Archive of SID

مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هشتم، شماره 3، پاییز 1392، صفحات 187-179

اثر انواع سویه‌های *ساکارومایسس* و شرایط تخمیر در تولید ماءالشعیر

سارا سهراب وندی[1]، سید محمد موسوی[2]، سیدهادی رضوی[2]، شیرین مال گنجی[3]، کیانوش خسروی دارانی[4]، سید امیر مرتضویان[5]

1- استادیار گروه تحقیقات صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
2- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
3- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد خوراسگان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران
4- دانشیار گروه تحقیقات صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
5- نویسنده مسئول: دانشیار گروه تحقیقات صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، پست الکترونیکی: mortazvn@sbmu.ac.ir

تاریخ دریافت: 92/5/20 تاریخ پذیرش: 92/8/25

چکیده

سابقه و هدف: آبجو یکی از انواع نوشیدنی‌های پرطرفدار در دنیا به‌شمار می‌آید. به دلیل معایب آبجوی الکلی مانند اثر سوء بر زنان باردار، بیماران قلبی و عروقی و ورزشکاران حرفه‌ای و همچنین بروز سوانح رانندگی و جرایم اجتماعی، تمایل به تولید و مصرف آبجوی کم الکل با خواص حسی مطلوب رو به افزایش است. تحقیق حاضر به بررسی اثر انواع سویه مخمر *ساکارومایسس* و شرایط تخمیر در تولید آبجوی بدون الکل می‌پردازد.

مواد و روش‌ها: چهار سویه مخمر *ساکارومایسس* (*ساکارومایسس سره‌ویسیه* 70424، *ساکارومایسس لودویگی‌یی* 3447، *ساکارومایسس روکسی‌یی* 70535 و *ساکارومایسس روکسی‌یی* 70531) به طور جداگانه با میزان تلقیح در دو سطح به ورت خام با درجه گرانش مشخص اضافه شدند. تخمیر ورت به مدت زمان 48 ساعت در شرایط بی‌هوازی یا شرایط هوادهی دوره‌ای (هر 12 ساعت) و در سه دمای مختلف انجام پذیرفت. شاخص‌های اندازه‌گیری نظیر دانسیته نوری با استفاده از روش اسپکتروفتومتری، گرانش ورت و مقدار اتانول با دستگاه دیجیتالی آنالیزگر آبجو (در فواصل زمانی 12 ساعته طی دوره تخمیر) به مدت 48 ساعت مورد ارزیابی قرار گرفتند. ارزیابی حسی توسط گروهی متشکل از 6 ارزیاب آموزش‌دیده انجام شد. طراحی آزمایشات در قالب طرح کاملا تصادفی- فاکتوریل انجام شد و تفاوت معنی‌دار میان تیمارها با استفاده از آزمون ANOVA و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: تیمارهای با تلقیح 4×10^7 cfu/mL در دمای تخمیر 24°C، در شرایط هوادهی دوره‌ای بیشترین سرعت رشد و در شرایط بی‌هوازی بیشترین تولید اتانول را نتیجه دادند. بیشترین گرانش ورت در تیمارهای با تلقیح 10^7 cfu/mL، هوادهی دوره‌ای و دمای تخمیر 4°C مشاهده شد (p<0/05). تیمارهای دارای تلقیح 10^7 cfu/mL، دمای تخمیر 4°C و شرایط بی‌هوازی کمترین سرعت رشد و در شرایط هوادهی دوره‌ای کمترین تولید اتانول را نتیجه دادند (p<0/05). کمترین گرانش ورت مربوط به تیمارهای با تلقیح 4×10^7 cfu/mL، شرایط بی‌هوازی و دمای تخمیر 24°C بود (p<0/05). در میان مخمرها، بیشترین و کم‌ترین میزان سرعت رشد، تولید اتانول و گرانش ورت به ترتیب به مخمر *ساکارومایسس سره‌ویسیه* و *ساکارومایسس روکسی‌یی* مربوط بود (p<0/05). مطلوب‌ترین خواص حسی (از نظر طعم) در ماءالشعیر تولید شده با استفاده از *ساکارومایسس سره‌ویسیه* مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: استفاده از مخمر *ساکارومایسس سره‌ویسیه* به دلیل ویژگی‌های طعمی مطلوب با استفاده از روش تخمیر محدود شده در شرایط تخمیر با تلقیح 10^7 cfu/mL، هوادهی دوره‌ای و دمای تخمیر 4°C (میزان اتانول کمتر از 0/5%) پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: آبجو بدون الکل (ماءالشعیر)، اتانول، *ساکارومایسس*

• مقدمه

آبجوی مرسوم (Normal beer)، یک نوشیدنی (محلول آبی) حاصل از مالت و حاوی دست‌کم 3- 5/5% اتانول، گاز دی اکسید کربن، نمک‌های غیرآلی و حدود 800 نوع ترکیب آلی است (2، 1). گزارش‌ها نشان می‌دهند که آبجو را می‌توان به انواع کلاسیک (Classical Beer)، نوظهور (Novel-Type Beer) و نوشیدنی‌های شبه- ماءالشعیر (Beer-like) طبقه‌بندی نمود. آبجوی کلاسیک برپایه مالت جو است، درحالی‌که ماءالشعیرهای نوظهور و نوشیدنی‌های

www.SID.ir

Archive of SID

شبه ماءالشعیر به ترتیب از غلات و مواد طبیعی غیرغله‌ای تهیه می‌شوند. شواهد علمی بر جنبه‌های سلامت-بخش مصرف آبجو دلالت دارند. ترکیبات فنلی با دارابودن خاصیت پاداکسیدانی و افزایش قابلیت پاداکسیدانی پلاسما، از یک سو با کاهش اکسایش LDL مانع بروز آترواسکلروز شده و از سوی دیگر با بی اثر کردن رادیکال‌های آزاد ریسک ابتلا به سرطان را کاهش می‌دهند (5-3). همچنین سبب بازداری رشد سلول‌های سرطانی پروستات، پستان، روده و خون می‌شوند (6).

از روش‌های تولید آبجوی بدون الکل/ کم الکل می‌توان به حذف تخمیر، رقیق سازی (Dilution method)، تخمیر محدود شده (Restricted fermentation) و الکل‌زدایی (Dealcoholization) شامل تقطیر در خلاء (Vaccum distillation) و دیالیز (Dialysis) اشاره نمود. تخمیر محدود شده در دو سیستم سوسپانسیونی ناپیوسته و راکدسازی شده (Immobilized system) قابل انجام است. روش‌های مورد استفاده در سیستم سوسپانسیونی ناپیوسته شامل مواردی نظیر کاهش نسبت اجزای تخمیری به اجزای غیرتخمیری، کاهش مقدار گلوکز در ورت، فشارسازی طی تخمیر، استفاده از گونه‌ها و سویه‌های ویژه مخمر، گرمادهی ورت، تخمیر سرد/ تماس سرد (Cold contact/cold fermentation)، مالت خیسانی با دمای بالا، نگهداری خیسانده‌ی مالت در دمای حدود 80°C به مدت 30 دقیقه و هوادهی دوره‌ای ورت تخمیری هستند. یکی از روش‌های مورد استفاده در تخمیر محدود شده استفاده از گونه و سویه‌های ویژه مخمر است. برخی از سویه‌های جهش یافته (اصلاح ژنتیکی شده) *ساکارومایسس سره‌ویسیه* اتانول تولید نمی‌کنند، زیرا فاقد آنزیم الکل دهیدروژناز هستند. برخی دیگر از سویه‌های جهش یافته *ساکارومایسس* قادرند مقادیر نسبتاً زیادی گلیسرول و الکل‌های قندی و در مقابل مقدار بسیار کم اتانول تولید کنند (7). استفاده از گونه *ساکارومایسس لودوگی‌یی* به تولید اتانول اندک می‌انجامد، زیرا این مخمر به رغم توانایی تخمیر قندهای گلوکز، ساکاروز و فروکتوز، در تخمیر قند مالتوز موجود در ورت ناتوان است و سبب شیرین شدن ماءالشعیر نهایی می‌شود. روش دیگر تخمیرمحدود شده، تخمیر سرد (دما 10°C- 0 "عمدتاً 4°C- 0" و مدت زمان تخمیر 48-24 ساعت) است که در این روش از واکنش‌گرهای ستون- بستر (Packed column reactor) که غالباً دارای سلول‌های مخمر راکدسازی شده (Immobilized yeast) است استفاده می‌شود. لازم به یادآوری است که در تولید ماءالشعیر بدون الکل، باید شرایط تخمیر طوری تنظیم شوند که آلدئیدهای ورت با فعالیت الکل دهیدروژناز مخمر احیا شده و طعم ماءالشعیر بدون تولید مقادیر بالای اتانول و نیز بدطعمی ناشی از دی استیل در حد مطلوب حفظ شود (9، 8).

در مطالعه‌ای که در زمینه کاهش 3- متیل بوتانال و هگزانال در شربت شیرین مالت در اثر فرآیند سرد صورت گرفت مشاهده شد فرآیند تماس سرد (Cold contact) باعث ایجاد طعم مطلوب در ماءالشعیر می‌شود و این امر در اثر کاهش آلدئیدهای بدطعم و شاخص چون 2- متیل بوتانال، 3- متیل بوتانال و هگزان پدید می‌آید. در مطالعه یاد شده نشان داده شد که فرآیندهای تماس سرد، تخمیر الکلی و فاقد تخمیر به ترتیب توانایی حذف 65، 85 و 20% آلدئیدهای نامطلوب و بد مزه را از محیط دارند (10). در گزارش دیگری نشان داده شد که بهترین شرایط فرآیند تماس سرد با تلقیح مستقیم مخمر در دمای صفر درجه سانتی‌گراد، میزان تلقیح 10^7 CFU/ml و pH =4 است (11).

با توجه به این موضوع که در کشورهای اسلامی روش الکل‌زدایی مورد تایید دین مقدس اسلام نیست، استفاده از روش تخمیر محدود شده پیشنهاد می‌شود (13، 12). بنابراین هدف تحقیق حاضر بررسی اثر سویه *ساکارومایسس* و شرایط تخمیر در تولید آبجوی بدون الکل با خواص حسی مطلوب است.

• مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه‌ها: در ابتدا آغازگرهای مخمری (*ساکارومایسس سره‌ویسیه* 70424، *ساکارومایسس لودویگی‌یی* 3447، *ساکارومایسس روکسی‌یی* 70535 و *ساکارومایسس روکسی‌یی* 70531) از شرکت DSMZ (Braunscheig, Germany) تهیه شدند. سپس مخمرهای یاد شده به طور جداگانه در دو درصد مختلف تلقیح (10^7 cfu/mL و 4×10^7 cfu/mL) به ورت خام اضافه شدند. ورت در شرایط بی‌هوازی یا شرایط هوادهی دوره‌ای (هر 12 ساعت) و در دماهای گوناگون (4°C، 12°C و 24°C) به مدت زمان 48 ساعت مورد تخمیر قرار گرفت.

تجزیه‌های شیمیایی: رشد مخمرها طی تخمیر در ورت با استفاده از شاخص "دانسیته نوری" با دستگاه اسپکتروفتومتر (Hatch، آمریکا) بررسی شد (13). pH نمونه‌ها با استفاده از pHمتر (Mettler, MA 235، سوئیس)

www.SID.ir

Archive of SID

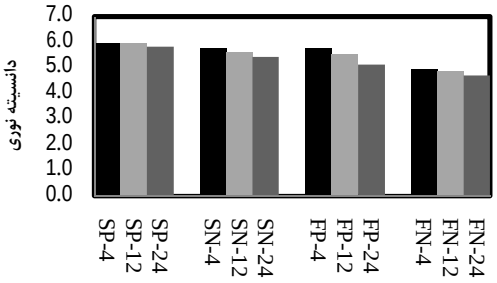
و میزان اتانول و گرانش ورت (پس از خنک‌کردن و گاززدایی نمونه‌ها با استفاده از فرا صوت) توسط دستگاه دیجیتالی آنالیزگر ماءالشعیر (Anton par، اتریش) اندازه‌گیری شد.

ارزیابی حسی: به منظور مقایسه حسی تیمارها (اساساً از نقطه نظر طعم)، از آزمون هدونیک سه نقطه‌ای استفاده شد. شاخص‌های مورد مقایسه، جا افتادگی طعم (Flavor maturity/fullness) بد طعمی (Off flavor/taint) و پذیرش کلی (Overall acceptability) بودند. مشخصات سه نقطه شاخص‌های اول و سوم به صورت 0= غیرقابل مصرف، 1= قابل قبول و 2= رضایت بخش و مشخصات نقاط شاخص بدطعمی به صورت0= فاقد بدطعمی قابل تشخیص، 1= بدطعمی محسوس و مشهود و 2= بدطعمی شدید در نظر گرفته شد. برای ارزیابی حسی از گروه 6 نفره ارزیاب حسی آموزش دیده استفاده شد و میانگین داده‌ها مورد تحلیل آماری قرار گرفت (14).

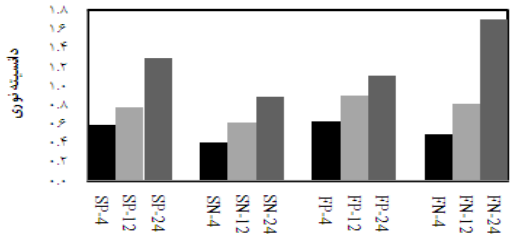
تجزیه و تحلیل آماری: تمامی آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی- فاکتوریل و سه تکرار انجام شدند. تفاوت معنی‌دار میان تیمارها با استفاده از آزمون ANOVA و نرم‌افزار Minitab ـ نسخه 13، 2002 مورد تحلیل قرار گرفت. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

• یافته‌ها

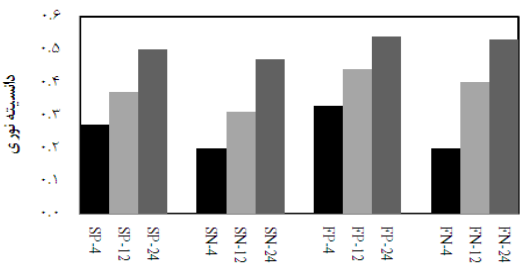
سرعت رشد مخمرها (چگالی نوری): شکل 1 شاخص سرعت رشد مخمرها را نشان می‌دهد. بیشترین و کمترین سرعت رشد در سرتاسر دوره تخمیر به ترتیب به تیمارهای با تلقیح 4×10^7 cfu/mL، هوادهی دوره‌ای و دمای تخمیر 24°C (تیمار FP-24) و تلقیح 10^7 cfu/mL، بی‌هوازی و دمای تخمیر 4°C (تیمار SN-4) اختصاص داشت. در تمامی تیمارهای مربوط به چهار سویه مخمری، با افزایش دمای تخمیر، سرعت رشد به طور معنی‌دار افزایش یافت ($p<0/05$). بیشترین سرعت افزایش رشد مخمرها در ساعات 24 تا 48 تخمیر مشاهده شد ($p<0/05$). این محدوده زمانی نشانگر دوره لگاریتمی از مراحل رشد مخمرها است. در میان مخمرها، بیشترین سرعت رشد به مخمر *س. سره ویسیه* 70424 و کمترین آن به مخمر *س. روکسی‌یی* 70531 مربوط بود ($p<0/05$). مقدار چگالی نوری مخمر *س. روکسی‌یی* 70531 در بیشترین مقدار، حدود یک سوم مخمر *س. سره‌ویسیه* 70424 بود. *س. روکسی‌یی* 70531 نسبت به سویه دیگر همان جنس از سرعت رشد کمتری برخوردار بود ($p<0/05$).



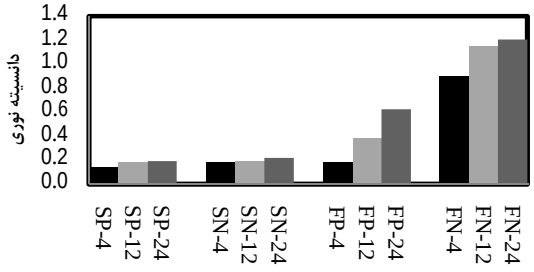
الف) مخمر *س. سره‌ویسیه* 70424



ب) مخمر *س. لودویگی‌یی* 3447



پ) مخمر *س. روکسی‌یی* 70535



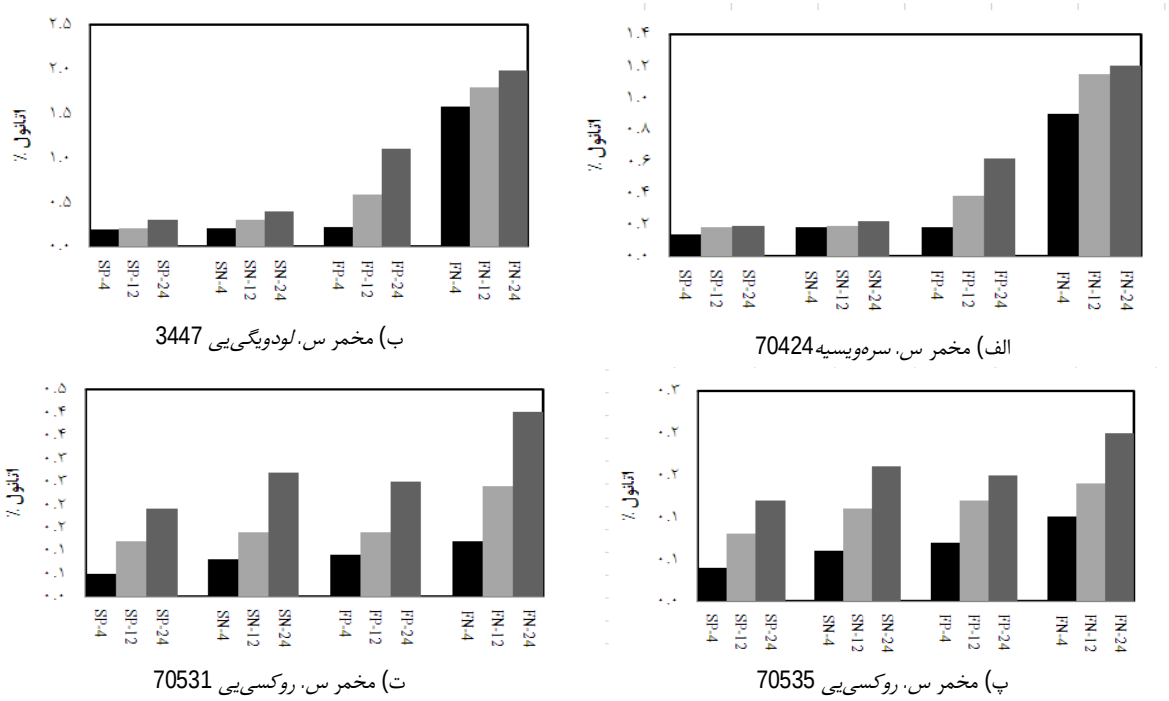
ت) مخمر *س. روکسی‌یی* 70531

شکل1. شاخص مقدار رشد در شرایط مختلف فرآیند طی تخمیر (متغیرهای F، S، P، N و اعداد به ترتیب تلقیح 4×10^7 cfu/mL، تلقیح 10^7 cfu/mL، شرایط هوادهی دوره‌ای، شرایط بی‌هوازی و دماهای تخمیر هستند).

www.SID.ir

Archive of SID

میزان تولید اتانول: شکل 2 رویه تولید اتانول مخمرها را نشان می‌دهد. بیشترین مقادیر اتانول در تیمارهای تولید شده در شرایط بی‌هوازی با تلقیح 4×10^7 cfu/mL و کمترین آن در تیمارهای تولید شده در شرایط هوادهی دوره‌ای (هوازی- بی هوازی) با تلقیح 10^7 cfu/mL مشاهده شد ($p<0/05$). مخمر *س. سره‌ویسیه* 70424 در شرایط نخست، میان تمامی تیمارها، در پایان دوره تخمیر بیشترین مقدار اتانول را تولید نمود (1/96% حجمی؛ داده، به طور دقیق نشان داده نشده است). کمترین مقدار اتانول در بین تمامی تیمارها در تیمار تخمیرشده با مخمر *س. روکسی‌یی* 70531 در شرایط تلقیح 10^7 cfu/mL، هوادهی دوره‌ای و 4°C مشاهده شد (0/04% حجمی). تیمارهای با تلقیح 4×10^7 cfu/mL، در خصوص تمامی مخمرها در مقایسه با تیمارهای با تلقیح 10^7 cfu/mL (در همه شرایط متغیر دیگر همچون دمای تخمیر و شرایط جوی) از مقدار اتانول بیشتری در سرتاسر دوره تخمیر برخوردار بودند ($p<0/05$). بیشترین سرعت‌های تولید اتانول در تمامی تیمارها در ساعات 24 تا 48 تخمیر (فاز رشد لگاریتمی) مشاهده شد. مقدار تولید اتانول در سویه‌های مخمر *س. روکسی‌یی* با اختلاف قابل‌توجه کمتر از دو مخمر دیگر بود. مقدار اتانول در *س. روکسی‌یی* 70531 در بیشترین حالت، نصف *س. روکسی‌یی* 70535 و یک‌دهم *س. سره‌ویسیه* 70424 بود. *ساکارومایسس لودویگی‌یی* 3447 از نظر مقدار تولید اتانول پس از *س. سره‌ویسیه* 70424 قرار داشت.



الف) مخمر *س. سره‌ویسیه* 70424

ب) مخمر *س. لودویگی‌یی* 3447

پ) مخمر *س. روکسی‌یی* 70535

ت) مخمر *س. روکسی‌یی* 70531

شکل3. میزان گرانش ورت در شرایط مختلف فرآیند طی تخمیر (متغیرهای F، S، P، N و اعداد به ترتیب نشانگر تلقیح 4×10^7 cfu/mL، تلقیح 10^7 cfu/mL، شرایط هوادهی دوره‌ای، شرایط بی‌هوازی و دماهای تخمیر هستند).

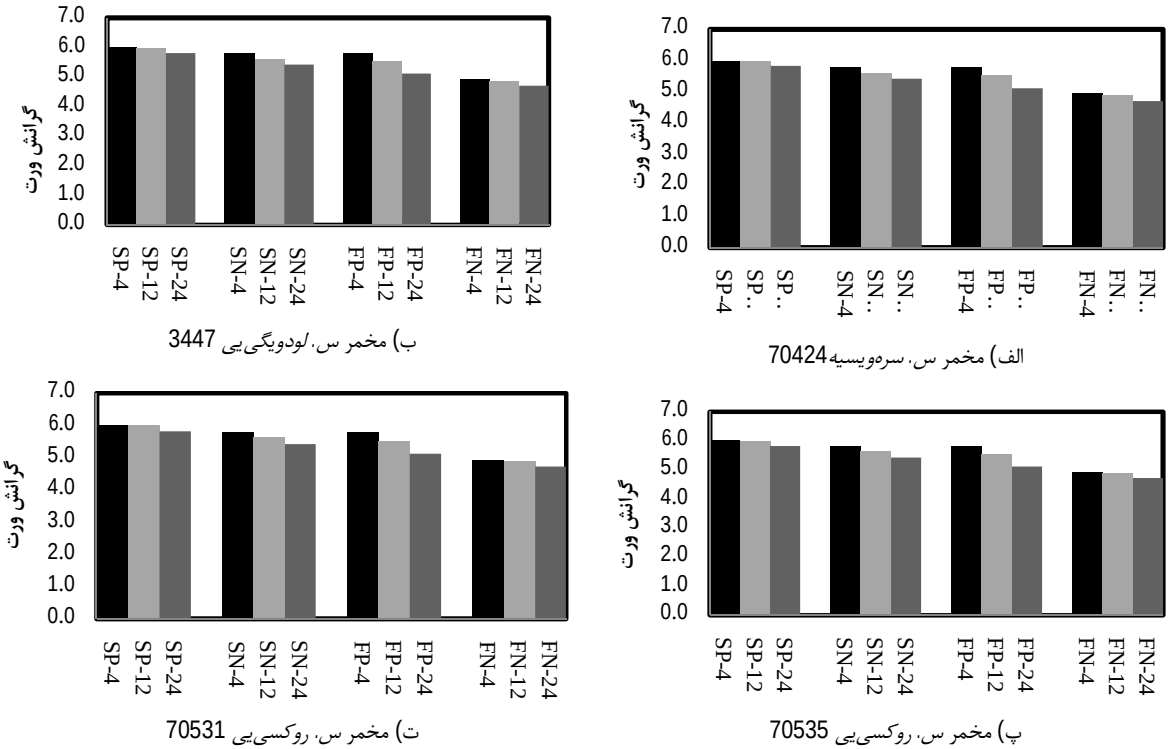
شاخص گرانش ورت: شکل 3 نمایان‌گر شاخص گرانش ورت در انواع تیمارهای مربوط به چهار سویه مخمری می‌باشد. کمترین مقدار گرانش ورت در ارتباط با هر یک از سویه‌های مخمری، در تیمار FN-24 (با تلقیح 4×10^7 cfu/mL، بی‌هوازی و دمای تخمیر 24°C) و بیشترین آن در تیمار با تلقیح 10^7 cfu/mL و تولید شده در شرایط هوادهی دوره‌ای مشاهده شد ($p<0/05$). همچنین، تیمارهای با تلقیح 4×10^7 cfu/mL، شرایط بی‌هوازی نسبت به شرایط هوازی مقدار گرانش ورت پایین‌تری را نشان دادند. تیمارهای مربوط به مخمر *س. سره‌ویسیه* 70424 و *س. روکسی‌یی* 70531 به ترتیب بیشترین و کمترین کاهش شاخص گرانش ورت را نشان دادند ($p<0/05$).

ارزیابی حسی: در ارتباط با مخمر *ساکارومایسس سره‌ویسیه*، دو تیمار «تلقیح 4×10^7 cfu/mL - هوادهی دوره‌ای 12°C = FP-12» و «تلقیح 10^7 cfu/mL- بی‌هوازی 24°C = SN-24» به‌طور یکسان ($p>0/05$) از

www.SID.ir

Archive of SID

جاافتادگی طعم و پذیرش کلی بیشتر برخوردار بودند. میزان جا افتادگی طعم در سایر تیمارها به طور معنی‌دار کمتر از دو تیمار مورد بحث بود. در تمامی تیمارهای مربوط به مخمر ساکارومایسس سره‌ویسیه، شدت بد- طعمی ورت مانند (ورتی) بسیار خفیف بود. در تمامی تیمارهای مربوط به مخمر ساکارومایسس لودویگی‌یی، نوعی بدطعمی ورتی- لاکتیکی تشخیص داده شد و میزان جاافتادگی طعم و پذیرش کلی آن‌ها به‌طور معنی‌دار و قابل ملاحظه کمتر از تیمارهای مربوط به مخمر ساکارومایسس سره‌ویسیه بود ($p<0/05$). نتایج ارزیابی حسی نشان داد که تیمارهای تخمیرشده این مخمر در دماهای بالاتر (24°C در قیاس با سایر دماها) از ترشی لاکتیکی نامطلوب و تیمارهای تخمیرشده در دماهای پایین‌تر (4 و 12°C در قیاس با 24°C) از شیرینی محسوس نامطلوب و طعم جا-نافتاده (Unaged) برخوردار بودند. مخمر ساکارومایسس روکسی‌یی به دلیل ویژگی‌های تخمیری و سرعت بسیار پایین رشد در مقایسه با 2 مخمر دیگر از نظر طعم مطلوبیت کمتری را نشان داد. تیمارهای مربوط به مخمر ساکارومایسس سره-ویسیه در مقایسه با دو مخمر دیگر از ویژگی‌های طعمی مطلوب‌تر برخوردار بودند ($p<0/05$).



الف) مخمر س. سره‌ویسیه 70424

ب) مخمر س. لودویگی‌یی 3447

پ) مخمر س. روکسی‌یی 70535

ت) مخمر س. روکسی‌یی 70531

شکل3. میزان گرانش ورت در شرایط مختلف فرآیند طی تخمیر (متغیرهای F، S، P، N و اعداد به ترتیب نشانگر تلقیح 4×10^7 cfu/mL، تلقیح 10^7 cfu/mL، شرایط هوادهی دوره‌ای، شرایط بی‌هوازی و دماهای تخمیر هستند).

جدول1. نتایج کلی حاصل از تحقیق انجام شده*

تیمار	میزان تلقیح (cfu/mL)	شرایط هوادهی	دمای تخمیر(°C)	نتایج
FP-24	4×10^7	هوادهی دوره‌ای	24	بیشترین سرعت رشد
FP-24	4×10^7	بی‌هوازی	24	بیشترین تولید اتانول
SP-4	10^7	هوادهی دوره‌ای	4	بیشترین گرانش ورت
SN-4	10^7	بی‌هوازی	4	کمترین سرعت رشد
SP-4	10^7	هوادهی دوره‌ای	4	کمترین تولید اتانول
FN-24	4×10^7	بی‌هوازی	24	کمترین گرانش ورت

*(متغیرهای F، S، P، N و اعداد به ترتیب نشانگر تلقیح 4×10^7 cfu/mL، تلقیح 10^7 cfu/mL، شرایط هوادهی دوره‌ای، شرایط بی‌هوازی و دماهای تخمیر هستند).

www.SID.ir

Archive of SID

• بحث

بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه، تیمارهای تولیدشده تحت شرایط هوادهی دوره‌ای در مقایسه با تیمارهای تولیدشده در شرایط بی‌هوازی به‌طور معنی‌دار از رشد بیشتری برخوردار بودند. این تفاوت به ویژه از ساعت 24 تخمیر به بعد مشهود بود. سلول‌های مخمر در شرایط بی هوازی از قندهای قابل تخمیر محیط، محصولات اصلی اتانول و گاز دی اکسیدکربن پدید می‌آورند (تخمیر الکلی). در شرایط هوازی، منابع قندی به مصرف تولید زیست-توده (جسم سلولی مخمرها)، انواع اسیدهای آلی و انرژی (به مقدار بسیار بیشتر در قیاس با تخمیر الکلی) می‌رسد (17-15). در شرایط هوادهی دوره‌ای، هر دو امکان یاد شده فراهم می‌شود و کم و کیف آن از سایر عوامل مثل درصد تلقیح و دمای تخمیر تاثیر می‌پذیرد. به طوری که یک مطالعه در خصوص تولید آبجوی کم الکل با استفاده از فرآیند تماس سرد مخمر *ساکارومایسس سروزیه* نشان داد که کمترین میزان تولید اتانول و بیشترین کاهش کدورت به ترتیب به غلظت مخمر 10^6 cfu/mL و 10^7 cfu/mL وابسته است (11). وجود شرایط هوازی در تولید ماءالشعیر از راه هوادهی دوره‌ای سبب می‌شود که سلول‌های مخمر در مقایسه با حالت دیگر ماءالشعیر از رشد بیشتری برخوردار شوند. باید توجه داشت که با تغییر در سرعت رشد سلول‌های مخمر، پروفیل طعم ایجاد شده طی تخمیر نیز تفاوت معنی‌دار پیدا می کند و سرعت‌های رشد بالا سبب ایجاد پروفیل مطلوب نمی‌شود (18). بیشترین اثر دمای تخمیر طی تخمیر ورت بر متابولیسم سلول‌های مخمر ظاهر می‌شود (18). روشن است هم‌گام با افزایش دمای تخمیر، بر سرعت رشد این سلول‌ها افزوده می‌شود. البته باید توجه داشت که دمای بهینه رشد اغلب مخمرها بالاتر از 30°C نیست و از آن پس ممکن است اثر افزاینده دما معکوس شود (18). نمایه طعم ماءالشعیر به موازات افزایش دما و در نتیجه آن بیشتر شدن رشد سلول-های مخمر، نامطلوب می‌شود. نکته با اهمیت دیگر، کاهش غلظت اکسیژن ورت (به دلیل کاهش حلالیت این گاز) هم‌گام با افزایش دمای تخمیر است. این موضوع بر میزان تخمیر الکلی می‌افزاید (18). مطالعه جوبه و همکاران نشان داد که دما به عنوان مهم‌ترین عامل بر روی میزان اتانول و طعم به شمار می رود، به طوری که دمای 0°C کمترین میزان اتانول و بهترین طعم را در مقایسه با سایر دماها ایجاد می‌کند (11).

شایان ذکر است که پایین بودن غلظت ورت (شاخص گرانش ورت) باعث بالاتر بودن حلالیت اکسیژن در آن می‌شود. این ویژگی (هم چنان که در این پژوهش صادق بود گرانش حدود 6) طی تخمیر بر سرعت رشد می‌افزاید.

بر اساس نتایج حاصل، در ارتباط با مخمرهای گوناگون، مقایسه تیمارهای تولیدشده در شرایط بی‌هوازی و هوادهی دوره‌ای آشکار ساخت که نوع شرایط محیطی در تیمارهای با تلقیح 10^7 cfu/mL و دماهای یکسان تخمیر، بر مقادیر تولید اتانول اثر معنی‌دار ندارد ($p>0/05$). برای مثال، مقدار اتانول در تیمارهای SN-4 و SP-4 یا SN-24 و SP-24 در ارتباط با تمامی مخمرها از نظر آماری یکسان بود ($p>0/05$). در مقابل، مقادیر اتانول در تمامی تیمارها، با تلقیح 4×10^7 cfu/mL در همه دماهای تخمیر به طور معنی‌دار متفاوت بود. میزان معنی‌داری در مقدار اتانول در دماهای کمتر تخمیر، بیشتر بود. برای مثال، در ارتباط با مخمر س. سره‌ویسیه 70424 و شرایط تلقیح 4×10^7 cfu/mL، مقادیر اتانول به ترتیب در تیمارهای تولید شده تحت هوادهی دوره-ای و بی‌هوازی، در 4°C به ترتیب 0/27 و 1/52 (1/25 اختلاف) و در 24°C برابر 1/09 و 1/96 (0/87 اختلاف) (داده‌ها، به‌طور دقیق نشان داده نشده‌اند) بود. این موضوع بر اهمیت درصد تلقیح دلالت دارد. در دماهای بالاتر تخمیر، به‌ویژه در شرایط با تلقیح 4×10^7 cfu/mL و بی‌هوازی، سرعت تولید اتانول به طور قابل ملاحظه افزایش یافت.

در تیمارهای تخمیرشده در شرایط هوادهی دوره‌ای (در قیاس با شرایط بی‌هوازی)، افزایش دمای تخمیر بر سرعت تولید اتانول اثر معنی‌دار داشت. برای مثال، در ساعت 48 تخمیر، در تیمارهای تولید شده تحت شرایط بی‌هوازی (در خصوص تمامی مخمرها و با تلقیح 4×10^7 cfu/mL)، مقادیر اتانول در دماهای تخمیر 12°C و 24°C به ترتیب 0/53 و 1/03 (0/50 اختلاف) و در تیمارهای تولید شده تحت شرایط بی‌هوازی، به ترتیب 1/75 و 1/96 (0/21 اختلاف) بود. علت این موضوع این است که در شرایط هوادهی دوره-ای در مقایسه با شرایط بی هوازی، مدت زمان قرارگرفتن سلول‌های مخمر در شرایط بی‌هوازی کمتر است، دماهای بالاتر تخمیر فرصت بهره‌گیری بیشتر از این مدت زمان‌های دوره‌ای را در ساخت اتانول فراهم می‌آورند. شایان ذکر است که دماهای بالاتر تخمیر (برای مثال 12°C در قیاس با 24°C) سبب کاهش معنی‌دار حلالیت اکسیژن در ورت

www.SID.ir

Archive of SID

می‌شوند (18). این ویژگی بر شدت تخمیر الکلی در این دماها می‌افزاید. تمامی تیمارهای مربوط به دو سویه مخمری *ساکارومایسس روکسی‌یی* مقادیر اتانول کمتر از 0/5% (حجمی) داشتند و بنابراین، مناسب برای تولید ماءالشعیر بودند. مقدار اتانول مخمرهای *ساکارومایسس سره‌ویسیه* 70424 و *ساکارومایسس لودویگی‌یی* 3447، به جز تیمارهای با تلقیح 4×10^7 cfu/mL- بی‌هوازی (در تمامی دماهای تخمیر) و تیمار با تلقیح 4×10^7 cfu/mL- هوادهی دوره‌ای- دمای تخمیر 24°C، در سایر تیمارها کمتر از 0/5% (حجمی) بود.

نتایج حاصل نشان داد که مقدار گرانش ورت با مقدار قند قابل تخمیر محیط همبستگی مستقیم و با مقدار اتانول محیط همبستگی معکوس دارد (19). از آنجا که در تیمارهای تولیدشده در شرایط بی‌هوازی (به ویژه انواع با تلقیح 4×10^7 cfu/mL) مقدار اتانول از تیمارهای تولید شده در شرایط هوادهی دوره‌ای به طور معنی‌دار بالاتر است، میزان گرانش ورت نیز در آنها کمتر بود ($p<0/05$). مقدار شاخص گرانش در تیمارهای مشابه (از نظر تمامی متغیرها به جز دمای تخمیر) که در دمای 24°C تخمیر شده بودند کمتر از دو دمای دیگر بود. این موضوع بر مصرف بیشتر قند در مسیر متابولیسم هوازی یا بی‌هوازی و تولید بیشتر اتانول در شرایط بی‌هوازی دلالت دارد.

دو تیمار مخمر *ساکارومایسس سره‌ویسیه* «با تلقیح 4×10^7 cfu/mL- هوادهی دوره‌ای- 12°C = FP-12» و «تلقیح 10^7 cfu/mL- بی‌هوازی- 24°C = SN-24» به‌طور یکسان ($p<0/05$) از جاافتادگی طعم و پذیرش کلی بیشتر برخوردار بودند. این مشاهده را می‌توان به انجام تخمیر الکلی کامل‌تر در این تیمارها در قیاس با سایر تیمارها نسبت داد (مقدار اتانول بالاتر در آن ها گواه این مدعا است)، اگر چه درصد اتانول در دو تیمار یاد شده از 0/5% (حجمی) فراتر نرفته است. در خصوص تیمار «با تلقیح 10^7 cfu/mL- هوادهی دوره‌ای- 24°C = SP-24»، از آنجاکه شرایط هوادهی دوره‌ای و دمای تخمیر بالاتر، ورت را در مقایسه با تیمار FP-12 به میزان بیشتر در معرض شرایط هوازی قرار می دهد، از کیفیت نمایه (پروفیل) طعم محصول نهایی می‌کاهد. دماهای بالاتر تخمیر و حضور اکسیژن، نمایه طعمی مناسب به دست نمی‌دهد (18). در این خصوص سیف کردی و همکاران گزارش دادند که حذف آلدئیدها در دمای بهینه تخمیر بهتر از شرایط فرآیند تماس سرد انجام می‌شود (10).

در تمامی تیمارهای مربوط به مخمر *ساکارومایسس سره‌ویسیه*، شدت بد- طعمی ورت- مانند (ورتی) بسیار خفیف بود. گزارش شده است مخمر *ساکارومایسس لودویگی‌یی* در جریان متابولیسم خود، اسید لاکتیک تولید می‌کند (20). وجود این اسید در ورت بیش از اندازه سبب برهم خوردن توازن نمایه طعم ماءالشعیر می‌شود. همچنین، مخمر یادشده در تخمیر قند مالتوز ورت ناتوان است و این ویژگی سبب می‌شود که علاوه بر سرعت رشد اندک و ناکامل بودن تخمیر (و در نتیجه آن ایجاد طعم جا-ناافتاده)، ورت تخمیرشده از طعم نسبتا شیرین برخودار باشد (7). میزان بد- طعمی در تیمارهای مرتبط با مخمر *ساکارومایسس لودویگی‌یی* به طور میانگین، در محدوده محسوس و مشهود قرار داشت. نتایج ارزیابی حسی نشان داد که تیمارهای تخمیر شده این مخمر در دماهای بالاتر (24°C در قیاس با سایر دماها) از ترشی لاکتیکی نامطلوب و تیمارهای تخمیرشده در دماهای پایین‌تر (4°C و 12°C در قیاس با 24°C) از شیرینی محسوس نامطلوب و طعم جانا-افتاده‌تر برخوردار بودند. به نظر می‌رسد به دلیل سرعت پایین فعالیت متابولیکی مخمر *ساکارومایسس لودویگی‌یی*، میان تیمارهای تخمیر شده در دماهای 4°C و 12°C این مخمر بر خلاف مخمر *ساکارومایسس سره‌ویسیه*، تفاوت معنی‌دار در شاخص جاافتادگی طعم مشاهده نشد.

بر اساس نتایج حاصل، شرایط محیطی اثر معنی‌داری در تیمارهای با تلقیح 4×10^7 cfu/mL دارد. تمامی تیمارهای دارای مخمر *ساکارومایسس سره‌ویسیه* از شدت بد طعمی بسیار خفیفی برخوردار بوده و دماهای بالاتر تخمیر و شرایط با تلقیح 4×10^7 cfu/mL و بی‌هوازی منجر به افزایش سرعت تولید اتانول شد. اگرچه تمامی تیمارهای *ساکارومایسس روکسی‌یی* به دلیل تولید مقادیر اتانول کمتر از 0/05% برای تولید ماءالشعیر مناسب بودند اما میزان بد- طعمی در این تیمارها محسوس بود. بنابراین می‌توان از انواع ترکیبات رایحه‌دار برای پوشاندن بد طعمی‌های ورتی (شبه ورت) و لاکتیکی ناشی از *ساکارومایسس روکسی‌یی* و *ساکارومایسس لودویگی‌یی* به منظور تولید ماءالشعیر با خواص حسی قابل قبول استفاده نمود.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1. Fillaudeau L, Boissier B, Moreau A, Blanpain-avet P, Ermolaev S, Jitariouk N, et al. Investigation of rotating and vibrating filteration for clarification of rough beer. J Food Eng 2007; 80(1): 206-217.
2. Moll MM. Water. In: Hardwick WA, editor. Handbook of Brewing. Marcel Dekker: New York, USA; 1995: 133-156.
3. Gorinstein S, Caspi A, Zemser M, Tarkthenberg S. Comparative content of some phenolics in beer, red and white wines. Nutr Re 2000; 20(1): 131-139.
4. Nardini M, Ghiselli A. Determination of free and bound phenolic acids in beer. Food Chem 2004; 84: 137-143.
5. Ghiselli A, Natella F, Guidi A, Montanari L, Fantozzi P, Scaccini C. Beer increases plasma antioxidant capacity in humans. J Nutr Biochem 2000; 11(2): 76-80.
6. Lapcik O, Hill M, Hampl R, Wahala K, Adlercreutz H. Identification of isoflavonoids in beer. Steroids 1998; 63(1): 14-20.
7. Huige, N.J, Sanchez G.W, Leidig A.R. Process for preparing a nonalcoholic (less the 0.5 volume percent alcohol) malt beverage. US Patent No. 4,970,082. 1990.
8. Vanbeneden N, Delvaux F, Delvaux F.R. Determination of hydroxycinnamic acids and volatile phenols in wort and beer by isocratic high-performance liquid chromatography using electrochemical detection. J Chrom 2006; 1136(2): 237-242.
9. Buzrul S. A suitable model of microbial survival curves for beer pasteurization. LWT- food Sci Tech 2007; 40(8): 1330-1336.
10. Seifkordi AA, Hosseini Joobeh M, Kheyr ol omum A, Bastani D. Reducing 3- methyl butanal and hexanal in sweet malt syrup by cold contact process Iranian J Chem Chem Eng 2006; (1): 59-65 [in Persian].
11. Hosseini Joobeh A.M, Seifkordi A, Kheyr ol omum A, Bastani D. Optimization of Ma-al-shaeer production with cold contact process by *Saccharomyces cerevisiae*. Iranian J Chem Chem Eng 2004; (1): 43-49 [in Persian].
12. Khalkhali S, Fazeli M.R, Norouzi J, Salehi M. The study of Enrichment of probiotic Ma-al-shaeer by four Lactobacillus. Microbiol Knowledge 2008; (1): 59-63 [in Persian].
13. Van-Iersel MFM, Van Dieren B, Rombouts FM, Abee T. Flavor formation and cell physiology during the production of alcohol-free beer with immobilized *Saccharomycess cerevisiae*. Enzyam Microbiol Technol 1999; 24(7): 407-411.
14. Institute of standards and Industrial Research of Iran, Sensory analysis – methodology eveluation of food products by methods using scales. ISIRI no 3443.
15. Hardwick W.A. An overview of beer making. In: Hardwick W.A, editor. Handbook of brewing. Marcel Dekker: New York, USA; 1995: 87-96.
16 .Yuan C, Blok K. Conversion of oleic acid to linoleic acid. J Biol Chem 1961; 236(5): 1277.
17. Bloomfield D.K, Bloch K. The formation of Δ^9-unsaturated fatty acids. J Biol Chem 1960; 235: 337-341.
18. Briggs D.E, Boulton C.A, Brookes P.A, Stevens R. Metabolism of wort by yeast. Brew Sci Practice 2004; 87-92.
19. Ogbonna A.C, Obasi C.N. A qualitative assessment of some Nigerian lager beer brands. Nigerian Food J 1995; 13; 49-53.
20. Dziondziak K. Method for the production of low-alcohol or alcohol-free beer. US Patent No. 4,814,188. 1989.

www.SID.ir

Archive of SID

The effect of *Saccharomyces* strain and fermentation conditions on production of Ma-al-Shaeer

Sohrabvandi S[1], Mousavi SM[2], Razavi SH[2], Malganji Sh[3], Khosravi-Darani K[4], Mortazavian AM[5]*

1- Assistant prof, 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

2- prof, Dept. of Food Science, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

3- Dept. of Food Science and Technology, Khorasegan Branch, Islamic Azad University, Esfahan, Iran

4- Associate Prof. Research Dept.of Food Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*5- *Corresponding author: Associate prof, 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, Email: mortazvn@sbmu.ac.ir*

Received 11 Aug, 2013 **Accepted 16 Nov, 2013**

Background and objective: Beer is a popular drink worldwide. Due to the disadvantages of alcoholic beer consumption on pregnant women, those with cardiovascular diseases, professional athletes, driving accidents, traffic events, and work-place considerations, there has been being a trend among population to consume non-alcoholic beer with pleasant sensory characteristics. This research investigates the effects of different *saccharomyces* strains and fermentation conditions on production of non-alcoholic beer.

Materials and methods: Four strains of *saccharomyces* (*S. cerevisiae* 70424, *S. ludwigii* 3447, *S. rouxii* 70535 and *S. rouxii* 70531) were added to the wort with defined gravity in two levels. The wort was fermented in three temperatures for 48 h under anaerobiosis or under periodic aeration (each 12 h). Optical density was assessed by spectrophotometry, and wort gravity and ethanol content by beer analyzer (at 12-h intervals during fermentation) over 48 h. Sensory analysis was performed by a panel group consists of 6 trained panelists. Experiments were performed in triplicate and the ranked orders of means were determined in significance level of 0.05 (p<0.05) using two-way ANOVA test from Minitab software (State College, PA, USA). The design was 'completely randomized design'.

Results: Treatments with 4×10^7 (cfu/mL) inoculation rate and fermentation temperature of 24˚C resulted in the greater growth rate under periodic aeration and the higher ethanol production under anaerobic condition. The greatest wort gravity was seen in treatments with inoculation rate of 10^7 (cfu/mL), periodic aeration and fermentation at 4˚C (p<0.05). Treatments with 10^7 (cfu/mL) inoculation level, fermentation at 4˚C possessed the lowest growth rate under anaerobiosis and the lowest ethanol production under periodic aeration. Among the yeasts used, the highest and lowest amounts of growth rate, ethanol production and wort gravity were related to *S. cerevisiae* and *S. rouxii*, respectively. The greatest scores for flavor in sensory analysis was observed for the sample fermented with *S. cerevisiae*.

Conclusion: Using *S. cerevisiae* in restricted fermentation methodology under the conditions of 10^7 (cfu/mL) inoculation level, periodic fermentation and fermentation temperature of 4˚C were found suitable for production of non-alcoholic beer due to its acceptable sensory properties and the alcohol amout less than 0.5%.

Keywords: Non-alcoholic beer, Ethanol, *Saccharomyses*

www.SID.ir