

## تأثیر باکتری‌های اسیدلاکتیک جدا شده از خمیر ترش بر اسید فیتیک

\* مینا زرین گل: کارشناس ارشد بیوشیمی، گروه بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران (فارس)، ایران (\*نویسنده مسئول). minazarringol3040@yahoo.com

محمد رضا فاضلی: دانشیار و متخصص میکروبیولوژی، گروه کنترل غذا و دارو، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه تهران، تهران، ایران. fazelimo@sina.tums.ac.ir  
نعمت اله رمزی: دانشیار و متخصص بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، فارس، ایران. doctorrazmi@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۴/۱/۱۷

تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۱۰

## چکیده

**زمینه و هدف:** اسید فیتیک ترکیبی فسفره است که به شکل نمک پتاسیم - منیزیم در لایه آلرون غلات وجود دارد. اسید فیتیک توانایی زیادی برای اتصال به املاح معدنی مهم نظیر آهن، کلسیم و روی دارد. این املاح ضروری را به صورت کمپلکس‌های غیرمحلول درآورده و از دسترس بدن دور می‌سازد. در این مطالعه، تأثیر چندین باکتری اسیدلاکتیک (کازئی، فرمتوم، پلانتروم و اسیدوفیلوس) جدا شده از خمیر ترش بر اسید فیتیک نان باگت بررسی شد. **روش کار:** در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی به هر نمونه خمیر، سوسپانسیون باکتریایی حاوی  $10^8$  (cfu/g) باکتری از هر سویه لاکتوباسیلوس به طور جداگانه تلقیح شد و به مدت ۲۰ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و بعد از پخت، میزان اسید فیتیک در هر نمونه ارزیابی و با نمونه شاهد (فاقد باکتری) مقایسه شد. مقدار اسید فیتیک با روش اسپکتروفتومتری تعیین شد (مقدار فسفر از روش مولیبدوانادات تعیین شد). **یافته‌ها:** به ترتیب در نمونه شاهد متوسط میزان اسید فیتیک ۱۸۶/۱۷ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم، در خمیر ترش ساخته شده با لاکتوباسیلوس فرمتوم ۱۳۸/۸۴، با لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس ۱۲۶/۲۲، با لاکتوباسیلوس کازئی ۱۴۸/۳۱ و با لاکتوباسیلوس پلانتروم ۱۲۹/۳۷ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بود. نتایج حاصل نشان داد که تأثیر خمیر ترش حاصل از لاکتوباسیلوس‌ها در کاهش مقدار اسید فیتیک در مقایسه با نمونه شاهد معنی‌دار است ( $p \leq 0/05$ ). **نتیجه‌گیری:** باکتری‌های اسیدلاکتیک خمیر ترش به طور چشمگیری میزان اسید فیتیک نان باگت را کاهش دادند. لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس باعث بیشترین کاهش و لاکتوباسیلوس کازئی باعث کمترین کاهش در مقدار اسید فیتیک شد.

**کلیدواژه‌ها:** باکتری‌های اسیدلاکتیک، اسید فیتیک، خمیر ترش، نان باگت

## مقدمه

شکل نمک پتاسیم - منیزیم در لایه‌های آلرون (پری کارپ) دانه گندم وجود دارد (۳). فرمول مولکولی آن  $C_6H_{18}O_{24}P_6$  و وزن مولکولی آن ۶۵۹/۸۶ می‌باشد و نمک‌های آن به نام فیتات شناخته می‌شوند و فیتات کلسیم/ منیزیم به نام فیتین مشهور است (۴ و ۵). با توجه به خاصیت مهارکنندگی که اسید فیتیک دارد کاتیون‌های فلزی مس، کلسیم، روی، آهن، منیزیم، کبالت و نیکل و حتی پروتئین‌های رژیم غذایی را جذب کرده و کمپلکس‌های بسیار نامحلولی ایجاد می‌کند که موجب کاهش قابلیت زیست‌فراهمی و کمبود آن‌ها در بدن می‌گردد (۲). اثرات سوء حضور مقادیر بالای اسید فیتیک در رژیم غذایی، به واسطه جذب عناصر مفیدی نظیر آهن و روی،

نان غذای اصلی و پایه بسیاری از مردم جهان است و روزانه قسمت اعظمی از انرژی، پروتئین، املاح و ویتامین‌های گروه ب مورد نیاز مردم را تأمین می‌کند (۱). در سال‌های اخیر مصرف نان‌های تهیه شده از آرد کامل یا آرد با درصد استخراج بالا توصیه می‌گردد، زیرا این آردها حاوی مقادیر زیادتری فیبر، ویتامین و املاح معدنی نسبت به آردهای سفید می‌باشند؛ اما علی‌رغم اثرات مفید تغذیه‌ای آرد کامل، میزان برخی مواد نامطلوب آن همچون اسید فیتیک بیشتر از آردهای سفید است (۲). اسید فیتیک یا میواینوزیتول ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، هگزاکیس دی هیدروژن فسفات ترکیبی فسفره است که عمدتاً به

آن‌ها 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، ۹۵/۱، ۹۱/۴ و ۹۱/۰۰ درصد گزارش کردند (۱۱).

هارلند و همکاران دریافتند 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 وراثت رخ داد (۱۱).

در تحقیقی پوتانن و همکاران تأثیر خمیرترش غلات را بر 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 (۱۲).

با توجه به حجم بسیار بالای مصرف نان در کشور ما و آثار ضد تغذیه‌ای یاد شده برای اسید فیتیک در رژیم غذایی شامل غلات (به‌خصوص نان)، 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 سه‌ظرفیتی 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. هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر گونه‌های مختلف باکتری‌های اسیدلاکتیک جدا شده از خمیرترش در تهیه نان باگت و تأثیر این گونه‌ها بر میزان اسید فیتیک است.

### روش کار

آرد مورد نیاز این تحقیق، آرد سبوس‌گیری شده (آرد ستاره) مخصوص پخت نان باگت به‌صورت ساده‌ای از یکی از نانوائی‌های شهر تهران خریداری شد. ویژگی‌های شیمیایی آرد مذکور شامل رطوبت،

شامل خستگی مفرط، ضعف سیستم ایمنی بدن، آسیب به سلول‌های مغزی، عفونت تنفسی در کودکان، افزایش مرگومیر مادران در حین زایمان، افزایش تولد نوزادان نارس و عدم جذب عناصر غذایی کم‌مصرف در غلات و حبوبات می‌باشد (۶).

استفاده از خمیرترش در صنایع نانوائی قدمتی دیرینه دارد. خمیرترش به‌وسیله فرآیند تخمیر خود به خودی در سیستم مخلوط آرد، آب و نمک حاصل می‌شود. در سال‌های اخیر استفاده از کشت‌های میکروبی مخصوص برای کنترل فرآیند تخمیر و بهبود کیفیت و افزایش ماندگاری نان در حال توسعه می‌باشد. باکتری‌های اسیدلاکتیک موجود در خمیرترش متابولیت‌های متنوعی، مانند اسیدهای آلی، اگزوپلی ساکاریدها و آنزیم‌ها را در جریان تخمیر خود به خودی تولید می‌کنند. این متابولیت‌ها تأثیر مثبتی بر بافت و به تأخیر انداختن بیاتی نان دارند. علاوه بر این تغییر آمینواسیدها و یا پپتیدها به ترکیبات مولد آروما تا حد زیادی در عطر و طعم فراورده نهائی تأثیر دارد (۷). میکروارگانیسم‌های گروه تخمیر علاوه بر مخمرها، باکتری‌های اسیدلاکتیک (*Lactobacillus-LAB*) هستند که به ترتیب مسئول ور آوردن و اسیدی کردن خمیر می‌باشند (۸). 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 (۹) و (۱۰). 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 (۱۱).

حق پرست و همکاران با بررسی ۴ رقم گندم، ماده عمل آورنده (مخمر ۲، خمیرترش ۲۰، جوش شیرین ۱/۵ درصد) در زمان‌های مختلف تخمیر (۴۵، ۵۵، ۷۵ و ۶۵ دقیقه به‌عنوان شاهد) را بر میزان اسید فیتیک مؤثر دانستند.

شمارش شده در هر چهار نوع لاکتوباسیلوس  $10^8$  cfu/g گزارش شد (۱۴).

نمونه‌های خمیرترش با استفاده از کشت‌های باکتریایی فعال لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس پلانتروم، لاکتوباسیلوس فرمنتوم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به‌طور جداگانه تهیه شد و سوش‌های باکتریایی به‌طور جداگانه با جمعیت تقریبی  $10^8$  cfu/g به خمیر تلقیح گردید. به‌منظور تلقیح سوش‌ها به خمیر نان باید سوسپانسیون باکتریایی تهیه گردد. برای تهیه آن، سوش‌های مورد نظر در محیط کشت MRS broth کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد تا سلول‌ها کاملاً فعال شدند. محیط MRS برات حاوی باکتری، در دور  $4000 \times g$  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 و آب) اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از طی این مراحل مقدار اسید فیتیک خمیر ارزیابی شد (۱۵).

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 (۱۶). در این تحقیق از دستگاه اسپکتروفتومتر (Cecil ساخت انگلیس) استفاده شد. روش تعیین pH خمیر، براساس روش (AACC. 1983, 02-52) انجام شد. بدین صورت که ۱۰ گرم نمونه با صد میلی‌لیتر آب جوشیده دارای دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۱۰ دقیقه توسط مگنت مخلوط گردید تا هموژن شد، پس از صاف کردن pH آن با pH متر (Metrohm سوئیس) اندازه‌گیری شد (۱۷).

در این تحقیق تأثیر چهار نوع باکتری اسیدلاکتیک (لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس پلانتروم، لاکتوباسیلوس فرمنتوم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس) بر pH و همچنین تأثیر باکتری‌های ذکر شده، تأثیر فاکتور زمان تخمیر در سه سطح ۲، ۱ و ۳ ساعت و تأثیر فاکتور

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 (۱۳). مخمر خشک فعال ساکارومیسس سرویزیه، از شرکت ایران مایه تهیه گردید. محیط‌های کشت (MRS broth و MRS agar) و محلول‌های شیمیایی مصرفی ساخت شرکت مرک آلمان بودند. در این تحقیق از کشت خالص چهار سویه لاکتوباسیلوس یعنی لاکتوباسیلوس پلانتروم، 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.

سوش‌ها به‌صورت آمپول‌های لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی ایران (PTCC) تهیه شد. محیط کشت MRS (Merck) broth آماده و اتوکلاو (ریحان طب ایران) گردید، سپس به‌منظور تکثیر سوش‌های مورد نظر 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 گرمخانه‌گذاری (ASTELL انگلیس) شد (۱۴).

جهت تهیه خمیرترش، سویه‌های جدا شده باکتری‌های اسیدلاکتیک مورد آزمایش استفاده شد. به‌منظور تکثیر سوش‌های مورد نظر، در شرایط استریل، این سویه‌ها به‌طور جداگانه به محیط کشت اختصاصی MRS broth منتقل شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد و رشد باکتری صورت گرفت. سپس از محیط MRS برات حاوی باکتری آماده شده به منظور شمارش جمعیت باکتریایی، رقت‌های  $10^{-8}$  تا  $10^{-1}$  تهیه شد و به روش پورپلیت بر روی محیط کشت اختصاصی MRS- agar کشت داده شد و در دمای ۳۷ 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

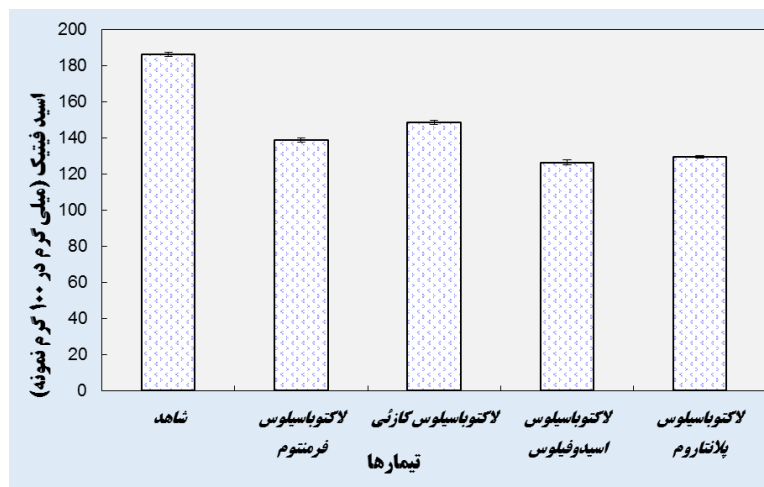
و آزمون تعقیبی LSD در سطح احتمال ۵ درصد استفاده گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های این پژوهش با استفاده از بسته نرم‌افزاری SPSS و رسم نمودارها با استفاده از برنامه MS Excel انجام گرفت.

### یافته‌ها

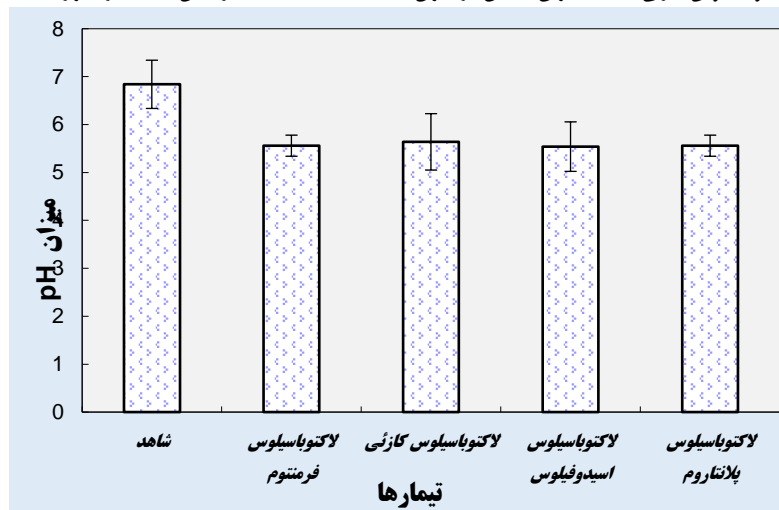
آرد مصرفی در این تحقیق، دارای ۱۲/۴ درصد رطوبت، ۰/۷۵۰ درصد خاکستر، ۹/۹ درصد پروتئین، ۳۱/۵ درصد گلوتن مرطوب و عدد

دمای تخمیر در چهار سطح ۲۵، ۳۵، ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد بر مقدار اسید فیتیک خمیرترش مورد ارزیابی قرار گرفت.

پژوهش حاضر جهت بررسی تأثیر باکتری‌های اسیدلاکتیک جدا شده از خمیرترش بر اسید فیتیک با ۵ تیمار (شاهد، لاکتوباسیلوس فرمنتوم، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس پلانتروم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس) و ۳ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. جهت مقایسه میانگین تیمارها از آنالیز واریانس یک‌طرفه



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 معنی‌داری کاهش دادند ( $P \leq 0.05$ ). لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس باعث بیشترین کاهش در میزان اسید فیتیک شد و لاکتوباسیلوس کازئی باعث کمترین کاهش در میزان اسید فیتیک شد. \*کلیه آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند.



شکل ۲- بررسی تأثیر باکتری‌های اسید لاکتیک مختلف بر pH خمیر نان باگت نمونه‌های حاوی باکتری‌های اسید لاکتیک در مقایسه با نمونه شاهد مقدار pH را به طور معنی‌داری کاهش دادند ( $P \leq 0.05$ ). بیشترین میزان کاهش pH مربوط به خمیر تهیه شده توسط لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بود و کاهش بیشتر pH سبب تجزیه قابل ملاحظه اسید فیتیک شد.

نتایج بیانگر آن است که مؤثرترین تیمار بر کاهش میزان اسید فیتیک، تیمار تخمیر خمیر توسط لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس است (۳۱/۵٪). در تمام تیمارها با افزایش زمان تخمیر میزان کاهش اسید فیتیک افزایش می‌یابد. این نتایج بر این واقعیت دلالت دارد که در اثر طولانی شدن زمان تخمیر فرصت بیشتری برای تجزیه اسید فیتیک توسط آنزیم فیتاز به وجود خواهد آمد. میانگین مقدار اسید فیتیک بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه که به مدت ۳ ساعت تخمیر شده است، در نمونه شاهد  $179/9 \pm 0/85$ ، در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس  $123/1 \pm 0/67$ ، در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس کازئی  $138/8 \pm 1/16$ ، در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس فرمنتوم  $135/7 \pm 0/54$  و در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس پلانتروم  $126/2 \pm 1/47$  بود. ضمناً با افزایش زمان تخمیر و فعالیت لاکتوباسیل ها، pH خمیر پایین‌تر آمده و به pH بهینه فعالیت فیتاز نزدیک می‌شود که این دلیل دیگری برای کاهش میزان اسید فیتیک با افزایش زمان می‌باشد. بین میزان اسید فیتیک در نمونه‌های حاوی باکتری‌های اسیدلاکتیک و نمونه شاهد در زمانهای مختلف تخمیر یعنی ۱، ۲ و ۳ ساعت زمان تخمیر اختلاف معنی‌دار وجود دارد ( $p \leq 0/01$ ).

جدول ۲، نشان می‌دهد که دمای تخمیر بر کاهش میزان اسید فیتیک خمیر مؤثر است. نتایج نشان می‌دهد که افزایش دما در کاهش میزان اسید فیتیک تأثیر دارد و بیشترین میزان کاهش در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد اتفاق افتاده است، ولی دمای بالا (۵۵ درجه سانتی‌گراد)، اثر کمتری در کاهش اسید فیتیک نسبت به دماهای پایین‌تر (۳۵، ۲۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد) داشته است که علت احتمالی آن کاهش فعالیت باکتری‌های اسیدلاکتیک و مخمر در دمای بالاست. در دمای  $45^{\circ}\text{C}$ ، لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس باعث بیشترین کاهش در مقدار اسید فیتیک شد (۲۸/۵۷٪) و لاکتوباسیلوس کازئی باعث کمترین کاهش در مقدار اسید فیتیک شد (۸/۵٪). میانگین مقدار اسید فیتیک بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه که در در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد تخمیر

فالینگ (فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز) ۳۱۰ ثانیه بود. شکل ۱ نشان می‌دهد که نمونه‌های حاوی باکتری‌های اسیدلاکتیک در مقایسه با نمونه شاهد، تأثیر معنی‌داری بر کاهش میزان اسید فیتیک دارد. استفاده از باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس سبب بیشترین کاهش در میزان اسید فیتیک شد (۳۲/۲٪) و لاکتوباسیلوس کازئی باعث کمترین کاهش در مقدار اسید فیتیک شد (۲۰/۳٪). میانگین مقدار اسید فیتیک در نمونه شاهد بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه  $186/2 \pm 1/21$ ، در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس  $126/2 \pm 1/47$ ، در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس کازئی  $148/3 \pm 1/09$ ، در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس فرمنتوم  $138/8 \pm 1/16$  و در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس پلانتروم  $129/4 \pm 0/64$  بود. بین میزان اسید فیتیک در نمونه شاهد و نمونه‌های حاوی باکتری‌های اسیدلاکتیک اختلاف معنی‌دار وجود دارد. ( $p \leq 0/01$ )

شکل ۲ بیانگر آن است که میزان pH در نمونه‌های حاوی سوش‌های باکتریایی در مقایسه با نمونه شاهد پایین‌تر است. هر چهار نوع کشت آغازگر مورد استفاده، باعث کاهش pH شدند. بیشترین میزان کاهش pH مربوط به خمیر تهیه شده توسط خمیر ترش لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس بود (۲۰/۳٪) و کمترین میزان کاهش pH مربوط به خمیر تهیه شده توسط خمیر ترش لاکتوباسیلوس کازئی بود (۱۷/۵٪). میانگین مقدار pH در نمونه شاهد  $6/8 \pm 0/74$ ، در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس  $5/5 \pm 0/91$ ، در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس کازئی  $5/6 \pm 0/81$ ، در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس فرمنتوم  $5/6 \pm 0/22$  و در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس پلانتروم  $5/6 \pm 0/20$  بود؛ بنابراین کاهش بیشتر pH توسط تخمیر باکتری‌های اسیدلاکتیک سبب تجزیه قابل ملاحظه اسید فیتیک شد. بین میزان pH در نمونه‌های حاوی سوش‌های باکتریایی و نمونه شاهد اختلاف معنی‌دار وجود دارد ( $p \leq 0/05$ ).

جدول ۱، بیانگر آن است که مدت زمان تخمیر بر کاهش میزان اسید فیتیک خمیر مؤثر است.

جدول ۱- بررسی تأثیر مدت زمان تخمیر بر میزان اسید فیتیک خمیر نان باگت

زمان تخمیر نمونه خمیر تیمار شده شاهد	۱ ساعت		۲ ساعت		۳ ساعت		سطح معنی داری (تأثیر دمایی تخمیر بر هر تیمار)
	جذب	اسید فیتیک (انحراف معیار ± میانگین)	جذب	اسید فیتیک (انحراف معیار ± میانگین)	جذب	اسید فیتیک (انحراف معیار ± میانگین)	
	۰/۶۸	۲۱۴/۵۷ <sup>a</sup> ± (۰/۶۲)	۰/۵۹	۱۸۶/۱۷ <sup>b</sup> ± (۱/۲۱)	۰/۵۷	۱۷۹/۸۶ <sup>c</sup> ± (۰/۸۵)	**
لاکتوباسیلوس فرمنتوم	۰/۶۰	۱۸۹/۳۳ <sup>a</sup> ± (۰/۹۳)	۰/۴۴	۱۳۸/۸۴ <sup>b</sup> ± (۱/۱۶)	۰/۴۳	۱۳۵/۶۸ <sup>c</sup> ± (۰/۵۴)	**
لاکتوباسیلوس کارژی	۰/۶۲	۱۹۵/۶۴ <sup>a</sup> ± (۱/۰۸)	۰/۴۷	۱۴۸/۳۱ <sup>b</sup> ± (۱/۰۹)	۰/۴۴	۱۳۸/۸۴ <sup>c</sup> ± (۱/۱۶)	**
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۰/۵۳	۱۶۷/۲۴ <sup>a</sup> ± (۲/۰۹)	۰/۴۰	۱۲۶/۲۲ <sup>b</sup> ± (۱/۴۷)	۰/۳۹	۱۲۳/۰۶ <sup>b</sup> ± (۰/۶۷)	**
لاکتوباسیلوس پلانتاروم	۰/۵۷	۱۷۹/۸۶ <sup>a</sup> ± (۰/۸۵)	۰/۴۱	۱۲۹/۳۷ <sup>b</sup> ± (۰/۶۴)	۰/۴۰	۱۲۶/۲۲ <sup>b</sup> ± (۱/۴۷)	**
سطح معنی داری (اختلاف تیمارها در دمایی ثابت)	-	**	-	**	-	**	-

\*\* اختلاف در سطح ۱ درصد معنی دار است ( $P \leq 0.01$ ).

میانگین هایی که در هر ردیف با حروف نامتشابه انگلیسی نشان داده شده است، با یکدیگر اختلاف معنی دار ( $P \leq 0.01$ ) دارند ( $P = 0.001$ ).  
بین میانگین هر تیمار در دماهای مختلف (میانگین ها در هر ستون) اختلاف معنی دار ( $P \leq 0.01$ ) وجود دارد ( $P = 0.001$ ).

جدول ۲- بررسی تأثیر دمایی تخمیر بر میزان اسید فیتیک خمیر نان باگت

دمای تخمیر نمونه خمیر تیمار شده شاهد	۲۵ درجه سانتیگراد		۳۵ درجه سانتیگراد		۴۵ درجه سانتیگراد		۵۵ درجه سانتیگراد		سطح معنی داری (تأثیر دمایی تخمیر بر هر تیمار)
	جذب	اسید فیتیک (انحراف معیار ± میانگین)	جذب	اسید فیتیک (انحراف معیار ± میانگین)	جذب	اسید فیتیک (انحراف معیار ± میانگین)	جذب	اسید فیتیک (انحراف معیار ± میانگین)	
	۰/۵۹	۱۸۶/۱۷ <sup>a</sup> ± (۱/۲۱)	۰/۴۵	۱۴۲ <sup>a</sup> ± (۱/۳۱)	۰/۳۵	۱۱۰/۴۴ <sup>a</sup> ± (۰/۸۷)	۰/۷	۲۲۰ <sup>a</sup> ± (۱/۷۱)	**
لاکتوباسیلوس فرمنتوم	۰/۴۴	۱۳۸/۸۴ <sup>a</sup> ± (۱/۱۶)	۰/۳۵	۱۱۰/۴۴ <sup>a</sup> ± (۰/۸۷)	۰/۳۰	۹۴/۶۶ <sup>c</sup> ± (۰/۸۳)	۰/۶۱	۱۹۲/۴۸ <sup>c</sup> ± (۳/۴۵)	**
لاکتوباسیلوس کارژی	۰/۴۷	۱۴۸/۳۱ <sup>b</sup> ± (۱/۰۹)	۰/۳۹	۱۲۳/۰۶ <sup>b</sup> ± (۰/۶۷)	۰/۳۲	۱۰۰/۹۷ <sup>b</sup> ± (۱/۳۳)	۰/۶۳	۱۹۸/۸ <sup>b</sup> ± (۰/۰۸)	**
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۰/۴۰	۱۲۶/۲۲ <sup>b</sup> ± (۱/۴۷)	۰/۲۹	۹۱/۵۱ <sup>e</sup> ± (۰/۷۰)	۰/۲۵	۷۸/۸۸ <sup>d</sup> ± (۲/۴۱)	۰/۵۶	۱۷۶/۷۱ <sup>e</sup> ± (۱/۰۸)	**
لاکتوباسیلوس پلانتاروم	۰/۴۱	۱۲۹/۳۷ <sup>d</sup> ± (۰/۶۴)	۰/۳۳	۱۰۴/۱۳ <sup>d</sup> ± (۱/۲۲)	۰/۲۹	۹۱/۵۱ <sup>c</sup> ± (۱/۱۹)	۰/۵۸	۱۸۳/۰۲ <sup>d</sup> ± (۱/۰۱)	**
سطح معنی داری (اختلاف تیمارها در دمایی ثابت)	-	**	-	**	-	**	-	**	-

\*\* اختلاف در سطح ۱ درصد ( $P \leq 0.01$ ) معنی دار است ( $P = 0.001$ ).

میانگین هایی که در هر ستون با حروف نامتشابه انگلیسی نشان داده شده است، با یکدیگر اختلاف معنی دار ( $P \leq 0.01$ ) دارند ( $P = 0.001$ ).  
بین میانگین هر تیمار در دماهای مختلف (میانگین ها در هر ردیف) اختلاف معنی دار ( $P \leq 0.01$ ) وجود دارد ( $P = 0.001$ ).

اسیدلاکتیک، مقدار اسید فیتیک را کاهش داد. به نظر می رسد کاهش میزان اسید فیتیک در نان های تهیه شده در این تحقیق مربوط به اسیدیفیکاسیون خمیر و ایجاد شرایط مناسب جهت فعالیت فیتاز اندوزن، تولید فیتاز میکروبی و تشکیل کمپلکس های محلول از کمپلکس های نامحلول اسید فیتیک توسط اسیدهای تولیدی در حین تخمیر باشد (۱۸ و ۱۹). دیدار و همکاران گزارش کردند به کار بردن خمیر ترش 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 ۴۴/۱٪ کاهش را نشان می دهد (۱۸). در مقایسه تحقیق فوق با تحقیق حاضر، در تحقیق حاضر نیز مقدار اسید فیتیک کاهش یافته با این تفاوت که لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس باعث

شده است، در نمونه شاهد ۱۱۰/۴ ± ۰/۸۷، در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس ۷۸/۹ ± ۲/۴۱ در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس کارژی ۱۰۱/۰ ± ۱/۳۳ در نمونه حاوی فرمنتوم ۹۴/۷ ± ۰/۸۳ و در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم ۹۱/۵ ± ۱/۱۹ بود. بین میزان اسید فیتیک در نمونه های حاوی باکتری های اسیدلاکتیک و نمونه شاهد در دماهای مختلف تخمیر اختلاف معنی دار وجود دارد ( $p \leq 0.01$ ).

### بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه، تأثیر چهار گونه باکتری اسیدلاکتیک بر میزان اسید فیتیک نان باگت مورد بررسی قرار گرفت. بر طبق یافته های این تحقیق، خمیر ترش ساخته شده از باکتری های

اسید لاکتیک ( $\text{pH} = 5/5$ ) سبب تجزیه قابل ملاحظه اسید فیتیک می شود. علاوه بر این تأثیر فیتاز غلات قابل توجهتر از فیتاز فلور میکروبی خمیر ترش در طی زمان تخمیر آهسته خمیر ترش است و کاهش تدریجی  $\text{pH}$  برای کاهش قابل توجه فیتات در آرد کامل کافی است (۲۴). آنجلیس و همکاران نشان دادند تهیه نان توسط خمیر ترش دارای  $\text{pH}$  مناسب، سبب تجزیه فیتین به وسیله فیتاز گندم و فیتاز منابع میکروبی است (۲۰). خراسانچی و همکاران گزارش کردند باکتری لاکتوباسیلوس پلاننتاروم و روتری باعث کاهش سریع تر  $\text{pH}$  خمیر ترش در مقایسه با لاکتوباسیلوس روتری شدند؛ بنابراین زمان تخمیر برای کاهش  $\text{pH}$  به مقدار معین ( $\text{pH}=4/33$ ) در مورد لاکتوباسیلوس روتری افزایش یافت (۲۵).

در این تحقیق با افزایش مدت زمان تخمیر، متوسط میزان اسید فیتیک کاهش یافت این نتایج بر این واقعیت دلالت دارد که در اثر طولانی شدن زمان تخمیر، فرصت بیشتری برای تجزیه اسید فیتیک توسط آنزیم فیتاز به وجود خواهد آمد. ضمناً با افزایش زمان تخمیر،  $\text{pH}$  خمیر پایین تر آمده و به  $\text{pH}$  بهینه فعالیت فیتاز نزدیک می شود که این دلیل دیگری برای کاهش میزان اسید فیتیک با افزایش زمان می باشد (۳). لازم به ذکر است چنانچه مدت زمان تخمیر از حداکثر زمان ذکر شده بالاتر رود افزایش بازدارندگی فعالیت فیتاز به دلیل انباشتگی بیش از حد فسفر غیر آلی ناشی از فسفریلاسیون مجدد اسید فیتیک صورت گرفته و هیدرولیز اسید فیتیک کاهش پیدا می کند (۱۱). در مقایسه با تحقیق حاضر، میر شهیدی و همکاران گزارش کردند که میزان اسید فیتیک خمیر پس از ۱/۵ ساعت تخمیر نسبت به دو زمان بالاتر تخمیر (۲/۵ و ۳/۵ ساعت) بیشتر است. به طور کلی باتوجه به این که بین دو زمان تخمیر ۲/۵ و ۳/۵ ساعت اختلاف معنی داری وجود ندارد ( $P>0.05$ )، بنابراین به دلیل استفاده بهینه از زمان ۲/۵ ساعت تخمیر پیشنهاد می گردد (۱۱). جمالیان و همکاران گزارش کردند که با افزایش زمان تخمیر، میزان اسید فیتیک هر دو نان (سنگک و لواش ماشینی) کاهش یافته و اختلاف

کاهش بیشتر در مقدار اسید فیتیک شد. گزارش ها بیانگر آن است که تهیه نان توسط خمیر ترش سبب کاهش میزان اسید فیتیک می شود (۲۰). مطابق تحقیق لویز 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 می شود در حالی که در نان کامل حاصل تخمیر با مخمر کاهش حدود ۲۵ درصد می باشد. درصد حلالیت منیزیم و فسفر در نان حاصل از سبوس تخمیر شده با خمیر ترش بالاترین میزان و به ترتیب حدود ۹۰ درصد و ۶۵ درصد گزارش شده است (۲۱). پومرانز گزارش کرد از نان های تهیه شده از آرد سفید، آرد کامل و آرد چاودار نیز گویای این مطلب است که تخمیر، مهم ترین عامل در کاهش اسید فیتیک می باشد (۲۲).

در این تحقیق، باکتری های اسید لاکتیک مطالعه شده،  $\text{pH}$  خمیر را کاهش دادند (شکل ۲). کاهش  $\text{pH}$  توسط باکتری های اسید لاکتیک باعث تجزیه چشمگیر اسید فیتیک شد. دیدار و همکاران گزارش کردند که سوش های باکتریائی اثر معنی داری بر میزان  $\text{pH}$  خمیر داشت ( $\alpha=1\%$ ). لاکتوباسیلوس پلاننتاروم اثر بیشتری بر کاهش  $\text{pH}$  نشان داد. تجزیه داده ها بیانگر اثر معنی دار نوع سوش باکتریائی بر میزان  $\text{pH}$  خمیر حاصل است. در مقایسه با تحقیق فوق، در این بررسی نیز اثر سوش های باکتری بر کاهش  $\text{pH}$  تأیید می شود با این تفاوت که در پژوهش حاضر لاکتوباسیلوس / اسیدوفیلوس اثر بیشتری بر کاهش اسید فیتیک نشان داد (۱۸). گول و همکارانش و همچنین کاتینا، نیز نتایج مشابه گزارش کرده اند. بر اساس گزارش این محققان، به موازات افزایش دما و زمان تخمیر، اسیدیته قابل تیتراژ کردن خمیر ترش افزایش و  $\text{pH}$  آن کاهش می یابد. این شرایط در خصوص کشت های آغازگر لاکتوباسیلوس جور تخمیر نظیر لاکتوباسیلوس پلاننتاروم مشهود تر است (۲۳).

در این تحقیق نیز در مقایسه با تحقیقات فوق نتایج مشابهی حاصل شد. کاهش تدریجی  $\text{pH}$  توسط تخمیر باکتری های اسید لاکتیک یا افزودن

مشابهی حاصل شده است. امر توسط محققین مختلف اثبات شده است.

تحقیقات نشان داده است که به کار بردن درجه حرارت بالا (۵۰ درجه سانتی‌گراد) سبب کاهش میزان فعالیت فیتاز میزان  $5/7 \text{ FTU/g}$  به میزان  $3/3 \text{ FTU/g}$  و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به میزان  $1/9 \text{ FTU/g}$  در سبوس گندم می‌شود (۳۲). نتایج این تحقیق بیانگر آن است که افزودن خمیرترش حاوی باکتری‌های اسیدلاکتیک (لاکتوباسیلوس کازی، لاکتوباسیلوس فرمنتوم، لاکتوباسیلوس پلانتراروم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس) به خمیر نان باگت، سبب کاهش چشمگیر میزان اسید فیتیک شد؛ بنابراین می‌توان با به کار بردن گونه‌های مختلف باکتری‌های اسیدلاکتیک تولید کننده آنزیم فیتاز و انجام عملیات تخمیر بر خمیر نان باگت، ارزش تغذیه‌ای نان را به وسیله کاهش میزان اسید فیتیک بهبود بخشید. بیشترین کاهش اسید فیتیک مربوط به لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس بود. همچنین مقدار pH، مدت زمان تخمیر و دمای تخمیر نیز به طور معنی‌داری بر مقدار کاهش اسید فیتیک اثر داشتند. آنالیز داده‌ها نشان داد اثر باکتری‌های اسیدلاکتیک، وجود مخمر، دما و زمان بر میزان کاهش اسید فیتیک در سطح ۵ درصد معنی‌دار است ( $P < 0/05$ ). مزیت تحقیق حاضر در مقایسه با دیگر مطالعات، بررسی تعداد بیشتری باکتری اسیدلاکتیک (۴ نوع) از دو جنس هتروفرمنتاتیو و هوموفرمنتاتیو است.

محدودیت زمانی مانع بررسی اثر فاکتورهای بیشتری بر اسید فیتیک شد. هنگام تهیه نمونه‌ها و آزمایش خمیر و بررسی باکتری‌ها در مراحل مختلف، محدودیت و موانعی وجود نداشت اما مخمرهای مرغوب و با کیفیت مناسب برای انجام آزمایش در دسترس نبود. به همین دلیل ضرورت داشت که همه نمونه‌های موجود در بازار را امتحان کنیم تا بهترین نمونه‌ها انتخاب گردد. از آنجایی که کاهش میزان اسید فیتیک سبب بهبود در جذب زیستی کاتیون‌ها می‌گردد می‌توان با استفاده از سوش باکتریایی مناسب، این ماده را در نان کاهش داد. از طرفی برای حصول نتیجه بهتر،

در سطح ۵ درصد معنی‌دار است. مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که ۶ ساعت تخمیر بیشترین کاهش را در میزان اسید فیتیک هر دو نان ایجاد می‌کند و زمان‌های ۳،۴ و ۲ ساعت تخمیر به ترتیب کاهش کمتری در میزان اسید فیتیک نان به وجود می‌آورند (۲۶). گرچه پژوهش‌های به عمل آمده توسط سایر پژوهندگان نیز مؤید کاهش مقدار اسید فیتیک متناسب با افزایش زمان تخمیر می‌باشد. ولی در یک مورد و طی دو ساعت تخمیر، کاهش برابر ۷۷-۷۲ درصد در مقدار اسید فیتیک نان پرسبوس حاصل شده است (۲۷). در جایی دیگر افزایش زمان تخمیر تا ۸ ساعت باعث شده است که میزان اسید فیتیک تقریباً ۷۵ درصد کاهش یابد (۲۸). بر خلاف مطالعات فوق در تحقیق حاضر با افزایش مدت زمان تخمیر، میزان اسید فیتیک کاهش یافت.

در این مطالعه با افزایش دمای تخمیر تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد کاهش فیتات چشمگیر بود. ولی دمای بالا (۵۵ درجه سانتی‌گراد)، اثر کمتری در کاهش اسید فیتیک نسبت به دماهای پایین‌تر ۳۵، ۲۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد داشته است که علت احتمالی آن کاهش فعالیت باکتری‌های اسیدلاکتیک و مخمر در دمای بالاست. فیتاز گیاهان در عملیات حرارتی ۶۲-۴۲ درجه سانتی‌گراد تغییر چندانی نمی‌کند ولی دمای بالاتر مانند ۸۰-۷۰ درجه سانتی‌گراد سبب کاهش فعالیت و یا غیر فعال شدن کامل آن می‌شود (۲۹). به طور کلی، دمای بهینه برای آنزیم‌های تجزیه کننده ی فیتات از ۳۵ تا ۷۷ درجه سانتی‌گراد متغیر است، در حالی که دمای بهینه برای باکتری‌های فیتات شامل ۷۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (۳۰).

دیدار و همکاران گزارش کردند که دماهای بالای خیس‌اندیدن سبب کاهش کمتری در میزان اسید فیتیک در سبوس گندم می‌گردد، دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد اثر کمتری در کاهش میزان اسید فیتیک نسبت به دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد داشته است که علت احتمالی آن کاهش فعالیت فیتاز آندوژن در دماهای بالاست است (۳۱) که درمقایسه تحقیق فوق با تحقیق حاضر، نتایج

12. 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):171-8. Persian.

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

14. Aslam S, Iqbal J. Isolation of acidophilic lactic acid bacteria antagonistic to microbial Contaminants. *Pakistan J Zool* 2010; 42(5):567-73.

15. 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.

16. Thompson DB, Erdman JW. Phytic acid determination of soybeans. *J Food Science* 1983; 47:513-8.

17. AACC, American Association of Cereal Chemists Approved Methods. 1983; 1: Method No 2-52.

18. 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.

19. 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):2993-7.

20. 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 Microbiol* 2003; 87:259-70.

21. Lopez H.W, 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;48:2281-5.

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

23. Sadeghi A, Shahidi F, Mortazavi S.A. The effect of sourdough on the microbiological shelf life and sensory properties of barbari bread. *Journal of Agricultural Engineering Research* 2008; 3(9):153-70.

24. Leenhardt F, Levrat-Verny M.A, Chanliand E, Remesy Ch. 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.

25. Khorasanchi N, Peighambardoust SH, Hejazi

تحقیقات دیگری پیشنهاد می شود مانند بررسی in vivo در مورد تأثیر نان های پروبیوتیکه در درمان و پیشگیری از کم خونی های فقر آهن و کمبود ریز مغذی ها، بررسی خاصیت ضد میکروبی خمیر پروبیوتیکه، بررسی زمان ماندگاری نان های تهیه شده با خمیرهای پروبیوتیک، 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 اسپکترومتر که می تواند در ادامه این کار و به منظور تکمیل آن انجام گیرد.

## منابع

1. Rajabzadeh N. Bread Technology. 5<sup>th</sup> ed. Tehran: Tehran University publishing Institute; 2008. p. 376-89. Persian.

2. Hojjati M, Jahangiri AR, Najafi MA. Evaluation of phytic acid and zinc content in breads produced in Ahwaz. *JFST* 2014; 12(47):9-18. Persian.

3. Arshadi Nezhad Sh, Azizi MH, Hamidi Esfahani Z. Effect of different fermentation conditions on phytic acid content of Barbary dough. *IJFST* 2005; 2(12):1-11. Persian. 4. Mullaney EJ, Ullah A. Phytases: attributes, catalytic mechanisms and applications Idaho 2005; 17-8.

5. Vohra A, Satyanarayana T. Purification and characterization of a thermostable and acidstable phytase from *pichia anomala*. *World J Microbiol Biotechnol* 2003; 18:687-91.

6. Malakouti MJ. Towards improving the quality of consumed breads in Iran: A review. *JFST* 2011; 8(31):11-21.

7. Torrieri E, Pepe O, Ventorino V, Masi P, Cavella S. Effect of sourdough at different concentration on quality and shelf life of bread. *Lebenson Wiss Technol* 2014; 56: 508-16.

8. Bastetti G. Breads produced in Italy. Part 1: Sours, preferments and starters. *American Institute of Baking. Technical Bulletin* 2001;23:1-5.

9. Clarke CI, Arendt EK. A review of the application of sourdough technology to wheat breads. *Adv.Food Nutr.Res* 2005; 49:137-56.

10. 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; 16:104-12.

11. 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.

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):247-55. Persian.

26. 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.

27. Nayini N.R, Markakis P. Effect of fermentation time on inositol phosphates of bread. *J.Food Sci* 1983;48:262-3.

28. Harland BF, Harland J. Fermentative reduction of phytate in rye, white and whole wheat breads. *Cereal Chem* 1980; 57(3):226-9.

29. Pointillart A. Importance of phytate and cereal phytases in feeding of pigs. In: *Enzymes in Animal Nutrition* eds, C. Wenk and M. Boessinger, Schriftenreihe des Institut für Nutztierwissenschaften ETH- Zurich 1993; 192.

30. Roboy V, Molecules of Interest myo-Inositol-1, 2, 3, 4, 5, 6-hexakisphosphate. *Phytochemistry* 2003; 64:1033-43.

31. Didar Z, Seyedain Ardebili SM, Mizani M, Haddad Khodaparast MH, Ghaemi AR. The effect of different ways of drenching, Hydrothermal and fermentation in decreasing the amount of phytic acid in wheat bran. *Food Technology & Nutrition* 2008; 5(3):2-13.

32. Cavalcanti WB, Behnke KC. Effect of wheat bran phytase subjected to different conditioning temperatures on phosphorous utilization by Broiler chicks based on body weight and ash measurements. *Int J Poult* 2004; 3(3):215-9.

## Effect of 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](mailto:minazarringol3040@yahoo.com)

**Mohammad Reza Fazeli**, PhD. Associate Professor of Microbiology, Department of Food and Drug Control, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [fazelimo@sina.tums.ac.ir](mailto:fazelimo@sina.tums.ac.ir)

**Nematollah Razmi**, PhD. Associate Professor of Clinical Biochemistry, Department of Biochemistry, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Fars, Iran. [doctorrazmi@gmail.com](mailto:doctorrazmi@gmail.com)

### Abstract

**Background:** Phytic acid is phosphated compound that exists as potassium - magnesium salt in aleurone layer of cereals. Phytic acid has a strong ability to chelate many minerals, such as calcium, iron and zinc. It changes these essential minerals to insoluble complexes and inhibits minerals bioavailability. In this study, the effect of several lactic acid bacteria (*casei*, *fermentum*, *plantarum* and *acidophilus*) sourdough on phytic acid of baguette bread was investigated.

**Methods:** In this laboratory experimental study to each of the dough sample, bacterial suspension containing  $10^8$  (cfu/g) bacteria of each *Lactobacillus* strains, was inoculated separately and held for 20 hours at 37°C. after baking, the amount of phytic acid in each sample was evaluated and compared with the control sample (without bacterial suspension). Phytic acid content was determined by spectrophotometric method (the total phosphorus content was determined using the Molybdovanadate method).

**Results:** The mean of phytic acid content of the blank sample, was 186.17 mg per 100 g, and mean of phytic acid in sourdough lactic acid bacteria were 138.84 (*fermentum*), 126.22 (*acidophilus*), 148.31 (*casei*) and 129.37 (*plantarum*) mg per 100 g, respectively. The results showed that the effect of sourdough derived from lactobacilli in reducing the amount of phytic acid, in comparison with control sample, is significant ( $P \leq 0.05$ ).

**Conclusion:** Sourdough lactic acid bacteria significantly reduced levels of phytic acid of baguette bread. *L. acidophilus*, caused the highest decreasing in phytic acid and *L. casei*, the lowest.

**Keywords:** Lactic acid bacteria, Phytic acid, Sourdough, Baguette bread