مطالعه مقایسه‌ایی از اثر تخمیر بر قابلیت آنتی‌اکسیدانی شیر و شیر سویای حرارت دیده

سحر ترکی باغبادرانی[۱]، محمدرضا احسانی[۲]، مریم میرلوحی[۳]، حمید عزت پناه[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: بر اساس تحقیقات موجود، تخمیر شیر و شیر سویا با باکتری‌های لاکتیک به افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها می‌انجامد، در مطالعه قبلی ما، تخمیر شیر و شیر سویای فرادما با یک سویه بومی از *لاکتوباسیلوس پلانتارم* قابلیت آنتی‌اکسیدانی در شیر سویای فرادما را کاهش داد. بنابراین بررسی اثر سویه باکتریایی و شدت فرایند حرارتی متحمل شده بر نمونه‌های استریلیزه و پاستوریزه غیر تخمیری و تخمیر شده شیر و شیر سویا در تحقیق حاضر مورد پژوهش قرار گرفت.

روش‌ها: بررسی افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی به روش اثر مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH·(1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) تخمیر با سه سویه متفاوت از *لاکتوباسیلوس لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* انجام شد.

یافته‌ها: اثر مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH در نمونه‌های (پاستوریزه و استریلیزه) شیر سویا و شیر گاو به ترتیب (۶/۶۷ ± ۳۱/۸۴، ۰/۹۹ ± ۳۵/۹۳) و (۲/۳۴ ± ۱۴/۹۹، ۲/۴۱ ± ۱۵/۲۴) حاصل شد. شاخص فوق طی تخمیر با سویه‌های مختلف مستقل از سویه باکتریایی، در شیر سویای پاستوریزه و استریلیزه به ترتیب ۳/۵۰ ± ۴۵/۰۴ و ۱۲/۲۱ ± ۲۴/۳۶ و در نمونه‌های مشابه شیر گاو به ترتیب مقادیر ۵/۲۴ ± ۲۵/۱۰ و ۴/۰۱ ± ۲۴/۳۸ به دست آمد.

نتیجه‌گیری: تخمیر شیر سویای پاستوریزه و استریلیزه به ترتیب منجر به افزایش و کاهش قابلیت آنتی‌اکسیدانی آن می‌شود. در صورتی که در مورد نمونه‌های تخمیری شیر، قابلیت آنتی‌اکسیدانی به طور مستقل از نوع فرایند حرارتی به کار رفته سبب افزایش قابلیت فوق می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: شیر، شیرسویا، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، قابلیت آنتی‌اکسیدانی

ارجاع: ترکی باغبادرانی سحر، احسانی محمدرضا، میرلوحی مریم، عزت پناه حمید. **مطالعه مقایسه‌ایی از اثر تخمیر بر قابلیت آنتی‌اکسیدانی شیر و شیر سویای حرارت دیده.** مجله تحقیقات نظام سلامت ۱۳۹۲؛ ۹ (۲): ۱۶۹-۱۵۹.

دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۳/۹ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۱۰/۳۰

Archive of SID

مقدمه

امروزه شیر سویا به عنوان یک فرآورده عملگرا مورد توجه قرار گرفته است. به طوری که با وجود ترکیبات فنولیک و قابلیت آنتی‌اکسیدانی بالای حاصل از آن‌ها مصرف آن توسط متخصصین تغذیه توصیه می‌شود (۵-۱). مقایسه ترکیب شیمیایی شیر و شیر سویا نشان می‌دهد که وجود ترکیبات

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۲- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۳- استادیار، مرکز تحقیقات امنیت غذایی، گروه صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران (نویسنده مسؤول)
Email: m_mirlohi@hlth.mui.ac.ir
۴- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

www.SID.ir
www.mui.ac.ir

ایزوفلاونوئیدی، چربی‌های غیر اشباع، همچنین میزان فسفر پایین و عدم حضور لاکتوز در شیر سویا ممکن است جایگزینی آن به جای شیر در رژیم غذایی روزانه برای برخی از افراد، خواص سودمندی را در پی داشته باشد. در بسیاری از مطالعات کلینیکی ترکیبات ایزوفلاونوئیدی به دلیل اعمال قابلیت آنتی‌اکسیدانی به عنوان عوامل کاهنده التهاب در بیماران فوق مورد توجه قرار گرفته‌اند (۹-۶). در یکی از مطالعات اخیر، مصرف شیر سویای فرادما به جای شیر گاو فرادما در بیماران دیابتی به خصوص افراد مبتلا به نفروپاتی نوع دو، منجر به کاهش نسبی فرایندهای التهابی در بیماران شد (۸). نویسندگان مقاله حاضر نمونه‌های شیر سویا و شیر مورد استفاده در مطالعه اخیر را از نظر قابلیت آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی قرار داده و مشخص شد که این قابلیت در شرایط برون زیستی نیز قابل تشخیص است (۱۰). علاوه بر این، نتایج مطالعات اخیر در مورد تخمیر با گونه‌های لاکتیک اسید باکتریا افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی شیر و شیر سویا را در بر داشته است (۱۰، ۴، ۱). بنابراین در مطالعه قبلی، اثر تخمیر هر دو فرآورده با باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* A7 در تغییر خواص آنتی‌اکسیدانی نیز بررسی گردید (۱۰). نتایج درمورد تخمیر شیر گاو فرادما با مطالعات فوق همسو بود و تخمیر موجب افزایش این قابلیت در شیر گاو گردید، اما در مورد نمونه شیر سویا تخمیر موجب کاهش این قابلیت گردید که با نتیجه اکثر موارد مشابه در تناقض می‌باشد. نوع سویه مورد استفاده و شدت فرایند حرارتی اعمال شده بر محصولات مورد آزمایش در نتیجه به دست آمده مؤثر قلمداد شد.

بنابراین در مطالعه حاضر جهت بررسی دقیق‌تر اثر سویه باکتریایی مورد استفاده، به غیر از سویه باکتری مورد استفاده در مطالعه قبلی، دو سویه *لاکتوباسیلوس* پروبیوتیک تجارتی و جهت بررسی اثر فرایند حرارتی به غیر از محصولات فرادمای مورد استفاده در مطالعه قبلی، انواع شیر و شیر سویای تجارتی پاستوریزه نیز مورد آزمایش قرار گرفت.

متغیرهای فوق به این دلیل انتخاب شدند که در بسیاری موارد، خواص باکتری‌های لاکتیک به سویه‌ای خاص نسبت داده شده است. علاوه بر این، در برخی از مطالعات، به از بین رفتن ترکیبات فنولیک در حین فرایند حرارتی اشاره شده است (۱۱). هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر تخمیر شیر و شیر سویای فرادما و پاستوریزه با سوش‌های مختلفی از گونه *لاکتوباسیلوس* با سابقه پروبیوتیکی بر تغییر خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها می‌باشد.

روش‌ها

مشخصات نمونه‌های شیر و شیر سویای فرادما و پاستوریزه

نمونه‌های شیر (۱/۵ درصد چربی) و شیر سویای ساده (۱ درصد چربی) فرادما به ترتیب از شرکت میهن و مک سوی و نمونه‌های شیر و شیر سویای پاستوریزه به ترتیب از شرکت دامداران و شیر سویای اصفهان فراهم گردید. بر اساس اطلاعات تولید کننده، نمونه شیر مورد استفاده در ۱۰۰ ml دارای ترکیبات شامل ۳/۳ g پروتئین، ۴/۹ g کربوهیدرات، ۱/۵ g چربی، ۰/۶ g مواد معدنی، ۱۰۰ mg کلسیم و ۱۲۰ mg فسفر بود. همچنین نمونه شیر سویای مورد استفاده در ۱۰۰ ml دارای ترکیبات شامل ۲/۵ g پروتئین، ۵/۵ g کربوهیدرات، ۱/۰ g چربی، ۴۰ mg کلسیم و ۴۰ mg سدیم بود. علاوه بر این، جهت اطمینان از دقت ترکیبات اعلام شده، اندازه‌گیری چربی شیر با روش ژربر (۱۲) و اندازه‌گیری چربی شیر سویا با روش فلش (۱۳) انجام شد. کربوهیدرات در هر دو نمونه با روش فهلینگ اندازه‌گیری شد. در مورد شیر سویا فاکتور تصحیح برای گزارش ساکارز در نظر گرفته شد.

آماده‌سازی ۳ سویه لاکتوباسیلوس

سویه‌های باکتریایی متعلق به سه گونه باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* از کلکسیون میکروبی آزمایشگاه مرکز تحقیقات امنیت مواد غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انتخاب شدند (۱۵، ۱۴). سویه‌های مورد بررسی لاکتیک اسید باکتریایی در محیط کشت MRS به میزان ۲ درصد (V/V) تلقیح و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ $^{\circ}C$ در ۲ تکرار فعال شدند. سپس از کشت مایع تازه فعال شده هر کدام از باکتری‌ها برای کشت

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

در محیط شیر و شیر سویا استفاده شد.

تخمیر شیر و شیر سویای استریلیزه و پاستوریزه

نمونه‌های شیر و شیر سویای استریلیزه و پاستوریزه به میزان ۲۰۰ ml تحت شرایط استریل در داخل بطری‌های شیشه‌ای ریخته شدند. سپس از کشت مایع تازه فعال شده هر کدام از باکتری‌ها با دانسیته نوری ۲/۸ (*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*) و ۲/۹ (*لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*) در طول موج ۶۲۰ نانومتر به محیط‌های تخمیر بر پایه شیر گاو و شیر سویای استریلیزه و پاستوریزه به میزان ۴ درصد تلقیح شد. سپس ظروف تخمیر در انکوباتور در دمای ۳۷ $^{\circ}C$ تا تشکیل لخته و رسیدن به pH ۰/۲۵ ± ۴/۶ (۴/۶–۴/۹) گرمخانه‌گذاری شدند. پس از رسیدن به pH مورد نظر، نمونه‌های تخمیر شده و غیر تخمیری به لوله‌های میکروتیوب با حجم ۱ cm^3 منتقل و تا انجام آزمایش شیمیایی اثر مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) به فریزر ۲۰- $^{\circ}C$ منتقل شدند.

آزمایش اثر ممانعت کنندگی از رادیکال آزاد DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

به مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر از نمونه به ۳/۸ میلی‌لیتر از محلول اتانول حاوی ۰/۱ میلی‌مول رادیکال DPPH (سیگما المان) اضافه شد. مخلوط به مدت یک دقیقه به طور یکنواخت تکان داده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق در محیط تاریک قرار داده شد. سپس جذب نمونه‌های مورد آزمون با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (JENWAY– انگلیس) در طول موج ۵۱۷ نانومتر در برابر شاهد اندازه‌گیری شد. در نمونه شاهد ۰/۲ میلی‌لیتر اتانول به جای نمونه مورد استفاده قرار گرفت. درصد رنگ‌بری رادیکال آزاد DPPH نمونه‌ها بر طبق معادله زیر محاسبه شد (۱۱):

درصد رنگ‌بری = ۱۰۰ × {(جذب شاهد/ جذب نمونه) –۱}

اثر ممانعت کنندگی از رادیکال آزاد DPPH بر روی نمونه‌های شیر و شیر سویای فرادمای تخمیر شده و غیر تخمیری در۳ بار آزمایش مستقل و در هر بار در ۳ تکرار انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج به دست آمده از قابلیت آنتی‌اکسیدانی هر نمونه تخمیری و غیر تخمیری تحت آزمون تجزیه واریانس (ANOVA) با سطح اطمینان ۹۵ درصد قرار گرفت و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون Tukey با همین سطح اطمینان استفاده شد. علاوه بر بررسی اثر جداگانه هر تیمار، مجموع نتایج به دست آمده از تیمارهای تخمیر شده نیز با با تیمارهای غیر تخمیری مقایسه گردید.

تجزیه و تحلیل نتایج در نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام شد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل ۲۰۰۷ استفاده گرید.

یافته‌ها

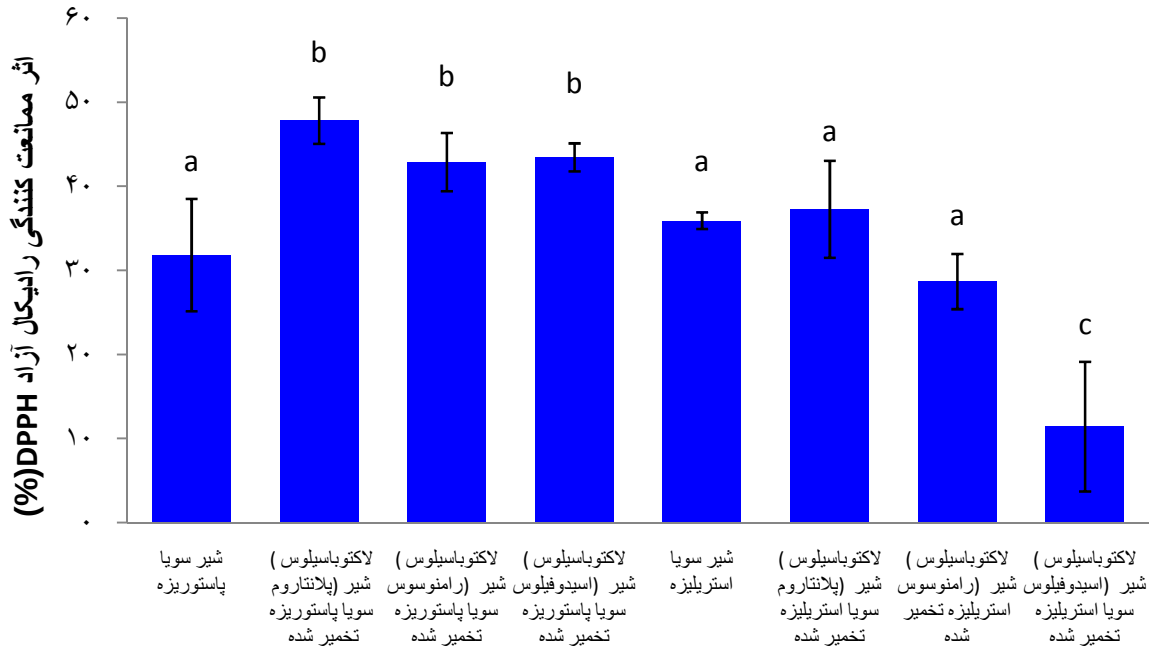
تخمیر شیر سویا با ۳ سویه لاکتوباسیلوس

نمودار ۱، اثر ممانعت کنندگی فعالیت رادیکال آزاد DPPH را در شیر سویای پاستوریزه و استریلیزه غیر تخمیری و تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نشان می‌دهند. اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد بین میانگین نتایج مشاهده شد. همان طور که در نمودار ۱ نشان داده شده است، نمونه‌های غیر تخمیری شیر سویای پاستوریزه و استریلیزه از نظر قابلیت آنتی‌اکسیدانی با یکدیگر تفاوتی ندارند. در مورد نمونه‌های پاستوریزه تخمیر شده با هر ۳ گونه *لاکتوباسیلوس* افزایش قابل توجهی در قابلیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد. در صورتی که در مورد نمونه‌های استریلیزه، تخمیر با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* سبب کاهش قابلیت آنتی‌اکسیدانی شد و تخمیر با دو گونه دیگر *لاکتوباسیلوس* تفاوت معنی‌داری در قابلیت آنتی‌اکسیدانی شیر سویای استریلیزه نشان نداد.

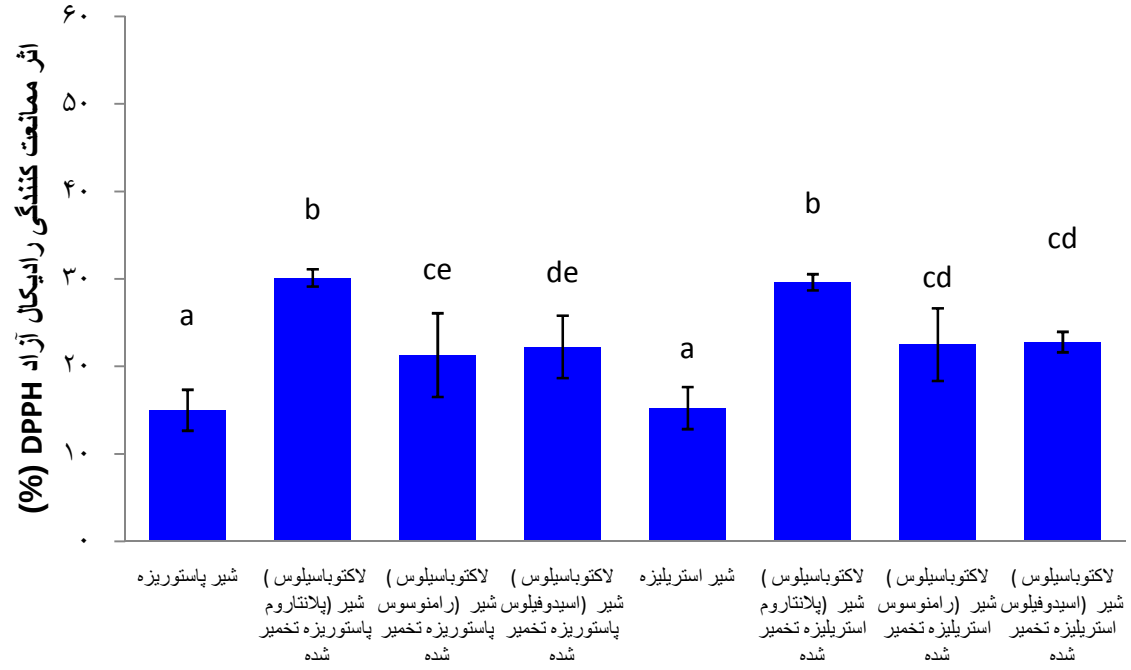
تخمیر شیر با ۳ گونه لاکتوباسیلوس

نمودار ۲، اثر ممانعت کنندگی فعالیت رادیکال آزاد DPPH در نمونه‌های مختلف شیر پاستوریزه و استریلیزه غیر تخمیری و تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* را نشان می‌دهد. اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد بین میانگین نتایج مشاهده شد. همان طور که در نمودار ۲ نشان داده شده است قابلیت آنتی‌اکسیدانی به واسطه تخمیر با هر ۳ گونه

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

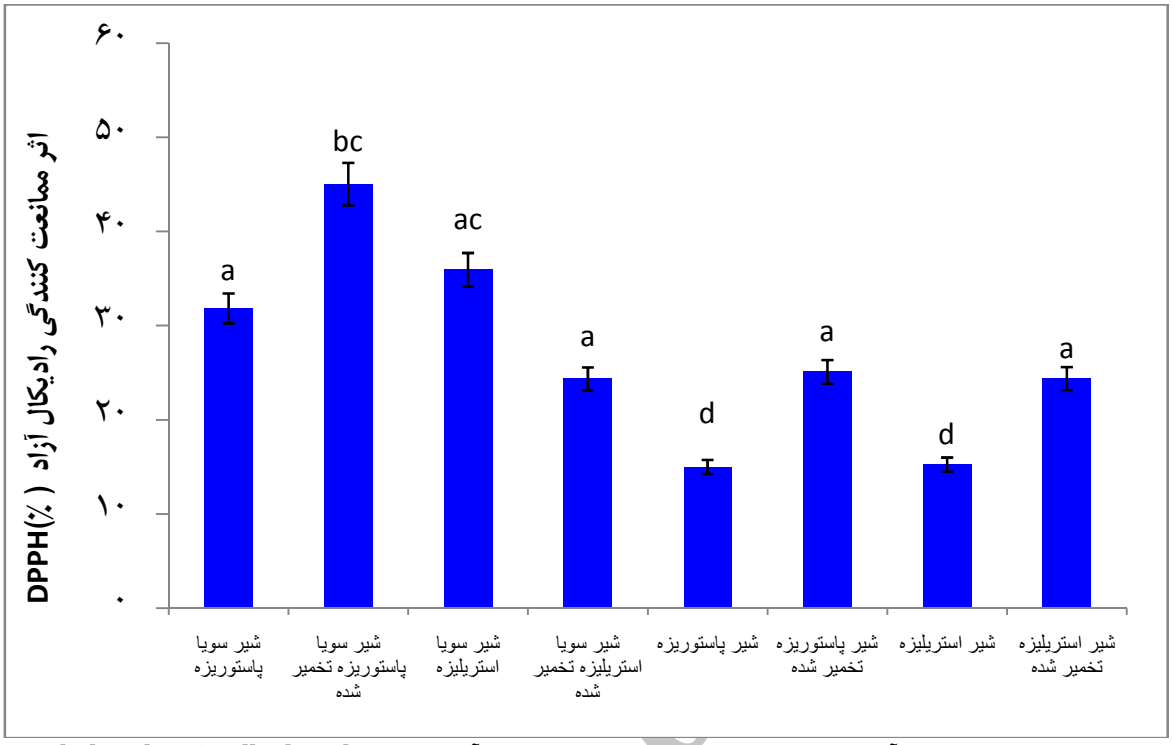


نمودار ۱: اثر ممانعت کنندگی فعالیت رادیکال آزاد DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) در نمونه‌های مختلف شیر سویای پاستوریزه و استریلیزه غیر تخمیری و تخمیر شده با لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس رامنوسوس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در سطح P < ۰/۰۵.



نمودار ۲: ا ثر ممانعت کنندگی فعالیت رادیکال آزاد DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) در نمونه‌های مختلف شیر پاستوریزه و استریلیزه غیر تخمیری و تخمیر شده با لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس رامنوسوس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در سطح P < ۰/۰۵.

www.SID.ir
www.mui.ac.ir



نمودار ۳: درصد تغییرات قابلیت آنتی‌اکسیدانی به روش مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) در نمونه‌های مختلف شیر و شیر سویای پاستوریزه غیر تخمیری و تخمیر شده با لاکتوباسیلوس

لاکتوباسیلوس در شیر پاستوریزه و استریلیزه افزایش یافت. همچنین نتایج به دست آمده از نمونه‌های غیر تخمیری نشان داد که شیر پاستوریزه و استریلیزه از نظر قابلیت آنتی‌اکسیدانی با یکدیگر تفاوتی ندارند.

مقایسه قابلیت آنتی‌اکسیدانی شیر و شیر سویای پاستوریزه و استریلیزه غیر تخمیری و تخمیر شده

نمودار ۳، تغییرات قابلیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های مختلف شیر و شیر سویای پاستوریزه و استریلیزه غیر تخمیری و تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس* را به طور مستقل از گونه باکتریایی نشان می‌دهد. در مورد نمونه‌های غیر تخمیری، قابلیت آنتی‌اکسیدانی شیر سویای پاستوریزه و استریلیزه به طور معنی‌داری از نمونه‌های شیر پاستوریزه و استریلیزه بالاتر می‌باشد. بیشترین قابلیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه شیر سویای پاستوریزه تخمیری و کمترین آن در نمونه شیر گاو پاستوریزه و استریلیزه غیر تخمیری مشاهده شد. در مورد نمونه‌های تخمیری، شیر گاو پاستوریزه و استریلیزه تخمیر شده به طور معنی‌داری ($P < ۰/۰۵$) قابلیت آنتی‌اکسیدانی کمتری نسبت به شیر سویای پاستوریزه تخمیری داشتند. در حالی‌که این قابلیت در شیر سویای استریلیزه تخمیر شده با نمونه‌های فوق تفاوت قابل توجهی نداشت.

نتایج کلی به دست آمده از تخمیر شیر سویا مستقل از گونه *لاکتوباسیلوس*، نشان دهنده افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی پس از تخمیر شیر سویای پاستوریزه و کاهش این عامل در شیر سویای استریلیزه بود، اما در مورد شیر، تخمیر در هر دو نمونه استریلیزه و پاستوریزه باعث افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی شد. این نتیجه مطابق با نتایج به دست آمده از بررسی جداگانه هر یک از باکتریای مورد آزمایش در نمودار ۱ و ۲ می‌باشد.

بحث

در این مطالعه، قابلیت آنتی‌اکسیدانی فرآورده‌های تجارتی

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

سویا اعم از پاستوریزه یا استریلیزه نسبت به نمونه‌های شیر با همان شرایط فرآوری حرارتی مشابه برتری داشتند. شاید تفاوت ترکیب شیر و شیر سویا از نظر ترکیبات فنولیک شامل ایزوفلاون‌های سویا، بالاتر بودن غلظت پرو ویتامین بتاکاروتن (۱۶) توکوفرول کل و فیتو استرول موجود در چربی سویا در مقایسه با چربی شیر دلیل این مسأله بوده است (۱۸، ۱۷). فعالیت سینژیستیک آلفا- توکوفرول در حضور سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در شیر سویا می‌تواند بخشی از این برتری باشد. در برخی مطالعات جایگزینی شیر سویا با شیر گاو به دلیل کاهش استرس اکسیداتیو مطرح شده است (۸، ۷). بنابراین بالاتر بودن قابلیت آنتی‌اکسیدانی شیر سویا در مقایسه با شیر در مطالعه ما همسو با این مطالعات بود.

اثر تخمیر بر افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی در مطالعات مختلف گذشته نشان داده شده است (۲۰، ۱۹، ۴، ۱). در این مطالعه اثر فرایند تخمیر بر تغییرات آنتی‌اکسیدانی محصولات تجارتی شیر و شیر سویا که شدت فرایند حرارتی متفاوتی را تحمل کرده بودند (پاستوریزاسیون، استریلیزاسیون) مورد مقایسه قرار گرفت و مشاهده شد که تخمیر شیر سویای پاستوریزه با استفاده از سویه‌های مختلف *لاکتوباسیلوس* به افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی آن می‌انجامد و این اثر مستقل از سویه باکتریایی است. این نتیجه با گزارش‌های ارایه شده از اثر تخمیر بر شیر سویا منطبق می‌باشد (۲۴-۲۱، ۴). در مطالعه Rekha و Vijayalakshmi درصد ممانعت کنندگی از فعالیت رادیکال آزاد DPPH در شیر سویا و محصول تخمیر شده آن با گونه *لاکتوباسیلوس* به طور متوسط به ترتیب مقادیر ۷/۲۱ و ۲۲/۸ درصد اعلام شد (۱). در مطالعه حاضر، قابلیت فوق در شیر سویای پاستوریزه، ۳۱/۸۴ درصد به دست آمد که پس از تخمیر به ۴۵/۰۴ درصد افزایش یافت. اثر تخمیر در تغییرات قابلیت آنتی‌اکسیدانی شیر سویای فرادما در مورد باکتری‌های مورد آزمایش متفاوت بود. به طوری که دو گونه مورد آزمایش، این خاصیت را کاهش داده و در مورد یک گونه این قابلیت با افزایش نسبی همراه بود. با این حال مجموع اثر هر سه باکتری نیز نشان دهنده عدم تفاوت در قابلیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به نمونه‌های غیر تخمیری بود. این نتیجه با نتیجه مطالعه قبلی ما نیز تا حدود زیادی مطابقت داشت (۱۰). در مطالعه قبلی مشاهده شد که تخمیر شیر سویای فرادما با *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* قابلیت آنتی‌اکسیدانی به شدت کاهش می‌یابد. این موضوع نشان می‌دهد که شدت فرایند حرارتی متحمل شده قبل از تخمیر بر نتایج آن در تغییر قابلیت آنتی‌اکسیدانی اثرگذار است.

در مطالعات قبلی، مکانیسم‌های مختلفی برای افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی شیر سویا در اثر تخمیر ذکر شده است. رها شدن ترکیبات آنتی‌اکسیدان از داخل سلول باکتری به محیط تخمیر، یکی از دلایل مطرح شده در این زمینه بود (۲۵، ۴). در برخی از مطالعات، غنی شدن محصول تخمیر شده از ترکیبات فنولیک، علت اصلی این اثر معرفی شده است (۲۶، ۲۲، ۴، ۱). در مطالعات فوق تبدیل گلوکوزیدهای ایزوفلاونی موجود در شیر سویا به اشکال آگلیکونی در اثر فعالیت بتاگلوکوزیدازی باکتری پس از تخمیر، سبب افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی مذکور ذکر شده است. نقش آنزیم بتا گلوکوزیداز در این تغییرات هیدرولیز، پیوند گلوکوزیدیک موجود در گلیکوزیدها و آزاد شدن ترکیبات آگلیکونی با قابلیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر معرفی شده است. علاوه بر مکانیسم فوق، اثر آنتی‌اکسیدانی پپتیدهای ناشی از فرایند تخمیر ناشی از فعالیت پروتئولیتیکی باکتری در فرآورده‌های سویا و از جمله شیر سویا به عنوان عوامل مهم ایجاد کننده قابلیت آنتی‌اکسیدانی مطرح شده‌اند (۲۴، ۲۳). علاوه بر اثر پروتئولیتیک باکتریایی، به شکلی دیگر در بسیاری از مطالعات اثر پروتئازهای قارچی طی فرآوری محصولات تهیه شده از سویا مانند ناتو، تمپه و دوچی مطرح شده است (۲۹-۲۷). به طوری که محصولات غذایی لوبیای سویای تخمیر شده مانند ناتو، تمپه و دوچی به علت عملکرد پروتئازهای قارچی حاوی پپتیدهای آنتی‌اکسیداتیو می‌باشند. واقعیت اینجا است که در ساختار پروتئین سویا، توالی‌های پپتیدی با قابلیت آنتی‌اکسیدانی شناخته شده‌اند (۳۱، ۳۰). می‌توان گفت که هر گونه عاملی که باعث آزادسازی این ترکیبات از ساختار پروتئین منسجم گردد به افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی می‌انجامد. به غیر از عوامل بیولوژیک در تولید پروتئازهای مسوؤل، برخی حتی حرارت و فرایند حرارتی را در جدا شدن

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

این پپتیدها و افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی مؤثر دانسته‌اند. به طوری که در مطالعه Samaranayaka و Li-Chan به توالی پپتیدی هیستیدین- پرولین تولید شده در طول فرآوری حرارتی در افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی مواد غذایی حرارت دیده اشاره شده است (۲۸). در مطالعه Minelli و همکاران بالا بودن قابلیت آنتی‌اکسیدانی این پپتیدها به توانایی جذب شدن آن‌ها از مجرای روده به دلیل ساختار حلقوی آن‌ها و کاهش آسیب عصبی مبنی بر استرس اکسیداتیو نسبت داده شده است (۳۲). مقایسه قابلیت آنتی‌اکسیدانی فرآورده‌های شیر سویا در مطالعه حاضر نشان داد که تفاوتی از نظر قابلیت آنتی‌اکسیدانی در دو محصول تجارتی مورد آزمایش وجود نداشت. در مورد اثر فرایند حرارتی بر تغییر غلظت ترکیبات گلوکوزیدی مطالعه Prabhakaran و Perera نشان داد که فرایند استریل کردن اعم از مستقیم، ۱۴۳ $^{\circ}C$ به مدت ۱۵ ثانیه، یا غیر مستقیم، ۱۴۰ $^{\circ}C$ به مدت ۴ ثانیه، سبب تغییر در غلظت گلوکوزیدها و آگلیکون‌های کل نمی‌شود (۳۳). در مقابل در مطالعه Devi و همکاران به کاهش قابل توجه ترکیبات فنولیک در اثر حرارت در شیر سویای تجارتی اشاره شده است (۱۱).

با استفاده از اثر مطرح شده در مورد حرارت بر ایجاد ترکیبات پپتیدی با قابلیت آنتی‌اکسیدانی، در توجیه نتیجه به دست آمده از مطالعه ما، می‌توان گفت که بخشی از قابلیت آنتی‌اکسیدانی شیر سویای فرادما به وجود چنین ترکیباتی مربوط بوده است و به این ترتیب از آن‌جایی که باکتری‌های لاکیک به شدت نسبت به عوامل پپتیدی پر نیاز هستند، مصرف آن‌ها در طی تخمیر به شکل کاهش قابلیت آنتی‌اکسیدانی فرآورده تخمیر شده مشاهده شد. قابل ذکر است که در کلیه مطالعاتی که بر افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی شیر سویا پس از تخمیر تأکید کرده‌اند، نمونه‌ها تحت شرایط اتوکلاو قرار گرفته بودند. شاید حرارت بالاتر و شدیدتر در مورد شیر سویای فرادما در مطالعه ما منجر به تفاوت در نتیجه مشاهده شده گشته است. می‌توان گفت که محتوای آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده در فرآورده غذایی مانند شیر سویا، برایندی از قابلیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات موجود مانند ترکیبات فنولیک، آگلیکون‌های ناشی از هیدرولیز آن‌ها و پپتیدها است و تخمیر می‌تواند با اثر بر توازن ترکیبات موجود به افزایش یا کاهش این قابلیت بینجامد. در این رابطه نتیجه مطالعه Hubert و همکاران در تخمیر شیره جوانه سویا نشان داد که در طول تخمیر، روند تغییرات قابلیت آنتی‌اکسیدانی متفاوت بود. در مطالعه آن‌ها طی ۲۴ ساعت این خاصیت کاهش و پس از آن افزایش یافت. در حالی‌که این تغییرات با تغییر غلظت آگلیکون‌ها و گلیکوزیدها همکاهنگ نبود. شاید حضور ترکیبات پپتیدی و تغیرات آن‌ها طی تخمیر در نتیجه مطالعه آن‌ها مؤثر بوده است (۲۱).

در ارتباط با نتایج به دست آمده از تخمیر شیر می‌توان به حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدان اعم از برخی از توالی‌های پپتیدی با قابلیت آنتی‌اکسیدانی (۳۱) اسیدهای آمینه آزاد اروماتیک، ویتامین‌های توکوفرول، اسید اسکوربیک، بتاکاروتن و سیستم‌های آنزیمی که عمدتاً سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز می‌باشند (۳۴، ۳۱) اشاره نمود. پپتیدهای آنتی‌اکسیدان در توالی‌های ساختار بتا و کاپا کازئین و یا پروتئین آب پنیر شیر شناخته شده‌اند (۲۰). در بخش سرم شیر، آلبومین و لاکتوفرین سرم به عنوان گلیکوپروتئین باند کننده آهن، با قابلیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد به واسطه اسیدهای آمینه سیستئین و تایروزین و اسید آمینه هیدروفوب مانند هیستیدین شناخته شده‌اند (۳۶، ۳۵). در مطالعه Hernández-Ledesma و همکاران توالی پپتیدی تیروزین- تیروزین- سرین- لوسین- الانین- متیونین- الانین- سرین- اسپارتیک اسید- ایزولوسین که دارای فعالیت محصور کنندگی رادیکال آزاد بیشتری نسبت به آنتی اکسیدان سنتتیک BHA داشت شناسایی شده است (۳۵). همچنین بخشی از خواص ممانعت کنندگی رادیکالی را به آمینو اسید تایروزین موجود در زنجیره انتهایی C برخی از پپتیدها نسبت داده‌اند (۲۰). در ارتباط با افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی شیر پس از تخمیر نیز این خاصیت به ایجاد پپتیدهای آنتی‌اکسیدان ناشی از هیدرولیز پروتئین شیر در تخمیر نسبت داده شده است. در مطالعه ما تخمیر هر دو نوع تجارتی شیر با هر ۳ گونه *لاکتوباسیلوس* منجر به افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها شد.

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

این نتیجه با نتایج Virtanen و همکاران (۲۰)، Kudo و همکاران (۳۷)، Hernández-Ledesma و همکاران (۳۵) و Pihlanto (۳۱) مطابقت داشت. مطالعات مختلف فوق اثر عوامل هیدرولیز کننده از جمله پروتئازهای باکتریایی را در آزاد شدن پپتیدهای شاخص از هر دو بخش کازئینی و آب پنیر نشان داده‌اند. از طرفی برخی مطالعات مانند Pena-Ramos و Xiong (۳۸) و Peng و همکاران (۱۹) اثر حرارت در افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی را آزاد شدن این پپتیدها با قابلیت آنتی‌اکسیدانی مطرح کرده‌اند. همچنین در مطالعه Serra و همکاران (۳۹) و O' Brien و O' Connor (۴۰) تأثیر حرارت به شکل آزاد شدن گروه‌های تیول و اثر عملکرد آنتی‌اکسیدانی آن‌ها به شکل قوی در فرآوری حرارتی شیر بررسی شده است. در مطالعات فوق گزارش شد که گروه‌های تیول تشکیل شده طی فرآوری حرارتی از اکسایش چربی و تشکیل گروه‌های الکیل ناشی از اکسایش شیر حرارت دیده جلوگیری می‌کند. به این ترتیب بخشی از قابلیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های غیر تخمیری شیر پاستوریزه و استریلیزه را می‌توان به گروه‌های تیول تشکیل شده در طول فرآوری حرارتی نسبت داد.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که با وجود حضور ترکیبات شاخص آنتی‌اکسیدان در شیر، نمونه‌های تجارتی شیر سویای حرارت دیده پاستوریزه و استریلیزه نسبت به نمونه‌های شیر با فرایند حرارتی مشابه از نظر قابلیت آنتی‌اکسیدانی برتری دارند. این موضوع نشان دهنده اثر غالب ترکیبات آنتی‌اکسیدان موجود در نمونه‌های شیر سویا نسبت به شیر است. اگرچه که ماهیت این ترکیبات ممکن است تنها ترکیبات زیست فعال گیاهی نباشد و پپتیدهای ناشی از تخریب حرارتی نیز در ایجاد این خاصیت نقش داشته باشند. فرایند حرارتی استریلیزاسیون نسبت به پاستوریزاسیون تأثیری در تغییر قابلیت آنتی‌اکسیدنی نمونه‌های شیر و شیر سویا نداشت. اثر تخمیر بر تغییرات قابلیت آنتی‌اکسیدانی در مورد شیر به نوع فرآوری حرارتی آن بستگی ندارد و همواره تأثیر مثبتی بر این قابلیت ایجاد می‌کند. اما در مورد شیر سویا، شدت فرآوری حرارتی می‌تواند بر تغییرات قابلیت آنتی‌اکسیدانی ناشی از تخمیر اثرگذار باشد. این مطالعه با شناسایی ماهیت مواد تشکیل دهنده قابلیت آنتی‌اکسیدانی در حال پی گیری است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری صمیمانه سرکار خانم دکتر آزادبخت، ریاست مرکز تحقیقات امنیت غذایی و جناب آقای محمد جواد یاحی کارشناس آزمایشگاه شیمی مواد غذایی در این مرکز اعلام می‌نمایند.

References

1. Rekha CR, Vijayalakshmi G. Biomolecules and nutritional quality of soymilk fermented with probiotic yeast and bacteria. Appl Biochem Biotechnol 2008; 151(2-3): 452-63.
2. Tyug TS, Prasad KN, Ismail A. Antioxidant capacity, phenolics and isoflavones in soybean by-products. Food Chemistry 2010; 123(3): 583-9.
3. Villares A, Rostagno MA, Garcia-Lafuente A, Guillamon E, Martinez JA. Content and Profile of Isoflavones in Soy-Based Foods as a Function of the Production Process. Food and Bioprocess Technology 2011; 4(1): 27-38.
4. Wang YC, Yu RC, Chou CC. Antioxidative activities of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. Food Microbiol 2006; 23(2): 128-35.
5. Yang S, Wang L, Yan Q, Jiang Z, Li L. Hydrolysis of soybean isoflavone glycosides by a thermostable β-glucosidase from Paecilomyces thermophila. Food Chemistry 2009; 115(4): 1247-52.
6. Miraghajani M, Azadbakht L. Can soy products affect on inflammation level? A review on the current evidence. J Isfahan Med Sch 2011; 29(151): 1116-28. [In Persian].
7. Miraghajani M, Esmaillzadeh A, Mortazavi Najafabadi M, Mirlohi M, Azadbakht L. Soy Milk Consumption, Inflammation, Coagulation, and Oxidative Stress Among Type 2 Diabetic Patients With Nephropathy. Diabetes Care 2012; 35(10): 1981-5.
8. Miraghajani MS, Esmaillzadeh A, Najafabadi MM, Mirlohi M, Azadbakht L. Soy milk consumption,

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

inflammation, coagulation, and oxidative stress among type 2 diabetic patients with nephropathy. Diabetes Care 2012; 35(10): 1981-5.
9. Mateos-Aparicio I, Redondo CA, Villanueva-Suarez MJ, Zapata-Revilla MA. Soybean, a promising health source. Nutr Hosp 2008; 23(4): 305-12.
10. Torki Baghbadorani S, Ehsani M, Mirlohi M, Ezzat-Panah H. Comparison of 4 methods for measuring anti-oxidant capability in order to investigate the effect for fermentation of ultra heat treatment soy milk by Lactobacillus Plantarum. Iran J Food Sci and Technol 2012. [In Press].
11. Devi MKA, Gondi M, Sakthivelu G, Giridhar P, Rajasekaran T, Ravishankar GA. Functional attributes of soybean seeds and products, with reference to isoflavone content and antioxidant activity. Food Chemistry 2009; 114(3): 771-6.
12. Firestone D. Oils and fats. In: Horwitz W, Editor. Official methods of analysis of the AOAC. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists; 2000.
13. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J Biol Chem 1957; 226(1): 497-509.
14. Mirlohi M, Soleimanian-Zad S, Sheikh- Zeinodin M. Identification of Lactobacilli from Fecal Flora of Some Iranian Infants. Iran J Pediatr 2008; 18(4): 357-63.
15. Mirelahi M, Soleymanianzad S, Dokhani SH, Sheykh Zeyn Aldin M, Abghari A. Investigation of acid and bile tolerance of native lactobacilli isolated from fecal samples and commercial probiotics by growth and survival studies. Iranian Journal of Biotechnology 2009; 7(4): 233-40.
16. Imran N, Shurt Left W, Aoyagi A. Hand book of Soy Products. Trans. Jafary E. Tehran, Iran: Avaie Ghalam; 2006. p. 102. [In Persian].
17. deMan JM. Principles of Food Chemistry. Berlin, Germany: Springer; 1975.
18. Bailey AE. Bailey's Industrial Oil and Fat Products. New York, NY: Interscience Publishers; 1945.
19. Peng X, Kong B, Xia X, Liu Q. Reducing and radical-scavenging activities of whey protein hydrolysates prepared with Alcalase. International Dairy Journal 2010; 20(5): 360-5.
20. Virtanen T, Pihlanto A, Akkanen S, Korhonen H. Development of antioxidant activity in milk whey during fermentation with lactic acid bacteria. J Appl Microbiol 2007; 102(1): 106-15.
21. Hubert J, Berger M, Nepveu F, Paul F, Dayde J. Effects of fermentation on the phytochemical composition and antioxidant properties of soy germ. Food Chemistry 2008; 109(4): 709-21.
22. McCue PP, Shetty K. Phenolic antioxidant mobilization during yogurt production from soymilk using Kefir cultures. Process Biochemistry 2005; 40(5): 1791-7.
23. Liu JR, Chen MJ, Lin CW. Antimutagenic and antioxidant properties of milk-kefir and soymilk-kefir. J Agric Food Chem 2005; 53(7): 2467-74.
24. Liu JR, Lin YY, Chen MJ, Chen LJ, Lin CW. Antioxidative Activities of Kefir. Asian-Aust J Anim Sci 2005; 18(4): 567-73.
25. Yang JH, Mau JL, Ko PT, Huang LC. Antioxidant properties of fermented soybean broth. Food Chemistry 2000; 71(2): 249-54.
26. Otieno DO, Ashton JF, Shah NP. Evaluation of enzymic potential for biotransformation of isoflavone phytoestrogen in soymilk by Bifidobacterium animalis, Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus casei. Food Research International 2006; 39(4): 394-407.
27. Wang D, Wang LJ, Zhu FX, Zhu JY, Chen XD, Zou L, et al. In vitro and in vivo studies on the antioxidant activities of the aqueous extracts of Douchi (a traditional Chinese salt-fermented soybean food). Food Chemistry 2008; 107(4): 1421-8.
28. Samaranayaka AGP, Li-Chan ECY. Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications. Journal of Functional Foods 2011; 3(4): 229-54.
29. Iwai K, Nakaya N, Kawasaki Y, Matsue H. Antioxidative functions of natto, a kind of fermented soybeans: effect on LDL oxidation and lipid metabolism in cholesterol-fed rats. J Agric Food Chem 2002; 50(12): 3597-601.
30. Saito K, Jin DH, Ogawa T, Muramoto K, Hatakeyama E, Yasuhara T, et al. Antioxidative properties of tripeptide libraries prepared by the combinatorial chemistry. J Agric Food Chem 2003; 51(12): 3668-74.
31. Pihlanto A. Antioxidative peptides derived from milk proteins. International Dairy Journal 2006; 16(11): 1306-14.
32. Minelli A, Bellezza I, Grottelli S, Galli F. Focus on cyclo (His-Pro): history and perspectives as antioxidant peptide. Amino Acids 2008; 35(2): 283-9.
33. Prabhakaran MP, Perera CO. Effect of extraction methods and UHT treatment conditions on the level of isoflavones during soymilk manufacture. Food Chemistry 2006; 99(2): 231-7.

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

34. Lindmark-Mansson H, Akesson B. Antioxidative factors in milk. Br J Nutr 2000; 84(Suppl 1): S103-S110.
35. Hernández-Ledesma B, Miralles B, Amigo L, Ramos M, Recio I. Identification of antioxidant and ACE-inhibitory peptides in fermented milk. Journal of the Science of Food and Agriculture 2005; 85(6): 1041-8.
36. Peña-Ramos EA, Xiong YL, Arteaga GE. Fractionation and characterisation for antioxidant activity of hydrolysed whey protein. Journal of the Science of Food and Agriculture 2004; 84(14): 1908-18.
37. Kudo Y, Atsuda S, Oki T. Antioxidative Peptide from Milk Fermented with Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus IFO13953. Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology 2001; 48(1): 44-50.
38. Pena-Ramos EA, Xiong YL. Antioxidative activity of whey protein hydrolysates in a liposomal system. J Dairy Sci 2001; 84(12): 2577-83.
39. Serra M, Trujillo AJ, Pereda J, Guamis B, Ferragut V. Quantification of lipolysis and lipid oxidation during cold storage of yogurts produced from milk treated by ultra-high pressure homogenization. Journal of Food Engineering 2008; 89(1): 99-104.
40. O' Brien NM, O' Connor TP. Lipid oxidation. In: Roginski H, Editor. Encyclopedia of Dairy Science. Philadelphia, PA: Academic Press, 2002. p. 1600-4.

Archive of SID

www.SID.ir
www.mui.ac.ir

A Comparative Study on the Effect of Fermentation on Anti-Oxidative Properties of Thermal Processed Milk and Soy Milk

Sahar Torki Baghbadorani[1], Mohammad Reza Ehsani[2], Maryam Mirlohi[3], Hamid Ezzat-Panah[4]

Original Article

Abstract

Background: It has been shown that lactic fermentation of both milk and soy milk could boost their ant oxidative properties, in our previous study, using a native strain of lactobacillus planetarium for ultra-high-temperature (UHT) processed milk and soy milk fermentation, resulted in an increase in anti-oxidative properties of UHT milk, where the output was opposite for UHT soy milk. Since the obtained results were not expectable, here, in this study the effect of fermentation of the given samples were studied using three different lactobacillus strains as well as using less heated commercial milk and soy milk. The objective of the present study was to compare the lactic fermentation effects on anti-oxidative properties of sterilized and pasteurized milk and soy milk using three different lactobacillus strains.

Methods: Commercial UHT milk and soy milk and their pasteurized type of products were used; *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus Plantarum* and *Lactobacillus Rhamnosus* were used as the lactic cultures and DPPH radical scavenging effect was applied as anti-oxidative index.

Findings: The DPPH radical scavenging effects of unfermented UHT and pasteurized soy milk were obtained as 31.8 ± 6.7 and 35.9 ± 1.0, respectively; such data, for milk were shown to be 15.0 ± 2.3 and 15.2 ± 2.4. For both UHT and pasteurized milk, by individual usage of all three strains, fermentation increased the anti-oxidative index. Accordingly, despite different types of fermenting microorganism, the average of the observed data were 24.4 ± 4.0and 25.1 ± 5.2; however, in sterilized soy milk, DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazy) radical scavenging activity decreased to 24.4 ± 12.1, whereas the pasteurized one showed a considerable increase in this property up to the value of 45.0 ± 3.5 after fermentation.

Conclusion: Difference in fermenting microbial stains did not make significant difference on the change in antioxidant properties of soy and soymilk. The results of this study confirmed our previous results that lactic fermentation would reduce the anti-oxidative characteristic of UHT soy milk. The type of thermal processing must be considered as the main reason; the fact that after fermentation, the pasteurized soy milk just showed as increase in anti-oxidative property as the milk samples.

Keywords: Milk, Soy Milk, Lactobacillus Planetarium, Anti-Oxidant, Free Radical

Citation: Torki Baghbadorani S, Ehsani MR, Mirlohi M, Ezzat-Panah H. **A Comparative Study on the Effect of Fermentation on Anti-Oxidative Properties of Thermal Processed Milk and Soy Milk.** J Health Syst Res 2013; 9(2): 159-169.

Received date: 29/05/2012 Accept date: 19/01/2013

1- MSc Student, Department of Food Sciences and Technology, School of Agriculture and Natural Resources, Islamic Azad University, Sciences and Research Branch, Tehran, Iran
2- Professor, Department of Food Sciences and Technology, School of Agriculture and Natural Resources, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran
3- Assistant Professor, Food Security Research Center, Department of Food Technology, School of Nutrition and Food Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran (Corresponding Author) Email: m_mirlohi@hlth.mui.ac.ir
4- Associate Professor, Department of Food Sciences and Technology, School of Agriculture and Natural Resources, Islamic Azad University, Sciences and Research Branch, Tehran, Iran

www.SID.ir
www.mui.ac.ir