مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هفتم، شماره ۵، ویژه‌نامه زمستان ۱۳۹۱، صفحات ۹۴-۸۷

بررسی قابلیت‌زیستی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* طی نگهداری یخچالی در ماءالشعیر

سارا سهراب وندی[۱]، شیرین مال گنجی[۲]، محمد جواد ایوانی[۳]، کیانوش خسروی دارانی[۴]

۱- استادیار گروه تحقیقات صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲- نویسنده‌ی مسئول: گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد خوراسگان (اصفهان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران
پست الکترونیکی: shirinmalganji@gmail.com

۳- کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- دانشیار گروه تحقیقات صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: در سال‌های اخیر توسعه محصولات فراسودمند از جمله فراورده های پروبیوتیک رو به افزایش است زیرا مصرف‌کنندگان به رژیم غذایی سالم به منظور پیش‌گیری از بیماری‌ها علاقه زیادی دارند. نیز گزارشات نشان می‌دهند ماءالشعیر از جمله نوشیدنی‌های محبوب در سراسر جهان به شمار می‌آید. با توجه به فواید سلامت‌بخش پروبیوتیک‌ها و محبوبیت ماءالشعیر، هدف این تحقیق، بررسی قابلیت‌زیستی باکتری‌های سودمند پروبیوتیک در ماءالشعیر کم الکل و بدون الکل طی نگهداری یخچالی است.

مواد و روش‌ها: در ابتدا عمل تخمیر ماءالشعیر با استفاده از دو سویه مخمر (*ساکارومایسس سره‌ویسیه* و *ساکارومایسس روکسی‌یی*) انجام شد. سپس پروبیوتیک‌ها (*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتر لاکتیس*) در دمای $5^{\circ}C$ به درون ماءالشعیر (پس از غیر فعال‌کردن مخمرها توسط فرآیند حرارتی) تلقیح شدند و طی ۲۰ روز نگهداری یخچالی ماءالشعیر، میزان pH، اتانول و بقای پروبیوتیک‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: بیشترین افت قابلیت‌زیستی مربوط به ماءالشعیر تخمیری (با مخمر *ساکارومایسس سره‌ویسیه*) حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بود درحالی‌که کمترین میزان افت قابلیت‌زیستی در ماءالشعیر تخمیری (با مخمر ساکارومایسس *روکسی‌یی*) حاوی *بیفیدوباکتر*، مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: ازآن‌جا که ماءالشعیر دارای عوامل باکتری ایستی و باکتری‌کشی به دلیل حضور رازک است بنابراین فراورده یاد شده، نمی‌تواند محیط مناسبی برای انتقال سلول‌های پروبیوتیک به روده باشد.

واژگان کلیدی: اتانول، پروبیوتیک، قابلیت‌زیستی، ماءالشعیر

مقدمه

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که با حفظ یا بهبود تعادل میکروبی روده می‌توانند اثرات سلامت‌بخشی برای میزبان خود به همراه داشته باشند. از جمله اثرات سلامت‌بخش می‌توان به خواص پادجهش زا و پادسرطان زا، تحریک سیستم ایمنی، خواص ضد عفونت، کاهش کلسترول خون، کاهش عدم تحمل لاکتوز و افزایش ارزش تغذیه‌ای اشاره نمود (۱). *لاکتوباسیلوس* و *بیفیدوباکتریوم* از مهم‌ترین گونه‌های باکتریایی مورد استفاده در محصولات پروبیوتیک هستند (۲). گزارشات نشان می‌دهند بقای ریززنده‌های پروبیوتیک در محصول نهایی تا زمان مصرف (حداقل تعداد سلول‌های زنده پروبیوتیک در هر گرم یا میلی‌لیتر از محصول پروبیوتیک)، از مهم‌ترین شاخص‌های کیفی این فراورده‌ها به شمار می‌آید. به طورکلی تعداد 10^{6} cfu/ml و 10^{7} cfu/ml سلول‌های زنده پروبیوتیک به ترتیب، به عنوان شاخص‌های قابل قبول و رضایت‌بخش معرفی شده‌اند (۲، ۱).

فراورده‌های لبنی متداول‌ترین موادغذایی به منظور انتقال پروبیوتیک‌ها به روده انسان هستند. با این حال، روند

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-21]

افزودن پروبیوتیک‌ها در سایر گروه‌های غذایی (محصولات غیرلبنی پروبیوتیک) نظیر غلات و محصولات قنادی، محصولات بر پایه سبزی‌ها، آب میوه‌ها وتنقلات سالم رو به رشد است (۳).

مشاهدات نشان می‌دهند ماءالشعیر یک نوشیدنی محبوب بوده که در سراسر جهان مصرف می‌شود. مواد اولیه ماءالشعیر متداول را مالت جو ، رازک و مخمر تشکیل می‌دهند (۴). اغلب ماءالشعیر تولید شده در دنیا حاوی ۶-۳٪ (V/V) اتانول هستند (۵، ۴). با این حال، در سال‌های اخیر سهم بازار در راستای تولید ماءالشعیر کم الکل و ماءالشعیر بدون الکل رو به افزایش است (۷، ۶، ۴). اطلاعات اندکی در ارتباط با تخمیر نوشیدنی‌های بر پایه مالت با استفاده از *لاکتوباسیلوس*ها در دسترس است (۹، ۸). به‌طور مثال، Rozada و همکاران در سال ۲۰۰۸ دریافتند *رشد بیفیدوباکتر* در محیط حاوی مالت هیدرولیز شده حاوی عصاره مخمر افزایش می‌یابد. بنابراین هدف این مطالعه، بررسی قابلیت‌زیستی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتر لاکتیس* در ماءالشعیر تازه‌ساخت (Fresh) کم الکل و بدون الکل طی نگهداری یخچالی است.

مواد و روش‌ها

مخمرها و پروبیوتیک‌ها: مخمرهای *ساکارومایسس سره‌ویسیه* و *ساکارومایسس روکسی‌یی* از شرکت DSMZ (Braunschweig, Germany) و پروبیوتیک‌ها در بسته‌های DVS (Dynamic Vapor Sorption) تجاری لیوفیلیزه شامل دو نوع *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-5 و نوع *بیفیدوباکتر لاکتیس* Bb-12 از شرکت Chr-Hansen (Horsholm, Denmark) تهیه شدند.

آنالیزهای شیمیایی و میکروبی: اتانول و گرانش ماءالشعیر با استفاده از آنالایزر دیجیتالی ماءالشعیر (Anton Par, Austria) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. pH ورت (Wort) و ماءالشعیر با استفاده از pHمتر اندازه گیری شد (MA 235, Mettler, Switzerland). ریزنده‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتر* با استفاده از MRS آگار (Merck, Darmstad, Germany) با استفاده از روش مرتضویان و همکاران (۹) شمارش شدند.

آماده‌سازی نمونه: در ابتدا مخمرهای *ساکارومایسس سره‌ویسیه* و *ساکارومایسس روکسی‌یی* به درون ورت تهیه شده از شرکت بهنوش (تهران، ایران) تلقیح شدند و فرآیند تخمیر در دمای ۱۲°C با استفاده از هوادهی دوره‌ای انجام پذیرفت (۷) سپس سلول‌های مخمر با اعمال فرآیند حرارتی (دمای ۸۵°C و ۱۰ دقیقه) غیرفعال شده و پس از خنک‌شدن نمونه‌ها، ریزنده‌های پروبیوتیک (*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-5 و *بیفیدوباکتر لاکتیس* Bb-12) در تعداد تقریبی 10^9cfu/ml به درون ماءالشعیر تخمیری اضافه شد (۷). در نهایت، نگهداری نمونه‌ها در دمای ۵°C به مدت ۲۰ روز انجام پذیرفت و شاخص‌های مورد نظر، بلافاصله پس از تخمیر و در دوره ۲۰ روز نگهداری یخچالی (در فواصل هر ۵ روز یک بار) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

آنالیز آماری: آزمایشات در سه تکرار انجام شد و تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها با استفاده از ANOVA (نرم افزار Minitab) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

قابلیت‌زیستی و افت قابلیت‌زیستی ریزنده‌های پروبیوتیک طی نگهداری یخچالی: جدول ۱ نمایانگر شمارش زنده باکتری‌های پروبیوتیک *ل. اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتر لاکتیس* در تیمارهای مختلف ماءالشعیر طی ۲۰ روز نگهداری یخچالی (۵°C) در فواصل ۵ روزه است. همان‌گونه که در جدول ۱ دیده می‌شود، ترتیب قابلیت‌زیستی تیمارهای حاوی پروبیوتیک‌ها در سرتاسر دوره نگهداری یخچالی از بیشترین به کمترین به صورت زیر است: *س. روکسی‌یی- بیفیدوباکتریوم> س. روکسی‌یی- ل. اسیدوفیلوس> س. سره‌ویسیه- بیفیدوباکتریوم> س. سره‌ویسیه - ل. اسیدوفیلوس.*

بیشترین قابلیت‌زیستی به تیمارهای تخمیرشده با *س. روکسی‌یی* متعلق است. به بیان دیگر، اتانول عاملی تعیین‌کننده در قابلیت‌زیستی باکتری‌های پروبیوتیک در ماءالشعیر است. همان‌گونه که در جدول ۱ دیده می‌شود، قابلیت‌زیستی باکتری *ل. اسیدوفیلوس* طی نگهداری یخچالی هنگامی‌که در ماءالشعیر تخمیرشده با مخمر *ساکارومایسس سره‌ویسیه* تلقیح می‌شود، به طور شگرف رو به کاهش می‌گذارد. حساسیت *ل. اسیدوفیلوس* به اتانول محیط، عاملی کلیدی در افت شگرف قابلیت‌زیستی آن است، از آن‌رو که اگرچه قابلیت‌بقا طی دوره نگهداری میان دو تیمار تخمیرشده با *س. روکسی‌یی* و تلقیح شده با *ل. اسیدوفیلوس* یا *بیفیدوباکتریوم* متفاوت است، اما خیلی چشمگیر نیست. در سرتاسر دوره نگهداری یخچالی *ل. اسیدوفیلوس* قابلیت زیستی خود را وقتی در ماءالشعیر تخمیرشده با *س. روکسی‌یی* تلقیح می‌شود، به‌طور معنی‌دار بیشتر حفظ

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-21]

می‌کند. با توجه به جدول ۱ سویه *بیفیدوباکتریوم* به کار برده شده در این مطالعه در قیاس با سویه مورد استفاده *ل. اسیدوفیلوس* نسبت به pH پایین مقاومت بیشتری دارد، از آن‌رو که در تیمارهای تخمیرشده با مخمرهای یکسان (*س. سره‌ویسیه* یا *س. روکسی‌یی*) باکتری نخست در سرتاسر دوره نگهداری یخچالی همواره قابلیت‌زیستی بالاتری دارد. در انتهای دوره نگهداری یخچالی، قابلیت‌زیستی *بیفیدوباکتریوم* حدود ۱/۵ دوره لگاریتمی بیشتر از *ل. اسیدوفیلوس* است.

درصد افت قابلیت‌زیستی این باکتری‌ها طی دوره نگهداری نسبت به دو نقطه مرجع (یعنی نسبت به شمارش زنده بلافاصله پس از تخمیر یا .d و نسبت به شمارش زنده در پایان هر دوره ۵ روزه نگهداری یخچالی) در جدول ۲ نشان داده شده است. در روز ۱۵ام نگهداری یخچالی، قابلیت زیستی *ل. اسیدوفیلوس* تخمیر شده توسط *س. سره‌ویسیه* تا ۹۹/۱٪ جمعیت اولیه کاهش می‌یابد. این مقادیر در روز ۱۵ام و در پایان دوره نگهداری یخچالی به ترتیب نزدیک به ۱۰۰٪ و خیلی نزدیک به ۱۰۰٪ هستند. در تیمار حاوی *ل. اسیدوفیلوس* تخمیر شده توسط *س. روکسی‌یی*، درصد افت قابلیت‌زیستی تا روز ۱۵ام ۸۶/۲٪ در قیاس با ۹۹/۱٪ در تیمار تخمیرشده با *س. سره‌ویسیه* است. در انتهای دوره تخمیر، موارد اشاره شده به ترتیب ۹۹/۹٪ در برابر ۱۰۰٪ هستند. سرعت افت قابلیت‌زیستی باکتری *ل. اسیدوفیلوس* در هر دو تیمار تخمیرشده با مخمرهای *س. سره‌ویسیه* و *س. روکسی‌یی* به تدریج از ابتدای دوره نگهداری تا پایان آن کاهش می‌یابد. همان‌گونه که در جدول ۲ دیده می‌شود، در تیمار تخمیرشده با مخمر *س. سره‌ویسیه*، سلول‌های *بیفیدوباکتریوم* قابلیت بقای خود را به‌طور معنی‌دار بیشتر ازسلول‌های *ل. اسیدوفیلوس* حفظ می‌کنند.

جدول ۱. تعداد سلول‌های زنده پروبیوتیک در تیمارهای مختلف طی ۲۰ روز نگهداری یخچالی در $5^{o}C$*

پروبیوتیک‌ها	مخمرها	تعداد سلول‌های زنده پروبیوتیک (log cfu/ml)				
		۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰
ل. اسیدوفیلوس	*س. سره‌ویسیه*	۹/۰۲^{aA}	۶/۹۹^{dB}	۵/۷۵^{dC}	۴/۶۳^{dD}	۳/۵۶^{dE}
	س. روکسی‌یی	۹/۰۱^{aA}	۸/۱۵^{bB}	۷/۴۳^{bC}	۶/۷۲^{bD}	۶/۰۳^{abE}
بیفیدوباکتریوم	*س. سره‌ویسیه*	۹/۰۲^{aA}	۷/۸۵^{cB}	۶/۹۰^{cC}	۶/۰۱^{cD}	۵/۱۵^{cE}
	س. روکسی‌یی	۹/۰۲^{aA}	۸/۳۲^{aB}	۷/۶۹^{aC}	۷/۰۹^{aD}	۶/۵۲^{aE}

*میانگین‌هایی که در یک ردیف و ستون با حروف بزرگ و کوچک (به ترتیب) نشان داده شده‌اند، به طور معنی‌دار با یکدیگر متفاوتند ($p<۰/۰۵$).

جدول ۲. درصد افت پروبیوتیک‌ها در تیمارهای مختلف طی ۲۰ روز نگهداری یخچالی در $5^{o}C$*

پروبیوتیک‌ها	مخمرها	درصد افت سلول‌های زنده پروبیوتیک			
		۰-۵	۵ -۱۰	۱۰ -۱۵	۱۵ -۲۰
ل. اسیدوفیلوس	*س. سره‌ویسیه*	۹۹/۱-۹۹/۱^{a}	۹۹/۹-۹۴/۲^{a}	~ ۱۰۰ -۹۲/۲^{a}	≈ ۱۰۰ -۹۱/۵^{a}
	س. روکسی‌یی	۸۶/۲-۸۶/۳^{c}	۹۷/۴-۸۰/۹^{c}	۹۹/۵-۸۰/۵^{c}	۹۹/۹-۷۹/۶^{c}
بیفیدوباکتریوم	*س. سره‌ویسیه*	۹۳/۲-۹۳/۲^{b}	۹۹/۲-۸۸/۸^{b}	۹۹/۹-۸۷/۱^{b}	~ ۱۰۰ -۸۶/۲^{b}
	س. روکسی‌یی	۸۰/۰-۸۰/۰^{d}	۹۵/۳-۷۶/۵^{cd}	۹۸/۸-۷۴/۹^{d}	۹۹/۷-۷۳/۱^{d}

* میانگین‌هایی که در یک ستون با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، به طور معنی‌دار با یکدیگر متفاوتند ($p<۰/۰۵$).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-21]

تغییرات pH طی دوره تخمیر: جدول ۳ نمایانگر مقادیر pH انواع تیمارها طی ۲۰ روز دوره نگهداری یخچالی است. مطابق با این جدول، سینتیک تغییرات pH در تیمارهای حاوی *ل. اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* مستقل از آن‌که ماءالشعیر تولیدی با مخمرهای *س. سره‌ویسیه* یا *س. روکسی‌یی* تخمیر شده باشد، تغییر معنی‌دار طی دوره نگهداری در برندارد. این واقعیت نمایانگر رشد نامحسوس این باکتری‌های پروبیوتیک در هر دو تیمار است. بر طبق جدول ۳، در ارتباط با تیمار تخمیرشده با *س. سره‌ویسیه*، مقدار pH از روز ۱۵ام تا ۲۰ام نگهداری یخچالی به طور نیمه- معنی‌دار افزایش می‌یابد.

تغییرات گرانش ماءالشعیر در طی دوره تخمیر: جدول ۴ نمایانگر شاخص گرانش ماءالشعیر است. به عبارت دیگر، قندهای تخمیری هم‌چون فروکتوز، مالتوز، مالتوتری‌از و مالتوتتراز که در ورت تخمیری موجود هستند (۱۰) به‌طور معنی‌دار به‌وسیله سلول‌های پروبیوتیک به مصرف نمی‌رسند.

تغییرات اتانول در طی دوره تخمیر: جدول ۵ نشانگر درصد اتانول تیمارهای مختلف طی دوره ۲۰ روزه نگهداری یخچالی است. همان‌طور که در این جدول مشخص است، مقدار اتانول ماءالشعیر تخمیرشده با *س. سره‌ویسیه* به‌طور معنی‌دار بیشتر از تیمار تخمیرشده با مخمر دیگر است (۲/۵٪ در برابر ۰/۲٪). مقدار بیشتر اتانول با مقدار کمتر شاخص گرانش ماءالشعیر (جدول ۴ و ۵) متناسب است. همانند *ل. اسیدوفیلوس*، *بیفیدوباکتریوم* در تیمارهای دارای مقدار اتانول کمتر، قابلیت‌زیستی بالاتر از خود نشان می‌دهد (یعنی در تیمار تخمیرشده با *س. روکسی‌یی* در مقایسه با تیمار تخمیرشده با *س. سره‌ویسیه*)؛ اما اختلاف قابلیت‌زیستی باکتری اخیر میان دو تیمار یادشده طی نگهداری یخچالی به اندازه تیمارهای مربوط به *ل. اسیدوفیلوس* مشهود نیست. برای مثال، در انتهای دوره نگهداری یخچالی، تیمارهای حاوی *ل. اسیدوفیلوس* تخمیرشده با *س. سره‌ویسیه* یا *س. روکسی‌یی* اختلاف قابلیت‌زیستی‌ای بیش از ۲ دوره لگاریتمی داشتند، حال آن‌که این مقدار برای تیمارهای حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* کمتر از ۱/۵ دوره لگاریتمی است.

جدول ۳. مقادیر pH در تیمارهای مختلف طی ۲۰ روز نگهداری یخچالی در $5^{o}C$*

پروبیوتیک‌ها	مخمرها	pH ماءالشعیر				
		۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰
ل. اسیدوفیلوس	*س. سره‌ویسیه*	$۴/۱۹^{aAB}$	$۴/۱۹^{aAB}$	$۴/۱۹^{aAB}$	$۴/۱۹^{aAB}$	$۴/۲۲^{aA}$
	س. روکسی‌یی	$۴/۲۰^{aA}$	$۴/۱۹^{aA}$	$۴/۲۰^{aA}$	$۴/۱۹^{aA}$	$۴/۱۹^{abA}$
بیفیدوباکتریوم	*س. سره‌ویسیه*	$۴/۲۰^{aAB}$	$۴/۲۰^{aAB}$	$۴/۲۰^{aAB}$	$۴/۲۰^{aAB}$	$۴/۲۲^{aA}$
	س. روکسی‌یی	$۴/۲۱^{aA}$	$۴/۲۱^{aA}$	$۴/۲۱^{aA}$	$۴/۲۱^{aA}$	$۴/۲۱^{aA}$

* میانگین‌هایی که در یک ردیف و ستون با حروف بزرگ و کوچک (به ترتیب) نشان داده شده‌اند، به‌طور معنی‌دار با یکدیگر متفاوتند ($p<۰/۰۵$).

جدول۴. مقدار شاخص گرانش در تیمارهای مختلف طی ۲۰ روز نگهداری یخچالی در $5^{o}C$*

پروبیوتیک ها	مخمرها	گرانش ماءالشعیر (درجه پلاتو)				
		۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰
ل. اسیدوفیلوس	*س. سره‌ویسیه*	$۴/۱^{bA}$	$۴/۱^{bA}$	$۴/۱^{bA}$	$۴/۱^{bA}$	$۴/۰^{bA}$
	س. روکسی‌یی	$۵/۴^{aA}$	$۵/۴^{aA}$	$۵/۳^{aA}$	$۵/۴^{aA}$	$۵/۴^{aA}$
بیفیدوباکتریوم	*س. سره‌ویسیه*	$۴/۱^{bA}$	$۴/۱^{bA}$	$۴/۱^{bA}$	$۴/۱^{bA}$	$۴/۱^{bA}$
	س. روکسی‌یی	$۵/۴^{aA}$	$۵/۴^{aA}$	$۵/۴^{aA}$	$۵/۳^{aA}$	$۵/۴^{aA}$

* میانگین‌هایی که در یک ردیف و ستون با حروف بزرگ و کوچک (به ترتیب) نشان داده شده‌اند، به طور معنی‌دار با یکدیگر متفاوتند ($p<۰/۰۵$)

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-21]

جدول ۵. مقادیر اتانول در تیمارهای مختلف طی ۲۰ روز نگهداری یخچالی در $5^{o}C$*

پروبیوتیک‌ها	مخمرها	درصد اتانول (حجمی)				
		۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰
ل. اسیدوفیلوس	*س. سره‌ویسیه*	۲/۵۰^{aA}	۲/۵۰^{aA}	۲/۵۰^{aA}	۲/۵۰^{aA}	۲/۵۰^{aA}
	س. روکسی‌یی	۰/۲۱^{bA}	۰/۲۱^{bA}	۰/۲۱^{bA}	۰/۲۱^{bA}	۰/۲۱^{bA}
بیفیدوباکتریوم	*س. سره‌ویسیه*	۲/۴۸^{aA}	۲/۴۸^{aA}	۲/۴۸^{aA}	۲/۴۹^{aA}	۲/۴۸^{aA}
	س. روکسی‌یی	۰/۲۰^{bA}	۰/۲۰^{bA}	۰/۲۰^{bA}	۰/۲۰^{bA}	۰/۱۹^{bA}

* میانگین‌هایی که در یک ردیف و ستون با حروف بزرگ و کوچک (به ترتیب) نشان داده شده‌اند، به‌طور معنی‌دار با یکدیگر متفاوتند ($p<۰/۰۵$).

بحث

بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه، بیشترین قابلیت‌های‌زیستی متعلق به تیمارهای تخمیرشده با *س. روکسی‌یی* است. به بیان دیگر، اتانول عامل تعیین‌کننده در قابلیت‌زیستی باکتری‌های پروبیوتیک در ماءالشعیر است. باکتری‌های پروبیوتیک نسبت به عوامل گوناگون تنش‌زا در محیط‌های غذایی، به‌ویژه فراورده‌های غذایی تخمیری، حساس هستند و قابلیت‌زیستی خود را در رویارویی با آن‌ها از دست می‌دهند. از جمله این عوامل می‌توان به میزان پایین pH، حدود بالای اسیدیته قابل تیتر، مقادیر بالای پتانسیل احیا، اکسیژن مولکولی در مورد بیفیدوباکتریوم‌ها، رقابت‌های میکروبی با کشت‌های حامی (Support/adjunct cultures) و دماهای بالای نگهداری اشاره داشت. دلیل دیگر برای کاهش بارز قابلیت زیستی *ل. اسیدوفیلوس* در ماءالشعیر می‌تواند مجاورسازی ناگهانی سلول‌ها با شرایط خطرزای محیط پس از تلقیح باشد که احتمالاً باعث واردآمدن شوک تنش به آن‌ها می‌شود. اثر شوک واردشده به سلول‌های پروبیوتیک ناشی از تلقیح ناگهانی آن‌ها به ماءالشعیر تازه‌ساخت، هم‌چنان که پیش‌تر در خصوص *ل. اسیدوفیلوس* توضیح داده شد، می‌تواند در کاهش قابلیت‌زیستی سلول‌های *بیفیدوباکتریوم* نیز موثر باشد. آشکار شده است که در شیر تخمیری با pH پایین (۴/۲ یا ۴/۰)، قابلیت‌زیستی سلول‌های پروبیوتیک که پیش از تخمیر به محیط شیر افزوده می‌شوند به‌طور قابل‌ملاحظه بیشتر از شرایطی است که این باکتری‌ها پس از اتمام تخمیر تلقیح می‌شوند. علت آن است که در شرایط نخست، پروبیوتیک‌ها از قابلیت بیشتر در سازگارشدن به محیط تخمیری برخوردار می‌شوند (۱۰).

سرعت افت قابلیت‌زیستی باکتری *ل. اسیدوفیلوس* در هر دو تیمار تخمیرشده با مخمرهای *س. سره‌ویسیه* و *س. روکسی‌یی* به تدریج از ابتدای دوره نگهداری تا پایان آن کاهش می‌یابد. این حالت بر افزایش تدریجی مقاومت سلول‌ها نسبت به شرایط سخت محیط دلالت دارد. با این وجود، میزان مقاومت *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* Bb-۱۲ در این ارتباط بیش از *ل. اسیدوفیلوس* La-۵ است. سلول‌های *بیفیدوباکتریوم* قابلیت بقای خود را به‌طور معنی‌دار بیشتر ازسلول‌های *ل. اسیدوفیلوس* حفظ می‌کنند، علت آن‌را می‌توان مقاومت بالاتر *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* Bb-۱۲ در مقایسه با *ل. اسیدوفیلوس* La-۵، در مقام نخست نسبت به اتانول محیط (۲/۵٪ حجمی) و سپس نسبت به حدود پایین pH دانست. pH پایین فراورده‌های تخمیری، از مهم‌ترین عوامل موثر در افت قابلیت‌زیستی پروبیوتیک‌ها است (۲، ۱). پایداری سلولی کشت‌های پروبیوتیک تجاری شرکت Chr-Hansen (*ل. اسیدوفیلوس* La-۵ و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* Bb-۱۲) طی دوره نگهداری یخچالی در شیرهای تخمیری با pHهای کوچک‌تر از ۴/۴ به طور چشمگیر کاهش می‌یابد (۱۳، ۱۲، ۱۱). pH نمونه‌های ماءالشعیر ساخته‌شده در این پژوهش نیز کمتر از ۴/۴ بوده است (pH = ۴/۲). گذشته از pH پایین ماءالشعیر، مقدار اتانول آن اثر شایان بر کاهش قابلیت‌زیستی *ل. اسیدوفیلوس* دارد؛ از آن‌رو که قابلیت‌زیستی این باکتری وقتی در ماءالشعیر تخمیرشده با مخمر *س. روکسی‌یی* تلقیح می‌شود، در قیاس با حالت تلقیح‌شده در تیمار تخمیرشده با مخمر *س. سره‌ویسیه*، به طور معنی‌دار بیشتر حفظ می‌شود. می‌توان چنین استدلال کرد که مجاورشدن سلول‌های *ل. اسیدوفیلوس* با محیطی که

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-21]

به‌طور تـوام دارای pH پـایین (۴/۲) و درصـد اتـانول حـدود ۲/۵٪ (حجمی) است سبب افت شگرف بقای آنهـا طـی دوره نگهداری یخچالی می‌شود، طـوری‌کـه تـا روز ۵ام، شـمارش زنده سلول‌ها به پایین مقدار استاندارد 10^7cfu/mL می‌رسد. تعداد یادشده برای برخـورداری فـراورده‌هـای پروبیوتیـک از حداقل ارزش دارویی، در لحظه مصـرف، در مقیـاس جهـانی پذیرفته شده است (۱). در مقابل، در تیمار دیگر (تخمیرشده با *س. روکسی‌یی*)، مقـدار 10^7cfu/mL تـا روز ۱۰ام حفـظ می‌شود. رشد بیش از حد (Overgrowth) سلول‌هـای مخمـر در فراورده کفیر (Kefir) دارای اثـر محدودکننـده بـر رشـد، فعالیت و قابلیت‌زیستی بـاکتری‌هـای اسـید لاکتیـک اسـت (۱۴). احتمالاً اثر بـازداری مخمرهـا بـر بـاکتری‌هـای اسـید لاکتیک از اتانول تولیدی آن‌ها ناشی می‌شـود. دانسـته شـده است که رشد اکثر گونه‌ها و سویه‌های *بیفیدوباکتریوم* به طور نسبی یا کامل در pH های پایین ۵/۰ محدود مـی‌شـود (۱). علت افزایش pH از روز ۱۵ام تا ۲۰ام نگهـداری یخچـالی در تیمار تخمیر شده بـا *س. سـره‌ویسـیه*، مـی‌توانـد خودکافـت (Autolysis) برخـی از سـلول‌هـای از پـیش کشـته‌شـده پروبیوتیک‌ها به سبب شرایط نامناسب محیط باشد. از آن‌جـا که این خاصیت در تیمارهای تخمیرشده با *س. روکسـی‌یـی* مشاهده نمی‌شود، می‌توان نتیجه گرفت که وجـود اتـانول در اثر تخمیر *س. سره‌ویسیه* سـبب افـزایش خودکافـت هـر دو باکتری پروبیوتیک می‌شود. نیز اسیدهای آمینـه، پپتیـدها و پروتئین‌های آزادشده از تلاشی سلول‌هـا سـبب افـزایش pH می‌شود.

نتایج به دست امده نشان مـی‌دهـد، قنـدهای تخمیـری مانند فروکتوز، مـالتوز، مـالتوتری‌از و مـالتوتتراز کـه در ورت تخمیری موجود هسـتند (۱۰) بـه‌طـور معنـی‌دار بـه‌وسـیله سلول‌های پروبیوتیک به مصرف نمـی‌رسـند. اگرچـه تمـامی قندهای یادشده به‌وسیله باکتری‌های پروبیوتیک به‌کار بـرده شده در این پژوهش قابل تخمیـر نیسـتند، ایـن بـاکتری‌هـا دست کم قادر به تخمیر قندهای ساده هستند (۱). شـاخص گرانش ماءالشعیر در تیمارهای دارای *بیفیـدوباکتریوم* بـدون تغییر باقی مـی‌مانـد کـه معنـای آن عـدم مصـرف قنـدهای تخمیری به وسیله سلول‌های این باکتری است.

بیفیدوباکتریوم لاکتیس از حساسیت کمتری نسـبت بـه اتانول در قیـاس بـا *لاکتوباسـیلوس اسـیدوفیلوس* برخـوردار است. با این وجود، اتانول بر قابلیت زیسـتی *بیفیـدوباکتریوم* اثر نامطلوب معنی‌دار دارد، زیرا قابلیت بقای ایـن بـاکتری در تیمارهای دارای *بیفیدوباکتریوم* تخمیرشده با *س. سره‌ویسیه* در مقایسه با تیمارهای حاوی *ل. اسیدوفیلوس* تخمیرشده بـا *س. روکسی‌یی* طـی دوره نگهـداری کمتـر اسـت. در تیمـار حاوی *بیفیدوباکتریوم* تخمیرشده با *س. روکسـی‌یـی*، مقـدار استاندارد قابلیت‌زیستی بـیش از 10^7cfu/mL دسـت کـم تـا پایان روز ۱۵ نگهداری یخچالی حفظ می‌شود.

افزون بر عوامل یادشـده در بـالا، ماءالشـعیر دارای انـواع فـراوان و گونـاگون ترکیبـات بـا خـواص بـاکتری‌ایسـتی (Bacteriostatic) یا باکتری‌کشی (Bacteriocidic) هم‌چون ترکیبات فنلی، مشتقات رازک و انـواع اسـیدهای آلـی اسـت (۱۵) که ممکن است سبب افزایش درصد افت قابلیت‌زیستی پروبیوتیک‌ها طی نگهداری یخچالی شوند. در ارتباط با اثرات منفرد و مشترک این ترکیبات بر قابلیت‌زیستی پروبیوتیک‌ها در ماءالشـعیر اطلاعـاتی در دسـت نیسـت کـه بایـد در پژوهش‌های مجزا مورد بررسی قرار گیرند.

سپاسگزاری

این مقاله از پایان‌نامه دانشجویی دانشـگاه علـوم پزشـکی شهید بهشتی استخراج شـده اسـت. بدینوسـیله از کمیتـه‌ی تحقیقات دانشـجویی بـه دلیـل حمایـت هـای مـالی تشـکر می‌شود.

References

1. Mortazavian AM, Sohrabvandi S. Probiotic products. In: Mortazavian AM, editor. Probiotics and food probiotic products based on dairy probiotic products. 1st ed. Tehran: Eta Publication; 2006: 330-72 [in Persian].
2. Tamime AY, Saarela M, Korslund Sondergaarda A, Mistry VV, Shah NP. Production and maintenance of viability of probiotic microorganisms in dairy products. In: Tamime A, editor. Probiotic Dairy Products. 1st ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2005: 39-63.
3. Prado FC, parada JL, Pandey A, Socol CR. Trends in non-dairy probiotic beverages –a review. J Food Res Int 2008; 41: 111-23.
4. Hardwick WA, editor. Handbook of Brewing. 2nd ed. New York: Marcel Dekker 1995. p. 551-586.
5. Bamforth CW. Nutritional aspects of beer: A review. Nutr Res 2002; 22: 227-37.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-21]

6. Lewis MJ, Younger TW, editors. Brewing. 1st ed. London: Chapman and Hall 1995. p. 232-42.

7. Sohrabvandi S, Mousavi SM, Razavi SH, Mortazavian AM, Rezaei K. Alcohol-free beer: methods of production, sensorial defects, and healthful effects. J Food Rev Int 2010; 26(4): 335-52.

8. Bernd S, Lutz-Guenther F, Frank I, Diana M, Bianaka S. Procedure for the production of probiotic wort extracts to produce malt-based beverage, comprises isolating special mash-acidifying bacterial strains from acidified malt mash and culturing autoclaved malt wort over several culture lines. Office EP; 2007: DE102005047899.

9. Mortazavian AM, Sohrabvandi S, Reinheimer JA. MRS-bile agar: Its suitability for the enumeration of mixed probiotic cultured dairy products. Milchwissenschaft 2007; 62(3): 270-72.

10. Nogueira LC, Silva F, Ferreira IM, Trugo LC. Separation and quantification of beer carbohydrates by high-performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection. J Chromatog 2005; 1065(2): 207-10.

11. Mortazavian AM. Effects of principle compositional factors and microencapsulation of probiotics on qualitative parameters of probiotic Doogh [dissertation]. Tehran: University of Tehran, PhD. Faculty of Nutrition Science and Food Technology; 2008 [in persian].

12. Mortazavian AM, Ehsani MR, Razavi SH, Mousavi SM, Sohrabvandi S, Reinheimer JA. Viability of calcium-alginate- microencapsulated probiotic bacteria in Iranian yogurt drink (Doogh) during refrigerated storage and under simulated gastrointestinal conditions. Aust J Dairy Technol 2008; 63(1): 24-29.

13. Mortazavian AM, Ehsani MR, Mousavi SM, Rezae K, Sohrabvandi S, Reinheimer JA. Effect of refrigerated storage temperature on the viability of probiotic microorganisms in yogurt. In J Dairy Tech 2007; 60(2): 23-27.

14. Tamime AY, editor. Fermented Milks. Oxford: Blackwell Science 2006. p. 174-98.

15. Hardwick WA, editor. Handbook of Brewing. New York: Marcel Dekker 1995. p. 551-86.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-21]

Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* in Ma-al-Shaeer during refrigerated storage

*Sohrabvandi S[1], Malganji Sh[*2], Eivani MJ[3], Khosravi-Darani K[4]*

1. *Assistant Prof., Dept. of Food Technology Research, National Nutrition and FoodTechnology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of MedicalSciences, Tehran, Iran.*
2. **Corresponding author: Dept. of Food Science and Technology, Khorasegan Branch, Islamic Azad University, Esfahan, Iran. E-mail: shirinmalganji@gmail.com*
3. *Students' Research Committee, Dept. ofFood Science and Technology,National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty ofNutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences,Tehran,Iran.*
4. *Associate prof, Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.*

Abstract

Background and objective: In recent years, there has been an increased interest among consumers to adapt healthy diets, which helps them with protection against diseases. As a consequence, the development of functional foods such as probiotic products has increased. Also, some reports indicate that Ma-al-shaeer is among the most popular beverages in the world. Considering both health benefits of probiotics and popularity of Ma-al-shaeer, the aim of this research is to study the viability of probiotic bacteria in both low-ethanol and non-ethanol Ma-al-shaeer during refregrated storage.

Material and Methods: Ma-al-shaeer was fermented using two yeasts (*Saccharomyces cerevisiae* 70424 and *Saccharomyces rouxii* 2531). Then, Probiotic microorganisms (*Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis*) were inoculated in Ma-al-shaeer at 5°C (after the inactivation of yeast cells by heat treatment) and stored for 20 days, during storage period the pH, ethanol content and viability of the probiotics were assessed.

Results: The largest decrease in viability was observed in fermented Ma-al-shaeer (by *Saccharomyces cerevisiae*) containing *L.acidophilus*, while, the slightest decrease was mentioned in fermented Ma-al-shaeer (by *Saccharomyces rouxii*) containing *B.lactis.*

Conclusion: Since Ma-al-shaeer contains bacteriostatic and bactericidic factors due to presence of Razak, So, this product could not be a suitable medium for the delivery of probiotic cells to the intestine.

Keywords: Ethanol, Ma-al-shaeer, Probiotic, Viability

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-21]