مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی مدل سینتیکی تجزیه فیتیک اسید و افزایش میزان کلسیم و روی در کشت تنها و همزمان لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

مهران صیادی[1*]، الهه عابدی[2]، شهرزاد مالکی[3]، کیانا پورمحمدی[2]

۱- استادیار گروه بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران.

۲- دانشیارگروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فسا، فسا، ایران.

۳- استادیار گروه مهندسی عمران، دانشکده مهندسی، دانشگاه فسا، فسا، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰ /۰۹/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۱۹

کلمات کلیدی:

کشت همزمان سویه‌های لاکتیک اسید باکتری‌ها،

لاکتوباسیلوس پلانتاروم،

لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس،

سینتیک اسید فیتیک،

سینتیک املاح.

DOI: 10.52547/fsct.19.122.1

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.122.30.3

* مسئول مکاتبات:

M.sayadi@fums.ac.ir

چکیده

فیتیک اسید ترکیب ضد تغذیه ای موجود در سبوس و آرد کامل گندم می‌باشد. به منظور کاهش میزان آن از محیط خمیر توسط کشت تنها و همزمان دو سویه لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس با ٤ فرمولاسیون خمیر ترش (فرمول ۱ حاوی مخمر *Saccharomyces cerevisiae*، فرمول ۲ حاوی *Lactobacillus acidophilus*+ *Saccharomyces cerevisiae*)، فرمول ۳ حاوی *Lactobacillus plantarum*+ *Saccharomyces cerevisiae* و فرمول ٤ حاوی *Lactobacillus plantarum*+ *Lactobacillus acidophilus*+ *Saccharomyces cerevisiae*) استفاده شد و تخمیر در دماهای ۲۷، ۳۲ و ۳۷ °C و زمان های ۸، ۱٦ و ۲٤ ساعت انجام شد. میزان آنزیم فیتاز تولید شده، اسید فیتیک و املاح (کلسیم و روی) در دماهای متفاوت و بازه‌های زمانی مختلف اندازه‌گیری شد. مدل سینتیک درجه یک برای بررسی تجزیه اسید فیتیک و افزایش املاح کلسیم و روی در دماهای مختلف مورد استفاده قرار گرفت. داده ها دارای تطابق مناسبی با این مدل بودند. انرژی فعال‌سازی مرتبط نیز محاسبه شد. نتایج نشان داد که کشت همزمان *L. plantarum*+*L. acidophilus*+*S.cerevisiae* دارای بالاترین محتوای فیتاز تولیدی ۱٦۳ U/mL و بیشترین املاح کلسیم ۲۷/٤mg/100g و روی ۱/٦۹mg/100g (در دمای ۳۷ °C) بود. اگرچه بیشترین راندمان تولید فیتاز در ۸ ساعت اولیه تخمیر مشاهده شد اما روند رو به افزایش در محتوای عناصر روی و کلسیم تا زمان ۲٤ ساعت مشاهده شد. روند میزان فیتاز تولیدی به صورت زیر مشاهده شد: *L. plantarum*+ *L. acidophilus*+ *S.cerevisiae*> *L. plantarum*+ *S. cerevisiae*> *L. acidophilus*+ *S.cerevisiae*> *S. cerevisiae* کمترین محتوای فیتیک اسید پس از ۲٤ ساعت تخمیر در دمای ۳۷°C در خمیر ترش *L. plantarum*+ *L. acidophilus*+ *S.cerevisiae* مشاهده شد و میزان آن از ۲۰/۵ ± ۵٦۳/۸ mg/100 g در آرد کامل به ۱۱۰/۳ - ٤۳/۸ mg/100 g کاهش پیدا کرد. نتایج نشان داد که کشت همزمان دو باکتری همو و هتروفرمانتیتو می‌تواند به صورت مؤثری در افزایش فیتاز تولیدی و کاهش فیتیک اسید موثرتر از کشت تک باکتری همو یا هتروفرمانتیتو باشد.

۱- مقدمه

آرد کامل غلات فراورده‌های غنی از کربوهیدرات، پروتئین و املاح هستند که استفاده زیاد از آن‌ها به دلیل دارا بودن فاکتورهای ضد می‌تواند محدود شود. فیتیک اسید که عمدتاً در بخش سبوس تراکم یافته، مشکلات تغذیه‌ای متفاوتی را باعث می‌شوند که به برخی از آن‌ها اشاره می‌شود: ۱- اسید فیتیک در سیستم گوارش جانوران با املاح فلزی چند ظرفیتی مانند کلسیم، آهن، روی، مس، منگنز و منیزیم کمپلکس‌های فلزی نامحلول تشکیل داده و از قابلیت جذب آن‌ها می‌کاهدکه باعث ایجاد بیماری‌هایی نظیر کم خونی و پوکی استخوان می‌گردد[۱و ۲] ۲- فیتیک اسید از عملکرد آنزیم آمیلاز و پروتئاز جلوگیری نموده و میزان هضم پروتئین و نشاسته را کاهش می‌دهد [۱و ۲]، ۳- فیتات قادر است با پروتئین مواد غذایی کمپلکس تشکیل داده و باعث کاهش حلالیت آن‌ها گردد و قابلیت هضم پروتئین در نتیجه اتصال آن با پروتئین ناشی می‌شود [۱و ۲]، ٤- واکنش سه جانبه بین پروتئین، اسید فیتیک و چربی نیز گزارش شده است [۱و ۲]. در گندم اسید فیتیک به صورت یکنواخت توزیع نشده است و میزان آن در دانه کامل گندم ۳۲۰-۱۷۰ میلی گرم در صد گرم اسید فیتیک می‌باشد و در سبوس و جوانه به ترتیب ۱۲۰-۷۵ و ٦۰-۵۰ میلی گرم در صد گرم است [۳].

آنزیم فیتاز در غلات، مخمر و لاکتیک اسید باکتری‌ها موجود هستند [۳] و سبب هیدرولیز و جداشدن قسمت فسفات از فیتیک اسید گشته و آمادگی این ماده را برای جذب مواد معدنی از بین برده و اثرات بد تغذیه‌ای و بافتی را برطرف می‌سازد [٤]. فیتازهای میکروبی به طور فعال توسط بسیاری از قارچ‌ها و باکتری‌ها تولید می‌شوند[۳] و گزارشات متعددی از تأثیر فرایند تخمیر و نقش باکتری‌های اسید لاکتیک و همکاری آن با مخمرها بر کاهش مقدار اسید فیتیک در دسترس است. برخی از نتایج، نقش باکتری‌های اسید لاکتیک در کاهش مقدار فیتیک اسید را به فعالیت فیتازی باکتری و برخی دیگر به ایجاد محیط اسیدی مناسب برای فعالیت فیتازی آنزیم‌های مخمری مرتبط دانسته‌اند[۵]. بنابراین، تخمیر روش مناسبی برای کاهش اسید فیتیک است. فرایند تخمیر غلات تحت تأثیر عوامل متعددی نظیر ترکیب میکروبی آغازگر، قابلیت تخمیر سوبسترا و نیز شرایط تخمیر (دما، زمان، میزان آب در محیط و pH) قرار دارد [۵].

اگرچه تحقیقات متعددی در مورد تأثیر تخمیر توسط لاکتیک اسید باکتری‌ها با و بدون مخمر در کاهش فیتیک اسید گزارش شده است اما کشت همزمان دو نوع سویه متفاوت باکتری لاکتیک اسید به همراه مخمر بر راندمان تولید فیتاز، شکستن فیتیک اسید و افزایش حلالیت املاح در زمان‌ها و دماهای مختلف پروف خمیر بررسی نشده است. هدف از این تحقیق مقایسه میزان فیتاز تولید شده توسط کشت جداگانه و همزمان دو باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم و اسیدوفیلوس در محیط خمیر ترش می‌باشد. سپس میزان فیتیک اسید و فلزات Ca^{2+} و Zn^{2+} و سینتیک آن‌هادر دماها و زمان‌های مختلف پروف خمیر مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

۲- مواد و روش

۲-۱- تهیه آغازگر

میکروب‌های*L. plantarum* PTCC 1058، PTCC1643 *L. acidophillus* و *S. cerevisiae* PTCC 5052 به شکل آمپول‌های خشک شده در خلاء از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه شدند. برای تکثیر، مخمر *S. cerevisiae* PTCC 5052 به محیط کشت مایع YGC تلقیح و سپس تحت دمای ۲۵ °C برای مدت ۷۲ ساعت در داخل دستگاه شیکر انکوباتور (با نام تجاری پارس آزما، ساخت ایران) با سرعت ۱۳۰ rpm گرمخانه گذاری گردید. برای تکثیر باکتری *L. plantarum* و *L. acidophillus* از محیط کشت مایع MRS[1]استفاده گردید. سپس محیط کشت تلقیح شده در دمای ۳۷ °C به مدت ٤۸ ساعت در داخل دستگاه شیکر انکوباتور با سرعت ۱۳۰ rpm گرمخانه گذاری شد. منحنی جمعیت میکروبی و دانسیته جذب (OD) با استفاده از روش پورپلیت و جذب نور (اسپکتروفتومتر مدل Agilent Technologies, Cary 60)در طول موج ٦۲۰ نانومتر رسم گردید.

۲-۲- تهیه خمیر ترش

برای تهیه خمیر، ۷۵ گرم آرد و ۷۵ گرم آب با هم مخلوط گردید و سپس خمیر ترش به چهار فرمولاسیون تقسیم شد که شامل فرمول ۱- مخمر 4 log *S. cerevisiae*، فرمول ۲- 2 log *S. cerevisiae* +log *L. acidophilus*)، فرمول

1. MRS: De Man, Rogosa and Sharpe

۳- حاوی2 log *L. plantarum*+ *S. cerevisiae*2 logو 1log *L. plantarum*+ 1 log *L. acidophilus*+2 log *S.cerevisiae*) بودند. خمیرهای فرمول ٤ حاوی ترش در دماهای مختلف ۲۷، ۳۲ و ۳۷ °C و زمان‌های ۸، ۱٦ و ۲٤ ساعت انکوباسیون (دمای پروف خمیر) در آون Memmertساخت کشور آلمانقرار داده شد. نمونه برداری در زمان‌های مختلف انجام گردید.

۲-۳- اندازه‌گیری فیتاز

فیتاز در سوپرناتنت خمیر ترش به کمک روش Mohammadi - Kouchesfahani et al. (2019) اندازه‌گیری شد. نمونه خمیر (۵ گرم) با ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر همژنیزه گردید و سپس توسط سانتریفوژ g ۵۰۰۰، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ °C سانتریفوژ گردیدند. سپس ۵۰۰ µL از مایع فوقانی با ۲۵۰ µL بافر سدیم استات ۰/۲ M (pH=5.1) و 5 mM فیتات سدیم مخلوط شدند. مخلوط در دمای ٤۰ °C به مدت ٤۵ دقیقه انکوبه شدند. واکنش با اضافه کردن ۱ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید (۱۵٪) خاتمه یافت. سپس ۵۰۰µL مخلوط واکنش با ٤ میلی‌لیتر (۲:۱:۱) از استون، آمونیوم مولیبدات ۱۰ mM و سولفوریک اسید ۵N مخلوط گردید. جذب نمونه در طول موج ۳۵۵ nm اندازه‌گیری شد [٦].

۲-٤- اندازه‌گیری فیتیک اسید

برای محاسبه فیتیک اسید موجود در آرد کامل گندم و خمیر ترش در دما و زمان‌های مختلف پروف، از روش پاک فطرت و همکاران [۷] با کمی تغییر به شرح ذیل عمل گردید. ابتدا مقدار ۳۰ گرم نمونه تخمیرشده با ۳ برابر حجم آب مقطر شستشو شده و سپس در دستگاه آون مدلMemmert ساخت کشور آلماندر دمای ۷۰ °C برای مدت ۲٤ ساعت خشک گردید. ۲ گرم از نمونه‌های خمیرخشک شده با ٤۰ میلی‌لیتر محلول Na_2SO_4-HCl (0.4 M) (5%) مخلوط و روی دستگاه شیکر به مدت ۱۲۰ دقیقه هم زده شد. سپس ۲۰ میلی‌لیتر از فاز شفاف رویی مخلوط را برداشته و پس از فیلتراسیون با کاغذ صافی، با ۲۰ میلی‌لیتر از محلول (5%) Na_2SO_4-HCl (0.4 M)، ۲۰ میلی‌لیتر $FeCl_3$ (0.02 M) و ۲۰میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید (۲۰٪) برای مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب جوش حرارت داده شد. پس از سرد شدن سوسپانسیون، ۲۰ میلی‌لیتر از محلول شفاف بالایی جدا و پس از فیلتراسیون (به کمک کاغذ صافی)، فاز زیرین با آب مقطر به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر رسانیده شد. با افزودن حدود ۰/۷۵ گرم گلایکوکول pH محلول در حد ۲/۵ تنظیم گردید. سپس تا دمای ۸۵°C گرم و پس از ۵ دقیقه بلافاصله به کمک محلول EDTA (0.01 M) تا ظهور رنگ زرد روشن تیتر گردید. مقدار فیتیک اسید به کمک نسبت آهن به فسفر (٤:٦) محاسبه شد. برای بررسی دقت روش اندازه‌گیری، محلولی با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر گرم فیتیک اسید (تهیه شده از شرکت سیگما) آماده و طبق روش ذکر شده اندازه‌گیری گردید. محاسبات نشان داد که دقت اندازه‌گیری ۹۸/۵ ٪ می‌باشد.

۲-۵- اندازه‌گیری فلزات Zn^{2+} و Ca^{2+}

۵ گرم از نمونه خمیر در دمای ۵۲۵ °C خاکستر شدند و محتوای فلزات برحسب µg /g توسط دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی (model CE 2502; Cecil, Cambridge, UK) در طول موج ۲۱۳/۸ nm اندازه‌گیری شد [۸].

۲-٦- مدل‌سازی سینتیک

از مدل واکنش درجه یک برای بررسی تغییرات کلسیم، روی و فیتیک اسید بر حسب زمان استفاده شد[۹، ۱۰ و ۱۱].

$$\frac{dC}{dt} = -kC \qquad (۱)$$

که C (mg kg^{-1}) غلظت ماده، t (h) زمان، و k (h^{-1}) ثابت نرخ واکنش می‌باشد.

با انتگرال‌گیری از معادله (۱) بین $t = 0$ و t خواهیم داشت:

$$\ln\frac{C}{C_0} = -kt \qquad (۲)$$

$$C = C_0 e^{-kt} \qquad (۳)$$

که C_0، غلظت اولیه ماده، و C غلظت بعد از زمان t می‌باشد. تأثیر دما بر هر واکنش، توسط معادلهArrhenius توصیف می‌شود که وابستگی ثابت نرخ واکنش (k) به دما توسط انرژی فعال‌سازی ارزیابی می‌شود [۱۰ و ۱۱]:

$$k = A\exp(-\frac{E_a}{RT}) \qquad (٤)$$

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT} \qquad (۵)$$

که در آن A به اصطلاح "ضریب پیشنمایی" (گاهی اوقات ضریب فرکانس نامیده می‌شود)، E_a انرژی فعال‌سازی، وR وT به ترتیب ثابت گازها (۸/۳۱٤۵J $mole^{-1}$ K^{-1}) ودمای مطلق (K) می‌باشند.

۲-۷- طرح آماری

برای انجام آنالیزهای داده‌ها و بررسی اطلاعات بدست آمده از طرح کاملا تصادفی به کمک نرم افزار SPSS22 استفاده شد. به منظور تعیین اختلاف بین میانگین اعداد (حداقل سه تکرار برای هر از آزمون)، پس از آنالیز واریانس از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح $p<0.05$ استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مقایسه میزان فیتاز تولید شده در فرمولاسیون مختلف خمیر ترش

میزان فیتاز در فرمولاسیون مختلف خمیر ترش وابسته به نوع سویه، دما و زمان تخمیر بود. همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، بالاترین میزان فیتاز تولیدی در تمامی سویه‌ها در زمان ۸ < ۱۶ < ۲٤ ساعت تخمیر مشاهده شد. بیشترین میزان فیتاز تولیدی ۲/۸U/mL ±۱۰۱/٦ (*L. acidophilus*+ *S. cerevisiae*)، ۳/۷U/mL ±۱۳۱/۱ (*L. plantarum*+ *S. cerevisiae*) و ٤/۸ U/mL ±۱٦۳/۰ (*L. plantarum*+ *L. acidophilus*+*S. cerevisiae*) پس از ۸ ساعت در دمای ۳۷ °C مشاهده شد. با گذشت زمان به ۱٦ و ۲٤ ساعت و کاهش میزان pH و دور شدن از محدوده pH بهینه (۵/۵)، میزان فیتاز نیز کاهش پیدا کرد. میزان فیتاز تولیدی در کشت همزمان *L. plantarum* + *L. acidophilus* به صورت معناداری $p<0.05$ بالاتر از کشت *L. plantarum* و *L. acidophilus* به تنهایی، مشاهده شد. بیشترین تولید فیتاز در *L. plantarum* ،*L. acidophilus* و *L. acidophilus* + *L. plantarum* مربوط به دمای ۳۷ °C بود درحالیکه در مورد نمونه کنترل تخمیر یافته توسط مخمر، دمای ۲۷ °C دمای بهینه برای تولید فیتاز ٤٦/۳±۲/۱U/mL مشاهده گردید. در مطالعاتی که توسط [۱۲] انجام شد، میزان فیتاز تولیدی توسط گونه های مختلف لاکتیک اسید باکتری‌ها *Pediococcuspentosaceus*،*Weissellaviridescens*، *Lactobacillusbrevis*، *Pediococcusacidilactici* و *Lactobacillus parabuchneri* در حدود ۷۰۳/۱- ۱۱۵۳/U/mL گزارش دادند. همچنین Anastasio et al. (2010) گزارش داد که لاکتوباسیلوس پلانتاروم نسبت به دیگر لاکتیک اسید باکتری ها در pH۵/۵ دارای بالاترین میزان فیتاز تولیدی است [۱۳]. در مطالعه دیگری توسط Nuobariene و همکاران (۲۰۱۵)، میزان فعالیت U/mL ۱٤۰توسط *L. panis* در خمیر مشاهده کرد [۳].

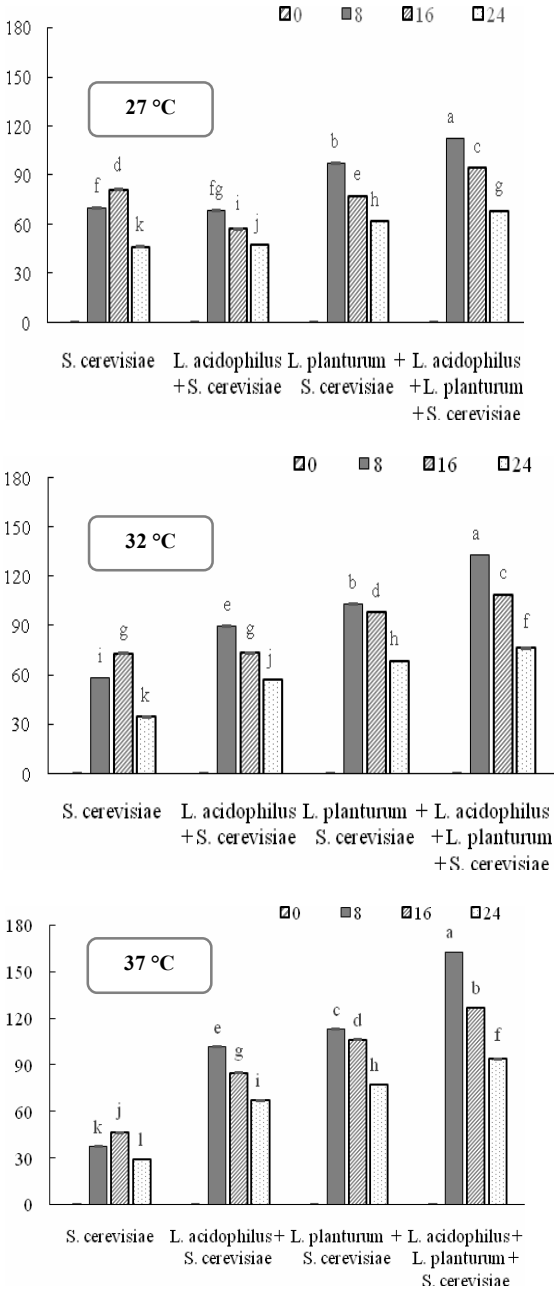
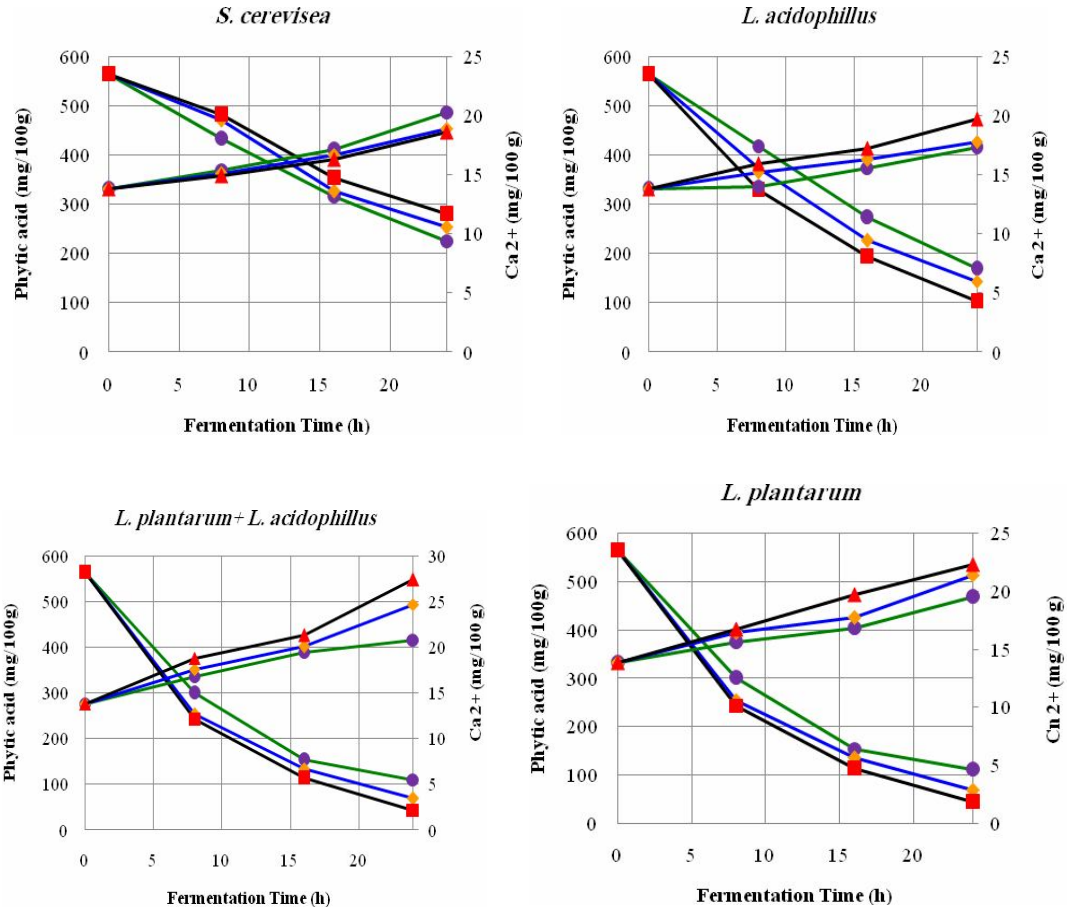


Fig 1 Phytase (U/mL) content in different sourdough formulations during various time and temperature of proofing.

۳-۲- مقایسه میزان فیتیک اسید، املاح کلسیم و روی در فرمولاسیون مختلف خمیر ترش

میزان فیتیک اسید اندازه‌گیری شده در آرد کامل گندم در حدود ۲۰/۵ mg/100 g ± ۵٦۳/۸ مشاهده شد. میزان فیتیک اسید در نمونه خمیر کنترل (تخمیر توسط مخمر تنها) در محدوده ۲۲۵/٤mg/100 g - ۲۷۹/۸ اندازه‌گیری شد که به میزان

۵۰-۵۹٪ کمتر از میزان فیتیک اسید نمونه آرد گندم بود. کاهش میزان فیتیک اسید در نمونه‌های مختلف به ترتیب (mg/100 g) *L. acidophilus + S. cerevisiae*(۱۰۲/۷ - ۱۶۹/۲g) < *L. plantarum + S. cerevisiae* (۹۳/٤ - ۱۲٦/۷mg/100 g) < *L. plantarum +L. acidophilus +S. cerevisiae* (٤۳/۸ - ۱۱۰/۳ mg/100 g) مشاهده شد. همانطور که مشاهده می‌شود، روند کاهش فیتیک اسید مطابق با میزان فیتاز در نمونه‌های مختلف خمیر می‌باشد. Karaman et al. (2018) و Najafi et al. (2012) گزارش دادند که میزان فیتیک اسید در نمونه خمیر تخمیر شده توسط مخمر (به میزان ۳۰٪) مشاهده شد، در حالیکه کاهش فیتیک اسید نمونه‌های تخمیر شده به وسیله لاکتیک اسید باکتری‌ها (۶۰٪) محاسبه گردید [۱۲ و ۱٤]. همانطور که در شکل مشاهده می‌شود با کاهش اسید فیتیک، روند رو به افزایشی در میزان یون‌های روی و کلسیم در نمونه تخمیر مشاهده شد. میزان کلسیم و روی از ۱۳/۸mg/100g و ۰/٤۳ به ۱۸/٦mg/100g و ۰/۷٤ (*S. cerevisiae*)، ۱۹/۷mg/100g و ۰/۹ (*L. acidophilus + S. cerevisiae*)، ۲۲/۳mg/100g و ۱/۲٦ (*L. plantarum + S. cerevisiae*) و mg/100g ۲۷/٤ و ۱/٦۹ (*L. plantarum + S. cerevisiae+ L. acidophilus*) در در زمان‌ها و دماهای مختلف پروف خمیر کاهش یافت. با کاهش فیتیک اسید همزمان با افزایش فعالیت فیتاز، میزان‌های Ca^{2+} و Zn^{2+} ۳٤٪ و ۷۲٪ (*S. cerevisiae*)، ٤۲٪ و ۱۰۹٪ (*L. acidophilus + S. cerevisiae*)، ٦۱٪ و ۱۹۳٪ (*L. plantarum + S. cerevisiae*) و ۹۸٪ و ۲۹۳٪ (*L. plantarum + S. cerevisiae+ L. acidophilus*) افزایش یافت.



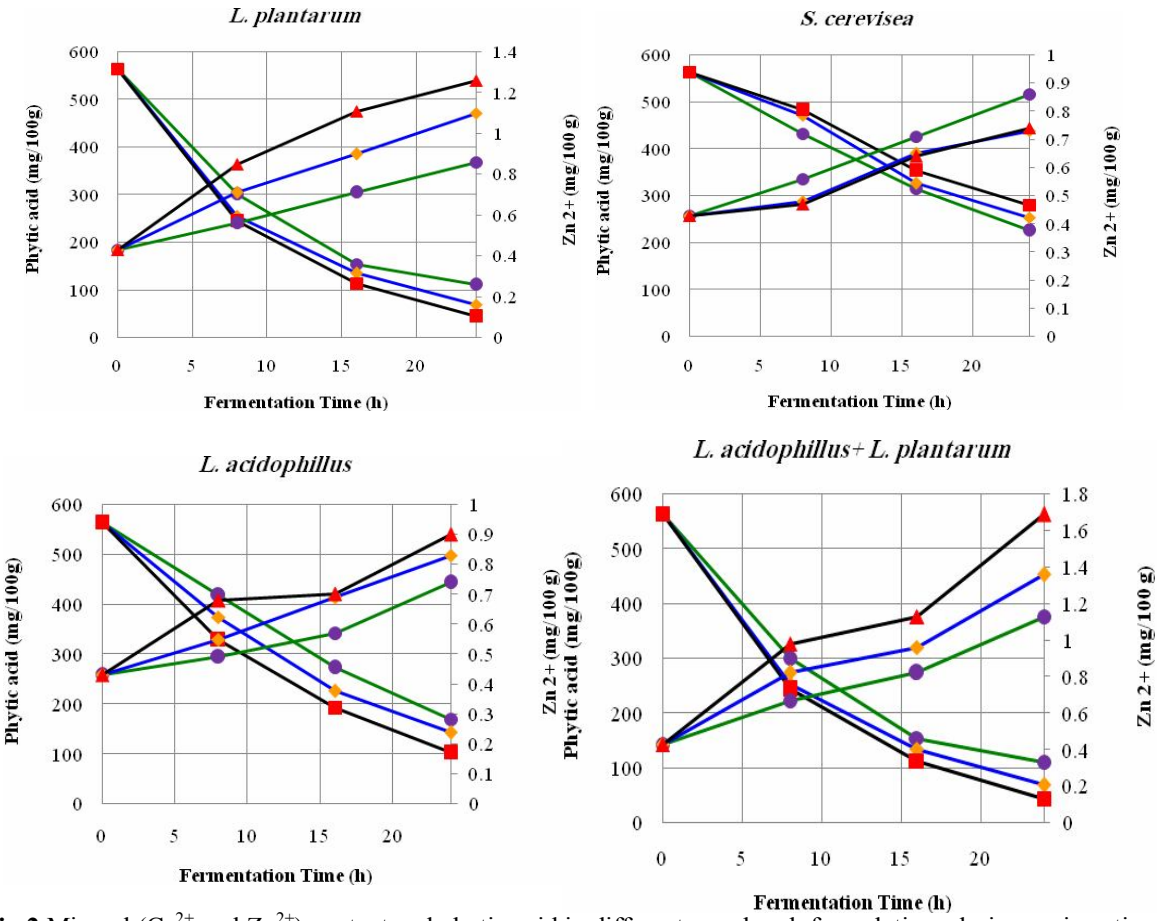


Fig 2 Mineral (Ca^{2+} and Zn^{2+}) content and phytic acid in different sourdough formulations during various time and temperature of proofing. Black line (37 °C), blue line (32 °C) and green line (27 °C).

نجفی و همکاران (۲۰۱۲) گزارش نمودند همکاری مناسبی میان لاکتوباسیلوس پلانتاریم و ساکارومایسس سرویزیه در کاهش مقدار اسید فیتیک خمیر نان وجود دارد که از کاربرد هر کدام به تنهایی بیشتر است، تفاوت در نتیجه به دست آمده می‌تواند به دلیل اختلاف در نوع سوبسترا و وجود آنزیم فیتاز گندمدر خمیر باشد. در تحقیق انجام شده توسط Lopez و همکاران (۲۰۰۱) و Karaman و همکاران (۲۰۰۱۸) به این نتیجه رسیدند که حضور لاکتیک اسید باکتری‌ها در محیط خمیر ترش، باعث افزایش موجودیت منیزیم، کلسیم، آهن، روی و فسفر گشت که این افزایش در روند تخمیر خمیر ترش با کاهش فیتیک اسید همراه بود [٤ و ١٢].

۳-۳- نتایج آزمایشگاهی و مدل‌سازی

نتایج آزمایشگاهی تغییرات مقدار کلسیم و روی بر حسب زمان (٢٤-٠ ساعت) برای شرایط مختلف دمایی (٣٧ °C-٢٧) با مدل سینتیک درجه یک مورد بررسی قرار گرفت که پارامترهای محاسبه شده، در جدول ۱ ارائه شده است. با توجه به جدول، سینتیک درجه یک دارای تطابق مناسبی با داده‌های آزمایشگاهی می‌باشد، بطوریکه در اکثر موارد، R^2 بزرگتر از ۰/۹ می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که ثابت نرخ واکنش برای *S. cerevisiae* با افزایش دما، کاهش یافت، در صورتیکه در ترکیب آن با *L. acidophilus* یا *L. Planturum* و یا *L. plantarum+L. acidophilus*، ثابت نرخ واکنش افزایش یافت.

همچنین مقدار E_a با توجه به معادله Arrheniusبرای شرایط مختلف محاسبه شد که در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهد که انرژی فعال‌سازی برای کلسیم و روی در حالت استفاده از *L. acidophilus* یا *L. plantarum* به همراه مخمر *S. cerevisiae* بزرگتر از انرژی فعال‌سازی برای *S. cerevisiae* به تنهایی می‌باشد. در رابطه با اسید فیتیک، انرژی فعال‌سازی ترکیب *L. planturum* و *S. cerevisiae* نسبت به *S. cerevisiae* به تنهایی کاهش یافته است ولی ترکیب *L. acidophilus* و *S. cerevisiae* و نیز هر سه مورد با هم باعث افزایش انرژی فعال‌سازی شده است.

Table 1 Kinetic parameters of Mineral (Ca^{2+} and Zn^{2+}) content and phytic acid in different sourdough formulations during various time and temperature of proofing

		Temperature (ºC)	first order kinetic		Arrhenius equation
			k (h^{-1})	R^2	E_a (J/mole)
S. cerevisiae	Calcium (Ca^{2+})	27	0.0151	0.983	19768.2
		32	0.0126	0.993	
		37	0.0117	0.979	
	Zinc (Zn^{2+})	27	0.0299	0.994	22446.14
		32	0.0225	0.958	
		37	0.0224	0.950	
	Phytic acid	27	0.0373	0.996	20799.13
		32	0.0328	0.981	
		37	0.0285	0.981	
L. acidophilus + *S. cerevisiae*	Calcium (Ca^{2+})	27	0.0084	0.894	43233.63
		32	0.0107	0.996	
		37	0.0147	0.988	
	Zinc (Zn^{2+})	27	0.0207	0.965	35186.51
		32	0.0283	0.995	
		37	0.0326	0.852	
	Phytic acid	27	0.0478	0.986	29034.98
		32	0.0567	0.998	
		37	0.0696	0.998	
L. plantarum + *S. cerevisiae*	Calcium (Ca^{2+})	27	0.0139	0.985	31564.93
		32	0.0177	0.977	
		37	0.0209	0.989	
	Zinc (Zn^{2+})	27	0.0308	0.987	40251.4
		32	0.0428	0.927	
		37	0.0518	0.835	
	Phytic acid	27	0.0644	0.991	16002.79
		32	0.0722	0.995	
		37	0.0792	0.984	
L. acidophilus+ *L. plantarum* + *S. cerevisiae*	Calcium (Ca^{2+})	27	0.0189	0.942	32873.56
		32	0.0245	0.986	
		37	0.0289	0.972	
	Zinc (Zn^{2+})	27	0.0414	0.972	30354.41
		32	0.0509	0.911	
		37	0.0613	0.877	
	Phytic acid	27	0.0725	0.978	28359.89
		32	0.0892	0.997	
		37	0.1046	0.998	

٤- نتیجه‌گیری کلی

در این مطالعه، خمیر ترش به عنوان منبعی برای فعال سازی فیتاز *L. acidophilus* و *L. plantarum* و *S. Cerevisiae* استفاده شد. در طی این تحقیق فعالیت فیتاز تولیدی *L. acidophilus*<*plantarum*L. *cerevisiae*<*S.* مشاهده شد. در این میان کشت همزمان دو سویه مختلف لاکتیک اسید باکتری ها، باعث بهبود در روند تولید فیتاز گردید، که به نوبه خود هیدرولیز بیشتر فیتیک اسید و افزایش موجودیت عناصر ضروری را در پی خواهد داشت. زمان و دمای تخمیر بر روند رشد میکروب خمیر ترش و تولید فیتاز تأثیر بسزایی داشت و بهترین دما و زمان برای تولید فیتاز دمای ۳۷ °C و زمان ۸ ساعت مشاهده شد. پیشرفت بیشتر در زمان با کاهش اسیدیته و نابوی مخمرها در پی خواهد داشت و راندمان فیتاز کاهش یافت. مدل سینتیک درجه یک برای بررسی روند کاهش اسید فیتیک و افزایش کلسیم و روی بر حسب زمان در دماهای مختلف بکار گرفته شد. نتایج نشان داد که داده ها دارای تطابق مناسبی با مدل بودند (R^2>0.9). در نمونه‌های شامل *S. cerevisiae* در ترکیب با *L.acidophilus* یا *L. planturum*، یا هر دو، ثابت نرخ واکنش با افزایش دما،

افزایش یافت در حالیکه در نمونه *S. cerevisiae* به تنهایی، کاهش ثابت نرخ واکنش با افزایش دما مشاهده شد. همچنین انرژی فعال‌سازی محاسبه شده برای کلسیم و روی در ترکیب *S. cerevisiae* با دوسویه *L.acidophilus* یا *L. plantarum* افزایش می یابد. درصورتیکه برای اسید فیتیک در نمونه ترکیب *L. planturum* و *S. cerevisiae*، کاهش در انرژی فعال‌سازی نسبت به نمونه اولیه مشاهده شد. هرچند در دو حالت دیگر، انرژی فعال‌سازی افزایش یافت.

۵- منابع

[1] Handa,V., Sharma, D., Kaur, A., Arya S.K. (2020). Biotechnological applications of microbial phytase and phytic acid in food and feed industries. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 25: 101600.

[2] Khan, A., Ghosh, K. (2013). Phytic acid - induced inhibition of digestive protease and α - amylase in three Indian major carps: An in vitro study. Journal of the World Aquaculture Society, 44: 853–859.

[3] Nuobariene, L., Cizeikiene, D., Gradzeviciute, E., Hansen, Å.S., Rasmussen, S.K., Juodeikiene, G., Vogensen, F.K. (2015). Phytase-active lactic acid bacteria from sourdoughs: Isolation and identification, LWT-Food Science and Technology, 63: 766–772.

[4] Lopez, H.W., Krespine, V., Guy, C., Messager, A., Demigne, C., Remesy, C. (2001). Prolonged fermentation of whole wheat sourdough reduces phytate level and increases soluble magnesium. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 49: 2657–2662.

[5] Shirai, K., Revah-Moiseev, S., García-Garibay, M., Marshall, V.M. (1994). Ability of some strains of lactic acid bacteria to degrade phytic acid. Letters in Applied Microbiology, 19: 366–369.

[6] Mohammadi - Kouchesfahani, M., Hamidi - Esfahani, Z., Azizi, M.H. (2019). Isolation and identification of lactic acid bacteria with phytase activity from sourdough. Food Science and Nutrition, 7: 3700–3708.

[7] Pakfetrat, S., Amiri, S., Radi, M., Abedi, E., Torri, L. (2019). Reduction of phytic acid, aflatoxins and other mycotoxins in wheat during germination. Journal of the Science of Food and Agricultuure, 99: 4695–4701.

[8] Vafaei, M., Naseri, M., Abedi, E., Babaei, S.S., Imani, A., Torri, L. (2020). Principal component analysis of time-related changes of some essential mineral contents of canned silver carp (Hypophthalmichthys molitrix) in different filling media. Biological Trace Element Research. 193.

[9] Van Boekel, M. (1996). Statistical aspects of kinetic modeling for food science problems. Journal of Food Science, 61: 477–486.

[10] Van Boekel, M.A.J.S. (2008). Kinetic modeling of food quality: a critical review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 7: 144–158.

[11] Van Boekel, M. (2021). Kinetics of heat-induced changes in foods: A workflow proposal. Journal of Food Engineeriing, 306: 110634.

[12] Karaman, K., Sagdic, O., Durak, M.Z. (2018). Use of phytase active yeasts and lactic acid bacteria isolated from sourdough in the production of whole wheat bread. LWT Food Science and Technology, 91: 557–567.

[13] Anastasio, M., Pepe, O., Cirillo, T., Palomba, S., Blaiotta, G., Villani, F. (2010). Selection and use of phytate - degrading LAB to improve cereal - based products by mineral solubilization during dough fermentation. Journal of. Food Science, 75: M28–M35.

[14] Najafi, M.A., Rezaei, K., Safari, M., Razavi, S.H. (2012). Use of sourdough to reduce phytic acid and improve zinc bioavailability of a traditional flat bread (sangak) from Iran. Food Science and Biotechnology, 21: 51–57.

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigation of kinetic model of phytic acid degradation and increase of calcium and zinc in single and co- culture of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus*

Sayadi, M. [1]*, Abedi, E. [2], Maleki, Sh. [3], Pourmohammadi, K.[2]

1. Assistant Professor of Food Safety and Hygiene, Faculty of Health, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran.
2. Associate Professor of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Fasa University, Fasa, Iran.
3. Assistant Professor of Civil Engineering, Faculty of Engineering, Fasa University, Fasa, Iran.

ABSTRACT

Phytic acid is an anti-nutritional compound found in bran and whole wheat flour. In order to reduce the amount of dough medium, single and co- culture of two strains of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* with 4 sourdough formulations (Formula 1 containing *S. cerevisiae* yeast, Formula 2 containing *L. acidophilus* + *S. cerevisiae*, Formula 3 containing *L. plantarum* + *S. cerevisiae* and Formula 4 containing *L. plantarum* + *L. acidophilus* + *S. cerevisiae*) were used and fermentation was performed at 27, 32 and 37 ° C at 8, 16 and 24 h. A first-class kinetic model was used to investigate the decomposition of phytic acid and the increase of calcium and zinc salts at different temperatures. The data were in good agreement with this model. The associated activation energy was also calculated. The amount of phytase, phytic acid and minerals (calcium and zinc) were measured at different temperatures and time intervals. First order model reaction was used to investigate the degradation of acid phytic and the increase of calcium and zinc at different temperatures. The data were in good agreement with this model. Moreover, the corresponding activation energies were calculated. The results showed that co- culture of *L. plantarum* + *L. acidophilus* + *S. cerevisiae* represented the highest content of phytase 163 U/mL and the highest calcium 27.4 mg/100g and zinc 1.69 mg/100g (at 37 °C). Although the highest efficiency of phytase production was observed in the first 8 hours of fermentation, however an increasing trend was observed in the content of zinc and calcium up to 24 hours of fermentation. The trend of phytase production was observed as follows: *L. plantarum* + *L. acidophilus* + *S. cerevisiae*>*L. plantarum* + *S. cerevisiae*>*L. acidophilus* + *S. cerevisiae*>*S. cerevisiae*. Moreover, the lowest content of phytic acid was observed after 24 hours of fermentation at 37 °C in sourdough of *L. plantarum* + *L. acidophilus* + *S. cerevisiae* and its amount reduced from 563.8 ± 20.5 mg/100 g in wholemeal flour to 43.8-110.3 mg/100 g. The results showed that co-culture fermentation was effective method to increase phytase which in turn decrease phytic acid.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2021/ 12/ 01
Accepted 2022/ 01/ 09

Keywords:

Co-culture lactic acid bacteria,
Lactobacillus plantarum,
Lactobacillus acidophilus,
Phytic acid kinetic,
Mineral kinetic

DOI: 10.52547/fsct.19.122.1

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.122.30.3

*Corresponding Author E-Mail:
M.sayadi@fums.ac.ir