

بررسی فعالیت آنزیم فیتاز در سه رقم گندم و تاثیر تیمارهای تخمیر، هیدراتاسیون گرم و حرارت دهی بر آن

مرجانہ صداقتی^۱، دکتر محمد شاهی^۲ و دکتر مهدی کدیور^۳

چکیده

آنزیم فیتاز اسید فیتیک را به میواینوزیتول و فسفات های غیرآلی هیدرولیز می کند. این آنزیم در دانه های گیاهی نظیر غلات و حبوبات یافت می شود. گندم نیز از جمله غلاتی است که فعالیت فیتازی بالایی دارد. اسید فیتیک در دانه های گیاهی نظیر غلات و حبوبات یافت و مانع جذب فلزات دو ظرفیتی مانند روی، آهن، کلسیم و منیزیم می شود. در این تحقیق فعالیت فیتازی در سه رقم گندم و درصدهای مختلف استخراج آرد این ارقام اندازه گیری و مقایسه شد. همچنین تاثیر فرایند تخمیر، هیدراتاسیون گرم و تیمار حرارت دهی نیز بر فعالیت فیتازی این ارقام گندم بررسی و مقایسه شد. نتایج آزمایش های فوق بر اساس آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد، فعالیت فیتازی در بین سه رقم گندم متفاوت است. در بین سه درصد استخراج آرد، آردهای با درصد استخراج بیشتر، فعالیت فیتازی بیشتری نشان دادند. بر اساس این نتایج تیمار تخمیر اثر مثبت بر فعالیت فیتازی داشت و خمیر تخمیر شده فعالیت فیتازی بیشتری نشان داد. همچنین تیمار هیدراتاسیون گرم سبب کاهش قابل توجهی در مقدار اسید فیتیک گردید. در حالیکه حرارت پخت سبب کاهش اندکی در مقدار اسید فیتیک شد.

کلمات کلیدی: فیتاز، اسید فیتیک، تخمیر، هیدراتاسیون گرم و حرارت دهی

مقدمه

۱ - کارشناس ارشد صنایع غذایی
۲ - استاد صنایع غذایی
۳ - استادیار صنایع غذایی

نان گندم سبوس دار تامین کننده اصلی انرژی در رژیم غذایی مردم اغلب کشورها است و یکی از منابع اصلی مواد معدنی است. سبوس گندم منبع اصلی فیبر رژیمی است و امروزه اثر ضد سرطانی فیبر رژیمی به اثبات رسیده است. اگر چه فیبر رژیمی به عنوان مکمل غذایی کاربرد دارد اما حاوی فیتات بالایی نیز می‌باشد. اسید فیتیک فرم ذخیره ای فسفر در گندم و دیگر غلات است. اسید فیتیک از طریق شلاته کردن کاتیون های چند ظرفیتی نظیر آهن، کلسیم، منیزیم و روی فیتات ها را تشکیل می‌دهد. در غلات لایه آلورون محل اصلی ذخیره فیتات است. در دانه گیاهان دو لپه ای، فیتات بطور غریبکنواخت در سراسر دانه توزیع شده است [۱۰].

ارتباط قوی بین فیتات ها و متابولیسم مواد معدنی وجود دارد که منجر به احتیاط در بکارگیری سبوس گندم به عنوان فیبر رژیمی در مواد غذایی می‌شود. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد میزان جذب روی و آهن غذا با میزان فیتات رژیم غذایی ارتباط دارد. این کمپلکس‌های فیتات در pH فیزیولوژیکی نا محلول هستند و از جذب مواد معدنی از غذا جلوگیری می‌کنند. آنزیم فیتاز یک آنزیم هیدرولیزکننده فیتات است که حذف مرحله به مرحله ارتوفسفات معدنی از اسید فیتیک را کاتالیز می‌کنند. این آنزیم یک فسفو منواستراز غیراختصاصی، متعلق به گروه اسید فسفاتازها می‌باشد [۵]. دو نوع آنزیم فیتاز شناخته شده عبارتند از: ۳- فسفاتاز (EC3.1.3.8) با نام سیستماتیک میو اینوزیتول هگزاکیس فسفات ۳- فسفو هیدرولاز، که ابتدا استر را در محل ۳- اینوزیتول هیدرولیز می‌کند و به صورت تجارتي از آسپرژیلوس فسیوم^۴ استخراج می‌شود و ۶- فیتاز (EC3.1.3.26) که دفسفریلاسیون فیتات را در محل ۶ آغاز می‌کند. در غلات ۶- فیتاز موجود است که به صورت تجارتي از گندم استخراج می‌شود. هر دو نوع فیتاز نهایتاً " فیتات را بطور کامل دفسفریله می‌کنند [۱۵]. چندین فرایند که سبب حذف فیتات ها از زنجیره غذایی می‌شوند شناخته شده است که از این طریق دسترسی به مواد معدنی افزایش می‌یابد. تحقیقات در زمینه فرایند تخمیر، نشان می‌دهد فیتات ها در طول فرایند تخمیر کاهش می‌یابند و علت این کاهش فعالیت فیتاز خمیر و فیتاز اندوژنوس آرد است. ترسرسیان و همکاران (۱۹۷۴) گزارش کردند تخمیر حدود ۴ ساعت و بیشتر برای کاهش محتوی فیتات خمیر نان گندم کامل به سطح تغذیه ای قابل قبول لازم است [۱۴].

(۱۹۸۱) گزارش کرد در طول ۳ ساعت تخمیر در ۳۰ درجه سانتیگراد با ۲ درصد خمیر، مقدار فیتات ۲۵ درصد کاهش می‌یابد و پس از ۵ ساعت تخمیر

۴- *Aspergillus ficuum*

مقدار فیتات ۲۷ درصد کاهش می‌یابد [۱۲]. در ارتباط با فرایند تیمار هیدراتاسیون گرم، فردلاند و همکارانش (۱۹۹۷) گزارش کردند تیمار هیدراتاسیون گرم دانه کامل که در طول تاریخ برای تسهیل پوست‌گیری بکارگرفته می‌شد به وسیله هیدرولیز هگزا و پنتا اینوزیتول فسفات به فسفات غیر آلی و اینوزیتول فسفات‌ها با تعداد فسفات کمتر اثر مثبت روی ارزش تغذیه‌ای غلات دارد [۲]. ملانی (۱۹۵۰) گزارش کرد کاهش فیتات در دانه کامل گندم حدود ۸۴ درصد است، این در حالی است که از بافر با pH برابر با ۴/۵ و دمای ۴۵ درجه سانتیگراد در مدت ۱۲ ساعت استفاده کنیم [۷]. بررسی‌ها نشان می‌دهد فرایند حرارت‌دهی نیز سبب کاهش مقدار فیتات می‌شود. ترسکیسیان و همکارانش (۱۹۷۴) گزارش کردند در طول تخمیر و ۳ تا ۴ دقیقه پخت نان، میزان فیتات ۳۹ درصد کاهش می‌یابد و به نظر می‌رسد فعالیت آنزیم فیتاز در طول حرارت‌دهی سبب کاهش فیتات می‌شود. [۱۴]. هدف از این مطالعه اندازه‌گیری فعالیت فیتازی در آرد با درصد‌های استخراج مختلف سه رقم گندم روشن، قدس و مهدوی بود. همچنین اثر تیمارهای تخمیر، هیدراتاسیون گرم و تیمار حرارت‌دهی بر کاهش فیتات بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

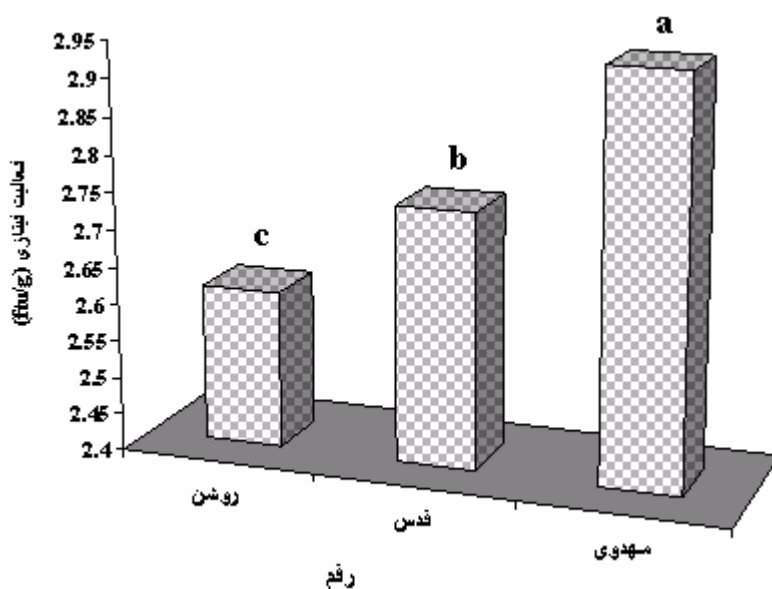
نمونه‌های سه رقم گندم روشن، قدس و مهدوی از انبار خدمات کشاورزی، چند روز پس از برداشت دریافت شد. سپس نمونه‌های گندم به موسسه تحقیقات، اصلاح و تهیه بذر و نهال کرج فرستاده شد و آنجا پس از چند ساعت خیساندن، عمل سبوس‌گیری به وسیله آسیاب بوهرلر صورت گرفت و سبوس گندم‌ها و آرد ۷۰ درصد تهیه شد. سپس سبوس حاصل جهت تهیه آرد گندم با درصد استخراج ۷۵، ۸۵ و ۱۰۰ مورد استفاده قرار گرفت. خمیرهای شاهد و تخمیری از ارقام گندم قدس، روشن و مهدوی با درصد‌های استخراج ۷۵، ۸۵ و ۱۰۰ درصد تهیه شد. برای تهیه خمیر تخمیری از ۱ درصد خمیر استفاده و خمیرها مدت ۶ ساعت در ۳۵ درجه سانتیگراد تخمیر گردید. خمیرهای فوق‌الذکر بعد از تهیه به فریزر منتقل و منجمد شد. برای خشک کردن، خمیرهای منجمد به دستگاه فریزدرایر انتقال یافت و در صفر درجه سانتیگراد و فشار ۴/۵۹ میلیمتر جیوه، عمل تصعید و خشک کردن خمیرها به مدت ۲۴ ساعت صورت گرفت. خمیرهای خشک شده بوسیله آسیاب مجدداً به آرد تبدیل شد و با الک با مش ۱۰۰ الک گردید. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فیتاز مطابق روشی که کیلمر و همکارانش در سال ۱۹۹۴ پیشنهاد

نمودند، انجام شد [۸]. در بخش اندازه گیری مقدار اسید فیتیک از روش نهپتیان و بصیری (۱۹۷۵) استفاده گردید [۹].

نتایج و بحث

۱-۳ مقایسه میزان فعالیت آنزیم فیتاز در آرد و سبوس سه رقم گندم

آنزیم فیتاز به همراه اسید فیتیک در لایه آلورون غلات قرار دارد و عمل هیدرولیز اسید فیتیک را انجام می دهد. در این تحقیق فعالیت فیتازی در ارقام گندم روشن، قدس و مهدوی اندازه گیری شد. این اندازه گیری در آردهای ۷۵ درصد، ۸۵ درصد، ۱۰۰ درصد و سبوس این ارقام گندم انجام گردید و این نتایج بدست آمد.



نمودار ۱-۳- میانگین های فعالیت فیتازی در سه رقم گندم

همانطور که نمودار مقایسه میانگین ۱-۳ نشان می دهد در بین سه رقم گندم مهدوی بیشترین و رقم روشن کمترین فعالیت فیتازی را دارد. در نتیجه وارسته عاملی موثر در میزان فعالیت فیتازی است. نتایج این تحقیق با نتایجی که ماسس و همکارانش بدست آوردند، مطابقت دارد [۸]. آنان در بررسی فعالیت فیتازی ۲۳ رقم گندم گزارش کردند، دامنه فعالیت فیتازی ارقام گندم قرمز از ۲ تا ۵/۵ FTU/g سبوس

قرار دارد. فعالیت فیتازی ارقام گندم روشن، قدس و مهدوی مطابق نمودار ۱-۳ در دامنه فعالیت فیتازی گزارش شده توسط ماسس و همکارانش قرار دارد. ماسس و همکارانش تفاوت مشاهده شده در فعالیت فیتازی ارقام گندم را ناشی از تفاوت در واریته‌های گندم دانستند. همان طور که ذکر شد، به نظر می‌رسد تفاوت فعالیت فیتازی ارقام گندم روشن، قدس و مهدوی نیز ناشی از تفاوت در واریته‌های آنها باشد.

جدول ۱-۳ میانگین‌ها میزان فعالیت فیتازی تحت اثر متقابل سبوس و آرد با

درصد استخراج مختلف سه رقم گندم FTU/g

درصد استخراج				
رقم گندم	سبوس	آرد کامل	آرد ۸۵٪	آرد ۷۵٪
روشن	۵/۰۳ ^b	۳/۱۰ ^d	۱/۵۰ ^f	۰/۸ ^h
قدس	۵/۱۱ ^b	۳/۱۴ ^d	۱/۶۳ ^f	۱/۰۹ ^g
مهدوی	۵/۴۸ ^a	۳/۴۲ ^c	۱/۶۴ ^e	۱/۰۷ ^g

میانگین‌های دارای حروف غیر مشترک با هم تفاوت معنی دار دارند ($p < 0.05$)

جدول مقایسه میانگین ۱-۳ نشان می‌دهد که سبوس مهدوی بیشترین و سبوس روشن کمترین فعالیت فیتازی را دارد. همچنین بیشترین میزان فعالیت فیتازی در هر رقم گندم نیز به ترتیب در سبوس، آرد کامل، آرد ۸۵٪ و آرد ۷۵٪ دیده شد و فعالیت فیتازی با کاهش درصد سبوس در آرد سه رقم گندم، کاهش می‌یابد. با توجه به اینکه همراه با کاهش درصد سبوس، میزان فعالیت فیتازی کاهش می‌یابد، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت آنزیم فیتاز نیز مانند سوبسترای خود اسید فیتیک، بیشتر در لایه های خارجی دانه خصوصاً " لایه آلورون گندم واقع شده است و

چون لایه آلورون همراه با سبوس از دانه جدا می‌گردد، با کاهش میزان سبوس، فعالیت فیتازی نیز کاهش می‌یابد.

این نتایج با نتایج تحقیقات مشابه در این زمینه قابل مقایسه است. پیرز به منظور تعیین نحوه پراکندگی آنزیم فیتاز در بخش‌های مختلف گندم، فعالیت فیتازی را در ۷ بخش اصلی دانه گندم اندازه گیری، بررسی و گزارش کرد که اسکوتلوم^۵ (در جوانه قرار دارد و هنگام آسیاب کردن همراه سبوس جدا می‌شود) و آلورون بیشترین و آندوسپرم و لایه اپیدرم، کمترین فعالیت فیتازی را دارند. پیرز نتیجه گرفت، بیشترین مقدار آنزیم فیتاز در لایه آلورون و اسکوتلوم قرار دارد و احتمالاً " آندوسپرم فاقد آنزیم فیتاز است [۱۱]. در این تحقیق نیز سبوس- های سه رقم گندم روشن، قدس و مهدوی که حاوی لایه اسکوتلوم و آلورون هستند، بیشترین فعالیت فیتازی را از خود نشان دادند در حالیکه آردهای ۷۵ درصد سه رقم گندم که حاوی کمترین مقدار سبوس و بیشترین مقدار آندوسپرم هستند، کمترین فعالیت فیتازی را از خود نشان دادند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت، آنزیم فیتاز در بخش‌هایی از سبوس گندم قرار دارد و احتمالاً " آندوسپرم فاقد آنزیم فیتاز است.

۲-۳ مقایسه فعالیت فیتازی در خمیر عادی و تخمیر شده

در تکنولوژی تولید نان از تیمار تخمیر برای بهبود کیفیت نان و بهبود ارزش تغذیه ای نان استفاده می‌کنند. فرایند تخمیر بر فعالیت فیتازی و هیدرولیز اسید فیتیک نیز تاثیر می‌گذارد. نتایج آزمایشات نشان می‌دهد، در هر سه رقم گندم، خمیر تخمیری فعالیت فیتازی بیشتری نسبت به خمیر شاهد دارد. زیرا در طول عمل تخمیر بدلیل تولید اسیدهای آلی مختلف pH کاهش یافته و به pH مناسب برای فعالیت آنزیم فیتاز گندم نزدیک می‌شود.

جدول ۲-۳ مقایسه میانگین‌ها مربوط به تاثیر متقابل رقم گندم و نوع

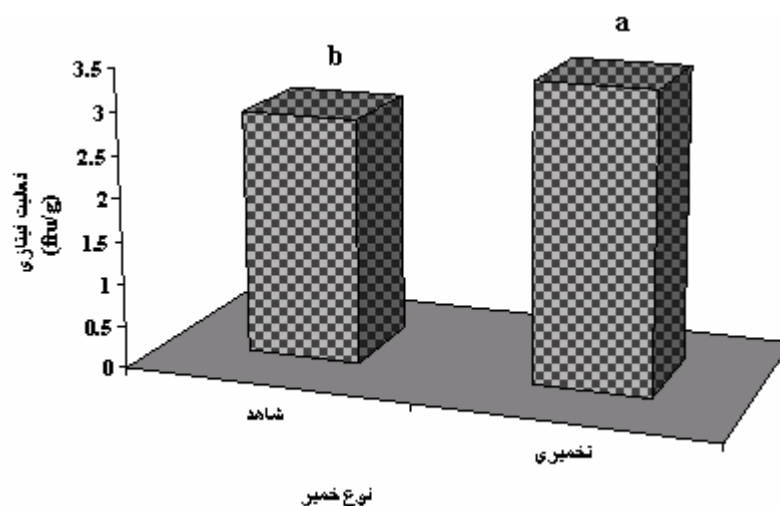
خمیر بر فعالیت فیتازی FTU/g

نوع خمیر		
رقم گندم	خمیر شاهد	خمیر تخمیری
روشن	۱/۵۴ ^e	۲/۰۶ ^{bc}
قدس	۱/۷۲ ^{de}	۲/۱۸ ^{ab}
مهدوی	۱/۸۷ ^{cd}	۲/۳۱ ^a

میانگین‌های دارای حروف غیر مشترک با هم تفاوت معنی دار دارند ($p < 0.05$)

در فرآیند تخمیر با خمیر، اسیدفیتیک به وسیله آنزیم های فیتاز درونی گندم و فیتاز خمیری هیدرولیز شده و کاهش می‌یابد. در طی فرایند تخمیر به دلیل تولید اسیدهای آلی مختلف، pH خمیر کاهش می‌یابد و به pH مطلوب برای فعالیت فیتاز درونی آرد گندم و همچنین فیتاز خمیری نزدیک می‌شود و آنزیم های فیتاز گیاهی و فیتاز خمیری را فعال می‌سازد. بنابراین هیدرولیز فیتات در خمیرهای تخمیر شده افزایش می‌یابد. pH مطلوب برای فعالیت فیتاز درونی گندم ۵/۱۵ است و فیتاز خمیری نیز در بازه pH ۳/۵ تا ۴/۵ فعالیت می‌کند. بطور کلی افزایش فعالیت فیتازی در خمیر تخمیری، ناشی از افزایش فعالیت هر دو آنزیم فیتاز گیاهی درونی گندم و فیتاز خمیری است، اما تحقیقات مشابه نشان داده اند که سهم فیتاز خمیری در افزایش فعالیت فیتازی ناچیز است و بخش عمده این افزایش متعلق به فیتاز گیاهی است [۴]. اگر چه مقدار فیتات در خمیرهای تخمیر شده کاهش می‌یابد، ولی فرایند تخمیر سبب حذف کامل فیتات خمیر نمی‌شود. زیرا در فرایند تخمیر تا حدی pH مطلوب برای فعالیت فیتاز گندم ایجاد می‌شود، ولی معمولاً از دمای ۳۰ تا ۳۷ درجه سانتیگراد برای تخمیر استفاده می‌کنند. این دما بسیار کمتر از دمای مطلوب برای فعالیت فیتاز گندم است (۵۵ درجه سانتیگراد). با وجود اینکه فیتاز گندم از فعالیت فیتازی بالایی برخوردار است، در این

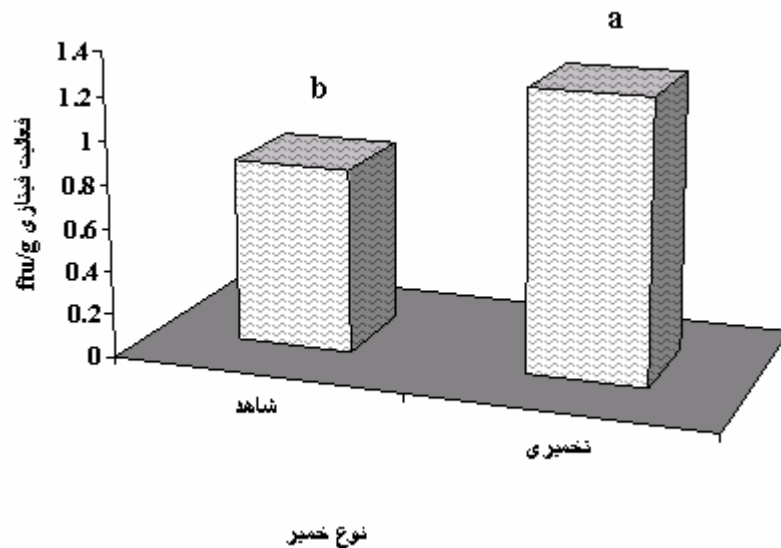
شرایط نمی‌تواند فیتات را کاملاً تجزیه کند. از طرفی به نظر می‌رسد فسفر معدنی آزاد شده در فرایند هیدرولیز اسید فیتیک به وسیله آنزیم فیتاز، اثر بازدارنده بر فعالیت آنزیم فیتاز دارد و مانع فعالیت بهینه آنزیم می‌شود. همچنین فیتات در آرد به وسیله نشاسته، چربی و پروتئین محصور می‌شود و آنزیم فیتاز در دستیابی به فیتات دچار محدودیت می‌گردد.



نمودار ۲-۳- میانگین های میزان فعالیت فیتازی خمیر شاهد و تخمیری آرد کامل

نمودار مقایسه میانگین ۲-۳ نشان می‌دهد میانگین افزایش فعالیت فیتازی در خمیر های تخمیری آرد کامل حدود ۲۰ درصد بیشتر از آرد شاهد است. در حالیکه نمودار مقایسه میانگین ۳-۳ نشان می‌دهد میانگین افزایش فعالیت فیتازی در خمیر های تخمیری آرد ۷۵ درصد حدود ۵۱ درصد بیشتر از آرد شاهد است. به نظر می‌رسد چون خمیر های تهیه شده از آرد ۷۵ درصد آندوسپرم بیشتری نسبت به خمیر های آرد کامل دارند، مخمر مواد غذایی بیشتری نسبت به آرد کامل در اختیار دارد. در نتیجه مخمر در آرد ۷۵ درصد بیشتر فعالیت کرده و اسید بیشتری تولید می‌کند. در این

شرایط pH کاهش یافته و به حدود ۵ که مطلوب برای فیتاز گندم است نزدیک می شود. به این دلیل فعالیت فیتازی در خمیر تخمیری آرد ۷۵ درصد نسبت به خمیر تخمیری آرد کامل بیشتر افزایش می یابد.



نمودار ۳-۳- میانگین های میزان فعالیت فیتازی خمیر شاهد و تخمیری آرد ۷۵ درصد

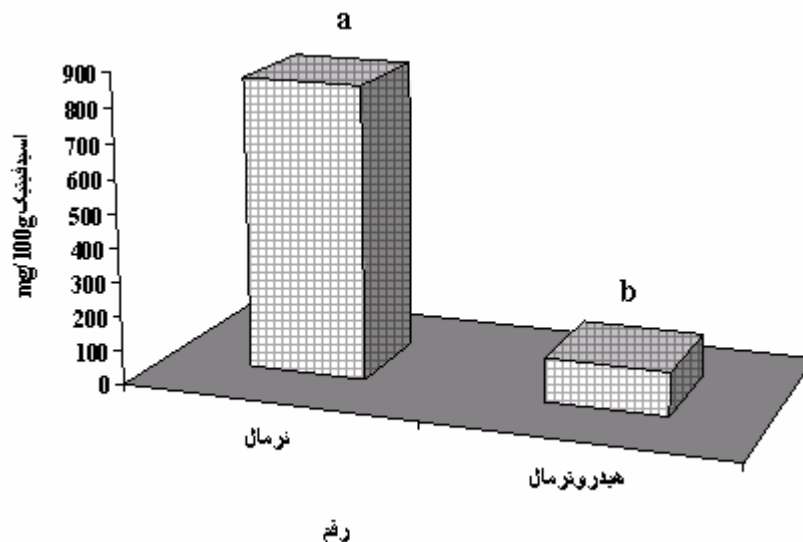
نتایج فوق با نتایج تحقیقات هارلند و همکارانش همخوانی دارد [۴]. آنان در بررسی اثر خمیرهای نروژی، آمریکایی و سوئدی بر کاهش فیتات، گزارش کردند که در سوسپانسیون تهیه شده از آرد کامل پس از افزودن خمیر در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد پس از ۶۰ دقیقه تخمیر مقدار فیتات سوسپانسیون آرد کامل حاوی خمیر نروژی و آمریکایی به ترتیب ۷ درصد و ۴ درصد و پس از ۱۲۰ دقیقه تخمیر ۲۰ درصد و ۶ درصد کاهش یافت. آنان گزارش کردند علت اصلی کاهش مقدار فیتات در زمان تخمیر، فعالیت فیتاز گیاهی موجود در گندم است و فیتاز خمیری تاثیر کمتری دارد. در این تحقیق نیز در خمیرهای آرد کامل ارقام گندم روشن، قدس و مهدوی پس از تخمیر، ۲۰ درصد افزایش فعالیت فیتازی نسبت به خمیر شاهد مشاهده شد.

این نتایج با نتایج تحقیقات تانگ کنک چیترو و همکارانش نیز مطابقت دارد [۱۳]. آنان در بررسی تاثیر تخمیر بر کاهش فیتات گزارش

کردند، در خمیر آرد کامل و آرد سفید حاوی ۲٪ مخمر، پس از ۳ ساعت تخمیر در دمای ۳۰°C، به ترتیب ۱۷ درصد و ۶۰ درصد کاهش مقدار فیتات مشاهده شد. در این تحقیق نیز خمیرهای آرد کامل و آرد ۷۵ درصد ارقام روشن، قدس و مهدوی (حاوی ۱ درصد مخمر و پس از تخمیر در ۳۵ درجه سانتیگراد) به ترتیب حدود ۲۰ درصد و ۵۱ درصد افزایش فعالیت فیتازی نشان دادند. علت کاهش بیشتر مقدار فیتات خمیر آرد سفید نسبت به خمیر آرد کامل این است که در فرایند تخمیر، pH خمیر آرد سفید نسبت به pH خمیر آرد کامل کاهش بیشتری دارد. در نتیجه همان طور که در این تحقیق مشخص شد، آنزیم فیتاز فعالتر شده و مقدار فیتات در خمیر آرد سفید نسبت به خمیر آرد کامل بیشتر کاهش می‌یابد.

۳-۳ اندازه‌گیری مقدار اسید فیتیک در سبوس‌های عادی و تیمارشده

اسید فیتیک در غلات در لایه آلورون سبوس قرار دارد. بررسی‌ها نشان می‌دهد تیمارهایی نظیر هیدراتاسیون سرد و گرم بر کاهش مقدار اسید فیتیک موثر هستند. در این بخش ابتدا مقدار اسید فیتیک سبوس سه رقم گندم روشن، قدس و مهدوی اندازه‌گیری شد. همچنین سبوس سه رقم گندم روشن، قدس و مهدوی تحت تیمار هیدراتاسیون گرم قرار گرفتند. سپس مقدار اسید فیتیک در سبوس‌های تیمارشده اندازه‌گیری شد و نتایج حاصل مقایسه گردید.



نمودار ۳-۴- میانگین های مقدار اسید فیتیک در سبوس شاهد و

هیدروترمال

جدول ۳-۳ جدول مقایسه میانگین اثر نوع سبوس بر میزان

اسید فیتیک FTU/g		
رقم نوع سبوس		
سبوس هیدروترمال شده	سبوس عادی	گندم
۱۲۴/۱۶ ^f	۸۳۷/۶۶ ^a	روشن
۱۲۸/۱۶ ^e	۸۶۱/۶۶ ^b	قدس
۱۳۰/۱۶ ^d	۸۷۴ ^c	مهدوی

میانگین‌های دارای حروف غیر مشترک با هم تفاوت معنی دار دارند ($p < 0.05$) جدول ۳-۳ نشان می‌دهد بیشترین میزان اسیدفیتیک مربوط به سبوس‌هایی است که تیماری بر روی آنها اعمال نشده است، بطوریکه بیشترین میزان اسیدفیتیک مربوط به سبوس گندم مهدوی بدون اعمال تیمار می‌باشد و سپس سبوس گندم‌های قدس و روشن در رده‌های بعدی قرار دارند. نتایج آزمایش‌های فوق نشان می‌دهد تیمار هیدراتاسیون گرم سبب کاهش حدود ۸۵ درصدی میزان اسید فیتیک در سبوس‌های تیمارشده می‌گردد. نتایج اعمال تیمار هیدروترمال بر سبوس گندم با نتایج تحقیقات فردلاندر همکارانش و ملانی و همکارانش مطابقت دارد [۲ و ۷]. فردلاندر و همکارانش در بررسی کاهش فیتات در فرایند هیدروترمال در دانه‌های غلات گزارش

کردند، تیمار هیدراتاسیون گرم دانه کامل غلات با استفاده از دو محلول آب و بافر استات با دمای ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت سبب کاهش ۷۷-۴۶ درصدی و ۹۹-۸۴ درصدی در مقدار فیتات میشود، که با توجه به نوع دانه متفاوت است. مقدار این کاهش برای دانه کامل گندم در آب و بافر استات به ترتیب ۴۶ و ۹۱ درصد بود [۲]. چنانکه که در بررسی انجام شده بر روی ارقام روشن، قدس و مهدوی نیز مشخص شد، هیدراتاسیون گرم در بافر استات سبب کاهش مقدار فیتات می شود. در نتیجه علت کاهش بیشتر فیتات در بافر استات نسبت به آب، پروتونه شدن گروه های هیدروکسیل فسفات، فیتات منیزیم در بافر است. زیرا پروتونه شدن فیتات منیزیم آن را از فرم نامحلول به فرم محلول تبدیل می کند. با محلول شدن فیتات مقدار بیشتری از آن بوسیله آنزیم هیدرولیز می شود. فردلاند و همکارانش همچنین ذکر کردند، دانه های خرد شده کاهش فیتات بیشتری نسبت به دانه کامل دارند، زیرا تماس فیتات و فیتاز در دانه های خرد شده بیشتر است [۲].

اگرچه از نظر درصد کاهش اسید فیتیک بین این تحقیقات تفاوت وجود دارد، اما به نظر می رسد بخش عمده این اختلاف به علت تفاوت نوع نمک های فیتاته موجود در گندم است که حلالیت متفاوتی دارند. یوربانو و همکارانش با انجام یک تیمار ملایم هیدروترمال بر روی نخود نشان دادند که با این روش می توان مقدار اسید فیتیک را از ۰/۳۳۹ گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک به ۰/۰۷۵ گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک کاهش داد، که کاهشی در حدود ۷۰ درصد می باشد [۱۶]. آنها با افزودن فیتاز نیز توانستند میزان اسید فیتیک را تا حدود ۹۳ درصد کاهش دهند. هان و همکارانش ضمن بررسی مقدار اسید فیتیک در تعدادی از دانه های غلات و حبوبات دریافتند که انجام فرایندهایی همچون خیساندن و حرارت دادن بدلیل افزایش فعالیت فیتاز از مقدار اسید فیتیک می کاهد، ضمن آنکه همین فرایندها را می توان به نوعی مقدمه جوانه زدن محسوب نمود که طی آن فعالیت آنزیمی از جمله فیتاز افزایش خواهد یافت [۳]. همین محققان بخشی

از کاهش میزان اسیدفیتیک را به نشت این ترکیب در دوره خیساندن مربوط دانسته اند. ماهوب و الهاج ضمن بررسی تاثیرات همین فرآیندها بر سورگوم، کاهش اسیدفیتیک را به علت حل شدن نمک‌های اسیدفیتیک در آب ذکر نموده اند [۶].

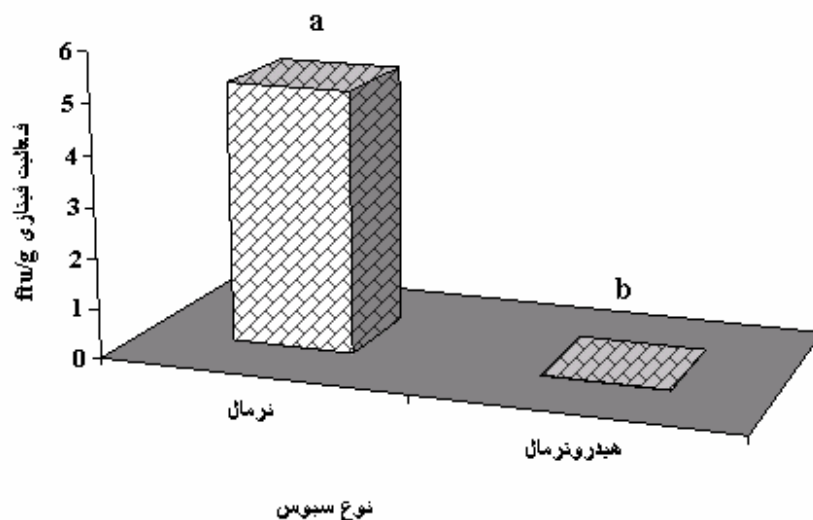
۳-۸ بررسی فعالیت فیتازی در سبوس های عادی و هیدروترمال

تیمار هیدراتاسیون گرم فرایندی است که از بافر با دمای 55°C و pH برابر با ۴/۸ به مدت ۲۴ ساعت استفاده می‌شود. در این تحقیق ابتدا فعالیت فیتازی در سبوس های تیمار نشده سه رقم گندم و سپس در سبوس های تیمار شده اندازه‌گیری گردید. جدول (۳-۴) مقایسه میانگین نتایج حاصل را نشان می‌دهد.

جدول ۳-۴ مقایسه میانگین اثر نوع سبوس

بر فعالیت فیتازی FTU/g	
نوع نمونه	
رقم گندم	سبوس عادی
رقم گندم	سبوس هیدروترمال شده
روشن	۵/۰۳ ^b
قدس	۵/۰۸ ^b
مهدوی	۵/۴۶ ^a
	۰/۰۲ ^c
	۰/۰۵ ^c
	۰/۰۰۹ ^c

میانگین‌های دارای حروف غیر مشترک با هم تفاوت معنی دار دارند ($p < 0/05$) آنالیز نتایج حاصل نشان می‌دهد، تفاوت معنی داری بین فعالیت فیتازی سبوس شاهد و هیدرو ترمال ($p < 0/001$) وجود دارد. نمودار مقایسه میانگین ۳-۱۴ نشان می‌دهد سبوس شاهد فعالیت فیتازی بسیار بالاتری نسبت به سبوس هیدروترمال شده دارد و فعالیت فیتازی پس از ۲۴ ساعت در سبوس هیدروترمال متوقف شده است.



نمودار ۳-۵- میانگین های فعالیت فیتازی در سبوس شاهد و هیدروترمال

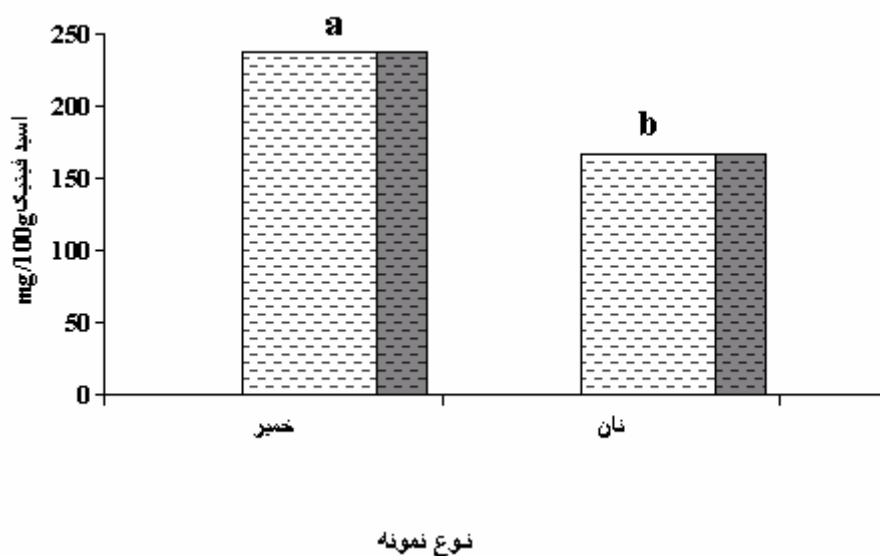
نتایج این آزمایش‌ها نشان می‌دهد، در فرآیند هیدراتاسیون گرم، اسیدفیتیک در سبوس به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد در ابتدای فرایند شرایط مناسبی برای فعالیت آنزیم فیتاز فراهم است و در اثر فعالیت فیتاز مقدار اسید فیتیک کاهش می‌یابد ولی با ادامه فرایند دمای ۵۵ درجه آنزیم را غیر فعال می‌کند. همچنین بخشی از کاهش فیتات به دلیل آبشویی نمک‌های فیتات، می‌باشد.

یوربانو و همکارانش نیز، در بررسی اثر فرآیند هیدروترمال ملایم بر خود گزارش کردند، در طی این فرآیند میزان اسیدفیتیک ۷۸٪ کاهش می‌یابد [۱۶]. آنان عنوان کردند دلیل این کاهش ممکن است فعال شدن فیتاز درونی خود یا فرآیند هیدروترمال ملایم باشد. به نظر می‌رسد نتایج این تحقیق با نتایج آنها همخوانی دارد.

۳-۹ اندازه‌گیری مقدار اسیدفیتیک در خمیر و نان تافتون

نان تافتون نوعی نان ایرانی است که برای پخت نان تافتون از آرد با درصد استخراج ۸۵٪ استفاده می‌کنند. در این بخش برای بررسی

تأثیر حرارت بر تجزیه فیتات از آرد ۸۵ درصد استخراج سه رقم گندم روشن، قدس و مهدوی خمیر تهیه و پس از تخمیر نان تهیه گردید. سپس میزان اسیدفیتیک در خمیرها و نان حاصل اندازه‌گیری شد. نمودار مقایسه میانگین ۳-۷ نشان می‌دهد مقدار اسید فیتیک پس از پخت حدود ۳۰ درصد کاهش می‌یابد. از آنجا که فیتات‌ها مقاوم به حرارت هستند، علت کاهش آنها تجزیه نمک‌های فیتات در اثر حرارت نمی‌باشد. بلکه در فرایند پخت با افزایش دما و ایجاد دمای مطلوب برای فعالیت آنزیم فیتاز، فعالیت آنزیم برای مدت کوتاهی افزایش می‌یابد و بخشی از اسیدفیتیک تجزیه می‌شود. اما افزایش دما به بالاتر از ۵۵ درجه سانتیگراد، باعث تجزیه و از بین رفتن آنزیم فیتاز می‌شود. بنابراین بنظر می‌رسد کاهش اسید فیتیک در طی فرایند پخت حاصل فعالیت آنزیم فیتاز در زمانیست که دما حدود ۵۵ درجه سانتیگراد است. با افزایش دما به بیش از ۵۵ درجه سانتیگراد، آنزیم فیتاز تجزیه می‌شود و میزان اسید فیتیک بدون تغییر باقی می‌ماند. نتایج حاصل با نتایج آلانا و همکارانش همخوانی دارد [۱]. آنان میزان کاهش فیتات را در طول پخت نان، ۳۸ درصد ذکر کردند. همچنین ترسرسیان و همکارانش میزان کاهش فیتات را در طول تخمیر و ۳ تا ۴ دقیقه پخت نان، ۳۹ درصد عنوان کردند [۱۴].



نمودار ۳-۶- میانگین‌های مقدار اسید فیتیک در خمیر و نان سه رقم گندم

منابع

- [1] Almana, H. A., 2000, "Extent of phytate degradation in breads and various foods consumed in Saudi Arabia", *Food Chem.*, Vol. 70, pp. 451 – 456. [14]
- [2] Fredlund, K., Asp, N. G., Larsson, M. and Sandberg, A. S., 1997, "Phytate reduction in whole grains of wheat, rye, barley, and oats after hydrothermal treatment", *J. Cereal Sci.*, Vol. 25, pp. 83-91. [34]
- [3] Han, O., Failla, M. L., Hill, A. D., Morris, E. R. and Smith, J. C., 1994, "Inositol phosphates inhibit uptake and transport of iron and zinc by human intestinal cell line", *J. Nutr.*, Vol. 124, pp. 580- 587. [37]
- [4] Harland, B. F. and Frolich, W., 1989, "Effects of phytases from three yeasts on phytate reduction in Norwegian whole wheat flour", *Cereal Chem.*, Vol. 66, pp. 357-358. [38]
- [5] Liu, B. L., Rafiq, A., Tzeng, Y. M. and Rob, A., 1998, "The induction and characterization of phytase and beyond", *Enz. Microbiol. Technol.*, Vol. 22, pp. 415 – 424. [50]
- [6] Mahgoub, S. E. O. and Elhag, S. A., 1998, "Effects of milling, soaking, malting, heat-treatment and fermentation on phytate level of flour Sudanese sorghum cultivars", *Food Chem.*, Vol. 61, pp. 77 – 80. [54]
- [7] Mellanbey, E., 1950, "Some points in the chemistry and biochemistry of phytic acid and phytase", *A Story of Nutritional Research*, The Williams and Wikins Company, Baltimore. [58]
- [8] Moses, O. K., Yong, K. J., Bagorogoza, K. and Liavoga, A., 2003, "Phytase activity in extracts of flour and bran from wheat cultivars: enhanced extractability with β -glucanase and endo-xylanase", *Cereal Sci.*, Vol. 38, pp. 307-315. [60]
- [9] Nahapetian, A., and Bassiri, A., 1975, "Changes in concentrations and interrelationships of phytate, phosphorus, magnesium, calcium, and zinc in wheat during maturation", *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 23, pp. 1179 – 1182. [62]
- [10] Peers, F. G., 1953, "The phytase of wheat", *Biochem. J.*, Vol. 53, pp. 101 – 110. [65]
- [11] Rukma, Redy. No., sathe, sharidhar, K., *Food phytate*, CRC press, 2002. [75]
- [12] Tangkongchitr, U., Seib, P. A. and Hosenez, R. C., 1981, "Phytic acid. I. determination of three forms of phosphorus in flour, dough, and bread", *Cereal Chem.*, Vol. 58, pp. 226- 228. [82]
- [13] Tangkongchitr, U., Seib, P. A. and Hosenez, R. C., 1981, "Phytic acid. II. its fate during bread making". *Cereal Chem.*, Vol. 58, pp. 229-234. [83]
- [14] Ter – Sarkissian, N., Azar, M.G. H., Ferguson, T. and Headayat, H., 1974, "High phytic acid in Iranian breads", *J. Am. Diet. ASS.*, Vol. 65, pp. 651-655. [84]
- [15] Turk, M., Sandberg, A. S., Carlsson, N. G and Andlid, T., 2000, "Inositol hydrolysis by bakers yeast. Capacity kinetics and degradation products", *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 48, pp. 100 – 104. [87]
- [16] Urbano, G., Aranda, P., Gomez, E., Frejnagel, S., Porres, J. M., Frias, J., Vidal – valver, C. and Lopez – Jurado, M., 2003, "Nutritional evaluation of pea protein diets after mild hydrothermal treatment and with and without added phytase", *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 51, pp. 2415 – 2420. [88]