مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال سیزدهم، شماره 1، بهار 1397، صفحات 62-53

ارزیابی تأثیر تخمیر خمیرترش‌های حاوی چهار سویه باکتری اسید لاکتیک بر میزان اسید فیتیک و اکریلامید نان حجیم گندم کامل

بهناز نصیری اصفهانی [1]، مهدی کدیور [2]، محمد شاهدی [2]، صبیحه سلیمانیان زاد [2و3]

1- نویسنده مسئول: دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.
پست الکترونیکی: b.nasiriesfahani@ag.iut.ac.ir

2- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

3- رئیس پژوهشکده زیست فناوری، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: 95/10/21 تاریخ پذیرش: 96/2/8

چکیده

سابقه و هدف: نان یکی از رایج‌ترین غذاهای مصرفی در سراسر دنیاست. علی رغم اثرات مفید تغذیه‌ای نان گندم کامل، غلظت ترکیب ضد-تغذیه‌ای اسیدفیتیک و نیز ماده سمی و احتمالاً سرطان‌زای اکریلامید در این نوع نان بیشتر از نان تهیه شده از آرد سفید است. کاربرد زیست فناوری تخمیر خمیرترش، یکی از راهکارهای بهبود کیفیت تکنولوژیکی، حسی و تغذیه ای نان است. هدف این مطالعه، بررسی توانایی چهار سویه باکتری اسید لاکتیک (LAB) در این نوع زیست‌فناوری برای کاهش اسیدفیتیک و اکریلامید و نیز بررسی رابطه بین غلظت اسیدفیتیک و مقدار اکریلامید در نان گندم کامل است.

مواد و روش‌ها: از چهار سویه باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه *بولگاریکوس*، *لاکتوباسیلوس ساکی* و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* به طور جداگانه خمیرترش تهیه شد. از خمیرترش های تهیه شده به همراه مخمر نانوایی برای تولید نان استفاده شد. میزان تجزیه اسیدفیتیک، کاهش اکریلامید و نیز خواص اسیدی نمونه‌های تولیدی اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: تخمیر خمیر به‌طور میانگین باعث 24% کاهش اسیدفیتیک در نان‌های متناظر شد. نتایج نشان‌داد که اسیدیته قابل تیتر و نوع اسید-آلی (اسیدلاکتیک) با کاهش اسیدفیتیک در نان‌ها همبستگی دارد (به ترتیب r= 0/738- و r= 0/578-). همچنین تخمیر لاکتیکی باعث کاهش 80% اکریلامید نسبت به تخمیر مخمری شد. طبق نتایج حاصله، بین غلظت اسیدفیتیک و میزان اکریلامید رابطه مثبت وجود دارد (r=0/678).

نتیجه‌گیری: تخمیر خمیرترشی در تهیه نان‌های ایرانی، فناوری سنتی فراموش شده‌ای است که در صورت انتخاب سویه های مناسب میکروبی می‌تواند جایگزین تخمیر مخمری و انواع فرآیندهای شیمیایی عمل‌آوری خمیر نان شده و نان گندم کامل را با کیفیت و ارزش تغذیه ای بالاتر به سفره‌ها بازگرداند.

واژگان کلیدی: اسیدفیتیک، اکریلامید، تخمیر خمیرترشی، باکتری‌های اسیدلاکتیک، نان گندم کامل

• مقدمه

اخیراً افزایش آگاهی عموم مردم از انتخاب‌های غذایی سالم‌تر، باعث تمایل به بازگشت غلات کامل به سفره‌های غذایی شده است (2، 1). از مهم‌ترین فرآورده‌های پرمصرفی که می‌توان از این موادغذایی با ارزش تهیه کرد، نان است. با وجود محاسن تغذیه‌ای، تولید فرآورده‌های غذایی با کیفیت از غلات کامل، به دلایل مختلف چالش‌برانگیز بوده و از این‌رو اقدامات تکنولوژیکی خاصی برای رفع نواقص موجود لازم است (3). یکی از این چالش‌ها خصوصیت ضدتغذیه‌ای فیتات (میواینوزیتول هگزا فسفات) در غلات کامل از جمله در آرد گندم کامل است که به واسطه ایجاد کمپلکس‌های نامحلول با املاح باعث کاهش جذب کاتیون‌های چند ظرفیتی در سیستم گوارش می‌شود (6-4)؛ از سوی دیگر طبق گزارش برخی محققین، نوع آرد می‌تواند به شدت بر میزان اکریلامید تولید شده در نان اثرگذار باشد و آرد گندم کامل به علت حضور مقادیر بیشتر فیبر رژیمی، خاکستر، قند احیا و آسپارژین موجود در سبوس نسبت به آرد سفید اکریلامید بیشتری تولید

می‌کند (7-9). اکریلامید درغذاها طی واکنش میلارد و از واکنش بین آسپارژین آزاد و قندهای احیای گلوکز و فروکتوز تولید می‌شود. این ترکیب مشکوک به سرطان‌زایی در انسان است و طیفی از اثرات سمی را از خود به جای می‌گذارد. از طرفی علی‌رغم اثرات مفید تغذیه‌ای نان گندم کامل، مقبولیت و پذیرش عمومی این محصول، به دلیل عطر و طعم نامطلوب، حجم کم، بافت زبر و بیات شدن سریعتر، کمتر از نان گندم تولید شده با آرد بدون سبوس است (11، 10، 5، 3، 1).

برای کاهش اسیدفیتیک و اکریلامید در غذاهای حرارت دیده، با تأکید بر حفظ خواص حسی غذا و حفظ روش‌های فرآیند حرارتی غذاها، روش‌ها و عوامل شیمیایی متعددی هستند که اثرگذاری آن‌ها مورد بررسی قرارگرفته است (12). یکی از این راهکارها در محصولات غله‌ای استفاده از تخمیرهای طولانی مدت است (15-13، 4). به‌علاوه جدیدترین مطالعات حاکی از آن است که می‌توان از تخمیر خمیرترشی با فلور میکروبی ویژه برای کاهش اکریلامید در نان استفاده نمود (7). مطالعات متعددی نیز نشان داده‌اند که فرآیند تخمیر خمیرترش قادر است بدون حذف هیچگونه ترکیب تغذیه‌ای مهمی، باعث بهبود بافت و عطر و طعم نان‌ها شود (11). بنابراین استفاده از تخمیر خمیرترشی می‌تواند راهکار مناسب و جامعی برای تهیه نان با کیفیت تکنولوژیکی و تغذیه‌ای از گندم کامل باشد. در این میان نوع و میزان خمیرترش مورد استفاده، طبیعت و شدت اثر آن را تحت تأثیر قرارمی‌دهد. خمیرترش یک سیستم بیولوژیک پیچیده است که ویژگی‌های آن به خصوصیت‌های مختلفی از جمله ترکیب فلورمیکروبی آن بستگی دارد (13). با این توصیفات انتخاب سویه باکتریایی مناسب و شرایط تخمیر، به منظور حصول نتایج مورد نظر و نیز حفظ مشتری‌پسندی این محصولات هنوز جای کار دارد.

نوع نان تهیه شده در این پژوهش، نان حجیم انتخاب شد زیرا نان‌های حجیم در مقایسه با سایر نان‌ها به‌ویژه نان‌های مسطح ضایعات کم‌تری دارند. به علاوه نان حجیم به دلیل کیفیت بالای پخت، فرمولاسیون مناسب، تنوع محصول، انجام کامل تخمیر و ماندگاری مناسب از جایگاه غذایی مطلوب‌تری در صنعت نانوایی برخوردار است (16). با این وجود نان های حجیم از آردهای با درصد استحصال پایین تهیه می‌شوند به همین دلیل حجم ویژه بالا و مغز بسیار نرم و سفید رنگ دارند و از این رو تهیه نان حجیم از آرد کامل با چالش بیشتری روبرو خواهد بود. طبق نتایج اولیه در این مطالعه، انتخاب گندم مناسب برای تهیه نان حجیم مشتری‌پسند، ضروری است. بنابراین در ابتدای این تحقیق، پتانسیل 15 نمونه متفاوت گندم برای تولید آرد کامل جهت تهیه نان حجیم با ویژگی‌های ظاهری مطلوب مورد بررسی قرار گرفت. در ادامه، توانایی 4 سویه میکروبی جدید، در قالب خمیرترش، برای کاهش اسیدفیتیک و اکریلامید در نان گندم کامل مورد ارزیابی قرار گرفت و وجود همبستگی بین میزان اسیدفیتیک با اکریلامید تولیدی بررسی شد.

• مواد و روش‌ها

مواد: نمونه‌های گندم مورد مطالعه در این پژوهش (جدول 1) از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان تهیه شدند. سویه‌های میکروبی شامل *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه *بولگاریکوس* (IBRC-M 10730)، *لاکتوباسیلوس ساکی* زیرگونه ساکی (IBRC-M 10666) و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (IBRC-M 10754) از مرکزملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران، و سویه *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* زیرگونه پلانتاروم PTCC 1896 از کلکسیون میکروبی گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه صنعتی اصفهان تأمین شدند. مخمر خشک فعال *ساکارومایسز سرویزیه* از شرکت ایران ملاس فریمان، بهبوددهنده‌ی تجاری از نان گلها و محیط‌کشت MRS Broth و مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش نیز از شرکت سیگما و مرک آلمان تهیه شدند.

انتخاب رقم مناسب گندم: به منظور انتخاب گندم مناسب‌تر برای تهیه نان حجیم از آرد کامل، 15 نمونه متفاوت گندم مورد آزمون اندازه‌گیری درصد گلوتن مرطوب و اندیس گلوتن (به ترتیب طبق استاندارد AACC به شماره‌های 10-38 و 12-38) قرار گرفتند.

جدول 1. کمیت و کیفیت گلوتن ارقام مختلف گندم

رقم	گلوتن مرطوب (%)	اندیس گلوتن (%)
پیشتاز	26/0 ± 2/1 ^{c}	100 ± 0/0 ^{a}
قزاقستان (توده)	24/7 ± 0/1 ^{cd}	99/6 ± 0/0 ^{a}
امید	28/9 ± 0/6 ^{b}	65/6 ± 7/3 ^{b}
سیوند	22/9 ± 0/1 ^{ef}	65/5 ± 7/0 ^{b}
خشکی	25/9 ± 0/1 ^{c}	64/7 ± 4/9 ^{b}
بم	22/1 ± 0/4 ^{f}	60/2 ± 1/1 ^{bc}
پارسی	29/3 ± 0/3 ^{b}	51/2 ± 4/8 ^{cd}
محلی (توده)	32/6 ± 0/6 ^{a}	40/3 ± 5/2 ^{de}
روشن	31/9 ± 0/5 ^{a}	37/4 ± 4/1 ^{ef}
بهار	27/8 ± 0/3 ^{b}	26/7 ± 7/8 ^{ef}
بک کراس	23/8 ± 1/1 ^{de}	36/1 ± 6/7 ^{ef}
الوند	23/9 ± 0/3 ^{de}	32/0 ± 0/5 ^{ef}
پیشگام	23/8 ± 0/1 ^{de}	30/9 ± 4/3 ^{ef}
سرداری	32/3 ± 0/8 ^{a}	29/0 ± 2/6 ^{ef}
سپاهان	31/3 ± 0/1 ^{a}	28/1 ± 11/4 ^{f}

در هر ستون حروف غیر یکسان، نشانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال5% می‌باشد

آزمون خصوصیات شیمیایی، فیزیکی و رئولـوژیکی آرد: پس از انتخـاب گنـدم مناسـب (رقـم پیشـتاز)، آرد بـا درصـد استحصال 100% با استفاده از آسیاب سنگی محلی تهیـه شـد. رطوبت، خاکستر کل، پـروتئین و درصـد گلـوتن مرطـوب بـه ترتیب مطابق با روش‌های اسـتاندارد AACC بـه شـماره‌هـای 19-44، 08-01، 12-46 و 10-38 اندازه‌گیـری شـدند (17). برای تعیین انـدازه ذرات آرد، دو نمونـه‌ی 100 گرمـی آرد بـه مدت 5 دقیقه غربال گردیـد (18). خـواص رئولـوژیکی آرد بـه وسیله‌ی دستگاه فـارینوگراف مطـابق بـا روش اسـتاندارد ICC شماره 115/1 اندازه‌گیـری شـد. ایـن ویژگـی‌هـا در جـدول 2 مشاهده می‌شود.

جدول 2. خصوصیات آرد کامل گندم پیشتاز مورد استفاده در این پژوهش

ویژگی های آرد		مقادیر (%، برمبنای وزن خشک آرد)
خواص شیمیایی آرد		
	رطوبت	10/4 ± 0/2
	خاکستر	1/6 ± 0/0
	پروتئین	17/1 ± 0/3
	گلوتن مرطوب	26/0 ± 2/1
	اسید فیتیک (mg/g)	23/25 ± 0/17
خواص فارینوگرافی آرد		
	جذب آب	64/4
	زمان گسترش خمیر (min)	3/4
	زمان پایداری خمیر (min)	2/6
	درجه ی نرم شدن خمیر(B.U)	145
	عدد کیفی فارینوگراف (والوریمتری)	42
اندازه ذرات آرد (µm)		
	475<	1/04 ± 0/06
	475-180	26/08 ± 0/40
	180-125	26/05 ± 1/46
	125-106	6/00 ± 0/56
	106>	39/85 ± 2/22

فرآوری خمیرترش: ابتدا سویه‌های باکتریایی، به نسبت 10% حجمی در محیط کشت MRS broth اسـتریل، دو بـار متـوالی کشت داده شدند. زیسـت‌تـوده تولیـدی توسـط سـانتریفوژ بـا 10000 g در $4^{\circ}C$ به مدت 10 دقیقه از محیط کشت جدا شد. پلت حاصله یکبار هم با آب مقطر استریل شستشو داده شده و با 10000 g در $4^{\circ}C$ به مدت 5 دقیقه از آب جدا شـد. سـپس 10^7 واحد تشکیل دهنده پرگنه (cfu) از این سلول‌هـای تـازه، به ازای تولید هر گرم خمیرترش، با مقادیر یکسان از آب و آرد گندم کامل مخلوط شد (19). هر نمونه خمیرترش در شـرایط بهینه رشد سویه LAB به‌کار رفتـه در تهیـه آن بـه مـدت 18 ساعت گرمخانه‌گذاری شد. برای هر سویه LAB، تخمیر با سـه تکرار انجام شد. خمیرترش تازه 18 ساعته بلافاصله برای تهیـه خمیرهای آزمایشی به‌کار رفت.

فرآیند تهیه نان خمیرترشی و مخمری: ترکیب میکروبی و فرمولاسیون خمیر نان‌های مورد آزمایش در جـدول 3 ارائـه - شده است. ترکیب خمیر، طبق مطالعات اولیه این پـژوهش در شرایط نانوایی برای تولید با کیفیت‌ترین نان حجـیم بـه‌عنـوان شرایط بهینه انتخـاب شـد. در خمیرهـای حـاوی خمیرتـرش، 30% خمیرتـــرش، بـــه نحـــوی کـــه 30 gr از هـــر 100 gr آرد خمیرها را تأمین کند، اضـافه شـد (20)؛ خمیـر مخمری با فرمولاسـیون مشـابه بـا سـایر خمیرهـا ولـی فاقـد خمیرترش تهیه شد. تخمیر ابتدایی این مخلوط بـه مـدت 30 دقیقه در خمیرگیر انجام شد. پس از تقسیم کردن توده خمیـر به قطعات 100 گرمی و شکل‌دهی (10 دقیقه)، تخمیر نهـایی در محفظه‌ی تخمیر با دمای $35^{\circ}C$ و رطوبـت نسـبی 95% بـه مدت 40 دقیقه صورت پذیرفت. از خمیرهـای تخمیـرشـده در پایان این مرحلـه، بـرای انجـام آزمـون‌هـای شـیمیایی خمیـر نمونه‌گیری شـد. خمیرهـای تخمیـرشـده بلافاصـله در دمـای $220^{\circ}C$ به مدت 15 دقیقه در فر برقی در شرایط کنترل شـده در آزمایشگاه پخته شدند. پس از خنک شدن نان‌هـا در دمـای اتاق، نمونه‌گیـری و انجمـاد نـان تـا زمـان انجـام آزمـون‌هـای شیمیایی زیر انجام شد.

جدول 3. ترکیب میکروبی و فرمولاسیون خمیر نان‌های مورد آزمایش

اجزای سازنده ی خمیر	خمیر تخمیرشده با مخمر (D_1)	خمیرهای تخمیرشده با خمیرترش و مخمر			
		لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و مخمر (D_2)	*لاکتوباسیلوس ساکی* و مخمر (D_3)	*لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و مخمر (D_4)	*لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و مخمر (D_5)
آرد گندم کامل (gr)	125/0	87/5	87/5	87/5	87/5
خمیرترش (gr)	0	75/0	75/0	75/0	75/0
مخمر (gr)	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5
نمک (gr)	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5
بهبود دهنده (gr)	0/375	0/375	0/375	0/375	0/375
آب (ml)	97/5	60/0	60/0	60/0	60/0
کل آب خمیر (ml)	97/5	97/5	97/5	97/5	97/5
کل آرد خمیر (gr)	125/0	125/0	125/0	125/0	125/0

آزمون اندازه گیری اسیدفیتیک: برای اندازه‌گیری اسید فیتیک در نمونه‌های آرد، خمیر و نان، از روش تیتراسیون کمپلکسومتری Garcia-Estepa و همکاران استفاده شد (21).

آزمون اندازه گیری pH و اسیدیته قابل تیتر: اسیدیته قابل تیتر (TTA) مقدار کل اسیدهای آلی تولید شده طی تخمیر را نشان می‌دهد. در این آزمایش مطابق روش Haggman و همکاران (22)، 10gr نمونه با 100 ml آب مقطر مخلوط شد. ابتدا pH این مخلوط به وسیله pH متر اندازه‌گیری شد. سپس این سوسپانسیون در حین مخلوط‌شدن توسط هیدروکسید سدیم 0/1 M تا رسیدن به pH = 8/5 تیتر شد. مقدار TTA به صورت میلی‌لیتر سود مصرفی گزارش شد.

آزمون اندازه گیری اسیدهای‌آلی: اندازه‌گیری اسیدهای آلی خمیرهای تخمیر شده در این پژوهش توسط سیستم کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مجهز به آشکارساز ماوراء بنفش/مرئی در طول موج 0/214 nm انجام شد (23).

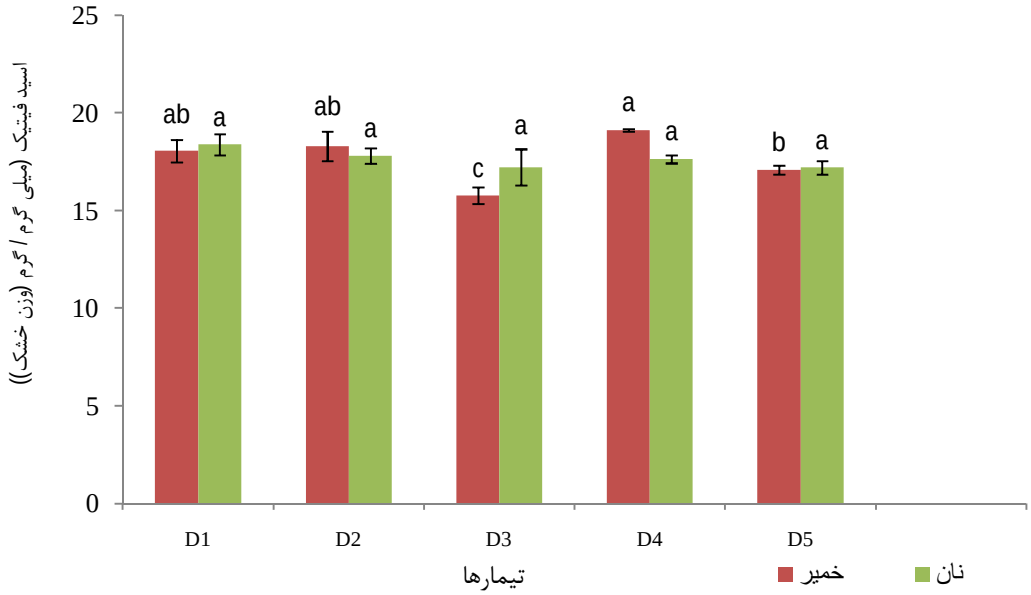
آزمون اندازه گیری اکریلامید: آنالیز اکریلامید به وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی با آشکارساز گیرنده الکترونی (GC-ECD)، مطابق روش Zhu و همکاران (24) انجام شد. این روش مشتمل بر استخراج اکریلامید با آب، فیلتراسیون، مشتق سازی با اسیدهیدروبرومیک و آب-برم اشباع، استخراج مایع-مایع با اتیل استات و در نهایت تغلیظ با نیتروژن است. برای تعیین غلظت اکریلامید نمونه‌ها، از روش اضافه‌کردن استاندارد اکریلامید خالص به نمونه‌ها و رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد.

روش تجزیه و تحلیل آماری نتایج: همه آنالیزهای شیمیایی حداقل در دو تکرار، آنالیز داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون کمترین تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال 5% انجام گرفت. آنالیز آماری داده‌ها و محاسبه ضریب همبستگی (r) بین داده‌ها به ترتیب توسط نرم‌افزار SAS و MINITAB انجام شد. داده‌ها دراین پژوهش به صورت انحراف معیار ± میانگین گزارش شده است.

• یافته‌ها

عوامل مؤثر بر انتخاب رقم مناسب گندم برای تهیه نان حجیم از آرد کامل: داده‌های حاصل از مقایسه میانگین درصد گلوتن مرطوب و اندیس گلوتن 15 نمونه گندم در جدول 1 نشان داده شده است. وجود سبوس در آرد کامل نه تنها باعث تیره شدن رنگ آرد و نهایتاً تیره شدن رنگ پوسته و مغز نان حجیم می‌شود، بلکه باعث کاهش شدید حجم نان نیز می‌شود. از این رو برای تهیه نان حجیم از آرد گندم کامل، گندم مورد نظر باید دارای رنگ روشن و گلوتن زیاد و قوی باشد. معمولاً گندم‌هایی که از نظر کمیت و کیفیت گلوتن قوی‌ترند گندم‌هایی هستند که رنگ متمایل به قرمز دارند لذا برای تولید نان حجیم از آرد گندم کامل، انتخاب رقم مناسب از اهمیت زیادی برخوردار است. بیشترین اندیس گلوتن که فاکتور مهم تعیین کننده قدرت گلوتن است در گندم های رقم پیشتاز و توده گندم وارداتی از قزاقستان دیده شد. رقم های سپاهان، سرداری، روشن و نمونه توده گندم محلی بیشترین میزان گلوتن مرطوب را داشتند ولی از جهت کیفیت گلوتن در پایین ترین مرتبه قرار داشتند. از نظر کمیت و کیفیت گلوتن، تفاوت معنی‌دار آماری ($p<0/05$) بین رقم گندم پیشتاز و توده گندم قزاقستان وجود نداشت ولی گندم قزاقستان از گندم‌های قرمز است که آرد کامل آن بسیار رنگ تیره و نامطلوبی برای تهیه‌ی نان حجیم دارد. بر طبق نتایج آزمایشات اولیه، در میان این 3 ویژگی، کیفیت گلوتن یعنی بالا بودن اندیس گلوتن برای نیل به این هدف اهمیت بیشتری دارد. مطابق داده‌های جدول 1 و نیز رنگ نمونه‌های گندم، رقم گندم پیشتاز انتخاب شد. نان گندم کامل تهیه‌شده از این رقم گندم، حجم و رنگ مطلوب مورد انتظار از نان حجیم را داشت.

بررسی اثر تخمیر و پخت بر میزان اسیدفیتیک: میزان اسیدفیتیک نمونه‌های مختلف خمیر و نان در شکل 1 نشان داده شده است. بیشترین میزان اسیدفیتیک در خمیرهای مخمری (D_1)، خمیر حاوی *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* (D_2) و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (D_4)، و کمترین میزان اسیدفیتیک در خمیر حاوی *لاکتوباسیلوس ساکی* (D_3) دیده شد. در مقایسه با آرد کامل گندم، مقدار اسیدفیتیک خمیرهای تخمیر شده (به مدت 80 دقیقه) به طور معنی‌داری کمتر شد. این عدد به طور میانگین 24% بود. بین میزان اسیدفیتیک نان‌های متناظر خمیرهای تخمیری، تفاوت معنی‌داری دیده نشد.



شکل 1. نمودار مقدار اسید فیتیک در خمیر و نان های تخمیر شده
در هر تیمار حروف غیر یکسان، نشانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال 5% می‌باشد.

به منظور بررسی تأثیر اسیدیته خمیر بر غلظت اسید فیتیک نان در این پژوهش، pH، میزان TTA و غلظت اسیدهای آلی نمونه‌های مختلف خمیر اندازه‌گیری شد (جدول 4). نتایج نشان داد که فرآیند تخمیر آرد کامل گندم در مجموع باعث کاهش pH و افزایش TTA می‌شود. با مقایسه TTA این خمیرها ملاحظه شد که میزان اسید قابل تیتر در همه تیمارهای تخمیر لاکتیکی بیشتر از تخمیر مخمری بوده، لذا معنی‌دار نبودن اختلاف pH خمیرهای D_1، D_2 و D_3 می‌تواند به خاصیت بافری آرد کامل نسبت داده شود و نشان دهد که خصوصیت pH نمی‌تواند به تنهایی وضعیت اسیدیته نمونه‌ها را نشان دهد. *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (D_5) که به تولید اسید زیاد معروف است، در اینجا نیز بیشترین مقدار اسید را تولید کرد و D_2، D_3 و D_4 از این جهت با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند. نوع اسید تولیدی این باکتری‌ها اهمیت دارد، در واقع میزان pH و TTA بیشتر تابع غلظت اسیدلاکتیک بوده‌است. از آنجا که *pKa* اسیدلاکتیک 1 واحد کمتر از *pKa* اسیداستیک است، اسیدلاکتیک 10برابر قوی تر از اسیداستیک است و pH کمتری ایجاد می‌کند. لذا چنانچه باکتری‌ای (D_2 و D_3) اسیدلاکتیک کمتری تولید کند، علی رغم TTA بیشتر، می‌تواند pH بیشتری نسبت به باکتری تولید کننده‌ی اسیدلاکتیک بیشتر (D_4) داشته باشد. مخمر ساکارومایسز سرویزیه اسیدلاکتیک تولید نمی‌کند لذا خمیر و نان D_1 دارای بیشترین pH و کمترین اسیدیته بودند. جدول 5 که همبستگی بین میزان pH، TTA و اسیدلاکتیک و اسید استیک خمیرها را نشان داده، درستی این تحلیل‌ها را اثبات کرده‌است. کاهش اسیدفیتیک خمیر و نهایتاً نان متناظر آن در حین تخمیر خمیر میسر شده‌است، لذا همبستگی بین خواص اسیدی خمیرها با میزان اسیدفیتیک نان نیز بررسی و در جدول 5 ارائه‌شده‌است. طبق داده‌های گزارش‌شده در این جدول، TTA و میزان اسید لاکتیک خمیر همبستگی زیادی با میزان اسیدفیتیک نان داشت ولی همبستگی pH و اسید-استیک با میزان اسیدفیتیک نان معنی‌دار نبود. علت این است که همان طور که در جدول 4 دیده می‌شود، pH خمیرها با هم تفاوت معنی‌دار نداشتند به‌علاوه، بر طبق داده‌های جدول 5، همبستگی اسیداستیک با pH و TTA خمیرها معنی‌دار نبود ولی همبستگی زیادی بین مقدار اسیدلاکتیک با روند کاهش pH و افزایش TTA خمیرها (به ترتیب r= -0/813 و r=0/805) وجود داشت.

بررسی میزان اکریلامید در نان و رابطه بین آن با میزان اسیدفیتیک: میزان اکریلامید نان‌های تخمیری این پژوهش در جدول 6 نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود بیشترین میزان اکریلامید در نان D_1 و سپس در D_2 دیده شد و D_3، D_4و D_5 دارای کمترین میزان اکریلامید و بدون تفاوت معنی‌دار با هم بودند. مطابق داده‌های جدول 5، غلظت اکریلامید نان با خواص اسیدی خمیرها همبستگی زیادی داشته است. همچنین بین غلظت اسیدفیتیک و میزان اکریلامید همبستگی مثبت وجود دارد.

جدول 4- خواص اسیدی خمیرهای تخمیر شده

تیمار	pH	TTA (ml 0.1N NaOH)	اسید لاکتیک (g/100g d.b)	اسید استیک (g/100g d.b)
D_1	5/8 ± 0/1 [a]	8/5 ± 1/3 [c]	0 [d]	0/048 ± 0/002 [a]
D_2	5/5 ± 0/3 [a]	12/4 ± 0/6 [b]	0/048 ± 0/000 [c]	0/025 ± 0/001 [b]
D_3	5/6 ± 0/1 [a]	13/0 ± 0/0 [ab]	0/048 ± 0/005 [c]	0/023 ± 0/002 [b]
D_4	5/1 ± 0/1 [b]	12/2 ± 0/0 [b]	0/080 ± 0/002 [b]	0/025 ± 0/000 [b]
D_5	5/1 ± 0/0 [b]	14/4 ± 0/8 [a]	0/165 ± 0/001 [a]	0/050 ± 0/000 [a]

در هر ستون حروف غیر یکسان، نشانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال 5%می باشد.

جدول5. همبستگی آماری بین میزان اسیدفیتیک و اکریلامید نمونه های نان با یکدیگر و با خواص اسیدی خمیر متناظر آنها

	pH خمیر	TTA خمیر	اکریلامید نان	اسید لاکتیک خمیر	اسید استیک خمیر
اسید فیتیک نان	0/491 0/150	-0/738 0/015	0/678 0/031	-0/578 0/082	0/184 0/611
pH خمیر		-0/695 0/026	0/727 0/017	-0/813 0/004	0/024 0/947
TTA خمیر			-0/874 0/001	0/805 0/005	-0/232 0/519
اکریلامید نان				-0/692 0/027	0/470 0/171

در هر ردیف عدد بالا، ضریب همبستگی (r) و عدد پایین، ارزش p را نشان می‌دهد.

جدول 6. مقادیر اکریلامید و درصد کاهش اسید فیتیک در خمیر و نان های تخمیر شده

تیمار	اکریلامید نان (ppb)	درصد کاهش اسیدفیتیک نسبت به آرد	
		خمیر	نان
D_1	3/60 ± 0/18 [a]	22/4	20/9
D_2	1/46 ± 0/21 [b]	21/3	23/4
D_3	0/47 ± 0/04 [c]	32/2	25/9
D_4	0/42 ± 0/15 [c]	17/8	24/2
D_5	0/50 ± 0/08 [c]	26/5	26/1

در هر ستون حروف غیر یکسان، نشانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال 5% می‌باشد.

• بحث

به‌طور کلی در غلات 2-1% وزن دانه را اسیدفیتیک تشکیل می‌دهد که این مقدار می‌تواند به 6-3% نیز برسد (25). میزان اسیدفیتیک آرد کامل مورد استفاده در این پژوهش 0/17 mg ± 23/25 به ازای هر گرم وزن خشک آرد (برابر با 2/33% وزن دانه) بود که با داده گزارش‌شده توسط Garcia-Estepa و همکاران (21) برای مقدار اسیدفیتیک آرد گندم کامل (0/90 mg/g ± 22/2) در تطابق کامل است.

اسیدفیتیک (میواینوزویتول هگزا فسفوریک اسید) را می توان در طی انبارمانی، تخمیر، جوانه‌زنی، فرآوری غذا و هضم در دستگاه گوارش انسان، به وسیله آنزیم فیتاز و یا به صورت شیمیایی به اینوزیتول فسفات های پایین تر، مثل اینوزیتول پنتا فسفات و حتی شاید به اینوزیتول منو فسفات هیدرولیز کرد. فقط فرم اینوزیتول هگزا و پنتا فسفات بر جذب املاح در دستگاه گوارشی اثر منفی دارند و سایر محصولات هیدرولیز شده اسیدفیتیک توانایی کمی برای باند شدن با املاح دارند یا

کمپلکس‌های تشکیل شده آن‌ها محلول‌تر هستند. در اندازه‌گیری اسیدفیتیک با روش تیتراسیون کمپلکسومتری، غلظت اسیدفیتیک از طریق اندازه‌گیری غلظت آهن باقیمانده پس از رسوب اسیدفیتیک محاسبه می‌شود، لذا با این روش می‌توان به توانایی کمپلکس دادن اسیدفیتیک در غذا نیز پی برد و مقدار اسیدفیتیک شلاته‌کننده بیش از حد گزارش نشود. اسیدفیتیک توانایی زیادی در شلاته‌کردن یون‌های فلزی چند-ظرفیتی، خصوصاً روی، کلسیم و آهن دارد لذا باعث ایجاد نمک‌های نامحلول با قابلیت جذب ضعیف املاح در دستگاه گوارش می‌شود. با این حال، اسیدفیتیک از طریق برقراری کمپلکس با آهن باعث کاهش تولید رادیکال‌های هیدروکسیل در روده شده و دارای اثر ضداکسایشی و در نهایت ضدسرطان زایی است (21). بنابراین شاید بتوان گفت حذف کامل اسید فیتیک از نان مطلوب نیست. در پژوهش حاضر، تخمیر آرد کامل گندم باعث 24% کاهش اسیدفیتیک در مقایسه با آرد کامل گندم شد. نتایج حاصل از این پژوهش در ارتباط با تأثیر تخمیر بر میزان اسیدفیتیک با نتایج Lopez و همکاران (26) همخوانی داشت. براساس نتایج تحقیق مذکور، تخمیر آرد کامل گندم با خمیرترش حاوی مخلوط باکتری‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* S18، *لوکونوستوک مزنتروییدس* S50 و نیز مخمر نانوایی بعد از 90 دقیقه و بعد از 5 ساعت تخمیر به ترتیب باعث کاهش حدود 30% و 60% اسیدفیتیک شد. تخمیر خمیر فقط با مخمر نانوایی باعث 10 تا 30% کاهش اسیدفیتیک بعد از 90 دقیقه و بعد از 5 ساعت شد. این نتایج نشان داد که استفاده از تخمیر خمیرترشی باعث کاهش بیشتر اسیدفیتیک در مقایسه با تخمیر مخمری می‌شود و طولانی شدن زمان تخمیر در این کاهش بسیار مؤثر است. همچنین همسو با یافته‌های حاضر، فرآیند پخت، تفاوت معنی‌داری در میزان اسیدفیتیک نان با خمیر متناظر آن ایجاد نکرد. نتایج مطالعه دیدار و همکاران (27) برای کاهش اسیدفیتیک نان تخمیری با 30% خمیرترش حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* یا *لاکتوباسیلوس روترای* و مخمر نانوایی، حداکثر 45% کاهش را نشان داد. نجفی و همکاران (28) توانستند با استفاده از 30% خمیرترش حاوی هر یک از باکتری‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لوکونوستوک مزنتروییدس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در ترکیب با مخمر نانوایی، در طی 90 دقیقه تخمیر، اسیدفیتیک نان را بین 70 تا 80% کاهش دهند. در این دو مطالعه اخیر، سویه‌های مختلف *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بیشترین کاهش اسیدفیتیک را باعث شدند که همسو با نتایج مطالعه حاضر بود. تفاوت در مدت زمان تخمیر، نوع سویه باکتریایی و درصد خمیرترش مورد استفاده را می توان به عنوان عوامل تفاوت در میزان کاهش اسیدفیتیک در طی تخمیر درنظر گرفت. خمیرترش از طریق تولید اسید و تأمین pH بهینه فعالیت فیتازهای آرد و نیز تولید آنزیم فیتاز توسط باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمر خود، اسیدفیتیک را هیدرولیز می‌کند (29، 11، 10). اسیدهای‌آلی همچنین از طریق افزایش حلالیت کمپلکس اسیدفیتیک باعث افزایش تجزیه‌پذیری اسیدفیتیک توسط فیتازها می‌شوند. طبق نتایج تحقیق حاضر، TTA و میزان اسیدلاکتیک خمیر همبستگی زیادی با میزان اسیدفیتیک نان داشت. در مورد باکتری‌های اسیدلاکتیک، فعالیت فیتازی را می‌توان یک فعالیت وابسته به سویه در نظر گرفت که به مقدار زیادی به شرایط محیطی و آزمایشگاهی وابسته است (27، 15-13، 4).

عوامل شیمیایی متعددی هستند که اثرگذاری آن‌ها به عنوان افزودنی غذایی کاهنده تولید اکریلامید در غذاهای فرآیند حرارتی‌دیده، با تأکید بر حفظ خواص حسی غذا و حفظ روش‌های فرآیند حرارتی غذاها، مورد بررسی قرار گرفته است. از میان افزودنی‌های مختلف، آسپارژیناز، اسیدها، کاتیون‌ها، فسفولیپیدها، لسیتین‌ها، هیدروکلوئیدها، آنتی‌اکسیدان‌ها، اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها به عنوان عوامل مؤثر در مدل سیستم‌ها و فرآورده‌های غذایی معرفی شده‌اند (12). رقابت بین آسپارژین و گروه‌های جانبی آمینواسیدهای پروتئین‌ها برای واکنش با ترکیبات کربونیل و نیز واکنش گروه های آمینو و سولفیدریل پروتئین‌ها با اکریلامید تولید شده، از مکانیزم‌های مؤثر در کاهش اکریلامید توسط پروتئین ها و اسیدهای آمینه می‌باشند. برای کاهش مقدار اکریلامید در محصولات غله‌ای تخمیرهای طولانی‌مدت با مخمر توصیه شده است (31، 30)، درحالی که استفاده از تخمیر لاکتیکی برای کاهش اکریلامید تجربه‌ای جدید است (33، 32، 23). توانایی سویه‌های LAB استفاده‌شده در این پژوهش برای کاهش اکریلامید، برای اولین بار بررسی و اثبات شده است. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تخمیر لاکتیکی باعث کاهش شدید اکریلامید (60 تا 87%) شده است. Fredriksson و همکاران (31) مقدار اکریلامید نان تخمیرشده با مخمر را پس از 30 دقیقه و 6 ساعت تخمیر به ترتیب 33 و 4 ppb گزارش کرده‌اند که با نتایج ما همخوانی داشت. کاهش pH، افزایش TTA و نوع اسیدآلی تولیدی (اسیدلاکتیک) باعث کاهش اکریلامید شده است. مطالعات انجام شده قبلی نیز نشان داده‌اند که کاهش pH (کمتر از 5) یکی از راهکارهای جلوگیری از واکنش میلارد و به‌تبع آن کاهش تولید اکریلامید

است که از طریق پروتونه کردن گروه آمین آسپارژین، مانع تولید اکریلامید می‌گردد (23). از آنجا که مطابق جدول 4، pH، TTA و غلظت اسیدلاکتیک خمیر حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* با تیمار حاوی *لاکتوباسیلوس ساکی* تفاوت معنی‌دار نداشته ولی نمونه D_2 حاوی اکریلامید بیشتری نسبت به نمونه D_3 بود، می‌توان احتمال داد که کاهش اکریلامید در تخمیر لاکتیکی، پدیده‌ای وابسته به سویه است که ممکن است ناشی از تفاوت عمل سویه‌های مختلف باکتریایی در قبال مصرف یا آزادسازی پیش‌سازهای اکریلامید و رابطه متقابل آن با تغییرات اسیدیته باشد.

Wang و همکاران (34)، به تأثیر غلظت اسیدفیتیک بر واکنش میلارد و تولید اکریلامید اشاره نموده‌اند. طبق این گزارش، اسیدفیتیک به واسطه داشتن فسفات‌های آنیونی (در pHهای بالا) می‌تواند واکنش میلارد را کاتالیز کرده و باعث افزایش تولید اکریلامید شود. از طرفی اسیدفیتیک ظرفیت شلاته‌کنندگی قوی برای یون‌های فلزی دارد و با گروه بازی اسیدهای آمینه پروتئین‌ها نیز کمپلکس تشکیل‌داده (35) و از ظرفیت کاتیون‌ها و پروتئین‌ها برای کاهش اکریلامید می‌کاهد.

البته تولید کمپلکس نامحلول فیتات با کاتیون‌هایی همچون کلسیم از ظرفیت کاتالیتیک فیتات کاسته و باعث کاهش تولید اکریلامید می‌شود (34). نتایج ما در این پژوهش در تطابق با داده‌های این محققان بوده و نشان‌داد که نان‌های حاوی غلظت‌های بالاتر اسیدفیتیک، مقادیر بیشتری اکریلامید دارند. از این رو توانایی تخمیر لاکتیکی در کاهش غلظت اسید فیتیک ممکن است یکی از دلایل کاهش اکریلامید در این نمونه‌ها بوده و اثر مفید سویه‌های LAB مورد استفاده در این پژوهش را تأیید کند.

در مجموع می‌توان گفت تخمیر خمیرترشی در تهیه نان‌های ایرانی، فناوری سنتی فراموش شده‌ای است که در صورت انتخاب سویه های مناسب میکروبی می‌تواند جایگزین تخمیر مخمری و انواع فرآیندهای شیمیایی عمل‌آوری خمیر نان شده و نان گندم کامل را با کیفیت و ارزش تغذیه ای بالاتر به سفره ها بازگرداند. با توجه به توانایی چهار سویه باکتریایی مورد مطالعه در این پژوهش، می‌توان این سویه ها را از جهت کاهش اسیدفیتیک و اکریلامید، سویه های مناسب برای تخمیر خمیرترشی نان گندم کامل دانست.

• References

1. Jiang D, Peterson DG. Identification of bitter compounds in whole wheat bread. Food Chem. 2013;141:1345-53.
2. Slavin J. Whole grains and human health. Nutr Res Rev. 2004;17:99–110.
3. Rieder A, Holtekjolen AK, Sahlstrom S, Moldestad A. Effect of barley and oat flour types and sourdoughs on dough rheology and bread quality of composite wheat bread. J Cereal Sci. 2012;55:44-52.
4. 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;41:82-92.
5. Rosell CM, Santos E, Sanz Penella JM, Haros M. Wholemeal wheat bread: A comparison of different breadmaking processes and fungal phytase addition. J Cereal Sci. 2009;50:272–7.
6. Turk M, Carlsson N-G, Sandberg A-S. Reduction in the levels of phytate during wholemeal bread making; effect of yeast and wheat phytases. J Cereal Sci. 1996;23:257–64.
7. Bartkiene E, Jakobsone I, Juodeikiene G, Vidmantiene D, Pugajeva I, Bartkevics V. Effect of fermented *Helianthus tuberosus* L. tubers on acrylamide fomation and quality properties of wheat bread. LWT-Food Sci Technol. 2013;54(2):414-20.
8. Capuano E, Ferrigno A, Acampa I, Serpen A, Acar OC, Gokmen V, et al. Effect of flour type on Maillard reaction and acrylamide formation during toasting of bread crisp model systems and mitigation strategies. Food Res Int. 2009;42:1295-302.
9. Serpen A, Gokmen V, Mogol BA. Effects of different grain mixtures on Maillard reaction products and total antioxidant capacities of breads. J Food Comp Anal. 2012;26:160-8.
10. Corsetti A, Settanni L. Lactobacilli in sourdough fermentation. Food Res Int. 2007;40:539-58.
11. Katina K, Arendt E, Liukkonen KH, Autio K, Flander L, Poutanen K. Potential of sourdough for healthier cereal products. Trends Food Sci Technol. 2005;16:104-12.
12. Salazar R, Arambula-Villa G, Vazquez-Landaverde PA, Hidalgo FJ, Zamora R. Mitigating effect of amaranth (*Amarantus hypochondriacus*) protein on acrylamide formation in foods. Food Chem. 2012;135:2293-8.
13. Gobbetti M, Rizzello CG, Di Cagno R, De Angelis M. How the sourdough may affect the functional features of leavened baked goods. Food Microbiol. 2014;37:30-40.
14. 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;19:524 –30.
15. Palacios MC, Haros M, Rosell CM, Sanz Y. Selection of phytate-degrading human bifidobacteria and application in whole wheat dough fermentation. Food Microbiol. 2008;25:169–76.

16. Movahed S, Namazi-Shandi M, Mostaghim T. Effect of hazel-nut crust on the qualitative and organoleptic properties of loaf bread. Innov Food Sci Tech. 1394;3(9):85-92[in persian].

17. AACC. Approved methods of the american association of cereal chemists. St. Paul, Minnesota, USA: The American Association of Cereal Chemist, Inc; 2002.

18. Flander L, Suortti T, Katina K, Poutanen K. Effects of wheat sourdough process on the quality of mixed oat-wheat bread. LWT-Food Sci Technol. 2011;44:656-64.

19. Katina K, Poutanen K, Autio K. Influence and interactions of processing conditions and starter culture on formation of acids, volatile compounds, and amino acids in wheat sourdoughs. Cereal Chem. 2004;81(5):598–610.

20. Komlenic DK, Ugarcic-Hardi Z, Planinic M, Bucic-Kojic A, Strelec I. Wheat dough rheology and bread quality effected by Lactobacillus brevis preferment, dry sourdough and lactic acid addition. Int J Food Sci Tech. 2010;45:1417-25.

21. Garcia-Estepa RM, Guerra-Hernandez E, Garcia-Villanova B. Phytic acid content in milled cereal products and breads. Food Res Int. 1999;32:217-21.

22. Haggman M, Salovaara H. Microbial re-inoculation reveals differences in the leavening power of sourdough yeast strains. LWT-Food Sci Technol. 2008;41:148-54.

23. Bartkiene E, Jakobsone I, Juodeikiene G, Vidmantiene D, Pugajeva I, Bartkevics V. Study on the reduction of acrylamide in mixed rye bread by fermentation with bacteriocin-like inhibitory substances producing lactic acid bacteria in combination with *Aspergillus niger* glucoamylase. Food Control. 2013;30:35-40.

24. Zhu Y, Li G, Duan Y, Chen S, Zhang C, Li Y. Application of the standard addition method for the determination of acrylamide in heat-processed starchy foods by gas chromatography with electron capture detector. Food Chem. 2008;109:899-908.

25. Febles CI, Arias A, Hardisson A, Rodriguez-Alvarez C, Sierra A. Phytic acid level in wheat flours. J Cereal Sci. 2002;36:19–23.

26. Lopez HW, 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;49:2657−62.

27. Didar Z, Pourfarzad A, Haddad Khodaparast MH. Effect of different lactic acid bacteria on phytic acid content and quality of whole wheat toast bread. World Acad Sci Eng Technol. 2010;4(8):1416-21.

28. Najafi M, Rezaei K, Safari M, Razavi SH. Use of sourdough to reduce phytic acid and improve zinc bioavailability of a traditional flat bread (Sangak) from Iran. Food Sci. Biotechnol. 2012;21(1):51-7

29. Arendt EK, Ryan LAM, Bello FD. Impact of sourdough on the texture of bread. Food Microbiol. 2007;24:165-74.

30. Fink M, Andersson R, Rosen J, Aman P. Effect of added asparagine and glycine on acrylamide content in yeast-leavened bread. Cereal Chem. 2006;83:218-22.

31. Fredriksson H, Tallving J, Rosen J, Aman P. Fermentation reduces free asparagine in dough and acrylamide content in bread. Cereal Chem. 2004;81(5):650-3.

32. Baardseth P, Blom H, Enersen G, Skrede G, Slinde E, Sundt T, et al., inventors; Reduction of acrylamide formation in cereal-based food processing. 2004.

33. Dastmalchi F, Razavi SH, Faraji M, Labbafi M. Effect of *Lactobacillus casei- casei* and *Lactobacillus reuteri* on acrylamide formation in flat bread and bread roll. J Food Sci Technol. 2016;53(3):1531-9.

34. Wang H, Zhou Y, Ma J, Zhou Y, Jiang H. The effects of phytic acid on the Maillard reaction and the formation of acrylamide. Food Chem. 2013;141 18–22.

35. De Angelis, Gallo MG, Corbo MR, McSweeney PLH, 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;87:259-70.

Evaluating The Effect of Sourdough Fermentation Containing Four Lactic Acid Bacteria Strains on Phytic Acid and Acrylamide Content of Whole-Wheat Loaf Bread

Nasiri Esfahani B[1], Kadivar M[2], Shahedi M[2], Soleimanian-zad S[2,3]*

*1- *Corresponding author: PhD student, Dept. of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. Email:* b.nasiriesfahani@ag.iut.ac.ir

2- Prof, Dept. of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

3- Head of Institute of Biotechnology and Bioengineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

Received 9 Feb, 2017 **Accepted 28 Apr, 2017**

Background and Objectives: Bread is one of the most popular foods consumed worldwide. Compared to breads made with refined flour, whole flour breads contain higher concentration of nutrients. Despite nutritional benefits of whole flour, concentration of phytic acid (an anti-nutritional factor) is higher than white flour. Moreover, whole flour produced more acrylamide, which is known to be a toxic and potentially carcinogenic. One option to improve the quality of breads is the use of sourdough biotechnology. Sourdough is a complex biological system, dependent on the microflora. This study aimed at analyzing four strains of lactic acid bacteria (LAB) in sourdough fermentation to reduce phytic acid and acrylamide in whole wheat bread and investigating the correlation of phytic acid concentration with acrylamide production content.

Materials & Methods: The four strains of LAB investigated including *Lactobacillus plantarum*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. sakei*, and *L. rhamnosus* were used to produce sourdough, separately. The sourdoughs in combination with *Saccharomyces cerevisiae* were used in bread production and examined for their ability to degrade phytic acid and acrylamide.

Results: Dough fermentation decreased about 24% of phytic acid in whole-wheat dough samples and corresponding breads. High total titratable acidity and lactic acid production favored the degradation of phytic acid in breads (r= -0.738, r= -0.578, respectively). Lacto-fermentation also led to 80% reduction in acrylamide, compared to yeast fermentation alone. Higher concentration of phytic acid correlated with higher content of acrylamide (r=0.678).

Conclusion: Sourdough fermentation recipe for preparation of Iranian breads is a forgotten traditional method that if applied, can replace yeast fermentation or various chemical-leavening processes by useful and suitable microbial strains. This method can improve the quality and nutritional value of whole wheat breads.

Keywords: Phytic acid, Acrylamide, Sourdough fermentation, Lactic acid bacteria, Whole wheat bread