

کاربرد باکتری‌های لاکتوکوکوس لاکتیس، لوکونستوک مژنتروئیدس و مخمر کلویورومایسنس مارکسیانوس در تهیه خمیر ترش مورد استفاده در نان برابری

مریم فتحی‌آذر^{a*}، سید مهدی سیدین اردبیلی^b

^a کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
^b استادیار دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۹/۱۰

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۵/۱۷

چکیده

مقدمه: این تحقیق با هدف ارزیابی امکان کاربرد خمیر ترش حاوی کشت‌های آغازگر در تهیه نان برابری و بررسی کیفیت آن در مقایسه با نان برابری سنتی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش چهار نوع خمیر ترش تهیه شد. در نوع اول از مخمر نانوایی ساکارومایسنس سرویزیه (B1) استفاده شد که در تولید نان سنتی استفاده می‌شود. در نوع دوم از باکتری‌های لاکتوکوکوس لاکتیس و لوکونستوک مژنتروئیدس در ترکیب با مخمر نانوایی (B2)، و در نوع سوم از باکتری‌های لاکتوکوکوس لاکتیس و لوکونستوک مژنتروئیدس در ترکیب با مخمر کلویورومایسنس مارکسیانوس (B3) استفاده گردید و نهایتاً در نوع چهارم از باکتری‌های لاکتوکوکوس لاکتیس و لوکونستوک مژنتروئیدس (B4) استفاده شد. برای سنجش سفتی بافت نان‌های تهیه شده از دستگاه اینستران بعد از زمان‌های ۱، ۲ و ۳ روز استفاده شد و ارزیابی حسی بعد از یک روز از پخت انجام گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از ارزیابی حسی نشان داد که به غیر از نمونه B3، بین تمامی نمونه‌ها از نظر فرم و شکل و خصوصیات پوسته و سطح رویی، اختلاف معنی داری در سطح $p \leq 0.01$ وجود ندارد. همچنین نمونه‌های B1 و B2، از نظر قابلیت جویدن، خصوصیات سطح زیرین و خصوصیات نرمی بافت و پوکی و تخلخل امتیاز بیشتری در مقایسه با نمونه‌های B3 و B4 کسب کردند. بین تمامی نمونه‌ها از نظر بو و طعم هیچ گونه اختلافی مشاهده نشد. نتایج حاصل از آزمون بافت سنجی نشان داد، نمونه‌های B2 و B3 در مقایسه با نمونه شاهد (B1) نرم‌ترین نان‌ها بوده‌اند. نمونه B4 در هر ۳ روز سفت‌ترین نمونه می‌باشد.

نتیجه گیری: استفاده از مخلوط مخمر نانوایی و باکتری‌های لاکتوکوکوس لاکتیس و لوکونستوک مژنتروئیدس (B2) به عنوان جایگزین مخمر نانوایی به دلیل عملکرد بهتر توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بیانی، لاکتوکوکوس لاکتیس و لوکونستوک مژنتروئیدس، مخمر کلویورومایسنس مارکسیانوس، مخمر نانوایی، نان برابری

مقدمه

خمیر ترش سیستم بیولوژیکی بسیار پیچیده‌ای دارد (Sadeghi *et al.*, 2007). از مخلوط کردن آب و آرد حاصل از انواع غلات تشکیل می‌شود و مخمرها و لاکتیک اسید باکتری‌ها به ویژه سویه‌های هتروفرمتاتیو که در مقایسه با سویه‌های هموفرمتاتیو غالب ترین سویه‌ها می‌باشد، به طور همزیستی به حیات و فعالیت ادامه می‌دهند. با نگه داشتن این مخلوط به مدت یک شب در هوای گرم و مرطوب تعادلی بین اسید لاکتیک و اسید استیک تولید شده در آن ایجاد می‌شود و بنابراین باعث پیدایش مزه ترش در آن می‌شود (رجب‌زاده، ۱۳۶۸). خمیر ترش نقش مهمی در آماده کردن خمیر نان با خواص تکنولوژیکی مطلوب، خواص تغذیه‌ای، خواص ارگانولپتیک و حسی و زمان نگهداری بالا ایفا می‌کند (Plessas *et al.*, 2008).

برای بهبود و افزایش زمان ماندگاری نان به صورت وسیعی بیان شده است (Devuyst & Neyse, 2005) یکی از روش‌های سنتی تولید نان مسطح بر اساس تخمیر خمیر ترش می‌باشد. در ایران نیز نان‌های مسطحی مثل نان بربی مطابق روش‌های سنتی تولید می‌شوند (رجب‌زاده، ۱۳۶۸). یکی از ویژگی‌های مهم نان بربی بیان شدن سریع آن می‌باشد. نان در مدت چند ساعت به طور سریع تازگی خود را از دست داده و حالت چرمی به خود می‌گیرد و به سختی جویده می‌شود (رجب‌زاده، ۱۳۶۸). اگر چه تغییر در میکروساختارهای نشاسته و پروتئین باعث بیانی نان می‌شود ولی مکانیسم کامل بیانی به طور کامل شناخته نشده است (رجب‌زاده، ۱۳۶۸؛ Gray & Bemiller, 2008). بنابراین استفاده از روش‌های جدیدی که تولید نان با طعم و آرومای بهتر و حفظ تازگی و جلوگیری از بیانی را در بر داشته باشد توصیه می‌شود تا مخصوصاً در مرحله مصرف، دورریز کمتری داشته باشد (Plessas *et al.*, 2005).

میکروارگانیسم‌های خمیر ترش سنتی به صورت طبیعی رشد و تکثیر می‌شوند. اما به منظور کنترل و بهینه کردن فرآیند تهیه خمیر ترش، از کشت‌های آغازگر مشخص و جدیدی استفاده می‌شود که باعث

کاربرد باکتری و مخمر در تهیه خمیر ترش نان بربی

کیفیت بهتر و به تأخیر انداختن فرآیند بیانی نان تولیدی در مقایسه با نان حاصل از مخمر نانوایی Gocmen *et al.*, 1997; Plessas *et al.*, 2008 (Plessas *et al.*, 2008)؛ بنابراین انتخاب میکروارگانیسم‌ها، اهمیت زیادی دارد (Plessas *et al.*, 2008). در تحقیقی که توسط Robert و همکاران در سال ۲۰۰۶ انجام شده است، خواص اسیدیفیکاسیون، فعالیت متabolیکی و کارایی تکنولوژیکی *L. plantarum* یا *L. plantarum* در طی فرآیند تهیه نان گندم حاصل از خمیر ترش بررسی گردید. نتایج نشان داد، آغازگرهای *Leuconostoc* یا *L. plantarum* تخمیر مناسب در مقایسه با نمونه تهیه شده با مخمر نانوایی را دارند و باعث تولید نان‌هایی می‌شوند که رضایت مصرف کننده را جلب می‌کند (Robert *et al.*, 2006).

Sadeghi و همکاران در سال ۲۰۰۷ از خمیر¹ LAB ترش حاوی کشت‌های آغازگر مخصوص *L. plantarum* برای تولید نان بربی و به تأخیر انداختن بیانی آن استفاده کردند. در این تحقیق تأثیر زمان تخمیر (۲۴ و ۱۶ و ۸ ساعت) و دمای تخمیر (۳۶ و ۳۲ و ۲۸ درجه سانتی گراد) و نوع کشت آغازگر (*L. sanfranciscensis*, *L. plantarum*) و مخلوط هر دو (LAB) به صورت کامل تجزیه و تحلیل شد. نتایج نشان داد که خمیر ترش حاوی کشت‌های آغازگر باعث تأخیر بیانی نان بربی در ۱، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد پخت در مقایسه با نمونه شاهد تهیه شده با مخمر نانوایی می‌شود. به علاوه نمونه‌های تولید شده با *L. plantarum* با ۲۴ ساعت زمان تخمیر و ۳۲ درجه سانتی گراد درجه حرارت تخمیر بیشترین حجم مخصوص و کم ترین بیانی را در ۷۲ ساعت بعد پخت داشتند (Sadeghi *et al.*, 2007).

در تحقیقی که توسط Urrehman و همکاران در سال ۲۰۰۷ انجام شد، از باکتری لاکتیک اسید خمیر ترش (*L. bulgaricus*) به تنها و در ترکیب با مخمر (*S. cerevisiae*) به منظور تشخیص اثر آن‌ها روی ویژگی‌های حسی و زمان ماندگاری نان در فواصل متفاوت نگهداری استفاده شد. نتایج نشان داد که استفاده از ۳ میلی‌لیتر کشت آغازگر لاکتیک

کلوبورومایسنس مارکسیانوس توسعه می‌یابد. تجزیه ترکیبات فرار به وسیله GC/MS هیچ تفاوتی را در پروفایل ترکیبات آромاتیک نمونه‌های مورد آزمون نشان نداد (Dimitra *et al.*, 2008).

نظر بر این که روش‌های مختلفی برای به تأخیر انداختن بیاتی نان وجود دارد، اما همان‌گونه که در بالا اشاره شد، در روش‌های جدید به تأخیر انداختن بیاتی، از میکرووارگانیسم‌ها نیز استفاده می‌شود، از طرف دیگر مقرنون به صرفه بودن میکرووارگانیسم‌ها از لحاظ اقتصادی مورد تأیید قرار گرفته است (Dimitra *et al.*, 2008; Plessas *et al.*, 2008)؛ بنابراین هدف از این تحقیق ارزیابی امکان کاربرد خمیر ترش حاوی باکتری‌های لاکتیک اسید شامل جنس‌های لویکونس-توک مزترورئیدس و لاکتوکوکوس لاکتیس و مخمر کلوبورومایسنس مارکسیانوس می‌باشد. این میکرووارگانیسم‌ها به عنوان مایه کشت میکروبی در محصولات لبنی از جمله تولید کفیر استفاده می‌شوند (Garcia *et al.*, 2006) منظور تولید نان ببری و تأخیر بیاتی از آن استفاده شده است.

مواد و روش‌ها

آرد ستاره با درصد استخراج حدود ۸۰٪ از شرکت غله و خدمات بازارگانی تهیه شد.

- آزمون‌های فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی آرد گندم

مقادیر طبق استاندارد AACC به شماره ۱۶A-۴۴، مقدار خاکستر آرد طبق استاندارد AACC به شماره ۱۰-۸، مقدار پروتئین آرد طبق استاندارد AACC به شماره ۱۲-۴۶، مقدار گلوتن مرطوب طبق استاندارد AACC به شماره ۱۱-۳۸، عدد زلنج طبق استاندارد AACC به شماره ۱۱-۶۵، عدد فالینگ طبق استاندارد AACC به شماره B-۸۱، میزان جذب آب آرد و خصوصیات رئولوژیکی آن طبق استاندارد AACC به شماره ۵۴-۲۱ و توسط دستگاه فارینوگراف برابر با آزمون اکستنسوگراف مطابق روش AACC به شماره ۱۰-۵۴ انجام گرفت (AACC, 1995).

اسید، (*L. bulgaricus*) در مقایسه با مخلوط مخمر ۱٪ و باکتری لاکتیک اسید، و مخمر ۱٪ (نان شاهد) به منظور جلوگیری از فساد میکروبی و افزایش زمان ماندگاری نان مؤثر بوده‌اند. ویژگی حسی نان شاهد (مخمر ۱٪) در مقایسه با سایر نان‌ها کمترین امتیاز را داشته‌اند (Urrehman *et al.*, 2007).

Corsetti و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که نان‌های حاوی آغازگر LAB با توجه به این که *Lactobacillus sanfrancisco* CB1 و *Lactobacillus plantarum* DC400 سویه‌های آمیلولیتیک و پروتولیتیک هستند و همچنین مخمر نانوایی، حجم بالاتری را در مقایسه با نان حاوی مخمر نانوایی سبب می‌شوند و بعد از ۲۴ ساعت نگهداری، استفاده هم زمان L.*sanfrancisco* و S.*cerevisiae* و *L.plantarum* DC400 افزایش آنتالپی را در مقایسه با مخمر نانوایی نشان می‌دهد، که بیانگر بیاتی کمتر در آن‌ها می‌باشد (Corsetti *et al.*, 2008).

Plessas و همکاران در سال ۲۰۰۸ از کلوبورومایسنس مارکسیانوس، لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس و لاکتوباسیلوس هلوتیکوس به عنوان کشت آغازگر به منظور تهیه نان حاصل از خمیر ترش استفاده کردند. نتایج نشان داد، استفاده از کشت‌های مخلوط مذکور باعث افزایش اسیدیتیه و افزایش غلظت لاکتیک اسید در مقایسه با نان تهیه شده به روش سنتی می‌شود. اسیدیتیه بالاتر (۳/۴۱ گرم لاکتیک اسید/ کیلوگرم از نان) و مقاومت بیشتر به فساد کپکی، زمانی که نان با استفاده از خمیر ترش ۵۰٪ که حاوی ۱٪ L.*delbrueckii* ssp. K.*marxianus* می‌باشد، مشاهده شد. استفاده از این bulgaricus کشت‌ها عطر و بوی نان‌های حاصل از خمیر ترش را بهبود می‌دهد، که به وسیله ارزیابی حسی و تجزیه به وسیله گاز کروماتوگراف نشان داده شده است (Plessas *et al.*, 2008).

Dimitra و همکاران در سال ۲۰۰۸ نمونه نان‌های تهیه شده با مخمر کلوبورومایسنس مارکسیانوس را با مخمر نانوایی مقایسه کردند. نتایج نشان داد کمترین pH و بیشترین TTA و بیشترین مقاومت به فساد در نمونه‌های تهیه شده با

کاربرد باکتری و مخمر در تهیه خمیر ترش نان بربی

کرموریس^۲، لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه لاکتیس^۳، لوکونستوک مژنتروئیدس زیر گونه کرموریس^۴ و لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه لاکتیس بیووار دی استی لاكتیس^۵ در مقدار $7/5 \times 10^{10}$ cfu/g میباشد با $10/0\%$ وزن آرد از مخمر فوری نانوایی که حاوی $1/8 \times 10^9$ cfu/g میباشد برای تهیه خمیر ترش استفاده گردید که با 1000 گرم آرد و 500 میلی لیتر آب مخلوط گردید.

خمیر ترش نمونه B3: 1 گرم از آغازگر خشک شده انجامدی کشت مزو菲尔 که حاوی میکروارگانیسم‌های لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه کرموریس، لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه لاکتیس، لوکونستوک مژنتروئیدس زیر گونه کرموریس و لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه لاکتیس بیووار دی استی لاكتیس و حاوی $1/8 \times 10^9$ cfu/g میباشد با $2/57\%$ وزن آرد از آغازگر خشک شده انجامدی که حاوی مخمر تک سویه کلوبیرومایسنس مارکسیانوس زیر گونه مارکسیانوس که به مقدار $1/4 \times 10^9$ cfu/g میباشد برای تهیه خمیر ترش استفاده گردید که با 1000 گرم آرد و 500 میلی لیتر آب مخلوط گردید.

خمیر ترش نمونه B4: 1 گرم از آغازگر خشک شده انجامدی کشت مزو菲尔 که حاوی میکروارگانیسم‌های لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه کرموریس، لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه لاکتیس، لوکونستوک مژنتروئیدس زیر گونه کرموریس و لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه لاکتیس بیووار دی استی لاكتیس در مقدار $1/8 \times 10^9$ cfu/g میباشد با 1000 گرم آرد و 500 میلی لیتر آب مخلوط گردید.

پس از تهیه خمیر ترش، به تمامی خمیر ترش‌ها به مدت 24 ساعت و در درجه حرارت محیط (28 درجه سانتی گراد) اجازه تخمیر داده شد (مؤسسه استاندارد، ۱۳۸۲).

- تهیه خمیر اصلی از خمیر ترش 4000 گرم آرد، $15/3\%$ خمیر ترش، $1/33\%$ آب با $10/0\%$ نمک را در خمیر کن به مدت حدود 10 دقیقه و با سرعت 35 دور در دقیقه مخلوط گردید.

به منظور تعیین اندازه ذرات از آئین کار مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران با شماره ۱-۱۰۳ و از الک‌های شماره ۱۲۵، 180 و 475 استفاده گردید (مؤسسه استاندارد، ۱۳۸۲).

- میکروارگانیسم‌ها و آزمون‌های میکروبی
میکروارگانیسم‌های مورد استفاده از نمایندگی شرکت کریستین هانسن دانمارک تهیه شدند. دو بسته جداگانه که یکی از بسته‌ها حاوی باکتری‌های لاکتوکوکوس لاکتیس و لویکونستوک مژنتروئیدس و بسته دیگر حاوی مخمر کلوبیرومایسنس مارکسیانوس بودند، به شکل میکروارگانیسم‌های خشک شده انجامدی خریداری شدند.

شمارش باکتری‌های لاکتوکوکوس لاکتیس و لویکونستوک مژنتروئیدس مطابق استاندارد ملی ایران و به شماره ۴۷۲۱ انجام شد (مؤسسه استاندارد، ۱۳۷۸).

۸
به منظور شمارش مخمرهای کلوبیرومایسنس مارکسیانوس از استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۱۵۴ (مؤسسه استاندارد، ۱۳۸۶) و به منظور شمارش مخمرهای ساکارومایسنس سرویزیه^۱ از استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۸۹۹-۱ انجام شد (مؤسسه استاندارد، ۱۳۸۷).

- روش پخت نان بربی
بر اساس آئین کار مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به شماره ۵۸۰۹ انجام گرفت (مؤسسه استاندارد، ۱۳۸۲). در این تحقیق 4 نوع نان بربی تهیه و با یکدیگر و نان بربی شاهد مقایسه گردید.

طرز تهیه 4 نوع خمیر ترش برای نان بربی به شرح زیر میباشد:

خمیر ترش نمونه B1: $10/0\%$ وزن آرد از مخمر نانوایی برای تهیه خمیر ترش استفاده گردید، که مخمر نانوایی خود حاوی $1/8 \times 10^9$ cfu/g میباشد و با 1000 گرم آرد و 500 میلی لیتر آب مخلوط گردید.
خمیر ترش نمونه B2: 1 گرم از آغازگر خشک شده انجامدی کشت مزو菲尔 که حاوی میکروارگانیسم‌های لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه

1- *Saccharomyces cerevisiae*

3- *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*

5- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*

2 - *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*

4- *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *Cremoris*

- ارزیابی حسی
 جهت ارزیابی حسی از آزمون‌های حسی نان‌های تهیه شده با تیمارهای مختلف بر اساس اصول ارزشیابی حسی نان‌های سنتی ایران استفاده شد. در این آزمون‌ها با توجه به برخی خصوصیات و ویژگی‌های مؤثر در آن از گروه داوران آموختند. به تعداد ۸ نفر استفاده گردید (قاضی زاده، ۱۳۷۷). در این ارزیابی فرم و شکل با ضریب ۲، ویژگی و خصوصیات سطح زیرین نان با ضریب ۱، ویژگی و خصوصیات پوسته و سطح رویی نان با ضریب ۲، پوکی و تخلخل با ضریب ۳، قابلیت جویدن با ضریب ۳، سختی و نرمی بافت و ساختار نان با ضریب ۴ و بو، طعم و مزه نان با ضریب ۵ محاسبه گردید.

جهت دقت در فرایند ارزیابی به داوران اصول ارزیابی به خوبی تشریح گردید و از آنان خواسته شد تا طبق اصول مربوطه به مورد خیلی خوب امتیاز ۵، خوب امتیاز ۴، رضایت بخش امتیاز ۳، رضایت بخشی کمتر امتیاز ۲، فاقد رضایت امتیاز ۱ و غیر قابل قبول بودن امتیاز صفر بدنهند.

پس از ارزیابی طبق ضرایب امتیازات لازم محاسبه و در هر ویژگی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (قاضی زاده، ۱۳۷۷).

- روش آماری
 آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی^۶ با ۳ تکرار در آزمون بافت سنجی و با ۸ تکرار در آزمون ارزیابی حسی انجام گرفت.

جامعه‌ی آماری در آزمون بافت سنجی بیست و چهار (۲۴) قطعه نان می‌باشد که از حاصل ضرب تعداد سطوح فاکتورها (فاکتور اول: نوع و درصد مخمر که خود شامل ۴ سطح، فاکتور دوم: زمان که خود شامل ۳ سطح و تعداد تکرارها) به دست آمده است.

جامعه‌ی آماری در آزمون ارزیابی حسی سی و دو (۸×۳×۴=۳۲) قطعه نان می‌باشد که از حاصل ضرب تعداد سطوح فاکتورها (فاکتور اول: نوع و درصد مخمر که خود شامل ۴ سطح، فاکتور دوم: زمان که خود شامل ۱ سطح و تعداد تکرارها) به دست آمد.

زمان استراحت خمیر چهت تخمیر ۲ ساعت می‌باشد (مؤسسه استاندارد، ۱۳۸۲).

- آماده کردن خمیر برای پخت
 چانه‌های خمیر به وزن ۵۰۰ گرم تهیه شدند و به مدت ۱۰ دقیقه به حال خود گذاشته شدند تا عمل تخمیر ثانویه بر روی خمیر انجام گیرد. سپس چانه‌های خمیر باز و پس از انگشت زدن و افزودن رومال با ضخامت حدود ۱ سانتی‌متر بر روی سطح پارو قرار داده شده و به داخل تنور منتقل شدند. دمای پخت حدود ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و زمان آن حدود ۱۵-۲۰ دقیقه بود (مؤسسه استاندارد، ۱۳۸۲).

- اندازه گیری pH خمیر ترش
 به منظور تعیین مقدار pH، ۱۰ گرم از خمیر ترش در زمان‌های ۰ و ۲۴ ساعت بعد از زمان تخمیر با ۹۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شده و pH با استفاده از دستگاه pH متر تعیین گردید. (Robert et al., 2006)

- آزمون رئولوژیکی بافت سنجی توسط دستگاه اینستران

جهت ارزیابی کیفیت نان‌ها از دستگاه HOUNSFIELD-H50KS نان‌ها، در زمان‌های ۱، ۲ و ۳ روز بعد از پخت ارزیابی شدند. اندازه گیری سفتی نان طبق استاندارد AACC به شماره‌ی ۷۴-۰۹ انجام گرفت. از تست برش تک صفحه‌ای^۱ (فك حاوی یک تیغه) استفاده شد (Indrani et al., 2007)، که مشخصات آن به شرح زیر می‌باشد: میزان بارگذاری^۲ ۵۰۰ نیوتون، حداقل سرعت^۳ ۵۰ میلی متر/دقیقه، دامنه کشش^۴ ۳۳ میلی متر و نقطه پایان آزمون^۵ ۲۲ میلی متر. ضخامت نمونه‌ها ۲۰ میلی متر بود. نتایج این دستگاه بر اساس بالاترین نقطه بر روی منحنی (پیک منحنی) حاصل خوانده شد که نشان دهنده حداقل نیروی برشی (بر حسب واحد نیوتون) می‌باشد و هر چقدر این عدد بیشتر باشد، نشان دهنده سفتی بیشتر بافت در نان مورد نظر می‌باشد.

کاربرد باکتری و مخمر در تهیه خمیر ترش نان بربی

کردند که باعث ایجاد نان‌های مطلوب در مقایسه با نان‌های تهیه شده با مخمر نانوایی شدند (Robert *et al.*, 2006); بنابراین در این تحقیق ۱ گرم از آغازگر حاوی باکتری‌های لاکتوکوکوس و لوکونستوک استفاده شد که به ازای هر گرم خمیر تهیه شده مقدار باکتری‌های لاکتیک اسید استفاده شده^۷ بود.

مخمرهای ساکارومایسیس سرویزیه و کلیورومایسیس مارکسیانوس در محیط کشت جامد YGC آگار به ترتیب حاوی $1/8 \times 10^9$ g/cfu و $1/4 \times 10^9$ g/cfu می‌باشند. از آن جایی که هدف استفاده از جمعیت‌های یکسان مخمرهای ساکارومایسیس و کلایورومایسیس در نمونه نان‌های B2 و B3 است، بنابراین در نمونه B2، ۲ گرم مخمر ساکارومایسیس و در نمونه B3، ۲/۵۷ گرم از مخمر کلایورومایسیس استفاده گردید.

جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون دان肯 استفاده شد و جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزارهای SAS و Excel استفاده گردید.

یافته‌ها

نتایج آزمون‌های فیزیکوشیمیایی آرد مورد استفاده (شاهد) در جدول ۱، نتایج آزمون فارینوگراف و اکستنسوگراف آرد در جدول ۲ آمده است. همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد آرد مورد استفاده از کیفیت مطلوبی برخوردار می‌باشد.

نتایج حاصل از کشت باکتری‌ها نشان داد که باکتری‌های لاکتوکوکوس و لوکونستوک کشت شده در محیط کشت جامد MRS آگار، حاوی $7/5 \times 10^{10}$ g/cfu است. در این راستا Robert.H و همکاران وی در سال ۲۰۰۶ از جمعیت آغازگر لاکتیک اسید باکتری‌های^۷ به ازای هر گرم خمیر استفاده

جدول ۱- نتایج آزمون‌های فیزیکوشیمیایی آرد

رطوبت بر مبنای ماده خشک (N × ۶/۲۵)	خاکستر (%) بر مبنای ماده خشک (%)	پروتئین (%) بر مبنای ماده خشک (%)	کلوتون مرطوب (%)	کلوتون خشک (%)	ایندکس گلوتون (میلی لیتر) (ثانیه)	عدد زلنج (%)	عدد فالینگ (%)
۱۳/۲۰	۰/۷۳	۱۱/۰۲	۰/۸۷	۷۷/۸۷	۱۹/۵	۴۹۰	

جدول ۲- نتایج آزمون فارینوگراف و اکستنسوگراف آرد (شاهد)

نتایج آزمون فارینوگراف (شاهد)	
ذب آب آرد	%۵۹/۵
زمان گسترش خمیر	۳/۴ دقیقه
زمان مقاومت خمیر	۳/۸ دقیقه
درجه سست شدن بعد از ۱۰ دقیقه	Fu ۷۳
درجه سست شدن بعد از ۲۰ دقیقه	Fu ۱۰۲/۵
عدد والوریمتری	۵۵/۵

نتایج آزمون اکستنسوگراف (شاهد)	
خمیر مقاومت به کشش BU	بعد از ۴۵ دقیقه
قابلیت کشش mm	۱۳۴
مقاومت ماکریم به کشش BU	۱۳۵
نیروی نسبی کشش cm ²	۱۳۴
انرژی	۱
	۲۸

Rehman و همکاران در سال ۲۰۰۷ هم‌سویی دارد Robert *et al.*, 2006 ; Ur-Rehman *et al.*,) (2007).

تمامی نمونه‌ها به جز نمونه B3 و B4، دارای خصوصیات سطح زیرین بهتری می‌باشند و بنابراین می‌توان چنین استباط کرد که نمونه B3 و B4 در دمای پخت ۲۵۰ درجه سانتی گراد جهت تولید نان بربری باعث تولید نان‌هایی می‌شود که سوختگی سطحی در قسمت سطح زیرین نان ایجاد می‌کند و در نتیجه توسط گروه داوران میانگین نمره کم‌تری دریافت کرده است؛ بنابراین باقیتی به منظور جلوگیری از سوختگی و جلوگیری از ایجاد ظاهری نامناسب در پخت این دو نوع نان از درجه حرارت کم‌تری برای ایجاد نان با خصوصیات ظاهری مناسب استفاده کرد. همچنین نمونه‌های B1 و B2، از نظر قابلیت جویدن و خصوصیات سختی و نرمی بافت و پوکی و تخلخل امتیاز بیشتری در مقایسه با نمونه‌های B3 و B4 کسب کرده‌اند.

همان‌طور که ذکر گردید، نمونه B2 و سپس نمونه B1 امتیاز بیشتری را از لحاظ تخلخل در میان گروه داوران کسب کرده است. با توجه به این که در نمونه‌های B1 و B2 از مخمر ساکارومایسنس

نتایج منعکس شده در جدول ۳ نشان می‌دهد نمونه B1 در مقایسه با دیگر نمونه‌ها pH pB بیشتر دارد. در حالی که نمونه‌های B3، B4 و B2 به ترتیب pH کم‌تر دارند و تمامی نمونه‌ها زمان ماندگاری مشابه داشته و پس از ۵-۶ روز فساد کمکی در آن‌ها مشاهده شد.

یافته‌های مربوط به ارزیابی حسی که توسط داوران انجام گرفته در جدول ۴ آمده است. نتایج آزمون بافت سنجی در جدول ۵ و نمودار ۱ و همین طور ضریب همبستگی بین ارزیابی حسی و آزمون بافت سنجی در جدول ۶ نشان داده شده است.

بحث

با توجه به جدول ۴ نتایج حاصل از ارزیابی حسی نشان داد که به غیر از نمونه B3، بین تمامی نمونه‌ها از نظر فرم و شکل و خصوصیات پوسته و سطح رویی، اختلاف معنی داری در سطح ۰/۰۵ ک وجود ندارد. که این نتایج از نظر فرم و شکل مطابق با نتایجی است که توسط Robert و همکاران در سال ۲۰۰۶ انجام شده است. نتایج حاصل از خصوصیات پوسته و سطح رویی با نتایج Ur-

جدول ۳- نتایج حاصل از اندازه‌گیری pH خمیر توشن

نمونه	B1	B2	B3	B4	مقدار F
pH (۰ ساعت)	۶/۸۴ ^a	۶/۸۶ ^a	۶/۸۹ ^a	۶/۹۲ ^a	۰/۶۴۲
pH (۲۴ ساعت)	۵/۹۳ ^d	۵/۹۳ ^c	۴/۸۲ ^a	۴/۹۹ ^b	۲۱۴/۳۰۵
فساد کمکی مشاهده شده (روز)	۵-۴	۵-۴	۵-۴	۵-۴	۵-۴

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیر مشترک در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی داری دارند.

جدول ۴- نتایج آزمون ارزیابی حسی (بر حسب میانگین امتیاز داده شده از طرف هیأت داوران)

خصوصیت/نمونه	B1	B2	B3	B4	مقدار F
فرم و شکل	۷/۷۵ ^a	۸/۶۲۵ ^a	۵/۷۵ ^b	۷/۱۲۵ ^a	۷/۸۵۲
خصوصیات سطح زیرین	۴/۳۱۲ ^a	۳/۷۵ ^{ab}	۲/۳۱۲ ^c	۲/۶۸۷ ^{bc}	۵/۹۲۹
خصوصیات سطح رویی	۶/۸۷۵ ^a	۷/۳۷۵ ^a	۴/۱۲۵ ^b	۵/۶۲۵ ^{ab}	۵/۳۸۷
پوکی و تخلخل	۱۱/۰۵۳ ^a	۱۱/۶۲۵ ^a	۶/۰ ^b	۷/۰ ^b	۸/۳۱۲
قابلیت جویدن	۹/۷۵ ^{ab}	۱۲/۰ ^a	۷/۶۸۸ ^{bc}	۶/۹۳۸ ^c	۶/۰۷۱
سختی و نرمی بافت	۱۲/۷۵ ^{ab}	۱۵/۵ ^a	۱۰/۵ ^{bc}	۸/۵ ^c	۶/۶۴۱
بو، طعم و مزه نان	۱۵/۹۳۸ ^a	۱۶/۸۷۵ ^a	۱۲/۸۱۳ ^a	۱۳/۴۳۸ ^a	۱/۹۴۲۱

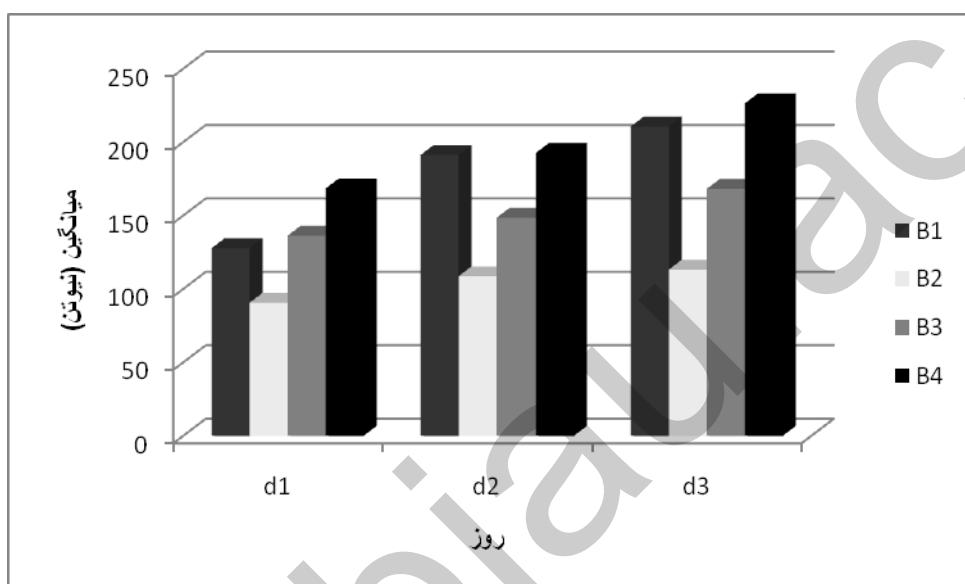
در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیر مشترک در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی داری دارند.

کاربرد باکتری و مخمر در تهیه خمیر ترش نان بربری

جدول ۵- نتایج آزمون بافت سننجی

نمونه / زمان نگهداری (روز)	میزان نیروی برشی (نیوتن)	مقدار F	B4	B3	B2	B1
روز اول	۱۶۸/۴۵ ^c	۱۵/۴۲۷	۱۳۶/۳۵ ^b	۹۰/۶۹ ^a	۱۲۷/۸۵ ^b	
روز دوم	۱۹۲/۶۵ ^c	۱۲۷/۲۸۸	۱۴۸/۵۵ ^b	۱۰۸/۷۰ ^a	۱۹۱/۳۰ ^c	
روز سوم	۲۲۶/۳۵ ^c	۲۹/۹۱۱	۱۶۸/۲۰ ^b	۱۱۳/۲۰ ^a	۲۱۰/۷۰ ^c	

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیر مشترک در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری دارند.



نمودار ۱- نتایج آزمون بافت سننجی

ممکن است ظرفیت گلوتون را به منظور افزایش نگهداری CO_2 بیشتر کند (Katina *et al.*, 2006). با توجه به جدول ۳ pH خمیر ترش نمونه B2 بعد از ۲۴ ساعت ۵/۶۳ می‌باشد که در مقایسه با نمونه B1 که بعد از ۲۴ ساعت دارای ۵/۹۳ pH می‌باشد، کم‌تر بوده و در نتیجه محیط مناسب‌تری به منظور تولید گاز دی اکسید کربن توسط مخمر ساکارومایسیس سرویزیه می‌باشد و نان تهیه شده خصوصیات پوکی و تخلخل بیشتری دارد که این نتایج مطابق با نتایجی است که توسط Robert و همکاران در سال ۲۰۰۶ و توسط Ur-Rehman و Robert *et al.*, (2007) انجام شد (Robert *et al.*, 2006 ; Ur-Rehman *et al.*, 2007).

تمامی نمونه‌ها از نظر بو و طعم در یک گروه قرار گرفته و در سطح آماری ۰/۰۱ هیچ گونه اختلاف معنی‌داری میان آن‌ها وجود ندارد. این یافته با نتایجی که توسط Robert و همکاران در سال

استفاده شده است، در حالی که در تهیه B4 و B3 از مخمر ساکارومایسیس سرویزیه استفاده نشده است، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مخمر ساکارومایسیس سرویزیه نقش مهمی در پوکی و تخلخل نان به دلیل تولید گاز CO_2 دارد (رجب‌زاده، ۱۳۶۸). ولی با توجه به اینکه در نمونه B2 از باکتری‌های لاکتوکوکوس لاکتیس که جز باکتری‌های هموفرمتاتیو هستند و همچنین جنس لوکونستوک‌ها که جز باکتری‌های هتروفرمتاتیو هستند استفاده شده است و علاوه بر تولید اسید لاکتیک، مقدار زیادی نیز اسید استیک، الكل اتیلیک و دی اکسید کربن تولید می‌کنند، در نتیجه تولید اسید لاکتیک و اسید استیک، باعث ایجاد شرایط اسیدی در خمیر ترش و خمیر کل شده و در موقعی که درجه اسیدیتۀ در سطح پایینی قرار دارد، قدرت پوک کردن مخمر ساکارومایسیس سرویزیه زیاد می‌شود (رجب‌زاده، ۱۳۶۸). از طرفی اسیدیتۀ مناسب

جدول ۶- نتایج ضریب همبستگی در ویژگی‌های مربوط به ارزیابی حسی و آزمون بافت سنجی

ns غیر معنی دار
* معنی داری در سطح ۵٪
** معنی داری در سطح ۱٪

سال ۲۰۰۸ انجام شد مطابقت دارد .(Corsetti *et al.*, 2008)

نتایج حاصل از آزمون بافت سنجه نشان داد که نمونه های B2 و B3 به ترتیب در مقایسه با نمونه های شاهد نرم ترین نان ها بوده و بنابراین استفاده از مخمر ساکارومایسنس سرویزیه و باکتری های لاکتوکوکوس لاکتیس و لوکونستوک مزنتروئیدس (B2) و مخمر کلوبیورومایسنس مارکسیانوس و باکتری های لاکتوکوکوس لاکتیس و لوکونستوک مزنتروئیدس (B3) به عنوان جایگزین مخمر نانوایی توصیه می شود. اگرچه B2 و B3 جزو نرم ترین نان ها بوده ولی نمونه B3 فرم مناسب و خصوصیات سطح زیرین و رویی مناسبی نداشته است؛ بنابراین نمونه B3 موقعي توصیه می شود که در پخت آن از درجه حرارت کمتر از ۲۵° درجه سانتی گراد با مدت زمان بیشتر انجام گیرد.

در کل می توان گفت، نمونه B4 سفت ترین نمونه در هر یک از روزهای مورد بررسی، می باشد. البته سفتی نان B4 شاید به دلیل کم بودن تعداد باکتری های لاکتوکوکوس لاکتیس و لوکونستوک مزنتر وئیدس، باشد.

با توجه به نمودار ۱ روند بیاتی در نمونه B4 در مقایسه با دیگر نمونه ها در ۳ روز ثابت بوده و در

۲۰۰۶ انجام شده، مغایرت دارد. زیرا آن ها نشان دادند که نان های تهیه شده با استفاده از باکتری لوكونستوک مزنتروپیدس و مخمر نانوایی دارای امتیاز بیشتری از نظر طعم و مزه در مقایسه با نان های تهیه شده با مخمر نانوایی دارد.
(Robert *et al.*, 2006)

با توجه به جدول ۵ نمونه B2 در مقایسه با دیگر نمونه‌ها در آزمون بافت سنجی، کمترین پیک را در روز اول، دوم و سوم دارد و در نتیجه تازگی خود را در این ۳ روز بیشتر حفظ کرده و جزو نرم ترین نان تهیه شده می‌باشد. این پدیده، به دلیل اسیدهای آلی (لاکتیک اسید و استیک اسید) تولیدی توسط باکتری‌های لاکتیک اسید به کاربرده شده در نمونه نان B2 می‌باشد. کاهش در pH همراه با تولید اسیدهای آلی، باعث افزایش در فعالیت آمیلازهای آرد می‌شود و رتروگراداسیون نشاسته را کاهش می‌دهد (رجبزاده، Devuyst & Neyse, ۱۳۶۸؛ ۲۰۰۵). زیرا در اثر فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، طول زنجیره نشاسته کوتاه‌تر شده و بدین ترتیب از تمایل آن برای تجمع و در نهایت رتروگراداسیون کاسته می‌شود و در نتیجه سفتی نان و فرآیند بیاتی را به تأخیر می‌اندازد (Deman, 1999). این نتایج با تحقیقی که توسط Corsetti و همکاران در

کاربرد باکتری و مخمر در تهیه خمیر ترش نان بربی

- کپک و با مخمر-شمارش کلنی در پلیت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، شماره ۱۰۱۵۴، چاپ اول.
- مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۸۲).
- غلات و فرآورده‌های آن-نان بربی-آئین کار تولید، شماره ۱۰۳، چاپ اول.
- مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۸۷).
- میکروبیولوژی مواد غذایی و خوارک دام-روش جامع برای شمارش کپک‌ها و مخمرها-قسمت اول-روش شمارش کلنی در فرآورده‌های با فعالیت آبی بیشتر از ۹۵٪، شماره ۱۰۸۹۹.

AACC (The American Association of Cereal Chemists). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. (1995).

Corsetti, A., Gobbetti, M., Balestrier, F., Paoletti, F., Russi, L. & Rossi, J. (2008). Sourdough Lactic Acid Bacteria Effects on Bread Firmness and Staliness. *Journal of Food Science*, 63, 2, 347-351.

De Vuyst, L. & Neyse, P. (2005). The sourdough microflora:biodiversity and metabolic interactions. *Trends in Food Science & Technology*, 16, 43-56.

Deman, J. M. (1999). Principles of Food Chemistry. Maryland: An Aspen Publication, pp. 278-279.

Dimitra, D., Panagiotis, K., Yiannis, K., Athanasios, K. A. & Maria, K. (2008). Evaluation of thermally-dried Kluyveromyces marxianus as baker's yeast. *Food Chemistry*, 28, 1, 37-41.

Garcia, M., Martinez, S., Franco, I. & Carballo, J. (2006). Microbiological and chemical changes during the manufacture of Kefir made from cows' milk, using a commercial starter culture. *International Dairy Journal*, 16, 762-767.

Gocmen, D., Sahin, I. & Ercan, R. (1997). The effect of the use of hob additives and lactic acid bacteria starter in the preparation of dough on the properties of the resulting dough and bread, Z Lebensm Unters Forsch A, 205, 135-139.

Gray, J. A. & Bemiller, J. N. (2003). Bread Staling: Molecular Basis and Control. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2, 1-21.

Indrani, D., Prabhasankar, P., Rajiv, G., & Rao, V. (2007). Influence of whey protein concentrate on the rheological characteristics of dough, microstructure and quality of unleavened flat bread (parotta). *Food Research International*, 40, 1254-1260.

Katina, K., Salmenkallio, M., Partanen, R., Forssell, P. & Autio, K. (2006). Effect of sourdough and enzymes on staling of high-fibre wheat bread. *LWT*, 39, 479-491.

Plessas, S., Fisher, A., Koureta, K., Psarianos, C., Nigam, P. & Koutinas, A. A.

میانگین پیک‌های به دست آمده در نمونه‌های B4 در ۳ روز اختلاف معنی دار مشاهده نشد. یافته‌های این پژوهش با توجه به جدول ۶ نشان داد که بین خصوصیات سطح رویی با فرم و شکل، پوکی و تخلخل و خصوصیات سطح زیرین نان از ارزیابی حسی ضریب همبستگی مثبت و معنی دار وجود دارد. همچنین بین قابلیت جویدن و نرمی نان از ارزیابی حسی، ضریب همبستگی مثبت و معنی دار بوده، در حالی که بین هر کدام از ویژگی‌های ذکر شده در فوق یعنی قابلیت جویدن و نرمی با پیک منحنی حاصل از روز اول توسط دستگاه اینستران ضریب همبستگی منفی و معنی دار می‌باشد. در ضمن بین پیک منحنی حاصل از روز دوم و روز سوم و پیک میانگین کل سه روز با پیک منحنی حاصل از روز دوم و سوم همبستگی مثبت و معنی دار وجود دارد.

نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های مندرج در جدول ۵ به طور کلی می‌توان گفت که در آزمون بافت سنجی نمونه‌های B2 و B3 جزو نرم‌ترین نان تهیه شده بوده و در مدت سه روز، بیانی کمتری در مقایسه با نمونه‌های B1 و B4 داشته است. در ارزیابی حسی توسط گروه داوران (نتایج جدول ۶) نمونه‌های B2 و B1 بهتر از نمونه‌های B3 و B4 تشخیص داده شده‌اند، بنابراین نمونه B2 جایگزین مناسبی برای نمونه B1 می‌باشد که صرفاً از مخمر نانوایی تشکیل گردیده است.

منابع

- بهنام مرادی، م. (۱۳۵۴). نان‌های اصلی ایران. مرکز پژوهش‌های غلات، نشریه شماره ۱.
- رجب‌زاده، ن. (۱۳۶۸). تکنولوژی نان. جلد اول، انتشارات چاپ دانشگاه تهران، صفحات ۱۴۱-۱۴۳ و ۳۶۴-۳۷۶.
- قاضی‌زاده، ر. (۱۳۷۷). روش‌های ارزیابی حسی مواد غذایی. انتشارات انتستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی.
- مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۷۸). شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک مزوپلیل به روش شمارش پرگره در دمای ۳۰ درجه سلسیوس در مواد غذایی. شماره ۴۷۲۱، چاپ اول.
- مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۸۶). شیر و فرآورده‌های آن-شمارش واحدهای تشکیل دهنده کلنی

- (2008). Application of *Kluyveromyces marxianus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* and *L. helveticus* for sourdough bread making. *Food Chemistry*, 106, 985-990.
- Plessas, S., Pherson, L., Bekatorou, A., Nigam, P. & Koutinas, A. A. (2005). Bread making using kefir grains as baker's yeast. *Food chemistry*, 93, 585-589.
- Robert, H., Gabriel, V., Lefebvre, D., Rabier, P., Vayssier, Y. & Fontagne-Faucher, C. (2006). Study of the behavior of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough breadmaking process. *LWT*, 39, 256-265.
- Sadeghi, A., Shahidi, F., Mortazavi, S., A., Koocheki, A. & Mohebbi, M. (2007). Evaluation of Sourdough Effect on Iranian Barbari Bread Staling. *World Applied Sciences Journal*, 2, 5, 490-498.
- Ur-Rehman, A., Nawaz, H., Hussain, S., Mushtaq Ahmad, M., Murtaza, M. A. & Saeed Ahmad, M. (2007). Effect of Sourdough Bacteria on the Quality and Shelf Life of Bread. *Pakistan Journal of Nutrition*, 6, 6, 562-565.

The Application of the *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* Bacteria and the Yeast *Kluyveromyces marxianus* for Barbari Bread Production

M. Fathiazar^{a*}, S. M. Seyedain Ardabili^b

^a M. Sc. of Food Science & Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

^b Assistant Professor of the College of Food Science & Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 8 August 2009

Accepted: 1 December 2009

5

Abstract

Introduction: The object of this study was to employ sourdough containing specific starter cultures and apply it for the production of Barbari bread and compare the quality of the product with the traditional Barbari bread which is produced in Iran.

Materials and Methods: In this work four treatments of sourdough were prepared. In the first treatment as a control group, baker's yeast (B1) was used. A mixture of *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* bacteria and baker's yeast (B2), a mixture of *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* and the yeast *Kluyveromyces marxianus* (B3) and finally a mixture of *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* bacteria (B4) were used as second, third and fourth treatments.

Results: The quality evaluations of the texture of the samples were performed by application of Texture Profile Analyser (TPA) after 1, 2 and 3 days and the sensory evaluations were conducted after 1 day. The sensory evaluations revealed that there were not significant differences between B1, B2, and B4 groups while these groups had significant differences with B3 group in terms of appearance and crust. The B1 and B2 samples showed better porosity, chewiness and texture softness than the B3 and B4 samples. There was no significant difference ($p \leq 0.05$) among the samples in term of odor and taste. The TPA analysis revealed that B2 and B3 samples were softer than B1, while the B4 was harder than the other groups.

Conclusion: The application of the mixture of *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* bacteria and baker's yeast (B2) is suggested to replace the traditional method (B1), on the basis of sensory evaluation and TPA analysis of the results.

Keywords: Baker's yeast, Barbai Bread, *Kluyveromyces Marxianus*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, Staling.

*Corresponding Author: maryam_fathiazar@yahoo.com