Archive of SID

ارزیابی تأثیر تخمیر خمیرترش حاوی *لاکتوباسیلوس سیکی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بر میزان اسید فیتیک نان سنگک

علیرضا صادقی[۱]، مجتبی رئیسی[۲]، مریم ابراهیمی[۳]، عباس عابدفر[۴]

۱-گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران (نویسنده مسئول)*

۲- مرکز تحقیقات سلامت غلات، دانشکده بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

۳-گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۴- گروه زیست‌فناوری مواد غذایی، دانشکده صنایع غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی خراسان، مشهد، ایران

چکیده

در این پژوهش، تأثیر استفاده از خمیرترش حاوی *لاکتوباسیلوس سیکی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (به‌صورت جداگانه و مخلوط با نسبت مساوی) با اعمال محدوده‌های دمایی ۲۸، ۳۲، ۳۶°C و زمانی ۱۶، ۲۴، ۳۲ h تخمیر، بر میزان اسید فیتیک خمیر و نان سنگک تولیدی به روش جذب سنجی مبتنی بر تعیین میزان آهن مورد ارزیابی قرار گرفت. آنالیز آماری نتایج نشان داد که میزان اسید فیتیک خمیر و نان سنگک تولیدشده با هر یک از این آغازگرها با افزایش دما و زمان تخمیر، به شکل معنی‌داری ($p\leq ۰/۰۵$) کاهش یافت. علاوه بر این، مخلوط جدایه‌های مذکور نسبت به هر یک از آن‌ها به‌طور مستقل، تأثیر بیشتری بر کاهش اسید فیتیک داشت. رابطه رگرسیونی اسیدیته قابل تیتر خمیرترش با میزان اسید فیتیک خمیر و نان سنگک فرآوری شده نیز به ترتیب دارای ضرایب همبستگی ۰/۸۹۳ (مدل لجستیک) و ۰/۸۸۹ (مدل خطی) بود و با افزایش اسیدیته قابل تیتر خمیرترش، محتوای اسید فیتیک نیز روند نزولی داشت. بر این اساس، با کنترل شرایط تخمیر خمیرترش به نحو مؤثری می‌توان میزان اسید فیتیک نان سنگک تولیدی را در مقایسه با نمونه شاهد کاهش داد.

واژگان کلیدی: نان سنگک، *لاکتوباسیلوس سیکی*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، اسید فیتیک.

* Sadeghi.gau@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

نان سنگک به‌عنوان یک فرآورده حاصل از آرد کامل گندم به لحاظ محتوای بالای املاح، پروتئین، ویتامین و ترکیبات زیست فعال از ارزش تغذیه‌ای بالایی برخوردار است اما بر اساس پژوهش‌های صورت گرفته میزان اسید فیتیک موجود در این نان در مقایسه با سایر نان‌های رایج تولیدی در ایران، بیشتر بوده و لذا جذب املاح موجود در نان سنگک را با اختلال همراه خواهد نمود. اگرچه مراحل پخت و تخمیر مخمری می‌توانند تا حدی میزان اسید فیتیک نان سنگک را کاهش دهند اما مطالعات اخیر نشان داده که تخمیر کنترل‌شده خمیرترش در کاهش اسید فیتیک فرآورده‌های حاصل از آرد کامل غلات به‌مراتب مؤثرتر می‌باشد (۲,۱). علاوه بر این، استفاده از آرد کامل غلات در فرآوری نان، مشکلات تکنولوژیکی خاصی نظیر کاهش رطوبت و کشش‌پذیری خمیر، کاهش قابلیت تخمیر، ایجاد پوسته سخت، حجم نامناسب و طعم‌های نامطلوب را در پی خواهد داشت. تخمیر خمیرترش در تولید این نان‌ها نیز می‌تواند با تولید آنزیم‌هایی نظیر آمیلازها و پروتئازها و یا با کاهش pH سبب بهبود حجم، افزایش میزان رطوبت خمیر، فعال شدن آنزیم لیپوکسیژناز و همچنین انحلال بخشی از فیبرهای رژیمی گردد (۴,۳).

خمیرترش، شامل مخلوطی از آرد (یا اجزاء آن) و آب است که به‌وسیله مخمرها و باکتری‌های اسیدلاکتیک، تخمیر شده باشد. این میکروارگانیسم‌ها، ویژگی‌های نان ازجمله حجم، خصوصیات پوسته، دانه‌بندی و رنگ مغز نان، طعم، آروما و بافت آن را بهبود بخشیده و با جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های مولّد فساد باعث افزایش زمان ماندگاری نان می‌شوند. کنترل شرایط تخمیر (دما، زمان و آغازگر میکروبی) جهت رسیدن به سطح مناسبی از pH و اسیدیته قابل تیتر خمیرترش به‌منظور بهره‌مندی از آثار مفید آن در فرآوری نان اهمیت دارد (۶,۵). گزارش‌هایی نیز در خصوص تجزیه فیتات به‌عنوان یک عامل ضد تغذیه‌ای و افزایش میزان دسترسی به املاح توسط فعالیت فیتازی فلور میکروبی خمیرترش وجود دارد. به کمک برخی از آنزیم‌های تولیدشده توسط جدایه‌های لاکتیکی خمیرترش می‌توان اثرات نامطلوب عوامل ضد تغذیه‌ای فرآورده‌های حاصل از آرد کامل غلات همچون اسید فیتیک را برطرف کرده و حتی کمبود اسیدهای آمینه نظیر لیزین را جبران نمود (۸,۷).

در پژوهش‌های متعددی تأثیر تخمیر خمیرترش بر کاهش میزان اسید فیتیک انواع نان موردبررسی قرارگرفته است. به‌عنوان‌مثال، تخمیر خمیرترش سنّتی در فرآوری نان بربری ، تخمیر خمیرترش حاوی کشت‌های آغازگر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*[1] و *لاکتوباسیلوس روتری*[2] در تولید نان لواش ، تخمیر خمیرترش حاوی کشت‌های آغازگر *لاکتوباسیلوس روتری* و همچنین *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لئوکونستوک مزنتروئیدیس*[3] در فرآوری نان‌های حجیم حاصل از آرد کامل گندم نشان داد که در صورت کنترل شرایط تخمیر خمیرترش می‌توان مقدار اسید فیتیک نان تولیدی را در مقایسه با تخمیر مخمری به نحو چشمگیری کاهش داد (۹-۱۲). باکتری‌های اسیدلاکتیک خمیرترش با کاهش pH به محدوده بهینه فعالیت آنزیم فیتاز (حدود ۴ تا ۴/۵) در کاهش اسید فیتیک مؤثر هستند. علاوه بر این، برخی از باکتری‌های مذکور از قابلیت آبکافت فیتات نیز برخوردارند (۱۱,۸).

هدف از اجرای این پژوهش، ارزیابی تأثیر شرایط مختلف دما و زمان تخمیر دو جدایه لاکتیکی خمیرترش آرد کامل گندم بر میزان اسید فیتیک خمیر و نان سنگک تولیدی بود.

[1] *Lactobacillus plantarum*
[2] *Lactobacillus reuteri*
[3] *Leuconostoc mesenteroides*

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

مواد خام

آرد کامل گندم مصرفی در این پژوهش با ٪۹۲ استخراج، ٪۱۲/۲۵ پروتئین، ٪۲۶/۴۰ گلوتن مرطوب، ٪۸/۱۰ رطوبت و ٪۱/۵۵ خاکستر که ویژگی‌های آن بر اساس روش‌های مدوّن AACC با شماره آزمون‌های ۱۰-۴۶ پروتئین، ۱۲-۳۸ گلوتن، ۱۹-۴۴ رطوبت و ۰۱-۰۸ خاکستر تعیین‌شده بود از کارخانه آرد زاهدی گرگان تأمین گردید. کشت‌های آغازگر خمیرترش از جدایه‌های لاکتیکی خمیرترش آرد کامل گندم که با توالی‌یابی محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) دارای پرایمر اختصاصی شناسایی‌شده بودند، مخمر خشک فعال *ساکارومایسس سرویزیه*[1] از شرکت ایران ملاس فریمان، محیط کشت MRS Broth از شرکت مرک[2] آلمان و مواد شیمیایی مورداستفاده در این پژوهش نیز از شرکت سیگما[3] آمریکا تهیه گردیدند (۱۴،۱۳).

فرآوری خمیرترش

آغازگرهای خمیرترش شامل *لاکتوباسیلوس سیکی*[4] و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*[5] از تک پرگنه کشت خطی جدایه‌های سوسپانسیون میکروبی خمیرترش آرد نان سنگک که با توالی‌یابی محصولات PCR دارای پرایمر اختصاصی، تأیید شناسایی گردیده بودند، تأمین شد (۱۴). برای فرآوری خمیرترش، پس از فعال‌سازی آغازگرهای اختصاصی مذکور در محیط کشت MRS broth و رسیدن به جمعیت 10^8 cfu/gr، سلول‌های تازه میکروبی با سانتریفیوژ (هانیل[6] R ۵۱۴، کره جنوبی) زیست‌توده تولیدی در ۵۰۰۰gr، ۴°C به مدت ۰/۲۵ h، از محیط کشت جدا گردید و به میزان ٪۱/۵ نسبت به وزن آرد در تولید خمیرترش مورداستفاده قرار گرفت (۱۵). هر یک از کشت‌های آغازگر اختصاصی به‌صورت مستقل و یا مخلوط (با نسبت مساوی) به خمیر حاصل از آرد کامل گندم و آب استریل (نسبت یک به چهار وزنی حجمی) افزوده شد و در محدوده‌های دمایی (۲۸، ۳۲ و۳۶°C) و زمانی (۱۶، ۲۴ و ۳۲ h) مختلف تخمیر گردید. برای تعیین اسیدیته قابل تیتر خمیرترش (برحسب اسیدلاکتیک) نیز معادل ۱۰ gr از هر تیمار خمیرترش با ۹۰ ml آب مقطر، مخلوط و یکنواخت شد. سپس مخلوط مذکور توسط NaOH با نرمالیته ۰/۱ تا pH معادل ۸/۵ تیتر شد و اسیدیته برحسب NaOH مصرفی گزارش گردید (۱۶).

تهیه نان سنگک فاقد خمیرترش (شاهد)

برای تهیه نمونه نان شاهد از مخلوط آرد، آب، ٪۱ وزنی نمک و ٪۱ وزنی از مخمر خشک فعال حاوی *ساکارومایسس سرویزیه* استفاده شد. میزان آب موردنیاز و همچنین شرایط مخلوط کردن برای تهیه خمیر نان سنگک مطابق با روش استاندارد ملی ایران صورت گرفت. خمیر نان شاهد، فاقد خمیرترش بود و مرحله نخست تخمیر این مخلوط در دمای ۳۰°C به مدت ۰/۵ h و تخمیر نهایی پس از تقسیم کردن به قطعات معین در دمای مشابه به مدت ۲ h صورت پذیرفت. سپس نمونه‌های تولیدی در تنور یک نانوایی سنگکی پخته شدند (۱۷).

تهیه نان سنگک با استفاده از خمیرترش‌های تولیدی

برای تهیه نان سنگک خمیرترشی، نسبت ٪۲۰ وزنی از خمیرترش به خمیر مشابه نمونه شاهد افزوده شد و سپس تحت شرایط یکسان تخمیر و پخت با نمونه شاهد، فرآوری گردید. مقدار خمیرترش مذکور قبل از تخمیر

[1] *Saccharomyces cerevisiae*
[2] Merck
[3] Sigma
[4] *Lactobacillus sakei*
[5] *Lactobacillus acidophilus*
[6] Hanil

www.SID.ir

Archive of SID

نهایی به خمیر افزوده شد و نان تولیدی پس از پخت حدود ۰/۵ h در شرایط بهداشتی، سرد و برای مراحل بعدی مورداستفاده قرار گرفت (۱۷,۱).

تعیین میزان اسید فیتیک نمونه‌های خمیر و نان سنگک تولیدی

پس از تولید خمیر نان (منظور خمیر نان تهیه‌شده با تیمارهای مختلف خمیرترش و قبل از مرحله پخت نان می‌باشد) و نان‌های سنگک خمیرترشی، مقدار اسید فیتیک آن‌ها در مقایسه با نمونه‌های شاهد بر اساس آزمون جذب‌سنجی مبتنی بر تعیین میزان آهن مورد ارزیابی قرار گرفت. در این روش، اسید فیتیک با محلول آهن سه ظرفیتی (با محتوای آهن مشخص)، رسوب داده شد و کاهش میزان آهن در مایع رویی به‌عنوان معیاری از میزان اسید فیتیک سنجیده گردید. برای استخراج اسید فیتیک از نمونه‌های خمیر و نان از هضم با اسیدکلریدریک ۰/۵ M به مدت ۳ h و سپس سانترفیوژ در ۳۰۰۰ g به مدت ۰/۵ h استفاده شد. در مرحله بعد به ۰/۵ ml از محلول استخراج‌شده، ۱ ml از محلول سولفات آهن آمونیومی افزوده شد و این مخلوط پس از ۰/۵ h گرمخانه گذاری در حمام آب جوش، تا رسیدن به دمای محیط بر روی یخ قرار گرفت. سپس ۱/۵ ml از محلول ۲-۲ بی‌پیریدین ۱٪ به محلول قبلی اضافه گردید و جذب نمونه بلافاصله با اسپکتروفوتومتر (پی‌جی اینسترومنتز[1] T ۸۰ LTD، انگلستان) در طول‌موج ۵۱۹ nm در مقایسه با منحنی استاندارد حاصل از خوانش جذب رقت‌های مختلف محلول استاندارد اسید فیتیک (محلول هیدراته نمک اسید فیتیک برنج)، تعیین گردید (۱۸).

تجزیه‌وتحلیل آماری

نتایج حاصل از این پژوهش در قالب طرح آماری پایه کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل با سه تکرار و به کمک نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزارهای Microsoft Office Excel ۲۰۱۳، Design expert و Curve expert استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌داری (LSD) در سطح ٪۹۵ صورت گرفت.

نتایج

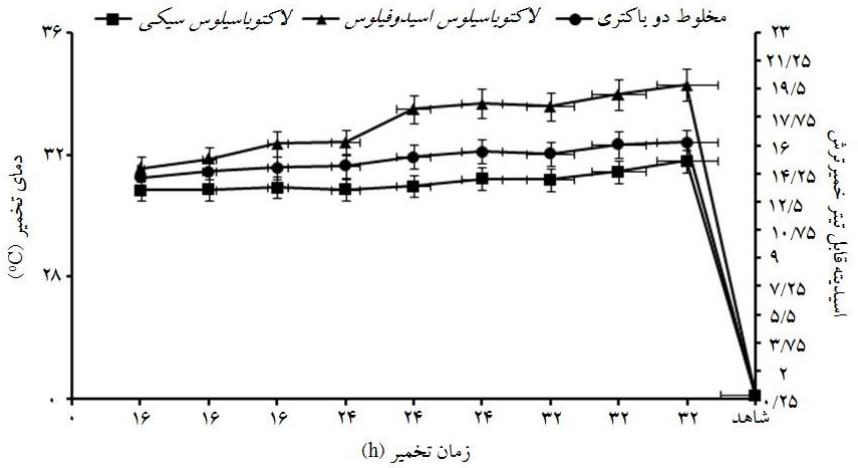
تغییرات اسیدیته قابل تیتر خمیرترش

روند تغییرات اسیدیته قابل تیتر خمیرترش به‌عنوان تابعی از دمای تخمیر، زمان تخمیر و نوع کشت آغازگر در شکل (۱) نشان داده‌شده است. بر این اساس با افزایش دمای تخمیر در محدوده ۲۸ تا ۳۶°C و زمان تخمیر در محدوده ۱۶ تا ۳۲ h در هر سه کشت آغازگر مورداستفاده، میزان اسیدیته قابل تیتر خمیرترش با روند مشخصی افزایش یافت. آنالیز واریانس و مقایسه میانگین تغییرات اسیدیته قابل تیتر خمیرترش در سطح ٪۵ نیز نشان داد که سطوح مختلف دمای تخمیر، زمان تخمیر و نوع کشت آغازگر (*لاکتوباسیلوس سیکی*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و مخلوطی از دو سویه مذکور) تأثیر معنی‌داری ($p\leq ۰/۰۵$) بر میزان تغییرات اسیدیته قابل تیتر خمیرترش داشتند. علاوه بر این، بیش‌ترین مقدار اسیدیته قابل تیتر در نمونه حاصل از تخمیر در ۳۶°C به مدت ۳۲ h با تلقیح *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و کم‌ترین مقدار آن نیز در نمونه حاصل از تخمیر در ۲۸°C به مدت ۱۶ h با تلقیح *لاکتوباسیلوس سیکی* مشاهده گردید.

[1] PG Instruments

www.SID.ir

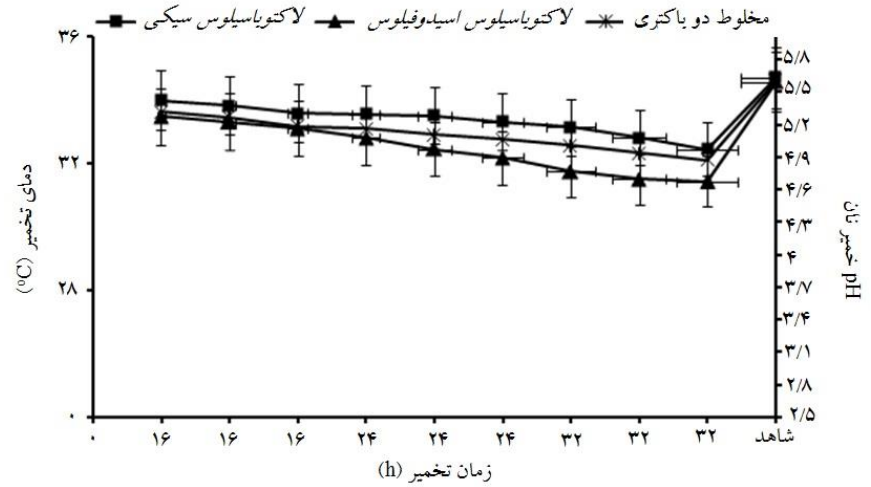
Archive of SID



شکل (۱): تغییرات اسیدیته قابل تیتر خمیرترش حاصل از کشت‌های آغازگر اختصاصی (*لاکتوباسیلوس سیکی*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و مخلوطی از دو سویه مذکور) برحسب اسیدلاکتیک، تحت تأثیر دمای تخمیر و زمان تخمیر.

تغییرات pH خمیر نان فرآوری شده با تیمارهای خمیرترش

تغییرات pH خمیر نان حاوی خمیرترش‌های فرآوری شده با کشت‌های آغازگر اختصاصی نشان داد که به ترتیب pH نمونه‌های حاصل از تخمیر *لاکتوباسیلوس سیکی*، مخلوط دو آغازگر و نهایتا *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* کاهش یافت. علاوه بر این، با افزایش دما و زمان تخمیر در محدوده‌های مورد ارزیابی در مورد هر سه کشت آغازگر، میزان کاهش pH بیشتر شد (شکل ۲).



شکل (۲): تغییرات pH خمیر نان تحت تأثیر زمان تخمیر و دمای تخمیر کشت آغازگر اختصاصی خمیرترش.

تغییرات اسید فیتیک خمیر نان فرآوری شده با تیمارهای خمیرترش

میزان اسید فیتیک در نمونه‌های خمیر نان فرآوری شده با تیمارهای خمیرترش با افزایش زمان و دمای تخمیر، در هنگام استفاده از هر سه کشت آغازگر کاهش یافت. همچنین *لاکتوباسیلوس سیکی* نسبت به *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* تأثیر بیشتری در کاهش اسید فیتیک خمیر نان داشت. علاوه بر این، خمیر نان تهیه‌شده توسط

www.SID.ir

Archive of SID

خمیرترش حاوی مخلوط دو آغازگر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس سیکی* نسبت به هر یک از کشت‌های آغازگر مذکور به‌طور جداگانه سبب کاهش بیشتر اسید فیتیک شد (جدول ۱).

جدول (۱): مقادیر اسید فیتیک خمیر نان تحت تأثیر زمان تخمیر و دمای تخمیر کشت آغازگر اختصاصی خمیرترش

دمای تخمیر	زمان تخمیر	اسید فیتیک خمیر نان (mgr بر ۱۰۰ gr خمیر)		
		لاکتوباسیلوس سیکی	*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*	مخلوط دو آغازگر
۲۸	۰	۵۱۶/۱۸۳±۱/۶۴۰^{a}	۵۱۶/۱۸۳±۱/۶۴۰^{a}	۵۱۶/۱۸۳±۱/۶۴۰^{a}
	۱۶	۴۱۳/۳۵۰±۴/۰۹۰^{b}	۴۰۷/۰۱۰±۱/۱۱۲^{b}	۴۰۷/۶۶۳±۲/۶۷۱^{b}
	۲۴	۳۸۸/۱۲۶±۳/۸۰۱^{e}	۴۰۱/۳۷۳±۰/۷۹۴^{c}	۳۹۵/۳۷۶±۰/۹۳۸^{d}
	۳۲	۳۷۸/۱۱۰±۳/۰۹۵^{f}	۳۷۸/۲۳۰±۱/۴۴۶^{f}	۳۷۱/۶۰۳±۱/۳۴۰^{g}
۳۲	۱۶	۴۰۱/۸۲۰±۱/۴۸۴^{c}	۴۰۴/۶۵۳±۱/۷۱۷^{bc}	۴۰۵/۶۹۳±۲/۳۲۹^{b}
	۲۴	۳۸۸/۴۸۳±۲/۷۸۰^{e}	۳۹۳/۱۸۳±۱/۱۴۸^{d}	۳۸۸/۱۳۰±۱/۵۲۲^{e}
	۳۲	۳۷۳/۳۴۰±۰/۹۸۱^{g}	۳۷۶/۳۵۳±۲/۶۵۸^{f}	۳۷۱/۸۸۳±۱/۵۳۳^{g}
۳۶	۱۶	۳۸۸/۱۹۳±۳/۱۴۸^{e}	۴۰۳/۴۸۳±۱/۴۱۳^{bc}	۴۰۰/۱۵۳±۲/۵۹۵^{c}
	۲۴	۳۸۳/۶۳۳±۲/۴۹۶^{d}	۳۸۸/۵۷۰±۰/۷۸۶^{e}	۳۸۱/۴۲۶±۲/۵۳۵^{f}
	۳۲	۳۷۱/۳۷۶±۱/۶۰۸^{g}	۳۶۹/۴۸۳±۰/۶۴۰^{g}	۳۶۵/۶۵۰±۰/۵۲۵^{h}

حروف غیر یکسان در هر ستون، نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح $\alpha = ۰/۰۵$ می‌باشد.

تغییرات اسید فیتیک در نان‌های سنگک تولیدی

مقایسه تغییرات اسید فیتیک در نان‌های سنگک فرآوری شده با تیمارهای مختلف خمیرترش نیز نشان داد که به‌موازات افزایش زمان و دمای تخمیر در هر سه کشت آغازگر مورداستفاده، میزان اسید فیتیک به نحو مؤثرتری کاهش یافت (شکل ۳). آنالیز واریانس و مقایسه میانگین تغییرات اسید فیتیک نان‌های سنگک فرآوری شده در سطح ۵٪ نیز نشان داد که سطوح مختلف دمای تخمیر، زمان تخمیر و نوع کشت آغازگر اختصاصی خمیرترش بر میزان تغییرات اسید فیتیک نان سنگک به شکل معنی‌داری ($p\leq ۰/۰۵$) مؤثر بودند. همچنین تلقیح *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، تأثیر بیشتری در کاهش اسید فیتیک نان سنگک نسبت به *لاکتوباسیلوس سیکی* داشت و اسید فیتیک نان سنگک فرآوری شده توسط خمیرترش حاصل از مخلوط *لاکتوباسیلوس سیکی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نسبت به نان تولیدی با هر یک از آن‌ها به‌طور جداگانه، سبب کاهش بیشتر اسید فیتیک گردید. علاوه بر این، از بین متغیرهای مورد ارزیابی نیز تأثیر زمان تخمیر به‌تنهایی درروند کاهش اسید فیتیک نسبت به دمای تخمیر مشهودتر بود.

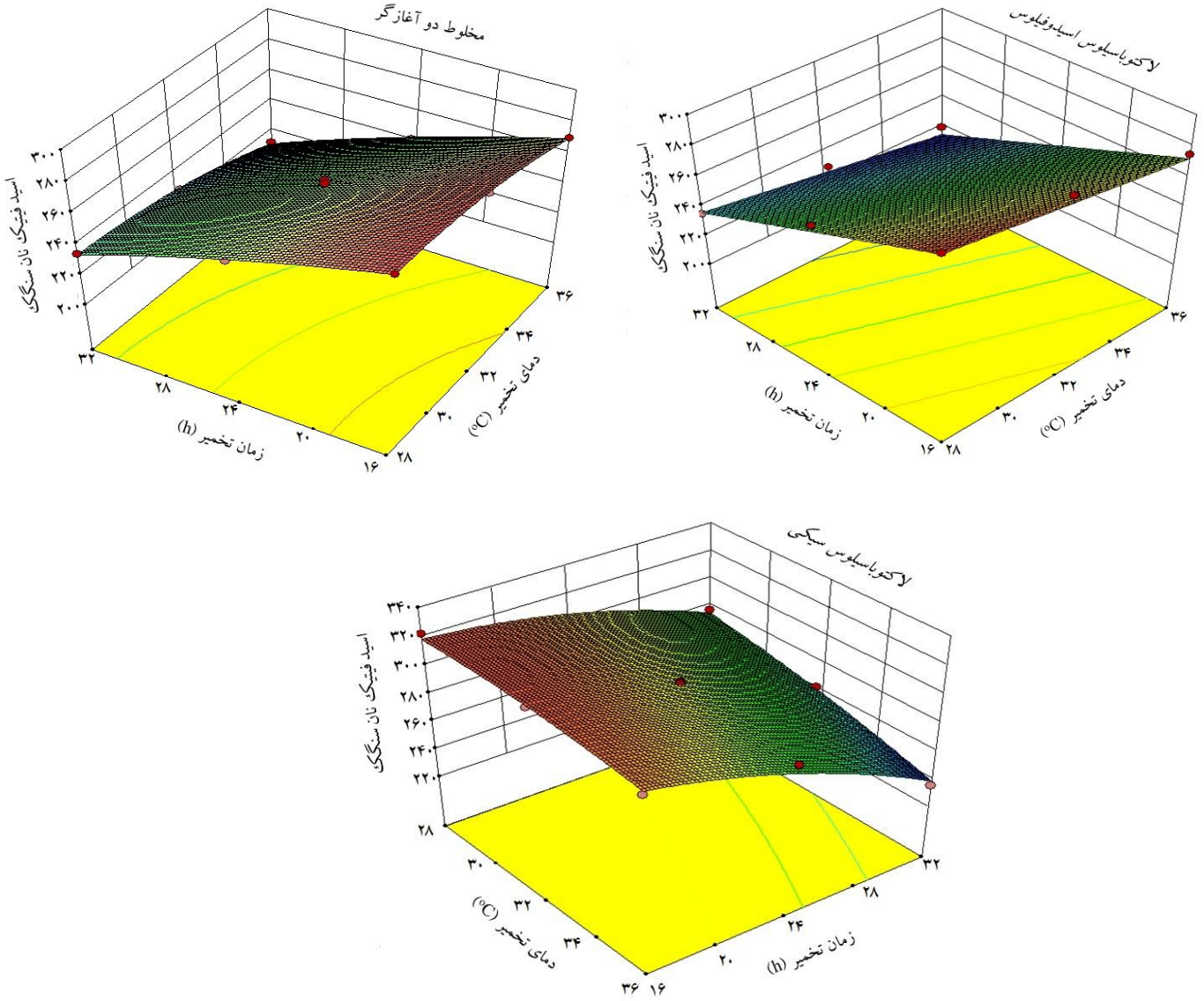
رابطه اسیدیته قابل تیتر خمیرترش با میزان اسید فیتیک خمیر و نان سنگک

رابطه رگرسیونی اسیدیته قابل تیتر خمیرترش با میزان اسید فیتیک خمیر نان و نان سنگک فرآوری شده نیز به ترتیب دارای ضرایب همبستگی ۰/۸۹۳ (مدل لجستیک) و ۰/۸۸۹ (مدل خطی) بود و با افزایش اسیدیته قابل تیتر خمیرترش، محتوای اسید فیتیک نیز روند نزولی داشت. بالا بودن ضرایب همبستگی بین پارامترهای مذکور، نشان

www.SID.ir

Archive of SID

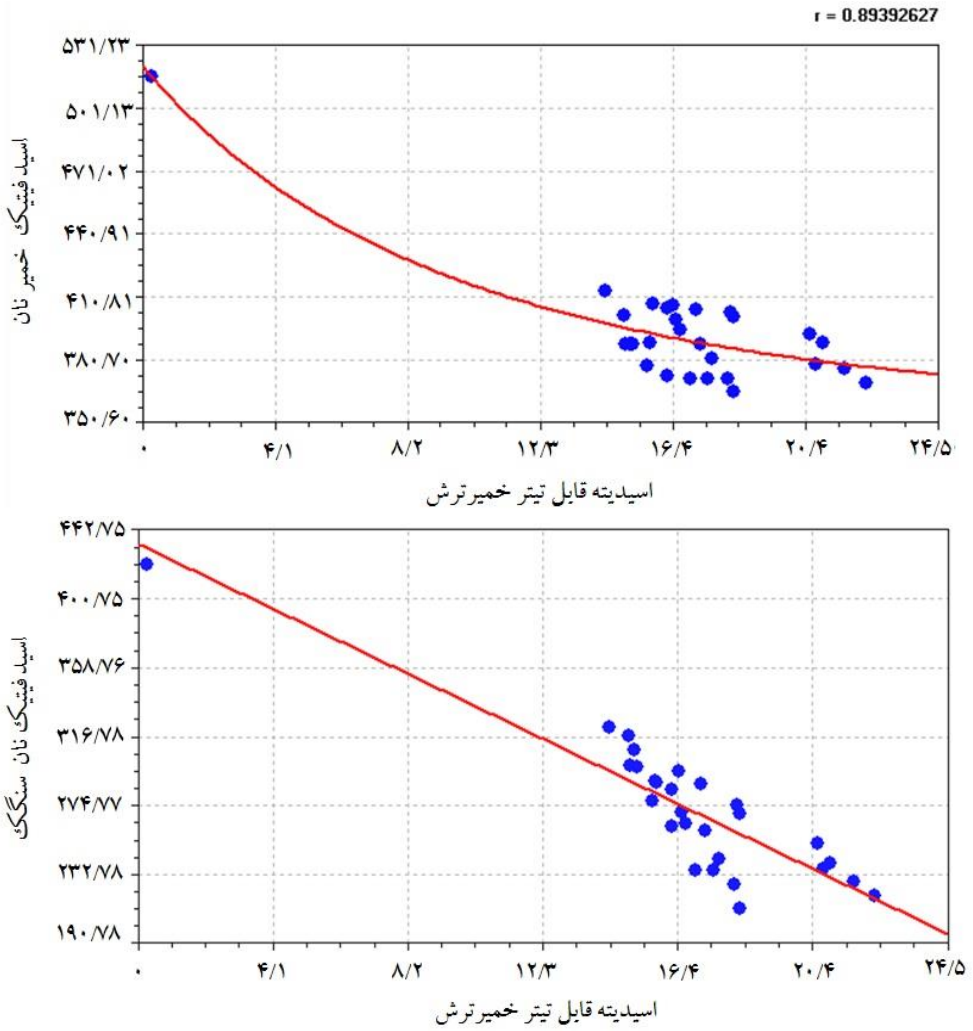
دهنده ارتباط معنی‌دار و نزدیک‌بین عوامل مؤثر بر تخمیر خمیرترش نظیر دمای تخمیر، زمان تخمیر و نوع کشت آغازگر اختصاصی با محتوای اسید فیتیک خمیر و نان سنگک تولیدی بود. بر این اساس، آغازگرهای میکروبی در صورت کنترل شرایط تخمیر خمیرترش می‌توانند به نحو مؤثری، میزان اسید فیتیک نان سنگک را کاهش دهند.



شکل (۳): تغییرات اسید فیتیک (برحسب mgr در gr ۱۰۰ نان) نان‌های سنگک فرآوری شده با کشت‌های آغازگر *لاکتوباسیلوس سیکی*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و مخلوط دو باکتری مذکور، تحت تأثیر دمای تخمیر و زمان تخمیر خمیرترش.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل (٤): رابطه رگرسیونی اسیدیته قابل تیتر خمیرترش با میزان اسید فیتیک (برحسب mgr در ۱۰۰ gr نان) خمیر و نان سنگک تولیدی.

بحث

بر اساس نتایج این پژوهش، میزان اسید فیتیک خمیر و نان سنگک تولیدشده با خمیرترش‌های حاوی *لاکتوباسیلوس سیکی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در محدوده‌های دمایی ۲۸ تا ۳۶°C و زمانی ۱۶ تا ۳۲ h تخمیر به شکل معنی‌داری ($p\leq ۰/۰۵$) از مقدار اسید فیتیک خمیر (۵۱۶/۱۸ mgr در ۱۰۰ gr) و نان سنگک (۴۲۱/۷۵ mgr در ۱۰۰ gr) در نمونه شاهد کمتر بود و همچنین با افزایش دما و زمان تخمیر به نحو مؤثرتری کاهش یافت. علاوه بر این، مخلوط آغازگرهای مذکور نسبت به هر یک از آن‌ها به‌طور مستقل، تأثیر بیشتری بر کاهش اسید فیتیک داشت. رابطه رگرسیونی اسیدیته قابل تیتر خمیرترش با میزان اسید فیتیک خمیر و نان سنگک فرآوری شده نیز به ترتیب دارای ضرایب همبستگی ۰/۸۹۳ و ۰/۸۸۹ بود و با افزایش اسیدیته قابل تیتر خمیرترش، محتوای اسید فیتیک نیز از یک‌روند نزولی تبعیت نمود.

نوع کشت آغازگر، ترکیب سوبسترا و همچنین شرایط دمایی و زمانی تخمیر، مهم‌ترین عوامل مؤثر بر تغییرات اسیدیته قابل تیتر خمیرترش هستند. علاوه بر این، در شرایط یکسان دما و زمان تخمیر و همچنین در صورت استفاده از سوبسترای مشابه، تأثیر کشت آغازگر بر

www.SID.ir

Archive of SID

تغییرات اسیدیته خمیرترش ملموس‌تر خواهد بود (۵). *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* یک باکتری اسیدلاکتیک هموفرمنتاتیو اجباری است و همان‌طور که انتظار می‌رفت نسبت به *لاکتوباسیلوس سیکی* (هتروفرمنتاتیو اختیاری) با تولید مقادیر بیشتر اسیدلاکتیک سبب افزایش اسیدیته قابل تیتر و کاهش pH در محدوده تیمارهای مورد ارزیابی در این پژوهش شد. خمیرترش و خمیر نان حاوی مخلوط دو آغازگر مذکور نیز دارای مقادیر اسیدیته قابل تیتر و pH حد واسط خمیرترش و نان حاوی هر یک از این آغازگرها به‌تنهایی بود. هرچند pH مطلوب جهت تجزیه فیتات در آرد گندم، معادل ۴/۵ است (۲). اما لینهاردت[1] و همکاران (۲۰۰۵) با ارزیابی تغییر میزان هیدرولیز فیتات به‌واسطه تخمیر خمیرترش دریافتند که افت جزئی pH تا حدود ۵/۵ نیز منجر به کاهش چشمگیر مقدار فیتات (تا حدود ٪۳۵) در محصول تولیدی می‌گردد (۱۹). لذا استفاده از خمیرترش می‌تواند به نحو کاملاً مؤثر، هیدرولیز اسید فیتیک و دسترسی به املاح را افزایش دهد. علاوه بر این، چنانچه در فرآیند تخمیر خمیرترش از سبوس گندم استفاده گردد شدت تجزیه فیتات به میزان چشمگیری توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک، افزایش خواهد یافت (۳). از سوی دیگر ازآنجاکه عموماً با افزایش دما و زمان تخمیر خمیرترش، تولید اسیدهای آلی افزایش‌یافته و pH را به محدوده بهینه فعالیت آنزیم فیتاز نزدیک می‌کند لذا آنزیم فیتاز در شرایط و زمان عمل مطلوب‌تری قرارگرفته و می‌تواند اسید فیتیک را به نحو مؤثرتری هیدرولیز نماید. البته تشکیل ترکیبات محلول از کمپلکس‌های نامحلول اسید فیتیک توسط متابولیت‌های تولیدی در حین تخمیر نیز در این امر مؤثر هستند. از سوی دیگر، چنانچه مدت‌زمان تخمیر از حد معینی بیشتر شود، افزایش بازدارندگی در فعالیت فیتاز به‌واسطه انباشتگی بیش‌ازحد فسفر غیر آلی ناشی از فسفریلاسیون مجدد اسید فیتیک منجر به کاهش هیدرولیز آن خواهد شد (۲,۱).

درصد استخراج آرد، عامل مهمی در تعیین میزان اسید فیتیک موجود در خمیر و نان تولیدی محسوب می‌شود به‌نحوی‌که در نان حاصل از آرد کامل، میزان اسید فیتیک بسیار بیشتر است. لذا اگرچه این فرآورده دارای فیبر رژیمی بالایی است اما محتوای اسید فیتیک آن به‌واسطه ایجاد کمپلکس با املاح ضروری تغذیه‌ای نظیر آهن و کلسیم مانع از جذب آن‌ها و متعاقباً بروز پیامدهای ضدتغذیه‌ای می‌گردد. در این نوع فرآورده‌ها به کمک آنزیم‌های تجزیه‌کننده اسید فیتیک نظیر فیتاز می‌توان محتوای فیتات را کاهش داد (۲۰,۱۱). تخمیر توسط مخمر نانوایی در بهترین حالت، تنها ٪۳۸ از اسید فیتیک موجود را هیدرولیز می‌کند درحالی‌که با استفاده از خمیرترش می‌توان این میزان را تا ٪۶۲ افزایش داد. ازجمله دلایل احتمالی کاهش میزان اسید فیتیک در نان‌های تهیه‌شده توسط خمیرترش، فعالیت فیتازی باکتری‌های اسیدلاکتیک می‌باشد (۳). دآنجلیس[2] و همکاران (۲۰۰۳) قابلیت تجزیه فیتات توسط دوازده جنس از باکتری‌های اسیدلاکتیک جداشده از خمیرترش را موردمطالعه قرار داده و دریافتند که این ویژگی با توجه به جنس و نژاد آغازگر لاکتیکی، بسیار متفاوت است (۸). بر اساس نتایج پژوهش چائوی[3] و همکاران (۲۰۰۶) نیز استفاده از نان تولیدی با خمیرترش سنّتی در وعده‌های غذایی موش‌های آزمایشگاهی سبب افزایش میزان آهن نسبت به رژیم غذایی حاوی نان غیر خمیرترشی شد که دلیل احتمالی آن فعالیت بالای فیتازی باکتری‌های اسیدلاکتیک موجود در خمیرترش سنّتی عنوان گردید (۲۱). علاوه بر فعالیت فیتازی آغازگرهای لاکتیکی خمیرترش، تأثیر اسیدهای آلی تولیدی توسط

1 Leenhardt

2 De Angelis
3 Chaoui

www.SID.ir

Archive of SID

آن‌ها در حین تخمیر جهت رساندن pH به محدوده بهینه فعالیت آنزیم فیتاز و متعاقباً افزایش دسترسی زیستی به املاح نیز نقش دارد (۲۳,۲۲). بادریک[1] و همکاران (۲۰۱۴) نیز با بررسی تأثیر شرایط تخمیر و فرآوری نان‌های حاصل از آرد کامل گندم، جو دوسر و چاودار بر تغییر محتوای اسد فیتیک دریافتند که زمان تخمیر از بین عوامل موردبررسی، تأثیر بیشتری بر کاهش میزان فیتات دارد اما تأثیر دمای تخمیر در مطالعه مذکور چندان بارز نبود (۲). لذا تولید نان‌های خمیرترشی باکیفیت بالا، مستلزم استفاده از کشت‌های آغازگر مناسب به‌منظور کنترل تخمیر و بهینه‌یابی شرایط فرآوری نان می‌باشد. استفاده از آغازگرهای لاکتیکی انتخابی در خمیرترش باقابلیت تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده فیتات، به‌عنوان یک روش مؤثر جهت دستیابی به نان‌های باکیفیت حاصل از آرد کامل گندم و کاهش محتوای فیتات آن‌ها مطرح می‌باشد (۱۲).

نتیجه‌گیری

فعالیت فیتازی آغازگرهای لاکتیکی خمیرترش و تأثیر کاهش pH ناشی از تولید اسیدهای آلی توسط آن‌ها بر فعالیت آنزیم فیتاز، مهم‌ترین دلایل کاهش اسید فیتیک در نان‌های خمیرترشی هستند. البته برای حذف مناسب اسید فیتیک باید شرایط تخمیر با انتخاب بهترین محدوده‌های دمایی و زمانی و همچنین سطوح مناسب اسیدیته قابل تیتر خمیرترش با انتخاب مخلوطی از آغازگرهای همو و هتروفرمنتاتیو کنترل گردد. *لاکتوباسیلوس سیکی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* مورداستفاده در این پژوهش نیز در صورت کنترل شرایط تخمیر خمیرترش می‌توانند به نحو مؤثری، محتوای اسید فیتیک خمیر و نان سنگک تولیدی را کاهش داده و منجر به افزایش دسترسی به املاح موجود در این فرآورده شوند.

[1] Buddrick

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و همچنین معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گلستان که بخشی از هزینه‌های اجرایی این پژوهش را در قالب یک طرح مشترک بین دانشگاهی تأمین نمودند، قدردانی می‌گردد.

منابع

1.Gargari BP, Mahboob S, Razavieh SV. Content of phytic acid and its mole ratio to zinc in flour and breads consumed in Tabriz, Iran. Journal of Food Chemistry. 2007; 100(3): 1115-1119.

2. Buddrick O, Jones OAH, Cornell HJ, Small DM. The influence of fermentation processes and cereal grains in wholegrain bread on reducing phytate content. Journal of Cereal Science. 2014; 59(1): 3-8.

3. Katina K, Arendt E, Liukkonen KH, Autio K, Flander L, Poutanen K. Potential of sourdough for healthier cereal products. Journal of Trends in Food Science & Technology. 2005; 16(1-3): 104-112.

4. Lioger D, Leenhardt F, Demigne C, Remesy C. Sourdough fermentation of wheat fractions rich in fibres before their use in processed food. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2007; 87(7): 1368-1373.

5.Chavan RS, Chavan SR. Sourdough technology, a traditional way for wholesome foods: a review. Comprehensive Review of Food Science and Food Safety. 2011; 10(3): 170-183.

6.Gobbetti M, Rizzello CG, Di Cagno R, De Angelis M. How the sourdough may affect the functional features of leavened baked goods. Journal of Food Microbiology. 2014; 37(C): 30-40.

7.Reale A, Konietzny U, Coppola R, Sorrentino E, Greiner R. The importance of lactic acid bacteria for phytate degradation during cereal dough fermentation. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2007; 55(8): 2993-2997.

8.De Angelis M, Gallo G, Corbo MR, McSweeney PL, Faccia M, Giovine M, Gobbetti M. Phytase activity in sourdough lactic acid bacteria: purification and characterization of a

www.SID.ir

Archive of SID

phytase from *Lactobacillus sanfranciscensis* CB1. International Journal of Food Microbiology. 2003; 87(3): 259-270.

۹. ارشدی نژاد ش، عزیزی مح، حمیدی اصفهانی ز. اثر شرایط مختلف تخمیر بر میزان اسید فیتیک خمیر نان بربری. فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران. ۱۳۸۴؛ ۴(۲): ۱-۱۲.

۱۰. دیدار ز، سیدین اردبیلی س‌م، میزانی م، حداد خداپرست مح، قائمی ع. مقایسه استفاده از انواع مختلف خمیرترش در میزان اسید فیتیک نان سنتی ایران (لواش). مجله پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران. ۱۳۸۷؛ ۲(۲): ۳۱-۱۹.

11. Palacios MC, Haros M, Sanz Y, Rosell CM. Selection of lactic acid bacteria with high phytate degrading activity for application in whole wheat bread-making. Journal of Food Science and Technology. 2008; 41(1): 82-92.

12. Lopez HW, Krespine V, Guy C, Messager A, Demigne C, Remest C. Prolonged fermentation of whole wheat sourdough reduces phytate level and increases soluble magnesium. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2001; 49(5): 2657-2662.

13. AACC International. Approved methods of the American association of cereal chemists. 2010; 11th Ed. The St. Paul.

۱۴. صادقی ع. جداسازی و شناسایی آغازگرهای لاکتوباسیلوس غالب موجود در خمیرترش حاصل از آرد نان سنگک. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۳۹۳؛ طرح پژوهشی خاتمه یافته به شماره شناسه ۱۵-۳۱۴-۹۲.

15. Dal Bello F, Clarke CI, Ryan LAM, Ulmer H, Schober TJ, Strom K. Improvement of the quality and shelf life of wheat bread by fermentation with the antifungal strain *Lactobacillus plantarum* FST 1.7. Journal of Cereal Science. 2007; 45(3): 309-318.

16. Katina K. Sourdough a tool for the improved flavour, texture and shelf life of wheat bread. Journal of technical research centre of Finland, 2005; p 13-41.

۱۷. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. غلات و فرآورده‌های آن- نان سنگک- آئین‌کار تولید. ۱۳۸۱؛ استاندارد ملی شماره ۶۹۴۳ چاپ اول.

18. Haug W, Lantzsch HJ. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. Journal of the Science of Food and Agriculture. 1983; 34(12): 1423-1426.

19. Leenhardt F, Levrat-Verny MA, Chanliaud E, Rémésy C. Moderate decrease of pH by sourdough fermentation is sufficient to reduce phytate content of whole wheat flour through endogenous phytase activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2005; 53(1): 98-102.

20. Frontela C, Ros G, Martínez C. Phytic acid content and "in vitro" iron, calcium and zinc bioavailability in bakery products: the effect of processing. Journal of Cereal Science. 2011; 54(1): 173-179.

21. Chaoui A, Faid M, Belahsen R. Making bread with sourdough improves iron bioavailability from reconstituted fortified wheat flour in mice. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 2006; 20(4): 217-220.

22. Sanz-Penella JM, Tamayo-Ramos JA, Haros M. Application of bifidobacteria as starter culture in whole wheat sourdough bread making. Journal of Food and Bioprocess Technology. 2012; 5(6): 2370-2380.

23. Lopez HW, Duclos V, Coudray C, Krespine V, Feillet-Coudray C, Messager A, Demigné C, Rémésy C. Making bread with sourdough improves mineral bioavailability from reconstituted whole wheat flour in rats. Journal of Nutrition. 2003; 19(6): 524-530.

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluating the effect of sourdough fermentation containing *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus acidophilus* on phytate content of Sangak bread

Alireza Sadeghi[1], Mojtaba Raeisi [2], Maryam Ebrahimi[3], Abbas Abedfar[4]

1-Department of Food Science and Technology, College of Food Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran (Correspond author)*
2-Cereal Health Research Center, College of Public Health, Golestan University of Medical Science, Gorgan, Iran
3-Department of Food Science and Technology, College of Food Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
4-Department of Food Biotechnology, College of Food Technology, Research Institute of Food Science and Technology of Khorasan, Mashhad, Iran

Abstract
In this study, the effect of sourdough fermentation containing *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus acidophilus* (as separate or mixed with equal proportions) on phytate content of produced dough and Sangak bread was investigated. For this purpose, after applying 28, 32, 36 °C fermentation temperatures and 16, 24, 32 h fermentation times the amount of phytate was evaluated, using a spectrophotometric assay based on the measurement of iron absorption. According to results of statistical analysis, with increasing fermentation time and temperature the amount of phytate was significantly ($p<0.05$) decreased in dough and bread produced with each of mentioned starters. Furthermore, mixture of Lactobacillus as starter culture was more effective on phytate reduction in comparison to using them separately. Regression equation between sourdough titratable acidity and phytic acid content of produced dough and Sangak bread had respectively correlation coefficients equal to 0.893 (logistic model) and 0.889 (linear model), and by increasing of sourdough titratable acidity, the contents of phytic acid were also decreased. Based on these results, controlled fermentation of sourdough can effectively reduce the amount of phytic acid of Sangak bread in comparison to control sample.

Keywords: Sangak bread, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus acidophilus*, Phytic acid.

* Sadeghi.gau@gmail.com

www.SID.ir