مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال پانزدهم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۹، صفحات ۶۸-۵۹

بهینه سازی تولید گامانونالاکتون توسط *لاکتوباسیلوس سانفرانسینسیس* در خمیرترش با روش ریز استخراج فاز جامد در فضای فوقانی

الهام فرهمند[۱]، سیدهادی رضوی[۲]، سید سعید محتسبی[۳]

۱-دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، ایران

۲- نویسنده مسئول: استاد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، ایران پست الکترونیکی: srazavi@ut.ac.ir

۳-استاد گروه مکانیک ماشین های کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۰/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۹/۲/۴

چکیده

سابقه و هدف: استفاده از خمیرترش یک روش مناسب برای تولید عطر و طعم طبیعی در نان است. گامانونالاکتون یکی از ترکیبات فرار مولد عطر میوه‌ای است. هدف مطالعه حاضر بررسی توانایی *لاکتوباسیلوس سانفراسینسیس* برای تولید گامانونالاکتون در خمیرترش و همچنین بررسی شرایط بهینه برای تولید آن است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه برای تهیه خمیرترش از مخلوط آردهای چاودار و جو به همراه سبوس گندم و سوربیتول استفاده شد. تخمیر توسط *لاکتوباسیلوس سانفرانسینسیس* ATCC ۴۳۳۲ انجام شد. آزمایش‌ها با روش سطح پاسخ با ۵ فاکتور طراحی شدند که شامل: زمان، دما، راندمان خمیر، درصد سوربیتول و درصد سبوس بود. استخراج ترکیبات فرار خمیرترش با روش ریز استخراج فاز جامد از فضای فوقانی انجام شد وترکیبات فرار استخراج شده توسط کروماتوگرافی گازی آنالیز شد.

یافته‌ها: تأثیر هریک از عوامل بر میزان تولید گامانونالاکتون با روش طراحی مرکب مرکزی مدل سازی شد. نتایج نشان داد که خمیر ترش با افزودن ۲۰ ٪ سبوس گندم و ۶٪ قند سوربیتول، با راندمان خمیر ۴۰۰ که به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ °C تخمیر شود، بهترین شرایط برای تولید گامانونالاکتون است (۲۶/۳ppm).

نتیجه گیری: در این مطالعه توانایی *لاکتوباسیلوس سانفراسینسیس* برای تولید ترکیبات فرار مطلوب مثل گامانونالاکتون با عطر میوه ای در خمیرترش اثبات شد. دستاورد این مطالعه می تواند منجر به تولید نان حاوی خمیرترش با عطر مطلوب گردد که موجب تشویق مصرف کنندگان برای مصرف نان سالم حاوی خمیر ترش و عاری از افزودنی شیمیایی می‌گردد.

واژگان کلیدی: خمیرترش، عطر و طعم، کروماتوگرافی گازی، ریز استخراج فاز جامد فضای فوقانی، گامانونالاکتون

• مقدمه

خمیرترش مخلوطی از آرد و آب است که با استفاده از مخمر و/یا باکتری‌های لاکتیک اسید تخمیرمی‌شود . البته علاوه بر آرد و آب، برخی عناصر اضافی مانند قند یا آنزیم برای تقویت تخمیر می‌توانند اضافه شوند (۱).

استفاده از لاکتیک اسید باکتری‌ها در محصولات غلات و فرپزی تاریخچه طولانی دارد. نان حاوی خمیرترش دارای عطر و طعم منحصر به فرد، ارزش غذایی بالا و ماندگاری طولانی و خصوصیات مطلوب تکنولوژیکی است (۲). استفاده از خمیرترش در نان، اثرات مفیدی برعطر و طعم، بافت، ماندگاری میکروبی و تاخیر در بیاتی دارد. بهبود عطر و طعم در اثر فعالیت میکروبی در طی تخمیر ایجاد می‌شود و تنها ناشی از اسیدی‌شدن شیمیایی نیست (۳). یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های مؤثر بر مطلوبیت و قابلیت پذیرش محصول برای مصرف کننده، عطر و طعم آن است. با استفاده از خمیرترش بهبود عطر و طعم بدون استفاده از مواد شیمیایی یا گران قیمتِ طبیعی امکان‌پذیر است.

توانایی میکروارگانیسم‌ها در رها سازی ترکیبات معطر برای اولین بار در سال ۱۹۲۳ کشف شد (۴) . میزان و نوع ترکیبات فرار بستگی به سویه تخمیر کننده و شرایط تخمیر دارد.کمیت و کیفیت ترکیبات فرار تولید شده به بسیاری از

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

عوامل فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی بستگی دارد مثل:دمای تخمیر، زمان، pH، هوادهی، طبیعت منابع کربن و نیتروژن، دسترس پذیری و غلظت مواد مغذی (۷-۵).

لاکتوباسیلوس سانفرانسینسیس یکی از مهم‌ترین باکتری‌های جدا سازی شده از خمیرترش‌های چاودار و گندم است. این باکتری به دلیل توانایی اسیدی‌کردن و رهاسازی پیش‌سازهای ترکیبات فرار، می‌تواند تأثیر بسیار مهمی بر خصوصیات بافتی و عطر و طعم خمیر داشته باشد (۹، ۸). به علاوه؛ سیستم تجزیه پروتئین (۱۰) ، کاتابولیسم اسیدهای آمینه خاص (۱۲، ۱۱) فعالیت آنزیم‌های بتاگلوکوزیداز و مانیتول‌دهیدروژناز (۱۳، ۱۲) و همچنین تولید اگزوپلی‌ساکاریدها (۱۴) در برخی سویه‌های *لاکتوباسیلوس سانفرانسینسیس* مطالعه شده است.

در این‌مطالعه به بررسی ترکیبات فرار تولید شده توسط *لاکتوباسیلوس سانفرانسینسیس* درجریان تخمیر می‌پردازیم. یکی از ترکیبات مطلوب تولید شده توسط این‌سویه، گامانونالاکتون است . گاما نونالاکتون، یک لاکتون با بوی شبیه نارگیل یا هلو است.لاکتون‌ها می‌توانند از طریق هیدروکسیلاسیون و بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب آزاد (مثل اولئیک اسید و لینولئیک اسید)در طی تخمیر تشکیل شوند (۱۶، ۱۵). لاکتیک اسید باکتری‌ها می توانند این اسیدهای چرب آزاد را تولید کنند که به عنوان پیش ساز برای بسیاری از ترکیبات معطر و لاکتون‌ها مورد استفاده قرار می گیرد. ترکیبات فرار از طریق اتواکسیداسیون لینولئیک اسید تولید می‌شوند. این فرایند منجر به تولید هگزانال می‌شود. در مراحل بعدی آلدهید دهیدروژناز و الکل دهیدروژناز به ترتیب در تشکیل هگزانوئیک اسید و هگزانول شرکت می‌کنند (۱۷).

یکی از بهترین روش‌ها برای استخراج ترکیبات فرار استفاده از روش‌های بدون حلال مانند روش ریز استخراج از فضای فوقانی (Head space) است. این روش زمان کمتری نسبت به سایر روش ها می‌گیرد و فرایند آسانی است، همچنین مشکل تشکیل محصولات مصنوعی نیز حداقل است زیرا از دماهای بالا و حلال‌های آلی استفاده نمی‌شود. به علاوه، از تلفات در طول استخراج، جداسازی و تغلیظ ترکیبات معطر اجتناب می‌شود. با این‌وجود، روش فضای فوقانی نیز مشکلاتی دارد زیرا ترکیبات استخراج شده فقط شامل ترکیبات فراوان و بسیار فرار هستند. ریز استخراج فاز جامد از فضای فوقانی (HS-SPME Head Space -Solid Phase Micro Extraction) امروزه بهترین انتخاب برای تجزیه و تحلیل ترکیبات معطر نان است (۱۹، ۱۸، ۱).

مطالعه حاضر با هدف تولید یک خمیر ترش با عطر مطلوب انجام گرفته است. بدین منظور *لاکتوباسیلوس سانفرانسینسیس* به عنوان یکی از رایج ترین سویه های تخمیر کننده در تولید خمیر ترش انتخاب شد. در قدم اول توانایی تولید گامانونالاکتون توسط این سویه اثبات می شود و برای نخستین بار تولید خمیر ترش با عطر مطلوب بهینه سازی می گردد.

دستاورد این مطالعه می تواند منجر به تولید نان حاوی خمیرترش با عطر مطلوب گردد که موجب تشویق مصرف-کنندگان برای مصرف نان سالمِ حاوی خمیر ترش و عاری از افزودنی های شیمیایی‌می‌گردد.

• مواد و روش‌ها

مواد: آردهای جو و چاودار از بازارهای محلی تهیه شدند که به ترتیب حاوی ۹/۸ و ۱۲ ٪، پروتیئن؛۳/۶ و ۲/۳ ٪، چربی؛ ۲/۲ و ۳/۶٪ خاکستر بودند. *لاکتوباسیلوس سانفرانسینسیس* ATCC ۴۳۳۲ به صورت کشت فعال از مرکز ذخایر بیولوژیکی ایران IBRC (Iranian Biological Resource Center) تهیه گردید. محیط کشت MRS مایع از شرکت ایبرسکو (Ibresco) تهیه شد.

سبوس گندم (اندازه ذرات µm ۵۰۰) از شرکت نان آوران سبوس تهیه شد. همچنین سوربیتول با درجه آزمایشگاهی از شرکت سیگما (Sigma-Aldrich Co., USA) خریداری شد.

تهیه خمیرترش: برای تهیه خمیرترش آردهای جو و چاودار به نسبت مساوی تا رسیدن به غلظت یا راندمان خمیر DY (Dough Yield) مورد نظر مخلوط شدند. راندمان خمیر با صد برابر نسبت وزن خمیر به وزن آرد به دست می‌آید. *لاکتوباسیلوس سانفرانسینسیس* برای مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C در محیط کشت MRSکشت داده شد. غلظت 10^7 cfu/ml به عنوان غلظت اولیه برای تلقیح درنظر گرفته شد. برای رسیدن به دانسیته سلولی ثابت به ازای هر ۱۰۰ میلی لیتر از خمیرترش ۲۰ میلی لیتر از محیط MRSکشت داده شده استفاده شد. (هر میلی لیتر از محیط کشت داده شده حاوی 25×10^7 cfu است). محیط کشت حاوی سلول‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد. جرم سلولی جداشده دوبار توسط سرم فیزیولوژیکی استریل شسته و سپس به مخلوط آردها و آب اضافه شد. سپس این‌مخلوط در دما و زمان تعیین شده(مطابق طرح آماری) برای تکمیل فرایند تخمیر در انکوباتور قرار گرفت.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

استخراج ترکیبات فرار با روش ریز استخراج فاز جامد از فضای فوقانی HS-SPME: استخراج ترکیبات فرار توسط روش ریز استخراج فاز جامد فضای فوقانی HS-SPME انجام شد. برای اجرای این‌تکنیک از یک فیبر SPME (DVB/Carboxen/PDMS Stable Flex) که از شرکت ساپلکو (Bellefonte, PA, USA) خریداری شده بود، استفاده شد. قبل از جذب ترکیبات فرار توسط فیبر، برای حذف آلودگی‌های احتمالی از فیبر، طبق دستورالعمل تولید کننده ابتدا فیبر در بخش تزریق دستگاه کروماتوگرافی گازی قرار داده شد. جهت آنالیز ۲ گرم (۰/۰۰۱۰±گرم ۲/۰۰۰۰) از هر نمونه در داخل ویال ۲۰ میلی لیتری وزن شد و سپس ۶ میلی لیتر از محلول حجمی/وزنی۱۵٪NaCl برای افزایش فراریت افزوده شد. پس از دربندی در یک حمام آب با دمای ۵۰°C بر روی یک همزن مغناطیسی قرار گرفت و سپس فیبر از طریق سوراخ کوچکی وارد ویال شد و پس از ۳۰ دقیقه متعادل شدن ترکیبات فرار در فضای فوقانی، فیبر خارج و فورا به صورت دستی در محل تزریق کروماتوگرافی گازی قرار گرفت تا واجذب حرارتی صورت بگیرد.

آنالیز ترکیبات فرار به روش GC-MS: ترکیبات فرار استخراج شده با فیبر SPME توسط دستگاه کروماتوگراف گازی (Hewlett Packard۶۸۵۰) که متصل به یک شناساگر جرمی (۵۹۷۳ Agilent Technologies) است انجام شد. جداسازی ترکیبات فرار توسط ستون (StabilWAX-DA) انجام شد (۳۰ متر×۰/۳۲میلی متربا ضخامت فیلم ۰/۲۵میکرومتر).

گاز هلیوم (دمای اولیه ۲۵۰°C، فشار Kpa ۴۷/۸، شدت جریان ml/min ۵۰) به عنوان گاز حامل انتخاب شد. برنامه دمایی به صورت زیر تنظیم شد: دمای اولیه °C ۴۰ برای ۵ دقیقه نگه داشته شدو سپس با نرخ °C ۵ در دقیقه تا دمای ۲۶۰°C رسید و در دمای نهایی ۳ دقیقه نگه داشته شد. دمای قسمت تزریق کننده ۲۵۰°C تنظیم شد تا ترکیبات فرار جذب شده در فیبر SPME واجذب شوند. محدوده ۴۰ تا amu ۴۰۰ با پتانسیل یونیزاسیون **۷۰ev** برای اسکن انتخاب شد. برای شناسایی ترکیبات از کتابخانه مرجع (NIST14) استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری: برای تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده از اجرای کروماتوگرافی از نرم‌افزار Design Expert (Stat Ease Corp., USA) استفاده شد. اثر عوامل مختلف بر روی پاسخ با استفاده از معادله چند جمله ای درجه دوم توسط طرح مرکب مرکزی (CCD) بررسی شد. برای تخمین معنی‌داریِ مدل از روش آنالیز واریانس یک طرفه (one way ANOVA) استفاده شد ($P<0/05$).

طرح آزمایشات: به منظور بررسی تأثیر عوامل مختلف در تولید عطر میوه‌ای در خمیر ترش، میزان گامانونالاکتون (بر اساس سطح کروماتوگرام) به عنوان متغیر وابسته (پاسخ) در نظر گرفته شد.تأثیر ۵ فاکتور در ۲ سطح با ۱۶ تکرار در نقطه مرکزی به نحوی که $\alpha=1$ بود بررسی شد. بنابراین طرح مرکب مرکزی از نوع face-centered) CCF) اجرا شد و طرح آزمایش‌ها با ۹۰ آزمایش برنامه‌ریزی شد. در این طراحی دما (۲۵°C، ۳۷°C)، زمان تخمیر (۲۴ساعت،۷۲ ساعت)، راندمان خمیر (۲۰۰،۴۰۰)، درصد سوربیتول (۲٪، ۶٪) و درصد سبوس (۱۰٪،۲۰٪) به عنوان متغیرهای مستقل در نظر گرفته شدند. حدود مورد استفاده برای شاخص های بهینه سازی در جدول ۱ آورده شده است. لازم به ذکر است میزان درصد سبوس گندم و قند سوربیتول بر مبنای وزن آرد مورد استفاده در فرمولاسیون است.

جدول ۱. محدوده های در نظر گرفته شده برای بهینه سازی

	شاخص	حد پایین	حد بالا
A=زمان(ساعت)	در محدوده	۲۴	۷۲
B=دما(°C)	در محدوده	۲۵	۳۷
C=راندمان خمیر	در محدوده	۲۰۰	۴۰۰
D= سوربیتول(درصد)	در محدوده	۲	۶
E=سبوس(درصد)	در محدوده	۱۰	۲۰
گامانونالاکتون	بیشینه	$۱۰^{۶}\times۲/۱۱۳۳۹$	$۱۰^{۷}\times۳/۳۹۶۱۱$

بعد از آنالیز نمودن رگرسیون، مدل درجه دوم برای پاسخ ارائه شد. همچنین برای نشان دادن ارتباط بین متغیر وابسته با متغیرهای مستقل نمودار سطوح آنها توسط نرم افزار مورد استفاده ترسیم شد. جهت ارزیابی مدل؛ ضریب تغییرات (CV)، ضریب تبیین R^2، Adj R^2، press و کفایت دقت (Adeq-precision) مدل محاسبه شدند (جدول ۲).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

جدول۲. نتایج تجزیه و تحلیل واریانس تأثیر زمان، دما، راندمان خمیر، درصد سوربیتول و سبوس گندم برروی میزان گامانونالاکتون

منابع	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	F-value	p-value
مدل	۲۰	$۲/۸۴۸\times۱۰^{۱۵}$	$۱/۴۲۴\times۱۰^{۱۴}$	۲۹/۲۹	< ۰/۰۰۰۱
زمان-A	۱	$۵/۰۰۸\times۱۰^{۱۴}$	$۵/۰۰۸\times۱۰^{۱۴}$	۱۰۳/۰۱	< ۰/۰۰۰۱
دما-B	۱	$۱/۱۵۰\times۱۰^{۱۵}$	$۱/۱۵۰\times۱۰^{۱۵}$	۲۳۶/۴۶	< ۰/۰۰۰۱
راندمان خمیر-C	۱	$۹/۹۶۱\times۱۰^{۱۲}$	$۹/۹۶۱\times۱۰^{۱۲}$	۲/۰۵	۰/۱۵۶۸
سوربیتول-D	۱	$۳/۴۲۷\times۱۰^{۱۴}$	$۳/۴۲۷\times۱۰^{۱۴}$	۷۰/۴۹	< ۰/۰۰۰۱
سبوس-E	۱	$۲/۲۷۷\times۱۰^{۱۴}$	$۲/۲۷۷\times۱۰^{۱۴}$	۴۶/۸۲	< ۰/۰۰۰۱
AB	۱	$۱/۳۴۰\times۱۰^{۱۴}$	$۱/۳۴۰\times۱۰^{۱۴}$	۲۷/۵۶	< ۰/۰۰۰۱
AC	۱	$۳/۸۹۵\times۱۰^{۱۳}$	$۳/۸۹۵\times۱۰^{۱۳}$	۸/۰۱	۰/۰۰۶۱
AD	۱	$۱/۵۶۲\times۱۰^{۱۴}$	$۱/۵۶۲\times۱۰^{۱۴}$	۳۲/۱۳	< ۰/۰۰۰۱
AE	۱	$۱/۹۹۳\times۱۰^{۱۳}$	$۱/۹۹۳\times۱۰^{۱۳}$	۴/۱۰	۰/۰۴۶۸
BC	۱	$۲/۶۶۴\times۱۰^{۱۳}$	$۲/۶۶۴\times۱۰^{۱۳}$	۵/۴۸	۰/۰۲۲۱
BD	۱	$۱/۵۳۷\times۱۰^{۱۳}$	$۱/۵۳۷\times۱۰^{۱۳}$	۳/۱۶	۰/۰۷۹۸
BE	۱	$۹/۸۹۱\times۱۰^{۱۲}$	$۹/۸۹۱\times۱۰^{۱۲}$	۲/۰۳	۰/۱۵۸۳
CD	۱	$۲/۹۴۰\times۱۰^{۱۳}$	$۲/۹۴۰\times۱۰^{۱۳}$	۶/۰۵	۰/۰۱۶۵
CE	۱	$۱/۱۱۵\times۱۰^{۱۳}$	$۱/۱۱۵\times۱۰^{۱۳}$	۲/۲۹	۰/۱۳۴۵
DE	۱	$۸/۷۵۶\times۱۰^{۱۳}$	$۸/۷۵۶\times۱۰^{۱۳}$	۱۸/۰۱	< ۰/۰۰۰۱
A^2	۱	$۵/۳۴۰\times۱۰^{۱۱}$	$۵/۳۴۰\times۱۰^{۱۱}$	۰/۱۰۹۸	۰/۷۴۱۳
B^2	۱	$۷/۹۵۱\times۱۰^{۱۲}$	$۷/۹۵۱\times۱۰^{۱۲}$	۱/۶۴	۰/۲۰۵۳
C^2	۱	$۴/۴۶۹\times۱۰^{۱۲}$	$۴/۴۶۹\times۱۰^{۱۲}$	۰/۹۱۹۲	۰/۳۴۱۰
D^2	۱	$۱/۹۶۴\times۱۰^{۹}$	$۱/۹۶۴\times۱۰^{۹}$	۰/۰۰۰۴	۰/۹۸۴۰
E^2	۱	$۱/۰۵۹\times۱۰^{۱۳}$	$۱/۰۵۹\times۱۰^{۱۳}$	۲/۱۸	۰/۱۴۴۴
باقی مانده ها	۶۹	$۳/۳۵۵\times۱۰^{۱۴}$	$۴/۸۶۲\times۱۰^{۱۲}$		
عدم تطابق	۲۲	$۱/۴۵۴\times۱۰^{۱۴}$	$۶/۶۱۱\times۱۰^{۱۲}$	۱/۶۳	۰/۰۷۸۷
خطای خالص	۴۷	$۱/۹۰۰\times۱۰^{۱۴}$	$۴/۰۴۳\times۱۰^{۱۲}$		
کل	۸۹	$۳/۱۸۴\times۱۰^{۱۵}$			

*نشان دهنده معنی داری در سطح احتمال ۵%-

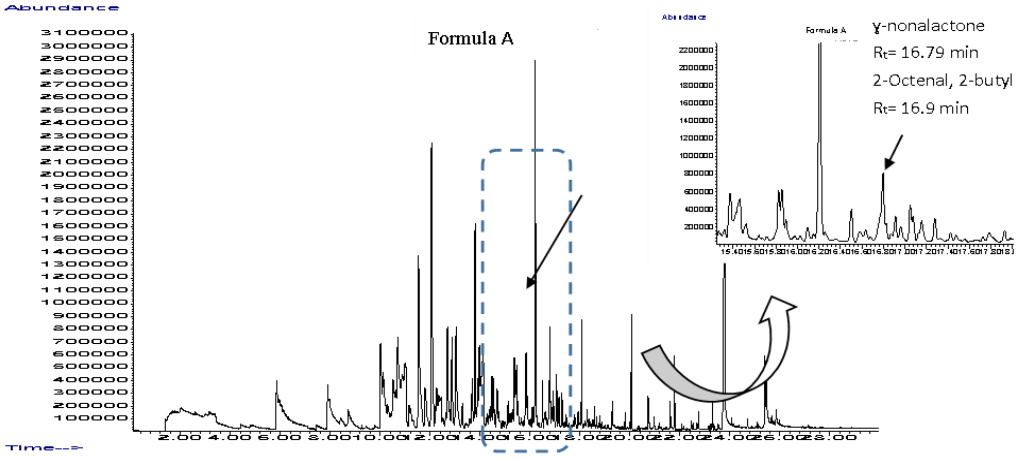
R^2=۰/۸۹۴۶ R^2_{Adj}=۰/۸۶۴۱cv%= ۱۷/۸۰- Std.Dev= ،۲/۲۰۵×۱۰۶، PRESS = $5/815\times10^{14}$ ،Adeq-Precision=۰۰۷۳

• یافته‌ها

شناسایی ترکیبات فرار در خمیرترش و انتخاب ترکیب هدف: در میان ترکیبات فرار شناسایی شده با روش SPME-GC، آلدهیدها، الکل‌ها و اسیدها فراوان‌ترین گروه‌ها هستند که برخی از آنها مسئول ایجاد عطرهای مطلوب هستند به عنوان مثال ۲ و ۳ بوتان دیول (کره)، بنزآلدهاید (بادام)، بنزن استالدهاید (عسل، شیرین)، فنیل اتیل الکل (رز)، نونانال(مرکبات)، دکانال (پوست پرتقال)، استیک اسید ۲- فنیل اتیل استر (عسل)، گاما نونالاکتون (هلو، نارگیل)، ۲- بوتیل ۲- اکتنال (میوه‌ای، آناناس). جدول ۳ نشان دهنده طیف گسترده ترکیبات فرار موجود در فضای فوقانی خمیر ترش تخمیر شده توسط *لاکتوباسیلوس سانفرانسیس*است و به روشنی می‌تواند توانایی این سویه برای تولید ترکیبات فرار مؤثر بر عطر و طعم را در محیط خمیر ترش نشان دهد (شکل۱، جدول۳).

هر چند درک نهایی از عطر و طعم یک محصول متأثر از مخلوط بسیار پیچیده‌ای از انواع ترکیبات فرار است و هرکدام به نوبه خود می‌توانند در ایجاد عطر نهایی مؤثر باشند اما میزان تأثیر یک ترکیب فرار بر عطر نهایی به غلظت و همچنین آستانه درک آن بستگی دارد. بنابراین‌ممکن است یک ترکیب با غلظت نه چندان بالا به دلیل آستانه درک پایین، تأثیر غیر قابل انکاری بر برآیند عطرمحصول داشته باشد. از آنجا که عطر خمیرترش تولید شده توسط ارزیابی حسی به صورت میوه‌ای توصیف شد؛ ترکیب گامانونالاکتون به عنوان ترکیب هدف برای اجرای بهینه سازی انتخاب شد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]



شکل۱. طیف ترکیبات فرار خمیرترش تخمیر شده توسط *لاکتوباسیلوس سانفرانسیسیس* توسط روش HS-SPME-GC

جدول۳. لیست ترکیبات شناسایی شده به روش HS-SPME-GC در خمیرترش.

ترکیب فرار شناسایی شده	زمان بازداری	ترکیب فرار شناسایی شده	زمان بازداری	ترکیب فرار شناسایی شده	زمان بازداری
استیک اسید	۴/۲۴	فنیل اتیل الکل	۱۳/۰۷	۲-تریدکانون	۱۸/۵۲
هگزانال	۵/۸۹	۲-نانانال،(E)	۱۳/۷۹	پنتادکان	۱۸/۵۷
۱- هگزانول	۷/۹۲	اکتانوئیک	۱۴/۰۵	فنول،۲،۴-بیس(۱،۱-دی متیل اتیل	۱۸/۶۶
هپتانال	۸/۷۶	دکانال	۱۴/۵۲	دیهیدروکتنیدیولید	۱۹/۱۱
اکسامی-متوکسی-فنیل	۹/۱۳	۲،۴-نونادی انال،(E,E)	۱۴/۶۸	دودکانوئیک اسید	۱۹/۲۸
۲- هپتانال	۱۰/۰۲	گرانیل وینیل اتر	۱۴/۸۱	هگزادکانون	۱۹/۸
۱- هپتانول	۱۰/۳۲	فنیل – پروپان دیوئیک اسید	۱۵/۰۷	تترادکانال	۱۹/۹
۱-اکتن ۳-ال	۱۰/۵۳	۲-فنیل اتیل هگزانوآت	۱۵/۲۷	تترادکانوئیک اسید	۲۱/۵۹
فوران، ۲- پنتیل	۱۰/۷۲	۲،۴ –نونادی انال-(E,E)	۱۴/۶۸	نونادکان	۲۲/۰۷
هگزانوئیک اسید	۱۰/۸۸	فنیل مالونیک اسید	۱۵/۰۷	فیتون	۲۲/۵۲
اکتانال	۱۰/۹۸	هموفتالیک اسید	۱۵/۱۸	بوتیل اکتیل فتالات	۲۲/۷۶
بنزن،۱،۴-دی کلرو	۱۱/۲۲	۲- فنیل اتیل استات	۱۵/۲۶	نونادکان	۲۳/۱۳
۵-اتیل سیکلوپنت-۱-ان کربوکسالدهاید	۱۱/۵۹	نونانوئیک اسید	۱۵/۳۹	متیل پالمیتات	۲۳/۳۸
بنزن استالدهاید	۱۱/۸۱	۲،۴-دکادی انال-(E,E)	۱۵/۸۵	n-هگزادکانوئیک اسید	۲۳/۷۴
۲-اکتنال،(E)	۱۲/۰۶	گامانونالاکتون	۱۶/۷۹	اتیل پالمیتات	۲۴/۰۶
هپتانوئیک اسید	۱۲/۴۴	۲-اکتنال،۲- بوتیل	۱۶/۹	۹،۱۲-اکتادکانوئیک اسید(z,z)	۲۵/۳۹
نونانال	۱۲/۸۸	بتا-داماسنون	۱۷/۰۷	اولئیک	۲۵/۴۴
فنیل اتیل الکل	۱۳/۰۳	تترادکان	۱۷/۲۷	فنول-1)-4,4' ,متیل اتیلیدن(بیس	۲۵/۸۶
بنزن،۱،۲،۴،۵ تترامتیل	۱۳/۱۲	نریل استون	۱۷/۹۲		

مدل سازی: تأثیر متغیرهای مستقل بر تولید گامانونالاکتون با استفاده از مدل درجه دوم تولید شده توسط طرح مرکب مرکزی به صورت ذیل است (فرمول ۱):

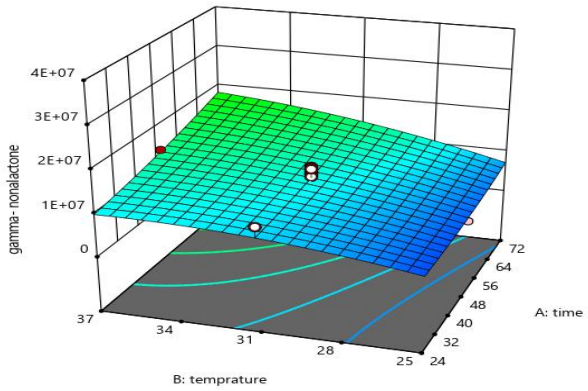
$$\text{گامانونالاکتون} = ۱/۰۸۴\times۱۰^{۷} + ۲/۷۵۵\times۱۰^{۶}\,A + ۴/۱۷۴\times۱۰^{۶}\,B + ۲/۲۷۹\times۱۰^{۶}\,D + ۱/۸۵۷\times^{۱۰۶}E + ۱/۴۴۷\times۱۰^{۶}\,AB + ۷/۸۰۱\times۱۰^{۵}\,AC + ۱/۵۶۲\times۱۰^{۶}\,AD + ۵/۵۸۰\times۱۰^{۵}\,AE + ۶/۴۵۲\times۱۰^{۵}\,BC + ۶/۷۷۷\times۱۰^{۵}\,CD - ۱/۱۷۰\times۱۰^{۶}\,DE \quad (۱)$$

که C,B,A، D و E به ترتیب زمان، دما، راندمان خمیر، درصدسوربیتول و سبوس گندم هستند .جملات مدل بر اساس سطح احتمال ۹۵٪ ارزیابی شده‌اند (P<۰/۰۵) . اثرات برهم‌کنش فاکتورها بر روی پاسخ توسط منحنی‌های سطح پاسخ در شکل۲ نشان داده شده‌اند.

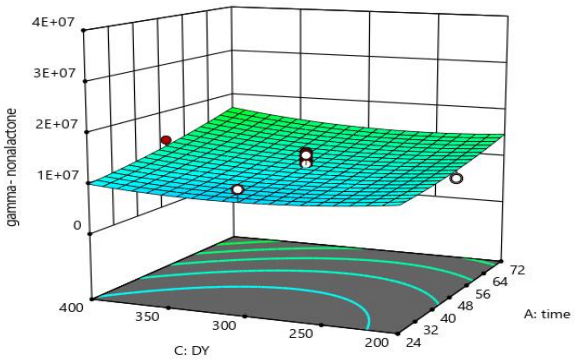
تعیین اعتبار مدل: نقطه بهینه برای تولید گامانونالاکتون در خمیرترش با استفاده از بهینه سازی عددی بدست آمد (جدول۴). برای ارزیابی اعتبار مدل از بهینه سازی عددی استفاده شد. داده‌های آزمایشی با داده‌های پیش بینی شده توسط مدل اختلاف معنی داری نداشتند. بنابراین نتایج بدست آمده توسط مدل کاملا قابل اتکا خواهد بود (جدول۵).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

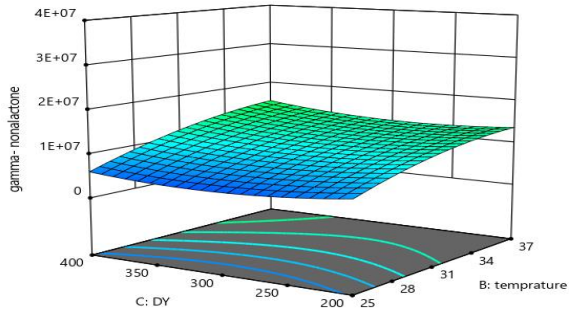
الف



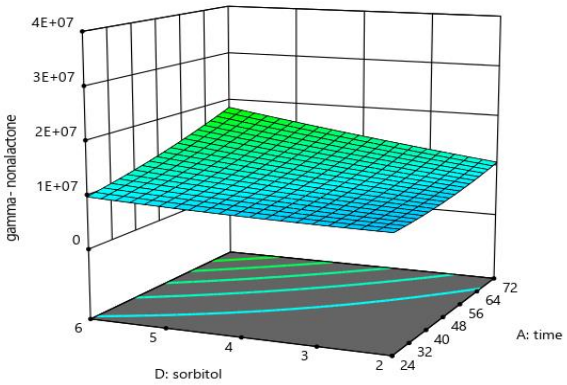
ب



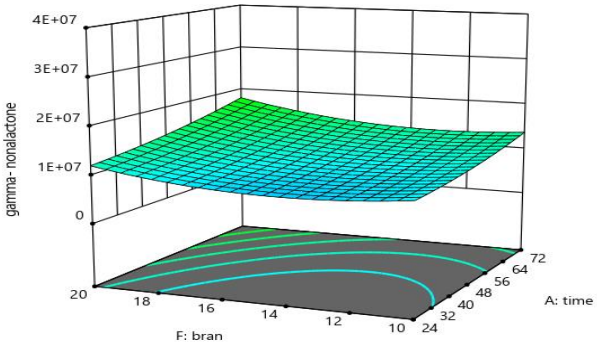
ج



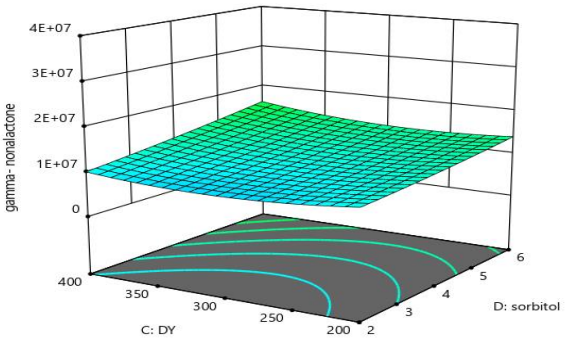
د



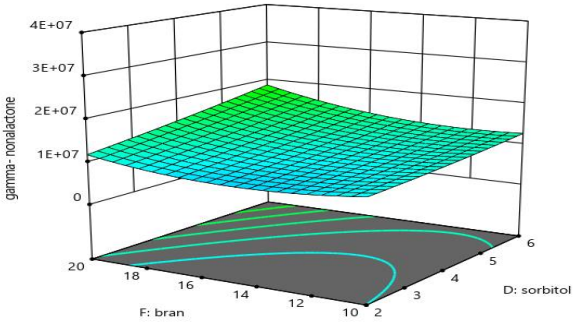
ه



و



ز



جدول ۲. منحنی سطح پاسخ-اثرات متقابل موثر بر تولید گامانونالاکتون:دما×زمان (الف)؛ راندمان خمیر×زمان (ب) ؛ راندمان خمیر×دما(ج)؛ سوبیتول×زمان(د)؛ سبوس×زمان(ه)؛ راندمان خمیر×سوربیتول(و)؛ سبوس ×سوربیتول (ز)

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

جدول ۴. شرایط نقطه بهینه انتخاب شده با بهترین مطلوبیت

ترکیب هدف	دما (°C)	زمان (ساعت)	راندمان خمیر	سوربیتول (٪)	سبوس (٪)	مطلوبیت در نقطه بهینه
گامانونالاکتون	۳۷	۷۲	۴۰۰	۶	۲۰	۰/۹۹۵

جدول ۵. نتایج پیش بینی شده توسط مدل و نتایج واقعی بدست آمده با روش HS-SPME-GC-MS در شرایط بهینه

ترکیب هدف	نتیجه پیش بینی شده توسط مدل (سطح پیک)[1]	نتیجه آزمایشی (سطح پیک)	غلظت واقعی در نمونه. (ppm)
گامانونالاکتون	$۳/۳۱۱۳۶\times۱۰^{۷}\pm۲/۱۸۴\times۱۰^{۶}$	$۲/۶۸۹۶۸\times۱۰^{۷}\pm۵/۲\times۱۰^{۶}$	۲۶/۳۱۷۸

۱- انحراف معیار± میانگین

• بحث

زمان یکی از مهم‌ترین فاکتورهای موثر بر فرایند تخمیر است. تولید گامانونالاکتون به طور معنی‌داری تحت تأثیر زمان است (P<۰/۰۵) همان طور که اشاره شد هگزانال ترکیب شروع کننده اصلی برای تولید گامانونالاکتون است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مقدار هگزانال به تدریج در طی تخمیر کاهش می‌یابد، در حالی که میزان ۱- هگزانول افزایش می‌یابد.تشکیل هگزانال توسط اکسیداسیون اسیدهای چرب آزاد و سپس تجزیه آن به هگزانول، هگزانوئیک‌اسید، ۲- بوتیل ۲ اکتنال و سایر انال‌ها می‌توانند منجر به کاهش آن شوند. بنابراین تولید گامانونالاکتون در اثر تجزیه هگزانال افزایش یافته است.

دما عاملی است که سینتیک فرایند و نرخ تخمیر و کیفیت محصول نهایی را تحت تأثیر قرار می دهد. یافته‌های ما نشان دادند که دما اثر مثبتی در تشکیل گامانونالاکتون دارد (۰/۰۵ >P). بالا بردن دمای تخمیر غلظت محصولات اکسیداسیون لیپید را افزایش می‌دهد (۲۰). زمانی که هگزانال در مقادیر بالایی وجود داشته باشد، دچار چندین واکنش جانبی (ازجمله ترکم آلدولی) می‌شود. افزایش دما واکنش را به جای تشکیل محصولات هیدروژناسیون به سمت محصولات تراکم آلدول می‌برد. دلیل این‌پدیده این است که هیدروژناسیون آلدهید به الکل اولیه نیازمند انرژی فعال سازی بسیار پایینی است (۲۱). ضمناً تخمیر در دمای بالا (۳۷ °C) برای رشد *لاکتوباسیلوس سانفرانسینسیس مطلوب* تر است. درعین حال افزایش دما بر میزان برخی ترکیبات فرار دیگر مانند الکل‌ها تأثیر منفی دارد زیرا موجب افزایش میزان اتلاف از طریق تبخیر می‌شود.

ازآنجا که آردهای مختلف از نظر توانایی جذب آب بسیار متفاوت هستند، بنابراین مقدار راندمان خمیر(DY) منعکس کننده میزان آب به‌کاررفته در فرمول است . راندمان خمیر بالاتر منجر به افزایش تولید اسید می‌شود . در PH پایین، آلدهیدها محصولات تراکم آلدول را تشکیل می‌دهند (۲۲). همچنین در راندمان خمیر بالاتر مواد مغذی به صورت یکنواخت‌تری توزیع می‌شوند که به نوبه خود بر جمعیت میکروبی و فرایند تخمیر موثر است (۲۷-۲۳). از طرفی وقتی راندمان خمیر بالاتر باشد فشار رقابتی کمتری برای میکروارگانیسم تخمیر کننده وجود دارد زیرا میکروارگانیسم‌های کمتری از طریق آرد وارد شده‌اند. اما با این‌وجود میزان راندمان خمیر تأثیر معنی‌داری بر تولید گامانونالاکتون نداشت.

بر اساس گزارش Korakli و همکارانش در سال ۲۰۰۳ *لاکتوباسیلوس سانفرانسینسیس می‌تواند* سوربیتول را از طریق مانیتول دهیدروژناز در طی رشد مصرف کند (۱۳). همچنین سوربیتول می‌تواند طعم تلخ را از طریق شلاته کردن آهن و مس پوشش دهد. از طرفی توانایی هیگروسکوپیک سوربیتول می‌تواند تولید گامانونالاکتون را تقویت کند زیرا حضور آب انتخابگری واکنش را به سمت هیدروژناسیون آلدهید پیش می‌برد (۲۱). بنابراین محدودیت در دسترسی به آب موجب تقویت تراکم آلدولی و تولید گامانونالاکتون می‌شود. یکی از مهم‌ترین مشکلات در تولید صنعتی این است که تجمع آن به شدت برای سلول سمی است (۲۸). به دام افتادن گامانونالاکتون به وسیله جاذب‌های هیدروفوبیک می‌تواند به حفظ زنده مانی سلول‌ها در طی تخمیر کمک کند. بنابراین اثر مثبت سوربیتول بر تولید گاما نونالاکتون توجیه پذیر است.

داده‌های بدست آمده نشان دادند که افزودن سبوس به فرمول تهیه خمیرترش اثر مثبت ملایمی برای تولید عطر میوه ای در خمیرترش دارد. زیرا همان‌طور که اشاره شد بتااکسیداسیون اسیدهای چرب آزاد مثل اولئیک و لینولئیک

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

اسید منجر به تولید لاکتون‌ها می‌شود. این‌اسیدهای چرب آزاد به مقدار زیادی در لایه سبوس وجود دارند. نتایج zhang و همکارانش در سال ۲۰۱۰ نشان داد که لینولئیک اسید در لایه سبوس گندم با غلظت بالایی یافت می شود که مقدار آن بین۵۲/۲ تا ۶۰ درصد کل اسیدهای چرب آن است(۱۲). از طرفی از آنجا که سبوس منبع غنی از خاکستر است می‌تواند میزان کل ترکیبات فرار را افزایش دهد.

نتایج این بررسی نشان داد که سویه *لاکتوباسیلوس سانفرانسینسیس* قابلیت تولید عطر میوه ای را در خمیر ترش دارد و با بکارگیری این سویه و کنترل شرایط تخمیر، تولید خمیر ترش با عطر مطلوب امکان پذیر است. نتایج این مطالعه می‌تواند در صنعت نان برای تولید نان حاوی خمیر ترش با عطر و طعم مطلوب مورد استفاده قرار بگیرد.

• References

1. Cécile P, Onno B, and Prost C. Sourdough volatile compounds and their contribution to bread: A review. Trends Food Sci Technol 2017; 59: 105-123.
2. De Angelis M, Di Cagno R, Gallo G, Curci M, Siragusa S, Crecchio C, et al. Molecular and functional characterization of Lactobacillus sanfranciscensis strains isolated from sourdoughs. Int J Food Microbiol 2007; 114(1):69-82.
3. Farahmand E, Razavi SH, Yarmand MS, Morovatpour M. Development of Iranian rice-bran sourdough breads: physicochemical, microbiological and sensorial characterisation during the storage period. Qual Assur saf crop 2015; 7(3): 295-303.
4. Omelianski VL. Aroma-producing microörganisms. J Bacteriol,1923;8(4): 393.
5. Aponte M, Boscaino F, Sorrentino A, Coppola R, Masi P, Romano A. effects of fermentation and rye flour on microstructure and volatile compounds of chestnut flour based sourdoughs. LWT- Food Sci Technol 2014; 58(2): 387-395.
6. Siepmann FB, de Almeida BS, Waszczynskyj N, Spier MR. Influence of temperature and of starter culture on biochemical characteristics and the aromatic compounds evolution on type II sourdough and wheat bread. LWT 2019; 108:199-206.
7. Van Kerrebroeck S, Comasio A, Harth H, De Vuyst L. Impact of starter culture, ingredients, and flour type on sourdough bread volatiles as monitored by selected ion flow tube-mass spectrometry. Food Res Int 2018; 106:254-262.
8. Gobbetti M, Corsetti A, Rossi J. Lactobacillus sanfrancisco, a key sourdough lactic acid bacterium: physiology, genetic and biotechnology. Adv Food Sci 1996; 18(5-6): 167-175.
9. Vogel RF, Pavlovic M, Ehrmann MA, Wiezer A, Liesegang H, Offschanka S, et al. Genomic analysis reveals Lactobacillus sanfranciscensis as stable element in traditional sourdoughs. In Microb Cell Fact 2011;(Vol. 10, No. S1, p. S6). BioMed Central.
10. Vermeulen N, Pavlovic M, Ehrmann MA, Gänzle MG, Vogel RF. Functional characterization of the proteolytic system of Lactobacillus sanfranciscensis DSM 20451T during growth in sourdough. Appl Environ Microbiol 2011; 71(10): 6260-6266.
11. De Angelis M, Mariotti L, Rossi J, Servili M, Fox PF, Rollán G, Gobbetti M. Arginine catabolism by sourdough lactic acid bacteria: purification and characterization of the arginine deiminase pathway enzymes from Lactobacillus sanfranciscensis CB1. Appl Environ Microbiol2002; 68(12): 6193-6201.
12. Gänzle MG, Zheng J. Lifestyles of sourdough lactobacilli–Do they matter for microbial ecology and bread quality? Int J Food Microbiol 2019; 302: 15-23.
13. Korakli M, Pavlovic M, Gänzle MG, Vogel RF. Exopolysaccharide and kestose production by Lactobacillus sanfranciscensis LTH2590. Appl Environ Microbiol 2003; 69(4): 2073-2079.
14. Tieking M, Gänzle MG. Exopolysaccharides from cereal-associated lactobacilli. Trends Food Sci Technol 2005; 16(1-3): 79-84.
15. Schütt J, Schieberle P. Quantitation of nine lactones in dairy cream by stable isotope dilution assays based on novel syntheses of carbon-13-labeled γ-lactones and deuterium-labeled δ-lactones in combination with comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry. J Agric Food Chem 2017; 65(48): 10534-10541.
16. Romero-GuidoC, Belo I, Ta TMN, Cao-Hoang L, Alchihab M, Gomes N, et al. Biochemistry of lactone formation in yeast and fungi and its utilisation for the production of flavour and fragrance compounds. Appl Microbiol Biotechnol 2011; 89(3): 535-547.
17. Lampi AM, Damerau A, Li J, Moisio T, Partanen R, Forssell P, Piironen V. Changes in lipids and volatile compounds of oat flours and extrudates during processing and storage. J Cereal Sci 2015; 62: 102-109.
18. Pico J, Gómez M, Bernal J, Bernal JL. Analytical methods for volatile compounds in wheat bread. J Chromatogr A 2016; 1428:55-71.
19. Reineccius GA. Flavour-isolation techniques. In Flavour Frag J 2007; 409-426. Springer, Berlin, Heidelberg.
20. Birch AN, Petersen MA, Hansen ÅS. The aroma profile of wheat bread crumb influenced by yeast concentration and fermentation temperature. LWT- Food Sci Technol 2013, 50(2):480-488.
21. Hočevar B, Grilc M, Huš M, Likozar B. Mechanism, ab initio calculations and microkinetics of straight-chain alcohol, ether, ester, aldehyde and carboxylic acid hydrodeoxygenation over Ni-Mo catalyst. Chem Eng J 2019; 359: 1339-1351.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

22. Abreu I, Da Costa NC, van Es A, Kim JA, Parasar U, Poulsen ML. Natural occurrence of aldol condensation products in Valencia orange oil. J food sci 2017; 82(12): 2805-2815.

23. Di Cagno R, Pontonio E, Buchin S, De Angelis M, Lattanzi A, Valerio F, et al. Diversity of the lactic acid bacterium and yeast microbiota in the switch from firm- to liquid-sourdough fermentation. Appl Environ Microbiol 2014; 80(10): 3161-3172.

24. Minervini F, De Angelis M, Di Cagno R, Gobbetti M. Ecological parameters influencing microbial diversity and stability of traditional sourdough. Int j food microbiol 2014; 171: 136-146.

25. Gobbetti M, Minervini F, Pontonio E, Di Cagno R, De Angelis M. Drivers for the establishment and composition of the sourdough lactic acid bacteria biota. Int j food microbiol 2016; 239: 3-18.

26. Vogelmann SA, Seitter M, Singer U, Brandt MJ, Hertel C. Adaptability of lactic acid bacteria and yeasts to sourdoughs prepared from cereals, pseudocereals and cassava and use of competitive strains as starters. Int j food microbiol 2009;130(3): 205-212.

27. De Vuyst L, Vancanneyt M. Biodiversity and identification of sourdough lactic acid bacteria. Food Microbiol 2007; 24(2): 120-127.

28. Aguedo M, Waché Y, Mazoyer V, Sequeira-Le Grand A, Belin JM. Increased electron donor and electron acceptor characters enhance the adhesion between oil droplets and cells of Yarrowia lipolytica as evaluated by a new cytometric assay. J agric food chem 2003; 51(10): 3007-30011.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

Optimizing Sourdough Processing for the Production of ɣ-nonalactone (Fruity Aroma) by *Lactobacillus sanfranciscensis* Using Headspace Solid-Phase Microextraction Method

Farahmand E[1], Razavi S H[2], Mohtasebi SS[3]*

1- Ph.D. Student, Dept. of Food Science and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

*2-*Corresponding author: Professor, Dept. of Food Science and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: srazavi@ut.ac.ir*

3- *Professor, Dept. of Agricultural Machinery Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.*

Received 15 Jan, 2020 **Accepted 23 Apr, 2020**

Background and Objectives: Sourdough processing is a well-known method to improve food flavor. One of the most important lactic acid bacteria isolated from sourdoughs is *Lactobacillus sanfranciscensis*. Because of the bacterial ability for acidification and liberation of the volatile compound precursors, it can strongly affect dough rheology and aromatic properties. In this study, the best conditions for production of ɣ-nonalactone (with fruity aroma) in sourdough were investigated for the first time.

Materials & Methods: To prepare sourdough, a mixture of rye and barley flour and wheat bran was used. Fermentation was carried out using *Lactobacillus sanfranciscensis* ATCC 4332. Experiments were designed using response surface methodology and five factors, including time, temperature, dough yield and sorbitol and bran proportions. Volatiles were extracted from sourdough using headspace solid-phase microextraction method. Extracted volatile compounds were measured using gas chromatograph coupled with a mass selective detector.

Results: Effects of independent variables on ɣ-nonalactone production were modeled using central composite design. Experimental data were similar to the predicted data; therefore, results of this model were reliable. Based on the results, fermentation at 37 ºC for 72 h with DY of 400, sorbitol of 6% and 20% of bran provided the most optimum conditions for the production of fruity aroma (26.3 ppm).

Conclusion: Investigation of the aromatic profile of sourdough fermented by *L. sanfranciscensis* showed that this strain was capable of producing desirable aroma during fermentation. Based on the results, time and temperature included strong effects on production of ɣ-nonalactone. In comparison, dough yield did not include significant effects while addition of bran and sorbitol included mild effects.

Keywords: Sourdough, Flavor, Gas chromatography, HS-SPME, ɣ-nonalactone

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]