

## تأثیر فرآیندهای انجماد و خشک کردن انجمادی بر نرخ زنده ماننی باکتری‌های اسید لاکتیک خمیرترش

نیلوفر خراسانچی<sup>۱</sup>، سیده‌های پیغمبردوست\*<sup>۲</sup>، محمد امین حجازی<sup>۳</sup> و سیدعباس رأفت<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۰/۶/۱

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- پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمالغرب، تبریز

۴- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

مسئول مکاتبه: E mail:peighambardoust@tabrizu.ac.ir

### چکیده

خمیرترش نقش کلیدی در بهبود طعم، بافت، خصوصیات تغذیه‌ای و زمان ماندگاری محصولات نانوبی ایفا می‌کند. مطالعات نشان داده است که میکروارگانیسم‌های موجود در خمیرترش بر خصوصیات محصول نهایی اثرگذار هستند. بنابراین باکتری‌های اسید لاکتیکی که فلور اصلی خمیرترش را تشکیل می‌دهند، به‌طور گزینشی مورد استفاده قرار گرفتند. در این مطالعه از باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس روتری و مخلوط آنها در تهیه خمیرترش خشک شده به روش خشک کردن انجمادی استفاده شد. نتایج حاصل نشان دادند که لاکتوباسیلوس روتری باعث کاهش آهسته pH خمیرترش گردید. نرخ زنده‌ماننی باکتری لاکتوباسیلوس روتری بعد از فرآیند خشک کردن انجمادی در مقایسه با باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم بالاتر بود. لذا این باکتری نسبت به خشک کردن انجمادی مقاوم بوده و گزینه مناسبی در تولید خمیرترش نوع III محسوب می‌شود.

واژه‌های کلیدی: باکتری اسید لاکتیک، زنده ماننی، خمیرترش، خشک کردن انجمادی

## Effect of freezing and freeze-drying process on the survival of sourdough lactic acid bacteria

N Khorasanchi<sup>1</sup>, S H Peighambardoust<sup>2\*</sup>, M A Hejazi<sup>3</sup> and S A Raafat<sup>4</sup>

Received: June 14, 2010 Accepted: August 23, 2011

<sup>1</sup>MSc Graduated Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>2</sup>Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>3</sup>Agricultural Biotechnology Research Institute, Tabriz, Iran

<sup>4</sup>Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

\*Corresponding author: E mail: peighambardoust@tabrizu.ac.ir

### Abstract

Sourdough plays a key role in improving flavour, texture, nutritional and shelf-life of bakery products. Studies have shown that the microorganisms of sourdough influence the properties of final product. Therefore, selected lactic acid bacteria which are the dominant microflora of sourdoughs were used. In this study *L. plantarum*, *L. reuteri* and a mixture of both bacteria were used in the preparation of freeze-dried sourdoughs. Results showed that *L. reuteri* led to a slight decrease in pH of sourdough. Survival rate of *L. reuteri* was higher than that of *L. plantarum*. Thus, *L. reuteri* resisted in freeze drying process and can be regarded as a suitable candidate for production of type-III sourdough.

**Keywords:** Lactic acid bacteria, Sourdough, Freezing, Freeze drying

خمیرترش سنتی (تازه) یا نوع ا، خمیرترش‌هایی هستند که با تکثیر مداوم به منظور حفظ فعالیت میکروفلور و با استفاده از فرآیند چند مرحله‌ای تهیه می‌گردند. این فرآیند معمولاً در دمای پایین‌تر از ۳۰°C صورت می‌گیرد. لاکتوباسیلوس سانفرانسیسینسیس<sup>۲</sup>، میکروارگانیزم غالب در این گونه خمیرترش است. میکروارگانیزم‌های این نوع خمیرها به pH پایین حساس بوده و در صورتی‌که خمیرترش در دمای محیط نگهداری شود و اسیدی شدن ادامه یابد، گونه‌های مقاوم‌تر به اسید غالب خواهند شد (باکر و همکاران ۱۹۹۵). خمیرترش نوع II به دلیل تقاضا برای تولید

### ۱- مقدمه

استفاده از خمیرترش و تولید انبوه نان تخمیر شده به وسیله مصری‌ها در حوالی رود نیل پایه‌گذاری شد. در طول فرآیند تخمیر خمیرترش، میکروارگانیزم‌های موجود در خمیرترش در تولید نانی با کیفیت مطلوب نقش دارند. میکروارگانیزم‌های گروه تخمیر علاوه بر مخمرها، باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB)<sup>۱</sup> هستند که به ترتیب مسئول وراوردن و اسیدی کردن خمیر می‌باشند (باستی ۲۰۰۱). بر اساس تکنولوژی مورد استفاده برای تولید خمیرترش، آن را به ۳ گروه طبقه‌بندی می‌کنند (باکر و همکاران ۱۹۹۵).

<sup>2</sup> Lactobacillus sanfranciscensis

<sup>1</sup> Lactic Acid Bacteria

بیشتر از ۲۰۰ می‌باشد ( دکوک و کاپلز ۲۰۰۵). برای تهیه خمیرترش نوع III، می‌توان از خشک‌کن‌های پاششی<sup>۸</sup>، غلطکی<sup>۹</sup> و انجمادی<sup>۱۰</sup> استفاده کرد. در روش خشک کردن انجمادی، امکان حیات مجدد میکروارگانیسم‌های تلقیحی در خمیر تولید شده از این نوع خمیرترش وجود دارد که میزان تجدید حیات بستگی به دمای تخمیر، غلظت میکروارگانیسم‌های موجود در خمیرترش خشک و قوام خمیر دارد. استفاده از خمیرترش خشک شده با روش انجمادی که دارای قابلیت فعال شدن مجدد در یک دوره زمانی معقول در حین تولید خمیر است، سهولت تهیه خمیر را ممکن می‌کند. آن را می‌توان با دیگر مواد خشک مخلوط کرد و چون در فاز کمون می‌باشد، قادر بوده فعالیت خود را مجدداً از سر گرفته و به عنوان عامل اسیدی کننده خمیر، نقش ایفا کند. این گونه خمیرترش‌ها همچنین می‌توانند یک استاندارد ثابت و با کیفیت بالایی را برای محصول نهایی تعریف کنند که چون قادر به تجدید حیات هستند از آن‌ها می‌توان به عنوان خمیرترش پایه برای تلقیح‌های بعدی استفاده نمود (گاکینو و همکاران ۲۰۰۷). همچنین استفاده از خمیرترش خشک شده که میکروارگانیسم‌های آن در فاز سکون هستند و متابولیت‌های لازم را برای تولید محصولی با کیفیت مناسب ایجاد کرده‌اند، می‌تواند این امکان را به نانو بدهد که بدون صرف زمان، محصولاتی با کیفیت ثابت تولید کند. این نوع خمیرترش‌ها دارای زمان ماندگاری طولانی‌تر بوده و امکان نگهداری در دماهای بالاتر را داشته و هزینه‌های حمل و نقل آن‌ها کمتر است (گول و همکاران ۲۰۰۵). اندازه سلول باکتری بر میزان زنده ماندن باکتری در طی انجماد و خشک کردن به روش انجمادی مؤثر می‌باشد، به طوری که انتروکوکسی‌ها (سلول کروی کوچک) نسبت به انجماد و خشک کردن به روش انجمادی مقاوم‌تر از لاکتوباسیلوس‌ها (میله‌ای)

مداوم خمیرترش قابل پمپ برای استفاده در کارخانجات تهیه نان مرسوم شد (براندت ۲۰۰۷). خمیرترش‌های نوع II می‌توانند در حجم‌های زیادی تولید شده و تا یک هفته نگهداری شوند. خمیرترش نوع II در مقایسه با خمیرترش نوع I، راندمان خمیر بالاتری را نشان می‌دهد بدان معنا که نرم‌تر بوده و دمای تخمیر در این نوع خمیرترش بالاتر است. زمان تخمیر ۲۰-۱۵ ساعته در این نوع خمیرها باعث می‌شود تا تشکیل گاز به وسیله باکتری‌های اسید لاکتیکی شدیداً کاهش یابد، در نتیجه استفاده از مخمر نانوایی جهت بالا آمدن خمیر ضروری است. میکروارگانیسم‌های موجود در خمیرترش نوع II متعلق به گونه‌های لاکتوباسیلوس پنتیس<sup>۱</sup>، لاکتوباسیلوس پنیس<sup>۲</sup>، لاکتوباسیلوس روتری<sup>۳</sup> و لاکتوباسیلوس فرمنتوم<sup>۴</sup> هستند (کوستا و همکاران ۲۰۰۰). تهیه خمیرترش نوع II به زمان کمتری احتیاج دارد و معمولاً در دمای بالاتر از ۳۰°C انجام می‌شود. این نوع خمیرترش‌ها معمولاً به عنوان عامل اسیدی کننده و مولد عطر و طعم استفاده می‌شوند. خمیرترش خشک شده به عنوان خمیرترش نوع III شناخته می‌شود که در آن باکتری‌های آغازگر اسید لاکتیکی با توجه به مقاومتشان به خشک کردن، انتخاب می‌شوند. این نوع خمیرترش به عنوان عامل تشدید کننده طعم ترش به خمیر نان اضافه می‌شود. میکروارگانیسم‌هایی که از این خمیرترش‌ها جدا سازی شده اند به گونه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم<sup>۵</sup>، لاکتوباسیلوس برویس<sup>۶</sup> و پدیوکوکوس پنتوزاسئوس<sup>۷</sup> اختصاص دارند (باکر و همکاران ۱۹۹۵). صنعت تهیه خمیرترش خشک ایجاب می‌کند تا خمیرترش مورد استفاده قابلیت پمپ شدن داشته باشد. لذا بازدهی خمیر برای این منظور معمولاً

<sup>1</sup> L.pontis

<sup>2</sup> Lactobacillus panis

<sup>3</sup> Lactobacillus reuteri

<sup>4</sup> Lactobacillus fermentum

<sup>5</sup> Lactobacillus plantarum

<sup>6</sup> Lactobacillus brevis

<sup>7</sup> Pediococcus pentosaceus

<sup>8</sup> Spray Drying

<sup>9</sup> Drum Drying

<sup>10</sup> Freeze Drying

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- نمونه‌های آرد گندم و خصوصیات شیمیایی

آرد حاصله از مخلوط گندم‌های داخلی با کیفیت نانوائی خوب از شرکت آرد اطهر مراغه خریداری گردید. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آرد مزبور شامل رطوبت، خاکستر، پروتئین، گلوتن مرطوب و خواص فارینوگرافی با استفاده از روش‌های مصوب AACC به ترتیب به شماره های ۱۶-۴۴، ۰۷-۰۸، ۱۰-۴۶، ۱۱-۳۸، ۲۱-۵۴ و عدد فالینگ (فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز) با روش ICC به شماره ۱۰۷ انجام شد.

### ۲-۲- کشت‌های آغازگر

#### ۲-۲-۱- آماده‌سازی سویه‌های باکتریایی

باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم ۱۰۵۸ ATCC<sup>۲</sup> (باکتری هتروفرومنتاتیو اختیاری) و باکتری لاکتوباسیلوس روتری ۱۶۵۵ ATCC (باکتری هتروفرومنتاتیو اجباری) به صورت آمپول لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی ایران (PTCC)<sup>۳</sup> تهیه شد. محیط کشت MRS broth آماده و اتوکلاو شد. آمپول-های لیوفیلیزه در زیر هود بیولوژیک شکسته و باکتری‌ها در شرایط استریل به محیط کشت آماده، تلقیح شده و در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد.

#### ۲-۲-۲- تهیه استوک

کشت‌های باکتریایی ۲۴ ساعته (در محیط کشت broth MRS) در ویال‌های ۱/۵ میلی لیتری حاوی ۲۵ درصد گلیسرول و ۲۵ درصد Skim Milk (غلظت ۲۰ درصد وزنی حجمی) مخلوط و با استفاده از دستگاه ورتکس به خوبی یکنواخت گردید. استوک‌های آماده شده در دمای ۸۰°C- نگهداری شد.

هستند. نسبت بالاتر سطح به حجم موجب تخریب بیشتر غشاء در برابر کریستال‌های یخ تولید شده در طی انجماد می‌گردد (فانسکا و همکاران ۲۰۰۰). مقدار بالاتر جمعیت اولیه سلول باکتریایی نیز موجب افزایش میزان زنده‌مانی در طی فرآیند خشک کردن به روش انجمادی می‌شود. محققان دریافتند که مقدار جمعیت اولیه سلول باکتری بستگی به نوع محیط محافظ آن در برابر سرما<sup>۱</sup> دارد. برای حصول بالاترین میزان زنده‌مانی در طی خشک کردن به روش انجمادی، استفاده از شیر بدون چربی در مقایسه با ساکاروز به عنوان عامل محافظ در برابر سرما، مقدار جمعیت اولیه باکتریایی پایین‌تری را نیاز دارد (موسر و همکاران ۱۹۹۵).

لزوم داشتن دانش فنی برای تولید و فرآورش خمیرترش، نیاز به فضا، امکانات تولید، نیروی کارگری برای جابه‌جایی خمیرترش و عدم یکسان بودن کیفیت خمیرترش از یک منطقه به منطقه دیگر از جمله عوامل محدود کننده استفاده از خمیرترش محسوب می‌شود. لذا در سال‌های اخیر، تهیه خمیرترش به صورت خشک به عنوان یک راه حل جایگزین که معایب و محدودیت‌های فوق را مرتفع نموده و مزایای متعدد استفاده از خمیرترش را به نان ارائه می‌دهد، متداول گشته است. لزوم توجه به کاربرد فرآورده‌های خمیرترش آماده برای مصرف که خمیرترش خشک یکی از آنها می‌باشد، بسیار ضروری است. در استفاده از خمیرترش خشک، توجه به تولید سنتی نان و بکارگیری تخمیر خمیرترش مد نظر بوده اما تلاش می‌گردد که معایب استفاده از خمیرترش که زمان‌بر بودن و هزینه‌های بالای تولید می‌باشد، مرتفع گردد. در تحقیق حاضر، تخمیر خمیرترش با باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس روتری و تلفیقی از این دو انجام و تأثیر فرآیندهای انجماد و خشک کردن انجمادی بر نرخ زنده‌مانی آنها بررسی شد.

<sup>۲</sup> American Type Culture Collection

<sup>۳</sup> Persian Type Culture Collection

<sup>۱</sup> Cryoprotectant

### ۲-۲-۳- 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  $30^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲۴ ساعت انجام شد تا سلول‌ها کاملاً فعال شدند. میزان مایه تلقیح باکتریایی  $10^7\text{CFU}$  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  $8000 \times g$  و به مدت ۱۰ دقیقه 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 خمیر به دست آید.

### ۲-۳- 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 در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  (موسر و همکاران ۱۹۸۷) با دور همزن ۳۰۰ rpm تا رسیدن به  $\text{pH}=4/33$  انجام شد. ۱۰ گرم از نمونه خمیرترش با ۹۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و پس از همگن شدن میزان  $\text{pH}$  به وسیله  $\text{pH}$  متر قرائت شد. اسیدیته قابل تیتراسیون نیز با روش تیتراسیون با هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال تا

رسیدن به  $\text{pH}$  برابر ۸/۵ اندازه‌گیری شد (روبرت و همکاران ۲۰۰۶).

### ۲-۴- تهیه خمیرترش خشک

برای تهیه خمیرترش خشک، ابتدا خمیرترش تازه حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری و مخلوط آن دو در دمای  $80^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد منجمد شده و سپس به دستگاه خشک کن انجمادی (شرکت Operon، جمهوری کره) انتقال داده شده و در فشار ۰/۲ بار خشک گردید.

### ۲-۵- شمارش کل میکروبی

برای بررسی میزان رشد باکتری در هر تیمار خمیرترش بعد از فرآیند تخمیر در فرمنتور، شمارش میکروبی انجام شد. برای این کار ۱۰ گرم خمیرترش با ۹۰ میلی لیتر محلول سرم فیزیولوژی (کلرید سدیم ۸/۵ گرم در لیتر) مخلوط و یکنواخت گردید. از محلول هموژن به دست آمده تا ۱۰ برابر رقیق سازی تهیه شد و برای هر رقت دو کشت به‌صورت کشت سطحی (spread plate) در محیط کشت MRS agar انجام گردید (گول و همکاران ۲۰۰۵). پلیت‌ها در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  به مدت دو روز گرمخانه‌گذاری شد. پس از پایان مدت گرمخانه‌گذاری، پلیت‌های دارای تعداد قابل شمارش از پرگنه و به طور معمول پلیت‌های دارای ۳۰ الی ۳۰۰ پرگنه برای شمارش انتخاب شدند. تعیین CFU در خمیرترش بعد از فرآیند انجماد و خشک کردن نیز انجام گردید.

### ۲-۶- آنالیزهای آماری

آنالیزهای آماری با استفاده از طرح کاملاً تصادفی با رویه مدل‌های خطی تعمیم یافته (GLM)<sup>۱</sup> نرم افزار SAS انجام گردید و مقایسه میانگین‌ها با توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

<sup>1</sup> General Linear Model

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- ترکیب شیمیایی و ویژگی‌های رئولوژیکی آرد مصرفی

ترکیب شیمیایی ویژگی‌های رئولوژیکی و فعالیت آنزیمی آرد مصرفی به قرار زیر است:

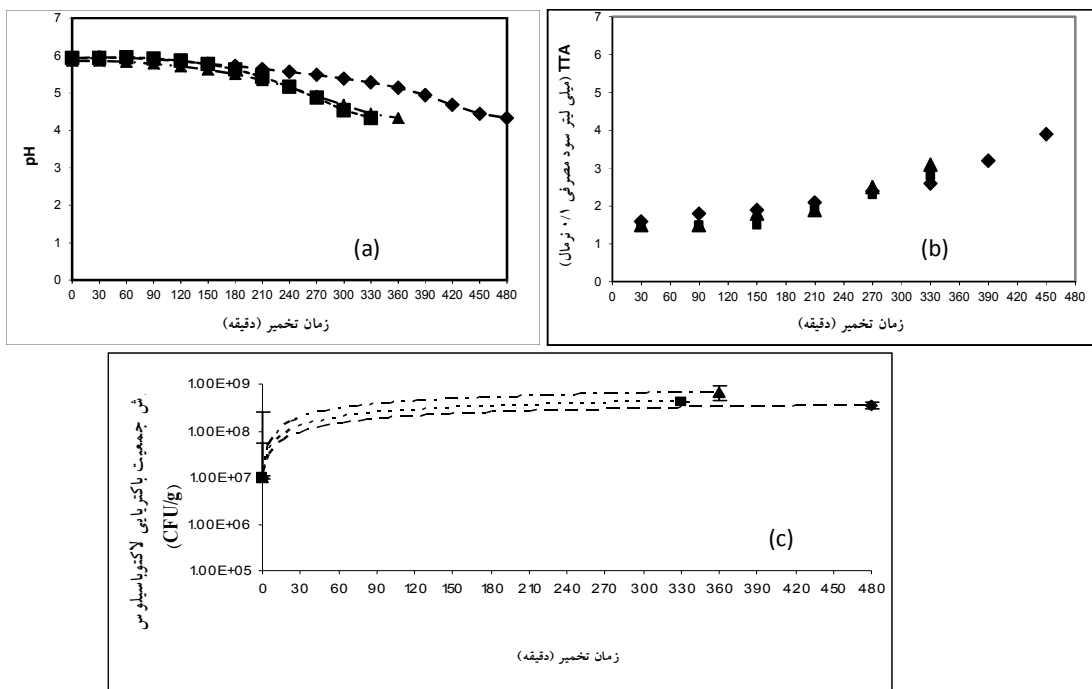
رطوبت ۱۱/۸۸ درصد، خاکستر ۰/۸۸ درصد، گلوتن مرطوب ۲۹/۹۰ درصد، درصد پروتئین ۱۱/۵ درصد، عدد فالینگ ۴۱۱ ثانیه، جذب آب فارینوگراف ۵۵/۵ درصد، زمان گسترش خمیر ۲/۲ دقیقه و زمان پایداری خمیر در فارینوگراف ۶/۴ دقیقه. ارزیابی ترکیب شیمیایی نشان داد که آرد مصرفی از نوع آردهایی است که دارای درصد گلوتن مرطوب و پروتئین نسبتاً

بالایی بوده و رفتار متوسط فارینوگرافی خمیر نشان می‌دهد.

#### ۳-۲- تغییرات میزان pH و اسیدیته قابل تیتراسیون

در طول فرآیند تخمیر خمیرترش

همان‌طور که اشاره شد در این پژوهش از کشت‌های باکتریایی فعال لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس روتری و مخلوط این دو به عنوان آغازگر برای تهیه خمیرترش استفاده گردید. تغییرات pH تا رسیدن به ۴/۳۳، اسیدیته قابل تیتراسیون (TTA) و نیز شمارش جمعیت باکتریایی لاکتوباسیلوس در طول تخمیر در فرمنتور در دمای ۳۷°C در شکل ۱ آمده است.



شکل ۱ تغییرات میزان pH (a)، اسیدیته قابل تیتراسیون (TTA) (b) و شمارش جمعیت باکتریایی لاکتوباسیلوس (c) در طی فرآیند تخمیر خمیرترش در دمای ۳۷°C تا رسیدن به pH=۴/۳۳ با کشت‌های آغازگر لاکتوباسیلوس. لاکتوباسیلوس پلانتاروم (■)؛ لاکتوباسیلوس روتری (◆)؛ مخلوط این دو لاکتوباسیلوس (▲).

در مقایسه با لاکتوباسیلوس روتری شدند. بنابراین زمان تخمیر برای کاهش pH به مقدار معین (pH=۴/۳۳) در مورد لاکتوباسیلوس روتری افزایش یافت. البته

همان‌طور که در شکل ۱a مشاهده می‌شود، باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم و نیز مخلوط لاکتوباسیلوس پلانتاروم و روتری باعث کاهش سریع‌تر pH خمیرترش

لاکتوباسیلوس پلانناروم، لاکتوباسیلوس روتری و مخلوط این دو لاکتوباسیلوس رسید. با وجود زمان طولانی‌تر تخمیر در تیمار تهیه شده با آغازگر لاکتوباسیلوس روتری، نرخ رشد باکتری لاکتوباسیلوس روتری در خمیرترش، نسبت به دو مورد دیگر پایین‌تر است.

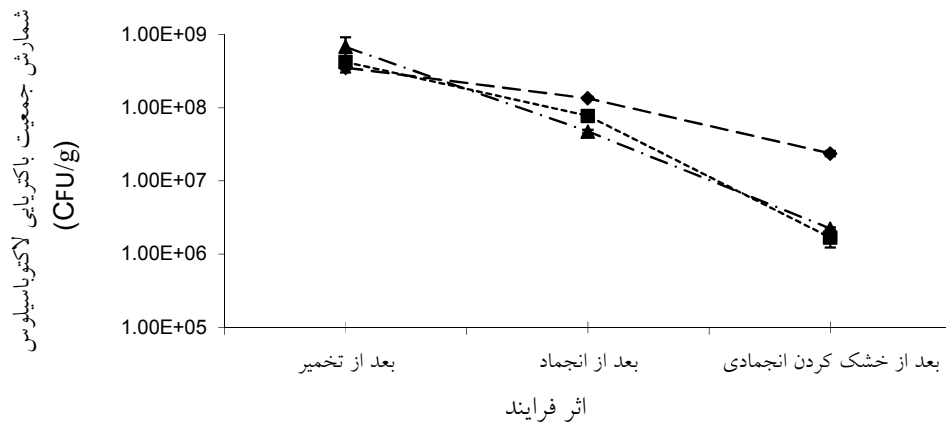
### ۳-۳- اثر فرآیندهای انجماد و خشک کردن انجمادی

بر تعداد کل لاکتوباسیلوس‌ها در خمیرترش تأثیر فرآیندهای انجماد و خشک کردن انجمادی بر روی تعداد کل لاکتوباسیلوس‌ها در خمیرترش مورد بررسی قرار گرفت.

آنالیز آماری نشان داد نوع فرآیند دارای اثر معنی‌دار در سطح احتمال  $p < 0.001$  است. بدین معنا که میزان جمعیت باکتریایی بعد از فرآیند تخمیر نسبت به بعد از فرآیند انجماد و همچنین خشک کردن انجمادی دارای تفاوت معنی‌داری بود. همان‌طور که در شکل ۲ ملاحظه می‌شود، شیب منحنی‌های شمارش سه نوع آغازگر با اعمال فرآیندهای انجماد و خشک کردن به روش انجمادی، روندهای مشابهی ندارد. جمعیت باکتریایی در انتهای فرآیند خشک کردن انجمادی به مقدار تقریباً  $1.6 \times 10^6$ ،  $1.7 \times 10^7$  و  $2.23 \times 10^6$  CFU/g به ترتیب در خمیرترش حاوی لاکتوباسیلوس پلانناروم، لاکتوباسیلوس روتری و مخلوط این دو لاکتوباسیلوس رسید که میزان جمعیت باکتریایی لاکتوباسیلوس روتری در انتهای فرآیند خشک کردن خمیرترش به روش انجمادی نسبت به دو تیمار دیگر بالاتر بود.

نتایج حاصله را نمی‌توان به میزان جمعیت اولیه باکتریایی نسبت داد، زیرا که در تمام موارد میزان تلقیح با یکدیگر برابر و تقریباً  $10^7$  CFU/g بود. مطالعات رابرت و همکاران نشان داد که باکتری لوکونستوک (هتروفرمنتاتیو اجباری) نسبت به لاکتوباسیلوس پلانناروم (هتروفرمنتاتیو اختیاری) موجب کاهش سریع‌تر pH خمیرترش شد در حالی که بعد از ۲۰ ساعت تخمیر، میزان pH نهایی در خمیرترش تهیه شده با نژاد هتروفرمنتاتیو اجباری بالاتر بود. می‌توان چنین عنوان کرد خصوصیات اسیدی کردن در طی تخمیر خمیرترش، بستگی به گونه و نژاد باکتری اسید لاکتیکی دارد. در این مطالعه می‌توان چنین عنوان کرد از آنجا که در یک pH ثابت میزان  $pK_a$  اسید لاکتیک (۳/۸) نسبت به اسید استیک (۴/۸) 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. همچنین همان‌طور که در شکل b۱ مشاهده می‌شود در طی تخمیر با کاهش pH، میزان اسیدیته قابل تیتراسیون در کلیه تیمارها افزایش یافت. بنابراین با توجه به یکسان بودن نوع آرد، بین میزان pH و اسیدیته قابل تیتراسیون هماهنگی وجود دارد.

در پایان فرآیند تخمیر، تعداد کل باکتری‌های لاکتوباسیلوس مورد شمارش قرار گرفت که نتایج مربوطه در شکل c۱ نشان داده شده است. تعداد اولیه باکتری‌های اسید لاکتیک CFU/g  $10^7$  بود که در انتهای فرآیند تخمیر به مقدار تقریباً  $4.22 \times 10^8$ ،  $3.51 \times 10^8$  و  $6.79 \times 10^8$  CFU/g به ترتیب در خمیرترش حاوی



شکل ۲ شمارش جمعیت باکتریایی در انتهای فرآیند تخمیر، انجماد و خشک کردن انجمادی. لاکتوباسیلوس پلانتاروم (■)؛ لاکتوباسیلوس روتری (◆)؛ مخلوط این دو لاکتوباسیلوس (▲).

سوربیتول از جمله قندهایی هستند که در طی تخمیر تولید شده و در طی فرآیند خشک کردن انجمادی بر باکتری‌های اسید لاکتیک اثر محافظتی دارند.

#### نتیجه‌گیری

از آنجا که کیفیت خمیرترش از یک منطقه به منطقه دیگر متفاوت بوده و همین امر از جمله عوامل محدود کننده استفاده از خمیرترش محسوب می‌شود، در این مطالعه تهیه خمیرترش با آغازگرهای لاکتوباسیلوس روتری و پلانتاروم و مخلوط آن‌ها انجام شد. همان‌طور که ذکر شد استفاده از خمیرترش خشک حاوی آغازگرهای مورد نظر باعث تولید محصولات نانویی با کیفیت مناسب و ثابت می‌گردد. در این مطالعه ملاحظه شد که باکتری لاکتوباسیلوس روتری نسبت به فرآیند خشک کردن انجمادی مقاوم است و می‌تواند گزینه مناسبی در تهیه خمیرترش نوع III (خمیرترش خشک) محسوب شود.

این امر بدان معنا است که عکس‌العمل نوع آغازگر به فرآیندهای مختلف متفاوت است. بعد از فرآیندهای انجماد و خشک کردن انجمادی منحنی کاهش جمعیت باکتری در تیمار دارای آغازگر لاکتوباسیلوس روتری، کمترین شیب را نشان داد که این امر مبین مقاومت بیشتر این باکتری است. در همین راستا، تیمار حاوی آغازگر لاکتوباسیلوس پلانتاروم و مخلوط این دو آغازگر به ترتیب از لحاظ تغییرات شیب در رده‌های بعدی قرار گرفتند.

مطالعات شینوهارا و همکاران (۲۰۰۸) نشان داد که نرخ زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس روتری بعد از فرآیند خشک کردن به روش انجمادی در مقایسه با باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم بالاتر است. این محققین عنوان کردند که لاکتوباسیلوس پلانتاروم به دلیل تخمیر سوربیتول و تراهالوز نرخ زنده‌مانی کمتری دارد. به‌طور کلی قندهایی که به‌وسیله میکروارگانیسم مصرف می‌شوند نسبت به قندهایی که مصرف نمی‌شوند، دارای خاصیت محافظت‌کنندگی کمتری هستند. مانیتول و



## منابع مورد استفاده

- Bastetti G, 2001. Breads produced in Italy. Part I: Sours, preferments and starters. American Institute of Baking, Technical Bulletin 23: 1-5.
- Bocker G, Stolz P, Hammes WP, 1995. Neue Erkenntnisse zum Okosystem Sauerteig und zur Physiologie des sauerteigtypischen Stamme *Lactobacillus sanfrancisco* und *Lactobacillus pontis*. Getreide Mehl und Brot 49: 370-374.
- Brandt, MJ, 2007. Sourdough products for convenient use in baking. Food Microbiology 24:161-164.
- Costa E, Usall J, Teixido N, Garcia N, Vinas I, 2000. Effect of protective agents, rehydration media and initial cell concentration on viability of *Pantoea agglomerans* strain CPA-2 subjected to freeze drying. Journal of Applied Microbiology. 89:793-800.
- Decock P, Cappelle S, 2005. Bread technology and sourdough technology. Trends in Food Science and Technology 16:113-120.
- Gaggiano M, Di Cagno R, De Angelis M, Arnault P, Tossut P, Fox PF, Gobbetti M, 2007. Defined multi-species semi-liquid ready-to-use sourdough starter. Food Microbiology 24:15-24.
- Gül H, Özcelik S, Sagdic O and Certel M, 2005. Sourdough bread production with lactobacilli and *S.cerevisiae* isolated from sourdoughs. Process Biochemistry 40: 691-697.
- Fonseca F, Beal C and Corrieu G, 2000. Method for quantifying the loss of acidification activity of lactic acid starters during freezing and frozen storage. Journal of Dairy Research 67:83-90.
- Meuser F, Barber B and Fischer G, 1995. Determination of the microbial activity of dried sourdoughs by revitalization of their lactic acid bacteria and yeasts. Food Control 6:147-154.
- Meuser F, Faber C and Mar A, 1987. Continuous sourdough fermentation with a two-stage pilot fermenter. Cereals in a European Context, Ed. I.D. Norton, New York: VCH. pp. 150-165.
- Robert H, Gabriel V, Lefebvre D, Rabier P, Vayssier Y and 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.
- Shinohara MY, Sukenobe J, Imaizumi T, Nakahara T, 2008. Survival of freeze-dried bacteria. Journal of General and Applied Microbiology 54:9-24.
- Toyosaki T, 2007. Effects of hydroperoxide in lipid peroxidation on dough fermentation. Food Chemistry, 104:680-685.