

## مقایسه اثر مخمر نانوائی و باکتری‌های اسیدلاکتیک جدا شده از خمیر ترش 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 دارویی، 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. doctozrazmi@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱/۲۸

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۲۲

### 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  $37^{\circ}\text{C}$  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 مولیدووانادات تعیین شد).

**یافته‌ها:** در سری اول نمونه‌ها (حاوی مخمر)، متوسط میزان اسیدفیتیک در خمیر ترش ساخته شده با لاکتوباسیلوس های فرمنتوم  $138/84 \pm 1/16$  /اسیدوفیلوس  $126/22 \pm 1/47$ ، کازئی  $148/31 \pm 1/09$  و پلاتاروم  $129/27 \pm 0/64$  میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بود. در سری دوم نمونه‌ها (فاقد مخمر)، متوسط میزان اسید فیتیک در خمیر ترش ساخته شده با لاکتوباسیلوس های فرمنتوم  $268/22 \pm 2/03$ ، اسیدوفیلوس  $255/60 \pm 2/03$ ، کازئی  $274/53 \pm 0/62$  و پلاتاروم  $261/91 \pm 0/78$  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

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 زیست‌دسترسی آن‌ها را برای بدن کاهش دهد و معمولاً بیش از ۸۵٪ از اسید فیتیک در لایه‌های خارجی و آبرون دانه‌های غلات و سبوس آن‌ها وجود دارد (۳). استفاده از خمیر ترش و تولید انبوه نان تخمیر شده به وسیله مصری‌ها در حوالی رود نیل پایه‌گذاری شد. در طول فرآیند تخمیر خمیر ترش، میکروارگانیزم‌های موجود در خمیر ترش در تولید

در ایران بیش از ۹۰ درصد انرژی مصرفی از مواد غذایی گیاهی تأمین می‌شود که در این میان سهم غلات ۶۴ درصد است و سهم نان ۴۰ درصد در شهر و ۶۰ درصد 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

تخمیر (۴۵، ۵۵، ۷۵ و ۶۵ دقیقه به عنوان شاهد) را بر میزان اسید فیتیک مؤثر دانستند، آن‌ها عنوان کردند با افزایش مدت زمان تخمیر، مقدار اسید فیتیک کاهش می‌یابد، کاهش بیشتر در مقدار اسید فیتیک با خمیر ترش و مدت زمان ۷۵ دقیقه در ارقام فوق را به ترتیب ۹۵/۱۳، ۹۱/۴ و ۹۰/۹۶ درصد گزارش کردند (۱).

در تحقیقی پوتانن و همکاران تأثیر خمیر ترش غلات را روی کیفیت تغذیه‌ای غذاها بررسی کردند. تخمیر با استفاده از خمیر ترش 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 راشیتیس، 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 کلی تر به نقش باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمر نانوائی در کاهش اسید فیتیک در تولید نان بپردازد. هدف از پژوهش حاضر مقایسه اثر مخمر نانوائی (ساکارومیسس سرویزیه) و باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از خمیر ترش بر میزان اسید فیتیک نان باگت است. در این تحقیق در مقایسه با تحقیقات مشابه، گونه‌های بی‌شتری از باکتری‌های اسید لاکتیک (چهار گونه لاکتوباسیلوس) مورد بررسی قرار گرفته است و همچنین اثر باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمر نانوائی مقایسه شده است.

## روش کار

نانی با کیفیت مطلوب نقش دارند. میکروارگانیسم‌های گروه تخمیر علاوه بر مخمرها، شامل باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) هستند که به ترتیب مسئول ورآوردن و اسیدی کردن خمیر می‌باشند (۴). ساکارومیسس سرویزیه، مخمر اصلی موجود در خمیر ترش می‌باشد و مهم‌ترین باکتری‌های جدا شده از خمیر ترش 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 خمیر ترش را از نانوائی‌های مختلف ترکیه جمع‌آوری، LAB خمیر ترش‌ها را جدا کرده و اثرات متقابل LAB جدا شده و مخمر را ارزیابی کردند. سویه‌های LAB به کاررفته در تولید نان خمیر ترش، 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 پلاتناروم و لاکتوباسیلوس لوکونوستوک طی فرایند تولید نان از خمیر ترش گندم با اضافه کردن ۰/۲ درصد مخمر نانوائی را مورد بررسی قرار دادند (۷).

هارلاند و همکاران در یافته‌های 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).

حق پرست و همکاران با بررسی ۴ رقم گندم، ماده عمل آورنده (مخمر ۲، خمیر ترش ۲۰، جوش شیرین ۱/۵ درصد) در زمان‌های مختلف

و رشد باکتری صورت گرفت، سپس از محیط کشت مایع MRS حاوی باکتری آماده شده به منظور شمارش جمعیت باکتریایی، رقت‌های  $10^{-1}$  تا  $10^{-8}$  محیط کشت جامد MRS اختصاصی کشت داده شد و در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد 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 تایی تهیه می‌شود (سری اول حاوی مخمر، سری دوم فاقد مخمر). نمونه‌های خمیرترش با استفاده از کشت‌های باکتریایی فعال لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس فرمنتوم و لاکتوباسیلوس / سیدوفیلوس به طور جداگانه تهیه شد و سوش‌های باکتریایی به طور جداگانه با جمعیت تقریبی  $10^8$  cfu/g به خمیر تلقیح گردید. به منظور تلقیح سوش‌ها به خمیر نان باید سوسپانسیون باکتریایی تهیه گردد. برای تهیه آن، سوش‌های موردنظر در محیط کشت مایع MRS در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد تا سلول‌ها کاملاً فعال شدند. محیط کشت مایع MRS حاوی باکتری، در دور  $g \times 4000$  به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (Kokusan زاپن) شد و پس از شستشو با سرم فیزیولوژی، سوسپانسیون باکتریایی تهیه شد و به مخلوط آماده شده خمیر (آرد، نمک، مخمر خشک فعال و آب) اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد قرار داده شد پس از طی این مراحل مقدار اسید فیتیک خمیر ارزیابی شد (۱۰). مقدار اسید فیتیک با استفاده از  $\text{FeCl}_3$  و اندازه‌گیری فسفر موجود در فیتات فریک به روش رنگ‌سنجی با معرف‌های وانادومولیدات طبق روش تامپسون و اردمن تعیین شد (۱۱). در این تحقیق از دستگاه اسپکتروفتومتر Cecil ساخت انگلیس) استفاده شد.

آرد مورد نیاز این تحقیق، آرد سبوس‌گیری شده (آرد ستاره) مخصوص پخت نان باگت به صورت تصادفی از یکی از نانوايي‌های 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، ۰۸-۰۱، 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، به صورت جدا شده موجود بود استفاده شد.

باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم (PTCC1058)، لاکتوباسیلوس کازئی (PTCC1608)، لاکتوباسیلوس فرمنتوم (PTCC1638) و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (PTCC1643) به صورت 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 به منظور 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  $37^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری (ASTELL انگلیس) شد (۹).

جهت تهیه خمیرترش، سویه‌های جدا شده باکتری‌های اسیدلاکتیک مورد آزمایش استفاده شد. به منظور تکثیر سوش‌های موردنظر، در شرایط استریل، این سویه‌ها به طور جداگانه به محیط کشت مایع MRS اختصاصی منتقل شد و در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد

انجام گرفت.

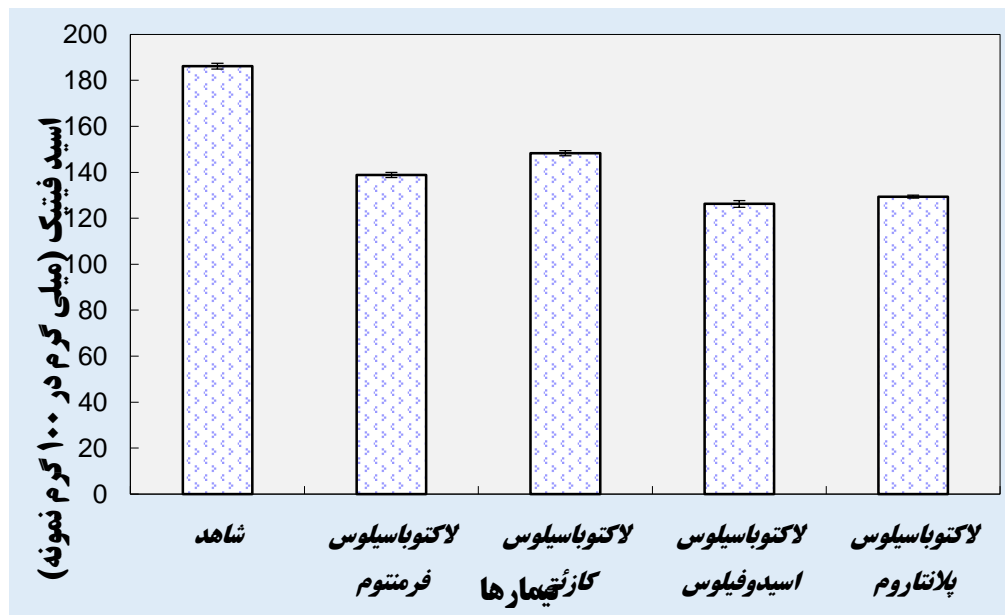
### یافته‌ها

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/اسیدوفیلوس سبب بیشترین کاهش در میزان اسید فیتیک شد (۳۲/۲٪) و لاکتوباسیلوس کازئی باعث کمترین کاهش در مقدار اسید فیتیک شد (۲۰/۳۳٪).

لاکتوباسیلوس پلاننتاروم 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 ۱۸۶/۱۷±۱/۲۱، در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس ۱۲۶/۲۲±۱/۴۷، در

در این تحقیق تأثیر مخمر ساکارومایسس سرویزیه و چهار نوع باکتری اسیدلاکتیک (لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس پلاننتاروم، لاکتوباسیلوس فرمنتوم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس) بر مقدار اسید فیتیک مقایسه شد. پژوهش حاضر جهت بررسی تأثیر باکتری‌های اسیدلاکتیک جدا شده از خمیر ترش بر اسید فیتیک با ۵ تیمار (شاهد، لاکتوباسیلوس فرمنتوم، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس پلاننتاروم و لاکتوباسیلوس پلاننتاروم) 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 یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی با سطح احتمال ۵ درصد، آزمون تی مستقل (مقایسه بین دو گروه 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



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 ( $P < 0.001$ )، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس باعث بیشترین کاهش در میزان اسید فیتیک شد و لاکتوباسیلوس کازئی باعث کمترین کاهش در میزان اسید فیتیک شد.

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

گروه‌ها	دارای مخمر		فاقد مخمر		سطح معنی‌داری (اختلاف دو گروه دارای مخمر و فاقد مخمر)
	جذب فسفر	اسید فیتیک (میلی گرم در ۱۰۰ گرم نمونه) (انحراف معیار ± میانگین)	جذب فسفر	اسید فیتیک (میلی گرم در ۱۰۰ گرم نمونه) (انحراف معیار ± میانگین)	
نمونه خمیر تیمار شده شاهد	۰/۵۹	۱۸۶/۱۷ <sup>a</sup> ± ۱/۲۱	۱/۱۱	۳۵۰/۲۶ <sup>a</sup> ± ۱/۲۱	**P<۰/۰۰۱
لاکتوباسیلوس فرمنتوم	۰/۴۴	۱۳۸/۸۴ ± ۱/۱۶	۰/۸۵	۲۶۸/۲۲ <sup>c</sup> ± ۲/۰۳	P<۰/۰۰۱
لاکتوباسیلوس کازئی	۰/۴۷	۱۴۸/۳۱ <sup>b</sup> ± ۱/۰۹	۰/۸۷	۲۷۴/۵۳ <sup>b</sup> ± ۰/۶۲	P<۰/۰۰۱
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۰/۴۰	۱۲۶/۲۲ <sup>e</sup> ± ۱/۴۷	۰/۸۱	۲۵۵/۶۰ <sup>e</sup> ± ۲/۰۳	P<۰/۰۰۱
لاکتوباسیلوس پلاننتاروم	۰/۴۱	۱۲۹/۳۷ <sup>d</sup> ± ۰/۶۴	۰/۸۳	۲۶۱/۹۱ <sup>d</sup> ± ۰/۷۸	P<۰/۰۰۱
سطح معنی‌داری (اختلاف بین ۵ تیمار مختلف)	-	P<۰/۰۰۱	-	P<۰/۰۰۱	-
اثرات اصلی و متقابل	آنالیز واریانس دوطرفه				
اثر تیمار لاکتوباسیل	F Value				
اثر مخمر	P Value				
اثر مخمر* اثر تیمار لاکتوباسیل	P Value				
	۵۵۷۳۸/۸۵				
	۲۳۵۳/۷۰				
	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.

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 پلاننتاروم ۲۶۱/۹۱ ± ۰/۷۸ بود. مقایسه اختلاف میانگین‌های 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 داده‌ها نشان می‌دهد وجود مخمر در کاهش مقدار اسید فیتیک در سطح ۵ درصد معنی‌دار 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 یافته‌های 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

نمونه حاوی لاکتوباسیلوس کازئی ۱۴۸/۳۱ ± ۱/۰۹، در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس فرمنتوم ۱۳۸/۸۴ ± ۱/۱۶ و در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس پلاننتاروم ۱۲۹/۳۷ ± ۰/۶۴ بود. مقایسه اختلاف میانگین‌های میزان اسید فیتیک در نمونه شاهد و نمونه‌های حاوی باکتری‌های اسیدلاکتیک، حاکی از معنی‌دار بودن اختلاف بین مقادیر اسید فیتیک آن‌ها در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد (P<۰/۰۰۱).

جدول ۱ نشان می‌دهد که نمونه‌های حاوی مخمر نانوائی و باکتری‌های اسیدلاکتیک در مقایسه با نمونه‌های حاوی باکتری‌های اسیدلاکتیک (فاقد مخمر)، تأثیر معنی‌داری بر کاهش میزان اسید فیتیک دارند. در نمونه‌های فاقد مخمر، استفاده از لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس ۲۲۷/۰۲، لاکتوباسیلوس پلاننتاروم ۲۲۲/۲۵، لاکتوباسیلوس فرمنتوم ۲۳۳/۴۲ و لاکتوباسیلوس کازئی ۲۱۱/۶۲ 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

(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 به عنوان 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 کاهش 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 آن 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

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 پلانتروم 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 می دهد (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 می باشد 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 می باشد (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 می شود (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 می شود در حالیکه در نان کامل حاصل تخمیر با مخمر کاهش حدود ۲۵ درصد می باشد. در صد 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، مهم ترین عامل در کاهش اسید فیتیک می باشد

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).

حق پرست و همکاران گزارش کردند استفاده از خمیر ترش برای عمل آوری خمیر بیشترین کاهش را در میزان اسید فیتیک ایجاد کرده و پس از آن مخمر این اثر را داشته است. در نان‌هایی که با خمیر ترش و مخمر تهیه شده‌اند میکروارگانیزم‌های 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 خمیر ترش 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 خمیر ترش حاصل از گونه‌های لاکتوباسیلوس پلانتراروم و لوکونوستوک مزنترووییدس 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 خمیر ترش، 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 از تخمیر با مخمر کاهش حدود ۲۵٪ می‌باشد. درصد حلالیت منیزیم و فسفر در نان حاصل از سبوس تخمیر شده با

باگت مقایسه شد. بر طبق یافته‌های این تحقیق، خمیر ترش ساخته شده از مخمر نانوائی و باکتری‌های اسیدلاکتیک در مقایسه با خمیر ترش 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 میانگین‌ها 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 فعالیت از فیتاز موجود در گندم است. در مورد استفاده از خمیر ترش در فرآیند تخمیر به دلیل اینکه خمیر ترش 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 در کاهش 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 ( $p < 0.05$ ). مخمرها به دلیل توانائی مصرف مواد قندی موجود در خمیر نان، اسیدهای مختلفی تولید کرده و pH خمیر را پایین می‌آورند و به خمیر حالت اسیدی می‌دهند و در نتیجه باعث هیدرولیز بیشتر فیتات می‌شوند (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

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 مخمرهای مرغوب و با کیفیت مناسب برای انجام آزمایش بود به همین دلیل ضرورت داشت که همه نمونه‌های موجود در بازار امتحان شود تا بهترین نمونه‌ها انتخاب گردد.

از آنجایی که کاهش میزان اسید فیتیک سبب بهبود در جذب زیستی کاتیون‌ها می‌گردد می‌توان 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 مغذی‌ها، بررسی خاصیت ضد میکروبی خمیر پروبیوتیکه، بررسی زمان ماندگاری نان‌های تهیه شده با خمیرهای پروبیوتیکه، تأثیر مصرف بی‌رویه کودهای فسفاته بر میزان اسید فیتیک غلات و حبوبات و سنجش اسید فیتیک با روشی دقیق‌تر 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.

خمیرترش بالاترین میزان و به ترتیب حدود ۹۰٪ و ۶۵٪ گزارش شده است (۱۰). بر طبق گزارشات، باکتری‌های 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 اندوزن فراهم می‌گردد (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 بخش‌های مهم فلورای نرمال دستگاه گوارش وجود دارند که به‌عنوان فاکتورهای مهمی در افزایش سیستم ایمنی مصرف‌کنندگان شناخته می‌شوند. اثرات تعدیل ایمنی لاکتوباسیلوس به دستگاه گوارش محدود نمی‌شود و تمام سیستم ایمنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که پروبیوتیک‌های لاکتوبا سیلی درمان سرطان روده را با استفاده از 5-Flouro Uracile تسهیل می‌کند. این تحقیقات نشان می‌دهد استفاده از پروبیوتیک‌ها در جلوگیری از بیماری‌های کشنده 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 کازئی، لاکتوباسیلوس فرمنتوم، لاکتوباسیلوس پلاتناروم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس) به خمیر نان باگت، سبب کاهش چشمگیر میزان اسید فیتیک شد؛ بنابراین می‌توان با به کار بردن همزمان مخمر نانوائی و گونه‌های مختلف باکتری‌های اسیدلاکتیک تولیدکننده آنزیم فیتاز و انجام عملیات تخمیر بر خمیر نان باگت، ارزش تغذیه‌ای نان را به‌وسیله کاهش میزان



J. Agric.Food.Chem; 2007. 55(8): 2993-2997.

14. Angelis M, Gallo G, Corbo MR, McSweeney PL, Faccia M, Giovine M, Gobetti 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, Messenger 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 phosphorus 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. Jamaljan 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.

## 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, Peighamardoust 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. 18<sup>th</sup> National Congress on Food Technology (Mashhad. IR. Iran) 2008.

8. AACC, Approved Methods of American Association of Cereal Chemists. *Am. Assoc. Cereal Chem.* 15<sup>th</sup> 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. Thompson 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.



## 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

### 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 groups of dough samples were provided (with yeast, without yeast). To each ones, bacterial suspension containing  $10^8$ cfu/g Lactobacillus strains was inoculated separately and held for 20 hours at 37 °C. After baking, the amount of phytic acid in each two groups 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  $138.84 \pm 1.16$  (*fermentum*),  $126.22 \pm 1.47$  (*acidophilus*),  $148.31 \pm 1.09$  (*casei*) and  $129.37 \pm 0.64$  (*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  $268.22 \pm 2.03$  (*fermentum*),  $255.60 \pm 2.03$  (*acidophilus*),  $274.53 \pm 0.62$  (*casei*) and  $261.91 \pm 0.78$  (*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