ORIGINAL ARTICLE

Effect of Controlled Fermentation of Sourdough Containing Lactobacillus plantarum and Lactobacillus brevis on Phytate Content in Dough and Bread

Alireza Sadeghi[1],
Mojtaba Raeisi[2],
Maryam Ebrahimi[3],
Abbas Abedfar[4],
Yousef Dadban Shahamat[5]

[1] Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Food Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
[2] Assistant Professor, Cereal Health Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran
[3] MSc in Food Sciences and Technology, Faculty of Food Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
[4] MSc in Food Sciences and Technology, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran
[5] Assistant Professor, Environmental Health Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

(Received May 8, 2016 ; Accepted July 10, 2016)

Abstract

Background and purpose: Phytic acid plays a major role in reducing the bioavailability of minerals in food. The aim of this study was to evaluate the effect of controlled sourdough fermentation on reduction of phytate content in dough and bread produced by whole wheat flour containing *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis*.

Materials and methods: This experimental study was carried out as a joint project in Golestan University of Medical Sciences and Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. After isolation of two dominant lactobacillus isolates from whole wheat sourdough and their molecular identification, the effect of controlled sourdough fermentation (dominant isolates were used as starter culture, under treatments (as separate or mixed with equal proportions) of 28, 32, 36 °C fermentation temperatures and 16, 24, 32 h fermentation times) was examined on phytate content of produced dough and bread, using a spectrophotometric assay based on the measurement of iron.

Results: Sequencing of PCR products led to identification of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis* as the dominant lactobacillus isolates from whole wheat sourdough. According to statistical analysis, by increasing fermentation time and temperature, the amount of phytate significantly decreased in dough and bread produced by each of dominant isolates ($P \leq 0.05$). Furthermore, mixture of lactobacillus as starter culture was more effective on phytate reduction compared with using them separately.

Conclusion: Our results showed that controlled fermentation of whole wheat sourdough have significant effect on reduction of phytate and increasing the bioavailability of bread minerals.

Keywords: *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, phytic acid, sourdough

J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 26 (141): 16-25 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-25]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و ششم شماره ۱۴۱ مهر سال ۱۳۹۵ (۲۵-۱۶)

تاثیر تخمیر کنترل شده خمیرترش حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس برویس بر میزان اسید فیتیک خمیر و نان تولیدی

علیرضا صادقی[۱]
مجتبی رئیسی[۲]
مریم ابراهیمی[۳]
عباس عابدفر[۴]
یوسف دادبان شهامت[۵]

چکیده

سابقه و هدف: اسید فیتیک نقش زیادی در کاهش دسترسی به املاح موجود در مواد غذایی دارد. این مطالعه با هدف ارزیابی تاثیر تخمیر کنترل شده خمیرترش آرد گندم حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس برویس* بر کاهش اسید فیتیک خمیر و نان تولیدی انجام شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی که در دو دانشگاه علوم پزشکی گلستان و دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در سال ۱۳۹۴ انجام گردید، پس از جداسازی دو لاکتوباسیلوس غالب خمیرترش آرد کامل گندم و شناسایی مولکولی آن‌ها، تاثیر تخمیر کنترل شده خمیرترش حاوی جدایه‌های مذکور به صورت جداگانه و مخلوط با نسبت مساوی با اعمال محدوده‌های دمایی ۲۸، ۳۲، ۳۶ درجه سانتی‌گراد و زمانی ۱۶، ۲۴، ۳۲ ساعت مختلف تخمیر، بر میزان اسید فیتیک خمیر و نان تولیدی به روش جذب‌سنجی مبتنی بر تعیین میزان آهن مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: توالی‌یابی محصولات PCR منجر به شناسایی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *برویس* به عنوان دو جدایه لاکتیکی غالب خمیرترش آرد کامل گندم شد. آنالیز آماری نشان داد که میزان اسید فیتیک خمیر و نان تولید شده با هر یک از این جدایه‌ها با افزایش دما و زمان تخمیر، به شکل معنی‌داری کاهش یافت($p\leq ۰/۰۵$). به علاوه، تاثیر مخلوط جدایه‌های مذکور نسبت به هر یک از آن ها به طور مستقل، تاثیر بیش‌تری بر کاهش اسید فیتیک داشت.

استنتاج: نتایج این مطالعه نشان داد که تخمیر کنترل شده خمیرترش گندم به نحو چشم گیری در کاهش اسید فیتیک و متعاقباً افزایش دسترسی به املاح موجود در خمیر و نان تولیدی موثر است.

واژه های کلیدی: *لاکتوباسیلوس برویس*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، اسید فیتیک، خمیرترش

مقدمه

نان، قوت غالب مردم بسیاری از کشورهای جهان را تشکیل داده و بخش زیادی از نیاز روزانه به پروتئین و املاح این جوامع را تامین می‌کند. نان‌های حاصل از آرد کامل غلات نیز به لحاظ محتوای بالای املاح، پروتئین،

مولف مسئول:مجتبی رئیسی– گرگان: دانشگاه علوم پزشکی گلستان، دانشکده بهداشت E-mail: drmraeisi@goums.ac.ir
۱. استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۲. استادیار، مرکز تحقیقات سلامت غلات، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران
۳. کارشناس ارشد صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۴. کارشناس ارشد صنایع غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران
۵. استادیار، مرکز تحقیقات بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۵/۲/۱۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۵/۲/۲۶ تاریخ تصویب : ۱۳۹۵/۴/۲۰

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-25]

ویتامین و ترکیبات زیست‌فعال از ارزش تغذیه‌ای بالایی برخوردار هستند اما به دلیل وجود اسید فیتیک، جذب املاح این فرآورده‌های رژیمی غالباً با اختلال همراه بوده و حتی ممکن است تشدید فقر آهن را نیز درپی داشته باشد. اگرچه مراحل پخت و تخمیر مخمری می‌توانند میزان اسید فیتیک این محصولات را کاهش دهند اما پژوهش‌های اخیر نشان داده است که تخمیر کنترل شده خمیرترش در این مورد به مراتب موثرتر می‌باشد(۲،۱) خمیرترش شامل مخلوطی از آرد یا اجزاء آن و آب است که به‌وسیله مخمرها و باکتری‌های اسید لاکتیک تخمیر شده باشد. این میکروارگانیسم‌ها خصوصیات نان از جمله 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 نیز می‌شوند(۴،۳). خمیرترش به عنوان یک اکوسیستم طبیعی دارای محتوای بالایی از باکتری‌های اسید لاکتیک می‌باشد که نه تنها قابلیت بهبود ویژگی‌های کیفی نان توسط آن‌ها به اثبات رسیده بلکه تجزیه فیتات به عنوان یک عامل ضد تغذیه‌ای و متعاقباً افزایش میزان دسترسی به املاح توسط فعالیت فیتازی این فلور میکروبی نیز گزارش شده است(۲،۱). به کمک برخی از آنزیم‌های تولید شده توسط آغازگرهای 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 نیز جبران نمود(۶،۵). در مطالعات متعددی تاثیر تخمیر بر کاهش میزان فیتات نان مورد بررسی قرار گرفته است. به عنوان مثالشیخ الاسلامی و همکاران دریافتند که فرآیندهای تخمیر مخمری و پخت، تاثیر چندانی بر کاهش اسید فیتیک نان‌های سنگک و لواش ماشینی تولیدی در ایران ندارند(۷). ارشدی نژاد و همکاران نیز با بررسی تاثیر نوع و مقدار ماده عمل آورنده مانند مخمر خشک، خمیر مایه تازه و خمیرترش و هم‌چنین زمان و دمای تخمیر بر میزان اسید فیتیک خمیر نان بربری مشاهده نمودند که استفاده از ۳ درصد خمیر مایه تازه و به کارگیری زمان ۲/۵ ساعت تخمیر در دماهای ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد بهترین تیمارها در کاهش اسید فیتیک هستند(۸). دیدار و همکاران با مطالعه استفاده از انواع مختلف خمیرترش تهیه شده توسط *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس روتری* با مقادیر متفاوت بازدهی خمیر و نسبت‌های مختلف جایگزینی در میزان اسید فیتیک نان لواش دریافتند که بیش‌ترین کاهش اسید فیتیک هنگام استفاده از خمیرترش حاصل از *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با بازدهی خمیر ۲۰۰ و ۳۰ درصد جایگزینی به دست می‌آید(۹). بر اساس گزارش گرگری و همکاران نیز میزان اسید فیتیک موجود در نان سنگک حاصل از آرد کامل گندم در مقایسه با سایر نان‌های رایج تولیدی در ایران بیش‌تر است. نتایج محققین مذکور هم چنین نشان داد که فرآوری این نان به کمک تخمیر کنترل شده خمیرترش که فلور میکروبی آن دارای قابلیت آبکافت آنزیمی فیتاز باشند می‌تواند میزان دسترسی به املاح موجود در آن را افزایش دهد(۱۰).

Leenhardt و همکاران نیز تغییر میزان هیدرولیز فیتات به واسطه تخمیر خمیرترش را مورد ارزیابی قرار داده‌اند. نتایج مطالعات این محققین نشان داد که میزان اسید فیتیک در خمیرهای دارای pH حدود ۴ تا ۴/۵ نسبت به خمیرهای دارای pH بالاتر به مراتب کم تر است و افت جزئی pH تا حدود ۵/۵ منجر به کاهش چشم گیر مقدار فیتات تا حدود ۳۵ درصد در محصول تولیدی می‌گردد(۱۱).

De Angelis و همکاران نیز قابلیت تجزیه فیتات توسط دوازده جنس از باکتری‌های اسید لاکتیک خمیرترش را مورد مطالعه قرار دادند. محققین مذکور دریافتند که این ویژگی با توجه به جنس و نژاد آغازگر لاکتیکی بسیار متفاوت است(۶).

هدف از انجام این مطالعه ارزیابی تاثیر تخمیر

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-25]

کنترل شده خمیرترش دارای کشت‌های آغازگر اختصاصی تحت تیمارهای دما و زمان تخمیر بر میزان اسید فیتیک خمیر و نان حجیم تولیدی و هم چنین تعیین رابطه بین اسیدیته قابل تیتر خمیرترش با محتوای اسید فیتیک بود.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۴ و در قالب یک طرح مشترک در مرکز تحقیقات سلامت غلات دانشگاه علوم پزشکی گلستان و دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد.

تهیه خمیرترش آرد کامل گندم

ابتدا برای تهیه خمیرترش، آرد کامل گندم که ویژگی‌های آن بر اساس روش‌های مدوّن AACC تعیین شده بود(۱۲) از کارخانه آرد زاهدی گرگان تامین گردید. برای شروع تخمیر تصادفی خمیرترش، آرد گندم با آب استریل با نسبت یک به چهار وزنی حجمی، مخلوط و سپس در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. برای دستیابی به لاکتوباسیلوس‌های غالب این خمیرترش، تخمیر در روزهای بعد با افزودن ۲۰ درصد وزنی از خمیرترش روز قبل، مایه‌گیری و به مخلوط آب و آرد گندم در شرایط تخمیر مذکور و تعیین مقدار اسیدیته قابل تیتر در هر روز تداوم یافت. برای تعیین اسیدیته قابل تیتر خمیرترش بر حسب اسید لاکتیک نیز معادل ۱۰ گرم از خمیرترش با ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر، مخلوط و سپس توسط NaOH با نرمالیته ۰/۱ تا pH معادل ۸/۵ تیتر شد و اسیدیته بر حسب میلی‌لیتر NaOH مصرفی گزارش گردید(۱۴،۱۳).

جداسازی و شناسایی لاکتوباسیلوس‌های غالب خمیرترش آرد کامل گندم

با حصول اطمینان از غالب شدن فلور لاکتیکی در تخمیر خمیرترش با ثبات نسبی مقدار اسیدیته قابل تیتر در دو فرآیند مایه‌گیری متوالی از تک پرگنه خالص جدایه لاکتیکی حاصل از کشت خطی سوسپانسیون خمیرترش آرد کامل گندم در محیط کشت Agar MRS (مرک، آلمان)، پس از شناسایی اولیه با استفاده از آزمون‌های کاتالاز و رنگ آمیزی گرم، DNA استخراج (بیونیر، AccuPrep K-3032، کره جنوبی) شد و توالی هدف توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase Chain Reaction: PCR) دارای پرایمر اختصاصی، تکثیر و متعاقباً محصولات PCR، توالی‌یابی (MWG، آلمان) گردید. پرایمرهای مورد استفاده در این واکنش در جدول شماره ۱ آمده است.

جدول شماره ۱: پرایمرهای اختصاصی مورد استفاده برای آزمون PCR شناسایی جدایه‌های لاکتیکی غالب خمیرترش آرد کامل گندم

سطح اختصاصیت پرایمر	توالی پرایمر ۵′به۳′	طول توالی هدف	مرجع
باکتری‌های اسید لاکتیک (جایگاه ۱۶S rDNA)	F: GAACGCGAAGAACCTTAC R: GCGTGTGTACAAGACCC	۵۰۰جفت باز	(۱۵)

مقادیر واکنش گرهای PCR (روبوست، فرانسه) و چرخه‌های دمایی تکثیر (ترموسایکلر کوربت، مدل CG1-96، استرالیا) نیز مطابق فرآیند بهینه‌سازی شده Ferchichi و همکاران مورد استفاده قرار گرفتند(۱۵).

تهیه نان فاقد خمیرترش (شاهد)

برای تهیه نمونه نان شاهد از مخلوط آرد، آب و ۱/۵ درصد وزنی از مخمر خشک فعال حاوی *ساکارومایسس سرویزیه* (ایران ملاس، فریمان) استفاده شد. خمیر نان شاهد فاقد خمیرترش بود و تخمیر اولیه آن در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه و تخمیر نهایی نیز در دمای مشابه به مدت ۹۰ دقیقه صورت پذیرفت. برای پخت این نان نیز از دمای ۵±۲۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه (فر نانوایی لیشور، ایتالیا)، استفاده گردید(۱۶).

تهیه نان با استفاده از خمیرترش های تولیدی

برای تهیه نان خمیرترشی، نسبت ۲۰ درصد وزنی از

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-25]

خمیر ترش حاصل از تخمیر کنترل شده آرد کامل گندم با استفاده از دو جدایه لاکتیکی غالب جدا شده از آن به عنوان آغازگر اختصاصی به صورت جداگانه و مخلوط با نسبت مساوی و محدوده‌های دمایی ۲۸، ۳۲ و ۳۶ درجه سانتی‌گراد و زمان‌های ۱۶، ۲۴ و ۳۲ ساعت تخمیر به خمیر مشابه نمونه شاهد افزوده شد و سپس تحت شرایط یکسان با نمونه شاهد در شرایط آزمایشگاهی فرآوری گردید(۱۷،۱۶).

تعیین میزان اسید فیتیک نمونه‌های خمیر و نان

پس از تولید خمیر نان که شامل خمیر حاوی تیمارهای خمیرترش قبل از مرحله پخت نان است و نان‌های خمیرترشی، مقدار اسید فیتیک آن‌ها در مقایسه با نمونه‌های شاهد بر اساس آزمون جذب‌سنجی مبتنی بر تعیین میزان آهن در سه تکرار 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 به عنوان معیاری از میزان اسید فیتیک تعیین گردید. بدین منظور محلول استاندارد اسید فیتیک که شامل محلول هیدراته نمک اسید فیتیک برنج می‌باشد، محلول سولفات آهن آمونیومی و محلول ۲-۲ بی‌پیریدین از شرکت سیگما آلدریچ ساخت کشور آمریکا تهیه شدند. ابتدا برای استخراج اسید فیتیک از نمونه‌های خمیر و نان از هضم با اسید کلریدریک نیم مولار (مرک، آلمان) به مدت سه ساعت و سپس سانتریفوژ (هرمل، مدل Z-323K، آلمان) در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. در مرحله بعد به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول استخراج شده، یک میلی‌لیتر از محلول سولفات آهن آمونیومی افزوده شد و این مخلوط پس از ۳۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری در حمام آب جوش تا رسیدن به دمای محیط روی یخ قرار گرفت. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول یک درصد ۲-۲ بی‌پیریدین به محلول قبلی اضافه گردید و جذب نمونه بلافاصله در طول موج ۵۱۹ نانومتر (اسپکتروفوتومتر PG اینسترومنتز، مدل LTD T80، انگلستان) در مقایسه با منحنی استاندارد حاصل از خوانش جذب رقت‌های مختلف محلول استاندارد اسید فیتیک تعیین گردید(۱۸).

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصل از این مطالعه با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه با مقایسات زوجی حداقل اختلاف معنی‌داری (LSD) در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ با سه تکرار و به کمک نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و برای ترسیم نمودارها نیز از نرم‌افزارهای Design expert و Curve expert استفاده شد.

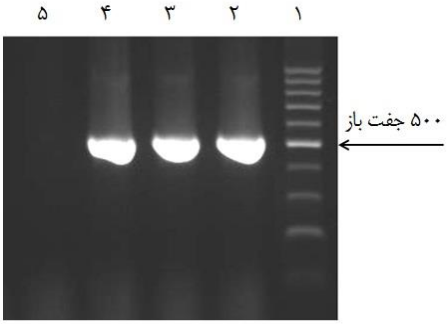
یافته ها

جداسازی و شناسایی مولکولی دو لاکتوباسیلوس غالب خمیرترش آرد کامل گندم

پس از چهار روز تکرار فرآیند مایه‌گیری با ثبات نسبی اسیدیته قابل تیتر خمیرترش، دو آغازگر لاکتیکی غالب خمیرترش آرد کامل گندم با کشت سطحی سوسپانسیون آن جدا گردیدند. جدایه‌های مذکور دو باسیل گرم مثبت و کاتالاز منفی بودند. ارزیابی اولیه تکثیر توالی هدف DNA تک پرگنه خالص جدایه‌های مذکور با ژل الکتروفورز محصولات تولیدی نیز نشان داد که این جدایه‌ها به خانواده باکتری‌های اسید لاکتیک (با توجه به سطح اختصاصیت پرایمر مورد استفاده) تعلق دارند (تصویر شماره ۱).

نتایج توالی‌یابی محصولات PCR دارای پرایمر اختصاصی از DNA تک پرگنه این جدایه‌ها نیز پس از مقایسه توالی‌های مذکور با داده‌های موجود در پایگاه اطلاعاتی NCBI (National Center for Biotechnology Information) با استفاده از رویه BLASTn منجر به شناسایی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (*Lactobacillus plantarum*) و *لاکتوباسیلوس برویس* (*Lactobacillus brevis*) به ترتیب با ۹۹ و ۹۷ درصد هم پوشانی گردید.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-25]



تصویر شماره ۱: ژل الکتروفورز محصولات PCR دارای پرایمر اختصاصی با توالی هدف ۵۰۰ جفت بازی جهت شناسایی دو لاکتوباسیلوس غالب خمیرترش آرد کامل گندم (لاین ۲ و ۳) در مجاورت مارکر صد جفت بازی (لاین ۱) و هم چنین نمونه های کنترل مثبت حاوی DNA حاصل از کشت خالص *Lactobacillus* sp. (PTCC 1332) (لاین ۴) و کنترل منفی یا فاقد باکتری (لاین ۵).

مقایسه تغییرات اسید فیتیک در خمیر نان‌های فرآوری شده با تیمارهای مختلف خمیرترش

مقایسه مقادیر اسید فیتیک خمیر نان‌های تولیدی در این مطالعه نشان داد که عموماً با افزایش زمان و دمای تخمیر خمیرترش در مورد هر کشت آغازگر، میزان اسید فیتیک نیز بیش‌تر کاهش یافت (جدول شماره ۲). بر این اساس کم‌ترین مقدار اسید فیتیک در نمونه حاصل از ۳۲ ساعت تخمیر در ۳۶ ساعت توسط مخلوط دو جدایه لاکتیکی مشاهده گردید (معادل ۴۳ درصد کاهش در مقایسه با نمونه شاهد) و مخلوط این دو جدایه (*لاکتوباسیلوس برویس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*) نسبت به هر سویه به طور جداگانه سبب کاهش بیش‌تر میزان اسید فیتیک خمیر شد.

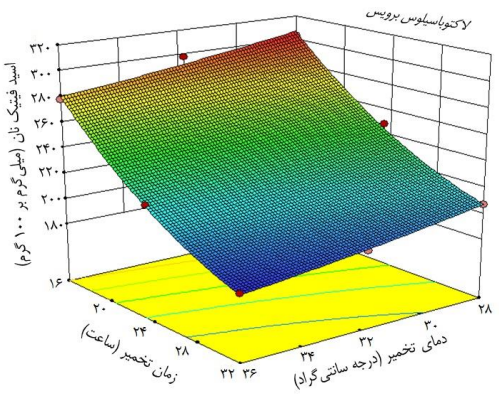
مقایسه تغییرات اسید فیتیک در نان‌های فرآوری شده با تیمارهای مختلف خمیرترش

بر اساس نتایج به دست آمده با افزایش مدت زمان و دمای تخمیر، کاهش میزان اسید فیتیک در مورد هر کشت آغازگر بیش‌تر بود (تصویر شماره ۲). آنالیز واریانس و مقایسه میانگین تغییرات اسید فیتیک نان‌های فرآوری شده در سطح ۵ درصد نیز نشان داد که در سطوح مختلف دمای تخمیر، زمان تخمیر و نوع کشت آغازگر، تاثیر معنی‌داری ($p\leq ۰/۰۵$) بر میزان تغییرات اسید فیتیک نان داشتند. هم چنین از بین کشت‌های آغازگر، مخلوط دو جدایه، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس برویس* به ترتیب تاثیر بیش‌تری در کاهش میزان اسید فیتیک نان داشتند. علاوه بر این از بین عوامل موثر بر تخمیر، تاثیر زمان تخمیر در روند کاهش اسید فیتیک به مراتب بیش‌تر از دمای تخمیر و هم‌چنین اثر متقابل دما و زمان تخمیر بود. محتوای اسید فیتیک نمونه شاهد نیز ۴۲۱/۷۵ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم بود که به ترتیب در نان‌های فرآوری شده با خمیرترش حاوی *لاکتوباسیلوس برویس*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و مخلوط این دو جدایه به میزان ۲۸ تا ۵۷، ۳۰ تا ۵۸ و نهایتاً ۳۵ تا ۶۲ درصد در مقایسه با نمونه شاهد کاهش یافت.

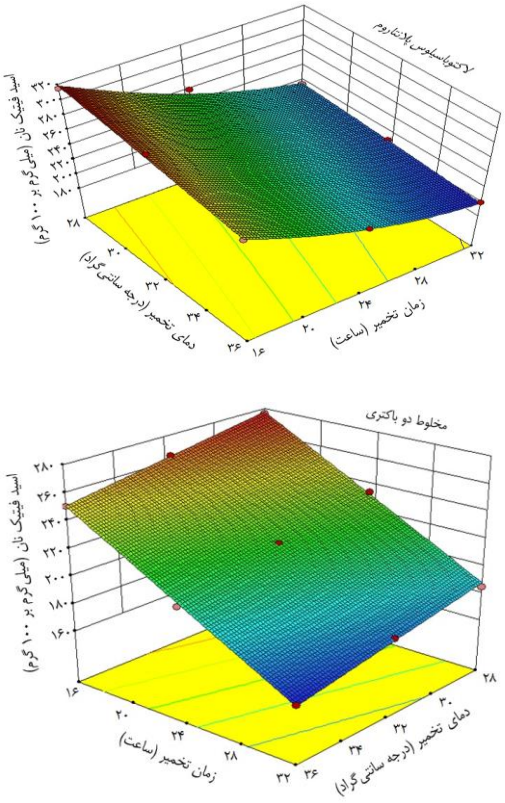
جدول شماره ۲: ارزیابی تغییرات اسید فیتیک خمیر نان تحت تاثیر زمان تخمیر و دمای تخمیر در آغازگرهای مختلف خمیرترش

دمای تخمیر (درجه‌سانتی گراد)	زمان تخمیر (ساعت)	اسید فیتیک خمیر (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم)		
		لاکتوباسیلوس برویس	*لاکتوباسیلوس پلانتاروم*	مخلوط دو باکتری
۰	۰	۵۱۶/۱۸۳±۱/۶۴۰^{a}	۵۱۶/۱۸۳±۱/۶۴۰^{a}	۵۱۶/۱۸۳±۱/۶۴۰^{a}
۲۸	۱۶	۳۹۸/۱۲۶±۰/۷۷۲^{b}	۳۸۶/۵۶۰±۰/۵۶۴^{b}	۳۷۹/۷۷۳± ۰/۸۳۴^{b}
	۲۴	۳۷۴/۹۶۰±۰/۰۹۱^{c}	۳۶۵/۸۷۳±۰/۴۹۳^{dc}	۳۴۹/۲۷۳±۰/۲۰۵^{e}
	۳۲	۳۵۹/۸۸۶±۰/۳۴۱^{d}	۳۳۹/۶۵۶±۰/۳۳۵^{h}	۳۲۲/۴۱۳±۰/۴۱۴^{h}
۳۲	۱۶	۳۷۶/۵۹۰±۱/۵۸۹^{cb}	۳۷۳/۴۲۳±۰/۶۰۶^{c}	۳۶۷/۱۶۶±۰/۳۰۶^{c}
	۲۴	۳۶۲/۷۹۶±۰/۳۹۷^{d}	۳۵۴/۴۸۰±۰/۴۰۵^{e}	۳۳۸/۷۰۳±۰/۲۳۲^{f}
	۳۲	۳۴۲/۷۸۶±۰/۴۵۶^{f}	۳۲۸/۳۳۶±۰/۵۲۹^{g}	۳۰۷/۹۹۶±۰/۳۵۹^{m}
۳۶	۱۶	۳۶۹/۵۵۶±۰/۴۴۹^{dc}	۳۶۴/۲۶۰±۰/۲۹۰^{d}	۳۵۷/۹۰۶±۰/۳۸۰^{d}
	۲۴	۳۵۳/۲۳۶±۰/۴۶۵^{e}	۳۴۷/۸۹۶±۰/۴۰۵^{f}	۳۳۰/۴۳۳±۰/۶۲۷^{g}
	۳۲	۳۱۷/۶۱۰±۰/۰۶۲^{g}	۳۰۹/۸۱۰±۰/۳۴۱^{h}	۲۹۶/۵۵۳±۰/۵۲۵^{n}

مقدار اسیدفیتیک نمونه شاهد در ردیف نخست،گزارش شده است و حروف a،b،c،d،e،f،g،h،m و n در هر ستون، نشان‌گر تفاوت معنی دار در سطح α=۰/۰۵ می باشد.



[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-25]

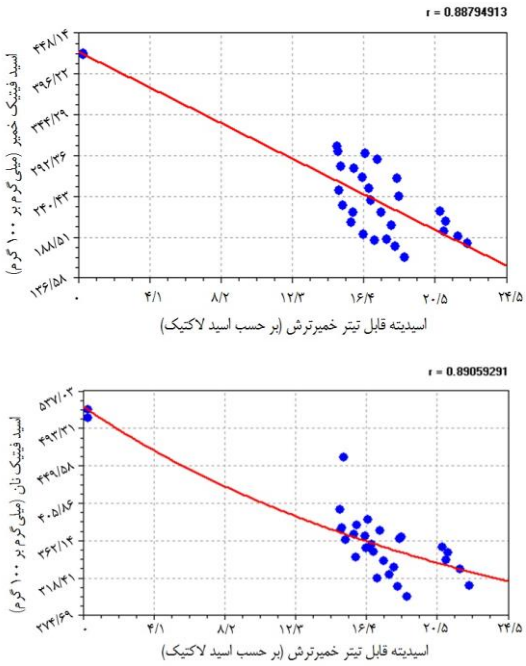


تصویر شماره ۲: بررسی تغییرات اسید فیتیک در نان‌های فرآوری شده تحت تاثیر دمای تخمیر، زمان تخمیر و نوع آغازگر اختصاصی خمیرترش آرد کامل گندم

بر اساس این نتایج، محتوای اسید فیتیک خمیر نمونه شاهد (۵۱۶/۱۸۳) پس از مرحله پخت نان (۴۲۱/۷۵)، معادل ۱۹ درصد کاهش یافت. با توجه به یکسان بودن مراحل فرآوری نمونه‌های مورد ارزیابی در این مطالعه با نمونه شاهد، اثر مرحله پخت نیز بر کاهش اسید فیتیک در تمامی نمونه‌ها یکسان بوده و به تیمار خمیرترش مورد استفاده بستگی نخواهد داشت.

ارزیابی رابطه تغییرات اسیدیته قابل تیتر خمیرترش با اسید فیتیک خمیر و نان تولیدی

رابطه رگرسیونی اسیدیته قابل تیتر خمیرترش‌های تولیدی با میزان اسید فیتیک خمیر (مدل خطی) و نان تولیدی (مدل لجستیک) به ترتیب دارای توان دوم ضریب همبستگی ۰/۸۸ و ۰/۸۹ بود و با افزایش اسیدیته قابل تیتر خمیرترش، میزان اسید فیتیک آن‌ها نیز روند نزولی داشت (تصویر شماره ۳). بالا بودن ضرایب همبستگی بین پارامترهای مذکور نشان دهنده وجود ارتباط بین اسید تولیدی در حین تخمیر خمیرترش با میزان اسید فیتیک خمیر و نان حاصل از آرد کامل گندم است.



تصویر شماره ۳: ارزیابی رابطه بین اسیدیته قابل تیتر خمیرترش آرد کامل گندم با میزان اسید فیتیک خمیر و نان قالبی تولیدی

بحث

در فرآورده‌های حاصل از آرد کامل غلات، حضور اسید فیتیک یا فیتات به واسطه ایجاد کمپلکس با املاح ضروری تغذیه‌ای مانع از جذب آن‌ها می‌شود. اما تجزیه فیتات به میو اینوزیتول فسفات توسط فیتاز، اثرات سلامتی بخشی نظیر کاهش آرتروز مفاصل، پایداری بافت‌های عصبی، ممانعت از بروز سرطان روده بزرگ و بیماری‌های قلبی را در پی دارد(۱۹). استفاده از آغازگرهای لاکتیکی انتخابی در خمیرترش با قابلیت تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده فیتات به عنوان یک روش موثر جهت کاهش محتوای فیتات و برخورداری از اثرات مفید تغذیه‌ای و سلامتی بخش نان‌های حاصل از آرد کامل غلات مطرح می‌باشد(۲،۱). خمیرترش دارای کشت‌های

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-25]

آغازگر اختصاصی با کنترل محدوده‌های دمایی و زمانی تخمیر می‌تواند به طور کاملاً موثر، هیدرولیز اسید فیتیک و دسترسی به املاحی هم‌چون آهن، کلسیم، منیزیم و فسفر را افزایش دهد(۲۲،۲۱). بر اساس نتایج این مطالعه، تخمیر کنترل شده خمیرترش آرد کامل گندم با استفاده از کشت‌های آغازگر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس برویس* تحت تیمار دمای تخمیر و زمان تخمیر به نحو بارزی دارای قابلیت کاهش میزان اسید فیتیک خمیر و نان حجیم تولیدی در مقایسه با نمونه شاهد بود.

فعالیت فیتازی جدایه‌های لاکتیکی خمیرترش در مطالعات De Angelis و همکاران(۶) در خصوص جدایه *لاکتوباسیلوس سانفرانسینسیس* و همچنین Palacios و همکاران(۱۹) برای جدایه *لاکتوباسیلوس روتری* گزارش شده است. نتایج Lopez و همکاران نیز نشان داد که خمیرترش حاصل از تلفیق دو آغازگر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لوکونوستوک مزنتروئیدیس* با کنترل شرایط تخمیر، سبب کاهش چشم‌گیر میزان اسید فیتیک می‌شود(۲۰). بر اساس نتایج این محققین، باکتری‌های اسید لاکتیک خمیرترش با تولید اسیدهای آلی، pH را به محدوده بهینه فعالیت آنزیم فیتاز (حدود ۴/۵) می‌رسانند. البته نتایج سایر محققین نیز نشان داد که افت شدید pH به دلیل انباشتگی بیش از حد فسفر غیر آلی ناشی از فسفریلاسیون مجدد اسید فیتیک می‌تواند منجر به کاهش فعالیت فیتاز و متعاقباً کاهش هیدرولیز اسید فیتیک در نان‌های خمیرترشی گردد(۲۴،۲۳). در بخش دیگری از این مطالعه نیز مشخص شد که با افزایش زمان و دمای تخمیر هر کشت آغازگر اختصاصی و به موازات افزایش اسیدیته قابل تیتر خمیرترش، قابلیت فیتازی خمیرترش آرد کامل گندم نیز افزایش یافت و رابطه مشخصی بین میزان اسیدیته قابل تیتر خمیرترش و محتوای فیتات خمیر و نان تولیدی وجود داشت.

بر اساس یافته‌های Leenhardt و همکاران نیز افزایش اسیدیته قابل تیتر خمیرترش به واسطه تشکیل کمپلکس‌های محلول از اسید فیتیک توسط اسیدهای آلی تولیدی سبب تجزیه قابل ملاحظه اسید فیتیک می‌شود. محققین مذکور دریافتند که به جز فعالیت فیتازی آغازگرهای لاکتیکی خمیرترش، اثر متقابل pH پایین ناشی از تولید اسیدهای آلی بر فعالیت فیتازی دانه غلات و مخمر نانوایی نیز در کاهش اسید فیتیک نقش دارد(۱۱).

نتایج پژوهش Chaoui و همکاران و هم‌چنین Lopez و همکاران نیز نشان داد که استفاده از نان خمیرترشی در وعده‌های غذایی موش آزمایشگاهی سبب افزایش میزان آهن سرم، هموگلوبین و هماتوکریت نسبت به رژیم غذایی حاوی نان غیر خمیرترشی می‌شود که دلیل آن فعالیت بالای فیتازی باکتری‌های اسید لاکتیک خمیرترش اعلام شد(۲۵، ۲۶). در مجموع و بر اساس یافته‌های مطالعات مذکور، فعالیت فیتازی آغازگرهای لاکتیکی و تاثیر کاهش pH ناشی از تولید اسیدهای آلی توسط آن‌ها بر فعالیت آنزیم فیتاز، مهم‌ترین دلالیل کاهش اسید فیتیک در نان‌های خمیرترشی هستند. البته برای حذف مناسب اسید فیتیک باید شرایط تخمیر با انتخاب بهترین محدوده‌های دمایی و زمانی و هم چنین سطح اسیدیته قابل تیتر خمیر ترش با انتخاب مخلوطی از آغازگرهای همو و هتروفرمنتاتیو کنترل گردد.

در مطالعه حاضر نیز تمامی تیمارهای خمیرترش مورد استفاده به شکل معنی‌داری از قابلیت بیش‌تری در کاهش میزان اسید فیتیک در مقایسه با نمونه شاهد برخوردار بودند و بیش‌ترین فعالیت فیتاری نیز در تخمیر خمیرترش حاوی مخلوط آغازگرهای *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس برویس* در دمای ۳۶ درجه سانتی‌گراد پس از ۳۲ ساعت تخمیر مشاهده شد. بر این اساس سویه‌های آغازگر میکروبی مورد استفاده در این مطالعه در صورت کنترل شرایط تخمیر خمیرترش می‌توانند به نحو موثری، محتوای اسید فیتیک خمیر و نان حاصل از آرد کامل گندم را کاهش داده و منجر به

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-25]

افزایش دسترسی به املاح موجود در آن شوند. با توجه به سرانه مصرف نان در کشور و ضرورت افزایش ارزش تغذیه‌ای آن با استفاده از آرد کامل گندم می‌توان از نتایج این مطالعه برای حذف اسید فیتیک نان تولیدی و مقابله با فقر املاح معدنی خصوصاً آهن چلاته شده با اسیدفیتیک استفاده نمود. البته تعمیم این نتایج به حالت واقعی، مستلزم انجام مطالعات بیش‌تر خصوصا به شکل *in vivo* است.

سپاسگزاری

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

References

1. Katina K, Arendt E, Liukkonen K-H, Autio K, Flander L, Poutanen K. Potential of sourdough for healthier cereal products. Trends Food Sci Tech 2005; 16(1-3): 104-112.
2. Poutanen K, Flander L, Katina K. Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective. Food Microbiol 2009; 26(7): 693-699.
3. Chavan RS, Chavan SR. Sourdough technology—a traditional way for wholesome foods: a review. Comp Rev Food Sci Food Saf 2011; 10(3): 169-182.
4. Corsetti A, Settanni L. Lactobacilli in sourdough fermentation. Food Res Int 2007; 40(5): 539-558.
5. Reale A, Konietzny U, Coppola R, Sorrentino E, Greiner R. The importance of lactic acid bacteria for phytate degradation during cereal dough fermentation. J Agric Food Chem 2007; 55(8): 2993-2997.
6. De Angelis M, Gallo G, Corbo MR, McSweeney PL, Faccia M, Giovine M, et al. Phytase activity in sourdough lactic acid bacteria: purification and characterization of a phytase from Lactobacillus sanfranciscensis CB1. Int J Food Microbiol 2003; 87(3): 259-270.
7. Sheikh-ol-Eslami Z, Jamalian J. Investigation of Phytic acid contents of wheat flour, dough and Lavash and Sangak breads. JWSS-Isfahan University of Technology 2003; 7(2): 185-192 (Persian).
8. Arshadinezhad S, Azizi MH, Hamidi EZ. Effect of different fermentation conditions on phytic acid content of Barbary dough. Journal of Food Science& Technology 2005; 2(5): 1-12 (Persian).
9. Didar Z, Seyedin AS, Mizani M, Hadad KMH. Comparison application of different sourdough on phytic acid content of traditional iranian bread (lavash). Iranian Food Science and Technology Research Journal 2008; 4(2): 19-31 (Persian).
10. Gargari B, Mahboob S, Razavieh S. Content of phytic acid and its mole ratio to zinc in flour and breads consumed in Tabriz, Iran. Food Chem 2007; 100(3): 1115-1119.
11. Leenhardt F, Levrat-Verny M-A, 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. J Agric Food Chem 2005; 53(1): 98-102.
12. AACC International. Approved methods of Analysis. 11th ed. USA. The American association of cereal chemists. 2010.
13. Katina K, Sauri M, Alakomi H-L, Mattila-Sandholm T. Potential of lactic acid bacteria to inhibit rope spoilage in wheat sourdough bread.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-25]

LWT-Food Sci Tech 2002; 35(1): 38-45.

14. Lioger D, Leenhardt F, Demigne C, Remesy C. Sourdough fermentation of wheat fractions rich in fibres before their use in processed food. J Sci Food Agric 2007; 87(7): 1368-1373.
15. Ferchichi M, Valcheva R, Prévost H, Onno B, Dousset X. Molecular identification of the microbiota of French sourdough using temporal temperature gradient gel electrophoresis. Food Microbiol 2007; 24(7): 678-686.
16. Meignen B, Onno B, Gélinas P, Infantes M, Guilois S, Cahagnier B. Optimization of sourdough fermentation with Lactobacillus brevis and baker's yeast. Food Microbiol 2001; 18(3): 239-245.
17. Dal Bello F, Clarke C, Ryan L, Ulmer H, Schober T, Ström K, et al. Improvement of the quality and shelf life of wheat bread by fermentation with the antifungal strain Lactobacillus plantarum FST 1.7. J Cereal Sci 2007; 45(3): 309-318.
18. Haug W, Lantzsch HJ. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. J Sci Food Agric 1983; 34(12): 1423-1426.
19. Palacios MC, Haros M, Sanz Y, Rosell CM. Selection of lactic acid bacteria with high phytate degrading activity for application in whole wheat breadmaking. LWT-Food Sci Technol 2008; 41(1): 82-92.
20. Lopez H, Krespine V, Guy C, Messager A, Demigne C, Remesy C. Prolonged fermentation of whole wheat sourdough reduces phytate level and increases soluble magnesium. J Agric Food Chem 2001; 49(5): 2657-2662.
21. Frontela C, Ros G, Martínez C. Phytic acid content and “in vitro” iron, calcium and zinc bioavailability in bakery products: The effect of processing. J Cereal Sci 2011; 54(1): 173-179.
22. Buddrick O, Jones OA, Cornell HJ, Small DM. The influence of fermentation processes and cereal grains in wholegrain bread on reducing phytate content. J Cereal Sci 2014; 59(1): 3-8.
23. Sanz-Penella JM, Tamayo-Ramos JA, Haros M. Application of bifidobacteria as starter culture in whole wheat sourdough breadmaking. Food Bio Technol 2012; 5(6): 2370-2380.
24. Di Cagno R, Rizzello CG, De Angelis M, Cassone A, Giuliani G, Benedusi A, et al. Use of selected sourdough strains of Lactobacillus for removing gluten and enhancing the nutritional properties of gluten-free bread. J Food Prot 2008; 71(7): 1491-1495.
25. Chaoui A, Faid M, Belahsen R. Making bread with sourdough improves iron bioavailability from reconstituted fortified wheat flour in mice. J Trace Elem Med Biol 2006; 20(4): 217-220.
26. Lopez HW, Duclos V, Coudray C, Krespine V, Feillet-Coudray C, Messager A, et al. Making bread with sourdough improves mineral bioavailability from reconstituted whole wheat flour in rats. Nutrition 2003; 19(6): 524-530.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-25]