

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 فراورده‌های 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 کم‌الکل 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 روکسی‌بی) انجام شد. سپس پروبیوتیک‌ها (لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس) در دمای ۵°C به درون ماءالشعیر (پس از غیر فعال کردن 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 روکسی‌بی) حاوی بیفیدوباکتریوم، مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: از آن‌جا که ماءالشعیر دارای عوامل باکتری‌ایستی 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

می‌دهند بقای ریزنده‌های 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 طور کلی تعداد 10^6 cfu/ml و 10^7 cfu/ml سلول‌های زنده پروبیوتیک به ترتیب، به عنوان شاخص‌های قابل قبول و رضایت‌بخش معرفی شده‌اند (۱، ۲).

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

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 پادجھش‌زا و پادسرطان‌زا، 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

پذیرفت (۷) سپس سلول‌های مخمر با اعمال فرآیند حرارتی (دمای 85°C و ۱۰ دقیقه) غیرفعال شده و پس از خنک‌شدن نمونه‌ها، ریززنده‌های پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس / اسیدوفیلوس La-5 و بیفیدوباکتر لاکتیس Bb-12) در تعداد تقریبی 10^9 cfu/ml به درون ماء‌الشعیر تخمیری اضافه شد (۷). در نهایت، نگهداری نمونه‌ها در دمای 5°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

قابلیت زیستی و افت قابلیت زیستی ریززنده‌های 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 (5°C) در فواصل ۵ روزه است. همان‌گونه که در جدول ۱ دیده می‌شود، ترتیب قابلیت زیستی 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 قابلیت زیستی به تیمارهای تخمیر شده با س. روکسی‌یی متعلق است. به بیان دیگر، اتانول عاملی تعیین‌کننده در قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک در ماء‌الشعیر است. همان‌گونه که در جدول ۱ دیده می‌شود، قابلیت زیستی باکتری ل. / اسیدوفیلوس طی نگهداری یخچالی هنگامی که در ماء‌الشعیر تخمیر شده با مخمر ساکارومایسس سره‌ویسیه تلقیح می‌شود، به طور شگرف رو به کاهش می‌گذارد. حساسیت ل. / اسیدوفیلوس به اتانول محیط، عاملی کلیدی در افت شگرف قابلیت زیستی آن است، از آن‌رو که اگرچه قابلیت بقا طی دوره نگهداری میان دو تیمار تخمیر شده 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 تخمیر شده با س. روکسی‌یی تلقیح می‌شود، به‌طور معنی‌دار بیشتر حفظ

افزودن پروبیوتیک‌ها در سایر گروه‌های غذایی (محصولات غیرلبنی پروبیوتیک) نظیر غلات و محصولات قنادی، محصولات بر پایه سبزی‌ها، آب میوه‌ها و تنقلات 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 ۳-۶٪ (V/V) اتانول هستند (۵، ۴). با این حال، در سال‌های اخیر سهم بازار در راستای تولید ماء‌الشعیر کم‌الکل و ماء‌الشعیر بدون الکل رو به افزایش است (۶، ۷، ۴). اطلاعات اندکی در ارتباط با تخمیر نوشیدنی‌های بر پایه مالت با استفاده از لاکتوباسیلوس‌ها در دسترس است (۸، ۹). 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 قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس / اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتر لاکتیس در ماء‌الشعیر تازه‌ساخت (Fresh) کم‌الکل 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 pH متر اندازه‌گیری شد (Mettler, Switzerland). ریززنده‌های لاکتوباسیلوس / اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتر با استفاده از MRS آگار (Merck, Darmstadt, 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 12°C با استفاده از هوادهی دوره‌ای انجام

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 ۵ام ۸۶/۲٪ در قیاس با ۹۹/۱٪ در تیمار تخمیر شده 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 تخمیر شده 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 تخمیر شده با مخمر س. سره‌ویسیه، سلول‌های بیفیدوباکتریوم قابلیت بقای خود را به‌طور معنی‌دار بیشتر از سلول‌های ل. اسیدوفیلوس حفظ می‌کنند.

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 تخمیر شده 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 ۵ام نگهداری یخچالی، قابلیت‌زیستی ل. اسیدوفیلوس تخمیر شده توسط س. سره‌ویسیه تا

جدول ۱. تعداد سلول‌های زنده پروبیوتیک در تیمارهای مختلف طی ۲۰ روز نگهداری یخچالی در ۵°C*

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

* میانگین‌هایی که در یک ردیف و ستون با حروف بزرگ و کوچک (به ترتیب) نشان داده شده‌اند، به طور معنی‌دار با یکدیگر متفاوتند ($p < 0.05$).

جدول ۲. درصد افت پروبیوتیک‌ها در تیمارهای مختلف طی ۲۰ روز نگهداری یخچالی در ۵°C*

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

* میانگین‌هایی که در یک ستون با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، به طور معنی‌دار با یکدیگر متفاوتند ($p < 0.05$).

یخچالی است. همان طور که در این جدول مشخص است، مقدار اتانول ماءالشعیر تخمیر شده با س. سرهویسیه به طور معنی دار بیشتر از تیمار تخمیر شده 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، قابلیت زیستی بالاتر از خود نشان می دهد (یعنی در تیمار تخمیر شده با س. روکسی بی در مقایسه با تیمار تخمیر شده با س. سرهویسیه)؛ اما اختلاف قابلیت زیستی باکتری اخیر میان دو تیمار یاد شده طی نگهداری یخچالی به اندازه تیمارهای مربوط به ل. اسیدوفیلوس مشهود نیست. برای مثال، در انتهای دوره نگهداری یخچالی، تیمارهای حاوی ل. اسیدوفیلوس تخمیر شده با س. سرهویسیه یا س. روکسی بی اختلاف قابلیت زیستی ای بیش از ۲ دوره لگاریتمی داشتند، حال آن که این مقدار برای تیمارهای حاوی بیفیدوباکتریوم لاکتیس کمتر از ۱/۵ دوره لگاریتمی است.

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 آن که ماءالشعیر تولیدی با مخمرهای س. سرهویسیه یا س. روکسی بی تخمیر شده باشد، تغییر معنی دار طی دوره نگهداری در بر ندارد. این واقعیت نمایانگر رشد نامحسوس این باکتری های پروبیوتیک در هر دو تیمار است. بر طبق جدول ۳، در ارتباط با تیمار تخمیر شده با س. سرهویسیه، مقدار pH از روز ۱۵ام تا ۲۰ام نگهداری یخچالی به طور نیمه- معنی دار افزایش می یابد.

تغییرات گرانش ماءالشعیر در طی دوره تخمیر: جدول ۴ نمایانگر شاخص گرانش ماءالشعیر است. به عبارت دیگر، قندهای تخمیری هم چون فروکتوز، مالتوز، مالتوتریاز و مالتوتتراز که در ورت تخمیری موجود هستند (۱۰) به طور معنی دار به وسیله سلول های پروبیوتیک به مصرف نمی رسند. **تغییرات اتانول در طی دوره تخمیر:** جدول ۵ نشانگر درصد اتانول تیمارهای مختلف طی دوره ۲۰ روزه نگهداری

جدول ۳. مقادیر pH در تیمارهای مختلف طی ۲۰ روز نگهداری یخچالی در ۵°C*

pH ماءالشعیر					مخمرها	پروبیوتیک ها
۲۰	۱۵	۱۰	۵	۰		
۴/۲۲ ^{aA}	۴/۱۹ ^{aAB}	۴/۱۹ ^{aAB}	۴/۱۹ ^{aAB}	۴/۱۹ ^{aAB}	س. سرهویسیه	ل. اسیدوفیلوس
۴/۱۹ ^{abA}	۴/۱۹ ^{aA}	۴/۲۰ ^{aA}	۴/۱۹ ^{aA}	۴/۲۰ ^{aA}	س. روکسی بی	
۴/۲۲ ^{aA}	۴/۲۰ ^{aAB}	۴/۲۰ ^{aAB}	۴/۲۰ ^{aAB}	۴/۲۰ ^{aAB}	س. سرهویسیه	بیفیدوباکتریوم
۴/۲۱ ^{aA}	۴/۲۱ ^{aA}	۴/۲۱ ^{aA}	۴/۲۱ ^{aA}	۴/۲۱ ^{aA}	س. روکسی بی	

* میانگین هایی که در یک ردیف و ستون با حروف بزرگ و کوچک (به ترتیب) نشان داده شده اند، به طور معنی دار با یکدیگر متفاوتند (p < ۰/۰۵).

جدول ۴. مقدار شاخص گرانش در تیمارهای مختلف طی ۲۰ روز نگهداری یخچالی در ۵°C*

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

* میانگین هایی که در یک ردیف و ستون با حروف بزرگ و کوچک (به ترتیب) نشان داده شده اند، به طور معنی دار با یکدیگر متفاوتند (p < ۰/۰۵).

جدول ۵. مقادیر اتانول در تیمارهای مختلف طی ۲۰ روز نگهداری یخچالی در ۵°C*

پروبیوتیک‌ها	مخمرها	درصد اتانول (حجمی)				
		۲۰	۱۵	۱۰	۵	۰
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}	۲/۴۹ ^{aA}	۲/۴۸ ^{aA}	۲/۴۸ ^{aA}	۲/۴۸ ^{aA}
	س. روکسی‌یی	۰/۱۹ ^{bA}	۰/۲۰ ^{bA}	۰/۲۰ ^{bA}	۰/۲۰ ^{bA}	۰/۲۰ ^{bA}

* میانگین‌هایی که در یک ردیف و ستون با حروف بزرگ و کوچک (به ترتیب) نشان داده شده‌اند، به‌طور معنی‌دار با یکدیگر متفاوتند ($p < 0.05$).

بحث

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 از سلول‌های ل. اسیدوفیلوس حفظ می‌کنند، علت آن را 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 فرآورده‌های تخمیری، از مهم‌ترین عوامل موثر در افت قابلیت‌زیستی پروبیوتیک‌ها است (۱، ۲). 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 به‌طور چشمگیر کاهش می‌یابد (۱۱، ۱۲، ۱۳). 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، به‌طور معنی‌دار بیشتر حفظ می‌شود. می‌توان چنین استدلال کرد که مجاور شدن سلول‌های ل. اسیدوفیلوس با محیطی که

بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه، بیشترین قابلیت‌های زیستی 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 فرآورده‌های 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 تیتراژ، مقادیر بالای پتانسیل احیا، اکسیژن مولکولی در مورد بیفیدوباکتریوم، رقابت‌های میکروبی با کشت‌های حامی (Support/adjunct cultures) و دماهای بالای نگهداری اشاره داشت. دلیل دیگر برای کاهش بارز قابلیت‌زیستی ل. اسیدوفیلوس در ماء‌الشعیر می‌تواند مجاورسازی ناگهانی سلول‌ها با شرایط خطرناک محیط پس از تلقیح باشد که احتمالاً باعث وارد آمدن 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 سازگار شدن به محیط تخمیری برخوردار می‌شوند (۱۰).

شده در این پژوهش قابل تخمیر نیستند، این باکتری‌ها دست کم قادر به تخمیر قندهای ساده هستند (۱). شاخص گرانش ماء‌الشعیر در تیمارهای دارای بیفیدوباکتریوم بدون تغییر باقی می‌ماند که معنای آن عدم مصرف قندهای تخمیری به وسیله سلول‌های این باکتری است.

بیفیدوباکتریوم لاکتیس از حساسیت کمتری نسبت به اتانول در قیاس با لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس برخوردار است. با این وجود، اتانول بر قابلیت زیستی بیفیدوباکتریوم اثر نامطلوب معنی‌دار دارد، زیرا قابلیت بقای این باکتری در تیمارهای دارای بیفیدوباکتریوم تخمیر شده با س. سره‌ویسیه در مقایسه با تیمارهای حاوی ل. اسیدوفیلوس تخمیر شده با س. روکسی‌یی طی دوره نگهداری کمتر است. در تیمار حاوی بیفیدوباکتریوم تخمیر شده با س. روکسی‌یی، مقدار استاندارد قابلیت زیستی بیش از 10^7 cfu/mL دست کم تا پایان روز ۱۵ نگهداری یخچالی حفظ می‌شود.

افزون بر عوامل یادشده در بالا، ماء‌الشعیر دارای انواع فراوان و گوناگون ترکیبات با خواص باکتری‌ایستی (Bacteriostatic) یا باکتری‌کشی (Bacteriocidal) هم‌چون ترکیبات فنلی، مشتقات رازک و انواع اسیدهای آلی است (۱۵) که ممکن است سبب افزایش درصد افت قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها طی نگهداری یخچالی شوند. در ارتباط با اثرات منفرد و مشترک این ترکیبات بر قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها در ماء‌الشعیر اطلاعاتی در دست نیست که باید در پژوهش‌های مجزا مورد بررسی قرار گیرند.

سپاسگزاری

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

به‌طور توأم دارای pH پایین (۴/۲) و درصد اتانول حدود ۲/۵٪ (حجمی) است سبب افت شگرف بقای آنها طی دوره نگهداری یخچالی می‌شود، طوری که تا روز ۵ام، شمارش زنده سلول‌ها به پایین مقدار استاندارد 10^7 cfu/mL می‌رسد. تعداد یادشده برای بر خورداری فراورده‌های پروبیوتیک از حداقل ارزش دارویی، در لحظه مصرف، در مقیاس جهانی پذیرفته شده است (۱). در مقابل، در تیمار دیگر (تخمیر شده با س. روکسی‌یی)، مقدار 10^7 cfu/mL تا روز ۱۰ام حفظ می‌شود. رشد بیش از حد (Overgrowth) سلول‌های مخمر در فراورده کفیر (Kefir) دارای اثر محدودکننده بر رشد، فعالیت و قابلیت زیستی باکتری‌های اسید لاکتیک است (۱۴). احتمالاً اثر بازدارنده مخمرها بر باکتری‌های اسید لاکتیک از اتانول تولیدی آنها ناشی می‌شود. دانسته شده است که رشد اکثر گونه‌ها و سویه‌های بیفیدوباکتریوم به طور نسبی یا کامل در pH های پایین ۵٫۰ محدود می‌شود (۱). علت افزایش pH از روز ۱۵ام تا ۲۰ام نگهداری یخچالی در تیمار تخمیر شده با س. سره‌ویسیه، می‌تواند خودکافت (Autolysis) برخی از سلول‌های از پیش کشته‌شده پروبیوتیک‌ها به سبب شرایط نامناسب محیط باشد. از آنجا که این خاصیت در تیمارهای تخمیر شده با س. روکسی‌یی مشاهده نمی‌شود، می‌توان نتیجه گرفت که وجود اتانول در اثر تخمیر س. سره‌ویسیه سبب افزایش خودکافت هر دو باکتری پروبیوتیک می‌شود. نیز اسیدهای آمینه، پپتیدها و پروتئین‌های آزادشده از تلاشی سلول‌ها سبب افزایش pH می‌شود.

نتایج به دست آمده نشان می‌دهد، قندهای تخمیری مانند فروکتوز، مالتوز، مالتوتری‌از و مالتوتراز که در ورت تخمیری موجود هستند (۱۰) به‌طور معنی‌دار به‌وسیله سلول‌های پروبیوتیک به مصرف نمی‌رسند. اگرچه تمامی قندهای یادشده به‌وسیله باکتری‌های پروبیوتیک به کار برده

References

- 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].
- Tamime AY, Saarela M, Korslund Sondergaard 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.
- Prado FC, Parada JL, Pandey A, Socol CR. Trends in non-dairy probiotic beverages –a review. J Food Res Int 2008; 41: 111-23.
- Hardwick WA, editor. Handbook of Brewing. 2nd ed. New York: Marcel Dekker 1995. p. 551-586.
- Bamforth CW. Nutritional aspects of beer: A review. Nutr Res 2002; 22: 227-37.

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, Rezaei 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.

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

Sohrabvandi S¹, Malganji Sh^{*2}, Eivani MJ³, Khosravi-Darani K⁴

1. 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.
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. 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.
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 refrigerated 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 bactericidal 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