای تخمیر با افزایش محتوی شکر در کاهش میزان سفتی بافت نان به شکل خطی و در سطح ۵٪ معنی دار نبود (شکل ۳a). همچنین اثر متقابل افزایش درصد شکر خصوصاً در دمای های تخمیر بالاتر سبب کاهش در سفتی بافت نمونه نان تازه خوری گردید که این تغییرات در سطح ۵٪ عدم معنی داری را نشان داد (شکل ۳b). این در حالی است که اثر متقابل زمان تخمیر با افزایش مقادیر شکر سبب کاهش سفتی بافت نان شد که این کاهش در سطح ۵٪ معنی دار نبود (شکل ۳c). براساس نتایج جدول تجزیه واریانس، تنها متغیر درجه دوم زمان تخمیر، تاثیر معنی داری را براساس مدل درجه دوم تایید نمود. در نهایت مدل چند متغیره درجه دوم معادله (۳) جهت پیش بینی اثر متغیرهای مستقل دمای تخمیر ( $X_1$ )، زمان تخمیر ( $X_2$ )، محتوی شکر ( $X_3$ ) و همچنین اثر متقابل دمای تخمیر با زمان تخمیر ( $X_1X_2$ )، اثر متقابل دمای تخمیر با درصد شکر ( $X_1X_3$ )، اثر متقابل زمان تخمیر با درصد شکر ( $X_2X_3$ ) و همچنین اثرات درجه دوم دمای تخمیر ( $X_{11}$ )، زمان تخمیر ( $X_{22}$ ) و درصد شکر ( $X_{33}$ ) بر میزان سفتی بافت نان حجیم حاوی خمیرترش سبوس برنج تلقیح شده با لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس با ضریب همبستگی  $R^2: 0.84$  و ضریب تغییرات  $18/07$  به دست آمد که با ارزیابی ضعف برازش، تناسب مدل مذکور در معادله ۳ نیز تایید گردید.

$$(3) = \text{سفتی بافت نان} \\ 4.87 - 1.06 X_1 - 0.59 X_2 - 0.57 X_3 + 0.16 X_1X_2 - 0.26 X_1X_3 + 0.11 X_2X_3 + 1.14 X_1^2 + 2.54 X_2^2 - 1.08 X_3^2$$

#### ۴.۳. بررسی میزان حجم مخصوص و تخلخل مغز نان حجیم

حجم مخصوص یکی از پارامترهای کیفی نان و بعنوان شاخص بیاتی محسوب می‌شود. گازهای حاصل از تخمیر خمیرترش (براساس محتوی اسیدیته) در شبکه گلوتهی بافت نان گندم به دام می‌افتد که باعث افزایش حجم مخصوص نان می‌گردد [۱۱]. مکانیسم حجم مخصوص در نان خمیرترشی به دلیل انسجام در شبکه گلوتهی، گازهای تشکیل شده در طول فرایند تخمیر در خمیر آزاد می‌شوند که همین آزاد شدن، حجم را تحت تأثیر قرار می‌دهد. عملکرد متغیر دمای تخمیر و در صد شکر به تنهایی بیشترین تأثیر را بر خصوصیات سفتی بافت نان حجیم داشت به طوری که معنی‌داری آن در سطح ۵٪ نشان داده شد. تأثیر توام دما و زمان تخمیر در افزایش مقادیر حجم مخصوص نان به شکل خطی و در سطح ۵٪ معنی‌دار نبود (شکل a ۵). همچنین اثر متقابل درصد شکر خصوصاً در دمای‌های تخمیر میانه (۳۲ °C) سبب افزایش در حجم مخصوص نمونه نان تازه-خوری گردید که این تغییرات در سطح ۵٪ عدم معنی‌داری را نشان داد (شکل b ۵). این در حالی است که اثر متقابل افزایش زمان تخمیر با افزایش مقادیر شکر سبب افزایش حجم مخصوص نان حجیم گردید که این کاهش در سطح ۵٪ معنی‌دار بود (شکل c ۵). با ارزیابی ضعف برازش، تناسب مدل مذکور با ضریب همبستگی ۰/۸۵: R<sup>2</sup> و ضریب تغییرات ۶/۸۶ در معادله (۵) نیز تایید گردید.

$$(۵) \text{ حجم مخصوص نان} = 3.79 + 0.23 X_1 + 0.074 X_2 + 0.19 X_3 - 0.008 X_1 X_2 - 0.021 X_1 X_3 + 0.021 X_2 X_3 - 0.33 X_{12} + 0.14 X_{22} - 0.20 X_{32}$$

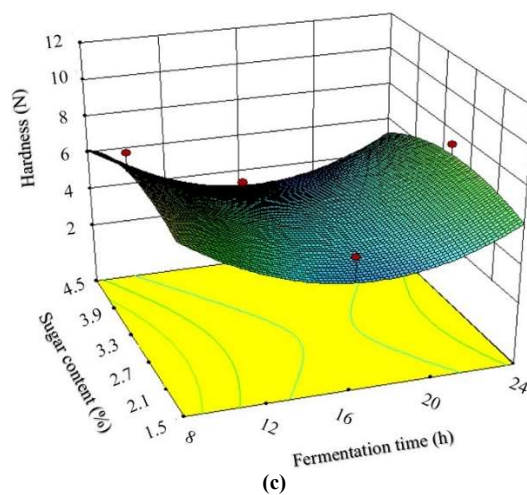
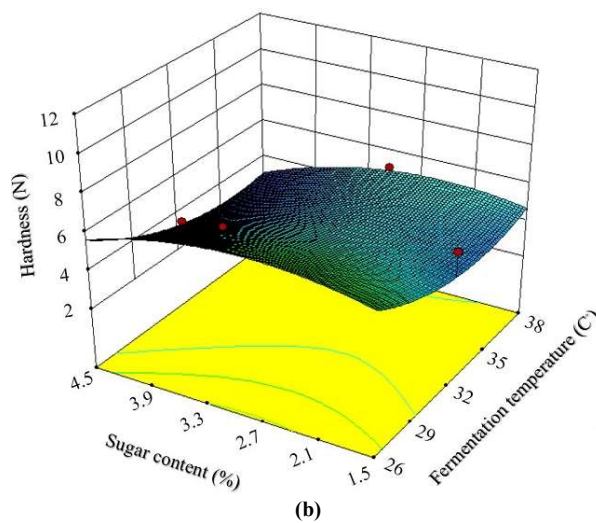
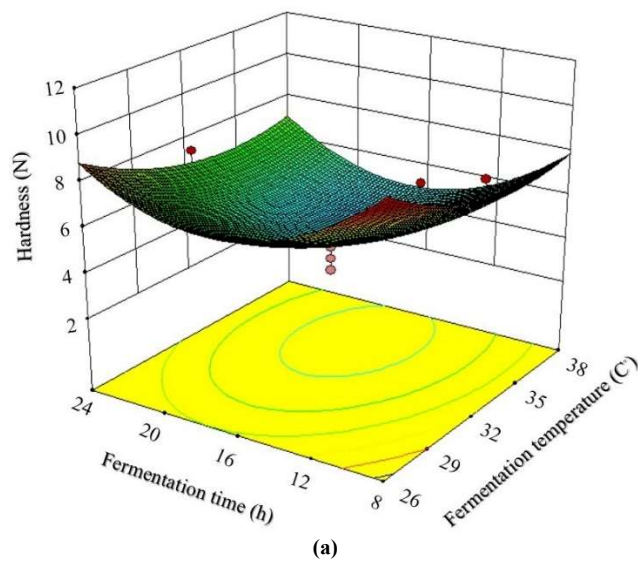
مطابق با پژوهش سلیمانی‌فرد و همکاران [۳۸] دلیل افزایش حجم مخصوص نمونه‌های نان حاوی خمیرترش احتمالاً به دلیل افزایش پایداری در سطح مشترک مجموعه سلول‌های گازی در طی پخت است که توانایی نگه‌داری گاز را در آن‌ها افزایش داده است و همچنین قدرت بالای جذب آب و کاهش فعالیت آبی آزاد و در نهایت منجر به بهبود و افزایش حجم مخصوص نان می‌گردد، که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

واریانس، برازش و همبستگی داده‌های به‌دست آمده با مدل مناسب نشان داد که اثر متقابل دمای تخمیر و زمان تخمیر عملکرد معنی‌داری در پیوستگی ساختار درونی نان خمیرترشی در حالت تازه‌خوری داشت (شکل ۴a)، به طوری که هر کدام از متغیرهای مستقل به تنهایی تأثیر معنی‌داری بر روی شاخص پیوستگی نداشتند. نهایتاً مدل دارای چند متغیره درجه دوم معادله (۴) جهت پیش‌بینی اثر متغیرهای مستقل دمای تخمیر (X<sub>1</sub>)، زمان تخمیر (X<sub>2</sub>)، محتوی شکر (X<sub>3</sub>) و همچنین اثر متقابل دمای تخمیر با زمان تخمیر (X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>)، اثر متقابل دمای تخمیر با درصد شکر (X<sub>1</sub>X<sub>3</sub>) در شکل b ۴، اثر متقابل زمان تخمیر با درصد شکر (X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>) شکل c ۴ و همچنین اثرات درجه دوم دمای تخمیر (X<sub>11</sub>)، زمان تخمیر (X<sub>22</sub>) و درصد شکر (X<sub>33</sub>) بر میزان پیوستگی بافت نان حجیم حاوی خمیرترش سبوس برنج تلقیح شده با تغییرات ۱۰/۴۷ به‌دست آمد که با ارزیابی ضعف برازش، تناسب مدل مذکور در معادله (۴) نیز تایید گردید.

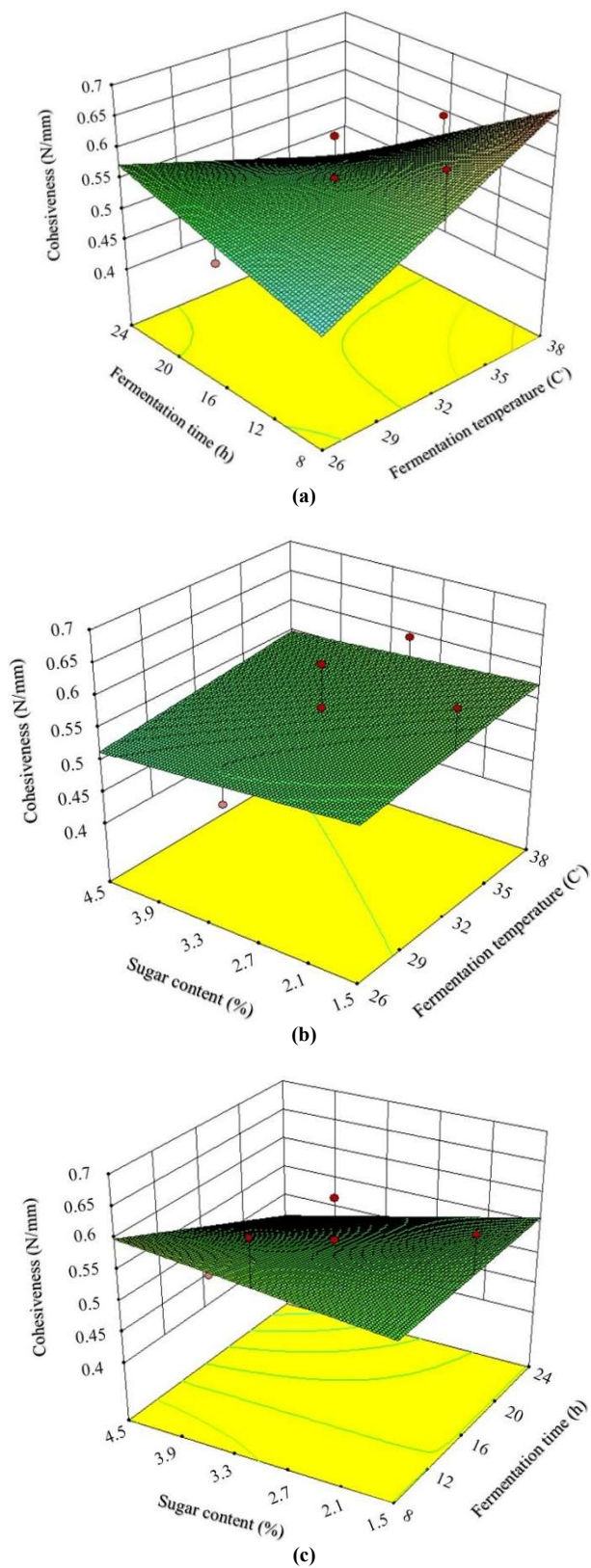
$$(۴) \text{ پیوستگی نان} = 0.57 + 0.017 X_1 - 0.034 X_2 - 0.014 X_3 - 0.079 X_1 X_2 + 0.006 X_1 X_3 - 0.034 X_2 X_3 - 0.017 X_{12} + 0.014 X_{22} - 0.030 X_{32}$$

آمیروز و به‌دنبال آن آمیلوپکتین از گرانول‌های نشاسته خارج شده و در هنگام پخت یا در طی سرد شدن نان‌ها، آمیروز روتروگراد شده و در نتیجه موجب افزایش پیوستگی در مغز نان می‌گردد، همچنین در طول مدت ماندگاری تغییرات ناچیزی در کاهش پیوستگی به دلیل شکستگی ساختار درونی و عدم حفظ آب آزاد در ساختار سلول‌های آن نیز به‌وجود خواهد آمد [۳۶]. به‌طور کلی بافت نان که فشرده می‌گردد، حباب‌های تولیدشده در ساختار درونی نان مقاومت کمی داشته و نمی‌توانند گاز تولیدی را در شبکه گلوتهی به دام بیندازند، لذا دی - اکسید کربن در نان به‌طور مناسب توزیع نمی‌گردد. زمانی که اسیدیته قابل تیترا خمیرترش تا حدی افزایش یابد ساختمان گلوتهی خمیر، تقویت و متعاقباً کشش‌پذیری آن بیشتر می‌گردد که این امر نگه‌داری گاز را افزایش داده و باعث پیوستگی در نان می‌گردد [۳۷].

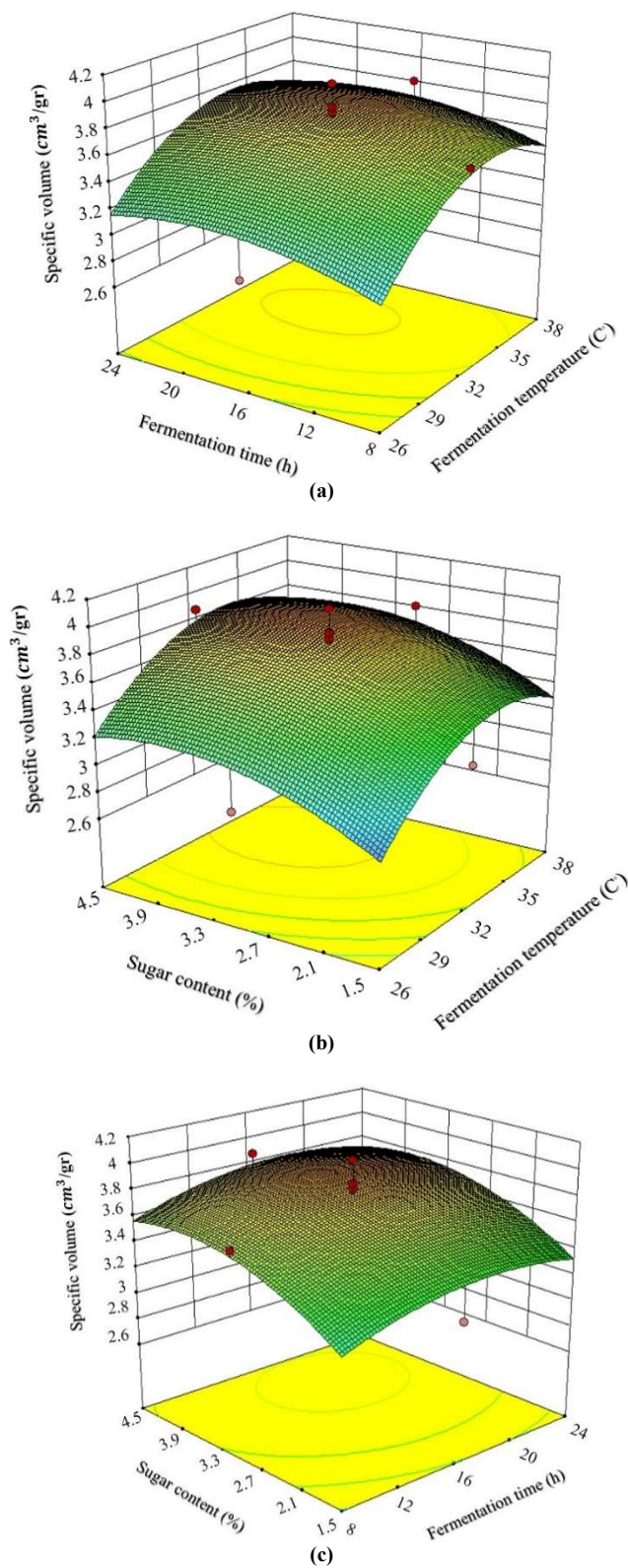




شکل (۳) پیوستگی بافت نان حجیم خمیرترش سبوس برنج تحت تاثیر پارامترهای متغیر در نمودار سطح پاسخ  
 Fig. 3 Response surface plot of interactive effects of independent variables on sourdough pan bread cohesiveness



شکل (۴) حجم مخصوص نان حجیم خمیرترشی سبوس برنج تحت تاثیر پارامترهای متغییر در نمودار سطح پاسخ  
 Fig. 4 Response surface plot of interactive effects of independent variables on sourdough pan bread specific volume.



شکل (۵) تخلخل نان حجیم خمیر ترش سبوس برنج تحت تاثیر پارامترهای متغیر در نمودار سطح پاسخ  
**Fig. 5** The response surface plot of interactive effects of independent variables on sourdough pan bread porosity.

پوسته نان حجیم سبوس برنج گردید (شکل ۷a). همچنین افزایش درصد شکر خصوصاً در دمای‌های تخمیر بالاتر سبب افزایش ناچیزی در افزایش برآیند اختلاف رنگ پوسته نمونه نان تازه‌خوری گردید که تغییرات معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان نداد (شکل ۷b). افزایش زمان تخمیر با افزایش مقادیر شکر سبب افزایش برآیند اختلاف رنگ پوسته نان بافت خمیرترشی سبوس برنج گردید که این افزایش در سطح ۵٪، عدم معنی‌داری را نشان داد (شکل ۷c). با بررسی اثرات درجه دوم پارامترهای متغیر میزان تخلخل بافت نان حجیم خمیرترشی با ضریب همبستگی  $R^2=0.58$  و ضریب تغییرات ۷/۰۲ به‌دست آمد که با ارزیابی ضعف برازش، تناسب مدل مذکور نیز در معادله (۷) تایید گردید.

$$(7) \text{ = سبوس برنج (TCD)} \\ 31.64 + 2.14 X_1 + 3.19 X_2 - 0.31 X_3 - 0.87 X_1X_2 + 0.68 X_1X_3 - 1.06 X_2X_3 - 0.92 X_{12} - 1.06 X_{22} - 0.25 X_{32}$$

علت را شاید بتوان به‌دلیل این‌که رنگ پوسته نان در اثر واکنش مایلارد تشکیل می‌شود، در اثر ترکیب مواد از ته با مواد احیا کننده، در لایه سطحی عمل قهوه‌ای شدن اتفاق می‌افتد. مقداری از رنگ پوسته نان مربوط به کارامیلیزه شدن قندها است، بر این اساس شدت رنگ مربوط به مقدار مواد موثر و شرایطی که این مواد تحت آن وارد عمل می‌شوند، نظیر دما و سرعت از دست رفتن آب سطح پوسته نان و شدت رنگ تاثیر زیادی دارد [۴۰]. سطح پوسته نان در خمیرهای بیش از حد تخمیر شده ساختاری غیریکنواخت و ناهموار داشته که به‌دلیل تخمیر قندها و حضور اگزوپولی‌ساکارید و واکنش‌های آنزیمی در حضور پروتئاز، سطح نان و رنگ پوسته مطلوب‌تر خواهد شد [۴۱].

#### ۶.۲. ارزیابی پذیرش کلی نان‌های حجیم

روند پذیرش نهایی خصوصیات حسی نان‌های حجیم تازه-خوری حاصل از خمیرترش سبوس برنج به‌عنوان تابعی از دما، زمان تخمیر و درصد شکر در شرایط تخمیر کنترل شده در شکل (۸) نشان داده شد. براساس نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری، سطوح مختلف دما، زمان تخمیر و درصد شکر تاثیر معنی-داری (p≤۰/۰۵) بر میزان پذیرش نهایی نان‌های حجیم تازه-خوری داشتند. با توجه به نمودار عنکبوتی ترسیم شده از مقایسه پذیرش کلی تیمارهای خمیرترش سبوس برنج تلقیح شده به

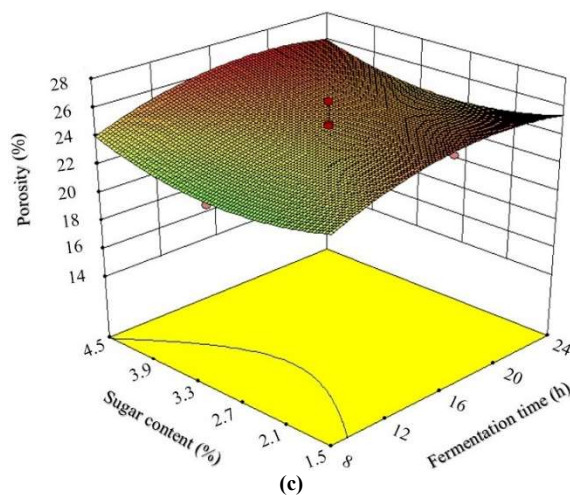
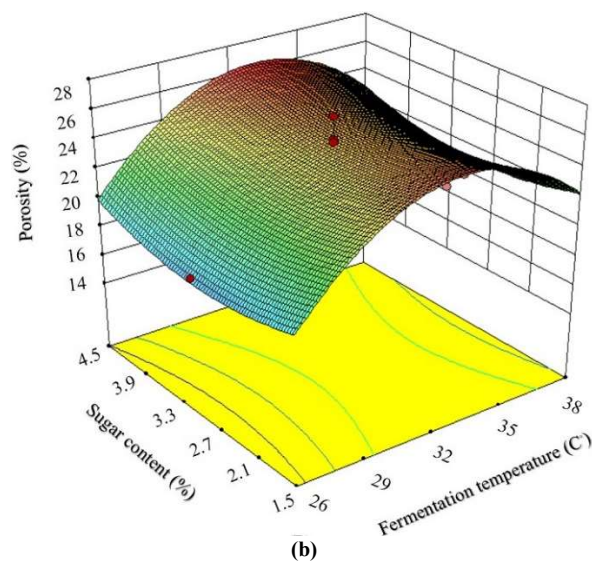
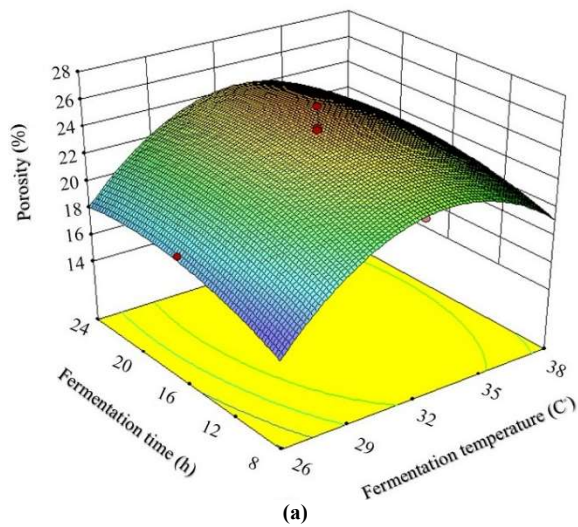
تخلخل مغز نان یکی از خصوصیات کیفی اصلی است که با ایجاد سلسله‌ای از سلول‌های گاز در مقیاس ماکرو و میکرو در ساختار نان قابل بررسی است (شکل ۶). تاثیر متغیرهای مستقل نظیر دمای تخمیر و زمان تخمیر در افزایش مقادیر تخلخل نان در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. بر این اساس اثر متقابل دمای تخمیر با افزایش زمان تخمیر سبب تغییرات محسوس در افزایش تخلخل نان حجیم گردید (شکل ۶a). همچنین افزایش درصد شکر خصوصاً در دمای‌های تخمیر بالاتر سبب افزایش ناچیزی در تخلخل بافت نمونه نان تازه‌خوری گردید که تغییرات عدم معنی-داری را در سطح ۵٪ نشان داد (شکل ۶b). افزایش زمان تخمیر با افزایش مقادیر شکر سبب افزایش تخلخل بافت نان خمیرترشی گردید که این افزایش در سطح ۵٪، معنی‌دار نبود (شکل ۶c). با بررسی اثرات درجه دوم پارامترهای متغیر میزان تخلخل بافت نان حجیم خمیرترشی با ضریب همبستگی  $R^2=0.95$  و ضریب تغییرات ۴/۵۶ به‌دست آمد که با ارزیابی ضعف برازش، تناسب مدل مذکور نیز در معادله (۶) تایید گردید. زمانی که اسیدیته قابل تیتراژ خمیرترش افزایش می‌یابد ساختار گلوتن خمیر نان ضعیف‌تر و باعث کشش‌پذیری بیشتر آن می‌شود که این امر نگرانی گاز را در مغز نان کاهش داده و در نتیجه باعث سفت شدن و شکننده شدن بافت نان و در نهایت سبب افزایش میزان تخلخل بافت حجیم بعد از پخت می‌گردد. که نتایج حاصل با پژوهش عابدفر و همکاران [۹] و شهزاد و همکاران [۳۹] مطابقت داشت.

$$(6) \text{ = تخلخل نان} \\ 24.67 + 1.47 X_1 + 0.96 X_2 + 0.29 X_3 - 0.25 X_1X_2 - 0.018 X_1X_3 + 0.025 X_2X_3 - 4.92 X_{12} - 1.27 X_{22} + 1.38 X_{32}$$

#### ۵.۳. ارزیابی برآیند رنگی پوسته نان حجیم

مقایسه میانگین آزمون رنگ‌سنجی نان‌های حجیم خمیرترش سبوس برنج تولیدی در سطح ۵٪ نشان داد که در محدوده شرایط اعمال شده در این پژوهش دمای تخمیر و زمان تخمیر تاثیر معنی‌داری (p≤۰/۰۵) و درصد شکر عدم معنی‌داری را در حالت مستقل بر میزان شاخص‌های رنگ (L\*, a\* و b\*) و برآیند اختلاف رنگ پوسته نان در طی ۲ h نگرانی داشتند. بر این اساس اثر متقابل دمای تخمیر با افزایش زمان تخمیر سبب تغییرات محسوس و عدم معنی‌داری در افزایش برآیند اختلاف رنگ





شکل (۶) اختلاف برآیند رنگ پوسته نان حجیم خمیرترش سبوس برنج تحت تاثیر پارامترهای متغیر در نمودار سطح پاسخ  
 Fig. 6 The response surface plot of interactive effects of independent variables on sourdough pan bread TCD colour.

تابعی از زمان تخمیر و مقدار شکر در شرایط تخمیر کنترل شده براساس تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که سطوح مختلف زمان تخمیر و درصد شکر تاثیر معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) بر میزان پذیرش نهایی نان‌های تازه‌خوری داشتند.

### ۷.۳. بهینه‌سازی پارامترهای پاسخ در فرایند

پس از اعمال تیمارهای کنترل شده تخمیر خمیرترش سبوس برنج در قالب RSM و ارزیابی خصوصیات کیفی نان حجیم خمیرترش تولیدی در حالت تازه خوری و با توجه نتایج کمی و مدل‌های متناسب برای هر کدام از شاخص‌های آن براساس مقادیر مطلوبیت دلخواهی در حدود ۰/۸۲٪ بهینه‌سازی شرایط انجام گردید و نتایج ارزیابی در شکل (۹) نشان داده شد. همچنین، بازه‌های پارامترهای مذکور و مقادیر مطلوب پاسخ برای بهینه‌سازی عددی نشان می‌دهد که شرایط پیشنهادی نرم افزار جدول (۳) هم‌چنین مقادیر بهینه پیش‌بینی شده مدل برای ارزیابی بهترین نمونه نان حجیم خمیرترشی نشان داده شده است. شرایط بهینه‌سازی بر روی پارامترهای متغیر مورد استفاده در این پژوهش، با تحقیقات عابدفر و همکاران [۹] بر روی خمیرترش سبوس گندم مطابقت داشت.

خمیر نان‌های حجیم تولیدی، بیشترین و کمترین امتیاز پذیرش نهایی نان‌های تازه‌خوری به ترتیب با تیمارهای دمای  $32^{\circ}\text{C}$ ، زمان ۱۶h و ۳٪ سوبسترای قابل (Run 9) دسترس لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و دمای  $26^{\circ}\text{C}$ ، زمان ۲۴ h و ۱/۵٪ محتوی شکر (Run 6) مرتبط بود.

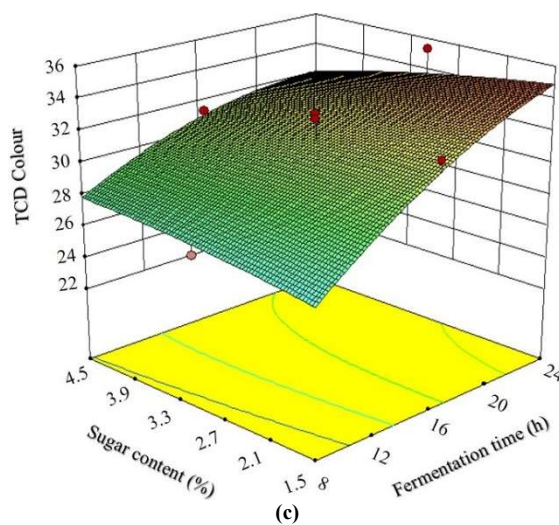
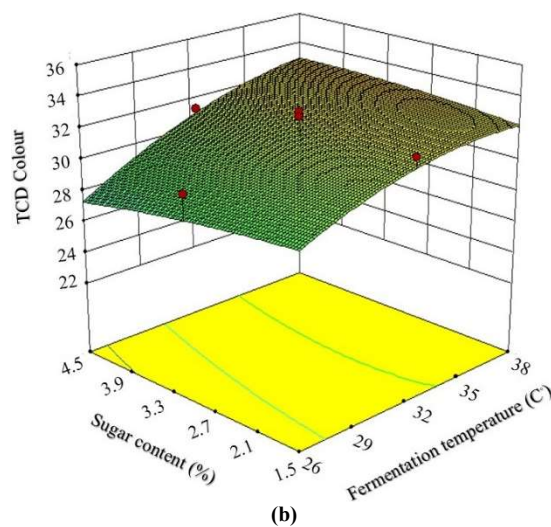
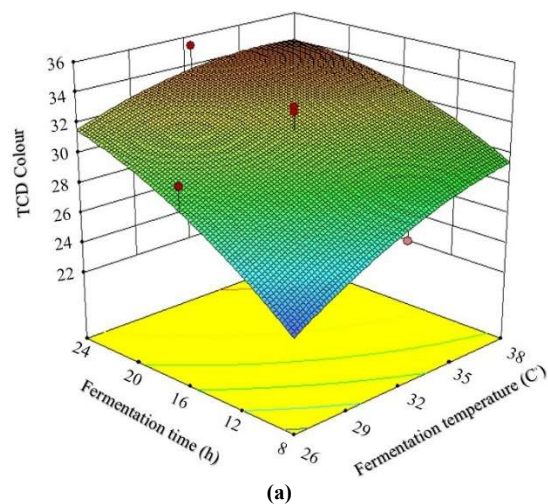
کنترل تشکیل ترکیبات مولد طعم در تخمیر خمیرترش با انتخاب کشت آغازگر اختصاصی یا با تنظیم شرایط تخمیر، نظیر زمان و دمای تخمیر، درصد شکر و نیز تنظیم درجه استخراج آرد ممکن می‌شود. آرد حاوی مقادیر خاکستر (سبوس) بیشتر، امکان تولید ترکیبات فرار را در حین تخمیر میکروبی مخلوط مخمری و باکتری اسید لاکتیک افزایش می‌دهد. دلیل احتمالی این امر حضور مقادیر متفاوت ترکیبات پیش‌ساز طعم موجود در سبوس آرد و نیز تغییرات متابولیکی است که در حین تخمیر باکتری‌های اسید لاکتیک در این شرایط ایجاد می‌شود. بر اساس نتایج تحقیقات باربر و همکاران [۳۵]، تغییرات بیوشیمیایی در حین تخمیر خمیرترش مانند تولید اسید، پروتئولیز، تولید متابولیت‌های خارج سلولی و تغییر در ترکیبات سوبسترا بر رئولوژی خمیر و نان حجیم موثر بوده و در نهایت بر روی طعم نان و پذیرش کلی محصول نهایی نیز تاثیر می‌گذارد. نتایج تحقیقات تیل و همکاران [۴۲] بر روند پذیرش نهایی نان‌های تازه خوری به‌عنوان

جدول (۳) مقادیر بهینه حاصل از مدل‌های تجربی.

Table3 Optimal amounts of empirical models.

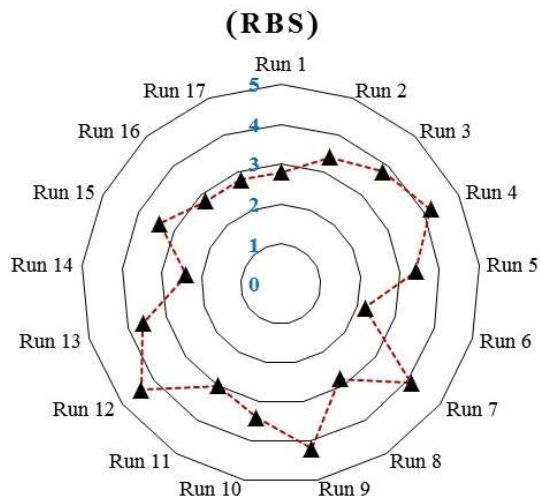
فاکتور Factor	تیمار Treatment	سطوح بهینه Optimization level	پایین‌ترین سطح Low level	بالا‌ترین سطح High level	کد Coding
A	دما Temperture ( $^{\circ}\text{C}$ )	33.09	26	38	Actual
B	زمان Time (h)	16.64	8	24	Actual
C	مقدار شکر Sugar content (%)	4.45	1.5	4.5	Actual



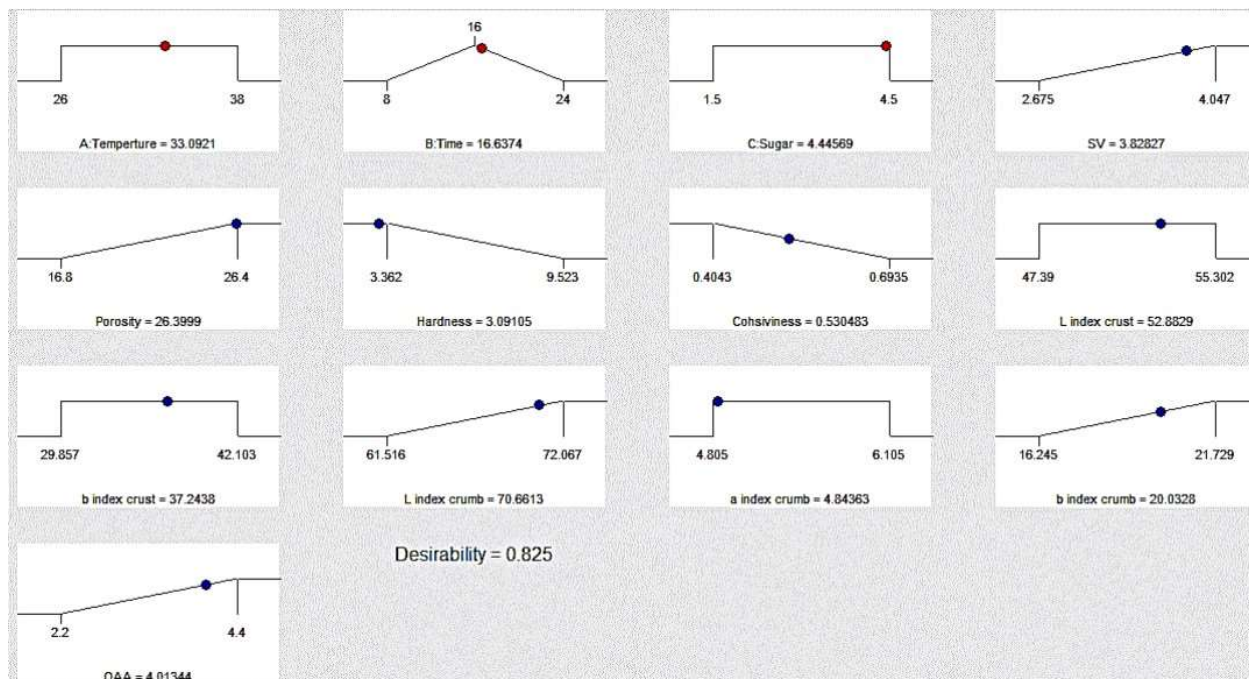


شکل (۷) مقایسه پذیرش کلی نان‌های تولیدی تحت تاثیر دما، زمان تخمیر و درصد شکر در حالت تازه‌خوری

Fig. 7 The comparison of the overall acceptance (OA) under the influence of fermentation temperature, fermentation time and sugar content after 2 h baking.



شکل (۸) مقادیر مطلوبیت تیمارهای کنترل شده تخمیر خمیرترش سبوس برنج با بررسی خصوصیات کیفی نان  
 Fig. 8 The desirability values of the controlled fermentation of rice bran sourdough by qualitative study of bread



شکل (۹) مقادیر مطلوبیت تیمارهای کنترل شده تخمیر خمیرترش سبوس برنج با بررسی خصوصیات کیفی نان  
 Fig. 9 The desirability values of the controlled fermentation of rice bran sourdough by qualitative study of bread

#### ۴. نتیجه‌گیری

بهبود خواص حسی و بافتی نان، سبب بهبود ارزش تغذیه‌ای، پیشگیری از بیماری‌های التهابی روده و سرطان روده بزرگ و تامین ریزمغذی‌های مفید بدن می‌گردد. استفاده از خمیر ترش می‌تواند با اثر بر ویژگی‌های بافتی، عطر و طعم، ماندگاری و افزایش زیست دسترسی مواد معدنی نقش موثری در بهبود خصوصیات نان دارند. در حقیقت خواص منحصر به فرد سبوس

رویگرد جدید صنعت غذا در راستای تولید فراورده‌های تخمیری از سویه‌های بومی کشور و توجه به محصولات فراسودمند و فراورده‌های غنی از ترکیبات رژیمی و سرشار از املاح معدنی نظیر خمیرترش سبوس برنج روز به روز در حال گسترش می‌باشد. استفاده از ضایعات دور ریز برنج نظیر سبوس برنج، به شکل خمیرترش در فرمول نان حجیم خمیرترشی ضمن

فراوری صنعتی و نیمه صنعتی نان نیمه حجیم و حجیم خمیرترشی و تعویق بیاتی آن استفاده نمود.

### تقدیر و تشکر

بدینوسیله از حمایت مالی ستاد توسعه زیست فناوری ریاست جمهوری در انجام این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را داریم.

برنج به خصوص در حفظ رطوبت و حضور متابولیت‌های مفیدی همچون اسیدها، ترکیبات ضد میکروبی در طول شرایط فرایند تخمیر بوده که لذا با کنترل شرایط تخمیر خمیرترش نظیر محتوی شکر به‌عنوان یک سوبسترای مهم و همچنین زمان و دمای تخمیر کشت آغازگر به نحو کاملاً موثری می‌توان در افزایش پذیرش کلی نان حجیم خمیرترشی موثر نمود. بر این اساس از شرایط بهینه به‌دست آمده در این پژوهش می‌توان برای

### منابع

- [۱] پایان، ر. (۱۳۸۵). مقدمه‌ای به تکنولوژی فرآورده‌های غلات. چاپ اول، انتشارات آبیژ، ص ۴۲۰.
- [2] Malakootian, M., Dowlatshahi, S.H. and Malakootian, M. (2005). The quality of the manufactured bread and hygienic conditions of bakeries. *Iranian J. Env health Sci Eng.* 2(2), 72-78.
- [3] Saunders, R.M. (1990). The properties of rice bran as a foodstuff. *Cereal Foods World.*, 35, 632-636.
- [4] Roberts, S.B., Heyman, M.B. (2000). Dietary composition and obesity: do we need to look beyond dietary fat?. *The J. Nutr.*, 130, 267S-267S.
- [5] Schnurer, J., Magnusson, J. (2005). Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends Food Sci. Tech.*, 16, 70-78.
- [6] Spicher G. (1983). Baked goods, InG. Reed (ed.), Food and feed production with microorganisms. Biotechnology. Verlag Chemie, Weinheim, Germany, 5(2): 1-80.
- [7] Katina K. (2005). Sourdough a tool for the improved flavour, texture and shelf life of wheat bread. VTT Technical Research Centre of Finland, *VTT Publication*, 569, 1-96.
- [8] Clarke, C.I., Arendt, E.K. (2005). A review of the application of sourdough technology to wheat breads. *Adv. Food Nutr. Res.*, 49, 137-161.
- [۹] عابدفر، ع؛ حسینی نژاد، م؛ صادقی، ع؛ رئیسی، م؛ فیضی، ج. (۱۳۹۷). ارزیابی تاثیر آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتروم جدا شده در تخمیر کنترل شده خمیرترش سبوس گندم بر خصوصیات کیفی نان حجیم خمیرترشی به روش سطح پاسخ. *فصلنامه میکروبیولوژی کاربردی در صنایع غذایی*، جلد ۴، شماره ۲، ص ۷۴-۵۶.
- [10] Lioger, D., Leenhardt, F., Demigne, C., Remesy, C. (2007). Sourdough fermentation of wheat fractions rich in fibres before their use in processed food. *J. Sci. Food Agricul.*, 87, 1368-1373.
- [11] Clarke, C.I., Schober, T.J., Arendt, E.K. (2002). Effect of single strain and traditional mixed strain starter cultures on rheological properties of wheat dough and on bread quality. *Cereal Chem.*, 79, 640-647.
- [12] Galvez, A., Abriouel, H., López, R.L., Omar, N.B. (2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int. J. Food Microbiol.*, 120, 51-70.
- [13] Meignen, B., Onno, B., Gélinas, P., Infantes, M., Guillois, S., Cahagnier, B. (2001). Optimization of sourdough fermentation with *Lactobacillus brevis* and baker's yeast. *Food Microbiol.*, 18, 239-245.
- [14] Crowley, P., Schober, T.J., Clarke, C.I., Arendt, E.K. (2002). The effect of storage time on textural and crumb grain characteristics of sourdough wheat bread. *Eur Food Res Technol*, 214, 489-496.
- [15] Katina, K., Heinio, R.L., Autio, K., Poutanen, K. (2006). Optimization of sourdough process for improved sensory profile and texture of wheat bread. *LWT-Food Sci. Technol.*, 39, 1189-1202.
- [۱۶] میلانی، ا؛ حسینی، ف؛ زائرزاده، ا؛ گلی موحد، غ؛ توکلی، ا. (۱۳۹۱). بهینه‌سازی شرایط استخراج اینولین از ریشه بابا آدم به کمک روش سطح پاسخ (RSM). *فصلنامه گیاهان دارویی*، جلد ۱، شماره ۸، ص ۱۵۸-۱۴۹.
- [17] Ho, U.T.N., Tran, L.T.M., Dinh, A.Q., Nguyen, A.T. (2015). Response Surface Optimization of Ethanolic Extraction of Antioxidants from Artichoke Leaves. *J. Food Process Pres.*, 39, 1036-1044.
- [۱۸] استاندارد ملی ایران. ۱۳۹۲. استاندارد شماره ۱۰۳، غلات و فرآورده های آن و اندازه گیری pH، ویژگی ها و روش های آزمون آرد گندم. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.
- [19] AACC International. (2010). AACC methods 46-30. Approved methods of the American association of cereal chemists, 11th Ed, the St, Paul.
- [20] Abedfar, A., Hossininezhad, M., Sadeghi, A., Raeisi, M., Feizy, J. (2018). Investigation on spontaneous fermentation and the productivity of microbial exopolysaccharides by *Lactobacillus plantarum* and

- [34] Lacaze, G., Wick, M., Cappelle, S. (2007). Emerging fermentation technologies: Development of novel sourdoughs. *Food Microbiol.*, 24, 155-160.
- [35] Miñarro, B., Albanell, E., Aguilar, N., Guamis, B., Capellas, M. (2012). Effect of legume flours on baking characteristics of gluten-free bread. *J. Cereal Sci.*, 56, 476-481.
- [36] Gambuś, H., Gibiński, M., Pastuszka, D., Mickowska, B., Ziobro, R., & Witkiewicz, R. (2011). The application of residual oats flour in bread production in order to improve its quality and biological value of protein. *Acta Sci. Pol. Technol.*, 10(3), 317-325.
- [37] Barber, B., Ortola, C., Barber, S., Fernandez, F. (1992). Storage of packaged white bread. III. Effect of sourdough and addition of acids on bread characteristics. *ZLebensm Unters Forsch*, 194, 442-449.
- [38] Soleimanifard, M., Alami, M., & Najafian, G. (2015). Production of Kefiran in Kefir Grains and Its Effects on the Rheological Properties Low Protein Wheat Dough and Quality of France Bulky Bread. *Adv. Crop Sci. Technol.*, 3(4), 1-7.
- [39] Shehzad, A., Chiron, H., Della Valle, G., Kansou, K., Ndiaye, A., Reguerre, A.L. (2010). Porosity and stability of bread dough during proofing determined by video image analysis for different compositions and mixing conditions. *Food Res. Int.*, 43, 1999-2005.
- [40] De Conto, L.C., Oliveira, R.S.P., Martin, L.G.P., Chang, Y.K., Steel, C.J. (2012). Effects of the addition of microencapsulated omega-3 and rosemary extract on the technological and sensory quality of white pan bread. *LWT-Food Sci. Technol.*, 45, 103-109.
- [41] Scanlon, M. G., & Zghal, M. C. (2001). Bread properties and crumb structure. *Food Res. Int.*, 34(10), 841-864.
- [42] Thiele, C., Gänzle, M.G., Vogel, R.F. (2002). Contribution of sourdough lactobacilli, yeast, and cereal enzymes to the generation of amino acids in dough relevant for bread flavor. *Cereal Chem.*, 79, 45-51.
- Pediococcus pentosaceus* isolated from wheat bran sourdough. *LWT-Lebensm Wiss Technol.*, 96, 686-693.
- [21] Dal Bello, F., Clarke, C.I., Ryan, L.A.M., Ulmer, H., Schober, T.J., Ström, K., Sjögren, J., Van Sinderen, D., Schnurer, J., Arendt, E.K. (2007). Improvement of the quality and shelf life of wheat bread by fermentation with the antifungal strain *Lactobacillus Plantarum* FST 1.7. *J. Cereal Sci.*, 45, 309-318.
- [22] Steffe J. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering*. Freeman Press, New York.
- [23] Haralick, R.M., Shanmugam, K., Dinstein, I. (1973). Textural features for image classification. *IEEE T SAE*, 45, 1995-2005.
- [24] Sun, D.W., Zheng, C., Zheng, L. (2006). Recent developments and applications of image features for food quality evaluation and inspection. *J. Food Sci. Technol.*, 17, 642-655.
- [۲۵] عابدفر، ع؛ حسینی نژاد، م؛ صادقی، ع. (۱۳۹۵). عملکرد استراتر لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از تخمیر کنترل شده خمیرترش سنتی بر ویژگی‌های فیزیکی‌وشیمیایی، بیاتی و خصوصیات پوسته نان نیمه حجیم. فصلنامه میکروبیولوژی کاربردی در صنایع غذایی، جلد ۲، شماره ۱، ص ۲۴-۱۵.
- [26] Rajabzade N. (1992). Evaluation of Iran industrial bread. Cereal research center, Iran. [In Persian].
- [27] Myers, R.H., Montgomery, D. C. (2002). Process and product optimization using designed experiments. In: Myers RH, Montgomery DC, Anderson-Cook CM, editors. *Response Surface Methodology*. 2nd ed. New York, Wiley Pub Inc, PP 51-83.
- [28] Arendt, E.K., Ryan, L.A.M., Dal Bello, F. (2007). Impact of sourdough on the texture of bread. *Food Microbiol.*, 24, 165-174.
- [29] Katina, K., Poutanen, K., Autio, K. (2004). Influence and interactions of processing conditions and starter culture on formation of acids, volatile compounds and amino acids in wheat sourdoughs. *Cereal Chem.*, 81, 598-610.
- [30] Brandt, M.J., Hammes, W.P. (2001). Einfluß von Fructosanen auf die Sauerteig fermentation. *Getreide, Mehl und Brot*, 55, 341-345.
- [31] Gharibzahedi, S.M.T., Razavi, S.H., Mousavi, S.M. (2012). Developing an emulsion model system containing canthaxanthin biosynthesized by *Dietzia natronolimnaea* HS-1. *Int. J. Biol. Macromol.*, 51, 618-626.
- [32] Maleki, G., Milani, J., Amiri, Z. (2012). Effect of different hydrocolloids on staling of barbari bread. *Adv Food Sci.*, 34, 36-42.
- [33] Giannou, V., Kessoglou, V. & Tzia, C. (2003). Quality and safety characteristics of bread made from frozen dough. *Trends Food Sci. Technol.*, 14(3), 99-108.



*Research Article*

**Optimization of controlled fermentation in rice bran sourdough and evaluation of quality characteristics of pan bread by using Response Surface Method**

**Abbas Abedfar<sup>1</sup>, Marzieh Hosseininezhad<sup>2\*</sup>, Alireza Sadeghi<sup>3</sup>, Fatemeh Abbaszadeh<sup>4</sup>**

1. PhD Student, Department of Food Biotechnology, Research Institute of Food Science and Technology (RIFST), Mashhad, Iran.
2. Association professor, Department of Food Biotechnology, Research Institute of Food Science and Technology (RIFST), Mashhad, Iran.
3. Association professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
4. PhD Student, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

**Abstract**

Optimization of fermentation control with potential application of rice bran sourdough in novel fermentation technologies is increasing every day to come up to suitable alternatives for additives in bakery. In this research after isolating the dominant starter of the traditional rice bran sourdough and its identification using PCR and specific primer, it was used to make a traditional sourdough and evaluating the sourdough pan bread qualities by RSM method, under the impression of fermentation time (8, 16 and 24 h), fermentation temperature (26, 32 and 38 °C) and sugar content (1.5, 3 and 4.5 %). In this research, results of evaluating the proportion fitted models showed that by increasing the temperature and fermentation time in a constant sugar content, the titratable acidity (TTA), microbial population dynamics, specific volume, porosity, the total color difference (TCD) and cohesiveness were significantly increased and decreased respectively. However, there were a trend decreasing in the hardness and over acceptability of bread texture ( $p < 0.05$ ). Furthermore, at a constant fermentation temperature, the effect of fermentation time and sugar content improved the qualitative characteristics of pan bread. It was also shown that interaction between fermentation temperature and sugar content with a constant fermentation time in a fitted quadratic model, reduced the hardness and improved other quality features of pan bread ( $p > 0.05$ ). The result of this research a model was defined for any dependent variable. Also for evaluating the accuracy of the fitted models, desirability and lack of fit test were determined.

**Keywords:** Controlled fermentation, *Lactobacillus acidophilus*, Rice bran sourdough, Sourdough bread qualities, Response surface method.

\* Corresponding author: m.hosseininezhad@rifst.ac.ir