نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۳ شماره ۱/ سال ۱۳۹۲

استفاده از لاکتوباسیلوس پلانتاروم (ATCC ۱۰۵۸) و روتری (ATCC ۱۶۵۵) به عنوان آغازگر در تهیه خمیرترش

نیلوفر خراسانچی[۱*]، سید هادی پیغمبردوست[۲]، محمد امین حجازی[۳] و سید عباس رأفت [۴]

تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۲٤ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۲۷

[۱]دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
[۲]دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
[۳]استادیار پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمالغرب و غرب کشور
[٤]دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
[*] مولف مسئول: Email: niloufar.27@gmail.com

چکیده

نان یک محصول فسادپذیر می‌باشد که بهترین زمان مصرف آن در حین تازگی است. میکروارگانیسم‌های عامل فساد و نیز فرآیندهای پیچیده بیاتی در کاهش تازگی نان نقش دارند. خمیرترش عمدتاً حاوی باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمرها است. هدف اصلی این پژوهش بررسی استفاده از آغازگرهای لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس روتری و مخلوط این دو در تهیه خمیرترش می‌باشد. در این مطالعه، نمونه نان‌های کنترل pH بالاتر (۵/۶۳)، میزان اسیدیته قابل تیتراسیون پایین‌تر، میزان حجم و ارتفاع بیشتری از نان‌های حاصل از خمیرترش داشتند. نتایج نشان داد که خمیرترش تهیه شده با آغازگر لاکتوباسیلوس روتری باعث تولید نانی با خصوصیات حسی بهتر، نرخ پایین‌تر بیاتی و زمان ماندگاری بالاتر نسبت به نان تهیه شده با آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم شد.

واژه‌های کلیدی: خمیرترش، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس روتری، ارزیابی حسی

Application of *L. plantarum* (ATCC 1058) and *L. reuteri* (ATCC 1655) as starter cultures in sourdough preparation

N Khorasanchi[1*], SH Peighambardoust[2], MA Hejazi[3] and SA Rafat[4]

Received: June 14, 2010 Accepted: March 17, 2013
[1]MSc Graduated, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2]Associate Prof., Department of Food Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[3]Assistant Prof., Agricultural Biotechnology Research Institute, Tabriz, Iran
[4]Associate Prof., Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
*Corresponding author: niloufar.27@gmail.com

Abstract:
Bread is a perishable product which is best consumed when it is fresh. The loss of freshness is due to the microbial spoilage and complex processes known as staling. Sourdough is characterized by a complex microbial ecosystem, mainly represented by lactic acid bacteria and yeasts. The aim of this study was to investigate the application of *L. plantarum*, *L. reuteri* and their combination in sourdough preparation. In this study, control breads showed higher pH (5.63), lower TTA, higher loaf volume and height than those prepared from sourdough. Results showed that sourdough bread prepared by *L. reuteri* received better sensory scores, had lower staling rate and higher shelf-life than those prepared from *L. plantarum*.

Keywords: Sourdough, *L. plantarum*, *L. reuteri*, Sensory evaluation

مقدمه

فرآورده‌های غلات و بالاخص نان غذای اصلی و پایه مردم بسیاری از کشورهای جهان را تشکیل داده و روزانه قسمت اعظم انرژی، پروتئین، ویتامین‌های گروه "ب" و مواد معدنی مورد نیاز انسان را تأمین می‌کند. نانوایی یکی از قدیمی‌ترین حرفه‌های هنری منتسب به بشر می‌باشد. استفاده از خمیرترش و تولید انبوه نان تخمیر شده به‌وسیله مصری‌ها در حوالی رود نیل پایه-گذاری شد. نخستین تلاش‌ها برای تولید نان تخمیر شده یا حجیم در کشورهای مصر، یونان و ایتالیا صورت گرفته است (کالپ و لورنز ۲۰۰۳). اکولوژی میکروبی خمیرترش با بیش از ۵۰ گونه ازباکتری‌های اسید لاکتیک(عمدتاً جنس لاکتوباسیلوس[1]) و بیش از ۲۰ گونه از انواع مخمر (بویژه جنس‌های ساکارومایسس[2] و کاندیدا[3]) بسیار پیچیده است. باکتری‌های اسید لاکتیک موجود در خمیرترش می‌توانند از ریزسازواره‌های طبیعی آرد، محصولات لبنی و یا از آغازگرهای تجاری نشأت گرفته باشند (وویست و نیسنز ۲۰۰۵). تخمیر خودبه‌خودی بر پایه ریزسازواره‌های طبیعی آرد، قدیمی‌ترین روش کاربردی برای تهیه خمیرترش است. افزودن قسمتی از خمیرترش رسیده از کشت قبلی به کشت جدید و تکثیر مداوم آن، یکی دیگر از روش‌های تهیه خمیرترش است که بدین ترتیب حاوی آغازگر می‌شود (اسپیشر ۱۹۸۳). برای کاهش تنوع و بی‌ثباتی خمیرترش، استفاده از کشت‌های آغازگر برای تولید خمیرترش گسترش پیدا کرده است. امروزه از طریق

[1] Lactobacillus

[2] Saccharomyces
[3] Candida

آماده‌سازی تجاری نژادهای باکتری‌های اسید لاکتیک به‌صورت تک نژادی یا مخلوطی از چندین نژاد می‌توان نانی با استاندارد بالا و کیفیت ثابت تولید کرد (همس ۱۹۹۰).نان محصول فسادپذیری می‌باشدکه بهترین زمان مصرف آن در حین تازگی است. ریزسازواره‌های عامل فساد و نیز فرآیندهای پیچیده بیاتی در کاهش تازگی نان نقش دارند (پتراس ۱۹۹۸). رشد کپک، اصلی-ترین عامل فساد میکروبی این محصول می‌باشد. علاوه بر ضایعات اقتصادی، مایکوتوکسین‌های تولیدی به-وسیله کپک‌ها می‌توانند مشکلاتی را در سلامت عموم جامعه ایجاد کنند (لگان ۱۹۹۳). باکتری‌های اسید لاکتیک و ترکیبات تولیدی توسط آن‌ها دارای خواص ضد قارچی در مقابل گونه‌های تولیدکننده توکسین ایزوله شده از آرد و محصولات نانوایی هستند (لاورمیکوکا و همکاران ۲۰۰۳). همان‌طور که عنوان شد لاکتوباسیلوس گونه غالب در خمیرترش است و از آنجا که لاکتوباسیلوس پلانتاروم (آذر و همکاران ۱۹۷۷) و همچنین لاکتوباسیلوس روتری (وگل و همکاران ۱۹۹۹) در مطالعات قبلی به وفور از خمیرترش جداسازی شده بود، هدف اصلی این مطالعه کاربرد این دو آغازگر در تهیه خمیرترش و استفاده از خمیرترش‌های تلقیح شده با این دو لاکتوباسیلوس در تهیه نان بود، تا هم اثرات کاربرد خمیرترش در تهیه نان بررسی شود و هم امکان تولید خمیرترش با انواع باکتری‌های اسیدلاکتیک مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد وروش‌ها

نمونه‌های آرد گندم و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی

آرد حاصله از مخلوط گندم‌های داخلی با کیفیت نانوایی خوب از شرکت آرد اطهر مراغه خریداری گردید. جدول ۱ و ۲، به ترتیب ترکیب شیمیایی و ویژگی‌های رئولوژیکی آرد مصرفی را نشان می‌دهد.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی آرد مصرفی

خصوصیات آرد	درصد رطوبت	درصد خاکستر	درصد استخراج	درصد گلوتن مرطوب	درصد پروتئین
مقدار*	۱۱/۸۸	۰/۸۸	۸۳	۲۹/۹۰	۱۱/۵

* اندازه گیری شده بر اساس ماده خشک

جدول ۲- ویژگی‌های رئولوژیکی و فعالیت آنزیمی آرد مصرفی

خصوصیات آرد	جذب آب آرد (درصد)	زمان گسترش خمیر (دقیقه)	مقاومت خمیر (دقیقه)	درجه نرم شدن خمیر پس از ۱۰ دقیقه (FU)	عدد فالینگ (ثانیه)
مقدار	۵۵/۵	۲/۲	۶/۴	۵۴	۴۱۱

کشت‌های آغازگر

آماده‌سازی سویه‌های باکتریایی

باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم ATCC ۱۰۵۸[1](باکتری هتروفرمنتاتیو اختیاری) و باکتری لاکتوباسیلوس روتری ATCC ۱۶۵۵ (باکتری هتروفرمنتاتیو اجباری) به صورت آمپول لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی ایران (PTCC)[2] تهیه شد. محیط کشت MRS broth آماده و اتوکلاو گردید. آمپول‌های لیوفیلیزه در زیر هود بیولوژیک شکسته شد و باکتری‌ها در شرایط استریل به محیط کشت آماده،

[1] American Type Culture Collection

[2] Persian Type Culture Collection

تلقیح و در دمای ۳۷°C به مدت ۲٤ ساعت گرمخانه-گذاری شد.

طریقه نگهداری کشت باکتریایی آماده شده

کشت‌های باکتریایی ۲٤ ساعته (در محیط کشت MRS broth) در ویال‌های ۱/۵ میلی لیتری حاوی ۲۵درصد گلیسرول و ۲۵ درصد Skim Milk (غلظت ۲۰درصد وزنی حجمی) مخلوط و با استفاده از دستگاه ورتکس به خوبی یکنواخت گردید و در دمای ۸۰°C-نگهداری شد تا در مراحل بعدی آزمایش مورد استفاده قرار گیرد.

تهیه سوسپانسیون باکتریایی برای تلقیح به خمیرترش

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 ۲٤ ساعت انجام شد تا سلول‌ها کاملاً فعال شدند. میزان مایه تلقیح باکتریایی 10^{7}CFU در یک گرم خمیرترش بود. انواع مایه تلقیح عبارت بودند از: لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس روتری و مخلوط این دو لاکتوباسیلوس. برای آماده سازی مایه‌های تلقیحی اولیه، حجم مورد نیاز از کشت‌های باکتریایی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری در دور ۸۰۰۰×g و به مدت۱۰دقیقه سانتریفیوژ گردید. در پایان باکتری‌های ته نشین شده با استفاده از آب مقطر استریل شستشو داده و به سوبسترای خمیر اولیه اضافه شد. برای تهیه مخلوطی از آغازگرها، نصف حجم لازم برای تهیه هر آغازگر به تنهایی سانتریفیوژ و به سوبسترای اولیه اضافه گردید تا میزان تلقیحی 10^{7} باکتری به ازای هر گرم خمیرترش به دست آید.

تهیه و تخمیر نمونه‌های خمیرترش

نمونه‌های خمیرترش با استفاده از کشت‌های باکتریایی فعال لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس روتری و مخلوط این دو به عنوان آغازگر به‌طور جداگانه تهیه شد. سوبسترای تشکیل شده از آرد و آب با راندمان خمیر برابر ۳۰۰ با سه نوع آغازگر اشاره شده و به میزان 10^{7} باکتری به ازای هر گرم خمیر تلقیح شد. عملیات تخمیر در فرمنتور New Brunswick Scientific ساخت ایالات متحده آمریکا در دمای ۳۷°C (گاجانو و همکاران ۲۰۰۷) با دور همزن ۳۰۰ rpm تا رسیدن به pH=٤/۳۳ انجام شد.

تهیه خمیر و پخت نان

برای تهیه خمیر نان بر پایه ۱۰۰ گرم آرد از فرمول ذیل استفاده شد: آرد (۱۰۰ گرم)، آب (۵۵/۵ میلی‌لیتربر اساس خصوصیات رئولوژیکی آرد و داده‌های حاصل از دستگاه فارینوگراف)، نمک (۱/۵ گرم)، مخمر نانوایی ساکارومایسس سرویزیه (۲ گرم)، بهبوددهنده (۱ گرم) و شکر (۱ گرم). نمونه‌های نان حاوی خمیرترش، با افزودن مقدار ۲۰ درصد خمیرترش (بر مبنای وزن آرد) (گوسمن و همکاران ۲۰۰۷) به خمیر نان تهیه شد. مواد اولیه در مخلوط‌کن سیاره‌ای ساخت شرکت سپه‌کار اصفهان با ظرفیت کاری ۱۰ کیلوگرم، مخلوط شد. برای انجام این کار از دنده شماره ۱ با سرعت ٦۰ دور در دقیقه استفاده شد. مخلوط کردن به مدت ۳ دقیقه در دمای محیط انجام شد. نان کنترل بدون تلقیح خمیرترش، توسط مخمر نانوایی آماده شد و تمام مواد به‌صورت یکجا با یکدیگر مخلوط شد. میزان pH و اسیدیته قابل تیتراسیون بلافاصله بعد از تهیه خمیر و همچنین بعد از تخمیر و بلافاصله قبل از پخت اندازه‌گیری شد (بستنی ۲۰۰۱). تخمیر اولیه در محفظه تخمیر با رطوبت نسبی ۸۰ درصد و دمای ۳۰°C به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. بهینه فعالیت تخمیری مخمر در دمای ۳۲°C-۳۰ است(رجب زاده ۱۳٦۸).خمیرها برای تهیه نان حجیم به چانه‌های ۵۰ گرمی تقسیم و در قالب‌های با ابعاد ٤×۳/۵×۸/۵ سانتی‌متر قرار داده شد.تخمیر نهایی به مدت ٤۰ دقیقه در دمای ۳۰°C و رطوبت نسبی ۸۰ درصد صورت گرفت. سپس بخارزنی چند ثانیه‌ای صورت گرفت و پخت در دمای ۲۰۰°C-۱۸۰ به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد.

آزمون‌های نان

برای ارزیابی کیفیت نان، آزمون‌های اندازه‌گیری حجم به روش جابه‌جایی دانه کلزا (AACC۱۰-۰۵)، اندازه-گیری ارتفاع و رطوبت (پیازا و ماسی ۱۹۹۵) انجام شد. میزان pH و اسیدیته قابل تیتراسیون (بستنی ۲۰۰۱) نان نیز تعیین شد. بررسی بافت مغز نان با استفاده از ماشین آزمون عمومی یا اینسترون (AACC۷٤-۰۹) مجهز به load cell ٥ N با قطر پروب ۳٦ میلی‌متر انجام شد. سرعت Cross Head و چارت به ترتیب ۱۰۰mm/minو ۵۰۰ mm/min (نسبت چارت به Cross Head ۵:۱)تنظیم گردید. برش‌هایی با ضخامت ۲۵ میلی‌متر از نان تهیه و تا ٤۰ درصد ارتفاع اولیه فشرده گردید. این آزمون در طی ٤ روز (روزهای صفر، ۱، ۲ و ۳) نگهداریانجام شد.

ارزیابی حسی نان نیز در طی ٤ روز (روزهای صفر، ۱، ۲ و ۳) نگهداری انجام گردید. برای ارزیابی کیفیت نان ده نفر ارزیاب آموزش دیده، خصوصیات مورد نظر شامل رنگ پوسته و مغز نان، خاصیت ارتجاعی، شدت تخلخل، نرمی بافت، طعم اسیدی و قابلیت جویدن را مورد ارزیابی قرار دادند. به عبارت دیگر، در مواردیکه هدف تعیین میزان تفاوت و شدت صفت می‌باشد از افراد آموزش دیده که در اصطلاح "هیئت داوران" نامیده می‌شوند، بهره گرفته می‌شود. در این مطالعه از روش امتیازدهی یک ویژگی، از نوع آزمون محصول‌گرا استفاده شد.جهت تعیین نمره ارزیابی حسی، از امتیازدهی ٥-۱ استفاده و امتیاز کلی محاسبه شد(عزیزی و همکاران، ۲۰۰۳). همچنین قطعات برش یافته نان پس از خنک شدن در دمای ۲٥°C گرمخانه-گذاری شد. زمان لازم جهت ظهور کلنی‌های کپک روی نان به عنوان زمان ماندگاری ثبت گردید.

آنالیزهای آماری

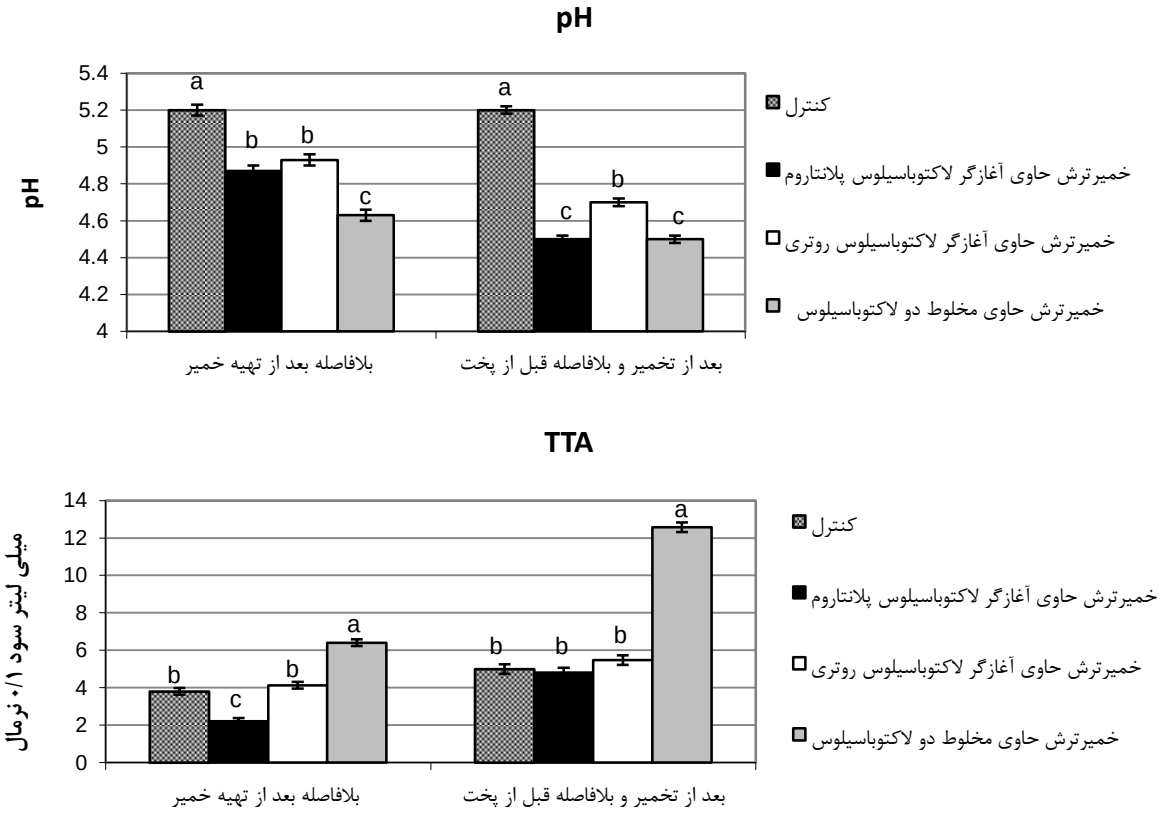
در این تحقیق کلیه آزمون‌ها در سه تکرار انجام گرفت. صفات خمیر شامل میزان pH و اسیدیته قابل تیتراسیون و صفات نان شامل مقدار pH، اسیدیته قابل تیتراسیون، حجم، ارتفاع و رطوبت با استفاده از طرح کاملاً تصادفی با رویه مدل‌های خطی تعمیم یافته (GLM)[1] نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. آزمون مقایسه میانگین‌ها با دانکن در سطح احتمال ٥ درصد انجام گرفت. آنالیز سفتی بافت نان با استفاده از طرح اشاره شده در بالا انجام و مقایسه میانگین‌ها با توکی در سطح احتمال ٥ درصد انجام شد. آنالیز آماری صفات ارزیابی حسی در این تحقیق بر اساس مطالعات لاتریل و همکاران (2006) بر پایه مدل خطی مختلط (MLM)[2] انجام شد. روش مدل خطی مختلط هنگامی استفاده می‌شود که یک متغیر در طول زمان یا تحت شرایط مختلف آزمایشی، توسط یک نفر مورد اندازه‌گیری قرار می‌گیرد. با این روش می‌توان اثر تیمار را بررسی نموده و تنوع بین و داخل اعضا ارزیابی حسی را به دست آورد. تمامی محاسبات با نرم افزار SAS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با توکی در سطح احتمال ٥ درصد انجام شد. کنترل کپک‌زدگی نان با رویه Life Test نرم افزار SAS توسط دو آزمون به نام Log-Rankو Wilcoxon مورد بررسی قرار گرفت. میزان همبستگی و رگرسیون نیز با رویه Corr و Reg نرم افزارSAS انجام شد.

نتایج و بحث

pH و اسیدیته قابل تیتراسیون خمیر و نان

از خمیرترش‌های حاوی آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس روتری و مخلوطی از این دو، جهت افزودن به خمیر مورد استفاده قرار گرفت. تغییرات میزان pH و اسیدیته قابل تیتراسیون خمیر بلافاصله بعد از تهیه خمیر و نیز بعد از تخمیر و بلافاصله قبل از پخت در شکل ۱ نشان داده شده است.

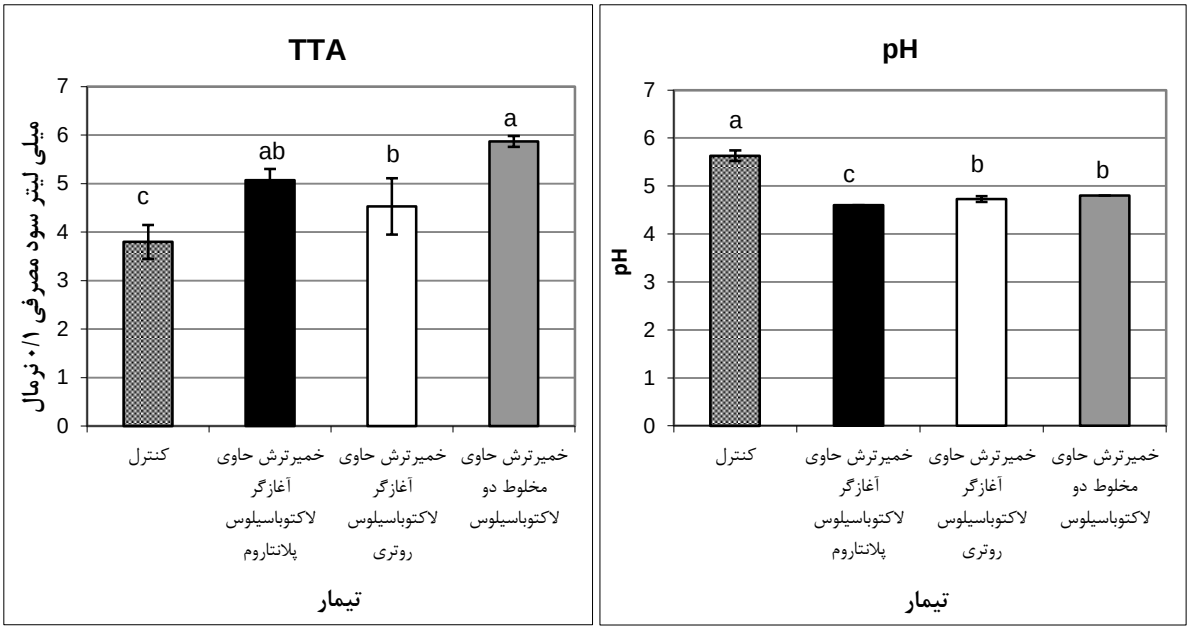
[1] General Linear Model
[2] Mixed Linear Model



شکل ۱-میزانpH و اسیدیته قابل تیتراسیون (TTA) درخمیر بلافاصله بعد از تهیه و بعد از تخمیر و بلافاصله قبل از پخت تهیه شده از تیمارهای متفاوت

حروف لاتین غیرمشابه، نمایانگر معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها در سطح احتمال ٥درصد می‌باشند.بازه های خطا نشان‌دهنده انحراف معیار است.

به‌طور کلی میزان pH در طول فرآیند تخمیر خمیر کاهش و اسیدیته قابل تیتراسیون افزایش یافت. همان-طور که انتظار می‌رفت تیمار کنترل بالاترین میزان pH را در حدود ٥/٢ و کمترین اسیدیته قابل تیتراسیون را نشان داد. علت این امر عدم تولید اسیدهای آلی به میزان لازم در طی فرآیند تخمیر است. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود در انتهای فرآیند تخمیر و بلافاصله قبل از پخت، میزان pH در تیمار حاوی آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم و مخلوطی از دو لاکتوباسیلوس به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از بقیه تیمارها بود. علت این امر می‌تواند بالاتر بودن نرخ تولید اسید در تیمارهای حاوی آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم باشد. همچنین از آنجا که در یک pH ثابت میزان pK_a اسید لاکتیک (٣/٨) نسبت به اسید استیک (٤/٨) پایین‌تر است و به مقدار بیشتری به فرم یونیزه شده در محیط وجود دارد، به همین دلیل نسبت به اسید استیک بر تغییرات pH اثرگذارتر است. بیشترین میزان اسیدیته قابل تیتراسیون نیز در انتهای فرآیند تخمیر مربوط به تیمار تهیه شده با مخلوطی از دو آغازگر بود.شکل ٢ تغییراتpH و اسیدیته قابل تیتراسیون نان‌های تهیه شده از تیمارهای مختلف را نشان می‌دهد.



شکل ۲-تغییراتpH و اسیدیته قابل تیتراسیون (TTA) در نان‌های تهیه شده از تیمارهای متفاوت

حروف لاتین غیرمشابه، نمایانگر معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها در سطح احتمال ۵درصد می‌باشند.بازه های خطا نشان‌دهنده انحراف معیار است.

pH نان تهیه شده با تیمار کنترل ۵/۶۳ بود که به‌طور معنی‌داری بالاتر و میزان اسیدیته قابل تیتراسیون نیز پایین‌تر از نان‌های حاصل از بقیه تیمارها بود. همان-طور که مشاهده می‌شود نان حاصل از تیمار حاوی آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم به‌طور معنی‌داری میزان pH پایین‌تری را نسبت به نان حاصل از سایر تیمارها نشان داد. همچنین تیمار حاوی آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم و مخلوط دو لاکتوباسیلوس میزان اسیدیته قابل تیتراسیون بالاتری را نسبت به سایر تیمارها به خود اختصاص داد.

اثر خمیرترش حاوی آغازگرهای لاکتوباسیلوس روی صفات نان

در جدول ۳ نتایج حاصل از مقایسه میانگین صفات نان آورده شده است. همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می-شود میزان حجم نان در تیمار کنترل به‌طور معنی‌داری بیشتر از دیگر تیمارها بود. در اکثر مطالعات استفاده از خمیرترش به عنوان عاملی برای افزایش حجم نان گزارش گردیده است، اگرچه یافته‌هایی نیز بر خلاف آن منتشر شده است (روبرت و همکاران ۲۰۰۶). هاگمن و سالووارا (۲۰۰۸) عنوان کردند فعالیت مخمر ساکارومایسس سرویزیه برای عمل‌آوری خمیر در حضور باکتری‌های اسید لاکتیکی ۲۰ الی ۳۵ درصد کاهش یافت. تولید اسیدهای آلی اثر منفی روی فعالیت مخمر نانوایی دارد. همچنین این محققین عنوان کردند که نوع آغازگر تفاوت معنی‌داری در میزان حجم نان‌های تهیه شده از خمیرترش ایجاد نکرد.

هامس و گنزل (۱۹۹۸) عنوان کردند هنگام استفاده از مخمر، تشکیل گاز به‌وسیله میکروفلورای خمیرترش اهمیت کمتری دارد. در این مطالعه نیز انتظار می‌رفت نان تهیه شده از خمیرترش حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم (هموفرمنتاتیو) به دلیل عدم تولید گاز دی اکسید کربن، کمترین حجم را نسبت به دیگر تیمارهای تهیه شده از خمیرترش حاوی آغازگر نشان دهد.

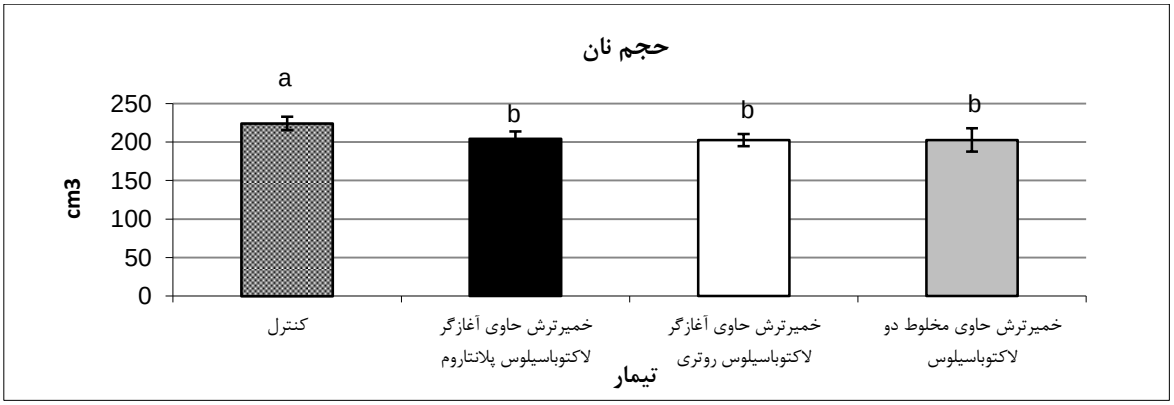
جدول ۳- اثر نوع میکروارگانیسم مورد استفاده در تهیه خمیر ترش بر صفات نان*

تیمار	صفات نان		
	حجم(Cm^3)	ارتفاع (Cm)	رطوبت (٪)
نمونه کنترل	۲۲۴/۱۱^{a}± ۸/۸۲**	۶/۵۴^{a}± ۰/۱۵	۳۱/۱۴^{b}± ۰/۰۱
خمیرترش حاوی آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم	۲۰۴/۰۰^{b}± ۹/۶۶	۵/۸۷^{b}± ۰/۳۰	۳۲/۲۷^{a}± ۰/۰۳
خمیرترش حاوی آغازگر لاکتوباسیلوس روتری	۲۰۲/۴۴^{b}± ۷/۷۶	۵/۸۸^{b}± ۰/۱۷	۳۲/۲۸^{a}± ۰/۱۳
خمیرترش حاوی مخلوط دو لاکتوباسیلوس	۲۰۲/۶۷^{b}± ۱۵/۲۳	۵/۷۱^{b}± ۰/۲۰	۲۹/۸۹^{c}± ۰/۲۳

*ستون‌های با حروف لاتین غیرمشابه، نمایانگر معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها در سطح احتمال ۵درصد می‌باشند.

**انحراف معیار ± میانگین

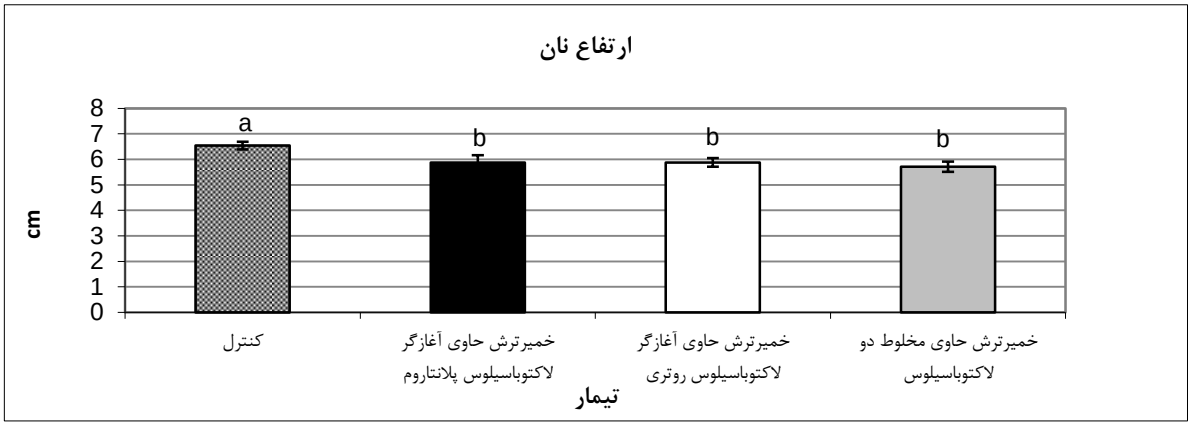
در این رابطه قابلیت نگهداری گاز ممکن است تحت تأثیر قرار گرفته باشد که این نتایج مطابق با یافته‌های کلارک و همکاران (۲۰۰۲) است. همچنین کاهش pH به دلیل تولید اسیدهای آلی باعث فعال شدن پروتئازهای اندوژنازی آرد می‌شود که پروتئولیز زیر واحدهای گلوتن را در پی داشته و موجب تضعیف شبکه گلوتنی می‌گردد و قابلیت نگهداری گاز توسط آن کاهش می‌یابد.



شکل ۳ - حجم نان‌های تهیه شده از تیمارهای متفاوت

حروف لاتین غیرمشابه، نمایانگر معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها در سطح احتمال ۵درصد می‌باشند. بازه های خطا نشان‌دهنده انحراف معیار است.

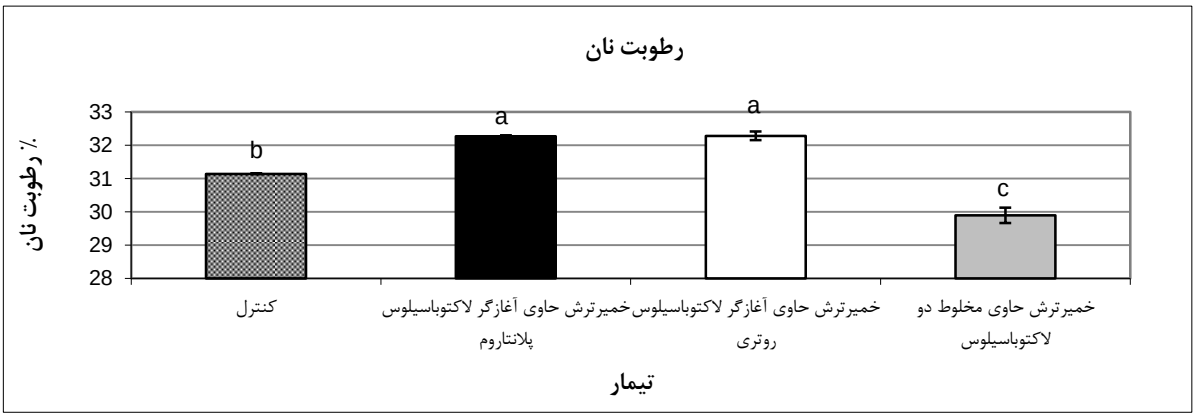
با توجه به شکل ٤ ارتفاع نان نیز در تیمار کنترل به‌طور معنی داری بیشتر از نان‌های حاصل از خمیرترش بود که مطابق با داده‌های حاصل از حجم می‌باشد. به‌طور کلی هر چه حجم بیشتر باشد، ارتفاع نان نیز بیشتر خواهد بود. در این مطالعه ضریب همبستگی بالایی بین دو صفت حجم و ارتفاع نان دیده شد (P=۰/۰۰۰۱، r=۰/۸۱).



شکل ۴-ارتفاع نان‌های تهیه شده از تیمارهای متفاوت.

حروف لاتین غیرمشابه، نمایانگر معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها در سطح احتمال ۵درصد می‌باشند. بازه های خطا نشان‌دهنده انحراف معیار است.

رطوبت یکی از صفات کیفی نان است که بر بیاتی و زمان ماندگاری نان مؤثر می‌باشد. همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود بیشترین میزان رطوبت نان مربوط به تیمارهای تهیه شده با خمیرترش حاوی آغازگر لاکتوباسیلوس روتری و همچنین تهیه شده با لاکتوباسیلوس پلانتاروم بود. در این مطالعه تغییرات رطوبت نان از روند مشخصی تبعیت نکرد. نمونه‌های نان تهیه شده از کلیه تیمارها، در پایان خنک کردن محتوای رطوبت متفاوتی را نشان دادند که به علت تفاوت در مهاجرت رطوبت در بین تیمارها در طی نگهداری است. همچنین خصوصیات آبدوستی اجزاء (کالپ و همکاران ۱۹۸۵) نیز متفاوت است. این امر مبین این مطلب است که روش‌های مختلف تهیه نان موجب تفاوت در محتوای رطوبت نان می‌شود (پیازا و ماسی ۱۹۹۵).



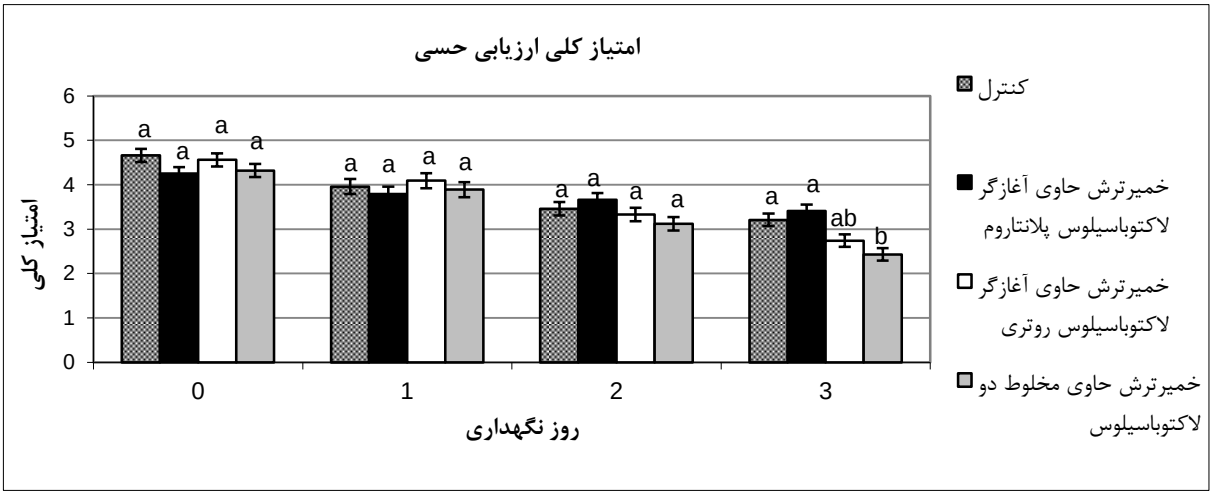
شکل ۵- رطوبت نان‌های تهیه شده از تیمارهای متفاوت

حروف لاتین غیرمشابه، نمایانگر معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها در سطح احتمال ۵درصد می‌باشند. بازه های خطا نشان‌دهنده انحراف معیار است.

اثر خمیرترش حاوی آغازگرهای لاکتوباسیلوس روی ویژگی‌های حسی نان

نمره کلی ارزیابی حسی نان‌های حاصله (شدت رنگ پوسته، رنگ بافت، خاصیت ارتجاعی، تخلخل، نرمی بافت، طعم اسیدی و قابلیت جویدن) در تیمارهای مورد بررسی در طول دوره نگهداری کاهش یافت.

همان‌طور که در شکل ٦ مشاهده می‌شود در طی دوره نگهداری نان‌ها، تفاوت معنی‌داری بین تیمارها دیده نشد و تنها تیمار تهیه شده با مخلوطی از دو آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری در روز آخر نگهداری کمترین میزان امتیاز را به خود اختصاص داد. علت این امر می‌تواند به دلیل طعم ترشیدگی ناشی از تولید اسید استیک در این تیمارها باشد که به ذائقه مصرف‌کننده مطلوب نبوده است. عدم مشاهده تفاوت در صفات ارزیابی حسی بین تیمار کنترل و تیمارهای تهیه شده با خمیرترش در طی روزهای صفر، یک و دو می‌تواند به دلیل عدم توانایی ارزیاب‌ها در تشخیص تفاوت‌های ناچیز و جزئی در ویژگی‌های حسی در این تیمارها باشد.



شکل ۶- میانگین امتیازات ارزیابی حسی نان در دوره نگهداری

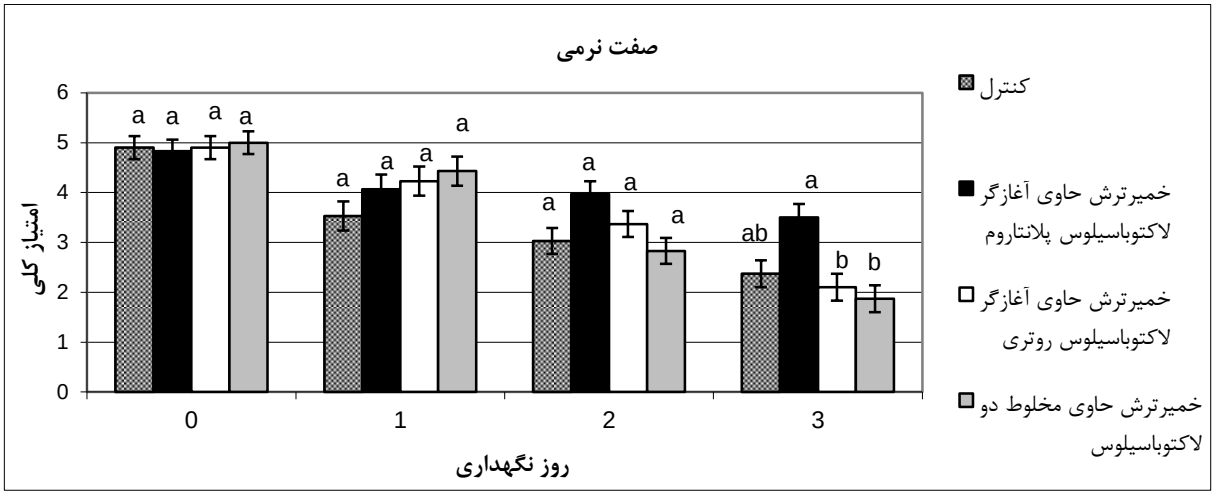
حروف لاتین غیرمشابه، نمایانگر معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها در سطح احتمال ٥درصد می‌باشند. بازه های خطا نشان‌دهنده انحراف معیار است.

به‌طور کلی ارزیابی ویژگی‌های حسی نان‌های تهیه شده از تیمارهای مختلف نشان داد با وجود پایین بودن میزان مواد مولد عطر و طعم در نان‌های تهیه شده با تیمار کنترل، این نان به دلیل داشتن بافت مطلوب، از نظر ویژگی‌های حسی تفاوت معنی‌داری با نان‌های حاصل از تیمارهای دیگر ندارد. نتیجه حاصل از رگرسیون خطی بین صفت مقبولیت و خصوصیات حسی نان در رابطه زیر آمده است.

مقبولیت کلی = -۰/۸۰ + ۰/۱۳ طعم اسیدی + ۰/۰۵۳ نرمی + ۰/۳۷ تخلخل + رنگ بافت

همان‌طور که مشاهده می‌شود در این مطالعه صفت نرمی ضریب بیشتری در معادله فوق به خود اختصاص داده است لذا یک صفت مؤثر در مقبولیت کلی نان بشمار می‌رود. این امر مبین این مطلب است که ارزیابان ایرانی صفت نرمی را به عنوان یک فاکتور مهم در کیفیت محصولات نانوایی انتخاب می‌کنند.همان‌طور که در شکل ۷ ملاحظه می‌شود، آنالیز آماری جداگانه

صفت نرمی در نان‌های حاصل از تیمارهای متفاوت نیز مبین این مطلب است که در روز آخر نگهداری تیمارهای تهیه شده با مخلوط دو لاکتوباسیلوس و همچنین نان-های حاصل از آغازگر لاکتوباسیلوس روتری کمترین امتیاز نرمی را به خود اختصاص داد.

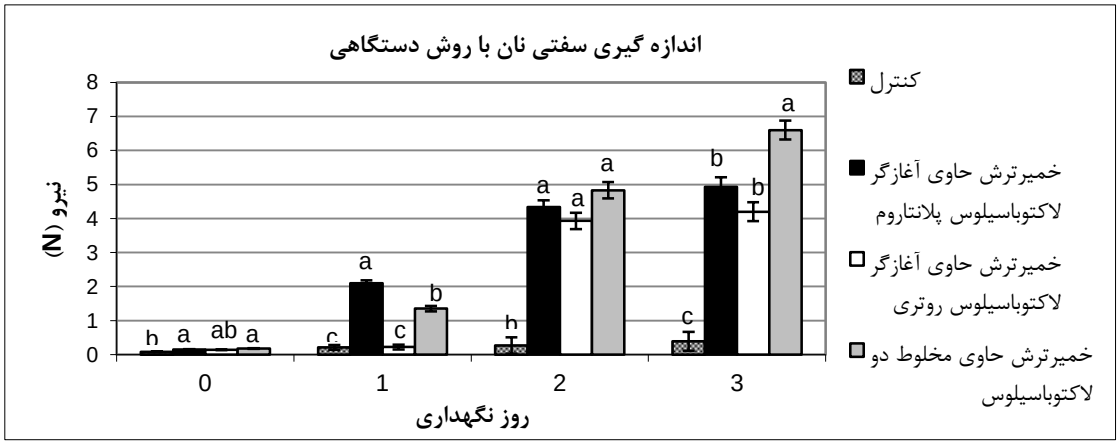


شکل ۷ -میانگین امتیاز صفت نرمی نان در دوره نگهداری

حروف غیرمشابه، نمایانگر معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند. بازه های خطا نشان‌دهنده انحراف معیار است.

آزمون ارزیابی سفتی بافت نان

شکل ۸ نتایج حاصل از آزمون اندازه‌گیری سفتی مغز نان با دستگاه اینستران در نان‌های تهیه شده از تیمارهای متفاوت و در طی دوره نگهداری نشان می-دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود نیروی لازم برای فشردن نان که معیاری از سفت شدن آن و بیاتی مغز نان طی زمان است، با گذشت زمان زیاد شد.



شکل ۸- مقایسه میانگین سفتی مغز نان در دوره نگهداری

حروف لاتین غیرمشابه، نمایانگر معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها در سطح احتمال ۵درصد می‌باشند. بازه های خطا نشان‌دهنده انحراف معیار است.

همان‌طور که دیده می‌شود کمترین میزان بیاتی را نان حاصل از تیمار کنترل در طی دوره نگهداری به خود اختصاص داد. نان‌های تهیه شده از خمیرترش حاوی آغازگر لاکتوباسیلوس روتری در رتبه بعد قرار گرفت. در روز صفر (نان تازه، ۲ ساعت بعد از پخت) نان تهیه شده از تیمارکنترل نسبت به دیگر تیمارها نرم‌تر بود و میزان نیروی کمتری برای فشردن آن لازم بود. در روز اول نگهداری نیز به ترتیب نان‌های تهیه شده با خمیرترش حاوی آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم و همچنین حاوی مخلوطی از دو لاکتوباسیلوس به‌طور معنی‌داری نسبت به دیگر نان‌ها بیات‌تر بود، احتمالاً حجم کمتر نان‌های حاصل از این تیمارها ناشی از اثر منفی اسیدهای آلی بر فعالیت مخمر نانوایی است. نان-های با حجم بیشتر، دارای بافت نرم‌تری بودند که در توافق با یافته های ملکی و همکاران (ملکی و همکاران ۱۹۸۰) بود. نتایج نشان دادند که در طی دوره نگهداری کمترین میزان بیاتی بعد از تیمار کنترل، مربوط به نان-های تهیه شده با خمیرترش حاوی لاکتوباسیلوس روتری بود. تیمارهای تهیه شده با خمیرترش حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و مخلوط این دو لاکتوباسیلوس میزان بیاتی بیشتری را به خود اختصاص دادند.

به‌طور کلی نتایج حاصل از اندازه‌گیری سفتی مغز نان نشان داد که افزودن خمیرترش، باعث گردید تا سفتی مغز نان افزایش یابد در صورتی‌که نان بدون خمیرترش در همه روزهای نگهداری نرم‌تر از بقیه تیمارها بود.

علت این امر را می‌توان به عدم تولید اسیدهای آلی مهار کننده فعالیت عمل‌آوری مخمر نانوایی در نان کنترل نسبت داد. نتایج به دست آمده مغایر با یافته‌های کورستی و همکاران (۱۹۹۸a) بود.

مقایسه روش ارزیابی بافت نان توسط اینستران و آزمون حسی، نشان‌دهنده وجود اختلاف در نتایج این دو روش بود. همان‌طور که ملاحظه شد، ارزیابی حسی بافت نان‌های حاصل از تیمارهای متفاوت، تنها در روز آخر تفاوت معنی‌دار نشان داد. همچنین بافت نان‌های حاصل از تیمار کنترل و تیمار تهیه شده با آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم در ارزیابی حسی امتیاز بالاتری را از لحاظ نرمی به خود اختصاص دادند در حالی که آزمون اینستران، به‌طور کلی تیمار کنترل و سپس تیمار تهیه شده با آغازگر لاکتوباسیلوس روتری را به عنوان تیمارهای تازه‌تر معرفی کرد. آنچه مسلم است، در هر دو روش استفاده شده برای ارزیابی بافت نان، تیمار کنترل بیاتی کمتری را نشان داد.

کنترل کپک‌زدگی در نان

نتایج حاصل از آنالیز آماری آزمون کنترل کپک‌زدگی در نان در جدول ٤ آورده شده است. از آنجا که سطح احتمال کای اسکویر (Chi-Square) در هر دو آزمون به کار برده شده بسیار معنی‌دار بود ($\rho<0/0001$)، بنابراین نتیجه‌گیری شد که روند کپک‌زدگی در تیمارهای مختلف، متفاوت است.

جدول ۴- آنالیز آماری آزمون کنترل کپک‌زدگی در نان

آزمون	Chi-Square	درجه آزادی	Pr>Chi-Square
Log-Rank	۴۱/۶۴	۶	<0.0001
Wilcoxon	۳۸/۸۹	۶	<0.0001

سطح معنی‌دار بودن دو آزمون Log Rank و Wilcoxon برای بررسی کنترل کپک‌زدگی در نان‌های حاصل از تیمارهای متفاوت

در جدول ٥ زمان ماندگاری نان‌های حاصل از تیمارهای مختلف نشان داده شده است. شروع کپک زدگی در تیمار تهیه شده با خمیر کنترل سریع‌تر از تیمارهای حاوی خمیرترش بود. همان‌طور که مشاهده می‌شود نان کنترل پس از ٤ روز دچار کپک زدگی شد. تیمار تهیه شده با خمیرترش حاوی آغازگر لاکتوباسیلوس روتری نسبت به تیمارهای دیگر دارای زمان ماندگاری طولانی‌تری (۱۳ روز) بود و دیرتر کپک زد. نان تهیه شده با خمیرترش حاوی آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم با ۱۰ روز زمان ماندگاری در رتبه بعد قرار گرفت.

جدول ٥-زمان ماندگاری (بدون ظهور علایم کپک زدگی) نان‌های حاصل از تیمارهای متفاوت

تیمار	نمونه کنترل	خمیرترش لاکتوباسیلوس پلانتاروم	خمیرترش لاکتوباسیلوس روتری	خمیرترش‌مخلوط دو لاکتوباسیلوس
زمان ماندگاری (روز)	۴^{d}	۱۰^{b}	۱۳^{a}	۶^{c}

حروف لاتین غیرمشابه، نمایانگر معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها (P<۰/۰۰۰۱) می‌باشند.

به‌طور کلی با وجود محتوای بالای رطوبت نان‌های تهیه شده با خمیرترش حاوی آغازگر لاکتوباسیلوس روتری و همچنین لاکتوباسیلوس پلانتاروم، این تیمارها زمان ماندگاری طولانی‌تری نسبت به تیمارهای تهیه شده با تیمار کنترل نشان دادند، این امر را می‌توان به pH پایین‌تر نان‌های تهیه شده از خمیرترش نسبت به کنترل نسبت داد. همچنین تولید ترکیبات باکتریوسین و ضد کپک در طی فرآیند تخمیر توسط باکتری‌های اسید لاکتیک می‌تواند از دلایل تأخیر کپک‌زدگی در نان‌های تهیه شده با خمیرترش باشد. در این رابطه آغازگر لاکتوباسیلوس روتری بهترین عملکرد را در افزایش زمان ماندگاری نان نشان داد. علت این امر تولید اسید استیک توسط باکتری لاکتوباسیلوس روتری (هتروفرمنتاتیو اجباری) در مقادیر بالا است. اسید استیک ترکیب اصلی ضد میکروبی در خمیرترش می‌باشد. اسید لاکتیک تولید شده در طی فرآیند تخمیر باعث کاهش pH شده و بدین وسیله درصد اسید استیک غیر یونیزه افزایش یافته (روزنکوییست و هنسن ۱۹۹۸) و وارد سیتوپلاسم میکروارگانیسم شده و اسیدی شدن سیتوزول را موجب می‌گردد. آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم و مخلوط این دو لاکتوباسیلوس در رده‌های بعدی قرار گرفتند.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر اگرچه ویژگی‌های تکنولوژیکی از جمله میزان حجم و ارتفاع در نان‌های تهیه شده با تیمار کنترل بیشتر از تیمارهای تهیه شده با خمیرترش بود، ولی بررسی خصوصیات حسی نشان داد که تیمار تهیه شده با خمیرترش حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و همچنین تیمار حاوی لاکتوباسیلوس روتری نیز امتیاز بالایی را در ارزیابی به خود اختصاص دادند. همچنین باید خاطر نشان شد که زمان ماندگاری در تیمارهای تهیه شده با خمیرترش بالاتر از تیمار کنترل بود که این امر کاهش ضایعات اقتصادی را در پی دارد. نتایج این تحقیق نشان داد که خمیرترش تهیه شده با آغازگر لاکتوباسیلوس روتری باعث تولید نانی با خصوصیات حسی مناسب، نرخ پایین‌تر بیاتی و زمان ماندگاری بالاتری نسبت به نان تهیه شده با آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم شد. به نظر می‌رسد تخمیر همزمان باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمر نانوایی برای جلوگیری از غیر فعال شدن مخمر، می‌تواند راه حلی

برای بهبود خصوصیات تکنولوژیکی نان‌های آماده شده با خمیرترش باشد. اگرچه استفاده از باکتری‌های اسید لاکتیکی در آماده‌سازی خمیرترش باعث بهبود خصوصیات حسی و زمان ماندگاری محصولات نانوایی شد ولی اساساً نوع باکتری بر خصوصیات خمیر و محصول نهایی اثرگذار است. بدین جهت غربالگری باکتریایی باید انجام شود تا سویه‌های مناسب شناسایی شده و در صنعت مورد استفاده قرار گیرند. دما، زمان، تعداد سلول‌ها و میزان افزودن خمیرترش نیز از عوامل اثرگذار بر ویژگی‌های خمیر و نان حاصل از آن می‌باشد که به نظر می‌رسد مطالعات بیشتری در این زمینه لازم است.

منابع مورد استفاده

Azar M, Ter-Sarkissian N, Ghavifek H, Ferguson T, Ghassemi H, 1977.Microbiological aspects of Sangak bread. Journal of Food Science and Technology, 14: 251-254.

Azizi MH, Rajabzadeh N &Riahi E. 2003.Effect of mono-diglyceride and lecithin on dough rheological characteristics and qualityof flat bread. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie, 36:189-193.

Bastetti G, 2001. Breads produced in Italy. Part I: Sours, preferments and starters. American Institute of Baking, Technical Bulletin, 23: 1-5.

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 Chemistry, 79: 640-647.

Corsetti A, Gobbetti M, Bolestrieri F, Paoletti F, Russi L, Rossi J, 1998a. Sourdough lactic acid bacteria effects on bread firmness and staling. Journal of Food Science, 63: 347-351.

Gaggiano M, Di Cagno R, De Angelis M, Arnault P, Tossut P, Fox P.F, Gobbetti M, 2007. Defined multi-species semi-liquid ready-to-use sourdough starter. Food Microbiology, 24: 15-24.

Gocmen D, Gurbuz O, Kumral A. Y, Dagdelen A. F, Sahin I, 2007. The effects of wheat sourdough on glutenin patterns, dough rheology and bread properties. European Food Research and Technology, 225: 821-830.

Haggman M and Salovaara H, 2008. Microbial re-inoculation reveals differences in the leavening power of sourdough yeast strains. LWT - Food Science and Technology, 41: 148-154.

Hammes W. P, 1990. Bacterial starter cultures in food production. Food Biotechnology, 4: 383-397.

Hammes W. P. and GanzleM. G, 1998.Sourdough breads and related products. London, Blackie Academic & professional

Kulp K, Chung H, Martinez-Anaya M.A, Doerry W,1985.Fermentation of water ferments on bread quality. Cereal Chemistry, 62: 55-59.

Kulp K and Lorenz K. E, 2003.Handbook of Dough Fermentation. New York, Marcel Dekker.

Latreille J, Mauger E,Ambroisine L, Tenenhaus M, Vincent M, Navarro S, Guinot C, 2006. Measurement of the reliability of sensory panel performances. Food Quality and Preference, 17: 369-375.

Lavermicocca P, Valerio F, Visconti A, 2003. Antifungal activity of phenyllactic acid against molds isolated from bakery products. Applied and Environmental Microbiology, 69: 634-640.

Legan J .D, 1993. Mould spoilage of bread: The problem and some solutions. Int. Biodeterior. Biodegrad, 32: 33-53.

Maleki M, HoseneyR.C,MatternP.J, 1980. Effects of loaf volume, moisture content and protein quality on the softness and staling rate of bread. Cereal Chemistry, 57:138–140.

Pateras I. M. C, 1998.Bread spoilage and staling.London, Blackie Academic and Professional.

Piazza L andMasi P, 1995. Moisture Redistribution Throughout the Bread Loaf During Staling and Its Effect on Mechanical Properties. Cereal Chemistry, 72: 320-325.

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: 256-265.

RosenquistH. and Hansen A, 1998. The antimicrobial effect of organic acids, sour dough and nisin against Bacillus subtilis and B. licheniformis isolated from wheat bread. Journal of Applied Microbiology, 85: 621-631.

Spicher G, 1983. Baked goods.Weinheim, VerlagChemie.

Vogel RF, Knorr R, Muller M. R. A, Steudel U, Ganzle M. G, Ehrmann M. A, 1999. Nondairy lactic fermentations: The cereal world.Antonie van Leeuwenhoek, 76: 403-411.

Vuyst L.D. and Neysens, P. 2005. The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions. Trends in FoodScience and Technology, 16: 43-56.