

بررسی اثرات دمای تخمیر و دو مخمر ساکارومایسس بر ویژگی‌های ماء‌الشعیر

شیرین مال گنجی^۱، آرمان جلیوند^۲، سارا سهراب‌وندی^۳

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد خوراسگان (اصفهان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

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

۳- نویسنده‌ی مسئول: استادیار گروه تحقیقات صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. پست الکترونیکی: sohrabv@sbmu.ac.ir

چکیده

سابقه و هدف: ماء‌الشعیر بدون الکل از جمله نوشیدنی‌های سلامت‌بخش و محبوب در سراسر جهان است و می‌تواند به عنوان جایگزین مناسبی برای نوشابه به‌شمار آید. با توجه به اهمیت این نوع نوشیدنی، هدف تحقیق حاضر بررسی اثرات مشترک دمای تخمیر و مخمرهای ساکارومایسس سرهویسیه و ساکارومایسس روکسی‌یی بر ویژگی‌های ماء‌الشعیر بدون الکل است.

مواد و روش‌ها: ابتدا عمل تخمیر ماء‌الشعیر با استفاده از مخمر ساکارومایسس سرهویسیه طی ۴۸ ساعت در دو دمای ۲۴°C و ۱۲°C انجام شد سپس در ساعت ۴۸ام تخمیر دو سویه مخمر (ساکارومایسس روکسی‌یی ۲۵۳۱ و ساکارومایسس روکسی‌یی ۲۵۳۵) به درون ماء‌الشعیر (پس از غیرفعال کردن مخمر ساکارومایسس سرهویسیه توسط فرایند حرارتی) تلقیح شدند و میزان افت pH و گرانش و مقدار اتانول مورد بررسی قرار گرفت. در پایان دوره تخمیر، میزان غلظت استالدئید، دی استیل و ۲-۳ پنتان‌دی‌ان و خواص حسی نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: بیشترین نرخ افت pH و گرانش در نمونه‌های تخمیری ساکارومایسس سرهویسیه مربوط به دمای ۲۴°C بود. میزان اتانول در تیمارهای تخمیری ساکارومایسس روکسی‌یی در دمای ۲۴°C از ساعت ۴۸ام به بعد، به طور چشمگیر کاهش یافت. غلظت مواد فرار و هم‌چنین ارزیابی حسی در تیمارهای دارای ساکارومایسس سرهویسیه، به ترتیب کمتر و بهتر بود.

نتیجه‌گیری: هرچند تولید ماء‌الشعیر رایج با استفاده از مخمر س. سرهویسیه در دمای تخمیر ۲۴°C، به دلیل توانایی این مخمر در کاهش میزان ترکیبات فرار عامل بدطعمی و رتی مناسب است ولی به منظور تولید ماء‌الشعیر بدون الکل استفاده توام س. سرهویسیه/س. روکسی‌یی در دمای ۲۴°C پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: اتانول، ساکارومایسس، ماء‌الشعیر، مخمر

مقدمه

الکل در کشورهای مختلف، یکسان نیست. به‌عنوان مثال، بیشینه مقدار اتانول ماء‌الشعیر بدون الکل در کشورهای عربی باید کمتر از ۱/۰٪ (V/V) باشد این موضوع در حالی است که میزان اتانول در کشورهای انگلستان، آلمان، هلند و ایران کمتر از ۵/۰٪ تعریف شده است (۱۰-۳). بنابراین اصطلاح "تقریباً عاری از الکل" زمانی می‌تواند استفاده شود که میزان اتانول بین ۵/۰-۰/۵ (V/V) باشد (۶، ۴). از آن‌جا که مصرف نوشیدنی‌های الکلی از دو جنبه فردی (اثرات ضدسلامتی) و اجتماعی (جنجال برانگیز بوده و در کشورهای اسلامی استفاده از این نوع نوشیدنی‌ها ممنوع است، بنابراین تولید ماء‌الشعیر بدون الکل با خواص حسی مطلوب اهمیت پیدا می‌کند (۱۲، ۱۱، ۶). روش‌های

ماء‌الشعیر یک نوشیدنی محبوب است که در سراسر جهان مصرف می‌شود. محبوبیت این نوشیدنی ناشی از طعم و ویژگی‌های حسی مطلوب و نیز قیمت کمتر آن در مقایسه با سایر نوشیدنی‌ها است (۱). گزارشات نشان می‌دهد اغلب ماء‌الشعیرهای تولید شده در دنیا حاوی ۳-۶٪ (V/V) اتانول هستند (۲، ۳). با این حال ماء‌الشعیر را با توجه به محتوای اتانول آن‌ها می‌توان به سه دسته کم الکل (حدود ۲-۳٪ اتانول)، متوسط (حدود ۵٪ اتانول) و زیاد (حدود ۱۲-۱۶٪ اتانول) تقسیم کرد (۴). در سال‌های اخیر سهم بازار در راستای تولید ماء‌الشعیر کم الکل و بدون الکل رو به افزایش است. به‌طور کلی، میزان اتانول در ماء‌الشعیرهای کم الکل کمتر از ۲/۵٪ (V/V) است. تعریف استاندارد ماء‌الشعیر بدون

(۱۴). میزان دی استیل و ۲ و ۳ پنتان‌دی‌آن با استفاده از گاز کروماتوگرافی (Thermo Electron Scientific Instrument Division) مجهز به آشکارساز جذب الکترون و فضای خالی خودکار دریچه تزریق با توجه به روش ماتیس و همکاران اندازه‌گیری شد (۱۵).

ارزیابی حسی: از ارزیاب‌های آموزش‌دیده به منظور ارزیابی حسی استفاده شد. چند زوج از تیمارها با استفاده از آزمون مقایسه دوتایی به صورت رشته‌ای مورد مقایسه قرار گرفتند (۱۶). تیمارها شامل دو گروه زیر بودند:

الف. س. سره‌ویسیه ۷۰۲۴/س. روکسی‌بی ۲۵۳۵ در 12°C با س. سره‌ویسیه ۷۰۲۴/س. روکسی‌بی ۲۵۳۱ در 12°C

ب. س. سره‌ویسیه ۷۰۲۴/س. روکسی‌بی ۲۵۳۵ در 24°C با س. سره‌ویسیه ۷۰۲۴/س. روکسی‌بی ۲۵۳۱ در 24°C

پس از ارزیابی تیمارهای یاد شده، تیمار مطلوب به منظور مقایسه با تیمارهای تخمیری با مخمر س. سره‌ویسیه در دو دمای 24°C و 12°C انتخاب شد. شاخص‌های مقایسه شامل جافتادگی طعم (Flavor maturity/fullness)، پذیرش کلی ماء‌الشعیر (Overall acceptability) و بوی نامطلوب (Taint) بودند (۱۶).

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

سینتیک افت pH در طی دوره تخمیر: جدول ۱ نشان‌دهنده شاخص‌های سینتیکی افت pH در تیمارهای طی ۹۶ ساعت تخمیر در دوره‌های زمانی ۲۴ ساعته است. بر اساس جدول ۱، مستقل از ترکیب مخمری مورد استفاده، بیشترین سرعت‌های افت pH طی دوره تخمیر در تیمارهای تخمیرشده در دمای 24°C در قیاس با تیمارهای تخمیرشده در 12°C مشاهده می‌شود ($p < 0.05$). نیز بیشترین سرعت افت pH میان تمامی تیمارها به انواع دارای س. سره‌ویسیه تخمیرشده در دمای 24°C مرتبط است. این موضوع در حالی است که بیشترین سرعت کاهش pH در گذر از ساعت ۲۴ به ۴۸ تخمیر در تیمارهای تخمیرشده در دمای 12°C و از ساعت ۰ تا ۲۴ تخمیر در تیمارهای تخمیرشده در دمای 24°C مشاهده می‌شود. در تیمارهای دارای مخمر س. روکسی‌بی، از ساعت ۴۸ تخمیر به بعد،

متعددی برای تولید صنعتی ماء‌الشعیر بدون الکل به کار گرفته شده است که دو روش حذف اتانول محصول و تخمیر محدود شده از جمله مهم‌ترین این روش‌ها هستند. محدود کردن تخمیر الکلی می‌تواند با استفاده از مخمرهای ویژه و توقف عملیات تخمیر به وسیله ترکیبات گوناگون و یا عوامل موثر در فرایند انجام پذیرد. لازم به یادآوری است تنها روش اخیر مورد تایید دین مقدس اسلام است (۱۳، ۶، ۴).

شواهد نشان می‌دهند از آن‌جا که گونه ساکارومایسس روکسی‌بی قادر به استفاده کارآمد از قند مالتوز (بیشترین قند قابل تخمیر در ورت) نبوده می‌تواند به‌عنوان تولیدکننده ضعیف اتانول در محیط ورت به‌شمار آید (۴). ساکارومایسس روکسی‌بی قادر به کاهش اتانول در محیط‌های محتوای کم قند است (۷). بنابراین، مطالعه حاضر به بررسی تاثیر به‌کارگیری مرحله‌ای مخمر ساکارومایسس سره‌ویسیه و دو سویه مخمر ساکارومایسس روکسی‌بی بر میزان اتانول، مواد طعم زای نامطلوب و خواص حسی ماء‌الشعیر بدون الکل می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایش: در ابتدا مخمر ساکارومایسس سره‌ویسیه (DSMZ, Braunschweig, Germany) به درون ورت تهیه شده از شرکت بهنوش تلقیح شد و فرایند تخمیر در دو دمای 24°C و 12°C به مدت ۴۸ ساعت انجام پذیرفت (۴). سپس سلول‌های مخمر ساکارومایسس سره‌ویسیه با اعمال فرایند حرارتی (دمای 85°C و ۱۰ دقیقه) غیرفعال شدند و پس از خنک شدن نمونه‌ها، افزودن دو سویه مخمر ساکارومایسس روکسی‌بی ۲۵۳۱ و DSM 2535 در تعداد تقریبی 10^7 cfu/ml انجام پذیرفت. عملیات تخمیر تا ۴۸ ساعت در دمای 24°C و تا ۹۶ ساعت در دمای 12°C ادامه داشت. سپس شاخص‌های افت pH، گرانش ورت و مقدار اتانول در دوره‌های زمانی ۲۴ ساعته از تخمیر و غلظت‌های استالیدی، دی‌استیل، ۲ و ۳ پنتان‌دی‌آن و ارزیابی حسی تیمارها در پایان دوره تخمیر مورد ارزیابی قرار گرفتند.

آنالیزهای شیمیایی: اتانول و گرانش ماء‌الشعیر با استفاده از دستگاه آنالیزر دیجیتالی ماء‌الشعیر (Anton Par, Austria) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. ارزیابی pH ورت و ماء‌الشعیر با استفاده از pH متر (MA 235, Mettler, Switzerland)، غلظت استالیدی به وسیله گاز کروماتوگرافی (Instrument Division, Dreieich, Germany) انجام پذیرفت

در تیمار تخمیرشده در دمای 24°C در قیاس با تیمار تخمیرشده در دمای 12°C بیشتر است.

جدول ۴ نمایان‌گر خاصیت اتانول-کاهی دو سویه س. روکسی‌یی است. بیشترین سرعت کاهش اتانول در تیمارهای حاوی س. روکسی‌یی 2535 تخمیرشده در 24°C (کاهش از 1.56% تا 0.36%) و حاوی س. روکسی‌یی 2531 تخمیرشده در 24°C (کاهش از 1.56% تا 0.40%) مشاهده می‌شود. در تیمارهای تخمیرشده فقط با س. سره‌ویسیه (24°C و 12°C)، مقدار اتانول در پایان ۹۶ ساعت تخمیر، به ترتیب 2.75 و 1.91% (حجمی) بود (جدول ۳). در مقابل، در تمامی تیمارهای دارای س. روکسی‌یی (تخمیرشده در 12°C یا 24°C)، مقدار اتانول به طور چشمگیر تا پایان دوره نگهداری یخچالی کاهش می‌یابد.

pH به طور قابل ملاحظه کم‌تر در مقایسه با تیمارهای فقط دارای مخمر س. سره‌ویسیه افت می‌کند.

سینتیک افت گرانش ورت طی تخمیر: مراجعه به جدول ۲ آشکار می‌سازد تا پایان دوره تخمیر، گرانش ورت با شیب به تدریج کمتر (به سبب کاهش سرعت رشد و در نتیجه، کاهش سرعت مصرف قند) نزول می‌کند. بیشترین سرعت‌های افت گرانش ورت در تیمارهای فقط دارای مخمر س. سره‌ویسیه مشاهده می‌شود.

مقدار اتانول در طی تخمیر: مطابق با جدول ۳، تا ساعت ۱۴۸ تخمیر، تولید مقدار اتانول به طور اساسی تابع دمای تخمیر است. به عبارت دیگر، میزان اتانول به‌طور معنی‌دار

جدول ۱. تغییرات افت pH در تیمارهای مختلف طی تخمیر

افت pH طی زمان های (ساعت) مختلف تخمیر					تیمارها
۹۶	۷۲	۴۸	۲۴	۰	
۳/۷۵	۳/۷۹	۳/۸۷	۳/۹۲	۴/۴	س. سره‌ویسیه - 24°C
۳/۸۷	۳/۸۸	۳/۹۰	۳/۹۲	۴/۴	س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌یی 2535 - 24°C
۳/۸۷	۳/۸۹	۳/۹۰	۳/۹۸	۴/۴	س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌یی 2531 - 24°C
۳/۹۹	۴/۰۱	۴/۰۹	۴/۳۰	۴/۴	س. سره‌ویسیه - 12°C
۴/۰۸	۴/۰۹	۴/۱۱	۴/۲۹	۴/۴	س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌یی 2535 - 12°C
۴/۰۸	۴/۱۰	۴/۱۳	۴/۳۱	۴/۴	س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌یی 2531 - 12°C

جدول ۲. تغییرات افت گرانش (درجه پلاتو) در تیمارهای مختلف طی تخمیر

افت گرانش (درجه پلاتو) طی زمان های (ساعت) مختلف تخمیر					تیمارها
۹۶	۷۲	۴۸	۲۴	۰	
۴/۰	۴/۳۰	۴/۷۰	۵	۶	س. سره‌ویسیه - 24°C
۴/۶۰	۴/۶۰	۴/۷۰	۵	۶	س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌یی 2535 - 24°C
۴/۶۰	۴/۷۵	۴/۷۰	۵	۶	س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌یی 2531 - 24°C
۴/۴۰	۴/۵۰	۴/۹۳	۵/۴۸	۶	س. سره‌ویسیه - 12°C
۴/۶۰	۴/۷۰	۴/۹۳	۵/۴۸	۶	س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌یی 2535 - 12°C
۴/۶۰	۴/۷۵	۴/۹۳	۵/۴۸	۶	س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌یی 2531 - 12°C

جدول ۳. تغییرات میزان اتانول در تیمارهای مختلف طی تخمیر

تیمارها	درصد اتانول (حجمی) طی زمان های مختلف تخمیر	۰	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶
س. سرهویسیه - ۲۴°C	۰	۰/۵	۱/۵۶	۲/۶	۲/۷۵	۰/۳۶
س. سرهویسیه/ س. روکسی بی ۲۵۳۵ - ۲۴°C	۰	۰/۵	۱/۵۶	۰/۴	۰/۳۶	۰/۴۰
س. سرهویسیه/ س. روکسی بی ۲۵۳۱ - ۲۴°C	۰	۰/۴	۱	۱/۶	۱/۹۱	۰/۱
س. سرهویسیه - ۱۲°C	۰	۰/۴	۱	۰/۲۵	۰/۱	۰/۳
س. سرهویسیه/ س. روکسی بی ۲۵۳۵ - ۱۲°C	۰	۰/۴	۱	۰/۶	۰/۳	۰/۳
س. سرهویسیه/ س. روکسی بی ۲۵۳۱ - ۱۲°C	۰	۰/۴	۱	۰/۶	۰/۳	۰/۳

جدول ۴. اثر اتانول - کاهی سویه های س. روکسی بی در انواع تیمارها طی تخمیر*

تیمارها	درصد اتانول (حجمی)	درصد اتانول (حجمی)	کاهش مقدار اتانول از ساعت ۴۸ تا ۹۶	نرخ کاهش مقدار اتانول (درصد اتانول / روز) از ساعت ۴۸ تا ۹۶
س. سرهویسیه/ س. روکسی بی ۲۵۳۵ - ۱۲°C	۱/۰۳	۰/۱۵	۰/۸۸	۰/۲۲
س. سرهویسیه/ س. روکسی بی ۲۵۳۵ - ۲۴°C	۱/۵۶	۰/۲۷	۱/۲۹	۰/۳۲
س. سرهویسیه/ س. روکسی بی ۲۵۳۱ - ۱۲°C	۱/۰۳	۰/۲۵	۰/۷۸	۰/۲۰
س. سرهویسیه/ س. روکسی بی ۲۵۳۱ - ۲۴°C	۱/۵۶	۰/۳۶	۱/۲۰	۰/۳۰

* میانگین هایی که در یک ستون با حروف متفاوت نشان داده شده اند، به طور معنی دار با یکدیگر متفاوتند ($p < 0.05$).

۳. س. سرهویسیه ۷۰۴۲۴ / س. روکسی بی ۲۵۳۵ - ۲۴°C) < س.
 سرهویسیه ۷۰۴۲۴ / س. روکسی بی ۲۵۳۵ - ۱۲°C) ($p < 0.05$)
 ۴. س. سرهویسیه ۷۰۴۲۴ - ۲۴°C) ≤ س. سرهویسیه ۷۰۴۲۴ / س.
 روکسی بی ۲۵۳۵ - ۲۴°C)

نتایج جدول ۶ نشان می دهد پذیرش کلی تیمارهای حاوی فقط س. سرهویسیه، به طور معنی دار بیشتر از تیمارهای دارای سویه های س. روکسی بی است و میان دو تیمار دارای س. روکسی بی ۲۵۳۵ و س. روکسی بی ۲۵۳۱ تخمیر شده در دماهای یکسان (۱۲ یا ۲۴°C) تفاوت حسی معنی دار وجود ندارد. در مقابل، تیمارهای دارای س. روکسی بی تخمیر شده در ۱۲°C در مقایسه با تیمار تخمیر شده در ۲۴°C، بدبویی بیشتر و پذیرش کلی کمتر را نتیجه می دهد. در تیمارهای حاوی س. روکسی بی تخمیر شده در ۱۲°C، غلظت استالدئید بالاتر از آستانه چشایی آن است. از این رو، بدبویی آلدئیدی (ورتنی) در ماءالشعیر ارزیابی حسی شده، مشهود است. اگرچه این بدبویی در تیمارهای دارای س. روکسی بی تخمیر شده در دمای ۲۴°C محسوس است، اما به طور معنی دار کمتر از تیمارهای مشابه تخمیر شده در دمای ۱۲°C تشخیص داده می شود.

غلظت استالدئید، دی استیل و ۳و۲-پنتان دی آن در پایان دوره تخمیر: جدول ۵ نشان دهنده غلظت های استالدئید، دی استیل و ۳ و ۲-پنتان دی آن در تیمارهای گوناگون در پایان دوره تخمیر است. همان گونه که در این جدول مشاهده می شود، غلظت این ترکیبات در تیمارهای دارای فقط مخمر س. سرهویسیه در مقایسه با انواع دارای مخمر س. روکسی بی به طور معنی دار کمتر است. غلظت ترکیبات یاد شده در تیمارهای تخمیر شده در دمای ۲۴°C در قیاس با تیمارهای تخمیر شده در دمای ۱۲°C به طور معنی دار کمتر است.

مقایسه های حسی دوتایی میان تیمارها در پایان دوره تخمیر: جدول ۶ نشان دهنده آزمون مقایسه دوتایی به صورت رشته ای (پی در پی) در پایان دوره تخمیر است. مطابق با این جدول، نتایج حاصل از این رشته - مقایسه ها به شرح زیر است:

۱. س. سرهویسیه ۷۰۴۲۴ / س. روکسی بی ۲۵۳۵ - ۱۲°C) = س. سرهویسیه ۷۰۴۲۴ - س. روکسی بی ۲۵۳۱ - ۱۲°C) ($p < 0.05$)
۲. س. سرهویسیه ۷۰۴۲۴ / س. روکسی بی ۲۵۳۵ - ۲۴°C) = س. سرهویسیه ۷۰۴۲۴ / س. روکسی بی ۲۵۳۱ - ۲۴°C) ($p < 0.05$)

جدول ۵. غلظت‌های ترکیبات فرار شامل استالدئید، دی استیل و ۲ و ۳ پنتان دی‌ان در تیمارهای مختلف

تیمارها	غلظت استالدئید (ppm)	غلظت دی استیل (ppm)	غلظت ۲ و ۳-پنتان دی- آن (ppm)
س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌بی ۱۲°C-۲۵۳۱	۴۱	۰/۶۱	۰/۴۹
س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌بی ۲۴°C-۲۵۳۱	۲۲	۰/۴۱	۰/۳۰
س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌بی ۱۲°C-۲۵۳۵	۴۳	۰/۶۳	۰/۵۰
س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌بی ۲۴°C-۲۵۳۵	۲۵	۰/۴۵	۰/۳۱
س. سره‌ویسیه- ۱۲°C	۲۰	۰/۴۰	۰/۲۱
س. سره‌ویسیه- ۲۴°C	۱۱	۰/۲۰	۰/۱۰

جدول ۶. آزمون حسی مقایسه دوتایی به‌صورت رشته‌ای میان تیمارها

تیمارهای مقایسه‌ای	جاذبات‌گی طعم	بدبویی	پذیرش کلی
س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌بی ۲۵۳۵- ۱۲°C و س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌بی ۲۵۳۱- ۱۲°C	($p > 0.05$)	($p > 0.05$)	($p > 0.05$)
س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌بی ۲۵۳۵- ۲۴°C و س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌بی ۲۵۳۱- ۲۴°C	($p > 0.05$)	($p > 0.05$)	($p > 0.05$)
س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌بی ۲۵۳۵- ۲۴°C و س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌بی ۲۵۳۵- ۱۲°C	($p > 0.05$)	س. روکسی‌بی ۲۵۳۵- ۲۴°C < س. روکسی‌بی ۲۵۳۵- ۱۲°C ($p < 0.05$)	س. روکسی‌بی ۲۵۳۵- ۲۴°C < س. روکسی‌بی ۲۵۳۵- ۱۲°C ($p < 0.05$)
س. سره‌ویسیه- ۲۴°C و س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌بی ۲۵۳۵- ۲۴°C	س. سره‌ویسیه- ۲۴°C < س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌بی ۲۵۳۵- ۲۴°C ($p < 0.05$)	س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌بی ۲۴°C < س. سره‌ویسیه- ۲۴°C ($p < 0.05$)	س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌بی ۲۴°C < س. سره‌ویسیه- ۲۴°C ($p < 0.05$)

بحث

بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه، از آن جا که دماهای بالاتر تخمیر به رشد بیشتر سلولی و در نتیجه تولید مقادیر بیشتر اسیدهای کربوکسیلیک و مصرف بیشتر ترکیبات نیتروژن دار منجر می‌شود، هر دو عامل یادشده سبب کاهش pH ورت طی تخمیر می‌شوند (۱۷). در دماهای ثابت تخمیر (۱۲ یا ۲۴°C)، تیمارهای تخمیرشده با هر دو مخمر س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌بی ۲۵۳۵ یا س. سره‌ویسیه/س. روکسی‌بی ۲۵۳۱ سرعت‌های افت pH به‌طور معنی‌دار تفاوت نداشتند ($p > 0.05$). این مشاهده نشان داد میان متغیرهای دمای تخمیر و ترکیب مخمری به کاررفته در خصوص اثر بر سینتیک افت pH طی دوره تخمیر اثر متقابل (Interactive/inter-related effect) وجود

ندارد و شدت اثر از نظر آماری وابسته به اثر منفرد متغیر دمای تخمیر است. مخمر س. روکسی‌بی در مقایسه با س. سره‌ویسیه رشد قابل ملاحظه در ورت نشان نمی‌دهد، زیرا گذشته از خاصیت کم-رشدی ژنتیکی آن، قادر به استفاده کارآمد از قند مالتوز (بیشترین قند قابل تخمیر در ورت) نیست.

نتایج به دست آمده نشان می‌دهد، در تیمارهای دارای س. روکسی‌بی، از ساعت ۴۸ تخمیر به بعد، مقدار اتانول به‌طور چشمگیر کاهش یافت. مخمر س. روکسی‌بی قادر به مصرف بخشی از اتانول موجود در محیط تحت شرایط هوازی (به‌ویژه زمانی که مقدار قند قابل تخمیر در محیط کم باشد) است (۷). طی ۴۸ ساعت اول تخمیر قندهای ساده

ورت (شامل ساکارز، فروکتوز و مالتوز، به ویژه قندهای اول و دوم) به وسیله س. سرموئسیه به مصرف می‌رسند و دیگر، س. روکسی‌یی در استفاده از قند مالتوز (بیشترین قند قابل تخمیر در ورت) ناتوان است، مخمر اخیر بایستی پس از تلقیح با کمبود منابع قندی قابل تخمیر در ورت مواجه شده باشد. همچنین، به‌کارگیری فرآیند هوادهی دوره‌ای ورت باعث قرار گرفتن دوره‌ای سلول‌های مخمر در شرایط هوازی می‌شود. مجموع شرایط شرح داده شده مصرف کارآمد اتانول محیط را باعث می‌شود. مخمر س. روکسی‌یی ۲۵۳۵ در کاهش سریع‌تر و بیشتر اتانول (به ویژه تا ساعت‌های حدود ۶۵ تخمیر) نسبت به س. روکسی‌یی ۲۵۳۱ در هر دو دمای تخمیر توانا تر است (جدول ۳) و دمای بالاتر تخمیر (۲۴°C در قیاس با ۱۲°C) مصرف اتانول با مخمرهای یادشده را به طور معنی‌دار افزایش می‌دهد.

بدطعمی ورتی در ماء‌الشعیر زمانی روی می‌دهد که آلدئیدهای تولیدشده طی فرآیندهای ورت-جوشانی و تخمیر به‌طور موثر به‌وسیله سلول‌های مخمر برای احیاشدن به اتانل باز-جذب نشوند (۱۹، ۱۱). سلول‌های مخمر اسیدهای آلفا-استوهیدروکسی را طی تخمیر ترشح می‌کنند. این ترکیبات متعاقباً از راه واکنش‌های غیرآنزیمی به ویسینال دی‌کتون‌ها (Vicinal diketones) (VDKs) (دی‌استیل و ۳و۲-پنتان دی‌آن) تبدیل می‌شوند. استالدئید، دی‌استیل و ۳و۲-پنتان دی‌آن بالاتر از غلظتی خاص عامل بدطعمی‌های ورتی/ورت-مانند (Worty/wort-like) و کره‌ای (Buttery) در ماء‌الشعیر است (۲۲، ۲۱، ۱۸، ۱۷). در تولید ماء‌الشعیر بدون الکل به روش تخمیر محدودشده، آلدئیدها در ورت اجتماع می‌یابند که دلیل آن باز-جذب نشدن موثر به داخل سلول‌های مخمر برای متابولیسم بیشتر است. گزارش شده است استفاده از انواع جهش‌یافته س. سرموئسیه (که در استفاده از قندهای قابل تخمیر ورت ناتوان است) برای تولید ماء‌الشعیر بدون الکل به ایجاد محصولی با بدطعمی ورتی به دلیل دارا بودن غلظت نسبتاً بالای استالدئید منجر می‌شود. اجتماع یافتن استالدئید در ورت صرف نظر از پدیدآمدن بدطعمی باعث ایجاد اختلال در متابولیسم سلول‌های مخمر می‌شود (۲۳). خاطرنشان می‌شود روش هوادهی دوره‌ای ورت در این پژوهش بایستی اثر کاهش‌دهنده بر غلظت آلدئیدها در ورت داشته باشد؛ از آن جا که این ترکیبات گذشته از باز-جذب به داخل سلول‌های مخمر، تحت شرایط هوازی به‌وسیله سلول‌های

مخمر به‌منظور تولید اسیدهای چرب غیراشباع مورد نیاز برای رشد، به مصرف می‌رسند (۲۵، ۲۴). این واقعیت که مقدار ترکیبات فرار استالدئید، دی‌استیل و ۳و۲-پنتان دی‌آن در تیمارهای تخمیرشده در دمای ۲۴°C در مقایسه با تیمارهای تخمیرشده در دمای ۱۲°C به‌طور معنی‌دار کمتر بود، می‌تواند بدین صورت توجیه شود که دماهای بالاتر تخمیر سبب تشدید حذف ترکیبات یادشده در اثر تبخیر شدن و همچنین فشار خروج گاز دی‌اکسیدکربن تولیدشده طی دوره تخمیر می‌شوند (۲۷، ۲۶، ۲۰). گ انجام تخمیر در دماهای بالاتر از نقطه جوش استالدئید (بیش از ۲۱°C) اثر قابل توجه در کاهش غلظت این ترکیب پایین‌تر از آستانه بویایی آن (۲۵ ppm) دارد (۲۸). در تحقیق حاضر، غلظت استالدئید فقط در تیمارهای دارای س. روکسی‌یی تخمیرشده در ۱۲°C بالاتر از این آستانه بود (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). بر مبنای جدول ۵، تفاوت معنی‌دار میان تیمارهای دارای س. روکسی‌یی (۲۵۳۵ و ۲۵۳۱) از نظر غلظت سه ترکیب فرار وجود ندارد. این موضوع نشان‌گر ویژگی‌های متابولیسمی مشابه این دو سویه مخمری است. تیمارهای حاوی فقط س. سرموئسیه، پذیرش کلی حسی به‌طور معنی‌دار بیشتر، در قیاس با تیمارهای دارای سویه‌های س. روکسی‌یی نشان می‌دهند. علت این امر را باید به نمایه (پروفیل) کاملاً متفاوت طعم در تیمار فقط دارای س. سره-ویسیه که ۹۶ ساعت با این مخمر تخمیر می‌شود با تیمارهای دارای تخمیر ثانویه دو سویه س. روکسی‌یی که فقط ۴۸ ساعت تخمیر با مخمر نخست را داراست، نسبت داد. پیش‌تر اشاره شد که س. روکسی‌یی دارای رشد ذاتاً کند در ورت است. از این گذشته، کمبود قندهای مناسب قابل تخمیر برای این مخمر در ورت پس از زمان تلقیح (ساعت ۴۸ تخمیر) همراه با به‌کارگیری شیوه هوادهی دوره‌ای سبب تشدید شرایط محدودشده تخمیر برای آن می‌شود. بنابراین، اجتماع یافتن ترکیبات فرار در تیمارهای دارای س. روکسی‌یی، به دلیل حذف ناکارآمد آن‌ها به‌وسیله سلول‌های این مخمر پس از ساعت ۴۸ تخمیر، سبب غلظت به‌طور معنی‌دار بالاتر آن‌ها در قیاس با تیمارهای تخمیرشده فقط با مخمر س. سرموئسیه شد.

مقدار اتانول بیشتر در تیمار فقط دارای س. سرموئسیه نیز در نمایه طعم آن اثر قابل توجه دارد. به‌طورکلی، ماء‌الشعیرهای بدون الکل دارای طعمی مصنوعی و بی‌طعم (Artificial and dull/bland) هستند (۱۷، ۱۰). درضمن

غلظت ترکیبات فرار استالدئید، دی استیل و ۳و۲ پنتا دی آن که عامل بدطعمی ورتی می‌باشند، معقول به نظر می‌رسد. شایان ذکر است که به منظور تولید ماءالشعیر بدون الککل استفاده توام س. سرمویسیه/ س. روکسی‌بی در دمای ۲۴°C پیشنهاد می‌شود.

سیاسگزاری

این مقاله از پایان‌نامه دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی استخراج شده‌است. بدینوسیله از کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی به دلیل حمایت‌های مالی تشکر می‌شود.

گفته شده است که اتانول بر بدطعمی ورتی اثر پوشانندگی دارد (۱۹). از این‌رو می‌توان انتظار داشت که مقدار آستانه بویایی بدطعمی ورتی در تیمارهای دارای اتانول پایین‌تر (تیمارهای دارای س. روکسی‌بی)، کم‌تر باشد. اضافه می‌شود که اگرچه تفاوت حسی میان تیمارهای تخمیرشده فقط با س. سرمویسیه به‌طور معنی‌دار متفاوت از تیمار حاوی س. روکسی‌بی تخمیرشده در دمای ۲۴°C بود، این تفاوت، به اندازه اختلاف بسیار زیاد موجود میان تیمار نخست و تیمار حاوی س. روکسی‌بی تخمیرشده در دمای ۱۲°C نبود. این مطالعه نشان داد، تولید ماءالشعیر با استفاده از مخمر تنها س. سرمویسیه در دمای ۲۴°C، به دلیل توانایی این مخمر در افت pH و گرانش ورت، همچنین کاهش

References

- Catarino M, Mendes A, Madeira L, Ferreira A. Beer dealcoholization by reverse osmosis. *Desalination* 2006; 200:397-399.
- Bamforth CW. Nutritional aspects of beer- a review. *Nutr Res* 2002; 22(1): 227-237.
- Hardwick WA, Van Oevelen DE, Novellie L, Yoshizawa K. Kinds of beer and beer- like beverages. In: Hardwick WA, editor. *Handbook of Brewing*. Marcel Dekker: New York, USA; 1995: 53-85.
- Sohrabvandi S. Optimization of alcohol- free beer production through the restricted fermentation practices [dissertation]. Tehran: The University of Tehran, PhD. Faculty of Food Science and Technology; 2009 [in persian].
- Anonymous. Beer. Available from: www.isir.org. Accessed 2007 Nov 10
- Caluwaerts HJJ. Process for the manufacture of an alcohol-free beer having the Organoleptic properties of a large type pale beer. US Patent ۱۹۹۵; 384,135 1995.
- Dziondziak K. Method for the production of alcohol-free beer. *Bio Ad* 1990; 8(2): 475.
- Huige NJ, Sanchez GW, Leidig AR. Process for preparing a nonalcoholic (less than 0.5 volume percent alcohol) malt beverages. US Patent 1990; 4,970,082.
- Lommi H, Swinkels W, Van Dieren B. Process for the production of non-alcoholic or low alcoholic malt beverages. US Patent 1997; 5,612,072.
- Lewis MJ, Younger TW. Beer quality and flavor. In: Lewis MJ, Younger TW, editors. *Brewing*. Chapman and Hall: London, UK; 1995.
- Zurcher C, Gruss R. Method of making alcohol-free or nearly alcohol-free beer. US Patent 1991; 5,077,061.
- Garcia AA, Cancho Grande B, Gandara JS. Development of rapid method based on solid-phase extraction and liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection for the determination of polyphenols in alcohol-free beers. *J Chromatogr* 2004; 1054(1-2): 175-180.
- Dziondziak k. Method for the production of low-alcohol or alcohol-free beer. US Patent 1989; 4,814.
- Lachenmeier DW, Sohnius EM. The role of acetaldehyde outside ethanol metabolism in the carcinogenicity of alcoholic beverages: Evidence from a large chemical survey. *Food Chem Toxicol* 2008; 46(8): 2903-2911.
- Mathis C, Pons MN, Engasser JM. Development of an on-line method for the monitoring of vicinal diketones and their precursors in beer fermentation. *Anal Chim Acta* 1993; 279(1): 59-66.
- Grub H. Sensory analysis in quality control. In: Ziegler E, Ziegler H, editors. *Flavoring*. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Netheland; 1998: 513-539.
- Hardwick WA. The properties of beer. In: Hardwick WA, editor. *Handbook of Brewing*. Marcel Dekker, New York, NY, USA; 1995: 551-586.

18. Munroe JH. Fermentation. In: Hardwick WA, editor. Handbook of Brewing. Marcel Dekker, New York, NY, USA; 1995: 323-354
19. Van Iersel MFM, Van Dieren B, Rombouts FM, Abee T. Flavor formation and cell physiology during the production of alcohol-free beer with immobilized *Saccharomyces cerevisiae*. Enzyme Microb Tech 1999; 24(7): 407-411.
20. Briggs DE, Boulton CA, Brookes PA, Stevens R. Beer flavor and sensory assessment. In: Briggs DE, editor. Brewing Science and Practice. CRC Press LLC, New York, NY, USA; 2004: 716-757
21. Debourg A, Laurent M, Goossens E, Borremans E, Van De Winkel L, Asschelein CA. Wort aldehyde reduction potential in free and immobilized yeast systems. Am Soc Brew Chem 1994; 52(3): 100-106.
22. Madigan D, Perez A, Clements M. Furanic aldehyde analysis by HPLC as a method to determine heat-induced flavor damage to beer. Am Soc Brew Chem 1998; 56(4): 146-151.
23. Gorinstein S, Zemser M, Vargas-Albores F, Ochoa JL, Praedes Lopez O, Scheler Ch, et al. Proteins and amino acids in beers, their contents and relationships with other analytical data. Food Chem 1999; 67(1): 71-78.
24. Perpete P, Collin S. Influence of beer ethanol content on the wort flavor perception. Food Chem 2000; 71(3): 379-385.
25. Van-Iersel MFM, Brouwer-Post E, Rombouts FM, Abee T. Influence of yeast immobilization on fermentation and aldehyde reduction during the production of alcohol-free beer. Enzyme Microb Tech 2000; 26(8): 602-607.
26. Van Dieren B, editor. Yeast Metabolism and the production of alcohol-free beer. BC-Monographs XXIV, Espoo, Finland 1995. P. 66-67.
27. Van Iersel MFM, Eppink MHM, Van Berkel WJH, Rombouts FM, Abee T. Purification and characterization of a novel NADP- dependent branched-chain alcohol dehydrogenase from *S.cervisiae*. Appl Environ Microb 1997; 63(10): 4079-4082.
28. Michaels AS, Canning RP, Hogan P. Methods for dealcoholization employing perstration. US Patent 1998; 5,817,359.

Effects of fermentation temperature and two *Saccharomyces* yeasts on non-alcoholic Ma-al-shaeer properties

Malganji Sh¹, Jalilvand A², Sohrabvandi S^{3*}

1. Dept. of Food Science and Technology, Khorasegan Branch, Islamic Azad University, Esfahan, Iran.
2. Students' Research Committee, Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3. *Corresponding author: Assistant Prof., Dept. of Food Technology Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. E-mail: sohrabv@sbmu.ac.ir

Abstract

Background and Objective: Non-alcoholic Ma-al-shaeer is among the most popular beverages in the world, and can be considered as an alternative to soft drinks. According to Its importance, the aim of this study was to consider the concurrent effects of fermentation temperature and *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces rouxii* yeasts on non-alcoholic Ma-al-shaeer properties.

Materials and Methods: Ma-al-shaeer was fermented using *Saccharomyces cerevisiae* at 12°C or 24°C for 48hr, under periodic aeration practice. After 48 hr of fermentation, Ma-al shaeer was subjected to heat treatment in order to inactive *Saccharomyces cerevisiae* cells and after cooling down, *Saccharomyces rouxii* DSM 2535 and *Saccharomyces rouxii* DSM 2531 were inoculated in to Ma-al-shaeer. The pH drop, gravity and ethanol content were analyzed. Also, the concentration of acetaldehyde, diacetyl, 2,3-pentanedione and sensory properties were assessed .

Results: The highest pH drop rate and gravity drop rate was observed for fermentation with *S. cerevisiae* at 24°C. Also, after 48 hr of fermentation, ethanol content start to decrease significantly for the treatment containing *S. rouxii* fermented at 24°C. In treatments containing only *S. cerevisiae*, the concentration of volatile compounds and also sensory evaluation were decreased and increased, respectively.

Conclusion: The production of common Ma-al-shaeer by using *S. cerevisiae* at 24°C fermentation is suitable due to Its ability to decrease volatile compounds, which present worthy off flavor ; However, for production of non-alcoholic Ma-al-shaeer successive application of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces rouxii* at 24°C is recommended.

Keywords: Ethanol, Ma-al-shaeer, *Saccharomyces*, Yeast