مقایسه اثر مخمر نانوائی و باکتری‌های اسیدلاکتیک جدا شده از خمیرترش بر اسیدفیتیک

* **مینا زرین گل:** کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران (فارس)، ایران (*نویسنده مسئول). minazarringol3040@yahoo.com
محمدرضا فاضلی: دانشیار، گروه کنترل غذا و دارو، دانشکده داروسازی و علوم داروئی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. fazelimo@sina.tums.ac.ir
نعمت اله رزمی: دانشیار، گروه بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران (فارس)، ایران. doctorrazmi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱/۲۸

چکیده

زمینه و هدف: در ایران، نان عمدتاً از آردهای با درصد استخراج بالا و زمان عمل‌آوری کوتاه تهیه می‌گردد که باعث بالا رفتن اسیدفیتیک و عدم تجزیه آن در فرآیند تهیه نان شده و در نتیجه باعث کاهش قابلیت استفاده از عناصر معدنی مهم در بدن می‌شود. در این مطالعه، اثر مخمر نانوائی و چند لاکتوباسیلوس بر اسید فیتیک نان باگت مقایسه شد.

روش کار: دو سری نمونه خمیر تهیه شد (حاوی مخمر، فاقد مخمر)، به هر نمونه سوسپانسیون باکتریایی حاوی (10^8 cfu/g) باکتری از هر سویه لاکتوباسیلوس به طور جداگانه تلقیح و به مدت ۲۰ ساعت در دمای $37^{\circ}C$ نگهداری شد و بعد از پخت، میزان اسیدفیتیک در هر دو سری نمونه ارزیابی و با هم مقایسه گردید. مقدار اسید فیتیک با روش اسپکتروفتومتری تعیین شد (مقدار فسفر از روش مولیبدووانادات تعیین شد).

یافته‌ها: در سری اول نمونه‌ها (حاوی مخمر)، متوسط میزان اسیدفیتیک در خمیرترش ساخته شده با *لاکتوباسیلوس های فرمنتوم* ۱/۱۶±۱۳۸/۸۴، *اسیدوفیلوس* ۱/۴۷±۱۲۶/۲۲، *کازئی* ۱/۰۹±۱۴۸/۳۱ و *پلانتاروم* ۰/۶۴±۱۲۹/۳۷ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بود. در سری دوم نمونه‌ها (فاقد مخمر)، متوسط میزان اسید فیتیک در خمیرترش ساخته شده با لاکتوباسیلوس‌های *فرمنتوم* ۲/۰۳±۲۶۸/۲۲، *اسیدوفیلوس* ۲/۰۳±۲۵۵/۶۰، *کازئی* ۰/۶۲±۲۷۴/۵۳ و *پلانتاروم* ۰/۷۸±۲۶۱/۹۱ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بود. نتایج حاصل نشان داد که اثر مخمر و باکتری‌های اسیدلاکتیک در کاهش مقدار اسیدفیتیک معنی‌دار است ($p<0/001$).

نتیجه‌گیری: مخمر نانوائی و لاکتوباسیلوس‌ها به طور چشمگیری میزان اسید فیتیک را کاهش دادند.

کلیدواژه‌ها: مخمر نانوائی، باکتری‌های اسید لاکتیک، اسید فیتیک، تخمیر

مقدمه

در ایران بیش از ۹۰ درصد انرژی مصرفی از مواد غذائی گیاهی تأمین می‌شود که در این میان سهم غلات ۶۴ درصد است و سهم نان ۴۰ درصد در شهر و ۶۰ در صد در روستاها می‌باشد (۱). اخیراً مصرف نان‌های تهیه شده از آرد کامل یا آرد با درصد استخراج بالا توصیه می‌شود زیرا این آردها حاوی مقادیر بیشتری فیبر، ویتامین و املاح معدنی نسبت به آردهای سفید هستند ولی علیرغم اثرات مفید تغذیه‌ای آرد کامل، مقدار برخی مواد نامطلوب آن همچون اسید فیتیک بیشتر از آردهای سفید است (۲). اسید فیتیک به‌عنوان یک ترکیب ضد تغذیه‌ای در سبوس غلات، حبوبات و برخی دیگر از دانه‌ها شناخته شده است. اسید فیتیک از یک حلقه اینوزیتول و شش گروه فسفات تشکیل شده که می‌تواند با یون‌های فلزات دو ظرفیتی و نیز پروتئین‌ها ایجاد کمپلکس نماید و زیست دسترسی آن‌ها را برای بدن کاهش دهد و معمولاً بیش از ۸۵٪ از اسید فیتیک در لایه‌های خارجی و آلرون دانه‌های غلات و سبوس آن‌ها وجود دارد (۳). استفاده از خمیرترش و تولید انبوه نان تخمیرشده به‌وسیله مصری‌ها در حوالی رود نیل پایه‌گذاری شد. در طول فرآیند تخمیر خمیرترش، میکروارگانیسم‌های موجود در خمیرترش در تولید

www.SID.ir

نانی با کیفیت مطلوب نقش دارند. میکروارگانیسم‌های گروه تخمیر علاوه بر مخمرها، شامل باکتری‌های اسیدلاکتیک (LAB) هستند که به ترتیب مسئول ورآوردن و اسیدی کردن خمیر می‌باشند (۴). *ساکارومایسس سرویزیه*، مخمر اصلی موجود در خمیرترش می‌باشد و مهم‌ترین باکتری‌های جدا شده از خمیرترش نیز متعلق به جنس لاکتوباسیلوس هستند. این لاکتوباسیل‌ها می‌توانند از بین انواع جور تخمیر اجباری، ناجور تخمیر اجباری و یا ناجور تخمیر اختیاری باشند (۵،۶).

گول و همکاران نمونه‌های خمیرترش را از نانوایی‌های مختلف ترکیه جمع‌آوری، LAB خمیرترش ها را جدا کرده و اثرات متقابل LAB جدا شده و مخمر را ارزیابی کردند. سویه‌های LAB به‌کاررفته در تولید نان خمیرترش، ماندگاری نان را افزایش داده و بیاتی را به تأخیر انداخت (۷).

روبرت و همکاران ویژگی‌های اسیدیفیکاسیون، فعالیت متابولیکی و عملکرد فنی چهار آغازگر لیوفیلیزه *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس لوکونوستوک* طی فرایند تولید نان از خمیرترش گندم با اضافه کردن ۰/۲ درصد مخمر نانوائی را مورد بررسی قرار دادند (۷).

هارلند و همکاران در یافتند افزایش مخمر و طولانی‌تر کردن زمان تخمیر، آبکافت اسید فیتیک را افزایش می‌دهد کاهش فیتات در نان چاودار بیشتر از نان گندم کامل و افزایش مخمر نیز در آن مؤثرتر بود و کاهش اصلی در حین مرحله ورآمدن رخ داد (۱).

گارگاری و همکاران با بررسی نان‌های مصرفی در تبریز میزان اسید فیتیک را در آرد، خمیر و نان و نسبت مولی آن به فلز روی را اندازه گرفتند و گزارش کردند میزان اسید فیتیک در آرد بالاترین مقدار، سپس در خمیر و در نهایت نان کمترین میزان اسید فیتیک را دارا می‌باشد (۱).

حق‌پرست و همکاران با بررسی ۴ رقم گندم، ماده عمل آورنده (مخمر ۲، خمیرترش ۲۰، جوش‌شیرین ۱/۵ درصد) در زمان‌های مختلف تخمیر (۴۵، ۵۵، ۷۵ و زمان ۶۵ دقیقه به‌عنوان شاهد) را بر میزان اسید فیتیک مؤثر دانستند، آن ها عنوان کردند با افزایش مدت زمان تخمیر، مقدار اسید فیتیک کاهش می‌یابد، کاهش بیشتر در مقدار اسید فیتیک با خمیرترش و مدت زمان ۷۵ دقیقه در ارقام فوق را به ترتیب ۹۵/۵، ۹۵/۱۳، ۹۱/۴ و ۹۰/۹۶ درصد گزارش کردند (۱).

در تحقیقی پوتانن و همکاران تأثیر خمیرترش غلات را روی کیفیت تغذیه‌ای غذاها بررسی کردند. تخمیر با استفاده از خمیرترش از طریق ایجاد محیط اسیدی مناسب برای افزایش فعالیت آنزیم فیتاز، موجب افزایش زیست دسترسی به مواد مغذی در بدن شده و نهایتاً سلامت انسان را به دنبال دارد (۳).

با توجه به حجم بسیار بالای مصرف نان در کشور ما و آثار ضد تغذیه‌ای یاد شده برای اسید فیتیک در رژیم غذایی، بررسی عوامل مؤثر در میزان اسید فیتیک در نان مصرفی مردم اهمیت خاصی پیدا می‌کند. به دلیل امکان تشکیل پیوند اسید فیتیک با کاتیون‌های دو و سه ظرفیتی مانند کلسیم، آهن، مس، منیزیم، منگنز و کاهش زیست دسترسی به این عناصر و احتمال تأثیر آن در ابتلا به بیماری‌هایی مانند راشیتیسم، کم‌خونی و غیره، لزوم انجام این تحقیق برای کاهش میزان اسید فیتیک نان مصرفی در کشور امری ضروری به نظر می‌رسد و همچنین این مقاله سعی دارد با یک نگاه کلی‌تر به نقش باکتری‌های اسیدلاکتیک و مخمر نانوائی در کاهش اسید فیتیک در تولید نان بپردازد. هدف از پژوهش حاضر مقایسه اثر مخمر نانوائی (*ساکارومیسس سرویزیه*) و باکتری‌های اسیدلاکتیک جدا شده از خمیرترش بر میزان اسید فیتیک نان باگت است. در این تحقیق در مقایسه با تحقیقات مشابه، گونه‌های بیشتری از باکتری‌های اسیدلاکتیک (چهار گونه لاکتوباسیلوس) مورد بررسی قرار گرفته است و همچنین اثر باکتری‌های اسیدلاکتیک و مخمر نانوائی مقایسه شده است.

روش کار

Archive of SID
www.SID.ir

آرد مورد نیاز این تحقیق، آرد سبوس‌گیری شده (آرد ستاره) مخصوص پخت نان باگت به‌صورت تصادفی از یکی از نانوایی‌های شهر تهران خریداری شد. ویژگی‌های شیمیایی آرد مزبور شامل رطوبت، خاکستر، پروتئین، گلوتن مرطوب و عدد فالینگ با استفاده از روش‌های مصوب AACC (2000) به ترتیب به شماره‌های ۱۵-۴۴، ۰۱-۰۸، ۱۰-۴۶، ۱۰-۳۸ و ۸۱-۵۶ تعیین شد (۸). مخمر خشک فعال *ساکارومیسس سرویزیه*، از شرکت ایران مایه تهیه گردید. محیط‌های کشت مایع و جامد MRS و محلول‌های شیمیایی مصرفی ساخت شرکت مرک آلمان بودند. در این تحقیق از کشت خالص چهار سویه لاکتوباسیلوس یعنی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* که در آزمایشگاه کنترل غذا و داروی دانشکده داروسازی دانشگاه تهران، به‌صورت جدا شده موجود بود استفاده شد.

باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم (PTCC1058)، *لاکتوباسیلوس کازئی* (PTCC1608)، *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* (PTCC1638) و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (PTCC1643) به‌صورت آمپول‌های لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی ایران (PTCC) تهیه شد. محیط کشت مایع MRS (Merck) آماده و اتوکلاو (ریحان طب ایران) گردید، سپس به‌منظور تکثیر سوش‌های موردنظر آمپول‌های لیوفیلیزه در زیر هود بیولوژیک شکسته و باکتری‌ها در شرایط استریل به محیط کشت آماده، تلقیح شد. محیط کشت‌های تلقیح شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری (ASTELL انگلیس) شد (۹).

جهت تهیه خمیرترش، سویه‌های جدا شده باکتری‌های اسیدلاکتیک مورد آزمایش استفاده شد. به‌منظور تکثیر سوش‌های موردنظر، در شرایط استریل، این سویه‌ها به‌طور جداگانه به محیط کشت مایع MRS اختصاصی منتقل شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد و رشد باکتری صورت گرفت، سپس از محیط کشت مایع MRS حاوی باکتری آماده شده به‌منظور شمارش جمعیت باکتریایی، رقت‌های 10^{-8} تا 10^{-10} تهیه شد و به روش پورپلیت بر روی محیط کشت جامد MRS اختصاصی کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد پس از طی ۲۴ ساعت، رشد باکتری‌ها و ظاهر شدن کلنی صورت گرفت و شمارش باکتریایی انجام شد. جمعیت تقریبی شمارش شده در هر چهار نوع لاکتوباسیلوس 10^8 cfu/g گزارش شد (۹).

در این تحقیق دو سری نمونه ۵ تائی تهیه می‌شود (سری اول حاوی مخمر، سری دوم فاقد مخمر). نمونه‌های خمیرترش با استفاده از کشت‌های باکتریایی فعال *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوبا سیلوس پلانتاروم*، *لاکتوبا سیلوس فرمنتوم* و *لاکتوبا سیلوس / سیدوفیلوس* به طور جداگانه تهیه شد و سوش‌های باکتریایی به طور جداگانه با جمعیت تقریبی 10^8 cfu/g به خمیر تلقیح گردید. به‌منظور تلقیح سوش ها به خمیر نان باید سوسپانسیون باکتریایی تهیه گردد. برای تهیه آن، سوش‌های موردنظر در محیط کشت مایع MRS در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد تا سلول ها کاملا فعال شدند. محیط کشت مایع MRS حاوی باکتری، در دور g × ۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (Kokusan ژاپن) شد و پس از شستشو با سرم فیزیولوژی، سوسپانسیون باکتریایی تهیه شد و به مخلوط آماده شده خمیر (آرد، نمک، مخمر خشک فعال وآب) اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد پس از طی این مراحل مقدار اسید فیتیک خمیر ارزیابی شد (۱۰).

مقدار اسید فیتیک با استفاده از $FeCl_3$ و اندازه‌گیری فسفر موجود در فیتات فریک به روش رنگ سنجی با معرف‌های وانادومولیبدات طبق روش تامپسون و اردمن تعیین شد (۱۱). در این تحقیق از دستگاه اسپکتروفتومتر (Cecil ساخت انگلیس) استفاده شد.

Archive of SID
www.SID.ir

در این تحقیق تأثیر مخمر ساکارومایسس سرویزیه و چهار نوع باکتری اسیدلاکتیک (*لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*) بر مقدار اسید فیتیک مقایسه شد.

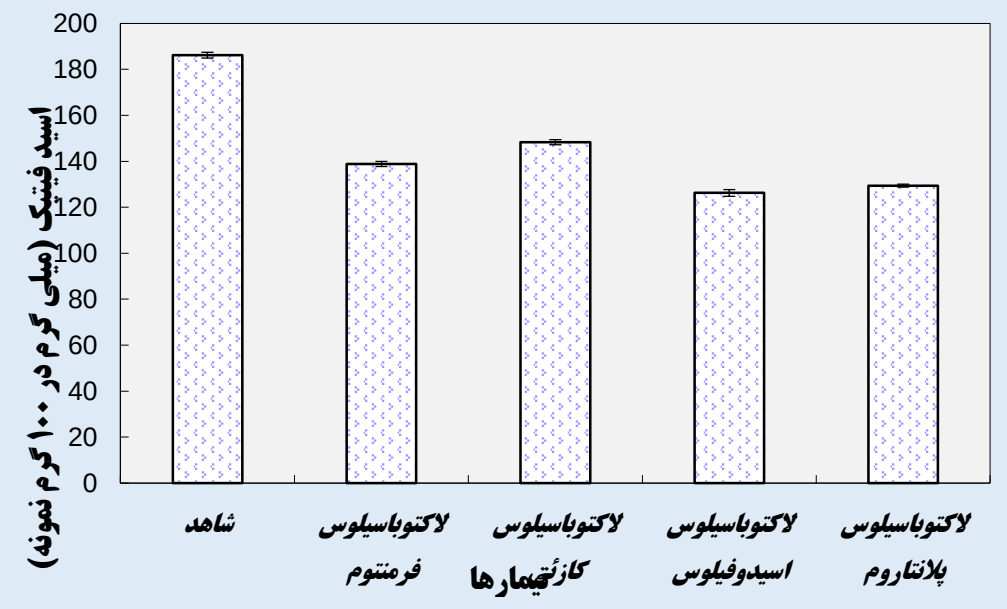
پژوهش حاضر جهت بررسی تأثیر باکتری‌های اسیدلاکتیک جدا شده از خمیرترش بر اسید فیتیک با ۵ تیمار (شاهد، *لاکتوبا سیلوس فرمنتوم*، *لاکتو باسیلوس کازئی*، *لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتو باسیلوس پلانتاروم* و *لاکتو باسیلوس پلانتاروم*) در دو گروه دارای مخمر و فاقد مخمر و ۳ تکرار در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. جهت مقایسه میانگین تیمارها (مقایسه جداگانه ۵ تیمار در گروه‌های دارای مخمر و فاقد مخمر) از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی با سطح احتمال ۵ درصد، آزمون تی مستقل (مقایسه بین دوگروه دارای مخمر و فاقد مخمر برای هر ۵ تیمار) و آنالیز واریانس دوطرفه جهت بررسی اثرات اصلی و متقابل تمامی تیمارها استفاده گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های این پژوهش با استفاده از بسته نرم‌افزاری SPSS V21 انجام گرفت.

یافته‌ها

آرد مصرفی در این تحقیق، دارای ۱۲/۴ درصد رطوبت، ۰/۷۵۰ درصد خاکستر، ۹/۹ درصد پروتئین، ۳۱/۵ درصد گلوتن مرطوب و عدد فالینگ (فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز) ۳۱۰ ثانیه بود.

شکل ۱ نشان می‌دهد که نمونه‌های حاوی باکتری‌های اسیدلاکتیک در مقایسه با نمونه شاهد، تأثیر معنی داری بر کاهش میزان اسید فیتیک دارد. استفاده از باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* سبب بیشترین کاهش در میزان اسید فیتیک شد (۳۲/۲٪) و *لاکتوبا سیلوس کازئی* باعث کمترین کاهش در مقدار اسید فیتیک شد (۲۰/۳۳٪).

لاکتوباسیلوس پلانتاروم ۳۰/۵۰٪ و *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* ۲۵/۴۲٪ مقدار اسید فیتیک را کاهش دادند. میانگین مقدار اسید فیتیک در نمونه شاهد بر حسب میلی گرم در ۱۰۰ گرم نمونه ۱/۲۱±۱۸۶/۱۷، در نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* ۱/۴۷±۱۲۶/۲۲، در



شکل ۱- بررسی اثر باکتری‌های اسید لاکتیک بر میزان اسید فیتیک خمیر نان باگت

نمونه‌های حاوی باکتری‌های اسید لاکتیک در مقایسه با نمونه شاهد مقدار اسید فیتیک را به طور معنی داری کاهش دادند (P< ۰/۰۰۱)، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* باعث بیشترین کاهش در میزان اسید فیتیک شد و *لاکتوباسیلوس کازئی* باعث کمترین کاهش در میزان اسید فیتیک شد.

www.SID.ir

جدول ۱- مقادیرجذب فسفر و اسیدفیتیک خمیر در نمونه‌های فاقد مخمر و دارای مخمر

گروه‌ها	دارای مخمر		فاقد مخمر		سطح معنی‌داری
	جذب فسفر	اسید فیتیک (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه) (انحراف معیار±میانگین)	جذب فسفر	اسید فیتیک (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه) (انحراف معیار±میانگین)	(اختلاف دو گروه دارای مخمر و فاقد مخمر)
نمونه خمیر تیمار شده					
شاهد	۰/۵۹	۱۸۶/۱۷^{a}*±۱/۲۱	۱/۱۱	۳۵۰/۲۶^{a}±۱/۲۱	**P<۰/۰۰۱
لاکتوباسیلوس فرمنتوم	۰/۴۴	۱۳۸/۸۴^{c}±۱/۱۶	۰/۸۵	۲۶۸/۲۲^{c}±۲/۰۳	P<۰/۰۰۱
لاکتوباسیلوس کازئی	۰/۴۷	۱۴۸/۳۱^{b}±۱/۰۹	۰/۸۷	۲۷۴/۵۳^{b}±۰/۶۲	P<۰/۰۰۱
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۰/۴۰	۱۲۶/۲۲^{e}±۱/۴۷	۰/۸۱	۲۵۵/۶۰^{e}±۲/۰۳	P<۰/۰۰۱
لاکتوباسیلوس پلانتاروم	۰/۴۱	۱۲۹/۳۷^{d}±۰/۶۴	۰/۸۳	۲۶۱/۹۱^{d}±۰/۷۸	P<۰/۰۰۱
سطح معنی‌داری (اختلاف بین ۵ تیمار مختلف)	-	P<۰/۰۰۱	-	P<۰/۰۰۱	-

آنالیز واریانس دوطرفه

اثرات اصلی و متقابل	P Value	F Value
اثر تیمار لاکتوباسیل	P<۰/۰۰۱	۵۵۷۳۸/۸۵
اثر مخمر	P<۰/۰۰۱	۲۳۵۳/۷۰
اثرمخمر*اثر تیمار لاکتوباسیل	P<۰/۰۰۱	۳۶۸/۶۷

-مقایسه آماری بین میانگین مقادیر اسید فیتیک انجام گرفته است.

*-میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف نامتشابه انگلیسی نشان داده شده است، با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند(P<۰/۰۰۱).

**-بین میانگین تیمارها در دو گروه دارای مخمر و فاقد مخمر (میانگین‌ها در هر ردیف) اختلاف معنی‌دار وجود دارد (P<۰/۰۰۱).

-اثرات اصلی و متقابل اثر مخمر و اثر تیمار لاکتوباسیل در آنالیز واریانس دوطرفه معنی‌دار می‌باشد P<۰/۰۰۱.

نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* ۱۴۸/۳۱±۱/۰۹، در نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* ۱۳۸/۸۴±۱/۱۶ و در نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* ۱۲۹/۳۷±۰/۶۴ بود. مقایسه اختلاف میانگین‌های میزان اسید فیتیک در نمونه شاهد و نمونه‌های حاوی باکتری‌های اسیدلاکتیک، حاکی از معنی دار بودن اختلاف بین مقادیر اسید فیتیک آن ها در سطح احتمال ۵ درصد می باشد (p<۰/۰۰۱).

جدول ۱ نشان می‌دهد که نمونه های حاوی مخمر نانوائی و باکتری های اسیدلاکتیک در مقایسه با نمونه‌های حاوی باکتری‌های اسیدلاکتیک (فاقد مخمر)، تأثیر معنی داری بر کاهش میزان اسید فیتیک دارند. در نمونه‌های فاقد مخمر، استفاده از *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* ۲۷/۰۲٪، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* ۲۲/۲۵٪، *لاکتوبا سیلوس فرمنتوم* ۲۳/۴۲٪ و *لاکتوبا سیلوس کازئی* ۲۱/۶۲٪ میزان اسید فیتیک را کاهش دادند. در نمونه‌های فاقد مخمر، میانگین مقدار اسید فیتیک در نمونه شاهد بر حسب میلی گرم در ۱۰۰ گرم نمونه ۳۵۰/۲۶±۱/۲۱، در نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* ۲۵۵/۶۰±۲/۰۳، در نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* ۲۷۴/۵۳±۰/۶۲، در نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* ۲۶۸/۲۲±۲/۰۳ و در نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* ۲۶۱/۹۱±۰/۷۸ بود. مقایسه اختلاف میانگین های میزان اسید فیتیک در نمونه‌های حاوی مخمر با نمونه‌های فاقد مخمر، نشان می‌دهد مخمر مقدار اسید فیتیک را به طور قابل ملاحظه ای کاهش می‌دهد. آنالیز واریانس داده ها نشان می‌دهد وجود مخمر در کاهش مقدار اسید فیتیک در سطح ۵ درصد معنی دار است (p<۰/۰۰۱).

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه، تأثیر چهار گونه باکتری اسیدلاکتیک بر میزان اسید فیتیک نان باگت مورد بررسی قرار گرفت. بر طبق یافته های این تحقیق، خمیرترش ساخته شده از باکتری‌های اسیدلاکتیک، مقدار اسید فیتیک را کاهش داد. به نظر می‌رسد کاهش میزان اسید فیتیک در نان‌های تهیه شده در این تحقیق مربوط به اسیدیفیکاسیون خمیر و ایجاد شرایط مناسب جهت فعالیت فیتاز

Archive of SID
www.SID.ir

اندوژن، تولید فیتاز میکروبی و تشکیل کمپلکس های محلول از کمپلکس های نامحلول اسید فیتیک توسط اسیدهای تولیدی در حین تخمیر باشد (۱۲،۱۳). دیدار و همکاران گزارش کردند به کار بردن خمیرترش حاصل از *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* سبب می گردد که نان حاصل دارای ۲۶۸/۳ میلی گرم در صد گرم نان لواش اسید فیتیک باشد که نسبت به آرد اولیه به میزان ۴۴/۰۶٪ کاهش را نشان می‌دهد (۱۲). در مقایسه تحقیق فوق با تحقیق حاضر، در تحقیق حاضر نیز مقدار اسید فیتیک کاهش یافته با این تفاوت که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* باعث کاهش بیشتر در مقدار اسید فیتیک شد. از جمله دلایل احتمالی کاهش میزان اسید فیتیک در نان‌های تهیه شده توسط خمیرترش، فعالیت فیتازی باکتری‌های اسیدلاکتیک می‌باشد که این اثر توسط محققین مختلف اثبات شده است، از جمله پالاکیوس و همکاران فعالیت فیتاز بالائی توسط *لاکتوباسیلوس روتری* گزارش نموده است و نان حاصل از خمیرترش ۲۴ ساعته (خمیرترشی که به مدت ۲۴ ساعت تخمیر گردیده است) حاصل از این سوش، دارای اسید فیتیک بسیار کمی می‌باشد (۱۲). در مقایسه تحقیق فوق با تحقیق حاضر نتایج مشابهی حاصل شد. گزارشات بیانگر آن است که تهیه نان توسط خمیرترش سبب کاهش میزان اسید فیتیک می‌شود (۱۴). مطابق تحقیق لوپز استفاده از سبوس تخمیر شده توسط خمیرترش، مخمر و تخمیر خود به خودی در نان سبب کاهش میزان اسید فیتیک حدود ۹۰، ۴۵ و ۴۵ درصد در نان حاصله می‌شود در حالیکه در نان کامل حاصل تخمیر با مخمر کاهش حدود ۲۵ درصد می‌باشد. درصد حلالیت منیزیم و فسفر در نان حاصل از سبوس تخمیر شده با خمیرترش بالاترین میزان و به ترتیب حدود ۹۰ درصد و ۶۵ درصد گزارش شده است (۱۵). پومرانز نیز گزارش کرد که نان‌های تهیه شده از آرد سفید، آرد کامل و آرد چاودار گویای این مطلب است که تخمیر، مهم‌ترین عامل در کاهش اسید فیتیک می‌باشد (۱۶). تأثیر پروسه تخمیر بر کاهش میزان اسید فیتیک در ارزن مرواریدی مورد بررسی قرار گرفته است، در این تحقیق ۶۰۰ گرم آرد با ۶۰۰ گرم آب مخلوط شده و مقدار ۱۵۰ گرم از خمیری که قبلاً تخمیر شده است به‌عنوان استارتر استفاده شده است پس از مخلوط شدن در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۴ ساعت عمل تخمیر صورت گرفته است میزان اسید فیتیک از ۹۴۳ به ۳۸۰ بر حسب میلی گرم بر صد گرم کاهش یافته است. کاهش چشمگیر در میزان اسید فیتیک در ۴ ساعت اولیه تخمیر رخ داده است و پس از ۱۴ ساعت ۵۹/۹٪ کاهش در میزان اسید فیتیک گزارش شده است. مطابق این روش بیشترین کاهش در میزان اسید فیتیک گزارش شده است. مطابق این تحقیق، این روش بیشترین کاهش در میزان اسید فیتیک نسبت به سایر ترکیبات ضد مغذی را ایجاد می کند که علت ان کاهش pH است این کاهش pH، شرایط را جهت فعالیت فیتاز مناسب می نماید (۱۰). در مقایسه تحقیق فوق با تحقیق حاضر، در هر دو تحقیق تخمیر با استارتر باعث کاهش اسید فیتیک شد.

حجتی و همکاران، میزان اسید فیتیک نمونه آردها و نان‌های مختلف (لواش، تافتون، سنگک و بربری) را بررسی کردند نتایج نشان داد که میزان اسید فیتیک نمونه‌های مورد بررسی بالا بود اگرچه اختلاف معنی داری در میزان اسید فیتیک آردها وجود نداشت ($p<0/01$). میزان اسید فیتیک آردها ۴۳۸-۴۹۴/۳۳ میلی گرم در صد گرم آرد بود. نتایج این تحقیق نشان از کاهش نه چندان مناسب اسید فیتیک پس از پخت نانها داشت به طوریکه میزان کاهش فیتات ها پس از پخت ۱۵/۷۹ تا ۳۳/۴۰ درصد بود که کمترین کاهش در نان لواش و بیشترین کاهش در نان بربری مشاهده گردید (۲). در مقایسه تحقیق فوق با تحقیق حاضر، در تحقیق حاضر کاهش قابل توجه اسید فیتیک ملاحظه شد.

در این تحقیق اثر مخمر نانوائی و چهار گونه باکتری اسیدلاکتیک بر میزان اسید فیتیک نان

Archive of SID
www.SID.ir

باگت مقایسه شد. بر طبق یافته های این تحقیق، خمیرترش ساخته شده از مخمر نانوائی و باکتری‌های اسیدلاکتیک در مقایسه با خمیرترش حاوی باکتری‌های اسیدلاکتیک (فاقد مخمر) به طور چشمگیری مقدار اسید فیتیک را کاهش داد. ارشدی نژاد و همکاران گزارش کردند نوع و مقدار مخمر بر کاهش اسید فیتیک مؤثر است و مقایسه میانگین ها نشان می‌دهد که تخمیر با استفاده از ۳ درصد خمیر مایه تازه بیشترین تأثیر را بر کاهش میزان اسید فیتیک داشته است. در مورد خمیری که بدون مخمر تهیه شده کاهش اندکی در مقایسه با بقیه تیمارها دیده می‌شود که این کاهش نیز به دلیل حضور فیتاز موجود در آرد می‌باشد و این موضوع دلالت بر این واقعیت دارد که فیتاز موجود در مخمر فعالتر از فیتاز موجود در گندم است. در مورد استفاده از خمیرترش در فرآیند تخمیر به دلیل اینکه خمیرترش از نظر مقدار مخمر حاوی آنزیم فیتاز کمتر از مخمر خالص است، بنابراین کاهش کمتری در میزان اسید فیتیک خمیر نسبت به خمیر مایه تازه و مخمر خشک مشاهده می‌شود (۱۷). در مقایسه تحقیق فوق با تحقیق حاضر، در تحقیق حاضر نیز مقدار اسید فیتیک در نمونه‌های حاوی مخمر نانوائی و باکتری‌های اسیدلاکتیک نسبت به نمونه‌های فاقد مخمر کاهش چشمگیری داشته است و حضور مخمر درکاهش اسید فیتیک قابل ملاحظه است. میر شهیدی و همکاران گزارش کردند که بین عدم استفاده از مخمر در تخمیر نان و مقادیر استفاده شده از مخمر در تخمیر اختلاف معنی داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$). مخمرها به دلیل توانائی مصرف مواد قندی موجود در خمیر نان، اسیدهای مختلفی تولید کرده و pH خمیر را پایین می آورند و به خمیر حالت اسیدی می دهند و در نتیجه باعث هیدرولیز بیشتر فیتات می شوند (۱). در مقایسه با تحقیق فوق، در تحقیق حاضر نیز مخمرها باعث کاهش اسید فیتیک شدند و نتایج مشابهی حاصل شد.

جمالیان و شیخ الاسلامی گزارش کردند که چه در مورد نان سنگک و چه در مورد نان لواش، با افزایش در صد مخمر (بدون توجه به زمان تخمیر)، مقدار اسید فیتیک تقریباً در تمام موارد کاهش می‌یابد که می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت فیتاز موجود در مخمر باشد (۱۸). در مقایسه تحقیق فوق با تحقیق حاضر، نتایج مشابهی حاصل شده است. همچنین گزارش شده است با تأثیر هم زمان مقدار مخمر و زمان تخمیر، میزان اسید فیتیک نان سنگک کاهش می‌یابد به طوری که مقدار اسید فیتیک در شرایط ۳/۵ درصد مخمر و ۶ ساعت تخمیر از همه کمتر و ۱/۵ درصد مخمر و ۲ ساعت تخمیر از همه زیادتر است (۱۸).

حق‌پرست و همکاران گزارش کردند استفاده از خمیرترش برای عمل آوری خمیر بیشترین کاهش را در میزان اسید فیتیک ایجاد کرده و پس از آن مخمر این اثر را داشته است. در نان‌هائی که با خمیر ترش و مخمر تهیه شده‌اند میکروارگانیسم‌های تخمیر کننده، موادی تولید می‌کنند که در طول تخمیر به خمیر حالت اسیدی می‌دهد. هیدرولیز بیشتر فیتات با کاهش pH پیش می‌رود. مخمر به علت دارا بودن آنزیم فیتاز و خمیرترش به دلیل کاهش pH حلالیت اسید فیتیک را افزایش می‌دهد (۱۹). در مقایسه تحقیق فوق با تحقیق حاضر، در تحقیق حاضر نتایج مشابهی حاصل شده است. لوپز و همکاران گزارش کردند تخمیر به مدت ۱ ساعت با مخمر ۱۰٪ و خمیرترش حاصل از گونه‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لوکونو ستوک مزنتروییدس* سبب ۲۵٪ کاهش در میزان اسید فیتیک می‌شود (۱۰). در مقایسه تحقیق فوق با تحقیق حاضر نتایج مشابهی حاصل شد با این تفاوت که در تحقیق حاضر از چهار گونه لاکتوباسیلوس استفاده شد.

مطابق تحقیق لوپز، استفاده از سبوس تخمیر شده توسط خمیرترش، مخمر و تخمیر خود به خودی در نان سبب کاهش میزان اسید فیتیک حدود ۹۰، ۴۵ و ۴۵ درصد در نان حاصله می شود در حالیکه در نان کامل حاصل از تخمیر با مخمر کاهش حدود ۲۵٪ می‌باشد. درصد حلالیت منیزیم و فسفر در نان حاصل از سبوس تخمیر شده با

Archive of SID
www.SID.ir

خمیرترش بالاترین میزان و به ترتیب حدود ۹۰٪ و ۶۵٪ گزارش شده است (۱۰). بر طبق گزارشات، باکتری های اسیدلاکتیک با کم کردن pH بر حلالیت بیشتر کمپلکس فیتات مؤثر هستند و در زمان ۵ ساعت تخمیر سبب کاهش pH تا حدود ۴/۷ می‌گردد، در حالی که تخمیر با مخمر بر pH تأثیر ندارد. اسیدیفیکان سبب حلالیت بیشتر فسفر و منیزیم در تخمیر با خمیرترش در مقایسه با مخمر می‌شود. همچنین با کاهش pH شرایط جهت فعالیت فیتاز اندوژن فراهم می گردد (۱۰). در مقایسه تحقیقات فوق با تحقیق حاضر، در تحقیق حاضر نیز باکتری‌های اسیدلاکتیک و مخمر در کاهش چشمگیر اسید فیتیک مؤثر بودند.

اعضای خانواده لاکتوباسیلوس مانند *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* در میان بخش های مهم فلورای نرمال دستگاه گوارش وجود دارند که به‌عنوان فاکتورهای مهمی در افزایش سیستم ایمنی مصرف کنندگان شناخته می شوند. اثرات تعدیل ایمنی لاکتوباسیلوس به دستگاه گوارش محدود نمی‌شود و تمام سیستم ایمنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که پروبیوتیک های لاکتوبا سیلی درمان سرطان روده را با استفاده از 5-Flouro Uracile تسهیل می کند. این تحقیقات نشان می‌دهد استفاده از پروبیوتیک ها در جلوگیری از بیماری های کشنده ی دستگاه گوارش، بخصوص سرطان روده انتخاب خوبی هستند (۲۰).

نتایج این تحقیق بیانگر آن است که افزودن مخمر نانوائی و خمیرترش حاوی باکتری‌های اسیدلاکتیک (*لاکتوباسیلوس کازیی*، *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*، *لاکتوبا سیلوس پلانتاروم* و *لاکتوبا سیلوس اسیدوفیلوس*) به خمیر نان باگت، سبب کاهش چشمگیر میزان اسید فیتیک شد؛ بنابراین می‌توان با به کار بردن همزمان مخمر نانوائی و گونه های مختلف باکتری های اسیدلاکتیک تولید کننده آنزیم فیتاز و انجام عملیات تخمیر بر خمیر نان باگت، ارزش تغذیه‌ای نان را به‌وسیله کاهش میزان اسید فیتیک بهبود بخشید. بیشترین کاهش اسید فیتیک مربوط به لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بود. آنالیز داده‌ها نشان داد اثر مخمر نانوائی و باکتری‌های اسیدلاکتیک، بر میزان کاهش اسید فیتیک در سطح ۵ درصد معنی دار است ($P<0/001$). مزیت تحقیق حاضر در مقایسه با دیگر مطالعات، بررسی تعداد بیشتری باکتری اسیدلاکتیک (۴ نوع) از دو جنس هتروفرمنتاتیو و هوموفرمنتاتیو و همچنین بررسی نقش مخمر نانوائی در کاهش اسید فیتیک است.

محدودیت زمانی مانع بررسی اثر فاکتورهای بیشتری بر اسید فیتیک شد. از محدودیت‌های دیگر این تحقیق، عدم دسترسی به مخمر های مرغوب و با کیفیت مناسب برای انجام آزمایش بود به همین دلیل ضرورت داشت که همه نمونه‌های موجود در بازار امتحان شود تا بهترین نمونه ها انتخاب گردد.

از آنجایی‌که کاهش میزان اسید فیتیک سبب بهبود در جذب زیستی کاتیون ها می گردد می توان با استفاده همزمان مخمر نانوائی و سوش باکتریایی مناسب، این ماده را در نان کاهش داد از طرفی برای حصول نتیجه بهتر، تحقیقات دیگری پیشنهاد می‌شود مانند بررسی in vivo در مورد تأثیر نان‌های پروبیوتیکه در درمان و پیشگیری از کم‌خونی‌های فقر آهن و کمبود ریز مغذی ها، بررسی خاصیت ضد میکروبی خمیر پروبیوتیکه، بررسی زمان ماندگاری نان‌های تهیه شده با خمیر های پروبیوتیکه، تأثیر مصرف بی رویه کودهای فسفاته بر میزان اسید فیتیک غلات و حبوبات و سنجش اسید فیتیک با روشی دقیق تر مانند HPLC و مقایسه نتایج حاصله با نتایج به دست آمده از روش اسپکتروفتومتر که می‌تواند در ادامه این کار و به‌منظور تکمیل آن انجام گیرد.

با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه، می‌توان با کاربرد همزمان باکتری‌های اسیدلاکتیک و مخمر نانوائی (*ساکارومیسس سرویزیه*)، مقدار اسید فیتیک نان را کاهش داد و ارزش تغذیه‌ای نان را افزایش داد.

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

1. Mirshahidi M, Maghsoudlou Y, Khomeiri M, Ghorbani M. The effect of yeast and the fermentation time on the phytic acid content and sensory properties of Barbari bread in Gorgan. EJFPP; 2010.2(1): 15-26. (Persian)

2. Hojjati M, Jahangiri A.R, Najafi MA. Evaluation of phytic acid and zinc content in breads produced in Ahwaz. JFST; 2014.12(47): 9-18. (Persian)

3. Majzoobi M, Nematolahi Z, Farahnaky A. Effect of hydrothermal treatment on decreasing the phytic acid content of wheat bread and on sensory properties of biscuits. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology; 2013. 3(8): 171-178. (Persian)

4. Khorasanchi N, Peighambardoust S H, Hejazi MH, Raafat SA. Effect of Freezing and freeze-drying process on the survival of sourdough lactic acid bacteria. Food Technology Research Journal; 2011. 2(21): 247-255. (Persian)

5. Clarke CI, Arendt EK. A review of the application of sourdough technology to wheat breads. Adv.Food Nutr.Res; 2005. 49: 137-156.

6. Katina K, Arendt E, Liukkonen K.H, Autio K, Flander L, Poutanen K. Potential of sourdough for healthier cereal products. Trends Food Sci.Technol; 2005. 16: 104-112.

7. Sarfaraz A, Azizi MH, Hamidi Esfahani Z. Evaluation of lactic acid bacteria and baker's yeast interactions in liquid sourdough fermentation. 18th National Congress on Food Technology (Mashhad. IR. Iran) 2008.

8. AACC, Approved Methods of American Association of Cereal Chemists. Am. Assoc. Cereal Chem. 15th ed. Arlington USA 2000.

9. Sumaria A, Javad I. Isolation of acidophilic lactic acid bacteria antagonistic to microbial Contaminants. Pakistan J.Zool; 2010. 42(5): 567-573.

10. Didar Z, Haddad Khodaparast MH. Effect of different lactic acid bacteria on phytic acid content and quality of whole wheat toast bread. JFBT; 2011. 1: 1-10.

11. Thampson DB, Erdman JW. Phytic Acid Determination of Soybeans. J. Food Science; 1983. 47: 513-518.

12. Didar Z, Seyedain Ardebili SM, Mizani M, Haddad Khodaparast MH, Ghaemi AR. Comparison application of different sourdough on phytic acid content of Traditional Iranian Bread (Lavash). Iranian Journal of Research on Food Sciences; 2009. 19-30.

13. Reale AU, Konietzny R, Coppola E, Sorretiono R, Greine. The importance of Lactic acid bacteria for phytic degradation during cereal dough fermentation. J. Agric.Food.Chem; 2007. 55(8): 2993-2997.

14. 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 phytase from Lactobacillus sanfranciscensis CBI. Int. J. Food. Microbial; 2003. 87: 259-270.

15. Lopez HW, Krespin V, Guy C, Messager A, Demigne RC. Prolonged fermentation of whole wheat sourdough reduces phytate level and increase soluble Mg. J. Agri. Food.Chem; 2001. 48: 2281-2285.

16. Angel R, Applegate TJ, Ellestad IE, Dhandu AS. Phytic acid, how important is it for phosophorus digestability in poultry, Multi – state. Poult meeting, 2004. http://ag.ansc.purdue.edu/poultry/ multistate/ Multi-state.

17. Arshadi Nezhad Sh, Azizi MH, Hamidi Esfahani Z. Effect of different fermentation condition phytic acid content of Barbary dough. IGFST; 2005. 12(2). (Persian)

18. Jamalian J, Sheikhol-Eslami Z. Effect of fermentation parameters and extraction rate of flour on phytic acid content of Sangak and Lavash breads. J.Sci. & Technol.Agric & Natur. Resour. Water and Soil Sci; 2004. 8(1):183-193. (Persian)

19. Hagh Parast H, Sahari MA, Azizi MH, Pirayeshfar B. The effect of leavening agents and fermentation time on decreasing of phytic acid of loaf bread. J. of Food Sci. And Tech; 2007. 4(1):27-34. (Persian)

20. Soltan Dallal MM, Mojarrad M, Baghbani F, Raoofian MD, Mardaneh J, Salehipour Z. Effect of probiotic lactobacillus acidophilus and lactobacillus casei on colorectal tumor cells activity (CaCo-2); 2015. 18(3):167-172.

Archive of SID
www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Comparison of baker's yeast and lactic acid bacteria isolated from sourdough on phytic acid

***Mina Zarringol**, MSc in Biochemistry, Department of Biochemistry, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran (Fars), Iran (*Corresponding author). minazarringol3040@yahoo.com
Mohammad Reza Fazeli, Associate Professor, Department of Food and Drug Control, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Nematollah Razmi, Associate Professor of Islamic Azad University, Science and Research Branch, Department of Biochemistry, Tehran (Fars), Iran

Archive of SID

Abstract

Background: In Iran, bread is mainly baked from flours with high extraction rate and low fermentation time that results in increasing amount of phytic acid causing low absorption and bioavailability of important minerals in the body. In this study, effect of baker's yeast and several lactic acid bacteria on phytic acid of baguette bread is compared.
Methods: Two groupes of dough samples were provided (with yeast, without yeast). To each ones, bacterial suspension containing 10^8cfu/g Lactobacillus strains was inoculated separately and held for 20 hours at 37 °C. After baking, the amount of phytic acid in each two groupes of samples evaluated and compared together. Phytic acid content was determined by spectrophotometric method (the total phosphorus content was determined using the *Molybdovanadate Method*).
Results: In the first group of dough samples (with yeast), the means of phytic acid content in sourdough lactic acid bacteria were 138.84±1.16 (*fermentum)*, 126.22±1.47 (*acidophilus*), 148.31±1.09 (*casei*) and 129.37±0.64 (*plantarum*) mg per 100g, respectively. In the second group of dough samples (without yeast), the means of phytic acid content in sourdough lactic acid bacteria were 268.22±2.03 (*fermentum*), 255.60±2.03 (*acidophilus*), 274.53±0.62 (*casei*) and 261.91±0.78 (*plantarum*) mg per 100g, respectively. The results showed that yeast and lactic acid bacteria have a significant effect on reducing the amount of phytic acid ($p<0.001$).
Conclusion: Baker's yeast and lactic acid bacteria, significantly reduced levels of phytic acid of baguette bread.

Keywords: Baker's yeast, Lactic acid bacteria, Phytic acid, Fermentation