استفاده از میکروسکوپ اپی فلورسانس در مطالعه ریز ساختارخمیر نان

سیدهادی پیغمبردوست[۱*]، معصومه دوکوهکی[۲]، محمدرضا دادپور[۱]

۱- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۲- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۳- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: ۸۸/۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۸۸/۵/۲۷)

چکیده

در این مقاله تأثیر هیدراسیون آرد روی تشکیل شبکه گلوتنی خمیر نان مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی نقش هیدراسیون از خمیرهای توسعه یافته بدون اعمال انرژی مکانیکی (خمیرهای ZD)[۱] که مرحله هیدراسیون خود را در خارج از مخلوط‌کن سپری کرده بودند استفاده شد. در این مطالعه نقش دما (دمای یخچال و محیط) و زمان نگهداری (۱/۵، ٤ و ٢٤ ساعت) روی میزان هیدراسیون خمیرهای هیدراته و نحوه شکل گیری فاز گلوتنی در آنها مورد بررسی قرار گرفت. پس از مشاهده ریزساختار خمیرهای هیدراته با استفاده از میکروسکوپ اپی فلورسنس مشخص شد با افزایش زمان هیدراسیون از ۱/۵ ساعت تا ٢٤ ساعت در دمای یخچال (٤ درجه سانتی‌گراد)، و ذوب ذرات یخ موجود در نمونه‌ها و تکمیل عمل هیدراسیون میزان گسترش شبکه گلوتنی افزایش یافت. مشابه همین روند در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) اما با شدت بیشتر مشاهده گردید. هرچند هر دو عامل دما و زمان در میزان هیدراسیون و توسعه شبکه گلوتنی نمونه‌های خمیر نقش دارند اما دمای هیدراسیون ذرات آرد نقش بیشتری در میزان هیدراسیون و به تبع آن در گسترش گلوتن داشت طوری که تیمار هیدراسیون در دمای محیط به مدت ٢٤ ساعت نتیجه بهتری را نسبت به تیمار هیدراسیون در دمای یخچال در همان مدت مشابه نشان داد. بنابراین هیدراسیون ذرات آرد منجر به انجام بخشی از توسعه گلوتن در خمیرهای هیدراته می‌گردد و گلوتن موجود در آنها بدون فرآیند مکانیکی مخلوط کردن و تنها با استفاده از خاصیت تجمع شکل گرفته و گسترش می یابد. اما در خمیر های ZD شبکه گلوتنی یکپارچه و مستحکمی که معمولا در خمیر های مخلوط شده در داخل مخلوط کن نانوایی (تا زمان مخلوط کردن بهینه) وجود دارد، دیده نشد.

کلید واژگان: خمیر، هیدراسیون، گلوتن، ریزساختار

۱- مقدمه

به طور متداول خمیر نان با افزودن آب به آرد و در حضور انرژی یا کار مکانیکی در داخل مخلوط کن تهیه می شود در فرآیند مخلوط کردن خمیر، عملیات توزیع و پراکنده کردن اجزاء خمیر[۲]، هیدراسیون[۳] ذرات آرد، اعمال انرژی مکانیکی، و وارد شدن حبابهای هوا به خمیر (هوادهی مکانیکی) به طور همزمان رخ داده که در نهایت منجر به تشکیل شبکه گلوتنی ویسکوالاستیک با قابلیت نگهداری گاز (حاصل از تخمیر) در خمیر می گردد [۱, ۲].

در دستگاه‌های متداول مانند فارینوگراف و میکسوگراف که عملیات مخلوط کردن خمیر را انجام داده و نتایج آنرا به طور دقیق ثبت می‌نمایند توزیع مواد اولیه همراه با اعمال انرژی صورت گرفته و افزودن آب باعث تورم پروتئین‌ها می‌شود. کار مکانیکی توسط تیغه‌های مخلوط کن در زمان بهینه مخلوط کردن باعث شکل گیری شبکه گلوتنی شده که گرانول‌های نشاسته را احاطه می کند و بدین ترتیب ساختار خمیر شکل می‌گیرد [۲-۸]. این انرژی علاوه بر کمک به توزیع یکنواخت

*مسئول مکاتبات: peighambardoust@tabrizu.ac.ir

1 Zero-mechanical energy Developed (ZD) Dough
2 Distribution
3 Hydration

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

همه ترکیبات به هیدراسیون ذرات آرد و تشکیل ساختار خمیر نیز کمک می کند [۹, ۱۰]. از آنجائی که اجزاء مرحله مخلوط کردن خمیر بطور همزمان عمل می‌نمایند این امر فرآیند مخلوط کردن خمیر را پیچیده کرده و شناخت مکانیسم فرآیند و نحوه اثر آن در تشکیل بافت نهایی در خمیر را با دشواری همراه می-سازد [۳]. مشکل خمیرهای تهیه شده با استفاده از این سیستم مخلوط کردن این است که عوامل توزیع ترکیبات خمیر و انرژی مکانیکی و فاز هیدراسیون قابل تفکیک نیستند. لذا امکان به دست آوردن اطلاعات دقیق در زمینه نقش عوامل مؤثر در مرحله مخلوط کردن روی توسعه شبکه گلوتنی محدود می-گردد. در واقع بسیاری از مخلوط‌کن‌های نانوایی طوری طراحی شده اند که هدف آنها همگن کردن مواد اولیه و ایجاد فرصت برای هیدراته شدن یا جذب بهینه آب توسط ذرات آرد می باشد [۱۰]. مطالعات انجام گرفته در اکثر منابع علمی روی شاخص-هایی چون نوع و اندازه مخلوط‌کن، زمان و سرعت مخلوط کردن، دمای خمیر و شرایط دیگر نظیر نقش انواع افزودنی‌ها (بهبود دهنده‌ها) تمرکز داشته‌اند [٤-٦]. در منابع علمی تحقیقات مدون برای شناخت بهتر عملیات مخلوط‌کردن با بررسی اثر تک‌تک عوامل مؤثر در مرحله مخلوط کردن انجام نگرفته یا تعداد آنها بسیار محدود می باشند. در این میان تنها می‌توان به پژوهش‌های انجام گرفته توسط «پیغمبردوست» و همکاران [۱۱-۱۳] و «پرسینی» و همکاران [١٤] اشاره کرد که در راستای تفکیک شاخص‌های مکانیکی مؤثر در مخلوط کردن خمیر با مطالعه اثرات جریان های برشی[1] و کششی[2] دخیل در فاز مکانیکی مرحله مخلوط کردن می‌باشند.

از دیدگاه بسیاری از محققین واژه گسترش خمیر[3] معمولاً با فاز انرژی مکانیکی مرحله مخلوط کردن عجین است. در حالی که خمیر بدون انرژی مکانیکی هم می‌تواند توسعه پیدا کرده و خواص ویسکوالاستیک از خود نشان دهد [۲, ۱۰, ۱۵-۱۹]. به منظور تفکیک هیدراسیون از انرژی مکانیکی در تهیه خمیر، از خمیرهای ZD که مرحله هیدراسیون خود را در خارج از مخلوط‌کن سپری کرده‌اند، استفاده می‌شود که این سیستم مطالعه دقیق نیروهای مسئول در تشکیل یا تخریب بافت خمیر در طول مرحله مخلوط کردن را امکان پذیر می‌سازد [۲, ۱۷, ۱۸]. عده-ای از پژوهشگران [۲, ۱۰, ۱۳, ۱۵-۱۹] در مطالعات خود رفتار خمیرهای هیدراته بدون اعمال انرژی مکانیکی را در مخلوط کن فارینوگراف مورد بررسی قرار داده‌اند. در این بررسی‌ها به مقایسه رفتار رئولوژیکی و نیز ریزساختار این خمیرها با خمیرهای متداولِ مخلوط شده اکتفا شده و مطالعه جامعی که در برگیرنده نقش مرحله هیدارسیون در شکل گیری شبکه گلوتنی باشد، گزارش نشده است. «آنبهند» و همکاران [١٦] با استفاده از «میکروسکوپ الکترونی روبنده»[4] (SEM) ریزساختار سیستم «آرد مخلوط نشده هیدراته» یا HUF [5] را مورد بررسی قرار داده و وجود شبکه پروتئینی شل و غیر پیوسته حاوی منافذ باز متعدد در این خمیرها را گزارش کردند. در همان مطالعه و نیز مطالعات مشابه دیگر ریزساختار خمیر های مخلوط شده با فارینوگراف نیز مورد بررسی قرار گرفت که شبکه مستحکم و سه‌بُعدی گلوتنی در برگیرنده گرانول‌های نشاسته گزارش گردید [١٦, ۲۰-۲۲]. در اکثریت قریب به اتفاق گزارش‌های علمی موجود از میکروسکوپ SEM برای مشاهده و تفسیر نتایج بهره گرفته شده است. با توجه به اینکه استفاده از این تکنیک مستلزم مراحل متعدد آماده سازی، انجماد و خشک کردن نمونه-ها می باشد، احتمال تغییرات ناخواسته در نمونه‌ها بسیار زیاد می باشد که حتماً باید در تفسیر نتایج مد نظر قرار گیرد. استفاده از تکنیک «میکروسکوپ لیزری کونفوکال روبشی» (CSLM)[6] یا «میکروسکوپ نوری اپی فلورسانس» (EFLM)[7] این مشکل را مرتفع می سازد و در آن نمونه به همان صورتی‌که وجود دارند تحت مشاهده قرار گرفته و تغییرات ناخواسته احتمالی روی بافت آنها وجود نخواهد داشت. در منابع علمی موجود تاکنون گزارشی در زمینه استفاده از EFLM برای مشاهده ریزساختار خمیر وجود ندارد. به علاوه مطالعه مدون روی خمیرهای ZD که در برگیرنده بررسی شرایط هیدراسیون از حیث دما و زمان باشد تاکنون انجام نگرفته است. لذا هدف اساسی این پژوهش، مطالعه اثر هیدراسیون آرد به عنوان یکی از عملکردهای فرآیند مخلوط کردن بر روی توسعه خمیر با مطالعه ریز ساختار خمیر با استفاده از میکروسکوپ نوری اپی فلورسنس می باشد.

1 Shear flow
2 Elongational flow
3 Dough development

4 Scanning Electron Microscopy
5 Hydrated Unmixed Flour
6 Confocal Scanning Laser Microscopy
7 Epi-Fluorescence Light Microscopy

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آرد گندم

آرد حاصله از مخلوط گندم‌های داخلی با کیفیت نانوایی متوسط با خصوصیات فیزیکی‌شیمیایی نشان داده شده در جدول ۱ از شرکت آرد اطهر مراغه خریداری گردید.

۲-۲- ارزیابی کیفیت فیزیکی‌شیمیایی آرد

اندازه‌گیری مقدار رطوبت، خاکستر، گلوتن مرطوب و عدد زلنی با روشهای مصوب AACC [۲۳] به ترتیب با شماره های 44-16، 09-07، 12-38، 11-56 انجام گردید. میزان جذب آب آرد نیز با آزمون فارینوگراف با روش AACC 54-21 انجام شد. مقدار پروتئین نمونه ها توسط دستگاه NIR با روش ارائه شده توسط «ویلیامز و سوبرینگ» [۲٤] اندازه گیری گردید. دستگاه NIR در اندازه گیری پروتئین قبل از استفاده با روش متداول کجلدال کالیبره گردید.

۲-۳- تهیه خمیر هیدراته بدون اعمال انرژی مکانیکی

خمیر ZD با توجه به روش «کمپوس» و همکاران [۹] با تغییرات شرح داده شده توسط «پیغمبردوست» و همکاران [۱۲] تهیه شد. درصد جذب آب فارینوگرافی ٦۱ درصد (بر پایه ١٤ درصد رطوبت آرد) برای تهیه خمیر ZD استفاده شد. برای این منظور، یخ در حضور نیتروژن مایع (جهت جلوگیری از افزایش دما)، توسط آسیاب «وارینگ»[1] پودر شده و با استفاده از الک با اندازه مش ٦۰۰ میکرون، ذرات یخ پودر شده با اندازه‌ای در محدوده اندازه ذرات آرد جمع آوری شدند. پس از این مرحله، مقدار ۳۰۰ گرم آرد، ۱۸۳گرم یخ پودرشده (معادل ٦۱ درصد جذب آب در فارینوگراف) و ٦ گرم نمک طعام روی ترازوی آزمایشگاهی توزین و به طور کامل با یکدیگر مخلوط شدند. کلیه عملیات فوق الذکر در داخل فریزر (اتاقی) با دمای ۱۰°C- انجام شد. مخلوط‌های آرد و یخ حاصله (خمیر ZD منجمد) در ظروف پلاستیکی سر بسته در فریزر نگهداری شدند تا شرایط آزمون هیدارسیون روی آنها اعمال گردد. برای هیدراته کردن مخلوط خمیر پودری منجمد از سه سطح زمانی (۱/۵، ٤ و ٢٤ ساعت) و دو سطح دمایی (دمای یخچال، ٤ °C و دمای محیط، ۲۵ °C) استفاده گردید تا عمل هیدراسیون در آنها بدون صرف انرژی مکانیکی انجام شده و تأثیر این شرایط نگهداری روی ریزساختار خمیر و نحوه تشکیل شبکه گلوتنی خمیر مورد بررسی قرار گرفت.

۲-٤- آماده‌سازی، رنگ‌آمیزی و مشاهدات میکروسکپی نمونه‌های خمیر

خمیرهای منجمد در حالت انجماد و در داخل فریزر صندوقی (دمای تقریبی ۱۰- درجه سانتی‌گراد) با استفاده از دستگاه مایکروتوم[2] دستی به قطعات مکعب مستطیل به ابعاد تقریبی ۲×۲×۳ سانتیمتر برش داده شده تا سطحی صاف و صیقلی برای مشاهدات میکروسکوپی قابل دسترس گردد. نمونه های برش داده شده روی اسلایدهای شیشه ای قرار گرفته و تا زمان رنگ آمیزی در داخل فریزر نگهداری شدند. برای رنگ آمیزی نمونه-های خمیر از مخلوط (نسبت ۱ به ۱) معرف‌های رنگی فلورسئین سدیم ۱ درصد و ردامین B ۰/۱ درصد در حلال ۲- متوکسی اتانول استفاده گردید. برای این منظور یک قطره (در حدود یک سانتی متر مکعب) از مخلوط معرف های رنگی فوق در محل مناسب روی نمونه خمیر قرار داده شده و نمونه خمیر به مدت یک ساعت جهت خروج از انجماد و نفوذ رنگ نگه-داشته شد. به منظور جلوگیری از خشک شدن نمونه‌ها در این مدت، لام‌های حاوی نمونه داخل پلیت های شیشه‌ای قرار داده شد و منافذ پلیت توسط نوار پلاستیکی استرچ (پارافیلم) به طور کامل پوشانده شد. مشاهدات میکروسکوپی با استفاده از میکروسکوپ اپی فلورسنس مدل بی ایکس ۵۱[3] ساخت شرکت الیمپوس ژاپن مجهز به نور جیوه انجام شد. تصویربرداری با دوربین پیشرفته خنک شونده[4] هاماماتسو[5] با قدرت تفکیک رنگ ١٤ بیت به ازاء هر کانال(RGB) صورت گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- خصوصیات فیزیکی‌شیمیایی آرد گندم

مقادیر رطوبت، خاکستر، پروتئین، گلوتن مرطوب، فعالیت آنزیمی و میزان جذب آب آرد مورد آزمون در جدول ۱ نشان داده شده است.

بر اساس جدول ۱ آرد مورد استفاده دارای رطوبت قابل قبولی بوده و نگهداری آن در دمای معمولی دچار مشکل نگردیده

1 Waring

2 Microtome
3 Olympus BX51
4 Cooled CCD
5 Hamamatsu

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

است. خاکستر ۰/۷٤ درصد نیز نشان دهنده این است که آرد از مغز دانه گندم و بدون لایه‌های سبوس و ذرات جوانه استحصال گردیده است. مقدار پروتئین آرد و مقدار گلوتن مرطوب آن نیز نشان‌دهنده این است که آرد مورد استفاده از لحاظ کیفیت پروتئینی جزو آردهای متوسط بوده است.

۳-۲- نتایج مشاهدات ریزساختار خمیرهای هیدراته شده در دماها و زمان‌های مختلف

۳-۲-۱- مشاهدات میکروسکوپی خمیرهای هیدراته در دمای ٤ درجه سانتی گراد

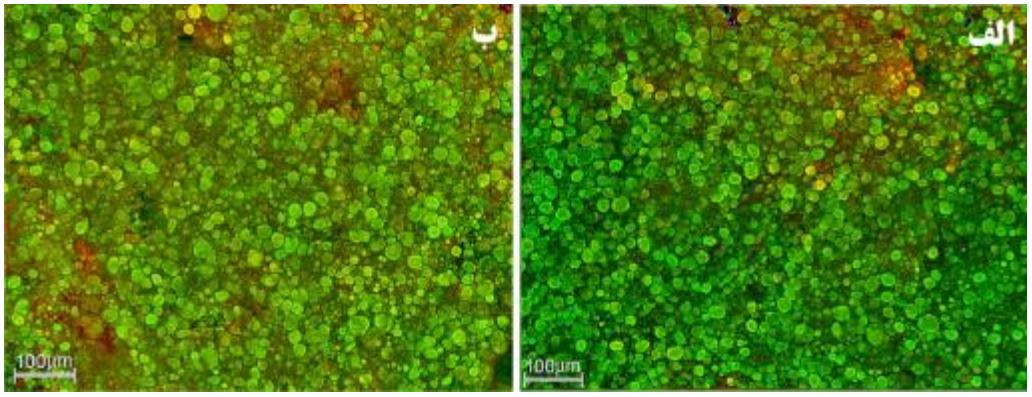
تصاویر EFLM مربوط به ریز ساختار خمیرهای هیدارته در دمای یخچال در سه زمان ۱/۵، ٤ و ۲٤ ساعت به ترتیب در شکل های ۱-۳ نشان داده شده است. یکی از مشکلات مربوط به مشاهدات میکروسکوپی این است که در اغلب موارد یک تصویر واحد از بخش بسیار کوچک نمونه تحت مشاهده به سختی قابل تعمیم به کل نمونه است مگر اینکه تصاویر مشابه تأییدکننده آن تصویر واحد ارائه شده باشند. در اغلب گزارش-های علمی از چندین تصویر میکروسکوپی در درشت نمائی-های مختلف برای توضیح و تشریح مشاهدات مربوط به یک نمونه آزمایشی استفاده می شود. در تحقیق حاضر نیز تا حد امکان سعی گردیده است تا با اخذ تصاویر متعدد از بخش های مختلف نمونه بتوان تصویر کلی که گویای تغییرات رخ داده در نمونه خمیر باشد را ارائه داد. همچنین این امر به منزله فراهم شدن تکرارهای مناسب برای آنالیزهای تصویری می باشد که خطای تصویربرداری را به حداقل می‌رساند. لذا در تصاویر EFLM ارائه شده در این مقاله شکل‌های «**الف**» تا «**د**» در هر تصویر مربوط به بخش‌های مختلف خمیر یک نمونه می‌باشد. در همه این تصاویر گرانول‌های نشاسته به رنگ سبز و فاز پروتئین به رنگ قرمز قابل مشاهده می‌باشند.

شکل ۱ (الف و ب) مربوط به تیمار دمای یخچال و زمان ۱/۵ ساعت می‌باشد. در این خمیرها به دلیل عدم ذوب کامل ذرات یخ موجود، مرحله هیدراسیون به طور کامل انجام نشده و این خمیرها دارای بافت کلوخه‌ای شکل می‌باشند و به همین دلیل گلوتن موجود در آنها به میزان کافی توسعه نیافته و پروتئین‌ها به صورت توده‌های تجمع یافته در گوشه‌های تصویر دیده می-شوند که این مسئله بیانگر پخش غیریکنواخت و ناهمگن پروتئین و عدم توسعه آن در این نمونه‌ها است.

شکل ۲ (الف-د) تصاویر میکروسکوپی مربوط به خمیرهای هیدراته در دمای یخچال و مدت زمان ٤ ساعت را نشان می دهد. مقایسه این تصاویر با شکل ۱ نشان می‌دهد که با افزایش زمان هیدراسیون، نسبت فاز گلوتن (ناحیه قرمز) به نشاسته (ناحیه سبز) در برخی از این تصاویر (مشخصاً تصاویر ب و د) افزایش یافته است.

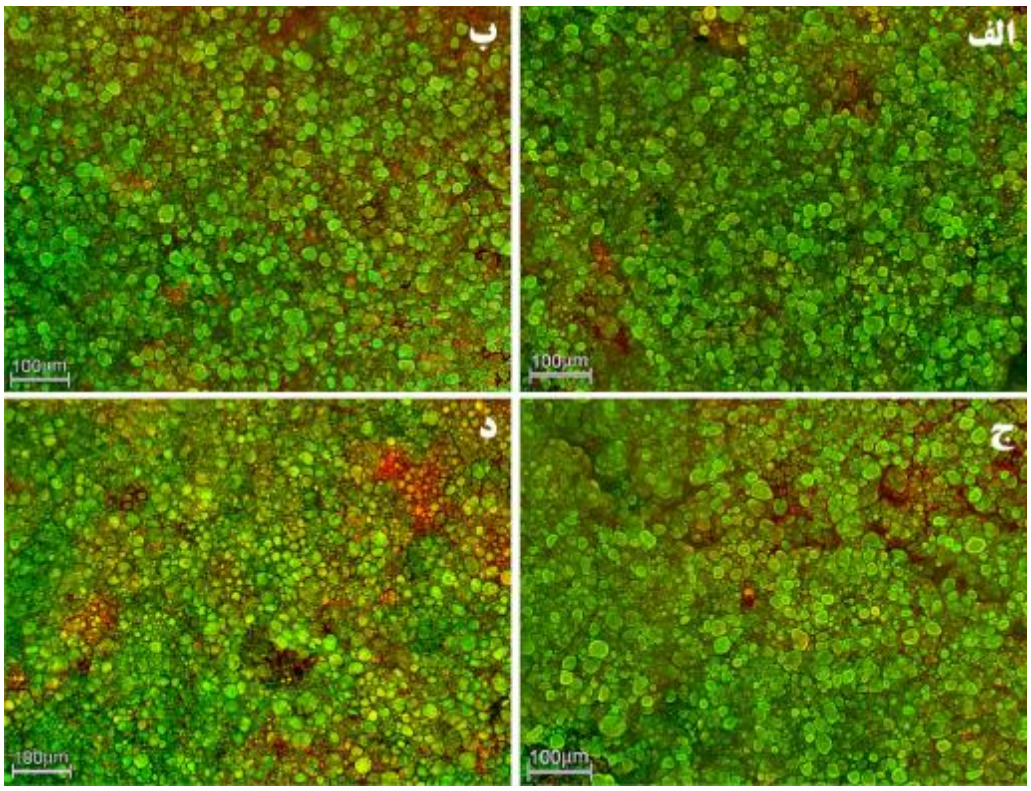
جدول ۱ ویژگی های آرد مورد آزمون

رطوبت (درصد)	خاکستر (درصد)	درجه استخراج (درصد)	پروتئین (درصد)	گلوتن مرطوب (درصد)	عدد زلنی (سانتی‌مترمکعب)	درصد جذب آب (درصد)
۱۳/۵	۰/۵٦	۷۵-۷۲	۱۱/۹	۲۳	۲٦	٦۰



شکل ۱ ریزساختار نمونه‌های خمیر هیدراته در دمای یخچال به مدت ۱/۵ ساعت. «الف» و «ب» تصاویر مربوط به قسمت‌های مختلف یک نمونه خمیر هستند.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]



شکل ۲ تصاویر میکروسکوپی خمیر هیدراته در دمای یخچال به مدت ٤ ساعت. «الف» – «د» تصاویر مربوط به قسمت‌های مختلف یک نمونه خمیر هستند.

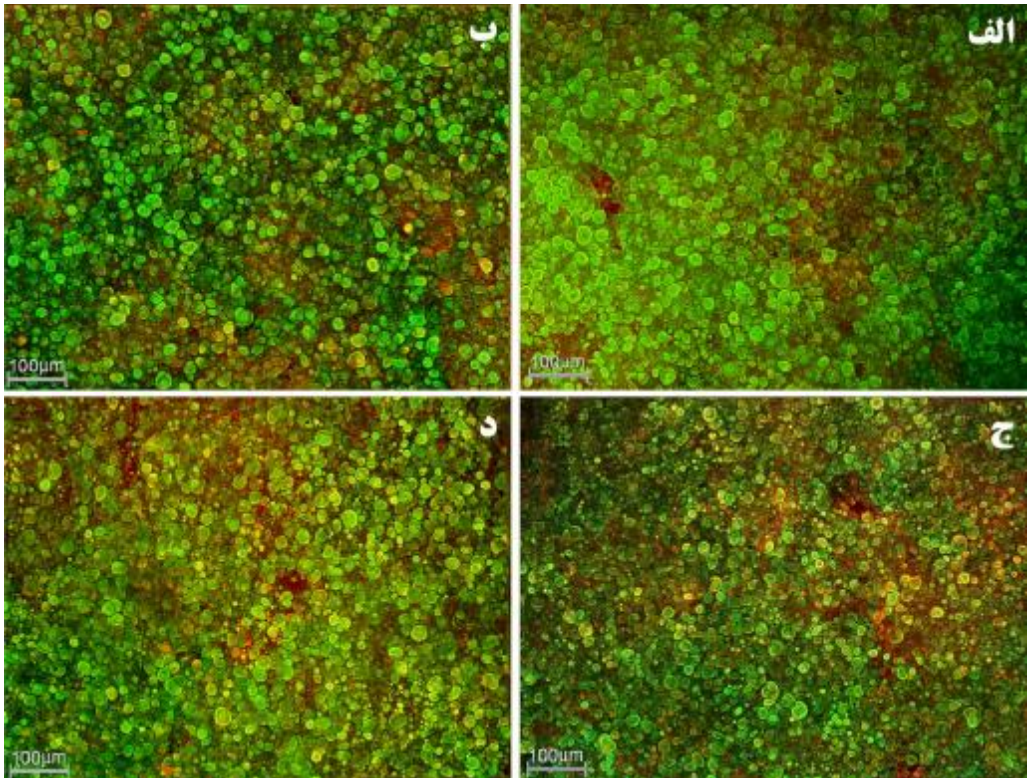
علت امر مربوط به افزایش نسبی هیدراسیون در اثر ذوب شدن ذرات یخ موجود در این نمونه‌ها می باشد. این شکل یکی از مصادیق تأیید کننده این امر می باشد که در گزارش‌های میکروسکوپی بهتر است از تعداد تصاویر بیشتری استفاده گردد تا امکان ارزیابی دقیق از روی همه تصاویر فراهم شده باشد. به عنوان مثال، تصاویر«الف» و تا حدودی «ج» در شکل ۲ مشابه تصاویر «الف» و «ب» در شکل ۱ می‌باشند. اما اضافه شدن تصاویر «ج» و «د» در شکل ۲ نشان دهنده تغییر نسبی در افزایش ناحیه قرمز یا افزایش فاز گلوتن و به عبارت دیگر شروع هیدراسیون در خمیر می‌باشد.

شکل۳ (الف – د) تصاویر مربوط به ریز ساختار خمیرهای هیدراته در دمای یخچال به مدت ٢٤ ساعت می‌باشد. مقایسه این تصاویر با شکل های ۱ و ۲ بیانگر این امر است که در دمای ثابت با افزایش زمان نگهداری، میزان جذب آب ذرات آرد و هیدراسیون آنها به میزان قابل توجهی افزایش می‌یابد که ضمن تکمیل عمل هیدراسیون، فاز گلوتن موجود توسعه بیشتری پیدا می‌کند. در شکل ۲–ب و ۲–ج در ساختار خمیر ناحیه قرمز مربوط به گلوتن و ناحیه سبز مربوط به گرانول های نشاسته دیده می‌شود. هرچند زمان هیدارسیون در این نمو.نه‌ها طولانی بوده است اما به دلیل پائین بودن دما (٤ درجه سانتی گراد) توزیع همگن و یکنواخت فاز گلوتن در لابلای گرانول‌های نشاسته دیده نمی‌شود. مشخصه اخیر مربوط به خمیرهای توسعه یافته در اثر اعمال انرژی مکانیکی می باشد که در اثر مخلوط کردن بهینه ساختار گلوتنی به هم پیوسته پدیدار می گردد [۱۳, ۲۲, ۲۵–۲۷]. در نمونه خمیرهای هیدراته در دمای پائین چنین ساختاری دیده نمی‌شود. علت این امر احتمالا مربوط به این امر می‌باشد که به دلیل عدم اعمال انرژی مکانیکی ساختارهای گلوتن کشیده یا تحت نیروهای برشی قرار نمی گیرند و در نتیجه شبکه سه‌بعدی گلوتنی در چنین خمیرهایی دیده نمی شود.

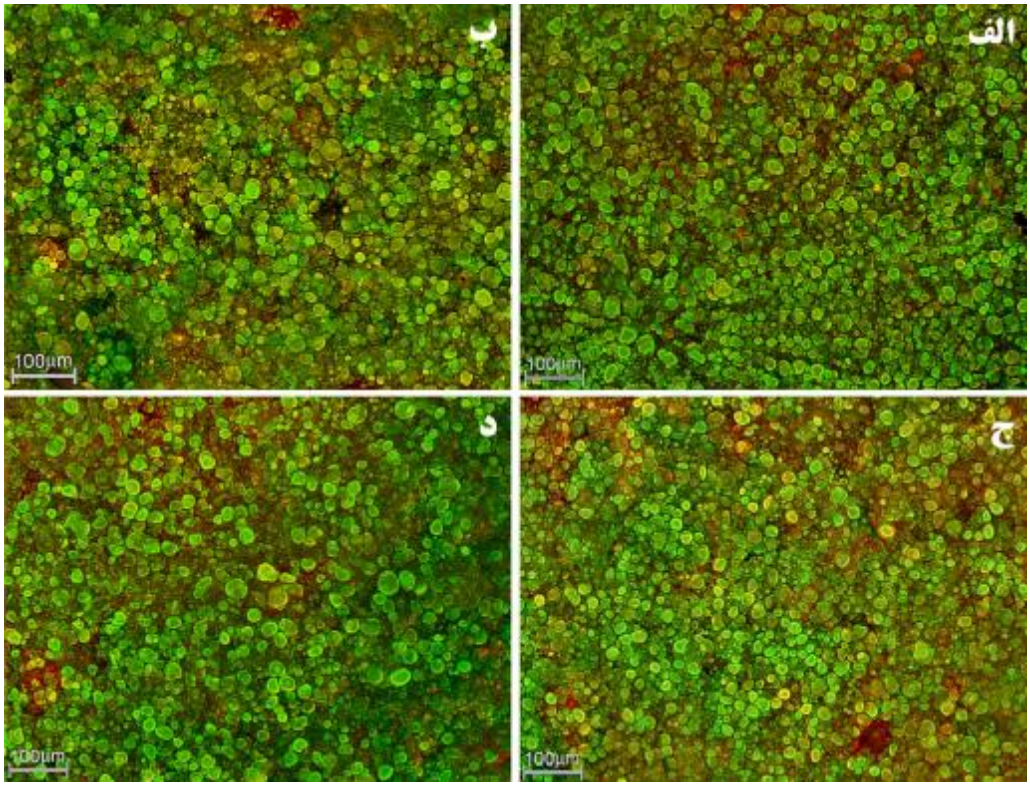
۳–۲–۲– مشاهدات میکروسکوپی خمیرهای هیدارته در دمای ٢٤ درجه سانتی‌گراد

در بخش قبلی نتایج مشاهدات ریزساختار خمیر در سه زمان مختلف در دمای پائین (یخچال) ارائه گردید. برای بررسی اینکه آیا افزایش دما نقشی در تسریع هیدارسیون و توسعه گلوتن در خمیر دارد فرآیند هیدراسیون در دمای محیط در سه سطح زمانی مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در این بخش ارائه میگردد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]



شکل ۳ تصاویر میکروسکوپی خمیر هیدراته در دمای یخچال (۲٤ ساعته). الف – د تصاویر مربوط به قسمت‌های مختلف یک نمونه خمیر هستند.



شکل ٤ تصاویر میکروسکوپی خمیر هیدراته در دمای محیط(۱/۵ ساعته). الف – د تصاویر مربوط به قسمت های مختلف یک نمونه خمیر هستند.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

شکل ٤ (الف- د) ریزساختار خمیرهای هیدراته در دمای محیط به مدت ۱/۵ ساعت را نشان می‌دهد. هرچند در این نوع خمیرها فقدان زمان کافی به منظور هیدراسیون نمونه‌ها، منجر به انجام هیدراسیون ناقص ذرات آرد و ایجاد بافت ناهمگن در خمیر بدست آمده از آنها می‌گردد، اما دمای بالای هیدراسیون این نمونه‌ها (نسبت به دمای یخچال، شکل ۱) باعث افزایش میزان گسترش گلوتن در سطح مقطع خمیر نسبت به تیمارهای دمای پائین شده است. در هر چهار تصویر ارائه شده در شکل ٤ فاز گلوتنی به صورت ناهمگن و تجمع یافته در بخشی از تصویر دیده می شود اما نسبت به زمان مشابه در دمای پائین تر (شکل ۱) سطح مربوط به فاز گلوتن (نواحی قرمز) بیشتر گردیده است.

در شکل ۵ (الف–د) مدت زمان نگهداری خمیرهای هیدارته در دمای محیط به ٤ ساعت رسیده است که به دلیل ذوب کامل ذرات یخ عمل هیدراسیون تکمیل شده است. در این تصاویر پراکندگی نسبتاً یکنواخت فاز پروتئین و تشکیل شبکه گلوتنی توسعه یافته دیده می‌شود. میزان توزیع و پراکندگی نواحی قرمز در این تصاویر نسبت به تصاویر شکل ٤ (زمان ۱/۵ ساعت در همین دما) بیشتر شده است که نشان دهنده تأثیر افزایش زمان در میزان هیدراسیون می باشد. همچنین مقایسه شکل ۵ با شکل ۲ بیانگر آن است که در یک زمان ثابت (٤ ساعت) افزایش دما باعث گستردگی بیشتر ساختارهای گلوتنی در خمیر گردیده است.

در شکل ٦ ریزساختار خمیرهای هیدراته در دمای محیط و زمان ٢٤ ساعت نشان داده شده است. در شکل های الف تا د که از قسمتهای مختلف نمونه خمیر گرفته شده‌اند میزان گسترش ناحیه قرمز که مربوط به فاز گلوتن می‌باشد به خوبی مشهود است. با افزایش دما و زمان هیدراسیون، عمل جذب آب ذرات آرد و هیدراسیون آنها به طور کامل انجام شده و فاز پروتئین در این نمونه‌ها به صورت یکنواخت و همگن‌تری نسبت به تیمار زمانی مشابه اما در دمای پائین (شکل ۳) توزیع شده است.

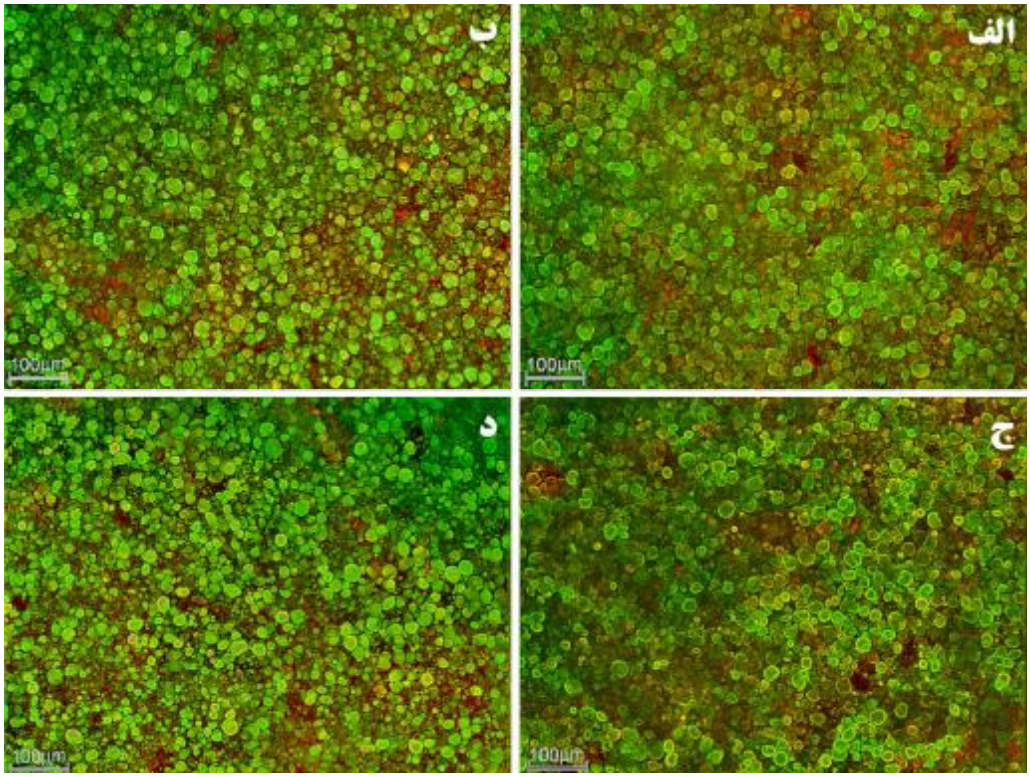
با توجه به نتایج فوق، هرچند هر دو عامل دما و زمان در میزان هیدراسیون و توسعه شبکه گلوتنی نمونه‌های خمیر نقش دارند اما دمای هیدراسیون ذرات آرد نقش بیشتری در میزان هیدراسیون و در نتیجه در میزان توسعه شبکه گلوتنی دارد به طوری که تیمار هیدراسیون نمونه‌ها در دمای محیط به مدت ٢٤ ساعت نتیجه بهتری را نسبت به تیمار هیدراسیون در دمای یخچال در همان مدت مشابه نشان می‌دهد. بنابراین احتمالاً در دماهای بالا سرعت فعل و انفعالات شیمیایی بیشتر شده و در خمیر عواملی چون سیستم‌های اکسیداسیون/احیا[1] یا شکل‌گیری و جنبش نیروهای واندروالسی و پیوندهای هیدروفوبیک به نحوی عمل می‌کنند که باعث توسعه بهتر گلوتن در خمیر می‌گردند. فرآیندهای مزبور در عملیات مخلوط کردن خمیر بشدت تشدید می‌شوند. به عنوان مثال عملیات بهم زدن با باز کردن پروتئین‌های کروی می تواند نقش مهمی را در پیوندهای هیدرفوبیک ایفا نماید، یا با تغییر آرایش ملکولی، امکان کنار هم قرار گرفتن گروههای سولفیدریل (SH-) را میسر سازد.

٤- نتیجه‌گیری کلی

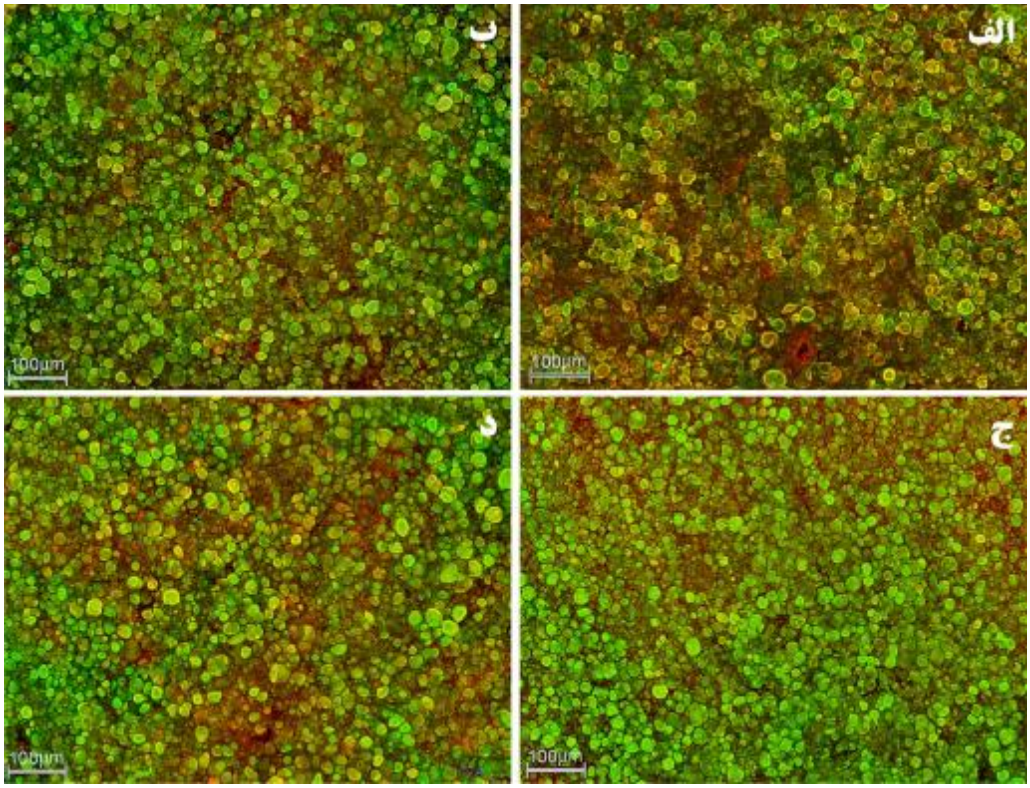
مشاهده ریزساختار خمیرهای ZD با استفاده از میکروسکوپ نوری اپی فلورسانس نشان داد که با افزایش زمان هیدراسیون از ۱/۵ ساعت تا ٢٤ ساعت در دمای ثابت، با افزایش ذوب ذرات یخ موجود در نمونه‌ها و تکمیل عمل هیدراسیون، میزان گسترش فاز گلوتنی افزایش یافت. این توسعه پروتئینی در تیمار دمای محیط (۲۵ درجه سانتی گراد) از شدت بیشتری نسبت به تیمار دمای یخچال (٤ درجه سانتی گراد) برخوردار بود. هرچند هر دو عامل دما و زمان در میزان هیدراسیون و توسعه شبکه گلوتنی نمونه‌های خمیر نقش دارند، اما دمای هیدراسیون ذرات آرد نقش بیشتری در میزان هیدراسیون و در نتیجه در میزان توسعه گلوتن داشت، طوری که تیمار هیدراسیون نمونه‌ها در دمای محیط به مدت ٢٤ ساعت نتیجه بهتری را نسبت به تیمار هیدراسیون نمونه‌ها در دمای یخچال در همان مدت مشابه نشان داد. بنابراین هیدراسیون ذرات آرد منجر به انجام بخشی از توسعه در خمیرهای هیدراته می‌گردد و گلوتن موجود در آنها بدون فرآیند مکانیکی مخلوط کردن و تنها با استفاده از خاصیت تجمع، شکل گرفته و گسترش می یابد. اما در خمیرهای ZD شبکه گلوتنی یکپارچه و مستحکمی که معمولاً در خمیرهای مخلوط شده در داخل مخلوط کن نانوایی (تا زمان مخلوط کردن بهینه) وجود دارد، دیده نشد. علت این امر مربوط به فقدان اِعمال انرژی مکانیکی و نیروهای برشی و کششی تأثیرگذار روی توسعه شبکه گلوتنی (در زمان بهینه مخلوط

1- Redox

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]



شکل ۵ تصاویر میکروسکوپی خمیر هیدراته در دمای محیط، ٤ ساعته. الف – د تصاویر مربوط به قسمت های مختلف یک نمونه خمیر هستند.



شکل ٦ تصاویر میکروسکوپی خمیر هیدراته در دمای محیط، ٢٤ ساعته. الف – د تصاویر مربوط به قسمت های مختلف یک نمونه خمیر هستند

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

کردن) می باشد. در این مطالعه معلوم گردید که هیدراسیون آرد به تنهایی می تواند باعث تجمع گلوتن موجود در آرد گشته و خمیر ویسکوالاستیک با خواص کشسانی مطلوب ایجاد نماید.

با مطالعه خواص خمیرهای هیدراته و مقایسه رفتار آنها با خمیرهای بدست آمده از آرد و آب در جریان مخلوط کردن، می توان به شناخت بهتری از نقش هیدراسیون در تشکیل و توسعه ساختار گلوتنی رسید. مزیت کار با خمیرهای ZD این است که در مطالعاتی که نقش و اثر نیرو های مختلف (نیروهای برشی در مقابل نیروهای کششی)، مقدار انرژی مکانیکی، ماهیت تنش و کرنش را روی خواص خمیر مورد بررسی قرار می دهند، می تواند مفید باشد. با انجام هیدراسیون آرد در خارج از مخلوط‌کن، زمان توسعه خمیر در مخلوط‌کن کاهش می یابد. این امر اهمیت ویژه ای در کاهش مصرف انرژی در جریان مخلوط کردن خواهد داشت. نتایج این پژوهش هم چنین می تواند در بهینه سازی طرح مخلوط‌کن های نانوایی مورد استفاده قرار گیرد که با در نظر گرفتن نقش هیدراسیون در تشکیل ساختار خمیر و با هیدراته کردن آرد به عنوان یک فرآیند مقدماتی قبل از مخلوط کردن، نسبت به اصلاح و ساده کردن طرح مخلوط کن های متداول خمیر قدم برداشت.

٦- تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از طرح پژوهشی با عنوان "بررسی استفاده از میکروسکوپ نوری اپی فلورسانس در مطالعات ریز ساختار خمیر نان" با شماره ۲۷/۳٦٥٤/د ۱۳۸۸/۸/۲۷می باشد که اعتبار پژوهشی آن از طرف معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تبریز تأمین گردیده است.

۷- منابع

[1] Bloksma A. H., Bushuk W. 1988. Rheology and chemistry of dough. Pages 131-218. In: Wheat: chemistry and technology. Pomeranz Y, Ed. American Association of Cereal Chemists. St. Paul, MN.

[2] Campos D.T., Steffe J.F., Ng P.K.W. 1996. Mixing wheat flour and ice to form undeveloped dough. Cereal Chemistry, 73: 105-107.

[3] Bushuk W., Hay R.L., Larsen N.G., Sara R.G., Simmons L.D., Sutton K.H. 1997. Effect of mechanical dough development on the extractability of wheat storage proteins from bread dough. Cereal Chemistry, 74: 389.

[4] Kilborn R.H., Tipples K.H. 1972. Factors affecting mechanical dough development. I. Effect of mixing intensity and work input. Cereal Chemistry, 49: 34-47.

[5] Skeggs P.K. 1985. Mechanical dough development - dough water level and flour protein quality. Cereal Chemistry, 62: 458-462.

[6] Wilson A.J., Wooding A.R., Morgenstern M.P. 1997. Comparison of work input requirement on laboratory-scale and industrial-scale mechanical dough development mixers. Cereal Chemistry, 74: 715.

[7] Hoseney R.C. 1985. The mixing phenomenon. Cereal Foods World, 30: 453-457.

[8] Preston K.R., Kilborn R.H. 1984. Dough rheology and farinograph. Pages 38-42. In: *Farinograph handbook*. D'Appolonia BL, Kunerth WH, eds. AACC. American Association of Cereal Chemists. St. Poul, MN.

[9] Kulp K. 1988. Bread industry and processes. Pages 371-406. In: Wheat: chemistry and technology, Vol 2. Pomeranz Y, ed. AACC. American Association of Cereal Chemists. St. Paul, MN.

[10] Peighambardoust S.H., van der Goot A.J., Hamer R.J., Boom R.M. 2006. Mixing behaviour of zero-developed dough: a comparison with flour–water mixing. Journal of Cereal Science, 44: 12-20.

[11] Peighambardoust S.H., van Brenk S., van der Goot A.J., Hamer R.J., Boom R.M. 2007. Dough processing in a Couette-type device with varying eccentricity: Effect on glutenin macro-polymer properties and dough micro-structure. Journal of Cereal Science, 45: 34-48.

[12] Peighambardoust S.H., van der Goot A.J., Hamer R.J., Boom R.M. 2005. Effect of simple shear on the physical properties of Glutenin Macro Polymer (GMP). Journal of Cereal Science, 42: 59-68.

[13] Peighambardoust S.H., Van der Goot A.J., Van Vliet T., Hamer R.J., Boom R.M. 2006. Microstructure formation and rheological behaviour of dough under simple shear flow. Journal of Cereal Science, 43: 183-197.

[14] Peressini D., Peighambardoust S.H., Hamer R.J., Sensidoni A., van der Goot A.J. 2007. Effect of shear rate on microstructure and rheological properties of sheared wheat doughs. Journal of Cereal Science, 48: 426-438.

[15] Campos D.T., Steffe J.F., Ng P.K.W. 1997. Rheological behaviour of undeveloped and developed wheat dough. Cereal Chemistry, 74: 489-494.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

[16] Unbehend L., Lindhauer M.G., Meuser F. 2004. Physical and microscopic studies of flour-water systems. European Food Research and Technology, 219: 514-521.
[17] Lee L., Ng P.K.W., Steffe J.F. 2002. Biochemical studies of proteins in non-developed, partially developed, and developed doughs. Cereal Chemistry, 79: 654-661.
[18] Lee L., Ng P.K.W., Whallon J.H., Steffe J.F. 2001. Relationship between rheological properties and microstructural characteristics of nondeveloped, partially developed, and developed doughs. Cereal Chemistry, 78: 447-452.
[19] Schluentz E.J., Steffe J.F., Ng P.K.W. 2000. Rheology and microstructure of wheat dough developed with controlled deformation. Journal of Texture Studies, 31: 41-54.
[20] Amend T., Belitz H.D. 1990. The formation of dough and gluten - a study by scanning electron microscopy. Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung, 190: 401-409.
[21] Amend T., Belitz H.D. 1990. Gluten formation studied by the transmission electron microscope. Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung, 191: 184-193.
[22] Paredeslopez O., Bushuk W. 1982. Development and undevelopment of wheat dough by mixing - microscopic structure and its relations to bread-making quality. Cereal Chemistry, 60: 24-27.
[23] AACC. 2005. AACC Approved Methods. AACC, American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA
[24] Williams P.C., Sobering D.C. 1993. Comparison of commercial near infrared transmittance and reflectance instruments for analysis of whole grains and seeds. Journal of Near Infrared Spectroscopy, 1: 25-32.
[25] Amend T., Belitz H.D. 1989. Microscopical studies of water flour systems. Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung, 189: 103-109.
[26] Amend T., Belitz H.D., Moss R., Resmini P. 1991. Microstructural studies of gluten and a hypothesis on dough formation. Food Structure, 10: 277-288.
[27] Letang C., Piau M., Verdier C. 1999. Characterisation of wheat flour-water doughs. Part I: Rheometry and microstructure. Journal of Food Engineering, 41: 121-132.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

Epi-fluorescence light microscopy in studying dough microstructure

Peighambardoust, S. H. [1*], Dokouhaki, M. [2], Dadpour, M. R. [3]

1. Associate Prof., Department of Food Science, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz
2. MSc Graduated, Department of Food Science, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz
3. Assistant Prof., Department of Horticultural Sciences, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz

(Received:88/2/12 Accepted: 88/5/27)

In this study effects of flour hydration was investigated on gluten development in bread dough. For this purpose, zero-mechanical energy developed (ZD) doughs, which prepared and hydrated outside conventional mixers were used. Effects of fridge and room temperatures for different durations (1.5, 4 and 24 h) was studied on dough hydration extent and gluten development. Epi-fluorescence light microscopic (EFLM) observations revealed positive effect of holding time in both temperatures on protein distribution extent in dough microstructure. However, increasing temperature for durations studied showed strong effect on hydration and hence gluten development extent. So, treatments carried out at room temperature for 24 h compared to those accomplished at fridge temperature for the same duration showed the best gluten development patterns. Concluding, flour hydration leads to development of gluten structures in the dough. Gluten self-aggregation caused by hydration accounts for this phenomenon. However, the structures observed for ZD doughs in this study were different from those reported for optimally-mixed doughs, which show coarse interconnected gluten network surrounding starch granules.

Keywords: Dough; Hydration; Microstructure; Epi-fluorescence light microscopic (EFLM)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

* Corresponding Author E-Mail address: peighambardoust@tabrizu.ac.ir