



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

آزیتا صفری<sup>۱</sup>، مریم تاج‌آبادی ابراهیمی<sup>۱</sup>، نسیم آذری<sup>۲\*</sup>

<sup>۱</sup>گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکز، تهران  
<sup>۲</sup>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 تهیه ماست یکی از قدیمی‌ترین روش‌های مورد استفاده توسط انسان برای تبدیل شیر به محصولی با ماندگاری بیشتر است. 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 ذخیره‌سازی در دمای ۵°C با استفاده از SPME-GC ارزیابی شد. طبق نتایج بدست آمده سویه‌ها بر اساس مورفولوژی در دو گروه 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 آنتی‌بیوتیکی داشتند. میزان تولید دی استیل در نمونه ماست‌های منتخب L<sub>1</sub> و N<sub>7</sub> به ترتیب ۵/۶ و ۱۰ بودند. سویه‌های 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 قرن ها، حتی زمانی که اثرات مفید آن به طور کامل شناخته شده نبود به عنوان بخشی از رژیم غذایی مورد مصرف بوده است.

استرپتوکوکوس<sup>۱</sup> ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس<sup>۲</sup> دو گونه از باکتری های اسید لاکتیک هستند که به طور گسترده در صنعت تولید ماست استفاده می شوند. لاکتوباسیل ها بخش مهمی از گروه بزرگ باکتری های تولید کننده ی اسید لاکتیک را تشکیل می دهند و از اجزای اصلی فلور میکروبی محصولات تخمیری لبنی و انواع غذاهای تخمیری محسوب می شوند. این باکتری ها به صورت جور تخمیر قادر به تخمیر قند هگزوز برای تولید اسید لاکتیک و برخی ترکیبات کربونیل از قبیل استالدهید می باشند (۱، ۲). بیش از ۹۰ ترکیب فرار مختلف از جمله کربوهیدرات ها، الکل ها، آلدئیدها، کتون ها، اسیدها، استرها، لاکتون ها، ترکیبات حاوی گوگرد، پیرازین ها و مشتقات فوران در ماست شناسایی شده است (۳).

ترکیبات طعم دهنده موجود در ماست را می توان به چهار دسته اصلی، اسیدهای غیر فرار (لاکتیک، پیروویک، اگزالی و سوکسینیک)، 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 پروتئین ها و چربی های 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. گونه های مختلف این سویه تفاوت های قابل توجهی را در میزان تولید این ترکیب از خود نشان می دهند (۴). میزان و نوع ترکیبات تولید شده در طی مسیر تخمیر بر بافت، عطر و طعم ماست تأثیر می گذارند. همچنین، تولید این ترکیبات تحت تأثیر ترکیبات شیمیایی موجود در شیر، شرایط پردازش و فعالیت متابولیکی کشت استارتر قرار می گیرند (۱). یکی از پیش سازهای ترکیبات طعم دهنده در شیر کازئین است و سیستم پروتولیتیکی باکتری های اسید لاکتیک ترکیبات طعم دهنده را از اسیدهای آمینه سازنده ی کازئین شیر تولید می کنند (۵)؛ اگر چه ترکیبات طعم دهنده می توانند از اسیدهای چرب و قندها نیز حاصل شوند (۶). هر دو 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 و نوع ترکیبات معطر موجود در محصول نهایی با توجه به نوع و درصد سویه های موجود در یک کشت استارتر متفاوت است (۷). بررسی های 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 می شود. طبق گزارشات ارائه شده، دی استیل در محصولات حاوی غلظت کم استالدهید نقش مهمی در ایجاد لطافت، عطر و طعم ماست بازی می کند (۸). دی استیل یک دی کتون است که یکی از بزرگترین ترکیبات معطر ماست محسوب می شود و از تخمیر سترات موجود در شیر و لبنیات حاصل می شود و موجب ایجاد طعم کراهی در ماست می شود (۹). ماست به عنوان یک فراورده ی شیری دارای خصوصیات رئولوژیکی پیچیده است و این خصوصیات وابسته به درجه حرارت، میزان مواد جامد،

<sup>1</sup> *Streptococcus thermophilus*

<sup>2</sup> *Lactobacillus bulgaricus*

ماندگاری کمتر است و ترکیبات فرار در زمان کمتر و با کیفیت بیشتری به حداکثر مقدار گاز استنشاق می‌رسند. ساختار بافت، عطر و طعم غذا با تغییر در میزان محتوای چربی تغییر می‌کنند بنابراین عدم وجود چربی باعث تغییر کامل در نحوه 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 هستند و 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 سوبه‌های بومی به مجموعه میکروبی آزمایشگاه منتقل شدند. مقدار ۱۵ gr-۱۲ از نمونه ماست جمع‌آوری شده به سه ارلن استریل حاوی ۲۰ ml MRS، ۲۰۰ ml MRS و ۲۰۰ ml M17 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 ۳۷°C به ۴۴-۴۲ و دیگری در انکوباتور CO<sub>2</sub> دار 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 سوبه‌های جدا شده انجام شد و کلیه سوبه‌های جدا شده در محیط شیر بدون چربی و حاوی گلیسرول در دمای ۷۰°C- نگهداری شدند (۱۴).

میزان پروتئین و چربی موجود در شیراست. محصولات دارای ویژگی‌های منحصر به فرد نظیر بافت، طعم و عطر ماندگار تحت اثر فاکتورهای نظیر ساختار و تیمار حرارتی شیر، به کار بردن پایدارکننده‌ها و نوع مایه میکروبی آغازگر قرار می‌گیرد و مهمترین فاکتور موثر به کار برد شده در تولید آن نوع مایه میکروبی آغازگر است. این خصوصیات ویژه با به کار بردن یک مایه میکروبی آغازگر حاوی سوبه‌هایی با توانایی تولید محصولاتی با خصوصیات مطلوب و در نسبت‌های صحیح و رعایت شرایط بهینه دما-زمان در گرمخانه‌گذاری پایدار 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 گرفته 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 گلايسين و استالدهید از ترئونین می‌شود. در مطالعه‌ی انجام شده توسط فرناندز و همکاران (۲۰۰۲) مشخص شد با افزایش L-ترئونین به محیط کشت شاهد افزایش تولید استالدهید خواهیم بود که این مسئله تولید استالدهید در طی فرایند تخمیر با استفاده از فعالیت 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). در ماست تهیه شده از شیر پرچرب، چربی‌های موجود در ماست سبب پایداری بیشتر ترکیبات فرار می‌شوند، در حالی که در شیر کم چرب این میزان

## تست همولیز

برای انجام تست همولیز از محیط کشت نوترین آگار حاوی ۷٪ 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 دمای ۴۲°C ارزیابی شدند (۱۴).

## بررسی حساسیت سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک

در این بخش از مطالعه مطابق با قوانین EFSA (European Food Safety Authority) سویه‌های مورد بررسی باید نسبت به آنتی‌بیوتیک‌هایی چون ونکومايسين، سپروفلوکسین، کلیندامایسین، آمپی‌سیلین، جنتامایسین، تتراسایکلین، کلرامفنیکل، کانامایسین، امینیم فاقد مقاومت باشند. برای انجام این تست از محیط کشت نوترین استفاده شد و حداقل غلظت آنتی‌بیوتیک برای مهار کردن 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 و سپس میزان کدورت نمونه‌ها در جذب نوری (OD) ۶۲۰ nm پس از انکوبه کردن در دماهای 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 ۹۵-۹۰°C به مدت ۵ min در حمام آب گرم قرار گرفت و تا دمای حدود ۴۴-۴۲°C 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 ۴۲°C منتقل شد (۱۷).

## ارزیابی ارگانولپتیک

ارزیابی ارگانولپتیک با روش امتیازدهی و با استفاده از کارت امتیاز انجام شد. فاکتورهایی چون ظاهر، بافت، عطر و طعم محصول نهایی با امتیازهای ۵-۱ در کارت امتیاز مقایسه شدند و در نهایت برای طعم ضریب ۵، ساختار و بافت ضریب ۲ و برای عطر ضریب ۱ در 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 ۵°C 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 سویه‌ها از نظر تست کاتالاز از دیدگاه ایمنی زیستی مورد تایید بودند. سویه‌های جدا شده بر اساس مورفولوژی در دو گروه باسیل فرم و کوکسی فرم قرار گرفتند. ۳ سویه ی باسیل فرم در گروه L و ۸ سویه کوکوسی فرم در گروه N قرار گرفتند.

## نتایج بررسی ایمنی سویه‌ها

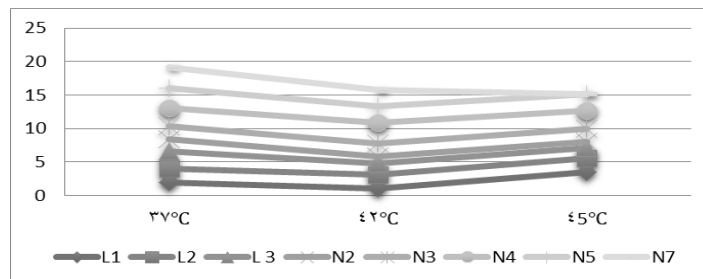
نتایج نمودار ۱ نشان دهنده طیف وسیعی از سویه‌های مزوفیل با بهینه درجه حرارت  $37^{\circ}\text{C}$  می‌باشد که این تفاوت میزان رشد در سطح  $0.05$  توسط روش T.Test در نرم‌افزار Prism بررسی شد و احتمالاً دلیل این مسأله جداسازی این باکتری‌ها از محصولات سنتی تخمیری است که اغلب بدون دسترسی به سیستم گرمخانه‌گذاری 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  $37^{\circ}\text{C}$  برای فرآیند تخمیر پیشنهاد می‌شود.

### نتایج ارزیابی ارگانولپتیک

با توجه به نتایج بدست آمده در جدول ۱ بهترین امتیاز نهائی در پذیرش محصول به دلیل داشتن ساختار و بافتی منسجم و قوی و بدون هیچ آب اندازی و حاوی طعم کره‌ای و اسیدی ملایم به سویه کوکسی فرم با کد N5 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 نشأت 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.

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 و تبدیل 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 N6، N8، N1 دارای 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 N2 از گروه کوکسی فرم نسبت به تمام آنتی‌بیوتیک‌ها حساس بودند. سویه N3 نسبت به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین و سیپروفلوکساسین، سویه N4 نسبت به آمپی‌سیلین، سویه N5 نسبت به ونکوماسین و سویه N7 نسبت به کلیندامایسین و اریترومایسین دارای مقاومت بودند.

### نتایج بررسی قابلیت رشد سویه‌ها در دماهای مختلف



نمودار ۱. بررسی OD خوانده شده در دماهای مختلف سویه‌ها

جدول ۱. ارزیابی ارگانولپتیک

| جمع | عطر و طعم (۰-۵۰) | ساختار (۰-۳۰) | رنگ (۰-۱۵) |                |
|-----|------------------|---------------|------------|----------------|
| ۸۲  | ۴۷               | ۲۰            | ۱۵         | L <sub>1</sub> |
| ۸۰  | ۴۵               | ۲۲            | ۱۲         | L <sub>2</sub> |
| ۷۵  | ۳۵               | ۲۵            | ۱۵         | L <sub>3</sub> |
| ۷۷  | ۳۵               | ۲۷            | ۱۵         | N <sub>2</sub> |
| ۷۸  | ۳۸               | ۲۵            | ۱۵         | N <sub>3</sub> |
| ۸۶  | ۴۵               | ۲۸            | ۱۳         | N <sub>4</sub> |
| ۵۷  | ۳۰               | ۱۵            | ۱۲         | N <sub>5</sub> |
| ۹۵  | ۵۰               | ۳۰            | ۱۵         | N <sub>7</sub> |

### 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 در لطافت، عطر و طعم ماست به ویژه برای محصولاتی با غلظت کم استالدهید نقش مهمی را بازی می‌کند. دیدگاه‌های مختلفی در مورد نقش دی استیل در ایجاد 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. در حالی که برخی دیگر معتقد هستند دی استیل 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 تجزیه و تحلیل 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 می‌شود که عمدتاً به دلیل اکسیداسیون اسیدهای چرب و تولید آلدهیدهای ناخواسته است (۳). در طول نگهداری ماست واکنش‌های میکروبی، آنزیمی یا شیمیایی متنوعی رخ می‌دهد که ممکن است ساختار فیزیکی، شیمیایی و میکروبیولوژیکی را تغییر داده و سبب 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 حالی که تفاوت معنی‌داری در خصوصیات ارگانولپتیک مشاهده نشد (۲۴). میزان تولید دی استیل در نمونه ماس‌های منتخب L<sub>1</sub> و N<sub>7</sub> پس از ۱۴ روز ذخیره سازی در دمای ۵°C به ترتیب ۱۰ و ۵/۶ ppm بودند.

### بحث و نتیجه‌گیری

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 characterization 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.

سویه‌های مورد بررسی دارای قابلیت‌های متفاوتی نظیر، تولید دی استیل به مقدار بالا هستند که در مقایسه با سایر نتایج صورت گرفته این سویه‌ها توانمندی بالایی از خود در تولید این ترکیب نشان دادند که 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 مصرف‌کننده را به دنبال داشته باشد.

## منابع

1. Gezgin 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.

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

Azita Safari<sup>1</sup>, Maryam Tajabadi ebrahimi<sup>1</sup>, Nasim Azari<sup>\*2</sup>

<sup>1</sup>Department of Science, School of Basic Science, Central Tehran Branch Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>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 Zanzan 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 being 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 negative hemolysis. In the selected yogurt samples L<sub>1</sub> and N<sub>7</sub>, 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