مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی اثر پپتیدهای زیست فعال گیاه آمارانت (*Amaranthus hypochondriacus*) بر ویژگی‌های نان باگت

نیره کریمی[۱]، فریبا زینالی[۲*]، محمود رضازاد باری[۳]، مهدی نیکو[٤]، فروغ محترمی[٥]، مهدی کدیور[٦]

۱- دانشجوی دکتری، علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۲- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۳- استاد تمام، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

٤- دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، پژوهشکده آرتمیا و آبزی‌پروری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

٥- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

٦- استاد تمام، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۱۱

کلمات کلیدی:

آمارانت،

پروتئین هیدرولیز شده،

خمیرترش،

ویژگی‌های نان.

DOI: 10.52547/fsct.19.122.101

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.122.16.9

* مسئول مکاتبات:

f.zeynali@urmia.ac.ir

چکیده

پپتیدهای زیست فعال بخش‌های پروتئینی ویژه‌ای هستند که بر عملکرد و سلامت بدن انسان تاثیر به سزایی دارند. در این مطالعه تاثیر پروتئین‌ها و پپتیدهای حاصل از هیدرولیز پروتئین‌های آمارانت (پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین) در مقادیر ۱ تا ۵ درصد و زمان‌های مختلف هیدرولیز (۵/۰، ۵/۱، ۳ و ۵ ساعت) بر خواص خمیرترش و کیفیت نان بررسی شد. نتایج نشان داد که پپتیدهای حاصل از هیدرولیز پروتئین کل آمارانت در زمان ۳ ساعت دارای بیشترین تاثیر بر رشد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (*PTCC 1896*) (۴۰/۱۱ Log CFU/mL) و *ساکارومایسس سرویزیه* (*PTCC 5052*) (۳۲/۸ Log CFU/mL) در شرایط آزمایشگاهی بود. این میکروب‌ها فلور اصلی خمیرترش هستند و مقادیر مختلف پپتید نسبت به نمونه‌ی شاهد بر رشد آن‌ها از نظر آماری تفاوت معنی‌داری داشت. میزان اسیدیته قابل تیتر و pH پس از ۱۶ ساعت تخمیر در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در خمیرترش حاوی ۵٪ پپتید به ترتیب، ۳۳/۱۳ میلی‌لیتر NaOH و ٦/٤ بودند که نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود. بیشترین میزان فعالیت آبی، حجم مخصوص، اسیدیته قابل تیتر و کمترین آنتالپی در نان تهیه شد از خمیرترش حاوی ۳٪ پپتید حاصل شد. بنابراین نان تولید شده از خمیرترش حاوی ۳٪ پپتید به عنوان بهترین تیمار جهت افزایش کیفیت نان انتخاب شد.

۱- مقدمه

خمیرترش در حقیقت خمیر حاصل از مخلوط فرآورده‌های غلات، آب و میکروارگانیسم‌های فعال است که به طور سنتی به عنوان جایگزین مخمر نان و محصولات شیمیایی جهت ورآمدن نان و محصولات نانوایی استفاده می‌شود [۱]. به طور کلی pH خمیرترش برای آرد گندم بین ۵/۳ تا ۳/٤ می‌باشد که نوع آرد (بر اساس درصد استحصال) تاثیر بسزایی بر آن دارد. مقدار افزودن خمیرترش بر pH خمیر نان بسیار موثر است. به عنوان مثال با افزودن ۲۰ درصد خمیرترش به خمیر اصلی، pH در رنج ٥/٤-۷/٤ قرار می‌گیرد. استفاده از خمیرترش در محصولات نانوایی به علت کاهش pH، سبب افزایش مقاومت شبکه گلوتن، حفظ گاز، ممانعت از فعالیت آنزیم آمیلاز آرد، ایجاد پیوند آبی میان گلوتن و گرانول‌های نشاسته، افزایش تورم پنتوزان‌ها، حلالیت فیتات در اثر فعالیت فیتاز و جلوگیری از فساد می‌شود [۲].

افزایش فعالیت آلفا آمیلاز در اثر تولید اسید توسط اسید لاکتیک باکتری‌ها، باعث تولید دکسترین‌های با وزن مولکولی کم می‌گردد که از پیوند گلوتن- نشاسته جلوگیری به عمل می‌آورند و سبب کاهش میزان سفتی نان در طی نگهداری می‌شوند. همچنین خمیری با بافت نرم‌تر و الاستیسیته‌ی کمتر تولید می‌کنند و ظرفیت نگهداری گاز در خمیر را افزایش می‌دهند [۳].

اسیدیته‌ی خمیرترش و خمیر بر ساختار ترکیباتی مانند نشاسته، آرابینوزایلان‌ها و گلوتن موثر است و در این زمینه نظریه‌ی تاثیر اسید بر متورم شدن گلوتن و هیدرولیز ملایم اسیدی نشاسته در جهت بهبود خمیر مطرح گردیده است. اسید بر رفتار خمیر نیز بسیار موثر است به نحوی که خمیر با pH کمتر نیاز به زمان کمتری جهت مخلوط شدن دارد و پایداری آن نسبت به خمیر معمولی کمتر است. اثر مستقیم اسیدهای آلی بر ویژگی‌های رئولوژیکی خمیر با استفاده از تکنیک‌های بنیادی و تجربی به اثبات رسیده است [٤].

استفاده از غذاهای عملگرا، مکمل‌های رژیمی و دارویی که حاوی پپتیدهای مشتق شده از پروتئین‌های غذایی هستند، روز به روز در حال گسترش است و از جمله علل آن می‌توان به میزان پروتئین بالا، عملگرایی خوب، ترکیبات زیست فعال و مقدار کم عوامل ضد تغذیه‌ای اشاره نمود. پپتیدهای زیست فعال بخش‌های پروتئینی ویژه‌ای هستند که بر عملکرد و سلامت انسان تاثیر بسزایی دارند [۵]. مطالعات در سطح آزمایشگاهی و بافت زنده نشان می‌دهد که پپتیدهای زیست فعال دارای طیف گسترده‌ای از عملکردهای زیستی هستند که از مهمترین آنها می‌توان به فعالیت ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی، کاهش کلسترول خون و کاهش فشار خون اشاره نمود [٦]. پپتیدهای زیست فعال معمولا با توالی پروتئین اصلی مطابقت دارند و به طور عمده با روش‌های شیمیایی و فیزیکی تولید می‌گردند. از جمله روش‌های شیمیایی می‌توان به هیدرولیز قلیایی، اسیدی، آنزیم‌های پروتئولیتیک گیاهی، حیوانی و میکروبی اشاره نمود [۷].

گیاه آمارانت (*Amaranthus hypochondriacus*) به خشکی، گرمای زیاد و آفت بسیار مقاوم است، عملکرد دانه‌ی آن در هکتار نسبت به غلات معمول، بسیار بالاتر است. میزان پروتئین آن ۱۳ الی ۱۹ درصد است و نسبت به سایر غلات از نظر لیزین، تریپتوفان، آرژنین و اسیدآمینه‌های گوگرددار غنی است. پروتئین موجود در آمارانت دارای چهار بخش اصلی آلبومین، گلوبولین، گلوتلین و پرولامین است که آلبومین و گلوبولین مهمترین و بیشترین بخش آن را تشکیل می‌دهند [۸]. Scilingo و همکاران (۲۰۰۲) در تحقیقی بهبود حلالیت ایزوله پروتئین آمارانت را بررسی نمودند. تحقیقات نشان داد که استفاده از تیمار حرارتی به علت تجمع پروتئین آمارانت (به خصوص گلوبولین)، حلالیت ایزوله پروتئین را کاهش می‌دهد در حالی که هیدرولیز آنزیمی قبل از تیمار حرارتی باعث افزایش حلالیت آن می‌گردد [۹]. Silva-Sanches و همکاران (۲۰۰٤) نشان دادند که استفاده از ۱٪ آلبومین آمارانت (نسبت به مقدار آرد گندم) زمان توسعه خمیر (۳/۸ دقیقه در مقایسه با ٤/۷در نمونه شاهد) و پایداری اختلاط (۱/۱۱ دقیقه در مقایسه با ۹/۱۰ دقیقه در نمونه شاهد) را بهبود می‌بخشد. همچنین مقدار آب مورد نیاز برای توسعه متوازن خمیر کاهش و خواص خمیر و ویژگی های نان بهبود می‌یابد [۱۰].

Karimi و همکاران (۲۰۲۰) تاثیر پروتئین هیدرولیز شده‌ی میگو را بر رشد میکروارگانیسم‌ها و خواص نان بررسی کردند. نتایج نشان داد که پروتئین هیدرولیز شده بر رشد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*[1] اثر خوبی داشته است و به دلیل کاهش سفتی و بیاتی نان عمر نگهداری آن را افزایش میدهد [۸].

1. *Lactobacillus plantarum*

در تحقیقی از گلوتن هیدرولیز شده‌ی گندم (WGH) جهت رشد مخمر *ساکارومایسس سرویزیه*[1] در نوشیدنی آب جو استفاده شد. از آنزیم پانکراتین جهت هیدرولیز گلوتن گندم استفاده گردید. نتایج نشان داد که وزن مولکولی کمتر و مقادیر بالای لوسین، لیزین، هیستیدین و آرژنین در فراکشن‌های گلوتن هیدرولیز شده با وزن مولکولی کمتر از ۳ کیلودالتون و تیمار با رسوب توسط الکل سبب بهتر شدن رشد مخمر می‌گردد [۲].

نان قوت غالب اغلب مردم محسوب می‌شود و افزایش کیفیت آن می‌تواند میزان ضایعات ناشی از بیاتی نان را کاهش دهد. با توجه به تحقیقات صورت گرفته، این پژوهش اولین مطالعه در مورد تاثیر پروتئین‌های کل، آلبومین و گلوبولین آمارانت هیدرولیز شده توسط آنزیم آلکالاز در زمان های مختلف (۰/۵، ۱/۵، ۳ و ۵ ساعت) بر رشد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *ساکارومایسس سرویزیه* در شرایط آزمایشگاهی و همچنین بر خواص خمیرترش و نان حجیم بررسی می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱-مواد شیمیایی و گونه‌های میکروبی

آلکالاز 2.4 L (EC 3.4.21.62) (پروتئاز حاصل از باسیلوس لیکنی فورمیس[2])، MRS براث، MRS آگار، PDA آگار که از شرکت سیگما- آلدریچ خریداری شدند. *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* PTCC (1896) و *ساکارومایسس سرویزیه* PTCC (5052)از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی تهیه گردید (تهران، ایران). هگزان، سدیم کلرید، تریس (هیدروکسی متیل) و granulated yeast extract که از شرکت مرک خریداری شدند. آرد گندم از شرکت گل آرد اصفهان و آمارانت از شرکت پنجه طلا خریداری شد.

۲-۲-روش‌ها

۲-۲-۱- آنالیز بخش‌های پروتئینی مختلف آمارانت با استفاده از تکنیک SDS-PAGE

بررسی الگوی نواری بیوپپتیدها و تاثیر آنزیم بر روی الگوی الکتروفورتیک پروتئین‌های آمارانت با الکتروفورز SDS-PAGE بر اساس روش پیشنهادی Amiri و همکاران (۲۰۲۲) با کمی تغییرات انجام شد [۱۱].

طبق روش Barba de la rosa و همکاران (۲۰۱۰) برای پروتئین کل و بخش‌های پروتئین آمارانت (آلبومین، گلوبولین) از ۱۵ درصد ژل آکریل آمید استفاده شد و از جریان ۲۰ میلی آمپر و ولتاژ ۲۰۰ ولت به مدت ۲ الی ۳ ساعت جهت تشکیل باندها استفاده گردید. برای رنگ نمودن ژل از کوماسی برلیانت بلو و برای رنگ بری ژل از تری کلرواستیک اسید استفاده شد و نمونه ها پس از ۱۲ ساعت شسته شدند [۱۲].

۲-۲-۲- استخراج پروتئین کل و بخش های غنی از آلبومین و گلوبولین آمارانت

آرد آمارانت (*Amaranthus hypochondriacus*) از آسیاب دانه‌های آن تهیه شد و برای به دست آوردن پودری نرم از الک سایز ۱۰۰ میکرومتر استفاده شد. جهت چربی‌گیری آرد از هگزان به نسبت ۱:۱۰ (حلال:آرد) تحت شرایط هم زدن مداوم به مدت ۲۴ ساعت در دمای ٤ درجه سانتی گراد استفاده گردید [۱]. پس از آن آرد به دست آمده جهت خشک شدن در دمای اتاق به مدت ۲٤ ساعت قرار گرفت و سپس تا زمان انجام آزمون‌ها در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۱].

جهت استخراج پروتئین کل، آرد آمارانت با استفاده از سود ۱ نرمال به pH=۹ رسید و به مدت ۱۵ دقیقه توسط همزن به صورت مدام همزده شد. پس از سانتریفوژ نمودن به مدت ۱۵ دقیقه با دور ٦۰۰۰ rpm در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد، محلول رویی جهت رسوب پروتئین با اسید کلریدریک ۱ مولار به pH ~ ۵/٤رسید و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ٦۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردید. رسوب حاصل با سود ۱ نرمال به pH ~۷ رسانده شد و با فریزدرایر خشک و به عنوان پروتئین کل تعیین گردید [۱۱].

برای استخراج بخش غنی از آلبومین، آرد آمارانت به نسبت ۱:۱۰ با آب مخلوط گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به طور مداوم همزده شد. پس از آن با دور ٦۰۰۰ rpm به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. محلول رویی به عنوان بخش غنی از آلبومین در نظر گرفته شد. برای استخراج گلوبولین، رسوب حاصل از استخراج آلبومین در محلول

۱/۰ مولار NaCl، ۱ میلی‌مولار EDTA و ۱۰ میلی‌مولار K_2HPO_4 در (pH ۵/۷) به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به طور مداوم همزده شد و سپس مانند بالا

1. *Saccharomyces pastorianus*
2. *Bacillus licheniformis*

سانتریفوژ گردید.

۲-۲-۳- هیدرولیز پروتئین‌های آمارانت

به منظور هیدرولیز، ابتدا مقدار معینی از پروتئین کل، آلبومین و گلبولین را به مقدار مشخصی از آب مقطر افزوده و درون بن‌ماری با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد می‌گذاریم. بشر حاوی پروتئین درون همزن مغناطیسی به مدت ۱۵ دقیقه همزده شد تا کاملاً یکنواخت گردد. سپس از سود ۱ مولار برای رسیدن pH محلول پروتئین به ۸ (pH بهینه فعالیت آنزیم) استفاده شد. در مرحله بعدی ۳ گرم پروتئین در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. فرآیند هیدرولیز با آنزیم آلکالاز (غلظت آنزیم به سوبسترا ۱ به ۲۰) در زمانهای ۰/۵، ۱/۵، ۳ و ۵ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. در حین هیدرولیز، از سود ۱ مولار برای ثابت نگه‌داشتن pH استفاده شد و در پایان فرآیند هیدرولیز، pH محلول با اسیدکلریدریک ۱ مولار تا ۷ کاهش داده‌شد. به منظور غیر فعال کردن آنزیم، محلول پروتئینی را درون بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده، سپس توسط آب و یخ سرد شد. نمونه‌ها در ٤ هزار دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و سوپرناتانت توسط دستگاه فریز درایر خشک گردید. پودر تولید شده تا زمان استفاده در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۱۳].

۲-۲-٤- تأثیر هیدرولیز پروتئین‌های مختلف آمارانت بر رشد میکروارگانیسم‌ها در شرایط آزمایشگاهی

پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین و هیدرولیزهای حاصل از آنها، در زمان‌های مختلف هیدرولیز (۰/۵ تا ۵ ساعت) جهت تاثیر بر رشد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *ساکارومایسس سرویزیه* آزمایش شدند. هیدرولیزها در آب مقطر به میزان ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر حل شدند و یک میلی‌لیتر آن به ۹ میلی‌لیتر محیط کشت حاوی 10^4 CFU / mL باکتری یا سلول‌های مخمر اضافه شدند. جهت مقایسه، از پروتئین‌های هیدرولیز نشده‌ی آمارانت بر رشد مخمر و باکتری‌ها در شرایط آزمایشگاهی استفاده شد. شمارش *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با روش کشت عمقی بر روی MRS آگار و مخمر بر روی کشت PDA انجام شد. پلیت‌های حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و *ساکارومایسس سرویزیه* در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد پس از گذشت ٤۸ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شمارش شدند [١٤].

۲-۲-۵- تهیه خمیر ترش

خمیرترش طبق روش liu و همکاران (۲۰۱۹) تهیه شد [١٦]. برای این کار ۱ میلی‌لیتر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم حاوی* 10^7 CFU / mL در ۱۰۰ میلی لیتر MRS براث در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت انکوبه شد و ۱ میلی لیتر *ساکارومایسس سرویزیه* حاوی 10^4 CFU / mL در ۱۰۰ میلی‌لیتر در محیط کشت عصاره مخمر در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت انکوبه شد. سپس محیط‌های کشت حاوی میکروارگانیسم به مدت یک شب در یخچال (٤ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. پس از سانتریفیوژ نمودن محیط کشت به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۲۵۰۰rpm، رسوبات حاصل (حاوی سلول‌های میکروبی) دو بار با آب استریل شسته و سپس مجددا سانتریفیوژ شدند (۲۵۰۰rpm ، ۱۵ دقیقه). خمیرترش با مخلوط کردن ۲۰۰ گرم آرد استریل شده (ماده خشک ۹/۱۲درصد (وزن خشک)، پروتئین ۳/۱۳ درصد (۷۰/۵ N) چربی ۲/۱ درصد (وزن خشک)، خاکستر ٤۹/۰ درصد (وزن خشک) با ۷۰ میلی‌لیتر آب شیر، ۳۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون میکروبی (*ساکارومایسس سرویزیه* 10^7 CFU / mL ، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* 10^9 CFU / mL) به دست آمد. هیدرولیز پروتئین حاصل از ۳ ساعت هیدرولیز آنزیمی متشکل از مقادیر مختلف ۱ تا ۵ درصد تهیه و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ١٦ ساعت در گرم‌خانه نگهداری شد. خمیرترش شاهد (فاقد پپتید) با شرایط یکسانی گرم‌خانه‌گذاری شد.

۲-۲-٦- تهیه نان

برای تهیه خمیر شاهد ۱۰۰ گرم آرد با ۱٪ نمک ، ۱٪ بهبود دهنده ، ۱/۵٪ مخمر و ۲۰٪ خمیرترش مخلوط گردید [۱۵]. جذب آب در فارینوگراف به عنوان میزان آب مورد نیاز برای تهیه خمیر در نظر گرفته می‌شود [۱۷]. که این مقدار ٥٦٪ (٥٦ میلی لیتر به ازای ۱۰۰ گرم آرد) بود.

خمیر بعد از تهیه جهت استراحت اولیه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس به قطعات ۵۰ گرمی تقسیم و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۸۵٪ به مدت ۹۰ دقیقه نگهداری شد (استراحت ثانویه). خمیرهای آماده به مدت ۱۵ دقیقه در فر با دمای ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد پخته شدند و به مدت ۱ ساعت در شرایط بهداشتی سرد شدند و سپس در کیسه های پلی اتیلن در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد

بسته‌بندی گردید [۱۸].

۲-۲-۷- اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتر و pH

برای تعیین pH خمیرترش و نان ۱۰ گرم از نمونه با ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر هموژن گردید. سپس pH نمونه ها با استفاده از pH متر اندازه‌گیری (Hanna, Germany) شد. اسیدیته قابل تیتر نیز با تیتراسیون نمونه‌ها با سود ۱/۰ نرمال تا pH۵/۸ صورت گرفت. مقدار سود مصرفی به عنوان میزان اسید لاکتیک موجود در خمیرترش و نان در نظر گرفته شد [۱۵].

۲-۲-۸- تعیین رطوبت، فعالیت آبی نان و افت وزن

جهت تعیین رطوبت نان ابتدا پوسته‌ی نان حذف شد و پس از توزین مقداری از مغز نان به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. تفاوت میان وزن اولیه و وزن نهایی نان به عنوان درصد رطوبت نان محاسبه می‌شود.

فعالیت آبی نان نیز با استفاده از دستگاه سنجش فعالیت آبی (MS1, Novasina, Switzerland) تعیین شد. دستگاه در ابتدا با استفاده از محلول کلرید پتاسیم کالیبره گردید. سپس نمونه‌ها به صورت قطعات برش خورده در داخل پلیت پلاستیکی واقع در مخزن دستگاه قرار گرفت و درب مخزن کاملا بسته شد. بعد از حدود ۲۰ دقیقه اگر عدد خوانده شده تغییری نکرد و ثابت ماند، به عنوان فعالیت آبی نمونه گزارش می‌شود.

جهت تعیین افت پخت نان، وزن چانه‌ها (۵ ±۴۰ گرم) و وزن نان‌های حاصل، پس از پخت و سرد کردن، اندازه‌گیری و با فرمول زیر افت نان محسابه شد [۱۹].

۱۰۰× وزن چانه / وزن نان پس از پخت- وزن چانه نان =وزن افت٪

۲-۲-۹- حجم ویژه نان

برای انجام این آزمایش برشی از مغز نان تهیه و با استفاده از تعیین حجم ویژه توسط دانه کلزا به روش AACC با شماره۱۰-۰۵ اندازه‌گیری شد [۲۰].

۲-۲-۱۰- کالریمتری اسکن افتراقی (DSC)

تجزیه و تحلیل کالریمتری با استفاده از کالری سنج DSC (DSC PT 10, Linseis, Germany) بعد از گذشت یک و ۵ روز پس از پخت تعیین شد. حدود ۱۰ میلی‌گرم از نمونه‌ی نان در یک ظرف آلومینیومی قرار داده شد. درب ظرف محکم بسته شده و توزین گردید. سپس همه نمونه‌ها با سرعت ۱۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه از دمای ۲۰ به ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد رسیدند وگرمای ذوب نشاسته محاسبه شد. مقیاس درجه حرارت DSC و جریان گرما با استفاده از یک نمونه استاندارد indium کالیبره شد [۲۱].

۲-۲-۱۱- ارزیابی حسی

هر نمونه توسط ۱۰ ارزیاب مورد بررسی قرار گرفت. در هر بخش ۲ نمونه به صورت تصادفی ارائه شد و از آنها خواسته شد تا ویژگی‌های ظاهری نان شامل شکستگی و پارگی، ویژگی‌های پخت، فرم و شکل، رنگ پوسته، حجم و پذیرش کلی را ارزیابی کنند. در این آزمون از مقیاس ۵ نقطه ای استفاده گردید که در آن ۵= بسیار خوب، ٤= خوب، ۳= متوسط، ۲=بد و ۱= بسیار بد توصیف شد. از آب برای شستشوی دهان بین ارزیابی ها استفاده شد [۲۲].

۲-۲-۱۲- تجزیه و تحلیل داده‌ها

در این تحقیق در بخش تاثیر پروتئین‌ها و پپتیدهای زیست فعال دانه تاج خروس در زمان‌های مختلف (۱۵ تیمار) بر میکروارگانیسم‌ها در شرایط آزمایشگاهی و بررسی تاثیر غلظت پپتید(٦ تیمار) بر ویژگی‌های خمیرترش به طور جداگانه در قالب طرح کاملا تصادفی با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) در سطح احتمال ۹۵٪ (P<۰,۰۵). انجام گرفت. جهت بررسی و تاثیر پپتید (۲ تیمار) بر ویژگی‌های نان از آزمون T-test استفاده گردید. تمام آنالیزها با نرم افزار SPSS 20 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) انجام شد. رسم نمودارهای دو بعدی با نرم‌افزار اکسل Excel 2020 صورت پذیرفت. داده‌ها بر حسب میانگین ± انحراف معیار بیان شدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- شناسایی پروتئین‌های آلبومین، گلوبولین و پروتئین کل آمارانت با استفاده از روش SDS-PAGE

آنالیز پروتئین‌های آلبومین، گلوبولین و پروتئین کل آمارانت با استفاده از روش SDS-PAGE در شکل ۱ نشان داده شده است. شکل B.۱. زیرواحدهای مختلف پروتئین کل آمارانت را نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشخص است این پروتئین دارای زیرواحدهایی با وزن‌های مولکولی کم بین ۱۵ تا ۱۸ کیلودالتون

می‌باشد. پروتئین‌های با وزن مولکولی متوسط در دامنه ۳۱ تا ۳٤ کیلودالتون و زیرواحدهای با وزن مولکولی زیاد در رنج ۵۷ تا ۷۲ کیلودالتون نیز در آن مشاهده می‌شود. این نتایج با مطالعات Cárdenas-Torres و همکاران (۲۰۱۹) مطابقت داشت [۲۳]. آنها اذعان داشتند که اغلب پروتئین‌های آمارانت در رنج ۱٤ تا ٤۵ کیلودالتون قرار دارند. همانطور که در شکل C.۱ مشاهده می‌شود آلبومین دارای یک باند اصلی با وزن مولکولی تقریبا ۳٤ کیلودالتون و یک سری باندهای فرعی با وزن مولکولی بین ۱۰ تا ۱۸ کیلودالتون است. در این پروتئین همچنین تعدادی زیرواحد با وزن مولکولی متوسط در رنج ٤۳ تا ۷۰ کیلودالتون قابل مشاهده می‌باشد. این نتایج با مطالعات Jassen و همکاران (۲۱۷) مطابقت داشت[۲٤]. در شکل D.۱ زیرواحدهای اصلی گلوبولین با وزن مولکولی ۲۹ کیلودالتون و ۵٤ کیلودالتون و زیرواحدهایی فرعی با وزن مولکولی ۷۰ و ۸۰ کیلودالتون مشاهده گردید. این نتایج مطابق یافته‌های Barbara dela rosa و همکاران (۲۰۱۰) می باشد [۱۲].

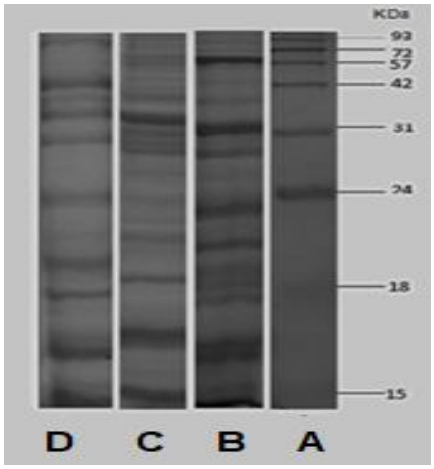

Fig 1 Identification of albumin, globulin and total protein of amaranth plant using SDS-PAGE method
A: Lader, B: Total protein, C: Albumin T: Globulin

۳-۲- تاثیر پروتئین‌های هیدرولیز شده ی آمارانت بر رشد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *ساکارومایسس سرویزیه* در شرایط آزمایشگاهی

شکل های ۲ و ۳ تأثیر پروتئین های آمارانت (پروتئین کل، گلوبولین و آلبومین) و پپتیدهای حاصل از آنها را در زمان های ۵/۰، ۵/۱، ۳ و ۵ ساعت پس از هیدرولیز بر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *ساکارومایسس سرویزیه* در شرایط آزمایشگاهی نشان می‌دهند. نتایج حاصل نشان داد که هیدرولیز پروتئین کل در زمان ۳ ساعت بیشترین تاثیر را بر رشد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (٤۰/۱۱) داشت وکمترین میزان رشد باکتری مربوط به گلوبولین هیدرولیز نشده (زمان صفر) (Log CFU / mL ۰٦/۷) بود (P<۰,۰۵). این نتایج احتمالا بیانگر این است که پپتیدها نسبت به پروتئین‌ها تاثیر بیشتری بر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* داشته اند. در این راستا محققان بیان کردند که هیدرولیز جزئی پروتئین میگو می‌تواند بر رشد *لاکتوباسیلوس کازئی* تاثیر بسزایی داشته باشد [۲۵].

مطابق نتایج شکل ۳، رشد مخمر در محیط کشت حاوی پروتئین کل هیدرولیز شده‌ی آمارانت پس از ۳ ساعت دارای کمترین میزان (Log CFU / mL ۳۲/۸) بود (P<۰,۰۵). همانطور که در شکل ۳ مشخص است پروتئین‌ها در مقایسه با پپتیدها دارای تاثیر کمتری بر رشد مخمر بودند و در این میان محیط کشت حاوی گلوبولین در زمان صفر (هیدرولیز نشده) نسبت به سایر تیمارها از نظر آماری بر رشد ساکارومایسس سروزیه کمترین میزان رشد (Log CFU / mL ۳/٤) را دارا بود (P<۰,۰۵). در تحقیقی از گلوتن هیدرولیز شده گندم جهت تاثیر بر رشد مخمر استفاده گردید. نتایج نشان داد که این پروتئین نه تنها میزان رشد و تولید اتانول را افزایش می-دهد بلکه بر مقاومت آن در شرایط تنش‌زا مانند محیط حاوی مقادیر بالای اتانول تاثیر مطلوبی دارد [۲]. مطابق نتایج حاصل از شکل ۲ و ۳، اگرچه پروتئین‌های آلبومین و گلوبولین نسبت به نمونه‌ی شاهد بر رشد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *ساکارومایسس سرویزیه* موثر هستند اما از نظر آماری در مقایسه با پروتئین کل هیدرولیز شده‌ی آمارانت دارای اثر کمتری بودند.

در شکل٤ تاثیر مقادیر مختلف پپتید حاصل از هیدرولیز پروتئین کل آمارانت پس از ۳ ساعت هیدرولیز بر رشد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *ساکارومایسس سرویزیه* در شرایط آزمایشگاهی نشان داده شده است. نتایج حاکی از آن است که با افزایش مقدار پپتید، رشد میکروارگانیسم‌های مذکور افزایش یافته و تمام تیمارها نسبت به نمونه‌ی شاهد به طور معنی‌داری باعث افزایش رشد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *ساکارومایسس سرویزیه* گردید (P<۰,۰۵). پپتید موجود در محیط کشت با

غلظت ۱% نسبت به شاهد منجر به رشد بیشتر باکتری گردید و رشد باکتری در حضور ۲% پروتئین هیدرولیز شده در زمان سه ساعت نسبت به میزان ۱% از نظر آمارای معنی دار بود ($P<۰,۰۵$) بیشترین رشد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در محیط کشت حاوی ۵ درصد پپتید (۸/۹ Log CFU / mL) ثبت گردید ($P<۰,۰۵$).

بر اساس نتایج به دست آمده تمام مقادیر پپتید به طور معنی-داری بر رشد مخمر مورد نظر تاثیر داشتند و با افزایش غلظت پپتید رشد مخمر افزایش یافت و به این ترتیب بیشترین شمارش *ساکارومایسس سرویزیه* در محیط کشت حاوی ۵ درصد پپتید (۴۲/۶ Log CFU / mL) به دست آمد ($P<۰/۰۵$).

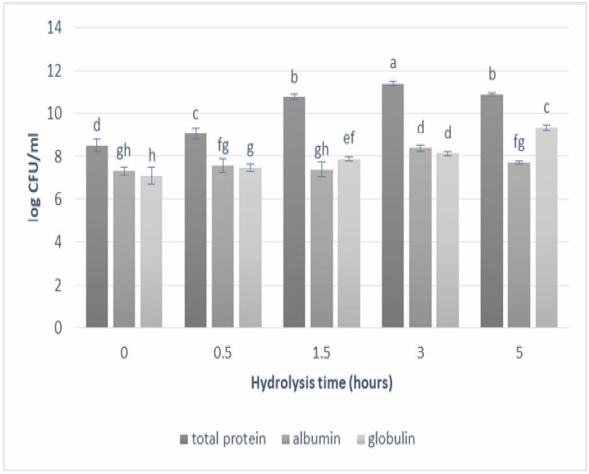

Fig 2 The effect of hydrolysis time (zero, 0.5, 1.5, 3 and 5 hours) of total protein, globulin and albumin amaranth on the growth of *Lactobacillus plantarum*

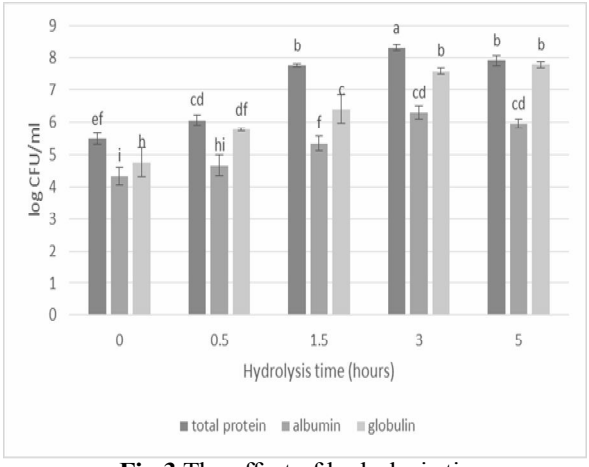

Fig 3 The effect of hydrolysis time (zero, 0.5, 1.5, 3 and 5 hours) of total protein, globulin and albumin amaranth on the growth of *Saccharomyces cerevisiae*

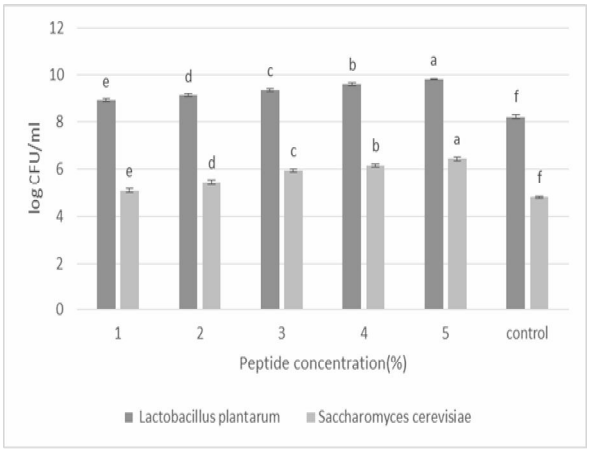

Fig 4 The effect of different amounts of amaranth peptides on the growth of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae*

Zhang و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که قابلیت دسترسی راحت لاکتوباسیلوس‌ها به پپتیدهای کوچک نسبت به پلی-پپتیدها سبب رشد بیشتر آن‌ها می‌گردد که نتایج تحقیقات حاضر نیز با این بررسی مطابقت داشت [۲۶].

۳-۳- بررسی اثر پپتیدهای حاصل از پروتئین کل آمارانت بر ویژگی‌های خمیرترش

ویژگی‌های خمیرترش حاوی مقادیر مختلف ۱ – ۵٪ پپتید در جدول ۱ نشان داده شده است. pH اولیه خمیرترش حاوی مقادیر مختلف پپتید بین ۳/۶ تا ۵۳/۶ بود و پس از گذشت ۱۶ ساعت از زمان تخمیر این مقادیر بین ۰۵/۴ تا ۴۱/۴ متغییر بود. در زمان صفر pH در تمام تیمارها از نظر آماری معنی دار نبود اما پس از ۱۶ ساعت تیمارهای حاوی پپتید به جز خمیرترش حاوی ۱٪ پپتید نسبت به نمونه ی شاهد تفاوت معنی داری داشتند ($P<۰,۰۵$). خمیرترش حاوی ۵٪ پپتید و نمونه‌ی شاهد به ترتیب دارای بیشترین و کمترین pH بودند. اسیدیته قابل تیتر در روز اول در تمام نمونه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت اما پس از ۱۶ ساعت گرم‌خانه‌گذاری تمام نمونه‌ها نسبت به نمونه‌ی شاهد تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۱) ($P<۰/۰۵$). با افزایش میزان پپتید میزان اسیدیته نیز افزایش می‌یابد و به این ترتیب نمونه‌ی حاوی ۵٪ پپتید بیشترین اسیدیته (۸۸/ ۱۳ میلی‌لیتر NaOH) را داشت ($P<۰/۰۵$). خاصیت بافری پپتیدها سبب شده است تا با افزایش پپتید، بر خلاف تغییرات جزئی pH، اسیدیته کل قابل تیتر افزایش یابد به طوری که اسیدیته خمیرترش حاوی ۵٪ پپتید (۸۸/۱۳ میلی‌لیتر NaOH) نسبت به شاهد

(۲۹/۸mL NaOH) دارای تفاوت معنی داری بود ($P<$۰,۰۵) در شکل ۵ تاثیر غلظت پپتید حاصل از پروتئین کل آمارانت بر رشد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *ساکارومایسس سروزیه* در خمیرترش بررسی شده است. مشاهدات نشان می‌دهد به طور کلی با افزایش مقدار غلظت پپتیدهای آمارانت در خمیرترش رشد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *ساکارومایسس سروزیه* در خمیرترش افزایش می‌یابد. نمونه‌ی بدون پپتید (شاهد) نسبت به سایر تیمارها کمترین میزان رشد باکتری و مخمر را داشت و غلظت ۵٪ پپتید دارای بیشترین میزان بود ($P<$۰,۰۵). Duan و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که پروتئین هیدرولیز شده سبب رشد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و افزایش تولید اسید در طی فرایند تخمیر می‌گردد [۲۵]. تحقیق حاضر با این تحقیقات کاملا مطابقت داشت.

بر اساس آزمایشات حسی انجام گرفته نان تولید شده از خمیرترش حاوی ٤ و ۵٪ پپتید دارای طعم اسیدی و نامطلوبی بودند و نان حاصل از خمیرترش حاوی ۳٪ پپتید در ۱۰۰ گرم خمیرترش به عنوان بهترین تیمار مورد بررسی قرار گرفت.

Table 1 The effect of amaranth total hydrolyzed protein concentration on pH and titratable acidity of sourdough at 0 and 16 hours

Peptide concentration (%)	Befor fermentation		16 hours after fermentation	
	pH	TTA	pH	TTA
1	6.30±0.11 [a]	1.67±0.09[a]	4.09±0.04[e]	9.36±0.05[e]
2	1.75±0.10 [a]	1.75±0.02[a]	4.19±0.02[d]	10.89±0.00[d]
3	1.82±0.17 [a]	1.82±0.03[a]	4.25±0.02[c]	11.51±0.09[c]
4	1.88±0.15 [a]	1.88±0.05[a]	4.32±0.03[b]	12.95±0.14[b]
5	1.90±0.10 [a]	1.90±0.01[a]	4.41±0.02[a]	13.88±0.21[a]
Control	1.61±0.05 [a]	1.61±0.01[a]	4.05±0.02[e]	8.29±0.01[f]

Different small superscript indicate significant difference (P<0.05).

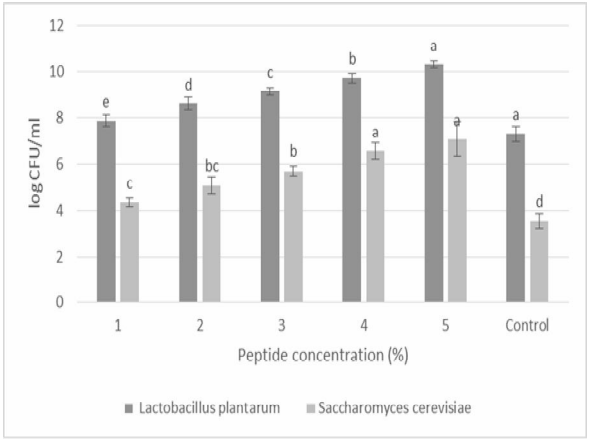

Fig 5 Effect of different concentrations of hydrolyzed amaranth protein on the growth of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae* in sourdough

۳-٤- بررسی خواص نان حاوی پروتئین‌های هیدرولیز شده‌ی آمارانت

جدول ۲ نتایج حاصل از تاثیر پروتئین کل هیدرولیز شده بر افت وزن، رطوبت، حجم مخصوص و aw نان را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود نان حاوی پپتید (۳%) (۳٦/۳) نسبت به نمونه ی شاهد (٤٦/۲) دارای حجم ویژه بیشتری بود. Liu و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که پپتیدهای کوچک مولکول و اسیدهای آمینه‌ی آزاد در تولید اسیدلاکتیک و دی اکسید کربن توسط اسیدلاکتیک باکتری و مخمر نقش مهمی دارد [۱٦]. بنابراین حجم ویژه‌ی نان تشکیل شده از خمیر ترش حاوی پپتید (۳٪) منجر به افزایش رشد بیشتر مخمر و تولید دی اکسید کربن می‌گردد. نتایج حاصل از افزودن پپتید بر افت وزن و فعالیت آبی تیمارها در جدول۲ نشان داد افت وزن نان حاوی پپتید (۷/۱۹%) نسبت به شاهد (۹٦/۲۹٪) کمتر است ($P<$۰/۰۵). فعالیت آبی نان حاوی پپتید (۲/۸۸) نیز نسبت به نمونه‌ی شاهد (۳/۹۱) به طور معنی‌داری بیشتر بود اما بر خلاف آن میزان رطوبت آن کمتر اندازه‌گیری شد (۰۳/۲٤٪) ($P<$۰,۰۵). تحقیقات نشان می‌دهد که فعالیت پروتئاز آرد و آمیلاز در حین آماده‌سازی خمیر سبب کاهش pH می‌گردد [٤]. از طرف دیگر با افزایش فعالیت پروتئولیتیکی نان در حضور پپتیدها، آب آزاد با شبکه‌ی گلوتنی پیوند برقرار می‌کند. و به همین علت اگرچه میزان رطوبت نان حاوی پپتید بیشتر از نمونه‌ی شاهد است اما فعالیت آبی آن کمتر بوده و در نتیجه سرعت بیاتی را کند می‌کند.

Table 2 The effect of amaranth (3%) total hydrolyzed protein on weight loss, moisture, specific volume, aw and enthalpy of bread

Properties	Bread prepared by		F
	Modified sourdough made by total hydrolyzed protein (3%)	Common sourdough	
Special volume	3.36±0.15	2.46 ± 0.20	t= 6.03, sig= 0.00
Weight loss (percentage)	19.7 ± 0.55	29.96 ± 1.56	t= -10.71, sig= 0.00
Humidity (percentage)	26.2 ±0.80	24.03 ± 0.15	t= 4.6, sig= 0.00
aw	0.882 ± 0.010	0.913 ± 0.096	t= -3.86, sig= 0.01

Different small superscript indicate significant difference (P<0.05).

تاثیر نان حاوی پپتید بر دمای شروع، حداکثر و نهایی در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان می دهد که دمای شروع تبلور و دمای پایان در روز اول پس از پخت و همچنین ۵ روز پس از پخت در نان حاوی پپتید(۳%) نسبت به شاهد کمتر بود ($P<۰,۰۵$). آنتالپی نیز در روز اول و همچنین روز پنجم پس از پخت در نان حاوی پپتید (۳%) نسبت به نمونه‌ی شاهد معنی دار بود ($P<۰,۰۵$). Corsetti و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند جهت تعیین میزان بیاتی نان می‌توان از آنتالپی استفاده کرد به نحوی که با افزایش میزان آنتالپی میزان بیاتی نان افزایش می‌یابد [۲۷]. سویه‌های اسیدلاکتیک باکتری‌ها که در خمیرترش وجود دارند با تولید آنزیم‌ها سبب تجزیه‌ی نشاسته می‌شوند و از کریستالیزاسیون مجدد آن در نان جلوگیری می‌کنند و به این طریق سرعت بیاتی نان را کاهش می‌دهند [۲۸]. همچنین پپتیدهای آمارانت با نشاسته پیوند برقرار میکنند، که باعث کاهش اتصال نشاسته با مولکول های آب می شود و تجزیه مجدد نشاسته را کاهش می‌دهد و این امر می تواند علت کاهش بیاتی نان را توضیح دهد[۸]. این نتایج با تحقیقات Karimi و همکاران (۲۰۲۰) مطابقت داشت [۸].

Table 3 The effect of amaranth hydrolyzed protein on start temperature, peak temperature, end temperature and bread enthalpy

Properties	Bread prepared by		F
	Modified sourdough made by total hydrolyzed protein (3%)	Common sourdough	
Onset temperature (1 day)	32.13 ± 0.208	46.83 ± 1.96	t= -12.91, sig= 0.000
Pick temperature (1 day)	89.23 ± 0.90	93.1- ± 2.56	t= -2.48, sig= 0.068
Offset temperature(1 day)	112.16 ± 3.05	124. 66 ± 1.41	t= -6.43, sig= 0.003
Enthalpy(1 day)	124.13 ± 2.43	130.70 ± 1.30	t=-4.12, sig= 0.015
Onset temperature(5 day)	47.06 ± 1.96	65.63 ± 2.15	t= -11.02, sig= 0.00
Pick temperature(5 day)	64.90 ± 1.77	96.33 ± 2.10	t= -6.03, sig= 0.000
Offset temperature(5 day)	100.96 ± 1.65	133.30 ± 0.91	t= -30.06, sig= 0.00
Enthalpy(5 day)	150.60 ± 15.69	180.40 ± 4.55	t= - 3.15, sig= 0.03

Different small superscript indicate significant difference (P<0.05).

نتایج حاصل از آزمون نفوذ برای نان حاوی پپتید و نمونه ی شاهد در جدول ٤ آمده است. نتایج نشان داد که به طور کلی با گذشت زمان سفتی نان افزایش می‌یابد و در روز پنجم بیشترین میزان سختی و انرژی در تیمارها مشاهده شد ($p<۰,۰۵$). اما نمونه های حاوی پپتید نسبت به نمونه‌ی شاهد دارای سفتی کمتری بودند و در نتیجه انرژی کمتری جهت ورود پروب مربوطه به نان نیاز بود ($p<۰,۰۵$). این نتایج با تحقیقات Guo و همکاران (۲۰۲۰) مطابقت داشت [۲۹]. آنها بیان کردند که در اثر رشد بیشتر اسید لاکتیک باکتری ها، عمر نگهداری نان افزایش می یابد و بیاتی به تاخیر می افتد و در نتیجه سفتی نان کاهش می یابد.

تاثیر بیوپپتیدهای حاصل از پروتئین آمارانت بر ویژگی‌های ظاهری نان در جدول ۵ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود نان حاصل از خمیرترش حاوی پپتید (۳٪) از نظر ویژگی‌های ظاهری مانند فرم و شکل پخت، رنگ پوسته، عطر و طعم، قابلیت جویدن و پذیرش کلی نسبت به نان شاهد

امتیاز بیشتری توسط داوران کسب کرد (p <۰,۰۵) رنگ پوسته در اثر قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی در حضور حرارت شکل می‌گیرد و در این رابطه اسیدهای آمینه مانند لیزین نقش مهمی دارند.

Table 4 The effect of amaranth hydrolyzed protein (3%) on energy and bread hardness

Properties	Bread prepared by		F
	Modified sourdough made by total hydrolyzed protein (3%)	Common sourdough	
Hardness (1 day)	37.00±5.00	64.67±12.83	t= - 3.53, sig= 0.024
Energy (1 day)	129.33 ± 25.10	254.67± 28.36	t= - 5.73, sig= 0.005
Hardness (3 day)	88.33± 3.21	132.67± 10.26	t= - 7.14, sig= 0.002
Energy (3 day)	229.00± 32.14	342.67± 31.89	t= - 4.38, sig= 0.012
Hardness (5 day)	106.00 ± 7.81	192.67± 32.13	t= - 4.54, sig= 0.010
Energy (5 day)	512.67 ± 10.97	808.67 ± 20.23	t= - 22.27, sig= 0.000

Different small superscript indicate significant difference (P<0.05).

یکی از مهمترین و بیشترین اسیدهای آمینه‌ی آمارانت لیزین است به این علت نان حاوی پپتید آمارانت در اثر حرارت و انجام واکنش قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی رنگ پوسته‌ی نان حاصل نسبت به نمونه‌ی شاهد بیشتر بود. حجم نان حاوی پپتید نیز به علت رشد بیشتر مخمر و در نتیجه افزایش میزان بیشتر گاز دی‌اکسیدکربن بالاتر بود. خمیر ترش حاوی پپتید (۳٪) باعث نرمی نان شده، قابلیت جویدن و پذیرش کلی نان را نسبت به شاهد بهبود می‌بخشد (جدول ۵) (p<۰,۰۵). نان حاوی پپتید (۳٪) نسبت به نان شاهد از نظر طعم و مزه امتیاز بالاتری داشتند. پپتیدهای کوچک و اسیدهای آمینه آزاد از هیدرولیز پروتئین صدف طعم نان را افزایش می‌دهد [۳۰]. همچنین، پپتیدها به دلیل افزایش رشد مخمر و اسید لاکتیک باکتری، تولید اسید لاکتیک و الکل را در خمیر ترش افزایش می‌دهند و در نتیجه نان طعم بهتری خواهد داشت [۲۰]. در خمیر ترش، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در حین تخمیر گلوتامین را گلوتامات و آلفا آمینوبوتریک اسید تبدیل می‌کند [۳۱]. رشد بیشتر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *ساکارومایسس سرویزیه* در خمیر ترش حاوی پپتید (۳٪) ممکن است در طعم بهتر نان نقش داشته باشد.

Table 5 Sensory analysis of breads fermented with different sourdough

Properties	Bread prepared by		F
	Modified sourd ough made by total hydrolyzed protein (3%)	Common sourdough	
shape	4.80 ± 0.42	3.20 ± 0.91	t= 5.00, sig= 0.00
taste	4.7 ± 0.13	3.60 ± 0.16	t= 5.69, sig= 0.00
Crust color	4.90 ± 0.31	3.50 ± 0.85	t= 4.88 sig= 0.00
Ability to chew	4.5 ± 0.70	3.30 ± 0.94	t= 3.02 sig= 0.00
acidity	4.6 ± 0.16	3.4 ± 0.22	t=4.366; sig= 0.00
Overall acceptability	4.90 ± 0.31	3/00 ± 0.81	t= 6.86, sig= 0.00

Different small superscript indicate significant difference (P<0.05).

٤- نتیجه گیری

استفاده از غذاهای عملگرا، مکمل‌های رژیمی و دارویی که حاوی پپتیدهای مشتق شده از پروتئین‌های غذایی هستند، روز به روز در حال گسترش است و از جمله علل آن می‌توان به میزان پروتئین بالا، عملگرایی خوب، ترکیبات زیست فعال و مقدار کم عوامل ضد تغذیه‌ای اشاره نمود. نتایج این تحقیق نشان دهنده‌ی تاثیر غلظت پپتیدهای زیست فعال حاصل از که پروتئین کل هیدرولیز شده‌ی آمارانت بر رشد فلور میکروبی خمیرترش و ویژگی‌های نان بود. پپتیدهای آمارانت حاصل از پروتئین کل تاثیر بسزایی بر رشد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *ساکارومایسس سرویزیه* در محیط آزمایشگاهی و خمیرترش داشتند. همچنین این نوع پپتید سبب افزایش حجم و اسیدیته قابل تیتر و کاهش سختی نان در مقایسه با نمونه شاهد گردید. نان تهیه شده از خمیرترش اصلاح شده خواص حسی و ماندگاری بیشتری داشت و کیفیت آن بهبود یافت. با توجه به

نتایج بالا ممکن است پروتئین هیدرولیز شده‌ی آمارانت به عنوان یک افزودنی طبیعی بر خمیرترش و نان موثر باشد.

۵- تقدیر و تشکر

بخشی از هزینه های این مقاله توسط پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ارومیه تامین گردیده است.

٦- منابع

[1] Delgado, M. C. O., Tironi, V. A., & Añón, M. C. (2011). Antioxidant activity of amaranth protein or their hydrolysates under simulated gastrointestinal digestion. *LWT - Food Science and Technology*, *44*(8), 1752–1760. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.04.002

[2] Zhou, Y., Yang, H., Zong, X., Cui, C., Mu, L., & Zhao, H. (2018). Effects of wheat gluten hydrolysates fractionated by different methods on the growth and fermentation performances of brewer's yeast under high gravity fermentation. *International Journal of Food Science & Technology*, *53*(3), 812-818.

[3] Falade, A. T., Emmambux, M. N., Buys, E. M., & Taylor, J. R. N. (2014). Improvement of maize bread quality through modi fi cation of dough rheological properties by lactic acid bacteria fermentation. *Journal of Cereal Science*, *60*(3), 471–476. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2014.08.010

[4] Arendt, E. K., Ryan, L. A., & Dal Bello, F. (2007). Impact of sourdough on the texture of bread. Food Microbiology, 24(2), 165–174.

[5] Rabiei, S., Rezaei, M., Nikoo, M., Khezri, M., Rafieian-Kopai, M., & Anjomshoaa, M. (2021). Antioxidant properties of Klunzinger's mullet (*Liza klunzingeri*) protein hydrolysates prepared with enzymatic hydrolysis using a commercial protease and microbial hydrolysis with *Bacillus licheniformis*. *Food Science and Technology International*, 10820132211005297.

[6] Acosta, C., Carpio, C., Vilcacundo, R., & Carrillo, W. (2016). Identification of proteins isolate from amaranth (Amaranthus caudatus) by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis with water and NaCl 0.1 m solvents. *Asian J. Pharm. Clin. Res*, *9*(3), 331-334.Arendt, E. K., Ryan, L. A., & Dal Bello, F. (2007). Impact of sourdough on the texture of bread. *Food microbiology*, *24*(2), 165-174.

[7] Montoya□Rodríguez, A., Gómez□Favela, M. A., Reyes□Moreno, C., Milán-Carrillo, J., & González de Mejía, E. (2015). Identification of bioactive peptide sequences from amaranth (Amaranthus hypochondriacus) seed proteins and their potential role in the prevention of chronic diseases. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 14(2)*, 139-158.

[8] Karimi, N., Nikoo, M., Gavlighi, H. A., Gheshlaghi, S. P., Regenstein, J. M., & Xu, X. (2020). Effect of pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei) protein hydrolysates (SPH) and (−)-epigallocatechin gallate (EGCG) on sourdough and bread quality. *LWT*, *131*, 109800.

[9]Scilingo, A. A., Eugenia, S., Ortiz, M., Nora, E., & An, C. (2002). *Amaranth protein isolates modified by hydrolytic and thermal treatments . Relationship between structure and solubility*. *35*, 855–862.

[10] Silva-Sánchez, C., De La Rosa, A. B., León-Galván, M. F., De Lumen, B. O., de León-Rodríguez, A., & De Mejía, E. G. (2008). Bioactive peptides in amaranth (Amaranthus hypochondriacus) seed. *Journal of agricultural and food chemistry*, *56*(4), 1233-1240.

[11] Amiri, S., Mokarram, R. R., Khiabani, M. S., Bari, M. R., & Khaledabad, M. A. (2022). Characterization of antimicrobial peptides produced by Lactobacillus acidophilus LA-5 and Bifidobacterium lactis BB-12 and their inhibitory effect against foodborne pathogens. *LWT*, 153, 112449.

[12] Barba de la Rosa, A.P. Barba Montoya, A. Pedro Martínez-Cuevas, P. Hernández-Ledesma, B.León-Galván, M.F. De León-Rodríguez, A. and González, C. 2010. Tryptic amaranth glutelin digests induce endothelial nitric oxide production through inhibition of ACE: Antihypertensive role of amaranth peptides. *Nitric oxide, 23*, 106–111.

[13] Nikoo, M., Benjakul, S., Ehsani, A., Li, J., Wu, F., Yang, N., and Xu, X. (2014). Antioxidant and cryoprotective effects of a tetrapeptide isolated from Amur sturgeon skin gelatin. *Journal of Functional Foods*, 7, 609-620.

[14] Vermeulen, N., Gänzle, M. G., & Vogel, R. F. (2006). Influence of peptide supply and cosubstrates on phenylalanine metabolism of *Lactobacillus sanfranciscensis* DSM20451T and *Lactobacillus plantarum* TMW1.

F. (2019). Assessing the sensitizing and allergenic potential of the albumin and globulin fractions from amaranth (Amaranthus hypochondriacus) grains before and after an extrusion process. Medicina, 55(3), 72.

[24] Janssen, F., Pauly, A., Rombouts, I., Jansens, K. J., Deleu, L. J., & Delcour, J. A. (2017). Proteins of amaranth (Amaranthus spp.), buckwheat (Fagopyrum spp.), and quinoa (Chenopodium spp.): A food science and technology perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *16*(1), 39-58.

[25] Duan, S., Zhang, Y. X., Lu, T. T., Cao, D. X., & Chen, J. D. (2011). Shrimp waste fermentation using symbiotic lactic acid bacteria. *Advanced Materials Research, 194*, 2156–2163.

[26] Zhang, Q., Ren, J., Zhao, M., Zhao, H., Regenstein, J. M., Li, Y., & Wu, J. (2011). Isolation and characterization of three novel peptides from casein hydrolysates that stimulate the growth of mixed cultures of Streptococcus thermophilus and Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus. *Journal of agricultural and food chemistry*, *59*(13), 7045-7053.

[27] Corsetti, A., Gobbetti, M., Balestrieri, F., Paoletti, F., Russi, L., & Rossi, J. (1998). Sourdough lactic acid bacteria effects on bread firmness and stalin. *Journal of Food Science*, *63(2),* 347-351.

[28] Fadda, C., Sanguinetti, A. M., Del Caro, A., Collar, C., & Piga, A. (2014). Bread staling: updating the view. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *13*(4), 473-492.

[29] Guo, L., Xu, D., Fang, F., Jin, Z., & Xu, X. (2020). Effect of glutathione on wheat dough properties and bread quality. Journal of Cereal Science, 96, 103116.

[30] Vijaykrishnaraj, M., Roopa, B. S., & Prabhasankar, P. (2016). Preparation of gluten free bread enriched with green mussel (*Perna canaliculus*) protein hydrolysates and characterization of peptides responsible for mussel flavour. *Food Chemistry*, *211*, 715-725.

[31] Stromeck, A., Hu, Y., Chen, L., & G€anzle, M. G. (2011). Proteolysis and bioconversion of cereal proteins to glutamate and γ-aminobutyrate (GABA) in rye malt sourdoughs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59*(4), 1392–1399.

468. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54*(11), 3832-3839.

[15] Katina, K., Arendt, E., Liukkonen, K. H., Autio, K., Flander, L., & Poutanen, K. (2005). Potential of sourdough for healthier cereal products. *Trends in Food Science & Technology*, *16*(1-3), 104-112.

[16] Liu, A., Jia, Y., Zhao, L., Gao, Y., Liu, G., Chen, Y., . . . Liu, S. (2018). Diversity of isolated lactic acid bacteria in Ya'an sourdoughs and evaluation of their exopolysaccharide production characteristics. Lwt, 95, 17-22. 435 doi:10.1016/j.lwt.2018.04.061

[17] Cagno, R.D. Angelis, M.D. Lavermicocca, P. Vincenzi, M.D. Giovannini, C. and Faccia, M. 2002. Proteolysis by Sourdough Lactic Acid Bacteria: Effects on Wheat Flour Protein Fractions and Gliadin Peptides Involved in Human Cereal Intolerance. Applied environmental microbiology. 68(2), 623-633.

[18] Meignen, B., Onno, B., Gelinas, P., Infantes, M., Guilois, S., & Cahagnier, B. (2001). Optimization of sourdough fermentation with Lactobacillus brevis and baker's yeast. *Food Microbiology, 18(3),* 239–245.

[19] Phimolsiripol, Y., Siripatrawan, U., Tulyathan, V., & Cleland, D. J. (2008). Effects of freezing and temperature fluctuations during frozen storage on frozen dough and bread quality. Journal of Food Engineering, 84(1), 48-56.

[20]Yu, Yafang, Li Wang, Haifeng Qian, Hui Zhang, Yan Li, Gangcheng Wu, Xiguang Qi, Meijuan Xu, and Zhiming Rao. 2019. "Effect of Selected Strains on Physical and Organoleptic Properties of Breads." Food Chemistry 276: 547–53. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.048

[21] Torrieri, E., Pepe, O., Ventorino, V., Masi, P., & Cavella, S. (2014). Effect of sourdough at different concentrations on quality and shelf life of bread. *LWT - Food Science and Technology*, 56(2), 508–516.

[22] Chinma, C. E., Anuonye, J. C., Ocheme, O. B., Abdullahi, S., Oni, S., Yakubu, C. M., & Azeez, S. O. (2016). Effect of acha and bambara nut sourdough flour addition on the quality of bread. *LWT*, *70*, 223-228.

[23] Cárdenas-Torres, F. I., Reyes-Moreno, C., Vergara-Jiménez, M. D. J., Cuevas-Rodríguez, E. O., Milán-Carrillo, J., Gutiérrez-Dorado, R., ... & Cabrera-Chávez,

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

The effect of biopeptieds of Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus)* on quality of Baguette bread

Karimi, N. [1], Zeynali, F. [2]*, Rezazad Bari, M. [3], Nikoo, M. [4], Mohtarami, F. [5], Kadivar, M. [6]

1. PhD Student, Food Science and Technology, Urmia University, Urmia, Iran.
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Urmia University, Urmia, Iran.
3. Professor, Department of Food Science and Technology, Urmia University, Urmia, Iran.
4. Associate Professor, Department of Pathobiology, Artemia and Aquaculture Research Institute, Urmia University, Urmia, Iran.
5. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Urmia University, Urmia, Iran.
6. Professor, Department of Food Science and Technology, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2021/ 09/ 20
Accepted 2022/ 01/ 01

Keywords:

Amaranth,
Hydrolyzed protein,
Sourdough,
Bread characteristics.

DOI: 10.52547/fsct.19.122.101

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.122.16.9

*Corresponding Author E-Mail:
f.zeynali@urmia.ac.ir

ABSTRACT

Bioactive peptides are special protein components that have a significant effect on human body function. In this study, the effect of proteins and peptides resulting from the hydrolysis of amaranth proteins (total protein, albumin, and globulin) at levels 1 to 5% and different hydrolysis times (0.5, 1.5, 3, and 5 hours) on The properties of sourdough and the quality of bread were investigated. The results showed that the peptides obtained by hydrolysis of total amaranth protein in 3 hours had the greatest effect on the growth of *Lactobacillus Plantarum* (*PTCC 1896)* (11.40 Log CFU / mL) and *Saccharomyces cerevisiae (PTCC 5052)* (8.32 Log CFU / mL) in vitro. These microbes are the main flora of sourdough and different amounts of peptides on their growth were statistically significant compared to the control sample. The titratable acidity and pH after 16 hours of fermentation at 30 ° C in the wet dough containing 5% peptide were 13.33 mL NaOH and 4.6, respectively, which was higher than other treatments. The highest amount of water activity, specific volume, titratable acidity, and the lowest enthalpy in bread was prepared from sourdough containing 3% peptide. Therefore, bread made from sourdough containing 3% peptides was selected as the best treatment to increase the quality of bread.