فصلنامه میکروبیولوژی کاربردی در صنایع غذایی (دوره ۵ - شماره ۳)..... صفحات ۷۴ تا ۸۲

Archive of SID

بررسی خواص تکنولوژیکی سویه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* ایزوله شده از کره مسکه جنوب خراسان

فتانه حسن زاده، **مسعود یاورمنش***، محمد رضا عدالتیان دوم

گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، خراسان رضوی، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۲۳

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی خواص تکنولوژیکی، ۹ سویه استرپتوکوکوس ترموفیلوسجدا شده از کره مسکه جنوب خراسان است.کره مسکه، کره‌ای سنتی حاصل از شیر گوسفند در منطقه ی جنوب خراسان است که / *سترپتوکوکوس ترموفیلوس* ۱۵ در صد جمعیت میکروبی آن را تشکیل داده است.پس از بررسی، سویه‌ها نسبت به خصوصیات ذیل نتیجه مثبت از خود نشان دادند: تولید دی استیل، فعالیت پروتئولیتیک (۷ سویه از ۹ سویه) به غیر از دو سویه، تولید اگزوپلی ساکارید (۸ سویه)، همچنین سویه‌ها فاقد فعالیت لیپولیتیک در محیط تری‌بوتیرین آگار و فعالیت اوره آز، بودند. طی بررسی اسیدیفیکاسیون، در ۲۴h اول سرعت خوبی در کاهشpH، داشتند، اما در ۲۴h دوم سرعت کاهش pH، کاهش پیدا کرد. بیشترین سرعت اسیدیفیکاسیون مربوط به سویه (۰/۳۳۹ ± ۳/۰۹) B251 و (۰/۰۱ ± ۳/۰۸) B272 و کمترین سرعت مربوط به سویه (۴/۰۱)Y75 بود . فعالیت اتولیز سویه‌ها نیز، بعد از ۴۸h گرمخانه گذاری، کاهش در دانسیته نوری مشاهده شد. (بیشترین فعالیت اتولیتیک مربوط به سویه (۰/۰۱۹ ± ۰/۱۵۸) Y106 و کمترین فعالیت مربوط به سویه (۰/۰۱۶ ± ۰/۴۴۶) Y19 بود. در نتیجه گیری نهایی مشخص شد به غیر از سویه‌های Y75 و Y106 سایر سویه‌ها توانایی بالایی در فعالیت پروتئولیتیک دارند. همچنین سویه B251 که در ۶ ساعت اول بالاترین سرعت اسیدی کردن را داشت را می توان به عنوان یک سویه مناسب جهت تهیه کشت آغازگر یا ثانویه در تولید پنیر و ماست مورد استفاده قرار داد.

کلید واژگان: *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، خواص تکنولوژیکی، کره مسکه

* yavarmanesh@um.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

استرپتوکوکوس ترموفیلوس، یک باکتری اسید لاکتیک بسیار با ارزش هموفرمانتاتیواست، که برای مدت طولانی به عنوان آغازگر، جهت تخمیر محصولات لبنی، به طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته است(۱). همچنین دومین گونه بسیار مهم باکتری‌های صنعتی اسید لاکتیک بعد از *لاکتوکوکوس لاکتیس* مطرح شده است. اولین نقش مهم *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* در تخمیر شیر افزایش اسیدیته است، که مانع از رشد سایر میکروارگانسیم‌های مزاحم در شیر می شود(۲). از سوی دیگر نقش *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* در تخمیر شیر تنها مربوط به تولید اسید لاکتیک نیست، بلکه دارای چندین خاصیت تکنولوژیکی مهم دیگری نیز می باشد(۳). به طور مثال دارای فعالیت پروتئولیتیک، فعالیت اوره آز، تولید اگزوپلی ساکارید، فعالیت اتولیز، مقاومت به آنتی‌بیوتیک، تولید دی استیل و غیره است. به طور کلی رشد بهینه باکتری‌های اسید لاکتیک در شیر مربوط به سیستم پروتئولیتیک آن‌ها می باشد، و با تجزیه کازئین شیر به پپتیدها و اسیدهای آمینه نقش خود را اجرا می کند(۴). این سیستم پروتئولیتیک باکتری‌های اسید لاکتیک شامل، پروتئینازهای خارج سلولی چسبیده به دیواره سلولی که قادر به هیدرولیز کازئین است، سیستم انتقال پپتید و اسید آمینه مورد نیاز، جهت وارد کردن اسید آمینه به داخل سلول، پپتیدازهای داخل سلولی درگیر در هیدرولیز کازئین می باشد(۱).پروتئینازهای دیواره سلولی در *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، PrtS نام دارد(۴).

پلی ساکاریدهای خارج سلولی(EPS)[1] تولید شده توسط *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، باعث بهبود بافت و ویسکوزیته محصولات تخمیری شیر می شود. این پلیمرها ممکن است پلی ساکاریدهایی با خاصیت کپسولی(CPS)[2] که به طور محکم به سطح سلول چسبیده اند، اتصال یافته باشند، یا ممکن است به محیط آزاد شوند(۵). علاوه بر این، نقش فیزیولوژی EPS باکتریایی، متعدد است که ممکن است شامل، حفاظت سلول از سموم مزاحم یا محیط‌هایی که برای رشد محدود هستند و دیگر عوامل مزاحم، جداسازی یون‌های مثبت اساسی و غیره است. بهترین ویژگی آبی هم که در ساختار eps درگیر است، ممکن است باکتری را در برابر محیط‌های با رطوبت کم حفظ کند و همچنین کپسول eps می تواند مانع حمله فاگوسیت‌ها شود(۵).

در مقایسه با سایر باکتری‌های اسید لاکتیکی که به عنوان استارتر از آن‌ها استفاده می شود، *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، دارای آنزیم اوره آز است، که اوره را به آمونیاک و دی اکسید کربن تبدیل می کند، طی رشد این سویه در شیر در صورت تولید اوره آز، آمونیاک از اوره بدست می آید، اولین تاثیر تولید آمونیاک از اوره، پایین آوردن سرعت کاهش pH است، ووقتی که غلظت اسید لاکتیک کم باشد این تاثیر بیشتر مشهود است(۶).سایر خواص تکنولوژیکی دیگر این سویه در این مطالعه قابل بحث می باشد.

مسکه یکی از متداول‌ترین کره‌های مورداستفاده در ناحیه جنوب خراسان و فرآورده‌ای از مشتقات ماست است که طی فرایند خاصی از شیر گاو یا گوسفند قابل استحصال است (۷) .

برای تهیه این کره، ابتدا شیر گوسفند را تحت فرایندهای تخمیری به ماست تبدیل می‌کنند. سپس ماست به‌دست‌آمده را درون ماست زن‌های دستی یا تلمبه‌های پوستی می ریزند. معمولاً زمان تلمبه‌زنی متفاوت است، اما حداقل این زمان حدود نیم ساعت است. بعد از دو فاز شدن ماست، فاز چربی روی سطح قرار می‌گیرد. چربی به‌دست‌آمده جمع‌آوری و سپس فشرده می‌گردد تا دوغ آن خارج گردد. سپس آن را به شکل کره درمی‌آورند که کره مسکه نام دارد.

محصولات لبنی سنتی، دارای طیف گسترده‌ای از تنوع میکروبی هستند، بنابراین، ممکن است به علت حضور

[1] Exo-poly saccharide

[2] Capsular Poly saccharide

www.SID.ir

Archive of SID

میکروارگانیسم‌ها از خواص تکنولوژیکی کاربردی و بالقوه‌ای برخوردار باشند (۷). بنابر خصوصیات ذکرشده، کره مسکه می‌تواند به‌صورت بالقوه حاوی باکتری‌های اسیدلاکتیک با خصوصیات تکنولوژیکی منحصربه‌فرد باشد.

کره مسکه ، یک محصول سنتی است که از چربی ماست تهیه شده است. از آنجایی که *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* یک باکتری اسید لاکتیک بسیار مهم در تولید ماست می باشد و با توجه به این که دارای چندین خواص تکنولوژی است، در این مطالعه به بررسی خواص تکنولوژیکی سویه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* جدا شده از کره مسکه جنوب خراسان پرداخته می شود.

مواد وروش‌ها

شناسایی اولیه باکتری‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* بر پایه خصوصیات فنوتیپیک:

فعال‌سازی باکتری‌های نگهداری شده در گلیسرول ۲۰ درصد: در ابتدا جهت بدست آوردن تک کلنی خالص، تهیه محیط کشت آگار M17 انجام گرفت، پس از انجام کشت خطی، گرمخانه گذاری به مدت ۲۴h-۷۲، در دمای ۳۰ - ۳۷°C صورت گرفت.

آزمون‌های تاییدی: انجام آزمون‌های رنگ آمیزی گرم و کاتالاز جهت تایید باکتری اسید لاکتیک بودن.

ارزیابی تولید اوره آز: جهت انجام این کار، به میزان یک لوپ کامل از این سویه که از ۲۴h قبل در محیط کشت آگار M17 تهیه شده است، در یک محلول دارای یک حجم از محلول A (۲g اوره حل شده در ۲ ml اتانول و ۴ ml آب مقطر استریل شده) و ۱۹ حجم از محلول B (5 g l^{-1} NaCl, 1g l^{-1} k_2HPO_4 , 20µg ml^{-1} phenol red) تلقیح گردید. سپس به مدت ۲-۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، گرمخانه گذاری شد. در نهایت تشکیل رنگ قرمز-بنفش نمایانگر تولید اوره آز توسط *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* است (۷).

بررسی تولید اگزوپلی ساکارید: طبق روش مورا[1] و همکاران انجام شد(۷).

ارزیابی فعالیت پروتئیناز (Prts): جهت ارزیابی فعالیت پروتئولیتیک *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، ابتدا ساخت محیط کشت آگار Fast slow difference انجام گرفت، این محیط کشت دارای ۱/۵ درصد آگار، ۱/۹ درصد سدیم گلیسرو فسفات، 10 milk درصد UHT half skim و ۰/۰۰۱ درصد شاخص بروموکروزل بنفش (BCP) است. پس از انجام کشت خطی، گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ °C به مدت ۴۸-۷۲ ساعت صورت گرفت. پس از طی مراحل مذکور، سویه‌هایی که دارای فعالیت پروتئولیتیک باشند کلنی‌های مات، بزرگ و زرد ایجاد می کنند. در صورتی که پروتئیناز منفی باشند، کلنی‌های کوچک، مسطح و شفاف ایجاد می کنند(۲).

ارزیابی فعالیت اتولیتیکی: پس از تهیه بافرفسفات (۵۰ mmol/l با pH=۶/۵)، سویه‌های پیش تلقیح شده را در محیط کشت M17 مایع، در طول موج ۶۰۰ نانومتربه OD ۰/۸ تا ۱ رسانده و با شتاب ۵۰۰۰×g سانتریفوژ شدند. سلول‌های حاصل، یک مرتبه با بافر فسفات شستشو داده شدند و سپس در ۳ ml از بافر اتولیز(بافر فسفات) پیش تلقیح شده، معلق گردیدند تا OD سوسپانسیون حاصل در طول موج ۶۰۰nm به ۰/۶ تا ۰/۸ برسد. درآخر، انکوباسیون در دمای ۳۷ °C انجام گرفت. سپس OD_{600}، پس از گذشت ۴۸h اندازه‌گیری شد(۸).

ارزیابی مقاومت به آنتی‌بیوتیک: ابتدا محیط M17 جامد حاوی آنتی‌بیوتیک‌های سفالوسپورین، کلرامفنیکل، اریترومایسین و تتراسایکلین، با غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰µg/l تهیه شد. در مرحله بعد به میزان ۲µl از سویه‌های

[1] Mora

www.SID.ir

Archive of SID

پیش تلقیح شده بر روی محیط کشت جامد حاوی آنتی‌بیوتیک نقطه گذاری شدند. پس از طی مراحل مذکور، گرمخانه گذاری در دمای مورد نظر سویه‌ها به مدت ۲۴ الی ۷۲h صورت می گیرد. در صورت مشاهده کلنی، سویه مورد نظر به آنتی‌بیوتیک مزبور با غلظت مورد نظر مقاوم است(۸).

ارزیابی اسیدیفیکاسیون: سویه‌های پیش تلقیح شده، با شتاب ۵۰۰۰g به مدت 5min سانتریفوژ شدند. پس از شستشوی سوپرناتانت حاصل توسط آب پپتونه، به میزان ۱۰ درصد حجمی-حجمی در ml ۱۵ شیر پرچرب UHT انجام گرفت. پس از گرمخانه‌گذاری در دمای مورد نظر سویه ها، شرایط جهت تولید اسید برای باکتری مهیا گردید. در 8h اول گرمخانه گذاری، هر دو ساعت یک بار و در نهایت بعد از گذشت ۴۸-24h، pH اندازه‌گیری شد(۸).

ارزیابی تولید دی استیل: طبق روش فرانسیوسی و همکاران انجام شد (۸).

ارزیابی فعالیت لیپولیتیک: پیش تلقیح سویه‌ها در M17 broth انجام سپس نقطه‌گذاری باکتری‌های تلقیح شده در تری‌بوتیرین آگار (حاوی ۰/۱ درصد تری‌بوتیرین) انجام شد. پس از گرمخانه گذاری در ۳۷ °C به مدت ۲۴h در صورت مشاهده هاله روشن اطراف کلنی‌ها فعالیت لیپولیتیک مثبت در نظر گرفته خواهد شد.

نتایج

هدف از این مطالعه بررسی خواص تکنولوژیکی ۹ سویه *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* جدا شده (جدایه‌های شناسایی شده توسط از کره مسکه جنوب خراسان می باشد(۷).

در جدول شماره ۱، خواص تکنولوژیکی از قبیل، فعالیت پروتئولیتیک، فعالیت اوره‌آز، فعالیت لیپولیتیک، تولید دی استیل، تولید اگزوپلی ساکارید، قابل مشاهده است.

فعالیت پروتئولیتیک

در رابطه با فعالیت پروتئولیتیک، نتایج نشان داد که از ۹ سویه، ۷ سویه توانایی فعالیت در محیط Fast slow difference agar را داشتند. از آنجایی که فعالیت پروتئیناز دیواره سلولی*استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، با ظرفیت اسیدیته شیر رابطه مستقیمی دارد. عدم وجود Prts در *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* باعث می شود، رشد موثری در شیر نداشته باشد.

فعالیت اوره آز

نتایج ارزیابی فعالیت اوره آز، نشان داد که تمامی سویه‌ها قادر به تولید آنزیم اوره آز نبودند،بنابراین تاثیری بر میزان اسیدیته و به دنبال آن خصوصیات حسی محصول ندارد. اما

جدول ۱. خصوصیات تکنولوژیکی سویه‌های استرپتوکوکوس ایزوله شده از کره مسکه.

کد نژاد	پروتئولیتیک	دی استیل	اوره آز	اگزوپلی ساکارید	لیپولیتیک
B251	+	+	-	+	-
B258	+	+	-	+	-
B259	+	+	-	-	-
B269	+	+	-	+	-
B272	+	+	-	+	-
Y19	+	+	-	+	-
Y75	-	±	-	+	-
Y106	-	+	-	+	-
Y109	+	+	-	+	-

www.SID.ir

Archive of SID

اما در پژوهشی که مورا[1] و همکاران انجام دادند، نتایج نشان داد که بخش اعظم سویه ها، توانایی تولید اوره آز را داشتند.

تولید اگزوپلی ساکارید

ارزیابی تولید اگزو پلی ساکارید توسط *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* نشان داد که، به غیراز سویه B259، تمامی سویه‌ها در محیط کشت (RRM) مثبت بودند. اما در پژوهشی که مورا و همکاران انجام دادند، نتایج حاصل، مثبت بودن ۵۰ درصد سویه‌ها را نشان داد.

فعالیت لیپولیتیک

طی بررسی فعالیت لیپولیتیک *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* با استفاده از محیط کشت تری‌بوتیرین آگار، چنانچه در جدول شماره ۱ مشخص است، هیچکدام از سویه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*،پس از سه روز گرمخانه گذاری، نتوانستند رشد کنند، بنابراین این سویه‌ها توانایی فعالیت لیپولیتیک در این محیط کشت را نداشتند.

تولید دی استیل

در پژوهش حاضر تمامی سویه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، حلقه‌های قرمز رنگی را در سطح بالای لوله‌ها تشکیل دادند، که مثبت بودن سویه‌ها را در تولید دی‌استیل نشان می‌دهد. علاوه بر این، در پژوهشی که فرانسیوسی و همکاران انجام دادند، مشخص گردید که، *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* نسب به سایر جنس‌ها، بیشترین میزان دی‌استیل را تولید می‌کند(۸).

مقاومت به آنتی‌بیوتیک

در مطالعه حاضر، نتایج مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سفالوسپورین، کنامایسین، کلرامفنیکول، اریترومایسین و تتراسایکلین درغلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰، با سه بار تکرار، در جدول شماره ۲ ذکر شده است. با توجه به نتایج موجود، سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک سفالوسپورین، حساسیت نشان دادند و نتوانستند در هیچ کدام از غلظت‌های آنتی‌بیوتیک مذکور رشد کنند. همچنین در پژوهشی که فرانسیوسی و همکاران انجام دادند، چنین نتایجی قابل مشهود بود. در رابطه با آنتی‌بیوتیک کنامایسین ، همه جدایه‌ها از خود مقاومت نشان داده و توانستند در محیط کشت رشد کنند، همچنین در آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکول و اریترومایسین، مقاومت در ۴ غلظت مختلف را از خود نشان دادند و در محیط کشت رشد کردند. در حالی سویه‌های مربوط به پژوهش فرانسیوسی و همکاران نتوانستند در محیط کشت حاوی اریترومایسین رشدی داشته باشند. در ادامه، جدایه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* نسبت به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین حساسیت نشان دادند و فقط سه سویه B258، B269 و Y19 قادر به رشد تنها در غلظت ۵µg این آنتی‌بیوتیک بودند و بقیه سویه‌ها توانایی رشد نداشتند.

اسیدیفیکاسیون

اندازه‌گیری کاهش pH شیر توسط *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* در ساعت‌های متفاوت (۲، ۴، ۶، ۸، ۲۴ و ۴۸) انجام گرفت و از ساعات اولیه، کاهش pH، به طور قابل توجهی مشهود بود، طی ۲۴h اول، به غیر از سویه Y19، در تمامی سویه‌ها یک کاهش چشمگیری در pH مشاهده شد (جدول ۳). اما در ۲۴h دوم، روند کاهش pH، کند شد.

اتولیز

در جدول شماره ۴، نتایج مربوط به فعالیت اتولیز سویه ها، با اندازه‌گیری شدت نوری (OD[2]) بعد از ۴۸h گرمخانه گذاری آورده شده است. با توجه به فعالیت اتولیزی که سویه‌ها داشتند، کاهش در میزان OD، نیز مشاهده شد. در میان سویه‌ها سویه Y106 بیشترین کاهش دانسیته نوری و در نتیجه بیشترین فعالیت اتولیزی را از خود نشان داد.

بحث و نتیجه‌گیری

در زمینه فعالیت پروتئازی پروتئینازهای Prts با تجزیه کازئین شیر، نیتروژن مورد نیاز را برای رشد سلول تهیه می‌کنند. بنابراین جهت رشد موثر *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* در شیر، وجود پروتئینازهای Prts ضروری

[1] Mora

[2] optical density

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* ایزوله شده از کره مسکه

غلظت (µg/l) / سویه	سفالوسپورین				کاناماسین				کلرامفنیکل				اریترومایسین				تتراسایکلین			
	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰
	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
B258	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
B259	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
B269	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
B272	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Y19	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Y75	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Y106	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Y109	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-

جدول ۳- اسیدیفیکاسیون (اسیدی کردن) سویه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*

سویه	۲ ساعت	۴ ساعت	۶ ساعت	۸ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت
B251	۶/۵۱ ± ۰/۰۳	۶/۳۲ ± ۰/۰۲	۵/۸۴ ± ۰/۰۴	۴/۱۲ ± ۰/۱۱	۳/۱۲ ± ۰/۱۶	۳/۰۹ ± ۰/۲۳
B258	۶/۵۵ ± ۰/۰۲	۶/۴۹ ± ۰/۰۴	۵/۷۳ ± ۰/۰۵	۴/۵۱ ± ۰/۰۸	۳/۳۱ ± ۰/۱۲	۳/۱۳ ± ۰/۲۳
B259	۶/۵۴ ± ۰/۰۱	۶/۴۲ ± ۰/۰۴	۶/۲۵ ± ۰/۰۶	۴/۵۰ ± ۰/۰۹	۳/۲۹ ± ۰/۱۱	۳/۲۱ ± ۰/۱۷
B269	۶/۵۴ ± ۰/۰۱	۶/۴۳ ± ۰/۰۴	۶/۱۱ ± ۰/۰۵	۴/۳۸ ± ۰/۰۷	۳/۲۸ ± ۰/۱۰	۳/۲۱ ± ۰/۱۷
B272	۶/۵۳ ± ۰/۰۱	۶/۴۷ ± ۰/۰۳	۶/۱۶ ± ۰/۰۵	۵/۰۰ ± ۰/۱۲	۳/۲۸ ± ۰/۱۶	۳/۰۲ ± ۰/۲۰
Y19	۶/۵۲ ± ۰/۰۲	۶/۳۶ ± ۰/۰۴	۶/۱۲ ± ۰/۰۵	۴/۸۵ ± ۰/۰۵	۴/۱۱ ± ۰/۱۴	۳/۳۰ ± ۰/۱۸
Y75	۶/۵۵ ± ۰/۰۲	۶/۴۵ ± ۰/۰۴	۶/۲۶ ± ۰/۰۶	۵/۴۷ ± ۰/۰۹	۴/۷۵ ± ۰/۱۱	۴/۰۱ ± ۰/۲۱
Y106	۶/۵۱ ± ۰/۰۲	۶/۳۵ ± ۰/۰۴	۶/۱۴ ± ۰/۰۶	۵/۲۶ ± ۰/۰۶	۳/۵۴ ± ۰/۱۲	۳/۲۲ ± ۰/۱۹
Y109	۶/۵۳ ± ۰/۰۱	۶/۴۵ ± ۰/۰۳	۶/۱۰ ± ۰/۰۹	۵/۰۱ ± ۰/۱۵	۳/۳۷ ± ۰/۱۷	۳/۲۱ ± ۰/۲۳

است(۴). علاوه بر این سویه‌های مثبت،توانایی رشد موثر در شیر را دارند.

از طرف دیگر *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* تنها باکتری اسید لاکتیک است که فعالیت اوره آز برجسته‌ای را از خود نشان می دهد(۳). علاوه بر تاثیر تولید اوره بر راندمان کاهش pH، می‌تواند رشد و به دنبال آن تولید اسید لاکتیک را توسط این سویه تغییر دهد(۳).

در رابطه با ویژگی تولید اگزوپلی ساکارید، با توجه به حضور منابع نیتروژن در شیر، *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* جهت سنتز عناصر اصلی، از آن استفاده می کند، تا اینکه فعالانه اگزوپلی‌ساکارید در محیط، تولید کنند (۱۰). این

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴. فعالیت اتولیتیکی سویه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*

نژاد	اتولیز(کاهش دانسیته نوری)
B251	۰/۲۱۳ ± ۰/۰۱۱
B258	۰/۲۳۵±۰/۰۲۴
B259	۰/۳۷۷±۰/۰۱۸
B269	۰/۳۱۵±۰/۰۲۴
B272	۰/۳۵۸±۰/۰۲۲
Y19	۰/۴۴۶±۰/۰۱۶
Y75	۰/۳۵۰±۰/۰۲۰
Y106	۰/۱۵۸±۰/۰۱۹
Y109	۰/۲۶۸±۰/۰۲۰

ویژگی استرپتوکوکوس ترموفیلوس نقش بزرگی در صنعت لبنیات، خصوصا در تولید ماست، دارد. علاوه بر این، می تواند از طریق افزایش ویسکوزیته، باعث بهبود بافت و طعم محصولات لبنی شود(۱).

لیپاز آنزیمی است که تری گلیسرید و اجزای اصلی چربی شیر را تجزیه می کند، این هیدرولیز به عنوان فعالیت لیپولیتیک شناخته شده است. در نتیجه این فعالیت، اسید چرب آزاد، جزئی از گلیسرید(مونو و دی گلیسرید) و در برخی موارد گلیسرول آزاد تولید می کند. بنابراین ترکیبات طعم و یا ترکیبات وابسته به طعم در محصولات لبنی تشکیل می شود(۱۱، ۱۲). فعالیت لیپولیتیک در باکتری‌های اسید لاکتیک پایین است، از این رو در ترکیبات چربی شیر تخمیر شده، تغییر نسبتا کمی به وجود می آورند(۱۳).

بررسی مطالعات گوناگون ثابت کردند که دی استیل از جمله ترکیبات طعم دهنده با بوی کره‌ای است و به عنوان طعم اصلی کره شناخته شده است. ضروری است، جهت رضایت مصرف کنندگان، کره طعم زیادی داشته باشد. همچنین فاکتورهای متنوعی در تولید آن توسط میکروارگانسیم‌های طبیعی کره اثر گذار می باشند(۱۴).

از آنجایی که جهت جلوگیری از بیماری‌های دامی به طور مثال بیماری ورم پستان، از آنتی‌بیوتیک استفاده می شود و باکتری‌های اسید لاکتیک، میکروارگانسیم‌های بسیار مهم محصولات لبنی هستند. بنابراین این باکتری‌ها مانند سایر باکتری ها، در محیطی که دارای آنتی‌بیوتیک است، تمایل به افزایش بقای خود دارد(۱۵). مقاومت و حساسیت باکتری استرپتوکوکس ترموفیلوس به آنتی‌بیوتیک های مختلف نتیجه دستیابی به این بقاست.

درجه اسیدیته شیر، یک خصوصیت بسیار مهم در محصولات لبنی است. از میان باکتری‌های اسید لاکتیک، به دلیل توانایی *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* در اسیدی کردن شیر، به طور گسترده از آن استفاده شده است(۱۶). علاوه بر این، در محصولات لبنی، تولید اسید لاکتیک توسط باکتری‌های اسید لاکتیک، شروع تخمیر است و یک مرحله بسیار مهم جهت اخذ خصوصیات حسی مطلوب و بهداشتی است(۱۷). همچنین بیشترین فعالیت استارترها، با توجه به میزان اسیدیفیکاسیون آن‌ها قضاوت می شود(۱۸). دلیل کند شدن افزایش اسیدیته در ۲۴h دوم در این تحقیق، محدود شدن رشد سویه‌ها در خارج از محدوده pH بهینه، جهت رشد *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* است (۱۹). باکتری‌های اسید لاکتیک به دلیل اینکه به محیط اطراف، آنزیم‌های داخل سلولی آزاد می‌کنند، از اتولیز آن‌ها در صنعت تخمیری لبنیات، استفاده می شود. بنابراین نقش بسیار مهمی را در پروسه رسیدگی این محصولات بازی می کنند و رسیدگی را سریع‌تر می کنند (۲۰، ۲۱). *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* با داشتن فعالیت اتولیز، از طریق آزاد سازی آنزیم‌های داخل سلولی که منجر به شکل گیری ترکیبات طعم می شود، موجب توسعه طعم در محصولات لبنی می شود. همچنین برای استفاده موثر از فعالیت اتولیز این سویه، ضروریست تا

www.SID.ir

Archive of SID

شرایط به شدت تحت کنترل باشد(۲۱). علاوه بر این، از طریق اتولیز،با آزاد سازی، سایر آنزیم‌هایی که در رسیدگی محصولات لبنی نقش دارند، می تواند منجر به رسیدگی محصولات لبنی شود.

منابع

1. Cui Y, Xu T, Qu X, Hu T, Jiang X, Zhao C. New insights into various production characteristics of Streptococcus thermophilus strains. International journal of molecular sciences. 2016 Oct;17(10):1701.

2. Dandoy D, Fremaux C, de Frahan MH, Horvath P, Boyaval P, Hols P, Fontaine L. The fast milk acidifying phenotype of Streptococcus thermophilus can be acquired by natural transformation of the genomic island encoding the cell-envelope proteinase PrtS. In Microbial cell factories 2011 Dec (Vol. 10, No. 1, p. S21). BioMed Central.

3. Iyer R, Tomar SK, Maheswari TU, Singh R. Streptococcus thermophilus strains: Multifunctional lactic acid bacteria. International dairy journal. 2010 Mar 1;20(3):133-41.

4. Courtin P, Monnet V, Rul F. Cell-wall proteinases PrtS and PrtB have a different role in Streptococcus thermophilus/Lactobacillus bulgaricus mixed cultures in milk. Microbiology. 2002 Nov 1;148(11):3413-21.
5. Broadbent JR, McMahon DJ, Welker DL, Oberg CJ, Moineau S. Biochemistry, genetics, and applications of exopolysaccharide production in Streptococcus thermophilus: a review. Journal of dairy science. 2003 Feb 1;86(2):407-23.
6. Pernoud S, Fremaux C, Sepulchre A, Corrieu G, Monnet C. Effect of the metabolism of urea on the acidifying activity of Streptococcus thermophilus. Journal of dairy science. 2004 Apr 1;87(3):550-5.
7. Ghiamati F, Yavarmanesh M, Khomeiri M, Maghsoudlou Y. Biodiversity and origin of the microbial populations isolated from Masske, a traditional Iranian dairy product made from fermented Ewe's milk. International Journal of Dairy Technology. 2016 Aug;69(3):441-51.
8. Mora D, Fortina MG, Parini C, Ricci G, Gatti M, Giraffa G, Manachini PL. Genetic diversity and technological properties of Streptococcus thermophilus strains isolated from dairy products. Journal of applied microbiology. 2002 Aug;93(2):278-87.
9. Franciosi E, Settanni L, Cavazza A, Poznanski E. Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. International dairy journal. 2009 Jan 1;19(1):3-11.
10. Vuyst D, de Ven V. Production by and isolation of exopolysaccharides from Streptococcus thermophilus grown in a milk medium and evidence for their growth-associated biosynthesis. Journal of Applied Microbiology. 1998 Jun;84(6):1059-68.
11. Regado MA, Cristóvão BM, Moutinho CG, Balcao VM, Aires-Barros R, Ferreira JP, Xavier Malcata F. Flavour development via lipolysis of milkfats: changes in free fatty acid pool. International journal of food science & technology. 2007 Aug;42(8):961-8.
12. El-Hofi M, El-Tanboly ES, Abd-Rabou NS. Industrial application of lipases in cheese making: a review. Internet Journal of Food Safety. 2011;13:293-302.
13. Alm L. Effect of fermentation on milk fat of Swedish fermented milk products. Journal of Dairy Science. 1982 Apr 1;65(4):521-30.
14. Hedrick TI, Hammer BW. Diacetyl and Acetylmethylcarbinol production in the manufacture of unsalted butter. Research Bulletin (Iowa Agriculture and Home Economics Experiment Station). 1942;25(301):1.
15. Mathur S, Singh R. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria—a review. International journal of food microbiology. 2005 Dec 15;105(3):281-95.
16. Galia W, Jameh N, Perrin C, Genay M, Dary-Mourot A. Acquisition of PrtS in Streptococcus thermophilus is not enough in certain strains to achieve rapid milk acidification. Dairy Science & Technology. 2016 Sep 1;96(5):623-36.
17. Joković N, Rajković J, Veljović K, Tolinački M, Topisirović L. Screening of lactic acid bacteria isolated from Serbian kajmak for use in starter cultures. Biologica Nyssana. 2017 Oct 26;5(1).
18. Urshev Z, Ninova-Nikolova N, Ishlimova D, Pashova-Baltova K, Michaylova M, Savova T. Selection and characterization of naturally occurring high acidification rate Streptococcus thermophilus strains. Biotechnology & Biotechnological Equipment. 2014 Sep 3;28(5):899-903.
19. Beal C, Louvet P, Corrieu G. Influence of controlled pH and temperature on the growth and acidification of pure cultures of Streptococcus thermophilus 404 and Lactobacillus bulgaricus 398. Applied microbiology and biotechnology. 1989 Dec 1;32(2):148-54.
20. Lortal S, Chapot-Chartier MP. Role, mechanisms and control of lactic acid bacteria lysis in cheese. International Dairy Journal. 2005 Jun 1;15(6-9):857-71.
21. Husson-Kao C, Mengaud J, Gripon JC, Benbadis L, Chapot-Chartier MP. The autolysis of Streptococcus thermophilus DN-001065 is triggered by several food-grade environmental signals. International dairy journal. 1999 Oct 1;9(10):715-23.

www.SID.ir

Archive of SID

Investigation of technological characteristics of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from South Khorasan Masske butter

Fataneh Hasanzadeh, **Masoud Yavarmanesh***, Mohammad Reza Edalatian

Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Abstract

The objective of present study was to investigate technological properties of nine *Streptococcus thermophilus* strains isolated from South Khorasan Masske butter. Masske butter is a traditional sheep's butter in South Khorasan region which *Streptococcus thermophilus* accounts for 15 percent of its microbial population. After the examination, strains showed positive reactions to following properties: di- acetyl production, proteolytic activity (7 out of 9 strains) excluding two strains, exo-polysaccharide production (8 strains). Also, all strains lost lipolytic activity in tributirin agar and urease activity. Acidification evaluation revealed a noticeable rate of reduction in pH during the first 24 hours, but in second 24- hours, pH reduction rate declined. The highest acidification activity was related to B251 (3.09±0.339) and B272 (3.08±0.1) strains and the lowest one was attributed to Y75 (4.01). Autolysis activity of strains, after 48 hours' incubation, was observed as reduction in optical density. The highest autolytic activity was related to Y106 strain (0.158±0.019) and the lowest one for Y19 (0.446±0.016). In conclusion, it is revealed that excluding y75 and y106, other strains had high proteolytic activity. Also, strain B251 which experienced the highest acidification rate in the first six hours, can be exploited as a suitable strain for starter culture or adjunct (secondary) culture in cheese or yogurt production.

Keywords: Butter Masske, *Streptococcus thermophilus*, Technological characterization

* yavarmanesh@um.ac.ir

www.SID.ir