بررسی خصوصیات باکتری‌های اسید لاکتیک دارای قابلیت تولید ترکیبات آروماتیک جدا شده از ماست سنتی استان زنجان

آزیتا صفری[۱]، مریم تاج‌آبادی ابراهیمی[۱]، **نسیم آذری**[۲*]

[۱]گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی،واحد تهران مرکز،تهران
[۲]گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تاکستان،تاکستان

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۱۸

چکیده

تخمیر شیر برای تهیه‌ی ماست یکی از قدیمی‌ترین روش‌های مورد استفاده توسط انسان برای تبدیل شیر به محصولی با ماندگاری بیشتراست. هدف از این مطالعه بررسی خصوصیات باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از ماست روستاهای استان زنجان و بررسی میزان توانمندی این سویه‌ها در تولید دی استیل است. در این مطالعه هفت نمونه ماست جمع‌آوری و در شرایط استاندارد به آزمایشگاه منتقل شدند. سویه‌های جدا شده از نظر ریخت‌شناسی، مورفولوژی بررسی شدند و آزمون‌هایی چون کاتالاز، همولیز، حساسیت به آنتی‌بیوتیک، میزان رشد در دماهای مختلف، ارزیابی ارگانولپتیک بر روی آنها انجام شد. میزان تولید دی استیل ماست‌های منتخب پس از ۱۴ روز ذخیره سازی در دمای ۵°C با استفاده از SPME-GC ارزیابی شد. طبق نتایج بدست آمده سویه‌ها بر اساس مورفولوژی در دوگروه باسیل فرم و کوکسی فرم قرار گرفتند. تمامی سویه‌ها گرم مثبت و کاتالاز منفی بودند. بیشتر سویه‌های مورد بررسی همولیز منفی بودند و مطابق با قوانین EFSA حساسیت آنتی بیوتیکی داشتند. میزان تولید دی استیل در نمونه ماست‌های منتخب L_1 وN_7 به ترتیب ۵/۶ ppm و ۱۰ بودندسویه‌های مورد بررسی قابلیت بالای تولید دی استیل داشتند و طعم کره‌ای و خاطره انگیزه ماست سنتی ایرانی را ایجاد کردند.

واژگان کلیدی: دی استیل،باکتری اسید لاکتیک ،ماست، SPME-GC

* nasim.azari@tiau.ac.ir

مقدمه

در بین فراورده های شیری تخمیری، ماست طی قرن‌ها، حتی زمانی که اثرات مفید آن به‌طور کامل شناخته شده نبود به‌عنوان بخشی از رژیم غذایی مورد مصرف بوده است.

استرپتوکوکوس ترموفیلوس[1] و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس*[2] دوگونه از باکتری‌های اسید لاکتیک هستند که به‌طور گسترده در صنعت تولید ماست استفاده می‌شوند. لاکتوباسیل‌ها بخش مهمی از گروه بزرگ باکتری‌های تولیدکننده‌ی اسید لاکتیک را تشکیل می‌دهند و از اجزای اصلی فلور میکروبی محصولات تخمیری لبنی و انواع غذاهای تخمیری محسوب می‌شوند. این باکتری‌ها به صورت جورتخمیر قادر به تخمیر قند هگزوز برای تولید اسید لاکتیک و برخی ترکیبات کربونیل از قبیل استالدهید می‌باشند (۱, ۲). بیش از ۹۰ ترکیب فرار مختلف از جمله کربوهیدرات‌ها، الکل‌ها، آلدهیدها، کتون‌ها، اسیدها، استرها، لاکتون‌ها، ترکیبات حاوی گوگرد، پیرازین‌ها و مشتقات فوران در ماست شناسایی شده است(۳).

ترکیبات طعم دهنده موجود در ماست را می‌توان به چهار دسته اصلی، اسیدهای غیر فرار (لاکتیک، پیرووِیک، اگزالی وسوکسینیک)، اسیدهای فرار(استیک، پروپیونیک و بوتیریک)، ترکیبات کربونیل (مانند: استالدهید، استون، استوئین، دی استیل) و ترکیبات متفرقه (اسیدهای آمینه خاص و یا اجزای تشکیل دهنده پروتئین‌ها و چربی‌های تخریب شده توسط حرارت) تقسیم کرد. با وجود تنوع در ترکیبات فرار موجود در ماست، تمامی این ترکیبات در مواد غذایی از اهمیت حسی برخوردار نیستند و در بیشتر تحقیقات تعداد کمی از این ترکیبات غلظت نسبتاً بالایی از خود نشان دادند. ترکیباتی چون استالدهید، اتانول، استون، دی استیل و ۲ بوتانون در ایجاد طعم مطلوب نقش بسزایی داشتند و همچنین دارای مقادیر قابل تشخیص آزمایشگاهی بودند(۳).

اسید الدهیدیک از ترکیبات اصلی طعم در ماست است و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* نقش اصلی را در تولید آن برعهده دارد. گونه‌های مختلف این سویه تفاوت‌های قابل توجهی را در میزان تولید این ترکیب از خود نشان می دهند(۴). میزان و نوع ترکیبات تولید شده درطی مسیر تخمیر بر بافت، عطر و طعم ماست تأثیر می‌گذارند. همچنین، تولید این ترکیبات تحت تأثیر ترکیبات شیمیایی موجود در شیر، شرایط پردازش و فعالیت متابولیکی کشت استارتر قرار می‌گیرند(۱). یکی از پیش سازهای ترکیبات طعم دهنده در شیر کازئین است و سیستم پروتئولیتیکی باکتری‌های اسیدلاکتیک ترکیبات طعم دهنده را از اسیدهای آمینه سازنده‌ی کازئین شیر تولید می‌کنند(۵)؛ اگر چه ترکیبات طعم دهنده می‌توانند از اسیدهای چرب و قندها نیز حاصل شوند (۶). هردو سویه ی *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و*لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* قادر به تولید اسید لاکتیک هستند اما در تولید انواع مختلف ترکیبات معطر و اسیدهای آلی موثر در عطر و طعم و بافت ماست، بسیار متفاوت هستند. بنابراین میزان ونوع ترکیبات معطر موجود در محصول نهایی با توجه به نوع و درصد سویه‌های موجود در یک کشت استارتر متفاوت است(۷). بررسی‌های صورت گرفته نشان داده است که ماست با میزان استالدهید پایین همچنان دارای عطر و طعم یک ماست معمولی است و این مسئله بیانگر این موضوع است که علاوه بر استالدهید ترکیبات معطر دیگری در این میان نقش مهمی در ایجاد عطر و طعم دارند و استالدهید تنها یک جزء اصلی از عطر ماست محسوب می‌شود. طبق گزارشات ارائه شده، دی استیل در محصولات حاوی غلظت کم استالدهید نقش مهمی در ایجاد لطافت، عطر و طعم ماست بازی می‌کند(۸). دی استیل یک دی‌کتون است که یکی از بزرگترین ترکیبات معطر ماست محسوب می‌شود و از تخمیر سیترات موجود در شیر و لبنیات حاصل می‌شود و موجب ایجاد طعم کره‌ای در ماست می‌شود(۹). ماست به‌عنوان یک فراورده‌ی شیری دارای خصوصیات رئولوژیکی پیچیده است و این خصوصیات وابسته به درجه حرارت، میزان مواد جامد،

[1] *Streptococcus thermophilus*
[2] *Lactobacillus bulgaricus*

میزان پروتئین و چربی موجود در شیراست. محصولات دارای ویژگی های منحصر به فرد نظیر بافت، طعم و عطر ماندگار تحت اثر فاکتورهائی نظیر ساختار وتیمار حرارتی شیر، به کار بردن پایدارکنندها و نوع مایه میکروبی آغازگر قرار می گیرد و مهمترین فاکتور موثر به کار برد شده در تولید آن نوع مایه میکروبی آغازگر است. این خصوصیات ویژه با به‌کاربردن یک مایه میکروبی آغازگر حاوی سویه هایی با توانایی تولید محصولاتی با خصوصیات مطلوب ودر نسبت‌های صحیح و رعایت شرایط بهینه دما-زمان در گرمخانه‌گذاری پدیدار خواهند شد(۱۰). در طی سال‌های اخیر به دلیل توجه ویژه مصرف‌کنندگان به عطر و طعم محصولات لبنی در طی فرایند تخمیر، حفظ ویژگی‌های طعم به‌عنوان هدف اصلی در طی مسیر تولید در نظر گرفت شده است و برای ارتقاء محصولات لبنی امری ضروری محسوب می‌شود. بررسی ترکیبات اصلی طعم‌دهنده و منشاء تولید آنها به تولیدکنندگان محصولات لبنی کمک می‌کند تا محصولی یکنواخت‌تر و با مقبولیتی بیشتر تولید کنند و همچنین یک مطالعه کمی از ترکیبات معطر موجود در ماست به تولیدکنندگان برای تولید ماست‌هایی با طعم مناسب‌تر و پایدارتر کمک می‌کند(۳). باکتری‌های اسید لاکتیک می‌توانند از مسیرهای متعددی برای تولید استالدهید استفاده کنند(۱۱)که از مهمترین این مسیرها استفاده از آنزیم هیدروکسی متیل ترانسفراز سرین است که سبب تولید مستقیم گلایسین و استالدهید از ترئونین می‌شود. در مطالعه‌ی انجام شده توسط فرناندز و همکاران (۲۰۰۲) مشخص شد با افزایش L-ترئونین به محیط‌کشت شاهد افزایش تولید استالدهید خواهیم بودکه این مسئله تولید استالدهید در طی فرایند تخمیر با استفاده ازفعالیت ترئونین الدولاز را افزایش می‌دهد و همچنین غیر فعال کردن ژن هیدروکسی متیل ترانسفراز سرین منجر به کاهش شدید ترئونین الدولاز و سپس کاهش مطلق تولید استالدهید و بالعکس شد(۱۲). درماست تهیه شده از شیر پرچرب، چربی های موجود در ماست سبب پایداری بیشتر ترکیبات فرار می‌شوند، در حالی‌که در شیر کم چرب این میزان ماندگاری کمتر است و ترکیبات فرار در زمان کمتر و با کیفیت بیشتری به حداکثر مقدار گاز استنشاق می‌رسند. ساختار بافت، عطر وطعم غذا با تغییر در میزان محتوای چربی تغییر می‌کنند بنابراین عدم وجود چربی باعث تغییر کامل در نحوه‌ی توزیع مولکول‌های طعم در یک محصول می‌شود. جایگزین‌های چربی، همچون غلیظ کننده‌ها و مقادیر آنها در مدت زمان نگهداری عطر و طعم، خواص فیزیکی، شیمیایی و بافتی ماست تاثیر قابل توجهی دارند. چربی‌ها بیشتر هیدروفوب هستندو یک حلال الی برای ترکیبات طعم محسوب می‌شوند(۲).

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه و جداسازی باکتری‌های اسیدلاکتیک از ماست سنتی زنجان

در این مرحله، ۷ نمونه ماست منتخب، با عطر و طعم ماست سنتی از روستاهای مختلف استان زنجان تهیه شدند. جمع‌آوری این نمونه‌ها مطابق با روش نمونه‌برداری به شماره استاندارد ISO707 انجام شد(۱۳) و سویه‌های بومی به مجموعه میکروبی آزمایشگاه منتقل شدند. مقدار gr ۱۵-۱۲ از نمونه ماست جمع آوری شده به سه ارلن استریل حاوی MRS ۲۰ ml، MRS ۲۰۰ ml و M17 ۲۰۰ ml اضافه شد و سپس به مدت ۲۰ min در شیکر با دور ۲۰۰-۱۰۰ در دقیقه مخلوط می‌کنیم. سپس یکی از نمونه‌های موجود در محیط MRS در انکوباتور معمولی در دمای ۴۴-۴۲°C ودیگری درانکوباتور CO_2دار و در دمای ۳۷ °C به مدت ۴۸ h و نمونه موجود در M17 در شیکر انکوباتور با دور ۲۰۰ در دقیقه در دمای ۳۷ °C به مدت ۴۸ h انکوبه شد(۱۴) . بعد از تهیه کشت باکتریایی، در انکوباتور در دمای ۴۲ °C به مدت ۲۴ h انکوبه شدند و برای تهیه کشت های خالص میکروبی چندین بار تجدید کشت انجام شد. سپس برای بررسی مورفولوژی کلنی‌ها و مشاهدات میکروسکوپی رنگ‌آمیزی گرم و تست کاتالاز برای هریک از سویه‌های جدا شده انجام شد و کلیه سویه‌های جدا شده در محیط شیر بدون چربی وحاوی گلیسرول در دمای ۷۰ °C- نگهداری شدند(۱۴).

تست همولیز

برای انجام تست همولیز از محیط‌کشت نوترین آگار حاوی۷ ٪ خون دفیبرینه گوسفندی و کشت خطی سویه های مورد نظر استفاده شد. سپس هاله‌ی تشکیل شده در اطراف کلنی‌ها پس از ۲۴ h انکوبه در دمای۴۲ °C ارزیابی شدند (۱۴).

بررسی حساسیت سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک

در این بخش از مطالعه مطابق با قوانین EFSA (European Food Safty Authority) سویه‌های مورد بررسی باید نسبت به آنتی‌بیوتیک‌هایی چون ونکومایسین، سیپروفلاکسین،کلینداماسین، آمپی‌سیلین، جنتامایسین، تتراسایکلین، کلرامفنیکل، کانامایسین، امپینم فاقد مقاومت باشند. برای انجام این تست از محیط‌کشت نوترینت استفاده شد وحداقل غلظت آنتی‌بیوتیک برای مهارکردن سویه‌های منتخب (MIC) در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ h انکوبه بررسی شد(۱۵).

ارزیابی قابلیت رشد سویه‌ها در درجه حرارت های مختلف

برای بررسی قابلیت رشد سویه‌ها در دماهای مورد بررسی، ۵۰ µl از کشت فعال سویه‌ها در ۵ ml از محیط کشت تلقیح شد وسپس میزان کدورت نمونه‌ها در جذب نوری (OD) ۶۲۰ nm پس از انکوبه کردن در دماهای °C ۴۵، ۴۲، ۳۷ به مدت ۲۴ h بررسی شدند(۱۶).

تهیه نمونه‌های ماست تک سویه

برای تهیه نمونه ماست از شیر بازسازی شده حاوی ۱۲ ٪ پودر خشک بدون چربی کم حرارت دیده، ساخت کمپانی فونترا استفاده شد. در مرحله بعدی شیر بازسازی شده برای پاستوریزاسیون تا دمای°C ۹۵- ۹۰ به مدت min ۵ در حمام آب گرم قرار گرفت و تا دمای حدود °C ۴۴- ۴۲ خنک شد.سپس، بلافاصله توسط تک سویه‌های باکتریایی مورد نظر به میزان 10^8 CFU/ml تلقیح و پس از مخلوط کردن کامل به گرمخانه °C ۴۲ منتقل شد(۱۷).

ارزیابی ارگانولپتیک

ارزیابی ارگانولپتیک با روش امتیازدهی و با استفاده ازکارت امتیاز انجام شد. فاکتورهایی چون ظاهر، بافت، عطر وطعم محصول نهایی با امتیازهای۵-۱ در کارت امتیاز مقایسه شدند و در نهایت برای طعم ضریب ۵، ساختار و بافت ضریب ۲ و برای عطرضریب ۱در نظر گرفته شد و به این ترتیب امتیاز کلی محاسبه شد. این ارزیابی براساس روش‌های استاندارد توسط ۱۵ نفر ارزیاب آموزش دیده انجام شد. با توجه به اهمیت فاکتور طعم، امتیازی به این فاکتور تعلق نگیرد نمونه از نظر ارزشیابی غیرقابل قبول است. نیم ساعت پیش از ارزیابی، ارزیاب‌ها به غیر از آب از خوردن و آشامیدن پرهیز کردند. برای ارزیابی دقیق‌تر در بین ارزیابی نمونه‌ها، ارزیاب‌ها یک لیوان آب نوشیدند(۱۸)

بررسی میزان تولید دی استیل در ماست منتخب

در این بررسی میزان تولید دی استیل در نمونه ماست های منتخب پس از ۱۴ روز ذخیره سازی در دمای°C ۵ و با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی/ طیف‌سنجی جرمی (GC/MASS) ارزیابی شد. این روش به‌عنوان یک روش فیزیکی برای جداسازی، شناسایی و اندازه‌گیری اجزای فرار استفاده می‌شود(۱۹).

نتایج

نتایج جداسازی باکتری‌ها

طبق نتایج به‌دست آمده تمام سویه‌های جدا شده از نمونه ماست‌های جمع‌آوری شده گرم مثبت و کاتالاز منفی بودند و مطابق با استانداردهای موجود در زمینه‌ی مصرف باکتری‌های کاتالاز منفی در صنعت غذا به‌عنوان ترکیب GRAS، این سویه ها از نظر تست کاتالاز از دیدگاه ایمنی زیستی مورد تایید بودند. سویه های جدا شده بر اساس مورفولوژی در دو گروه باسیل فرم و کوکسی فرم قرار گرفتند. ۳سویه ی باسیل فرم در گروه L و۸ سویه کوکوسی فرم در گروه N قرار گرفتند.

نتایج بررسی ایمنی سویه‌ها

اولین گام در انتخاب سویه‌های منتخب برای مایه میکروبی آغازگر، بررسی ایمنی و تطبیق آنها با استانداردهای موجود در این زمینه است. قدرت همولیزکنندگی در باکتری‌هایی دیده می‌شود که قادر به تولید پراکسید هیدروژن هستند و به این ترتیب سبب اکسید شدن هموگلوبین وتبدیل آن به مت‌گلوبین و حذف سویه های دارای این توانمندی می‌شوند(۲۰). طبق نتایج به‌دست آمده از قدرت همولیزکنندگی سویه‌ها، در این مرحله از آزمون، ۳ سویه از باکتری‌های گروه N شامل N_8، N_6 ، N_1دارای قدر همولیزکنندگی آلفا بودند. مطابق با استانداردهای فدراسیون جهانی شیر و انجمن استاندارد آزمایشگاهی و پزشکی، سویه‌هایی با آزمون حساسیت بالا و مقاومت کمتر به آنتی‌بیوتیک‌های کاربردی در صنایع غذایی به‌عنوان مایع میکروبی آغازگر هستند(۲۰). طبق قوانین EFSA سویه‌های مورد استفاده در محصولات غذایی بایستی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بیمارستانی حساس باشند(۲۱) و طبق نتایج به‌دست آمده از میزان مقاومت سویه ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی سویه‌های باسیل فرم و سویه‌ی N_2 از گروه کوکسی فرم نسبت به تمام آنتی‌بیوتیک‌ها حساس بودند. سویه N_3 نسبت به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین و سیپروفلوکساسین، سویه N_4 نسبت به آمپی‌سیلین، سویه N_5 نسبت به ونکوماسین و سویه N_7نسبت به کلیندامایسین و اریترومایسین دارای مقاومت بودند

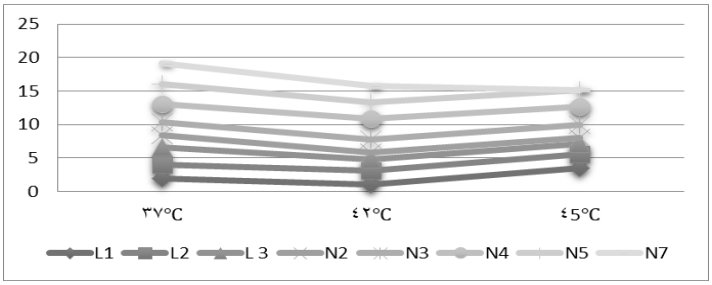
نتایج بررسی قابلیت رشد سویه‌ها در دماهای مختلف

نتایج نمودار۱ نشان دهنده طیف وسیعی از سویه‌های مزوفیل با بهینه درجه حرارت ۳۷ °C می‌باشدکه این تفاوت میزان رشد در سطح ۰/۰۵ توسط روش T.Test در نرم‌افزار Prism بررسی شد و احتمالاً دلیل این مسأله جداسازی این باکتری‌ها از محصولات سنتی تخمیری است که اغلب بدون دسترسی به سیستم گرمخانه‌گذاری و تنها با گرم نگهداشتن معمولی تولید می‌شوند. از آنجایی که این مناطق آب و هوایی گرم ندارند بنابراین احتمال سازگاری این باکتری‌ها با شرایط و فرآیند تولید آنها وجود دارد. در صورت کاربرد سویه‌ها به‌عنوان مایه میکروبی آغازگر براساس نتایج به‌دست آمده از بهینه دمای رشد سویه‌ها، دمای انکوباسیون ۳۷ °C برای فرآیند تخمیر پیشنهاد می‌شود.

نتایج ارزیابی ارگانولپتیک

با توجه به نتایج بدست آمده در جدول۱ بهترین امتیاز نهائی در پذیرش محصول به دلیل داشتن ساختار و بافتی منسجم وقوی و بدون هیچ آب اندازی و حاوی طعم کره‌ای و اسیدی ملایم به سویه کوکسی‌فرم با کد N_5 تعلق گرفت که مطابق با ذائقه مردم ایران و یاد آور عطر و طعم خاطره انگیزه ماست سنتی ایرانی که از محصولات سنتی این مرز و بوم نشات گرفته است. مطالعات مختلف احتمال پذیرش بالاتر محصول تولید شده توسط یک سویه خاص با توجه به قابلیت تولید اگزوپلی ساکاریدها و حتی نوع اگزوپلی ساکارید و نیز ساختار مولکولی تولیدی توسط آن سویه را نشان داده است.

.



نمودار۱. بررسی OD خوانده شده در دماهای مختلف سویه‌ها

جدول ۱. ارزیابی ارگانولپتیک

	رنگ(۱۵-۰)	ساختار(۳۰-۰)	عطروطعم(۵۰-۰)	جمع
L_1	۱۵	۲۰	۴۷	۸۲
L_2	۱۲	۲۲	۴۵	۸۰
L_3	۱۵	۲۵	۳۵	۷۵
N_2	۱۵	۲۷	۳۵	۷۷
N_3	۱۵	۲۵	۳۸	۷۸
N_4	۱۳	۲۸	۴۵	۸۶
N_5	۱۲	۱۵	۳۰	۵۷
N_7	۱۵	۳۰	۵۰	۹۵

نتیجه‌ی بررسی میزان تولید دی استیل ماست منتخب

دی استیل یک دی کتون است و اکثر کتون‌ها به ایجاد عطر و بوی کره‌ای و میوه‌ای مرتبط هستند(۲۲). دی استیل یک ترکیب معطر مهم و مسئول ایجاد عطر و طعم در محصولات لبنی است و ممکن است در غلظت‌های بالا سبب افزایش کیفیت طعم ماست شود. طبق گزارشات دی استیل درلطافت، عطر و طعم ماست به ویژه برای محصولاتی با غلظت کم استالدهید نقش مهمی را بازی می کند. دیدگاه‌های مختلفی در مورد نقش دی استیل درایجاد عطر و طعم ماست وجود دارد. برخی از محققان تنها هنگامی که محتوای استالدهید کم باشد آن را ماده‌ی غالب طعم در محصولات لبنی می‌دانند. درحالی‌که برخی دیگر معتقد هستند دی‌استیل نقش اصلی در شکل‌گیری طعم را بر عهده دارد(۳). خواص حسی محصولات لبنی تا حد زیادی به ایجاد تعادل نسبی بین ترکیبات عطر و طعم حاصل از چربی، پروتئین یا کربوهیدرات موجود در شیر بستگی دارد. برقراری و ایجاد ارتباط بین نتایج حاصل از ارزیابی حسی با داده‌های حاصل از آنالیز شیمیایی یک روش ارزشمند ایجاد بهبود و پایداری طعم است. استفاده از ابزارهای آماری که غالباً برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها استفاده می‌شوند سبب برقراری ارتباط بین کیفیت حسی ماست و ترکیبات خاص عطر می‌شود(۳). ترکیبات فرار موجود در ماست بسته به نوع کشت، فرمولاسیون مخلوط و شرایط ذخیره سازی ممکن است در حین ذخیره سازی تغییر کنند. ذخیره طولانی ماست به ویژه در دمای محیط سبب ایجاد طعم نامطبوع در آن می‌شودکه عمدتاً به دلیل اکسیداسیون اسیدهای چرب و تولید آلدهیدهای ناخواسته است(۳). در طول نگهداری ماست واکنش‌های میکروبی، آنزیمی یا شیمیایی متنوعی رخ می‌دهدکه ممکن است ساختار فیزیکی، شیمیایی و میکروبیولوژیکی را تغییر داده وسبب فرسایش کیفیت آن شود(۲۳). در بررسی انجام شده توسط پور احمد و اسدی (۲۰۰۵) در نمونه ماست‌های تهیه شده با سویه‌های بومی ایران پس از ۲۱ روز از ذخیره‌سازی در یخچال، میزان اسیدیته به‌طور قابل توجهی افزایش یافت. در حالی‌که تفاوت معنی‌داری در خصوصیات ارگانولپتیک مشاهده نشد(۲۴). میزان تولید دی‌استیل در نمونه ماس های منتخب L_1 وN_7 پس از ۱۴ روز ذخیره سازی در دمای$5\ ^{\circ}C$ به ترتیب ۵/۶ ppm و ۱۰ بودند.

بحث ونتیجه‌گیری

سویه‌های مورد بررسی دارای قابلیت‌های متفاوتی نظیر، تولید دی استیل به مقدار بالا هستندکه در مقایسه با سایر نتایج صورت گرفته این سویه‌ها توانمندی بالایی از خود در تولید این ترکیب نشان دادندکه این قابلیت با توجه به ایجاد طعم کره ای منحصر به فرد در ارزیابی ارگانولپتیک قابل پیش‌بینی بود. به‌طور مشابه محققین کشور ترکیه تحقیقاتی در زمینه‌ی خصوصیات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی باکتری‌های جدا شده از ماست سنتی مناطق مختلف کشور ترکیه انجام دادند. همچنین، میزان توانمندی این سویه در تولید ترکیبات معطر با استفاده از HPLC مورد بررسی قرار دادند و دریافتند این سویه‌ها توانمندی بالایی در تولید ترکیبات معطر دارند(۱). ماست‌های تهیه شده از سویه‌های به‌دست آمده از ماست سنتی منطقه‌ی زنجان قابلیت بالایی از خود در تولید دی استیل نشان دادند و این مسئله بیانگر وجود پتانسیل‌های لازم این سویه‌ها برای کاربرد در صنعت تولید استارتر ماست است که منجر به تولید ماستی با سازگاری بیشتر با ذائقه‌ی مردم ایران می‌شود و همین امر می‌تواند افزایش تقاضای مصرف کننده را به دنبال داشته باشد.

منابع

1. Gezginc Y, Topcal F, Comertpay S, Akyol I. Quantitative analysis of the lactic acid and acetaldehyde produced by Streptococcus thermophilus and Lactobacillus bulgaricus strains isolated from traditional Turkish yogurts using HPLC. Journal of dairy science. 2015;98(3):1426-34.
2. Yazici F, Akgun A. Effect of some protein based fat replacers on physical, chemical, textural, and sensory properties of strained yoghurt. Journal of Food Engineering. 2004;62(3):245-54.
3. Cheng H. Volatile flavor compounds in yogurt: a review. Critical reviews in food science and nutrition. 2010;50(10):938-50.
4. Bylund G. [Dairy processing handbook.[Serbian translation of handbook by Tetra Pak Processing System AB, Lund (Sweden)]. 2003.
5. Martin F, Cachon R, Pernin K, De Coninck J, Gervais P, Guichard E, et al. Effect of oxidoreduction potential on aroma biosynthesis by lactic acid bacteria in nonfat yogurt. Journal of Dairy Science. 2011;94(2):614-22.
6. Marilley L, Casey M. Flavours of cheese products: metabolic pathways ,analytical tools and identification of producing strains. International journal of food microbiology. 2004;90(2):139-59.
7. Boelrijk A, Jong Cd, Smit G. Flavour generation in dairy products. Dairy processing: improving quality. 2003:130-54.
8. Güler Z. Changes in salted yoghurt during storage. International journal of food science & technology. 2007;42(2):235-45.
9. Vedamuthu ER. Starter cultures for yogurt and fermented milks. Manufacturing yogurt and fermented milks. 2006:89-116.
10. Paskov V, Karsheva M, Pentchev I. Effect of starter culture and homogenization on the rheological properties of yoghurts. Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy. 2010;45(1):59-66.
11. Bongers RS, Hoefnagel MH, Kleerebezem M. High-level acetaldehyde production in Lactococcus lactis by metabolic engineering. Applied and environmental microbiology. 2005;71(2):1109-13.
12. Chaves A, Fernandez M, Lerayer A, Mierau I, Kleerebezem M, Hugenholtz J. Metabolic engineering of acetaldehyde production by Streptococcus thermophilus. Applied and Environmental Microbiology. 2002;68(11):5656-62.
13. ISO E. ISO 707: 2008 (IDF 50: 2008) Milk and Milk products-Guidance on sampling. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization. 2008.
14. Beyan A ,Ketema T, Bacha K. Antimicrobial susceptibility pattern of lactic acid bacteria isolated from Ergo, a traditional Ethiopian fermented milk, Jimma, south west Ethiopia. Ethiopian Journal of Education and Sciences. 2011;7(1):9-17.
15. Favaro L, Basaglia M ,Casella S, Hue I, Dousset X, de Melo Franco BDG, et al. Bacteriocinogenic potential and safety evaluation of non-starter Enterococcus faecium strains isolated from home made white brine cheese. Food microbiology. 2014;38:228-39.
16. Erkuş O. Isolation, phenotypic and genotypic charecterization of yoghurt starter bacteris: Izmir Institute of Technology (Turkey); 2007.
17. Tamime AY, Robinson RK. Tamime and Robinson's yoghurt: science and technology: Elsevier; 2007.
18. Torre LL, Tamime A, Muir D. Rheology and sensory profiling of set-type fermented milks made with different commercial probiotic and yoghurt starter cultures. International Journal of Dairy Technology. 2003;56(3):163-70.
19. Štoudková E, Zemanová J. Application of SPME-GC method for analysis of the aroma of white surface mould cheeses. Journal of Food and Nutrition Research. 2007;46(2):84-90.
20. Wessels S, Axelsson L, Hansen EB, De Vuyst L, Laulund S, Lähteenmäki L, et al. The lactic acid bacteria, the food chain, and their regulation. Trends in food science & technology. 2004;15(10):498-505.
21. Santos KMOd, Vieira ADS, Salles HO, Oliveira JdS, Rocha CRC, Borges MdF, et al. Safety, beneficial and technological properties of Enterococcus faecium isolated from Brazilian cheeses. Brazilian Journal of Microbiology. 2015;46:237-49.
22. Sousa M, Ardö Y, McSweeney P. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. International Dairy Journal. 2001;11(4-7):327-45.
23. Brauss MS, Linforth RS, Cayeux I, Harvey B, Taylor AJ. Altering the fat content affects flavor release in a model yogurt system. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1999;47(5):2055-9.
24. Pourahmad R, Assadi MM. Yoghurt production by Iranian native starter cultures. Nutrition & Food Science. 2005.

The characteristics investigation of lactic acid bacteria capable of producing aromatic compounds isolated from traditional yogurt in Zanjan province

Azita Safari[1], Maryam Tajabadi ebrahimi[1], **Nasim Azari**[*2]

[1]Department of Science, School of Basic Science, Central Tehran Branch Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2]Department of Food Science and Technology, Takestan Branch, Islamic Azad University, Takestan, Iran

Abstract

Yogurt production by milk fermentation is one of the oldest methods used by humans to convert milk into a product with longer shelf life and better sensory evaluation. This study aimed to investigate the characteristics of lactic acid bacteria isolated from yogurt in Zanjan rural areas and these strains ability in the diacetyl production. This study collected and transferred seven yogurt samples to the laboratory under standard conditions. Then the isolated strains were examined for morphology, several test such as catalase, hemolysis, antibiotic susceptibility, growth rate at different temperatures and yogurt sensory evaluation. The selected yogurt samples were examined for diacetyl production using SPME-GC after bwing stored at 5°C for 14 days. According to the results, the strains were divided into two groups based on morphology: bacilli and cocci. All strains were gram-positive and catalase negative. Most of the studied strains were antibiotic sensitive and shown negetive hemolysis. In the selected yogurt samples $L_1$and N_7, the diacetyl production was 5/6,10ppm respectively. The studied strains had high diacetyl production ability and also caused the butter aroma and the traditional Iranian yogurt memory, which leads to the production of yogurts that is more compatible with the Iranian people's taste.

Keyword: Diacetyl, Lactic acid bacteria, Yogurt, SPME-GC

[*]nasim.azari@tiau.ac.ir