Archive of SID

فصلنامه فناوری‌های نوین غذایی، سال چهارم، شماره ۱۴، صفحه۴۱-۳۳، زمستان ۱۳۹۵

اثر شرایط تخمیر و آغازگرهای *Saccharomyces cerevisiae (PTCC 5052)* و *Lactobacillus Plantarum (PTCC 1058)* بر مقدار اسید فیتیک سبوس گندم

ملیکا کمالی شهری[1]، محمد علی نجفی[2]*، اسماعیل عطای صالحی[3]

1. دانشجوی کارشناسی ارشد، علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران
2. استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، سیستان و بلوچستان
3. استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران

(تاریخ دریافت: 95/5/27، تاریخ پذیرش: 95/8/5)

چکیده

سبوس گندم با دارا بودن فیبر و املاح بالا از خواص تغذیه‌ای سودمندی برخوردار است، اما به‌دلیل حضور ترکیب ضد تغذیه‌ای به‌نام اسید فیتیک کاربرد محدودی دارد. در این پژوهش اثر سه آغازگر مختلف تهیه شده از *S. cerevisiae PTCC 5052* و *L. Plantarum PTCC 1058*، درجه حرارت (25، 30 و 35 درجه سانتی‌گراد) و طول زمان تخمیر (۰،۲، 4، 6 و 8 ساعت) بر مقدار pH، اسیدیته و غلظت اسید فیتیک سبوس گندم استریل شده بررسی گردید. نتایج نشان داد *S. cerevisiae PTCC 5052* در مقایسه با *L. Plantarum PTCC 1058* با دارا بودن فعالیت فیتازی بالاتر، اثر بیش‌تری در تجزیه اسید فیتیک سبوس می‌باشد ($p<0/05$). کم‌ترین مقدار اسید فیتیک در نمونه سبوس گندم تلقیح شده با *S. cerevisiae PTCC 5052* و تخمیر شده در دمای 30°C برای مدت زمان 8 ساعت مشاهده گردید ($p<0/05$).

واژه‌های کلیدی: اسید فیتیک، سبوس، مخمر، اسید لاکتیک باکتری، فعالیت فیتازی.

* نویسنده مسئول: m.najafi413@uoz.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

1- مقدمه

دانه غلات با دارا بودن فیبر بالا و نقش مهم آن در سلامت انسان توجه بسیاری را به خود جلب کرده است [1]. با این وجود حضور ترکیب ضد تغذیه‌ای به‌نام اسید فیتیک که عمدتا در بخش سبوس تراکم یافته [2] باعث شده تا کاربرد آن محدود شود. اسید فیتیک با فرمول $C_6H_{18}O_{24}P_6$، وزن ملکولی 695/86 [3] در ماده غذایی و سیستم گوارش جانوران با املاح فلزی چند ظرفیتی مانند کلسیم، آهن، روی، مس، منگنز و منیزیم کمپلکس‌های فلزی نامحلول داده و از قابلیت جذب آن‌ها می‌کاهد [4]. هم‌چنین از طریق یون‌های فلزی با ترکیبات پروتئینی واکنش داده و از فعالیت زیستی آن‌ها می‌کاهد. از جمله اثرات منفی دیگر اسید فیتیک می‌توان به کاهش حلالیت و قابلیت هضم نشاسته اشاره نمود [5]. تخمیر روش مناسبی برای کاهش اسید فیتیک است با این وجود گزارشات متفاوتی از تاثیر فرایند تخمیر بر کاهش مقدار اسید فیتیک در دسترس است [6]. فرایند تخمیر غلات تحت تاثیر عوامل متعددی نظیر ترکیب میکروبی آغازگر، قابلیت تخمیر سوبسترات و نیز شرایط تخمیر قرار دارد [7]. در مورد نقش باکتری‌های اسید لاکتیک در کاهش مقدار اسید فیتیک و همکاری آن با مخمرها نتایج متفاوتی گزارش شده برخی نقش باکتری‌های اسید لاکتیک در کاهش مقدار اسید فیتیک را به فعالیت فیتازی باکتری و برخی دیگر به ایجاد محیط اسیدی مناسب برای فعالیت فیتازی آنزیم‌های مخمری مرتبط دانسته‌اند [8]. این نتایج به‌طور عمده حاصل پژوهش بر روی خمیر نان‌های مختلف می‌باشد و تحقیقات اندکی در مورد سبوس انجام شده است.

در این پژوهش سعی گردیده تا تاثیر ترکیب میکروبی آغازگر، طول مدت زمان (0، 2، 4، 6 و 8 ساعت) و درجه حرارت تخمیر (25، 30 و 35 درجه سانتی‌گراد) بر کاهش مقدار اسید فیتیک محصول نهایی ارزیابی گردد. بدین منظور جهت فرایند تخمیر، میکروب‌های *S. cerevisiae PTCC 5052* و *L. Plantarum PTCC 1058* به‌عنوان رایـج ترین میکروارگانیزم‌های تخمیر کننده فراورده‌های نانوایی انتخاب گردیدند. هم‌چنین به‌منظور حذف فعالیت آنزیم‌های سوبسترا و هرگونه میکروب ناخواسته از سبوس استریل شده استفاده گردید [9].

2- مواد و روش‌ها

2-1- نمونه سبوس

سبوس مورد استفاده از کارخانه تولید آرد آلا با مش 186-475 میکرون تهیه گردید. به‌منظور جلوگیری از هرگونه فعالیت تجزیه‌کنندگی اسید فیتیک توسط آرد، سبوس تهیه شده در بسته‌های پلاستیکی 50 گرمی بسته بندی و در دستگاه اتوکلاو (121°C مدت زمان 15 دقیقه) استریل و پس از اتمام فرایند تا زمان استفاده (حداکثر 48 ساعت) در داخل یخچال و دمای 4 °C نگه‌داری گردید. جهت تایید استریل بودن نمونه‌ها آزمون شمارش میکروبی به‌عمل آمد.

در سبوس استریل شده مقادیر رطوبت (12/03٪)، خاکستر (4/8٪)، چربی (2/9٪) و پروتئین (19/4٪) به‌ترتیب طبق منابع [10]، [11]، [12] و [13] اندازه‌گیری شدند. هم‌چنین مقدار اسید فیتیک نمونه سبوس برپایه وزن خشک (5/6%) تعیین گردید.

2-2- تهیه آغازگر

میکروب‌های *S. cerevisiae PTCC 5052* و *L. Plantarum PTCC 1058* به شکل آمپول‌های خشک شده در خلاء از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه شدند. برای تکثیر، مخمر *S. cerevisiae PTCC 5052* به محیط کشت مایع YM تلقیح و سپس تحت دمای 28 درجه سانتی‌گراد برای مدت 72 ساعت در داخل دستگاه شیکر انکوباتور (با نام تجاری پارس آزما، ساخت ایران) با سرعت 120 rpm گرمخانه گذاری گردید. برای تکثیر باکتری *L. Plantarum PTCC 1058* از محیط کشت مایع MRS استفاده گردید. سپس محیط کشت تلقیح شده در دمای 32 سانتی‌گراد برای مدت 48 ساعت در داخل دستگاه شیکر انکوباتور با سرعت 120 rpm گرمخانه گذاری شد. منحنی جمعیت میکروبی و دانسیته جذب (OD) با استفاده از روش پورپلیت و جذب نور (اسپکتروفتومتر مدل Gold spectrumlab 54) در طول موج 620 نانومتر رسم گردید [14].

2-3- تخمیر سبوس

جهت فرایند تخمیر، سبوس استریل شده به نسبت 3/5: 1

www.SID.ir

Archive of SID

با آب آشامیدنی استریل مخلوط گردید. سلول‌های مخمر و باکتری به کمک دستگاه سانتریفیوژ (مدل Ependorf 5810) با شتاب 3000 g برای مدت 10 دقیقه از محیط کشت جدا و پس از 2 بار شستشو به کمک دستگاه ورتکس با 10 میلی‌لیتر آب سوسپانسیون مخلوط و همگن گردید. میکروب به‌گونه‌ای به سوسپانسیون اضافه گردید که در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون سبوس تعداد 10^6 cfu وجود داشته باشد. فرایند تخمیر برای مدت 8 ساعت در سه درجه حرارت 25، 30 و 35 درجه سانتی‌گراد انجام و در زمان‌های ۰،۲، 4 ، 6 و 8 ساعت پس از تخمیر نمونه برداری انجام گردید.

2-4- اندازه‌گیری pH

طبق دستورالعمل شماره 37 سازمان ملی استاندارد ایران با عنوان "ویژگی‌های بیسکوئیت" ، مقدار 10/0 گرم نمونه به‌وسیله ترازو Sartorius مدل ENTRIS124-1S توزین و با 100 میلی‌لیتر آب مقطر جوشیده سرد شده به مدت 20 دقیقه مخلوط و پس از ترسیب ذرات سبوس، pH فاز بالایی بدون فیلتراسیون توسط دستگاه pH متر LABNICS مدل LPB 700 اندازه‌گیری گردید [15].

2-5- اندازه‌گیری اسیدیته کل (TTA[1])

مقدار 10/0 گرم نمونه با 100 میلی‌لیتر آب مقطر جوشیده سرد مخلوط و برای مدت 20 دقیقه همزده شد سپس مخلوط به‌دست آمده با محلول سود 0/1 مولار در حضور معرف فنل فتالین تا رسیدن به pH معادل 8/5 و تغییر رنگ فنل فتالین تیتر گردید. اسیدیته بر پایه سود مصرفی گزارش گردید[16].

2-6- اندازه‌گیری اسید فیتیک

برای اندازه‌گیری اسید فیتیک موجود در سبوس از روش فبلس و همکاران [17] با کمی تغییر به شرح ذیل عمل گردید. ابتدا مقدار 30 گرم نمونه تخمیرشده با 3 برابر حجم آب مقطر شستشو شده و سپس در دستگاه آون مدل Memmert ساخت کشور آلمان (در دمای 70°C برای مدت 24 ساعت) خشک گردید. 2 گرم از نمونه سبوس خشک شده با 40 میلی‌لیتر محلول HCL(0.4M) - Na_2SO_4(%5) مخلوط و بر روی دستگاه شیکر (مدت 120 دقیقه در دمای محیط) همزده شد. سپس 20 میلی‌لیتر از فاز شفاف رویی مخلوط را برداشته و پس از فیلتراسیون با کاغذ صافی، با 20 میلی‌لیتر از محلول HCL(0.4M)-Na_2SO_4(%5)، 20 میلی‌لیتر $Fecl_3$(0.02 M) و 20 میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید (20٪) برای مدت 15 دقیقه در حمام آب جوش حرارت داده شد. پس از سرد شدن سوسپانسیون، 20 میلی‌لیتر از محلول شفاف بالایی جدا و پس از فیلتراسیون (به کمک کاغذ صافی)، فاز زیرین با آب مقطر به حجم 200 میلی‌لیتر رسانیده شد. با افزودن حدود 0/75 گرم گلایکوکول pH محلول در حد 2/5 تنظیم گردید. سپس تا دمای 85 °C گرم و پس از 5 دقیقه بلافاصله به کمک محلول EDTA (0.010 M) تا ظهور رنگ زرد روشن تیتر گردید. مقدار اسید فیتیک به کمک نسبت آهن به فسفر (4:6) محاسبه شد. برای بررسی دقت روش اندازه‌گیری، محلولی با غلظت 50 میلی‌گرم بر گرم اسید فیتیک (تهیه شده از شرکت سیگما) آماده و طبق روش ذکر شده اندازه‌گیری گردید. محاسبات نشان داد دقت اندازه‌گیری 98/5٪ می‌باشد که بیانگر افزایش دقت اندازه‌گیری به مقدار 1/2٪ است.

2-7- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فیتاز

برای تعیین فعالیت فیتازی طبق روش زوتا و همکاران [18] و اصلاح شده با روش نوبارین و همکاران [6] به شرح زیر اندازه‌گیری شد. بدین منظور ابتدا کشت خالص *L. Plantarum PTCC 1058* و *S. cerevisiae PTCC 5052* به شرح گفته شده در بخش 2-2 تهیه گردید. سلول‌ها به کمک سانتریفیوژ با شتاب 3000 g برای مدت 20 دقیقه در دمای 4 درجه سانتی‌گراد برداشت و پس از دو بار شستشو با محلول سالین به کمک آب مقطر دیونیزه به OD_{650}=1 رسانده شد. 150 میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی با 600 میکرولیتر محلول سدیم فیتات 3 میلی مولار در استات سدیم 0/2 مولار (pH= 4/0) مخلوط و برای مدت 2 ساعت در دمای 45 درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری گردید. برای اتمام واکنش750 میکرولیتر تری کلرواستیک اسید (w/v)5٪ به سوسپانسیون اضافه شد. فسفر غیرآلی آزاد شده به روش مولیبدات آمونیوم اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت فیتازی (ηkat) به‌عنوان مقدار فیتازی که

1. Total titration acidity

www.SID.ir

Archive of SID

می‌تواند 1 µmol/S فسفات غیر آلی در شرایط آزمایش آزاد نماید تعریف گردید.

8-2- تجزیه و تحلیل اطلاعات

این پژوهش بر مبنای طرح فاکتوریل در قالب بلوک‌های کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام گردید. تعیین اختلاف معنی‌دار میان میانگین داده‌ها و رتبه‌بندی آن‌ها به‌ترتیب به کمک آزمون دانکن و با استفاده از نرم افزار SAS Version 9.1 در سطح 5٪ صورت پذیرفت. همبستگی‌های موجود میان متغیرها و شاخص‌ها و هم‌چنین شاخص‌ها با یکدیگر با استفاده از نرم‌افزار SAS Version 9.1 تعیین گردید.

3- نتایج و بحث

3-1- تغییرات pH و اسیدیته

آنالیز نتایج به‌دست آمده از تاثیر ترکیب میکروبی آغازگر، درجه حرارت و مدت زمان تخمیر بر مقادیر pH و اسیدیته نمونه‌های سبوس تخمیر شده در جدول (1) آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود در نمونه‌های حاوی آغازگر *L. Plantarum PTCC 1058* مقدار pH با افزایش مدت زمان تخمیر به‌طور معنیداری کاهش یافت ($p<0/05$). حال آن‌که طول زمان تخمیر بر کاهش pH در نمونه‌های بدون آغازگر و حاوی *S. cerevisiae PTCC 5052* تاثیر کم‌تری داشت به‌طوری‌که بین زمان‌های 0 و 4 ساعت اثر معنی‌داری مشاهده نگردید ($p>0/05$)،کـه نشان از توانایی کم‌تر *S. cerevisiae PTCC 5052* در کاهش pH دارد. ادما و همکاران خمیر به‌دست آمده از آرد ذرت را به کمک باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمر ساکارومایسس سرویزیه تخمیر نمودند [19]. نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری pH نشان داد مخمر ساکارومایسس سرویزیه در مقایسه با باکتری‌های اسید لاکتیک از توانایی کم‌تری جهت کاهش pH و افزایش اسیدیته برخوردار است، که با نتایج به‌دست آمده از این پژوهش تطبیق دارد. مقایسه میانگین مقادیر TTA برای هر نمونه سبوس تخمیری و در تمامی زمان‌های اندازه‌گیری شده تفاوت معنی داری از خود نشان دادند ($p<0/05$). افزایش دما از 25 به 35 درجه سانتی‌گراد باعث کاهش بیش‌تر pH و افزایش TTA در نمونه‌های تخمیر شده با آغازگر حاوی *L. Plantarum PTCC 1058* را نشان می‌دهد. پلاساس و همکاران اثر درجه حرارت‌های تخمیر 30 و 40 درجه سانتی‌گراد را بر مقادیر pH و TTA نان تخمیر شده توسط باکتری‌های اسید لاکتیک بررسی نمودند [20]. نتایج به‌دست آمده نشان داد دمای بالاتر از 30 درجه سانتی‌گراد باعث کاهش بیش‌تر pH و افزایش TTA گردیده است که با نتایج به‌دست آمده از این تحقیق مطابقت دارد. در نمونه‌های فرایند شده با *S. cerevisiae PTCC 5052* بیش‌ترین کاهش pH و افزایش TTA در دمای 25 درجه سانتی‌گراد ملاحظه گردید که می‌تواند به دلیل فعالیت مناسب‌تر مخمر ساکارومایسس سرویزیه در دمای 25 درجه سانتی‌گراد باشد [21].

نتایج به‌دست آمده از آنالیز آماری نشان داد نوع آغازگر بر تغییرات pH و TTA دارای اثر معنی‌دار است ($p<0/05$). به‌طوری که آغازگرهای *L. Plantarum PTCC 1058*، *L. Plantarum PTCC 1058* + *S. cerevisiae PTCC 5052* بیش‌ترین تاثیر را نشان دادند. این مهم می‌تواند به‌دلیل حضور با کتری اسید لاکتیک در ترکیب آغازگر باشد[19]. در میان تمامی نمونه‌های تهیه شده نمونه سبوس تخمیر شده توسط آغازگر *L. Plantarum PTCC 1058* + *S. cerevisiae PTCC 5052*؛ دمای 35°C و مدت زمان تخمیر 8 ساعت به ترتیب کم‌ترین و بیش‌ترین مقادیر pH و TTA را از خود نشان داد ($p<0/05$). کنیس و همکاران گزارش نمودند در دمای 35 درجه سانتی‌گراد و pH بالاتر از 3 همکاری مناسبی میان متابولیت‌های لاکتوباسیلوس پلانتاریم و ساکارومایسس سرویزیه وجود دارد که باعث رشد هر دو میکروب می‌گردد [22].

3-2- تغییرات مقدار اسید فیتیک

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌های مقادیر اسید فیتیک (جدول 2) نشان می‌دهد گذشت زمان باعث کاهش معنی‌دار مقدار اسید فیتیک در تمامی نمونه از جمله نمونه‌های سبوس فاقد آغازگر گردید ($p<0/05$). سروی و همکاران [23] بیان داشتند پدیده خیساندن غلات می‌تواند باعث کاهش مقدار اسید فیتیک شود که به احتمال زیاد به‌دلیل تراوش اسید

www.SID.ir

Archive of SID

جدول (1) اثر نوع میکروب، زمان و درجه حرارت بر صفات pH و اسیدیته

آغازگر	دما	صفات کمی	زمان (ساعت) 0	2	4	6	8
بدون آغازگر	25 °C	pH	6/9±0/0 a, A	6/9±0/0 a,AB	6/8±0/0 b,A	6/7 ±0/1 A,c	6/6±0/1 c,A
		TTA	4/1±0/1 e,E	4/4±0/1 d,J	4/8±0/1 c,H	5/1±0/1 b,J	6/1±0/1 a, A
	30 °C	pH	6/9± 0/1 a,A	6/9±0/1 a,A	6/8±0/0 ab,A	6/7±0/0 b,A	6,6±0/0 ce,A
		TTA	4/2±0/1 e,E	4,7±0/1 d,HG	5/2±0/1 c,FG	5/9±0/1 b,H	6/7±0/1 a,G
	35 °C	pH	6/9± 0/1 a,A	6/8 ±0/1 ab,AB	6/8±0/1 ab,A	6/8±0/0 ab,A	6/7±0/1 b,A
		TTA	4/2±0/1 e,E	4/6±0/1 d,HI	5/0±0/1 c,GH	5/5±0/1 b,I	5/9±0/2 a,H
S. cerevisiae PTCC 5052	25 °C	pH	6/9±0/0 a,A	6/8 ±0/1 ab,AB	6/8±0/0 b,A	6/7±0/1 c,A	6,6±0/1 c,A
		TTA	4/0±0/1 e,E	4/8±0/1 d,HFG	5/5±0/1 c,F	6/7 ±0/1 b,G	7,8±0/4 a,F
	30 °C	pH	6/9±0/1 a,A	6/8±0/0 b,AB	6/8±0/0 b,A	6/7±0/1 b,A	6/7±0/0 b,A
		TTA	4/1±0/1 e,E	4/4±0/1 d, IJ	5/3±0/1 c,FG	6/0±0/1 b,H	7/0±0/1 a,G
	35 °C	pH	6/9±0/1 a,A	6/8±0/1 ab,AB	6/8±0/0 b,A	6/7±0/0 c,A	6/7±0/1 c,A
		TTA	4/7±0/0 e,E	4/8 ±0/1 d,FG	5/1±0/2 c,GH	5/5±0/1 b,I	6/0±0/1 a,H
L. Plantarum PTCC 1058	25 °C	pH	6/9±0/0 a, A	6/7±0/0 b,C	6,4±0/0 c,BC	6/1±0/1 d,B	5/7±0/1 de,B
		TTA	5/0±0/1 e,C	6/0±0/1 d,D	7/0 ±0/3 c,D	8/3±0/1 b,E	9/9±0/2 a,E
	30 °C	pH	6/9±0/0 a, A	6/5±0/1 be,D	6/0±0/1 c,D	5,6±0/0 d,D	5/0±0/1 e,E
		TTA	4/8±0/1 e,CD	6/6±0/1 d,C	8/9±0/3 c,C	14/2±0/1 b,C	17/9±0/2 a,C
	35 °C	pH	6/9± 0/0 a, A	6/5±0/0 b,D	6/5±0/1 c,B	5/3±0/0 d,E	4/6±0/1 e,F
		TTA	6/2±0/3 e,B	8/5±0/1 d,B	12/4±0/1 c,B	17/3±0/2 b,B	21/7 ±0/1 a,B
L. Plantarum PTCC 1058 + *S. cerevisiae PTCC 5052*	25 °C	pH	6/9±0/0 a, A	6/7±0/0 b, C	6/5 ±0/0 c,B	6/1 ±0/3 d,B	5/5 ±0/0 e,C
		TTA	3/9±0/1 e,E	4/9±0/1 d,F	6/1±0/1 c,E	7/8±0/1 b,F	9/9±0/1 a,E
	30 °C	pH	6/9±0/0 a,A	6/7±0/0 b,C	6,4±0/0 c,C	5/8±0/1 d,C	5/2±0/1 e,D
		TTA	4/0±0/1 e,E	5/4±0/0 d,E	9/0±0/2 c,C	12/8±0/1 b,D	6/10±0/3 a,D
	35 °C	pH	6/9±0/0 a, A	6/5±0/1 b,D	5/8±0/0 c,F	5/0±0/0 d,F	4/3±0/1 e,G
		TTA	7/0±0/1 e,F	9/4±0/1 d,A	13/9±0/1 c,E	18/9±0/2 b,A	25/1±0/2 a,A

حروف غیریکسان J-A و e-a به‌ترتیب نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در هر ستون و ردیف برای هر صفت در سطح 5 درصد می‌باشند.

فیتیک به درون فاز آبی می‌باشد. گزارش شده خیساندن سبوس گندم برای مدت 8 ساعت در دمای 21 درجه سانتی‌گراد باعث کاهش 19/2 درصدی اسید فیتیک سبوس گندم گردید که با مقادیر گزارش شده در این پژوهش متفاوت می‌باشد که می‌تواند به‌دلیل تفاوت در درجه حرارت خیساندن باشد [24]. مقایسه میان مقدار اسید فیتیک در نمونه سبوس تلقیح شده و بدون آغازگر (در دما و مدت زمان تخمیر یکسان) نشان می‌دهد تلقیح میکروبی باعث کاهش بیش‌تر مقدار اسید فیتیک شده است. تحقیقات نشان داده تخمیر میکروبی به‌دلیل افزایش فعالیت فیتازی می‌تواند باعث کاهش مقدار اسید فیتیک در غلات تخمیری گردد[2]. مقایسه میان مقدار کاهش اسید فیتیک در زمان‌های مختلف نشان می‌دهد بیش‌ترین کاهش در مدت زمان 8 ساعت به‌دست آمد که نشان دهنده آن است که افزایش زمان تخمیر بر کاهش اسید فیتیک اثر معنی‌دار

www.SID.ir

Archive of SID

جدول (2) اثر نوع میکروب، زمان و درجه حرارت بر مقدار اسید فیتیک

آغازگر	دما	صفات کمی	زمان (ساعت) 0	2	4	6	8
بدون آغازگر	25 °C	مقدار اسید فیتیک	422/0±0/4 a, A	388/4±0/4 b,C	360/4±0/4 c,C	333/6±0/5 d,D	301/6±0/2 e,D
		درصد کاهش	0/0	7/9±0/1	14/6±0/1	21/0 ±0/1	28/5±0/1
	30 °C	مقدار اسید فیتیک	421/0±0/2 a, A	395/4±0/4 b,AB	373/0±0/3 c,B	351/0±0/2 d,A	330/5±0/5 d,A
		درصد کاهش	0/0	6/1±0/1	11/4± 0/1	0/1 16/6±	21/5 ±0/2
	35 °C	مقدار اسید فیتیک	422/0±0/4 a, A	385/9±0/2 b,CD	360/8±0/5 c,C	332/3±0/4 d,E	311/5±0/4 d,C
		درصد کاهش	0/0	±0/1 8/6	±0/1 14/5	±0/1 21/3	26/2 ±0/1
S. cerevisiae PTCC 5052	25 °C	مقدار اسید فیتیک	420/4±0/5 a, A	372/3±0/7 b,E	337/3±0/4 c,E	314/0±0/3 d,G	282/6±0/4 e,F
		درصد کاهش	0/0	11/4 ±0/2	19/7±0/1	±0/1 25/3	32/8 ±0/1
	30 °C	مقدار اسید فیتیک	419/9±0/2 a, A	332/4±0/5 b,I	252/4±0/5 c,J	182/4±0/5 d,L	119/0±0/1 d,K
		درصد کاهش	0/0	20/8 ±0/2	39/9 ±0/2	±0/3 56/5	71/7 ±0/1
	35 °C	مقدار اسید فیتیک	420/4±0/5 a, A	345/4±0/4 b,H	261/6±0/3 c,I	198/9±0/8 d,K	134/4±0/2 d,J
		درصد کاهش	0/0	17/8 ±0/1	37/8 ±0/1	52/7 ± 0/4	68/3 ±0/1
L. Plantarum PTCC 1058	25 °C	مقدار اسید فیتیک	420/4±0/4 a, A	381/6±0/2 b,D	325/1±0/3 c,F	280/0±0/6 d,H	231/4±0/3 d,H
		درصد کاهش	0/0	9/2±0/1	22/7±0/1	33/4 ±0/6	50/0 ±0/1
	30 °C	مقدار اسید فیتیک	421/4±0/4 a, A	398/4±0/4 b,A	375/4±0/4 c,A	347/9±0/6 d,B	323/4±0/4 d,B
		درصد کاهش	0/0	5/2 ±0/1	10/6 ±0/1	10/6 ±0/2	23/0 ±0/1
	35 °C	مقدار اسید فیتیک	420/5±0/4 a, A	351/5±0/3 b,G	271/5±0/4 c,H	200/8±0/9 d,J	140/4±0/5 d,I
		درصد کاهش	0/0	16/4 ±0/1	35/4 ±0/1	52/2 ±0/5	66/6 ±0/4
L. Plantarum PTCC 1058 + *S. cerevisiae PTCC 5052*	25 °C	مقدار اسید فیتیک	423/0±0/1 a, A	390/9±0/3 b,BC	360/4±0/3 c,C	335/8±0/6 d,C	311/4±0/3 d,C
		درصد کاهش	0/0	7/6 ±0/1	14/8 ±0/1	±0/2 20/6	26/4 ±0/1
	30 °C	مقدار اسید فیتیک	421/0±0/2 a, A	363/3±0/6 b,F	311/5±0/3 c,G	268/4±0/3 d,I	240/4±0/3 d,G
		درصد کاهش	0/0	13/7 ±0/2	26/0 ±0/1	36/2 ±0/1	42/9 ±0/1
	35 °C	مقدار اسید فیتیک	420/0±0/2 a, A	388/2±0/4 b,C	351/1±0/6 c,D	323/1±0/3 d,F	292/4±0/3 d,E
		درصد کاهش	0/0	7/6 ±0/1	16/4 ±0/2	23/0 ±0/1	30/4 ±0/1

حروف غیریکسان J-A و e-a به‌ترتیب نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در هر ستون و ردیف برای هر صفت در سطح 5 درصد می‌باشند.

دارد. لویگر و همکاران [25] و هم‌چنین هانخر و همکاران [26] بیان کردند افزایش زمان تخمیر می‌تواند باعث کاهش مقدار اسید فیتیک گردد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. اندازه‌گیری فعالیت فیتازی میکروب‌ها *S. cerevisiae PTCC 5052* و *L. Plantarum PTCC 1058* به ترتیب مقادیر 429/4 و 588/3 ηkat/ml را نشان داد که بیانگر اکتیویته بیش‌تر آنزیم فیتاز مخمر *S. cerevisiae PTCC 5052* می‌باشد. مانی و همکاران [2] فعالیت فیتازی باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از سبوس گندم را بررسی نمودند نتایج به‌دست آمده نشان داد سویه‌های مختلف باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاریم دارای فعالیت فیتازی می‌باشد. تحقیقات انجام شده توسط هارلند و همکاران [27] نشان دهنده فعالیت فیتازی مخمر ساکارومایسس سرویزیه می‌باشد که با نتایج به‌دست آمده در این پژوهش تطبیق دارد.

www.SID.ir

Archive of SID

بیش‌ترین مقدار کاهش اسید فیتیک در دما و مدت زمان تخمیر مشابه در نمونه حاوی آغازگر *S. cerevisiae PTCC 5052* و دمای 30°C به مقدار 71/7 ±0/1 ملاحظه گردید که بیانگر نقش موثر مخمر *S. cerevisiae PTCC 5052* می‌باشد که احتمالا به‌دلیل فعالیت فیتازی بالاتر آن می‌باشد. حال آن‌که نمونه سبوس تخمیر شده به کمک آغازگرهای *L. Plantarum PTCC 1058* و *L. Plantarum PTCC 1058* + *S. cerevisiae PTCC 5052* به‌ترتیب حداکثر 66/6 ±0/1 و 42/9 ±0/1 مقدار اسید فیتیک را کاهش دادند. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد کاهش مقدار اسید فیتیک تابع نوع آغازگر، درجه حرارت و مدت زمان تخمیر است. نجفی و همکاران [14] گزارش نمودند همکاری مناسبی میان لاکتوباسیلوس پلانتاریم و ساکارومایسس سرویزیه در کاهش مقدار اسید فیتیک خمیر نان وجود دارد که از کاربرد هر کدام به تنهایی بیش‌تر است، تفاوت در نتیجه به‌دست آمده می‌تواند به دلیل اختلاف در نوع سوبسترات [3] و وجود آنزیم فیتاز گندم [4] در خمیر باشد. سانبرگ و همکاران [28] بیان نمودند کاهش اسید فیتیک توسط مخمر به کاهش pH توسط اسیدهای آلی و دی اکسید کربن بازمی گردد که باعث افزایش حلالیت اسید فیتیک و اکتیویته آنزیم فیتاز می‌شود. بررسی داده‌های جدول 1 و 2 به خوبی نشان می‌دهد هرچند کم‌ترین مقدار pH= 4/3±0/1 متعلق به نمونه سبوس تخمیر شده توسط آغازگر *L. Plantarum PTCC 1058* + *S. cerevisiae PTCC 5052* (دمای 30 درجه سانتی‌گراد، زمان تخمیر 8 ساعت) با pH محیط 6/7±0/0 ، درصد کاهش اسید فیتیکی برابر 71/7 ±0/1٪ مقدار اولیه نشان می‌دهد. نتایج حاصل از این طرح نشان داد در مجموع میان pH و فعالیت تجزیه کنندگی اسید فیتیک همبستگی بسیار ضعیفی وجود دارد ($r = 0.376, p < 0.001$). چنان‌چه روند تغییرات pH و اسید فیتیک در هر نمونه تخمیری بررسی گردد به‌خوبی نشان می‌دهد با گذشت زمان روند تغییرات مقادیر pH و اسید فیتیک نزولی است که با نتایج گزارش شده توسط سروی و همکاران تطبیق دارد [23]. رلی و همکاران بیان نمودند ارتباط میان کاهش pH محیط و مقدار اسید فیتیک تجزیه شده به pH بهینه فعالیت آنزیم فیتاز موجود در محیط باز می‌گردد. آنزیم‌های فیتاز با توجه به منبع مولد آن دارای pH بهینه متفاوتی می‌باشند [29].

4- نتیجه‌گیری

تخمیر می‌تواند راهکار مناسبی برای کاهش مقدار اسید فیتیک سبوس گندم باشد. در این بین مخمر ساکارومایسس سرویزیه به‌طور موثرتری در مقایسه با لاکتوباسیلوس پلانتاریم باعث کاهش مقدار اسید فیتیک سبوس گندم تا بیش از 3 برابر فرایند خیساندن ساده گردید. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد تجزیه اسید فیتیک سبوس تابع شرایط تخمیر به لحاظ ترکیب میکروبی آغازگر، مدت زمان و درجه حرارت تخمیر می‌باشد.

منابع

[1] Coda, R., Rizzello G., Curiel J.A., Poutanen K., Katina K. (2014). Effect of bioprocessing and particle size on the nutritional properties of wheat bran fractions. *Innov Food Sci. Emerg.*, 25, 19–27.

[2] Manini, F., Poutanen, K., Brasca, M., Erba, D., Plumed-Ferrer, C. (2016). Characterization of lactic acid bacteria isolated from wheat bran sourdough. *Lwt-Food Sci Technol*., 66, 275-283.

[3] Schlemmer, U., Wenche Frlich, W., Prieto, R.M., Grases, F. (2009). Phytate in foods and significance for humans. Food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. *Mol. Nutr. Food Res*., 53, 330-375.

[4] Persson, H., Turk, M., Nyman, M., Sandberg, A.S.

www.SID.ir

Archive of SID

[15] National Iranian standard, (1998) Biscuit characteristics Number 37.

[16] Katina, K., Marttila. M, Partanen, R., Forssell, P., Autio. K. (2006). Effects of sourdough and enzymes on staling of high-fibre wheat bread. *Lwt-Food Sci. Technol.*, 39, 479–491.

[17] Febles, C. I., Arias, A., Hardisson, A., Rodrı´guez-Alvarez, C., Sierra, A. (2002) . Phytic Acid Level in Wheat Flours. *J. Cereal Sci.*, 36 ,19–23.

[18] Zotta, T., Ricciardi, A., Parente, E. (2007). Enzymatic activities of lactic acid bacteria isolated from Cornetto di Matera sourdoughs. *Int. J. Food Microbiol*., 115, 165–172.

[19] Edema, M. O., Sanni, A. I. (2008). Functional properties of selected starter cultures for sour maize bread. *Food Microbiol*., 25, 616–625.

[20] Plessas, S., Fisher, A., Koureta, K., Psarianos, C., Nigam, P., Koutinas, A.A., (2008). Application of Kluyveromyces marxianus, Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus and L. helveticus for sourdough bread making. *Food Chem*., 106, 985–990.

[21] Hggman, M., Salovaara, H. (2008). Effect of fermentation rate on endogenous leavening of Candida milleri in sour rye dough. *Food Res. Int.*, 41, 266–273.

]22 [Kennes, C., Veiga, M. C., Dubourguier, H. C., Touzel, J., Albanganac, P. G., Navaeau, H., Nyns, E. J., (1991). Trophic Relationships between Saccharomyces cerevisiae and Lactobacillus plantarum and Their Metabolism of Glucose and Citrate. *Appl. Environ. Microb.*, 4, 1046-1051.

[23] Servi, S., özkaya, H., Colakoglu, A.S., (2008). Dephytinization of wheat bran by fermentation with bakers' yeast, incubation with barley malt flour and autoclaving at different pH levels. *J. Cereal Sci.*, 48, 471-476.

(1998). Binding of Cu2+, Zn2+, and Cd2+ to Inositol Tri-, Tetra-, Penta-, and Hexakisphosphate. *J. Agr. Food Chem*., 46, 3194-3200.

[5] Reddy, N.R, Sathe, S.K. (2002). *Food Phytates*, 1th ed., CRC press, New York, pp 2-5.

[6] Nuobariene, L., Hansen, A. S., Arneborg, N. (2012). Isolation and identification of phytase-active yeasts from sourdoughs. *Lwt-Food Sci Technol*., 48, 190 -196.

[7] Hansen, A., Schieberle. P. (2005). Generation of aroma compounds during sourdough Fermentation. *Trends Food Sci. Tech.*, 16, 85-94.

[8] Reale A., Konietzny U., Coppola R., Sorrentino E., Greiner. R. (2007). The importance of lactic acid bacteria for phytate degradation during cereal dough fermentation. *J. Agr. Food Chem*., 55, 2993-2997.

[9] Biswas, S., Datta m., Ngachan, S. (2012). Mushromms: a manual for cultivation, 1th ed, PHI, New Delhi 2012, pp 94-95.

[10] AACC (2000). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. St.Paul, 9th Edition, Minnesota, USA. Method 44-19.

[11] AACC (2000). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. St. Paul, 9th Edition, Minnesota, USA. Method 08-01

[12] AACC (2000). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. St. Paul, 9th Edition, Minnesota, USA. Method 30-20

[13] AOAC (2002). Official Methods of Analysis of AOAC International, Horwitz W. 17th Edition, Maryland, USA. Method 920.82

[14] Najafi, M. A., Rezaei, K., Safari, M. & Razavi, S. H. (2012). Use of Sourdough to Reduce Phytic Acid and Improve Zinc Bioavailability of a Traditional Flat Bread (Sangak) from Iran. *Food Sci. Biotechnol*., 21, 51-57.

www.SID.ir

Archive of SID

[24] Sandberg, A. S., (2002). Influence of Processing Technologies on Phytate and Its Removal. In:Reddy, N.R., Sathe, S.K. (Eds.), Food Phytates. CRC Press LLC, Boca Raton, FL, pp. 5-9.

[25] Lioger, L., Leenhardt, F., Demigne, C., Remesy, C. (2007). Sourdough fermentation of wheat fractions rich in fibres before their use in processed food. *J. Sci. Food Agr*., 87, 1368–1373.

[26] Dhankher, N., Chauhan, B.M. (1987). Effect of temperature and fermentation time on phytic acid and polyphenol content of Rabadi – A fermented pearl millet food. *J. Food Sci*., 52, 828-829.

[27] Harland, H., Frølich, W., (1989). Effects of phytase from three yeasts on phytase reduction in Norwegian whole wheat flour. *Cereal Chem.*, 66, 357-358.

[28] Sandberg, A. S., (2002). In vitro and in vivo degradation of phytate. In:Reddy, N.R., Sathe, S.K. (Eds.), Food Phytates. CRC Press LLC, Boca Raton, FL, pp. 139-155.

[29] Reale, A., Konietzny, U., Coppol, R, Sorrentino, E., Greiner, R., (2007). The importance of lactic acid bacteria for phytate degradation during cereal dough fermentation. *J. Agr. Food Chem*., 55, 2993-2997.

www.SID.ir