مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی خواص بافتی و حسی ماست‌های تولیدی توسط باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از ماست‌های گوسفندی مناطق مشهد، همدان و دزفول

مبین زمان[۱]، نفیسه دعوتی[۲*]، مصطفی کرمی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

۲- استادیار،گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

۳- دانشیار،گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۶

کلمات کلیدی:

باکتری‌های اسید لاکتیک،

بافت،

لیپولیز،

حسی،

پروتئولیز.

DOI: 10.52547/fsct.19.122.171

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.122.21.4

* مسئول مکاتبات:

n.davati@basu.ac.ir

چکیده

ماست گوسفندی یکی از محصولات لبنی مغذی در ایران است. هدف این مطالعه، شناسایی مولکولی باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از ماست‌های گوسفندی مشهد، دزفول و همدان و بررسی خواص تکنولوژیکی آن‌ها بود. ۴۷ جدایه باکتری توسط تکثیر ژن 16S rDNA با PCRو سپس توالی‌یابی از نظر مولکولی شناسایی شدند. خواص تکنولوژیکی جدایه‌ها شامل تولید اسید لاکتیک، دی‌استیل، فعالیت‌های لیپولیتیکی، اوره‌آزی و پروتئولیتیکی بررسی شدند. آنالیز آماری داده‌ها توسط SPSSنشان داد که تولید دی‌استیل و تغییرات pHدرطی ۲۴ ساعت توسط جدایه‌ها بین ماست‌های دزفول، همدان و مشهدبه طور معنی‌داری (P<۰,۰۵) متفاوت است. خواص تکنولوژیکی جدایه‌ها ثابت کرد که استرپتوکوکوس سالواریوس زیرگونه ترموفیلوس (H1, H2) و لاکتوباسیلوس دلبروکیزیرگونه بولگاریکوس (H1, H2, H3, H7, H9, H10) از ماست گوسفندی همدان پتانسیل تکنولوژیکی بالایی دارند. همچنین براساس نتایج آنالیز خواص حسی و سفتی بافت ماست‌های تولید شده توسط جدایه‌های منتخب، استرپتوکوکوس سالواریوس (H2) و لاکتوباسیلوس دلبروکی(H3)به عنوان کشت آغازگر مناسب پیشنهاد شدند.

۱-مقدمه

ماست به دلیل وجود اسیدهای آلی، مواد معدنی، انواع ویتامین‌ها و فلور میکروبی مسئول تخمیرآن ارزش غذایی بالایی دارد ومصرف آن به دلیل خواص تغذیه‌ای آن همواره توصیه شده است. ماست حاوی منیزیم، فسفر، روی و کلسیم بوده و نسبت به شیر قابلیت هضم چربی، مواد معدنی، لاکتوز و پروتئین آن بهتر است. مصرف ماست به دلیل داشتن خاصیت ضدمیکروبی وفلور لاکتیکی ارزشمند آن در پیشگیری از سرطان بخصوص سرطان کولون موثر می‌باشد[۱]. اکثر ماست‌های حاصل از تولید صنعتی در کشور از شیر گاو می‌باشد اما ماست گوسفندی نظیر ماست‌های حاصل از شیر بز و شتر به دلیل ترکیباتش بخصوص چربی بالا طرفداران خاص خود را در ایران دارد، که بیشتر به صورت محلی تولید می‌شود. مقدار چربی شیر گاو تقریبا ۴۷-۳۳ گرم در لیترو برای گوسفند حدود ۷۱ گرم در لیتر است. البته تفاوت غلظت چربی در یک گونه به نژاد، ویژگی‌های دام، مرحله شیرآوری، بیماری ورم پستان، رژیم غذایی و فصل شیردهی بستگی دارد[۲]. کیفیت ماست علاوه بر ترکیبات شیر اولیه، به موقعیت جغرافیایی، روش تولید و غیره بستگی دارد و عطر و طعم آن بیشتر به فلور میکروبی ذاتی آنوابسته است. اما با اعمال فرایندهای حرارتی و استفاده از افزودنی‌ها، اکثر فلور میکروبی ذاتی آن از بین می‌روند. بدیهی است برای حفظ خواص سنتی و ویژگی‌های حسی این محصول، سویه‌های لاکتیکی ذاتی آن بایستی جداسازی و شناسایی شوند. ماست‌های صنعتی توسط کشت‌های آغازگر تجاری تولید می‌شوندکه از قبل پتانسیل‌های تکنولوژیکی آن بررسی شده است، اما ماست‌های گوسفندی محلی که حاوی سویه‌های بومی ناشناخته کشورمان هستند می‌توانند حاوی فلور میکروبی با خواص ممتاز تکنولوژیکی باشند که برای صنعت لبنیات می‌تواند بسیار پرکاربرد باشد. از دیدگاه تکنولوژیکی، یکی از ویژگی‌های مهم کشت آغازگر داشتن پتانسیل بالا در تولید اسید لاکتیک است. همچنین فعالیت لیپولیتیکی باکتری‌ها اهمیت زیادی ازلحاظ ایجاد طعم خاص در محصولات لبنی نظیر ماستدارد[۳]. پروتئولیز نیز در طی رسیدگی محصولات تخمیری اهمیت دارد و باکتری‌های اسید لاکتیک با فعالیت پروتئولیتیکی در متابولیسم نیتروژن نقش مهمی ایفاء می‌کنند. در این زمینه نقش پروتئین از خارج سلولی متصل به دیواره سلولی، بسیارقابل توجه است. زیرا طعم را با شکستن کازئین به پپتیدهای کوچک‌تر و در نهایت اسیدهای آمینه توسعه می‌دهند[٤]. هدف از انجام این مطالعه، جداسازی و شناسایی فلور لاکتیکی ذاتی موجود در ماست‌های گوسفندی محلی از اقلیم‌هایی با آب و هوای متفاوت ایران شامل مشهد، دزفول و همدان و سپس غربالگری جدایه‌ها با خواص تکنولوژیکی بالاجهت تولید ماست و مقایسه آن با ماست صنعتی است.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱- نمونه برداری و جداسازی باکتری های اسید لاکتیک

ماست گوسفندی از مشهد، دزفول و همدان تحت شرایط استریل جمع‌آوری ودر دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شد [۵]. بعد از رقیق سازی نمونه‌ها تا رقت $۱۰^{-۷}$ در رینگر مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر‌روی محیط‌های کشت MRSآگار (مرک، آلمان) و M17آگار (مرک، آلمان) کشت گردید. سپس محیط M17 آگار (برایکوکسی) در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد و محیط MRSآگار (برای لاکتوباسیل) در دمای ٤۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط بی‌هوازی و به مدت ٤۸ ساعت گرمخانه‌گذاری گردیدند. در مرحله بعد کلنی‌های خالص‌سازی شده توسط کشت خطی توسط تست کاتالاز، مشاهده میکروسکوپی و رنگ آمیزی گرم مورد بررسی اولیه قرار گرفتند[٦ و ۷].

۲-۲- شناسایی مولکولی

از جدایه‌های گرم مثبت و کاتالاز منفی، DNA مطابق روش زیر استخراج شد[۸]. ابتدا چند کلنی در ۱۰۰µl آب دیونیزه استریل حل شد و سپس ۱۰۰µl محلول الکل ایزوآمیل(مرک، آلمان)وکلروفرم(مرک، آلمان) به نسبت ۱ به ۲٤ اضافه شد و برای۵ ثانیه ورتکس گردید. مخلوط حاصل به مدت ۵ دقیقه با دور۱۶۰۰۰g سانتریفیوژشد و از فازآبی رویی حاوی DNA برای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) استفاده شد. محلول واکنش PCR شامل ۱٦µl آب دیونیزه استریل،۲µl از پرایمرهای B27F و U1492R (بایونیر، کره) با غلظت ۱۰picomol/µl،

۲۵µl مستر میکس (یکتا تجهیز، ایران) و DNA۵µl بود. مراحل انجام این واکنش بعد از فعال سازی در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل برنامه دمایی- زمانی شامل واسرشته‌سازی در ۹٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤۵ ثانیه، توسعه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه و سپستوسعه نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه و در مرحله پایانی سرد کردن به مدت ۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد بود. محصول PCR حدود ۱۲۰۰bp جهت توالی‌یابی (ماکروژن، کره) ارسال شد.

۲-۳- سنجش خواص تکنولوژیکی جدایه‌ها

جهت ارزیابی خواص تکنولوژیکی جدایه‌ها، کوکسی‌ها در M17 براث و دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد و میله‌ای‌ها در MRS بـراث و دمای ٤۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت فعال‌سازی شدند.

۲-۳-۱-بررسی توانایی جدایه‌هادر تولید اسـید لاکتیـک توسط روش تیتراسیون

ابتدا به میزان ۱ ٪ از جدایه‌های لاکتیکی فعال شده در شیر استریل کشت داده و تا تشکیل لخته در دمای ٤۲ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. سپس۵ میلی لیتر از ماست توسط سود (مرک، آلمان) ۰/۱ نرمال و معرف فنل فتالئین تا ایجاد رنگ صورتی تیترگردید، هر میلی‌لیتر سود ۰/۱ نرمال مصرف شده برابر با ۹/۰۰۸mg اسید لاکتیک است [۹].

۲-۳-۲-اندازه گیری pH ماست

به میزان ۱ ٪از جدایه‌های لاکتیکی فعال سازی شده در شیر استریلکشت گردید و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد گرمخانه-گذاری شدند. سپس تغییرات pHماست در فواصل زمانی ۳ ساعته توسطpHمتر (827pHLAB، سوئیس) در طی ۲٤ ساعت اندازه گیری شد[۱۰]. pHماست‌های تولیدی توسط جدایه‌های منتخب هم با این دستگاه اندازه‌گیری شد.

۲-۳-۳- ارزیابی فعالیت پروتئولیتیکی

جدایه‌های فعال شده به صورت لکه‌گذاری روی محیط پلیت کانت آگار(مرک، آلمان) حاوی۲ و ٤ درصد شیر خشک (مرک، آلمان) کشت شدند و به مدت ٤ روزدر دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردیدند. سپس محلول اسید کلریدریک ۱ ٪ روی سطح محیط کشت اضافه شد. تشکیل هاله اطراف کلنی نشان‌دهنده فعالیت پروتئولیتیکی جدایه‌ها بود [۱۱].

۲-۳-٤- ارزیابی فعالیت لیپولیتیکی

جدایه‌های لاکتیکی فعال شده به صورت نقطه‌ای روی محیط کشت حاوی آگار ۲۰g/lit، کلرید کلسیم ۰/۱g/lit، توئین ۲۰ml/lit۱۰، کلریدسدیم ۵g/lit وپپتون ۱۰g/lit کشت گردیدند و دردمای ۳۷ درجه سانتی‌گرادبه مدت ٤۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. ایجاد هاله اطراف کلنی نشان‌دهنده فعالیت لیپولیتیکی مثبت جدایه‌ها بود[۱۲].

۲-۳-۵-ارزیابی تولید دی استیل

۵۰۰µl محلول پتاس ۱٦ ٪ حاوی آلفا نفتول به کشت ۲٤ ساعته جدایه‌ها در شیر استریل افزوده شد و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گرادگرمخانه‌گذاری شد. تشکیل حلقه قرمز نشانه دی استیل مثبت بودن جدایه‌ها است. درجه‌بندی تولید دی استیل برای مدت‌های کمتر از ۳، ۳-۷ ، ۷-۱۵ و ۱۵-٦۰ دقیقه به ترتیب خیلی خوب، خوب، متوسط و خیلی ضعیف ثبت شدند[۱۳].

۲-۳-٦-ارزیابی فعالیت اوره آزی

جدایه‌ها در محیط اوره براث (مرک، آلمان) به مدت۲٤-٤۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گرادگرمخانه‌گذاری شدند.تغییر رنگ محیط به رنگ قرمز نمایانگر اوره آز مثبت و عدم تغیر رنگ محیط بیانگر اوره آز منفی بودن جدایه‌ها است[۱٤].

۲-٤- تولید ماست توسط جدایـه‌هاییبـا فعالیـت تکنولوژیکی بالا

ابتدا شیر با ۲/۵ ٪ چربی تا ۸۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد و تا دمای ٤۲ درجه سانتی‌گراد سرد گردید. سپس از جدایه-های*لاکتوباسیلوسبولگاریکوس* و *استرپتوکوکوسترموفیلوس* که براساس نتایج قبلی دارای خواص تکنولوژیکی مناسب بودند با نسبت مساوی (۳٪) و جداگانه آغازگر صنعتی افزوده شدو در دمای ٤۲ درجه سانتی‌گراد تا pH= ٤/٦-٤/٤ گرمخانه‌گذاری گردید [۱۵].

۲-۵- ارزیابی خواص رئولـوژی ماسـت توسـط ویسکومتر و اینستران

میانگین ویسکوزیته نمونه‌های ماست با شرایط یکسان توسط دستگاه ویسکومتر بروکفیلد مدل DV2T (Massachusetts,

USA) و توسط اسپیندل (sc4-21) در ۱۰ درجه سانتی‌گراد بررسی شد [۱۶]. از دستگاه اینسترون (سنتام5-stm، ایران) نیز جهت تعیین ویژگی‌های بافتی استفاده گردید. از ظرف باقطر ۷/۵ سانتی‌متراستفاده شد وپروب دستگاه به میزان ۳۵ میلی‌متر در نمونه ماست نفوذ کرد. منحنی نیروهای حاصل با سرعت ثابت ۲ میلی‌متر بر ثانیه در ۶ درجه سانتی‌گراد ثبت گردید[۱۷].

۲-۶- ارزیابی میزان آب اندازی نمونه‌های ماست

۳۰ میلی‌لیتر ماست به لوله فالکن ۵۰ میلی‌لیتری اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه با شدتدور ۱۵۳۰g سانتریفیوژشد. سپسمقدار آباندازینمونه‌ها براساس فرمول۱۰۰× (وزن اولیه ماست/وزن مایع آزاد شده) = درصد آب اندازی ماستثبتشد[۱۸].

۲-۷- ارزیابی خواص حسی ماست

ویژگی‌های حسی (رنگ،بو، طعم، بافت و پذیرش کلی) ماست‌های تولیدی توسط جدایه‌های منتخب و کشت آغازگر صنعتی توسط پرسش‌نامه مقیاس هدونیک ۵ درجه‌ای (۱: حداقل قابل قبول، ۵: بسیار خوب) توسط ۶ نفر خانم و ۶ نفر آقا امتیازدهی شد.

۲-۸- آنالیز آماری با نرم افزارSPSS16

جهت بررسی اثر نوع سویه میکروبی جدا شده از ماست و منطقه جغرافیایی مربوط به نمونه برداری ماست بر هر یک از خواص تکنولوژیکی مورد بررسی، شاملتولید اسید لاکتیک، دی‌استیل، فعالیت‌های لیپولیتیکی، اوره‌آزی و پروتئولیتیکی، از آنالیز واریانس دوطرفه استفاده گردید. جهت مقایسه آماری میانگین تغییرات pH بعد از ۳ ساعت گرمخانه‌گذاری برای هر گروه از جدایه-های لاکتیکی جداگانه، شامل استرپتوکوس‌ها و لاکتوباسیلوس‌ها، بین سه شهر مشهد، دزفول و همدان از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده گردید و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ ٪ ارزیابی گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- شناسایی مولکولی جدایه‌ها

ژل الکتروفورسیز ژن۱۶SrDNA تکثیر یافته توسط PCR از جدایه‌های لاکتیکی در شکل ۱ و توزیع باکتری‌های اسید لاکتیک در ماست سه منطقه در شکل ۲ نشان داده می‌شوند. نتایج شناسایی مولکولی جدایه‌های لاکتیکی ماست نشان داد که *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه *بولگاریکوس* در ماست گوسفندی همدان و *استرپتوکوکوس سالواریوس* زیرگونه *ترموفیلوس* از ماست گوسفندی مشهد و دزفول فلور غالب لاکتیکی را تشکیل می‌دهد. براساس تشخیص مولکولی تنوع فلور میکروبی ماست همدان بیشتر از دو منطقه دیگر است. این تنوع میکروبی در نمونه‌های ماست مناطق غربی ایران قبلا توسط [۱۹] نیز تایید شده بود و حضور *انتروکوکوس فاسیوم*، *لاکتوباسیلوس جانسونی*، *لاکتوباسیلوس پاراپلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس دلبروکی*، *انتروکوکوس دورانس*، *لاکتوباسیلوس فرینتوشنسیز وپدیوکوکوس اسیدی* لاکتیسی‌در ماست عشایر الوند آشکارگردید. علت وجود تنوع میکروبی در ماستگوسفندی همدان ناشی از آلوگی ثانویه، فلور میکروبی متنوع مایه اولیه ماست و نژاد گوسفند می‌تواند باشد.

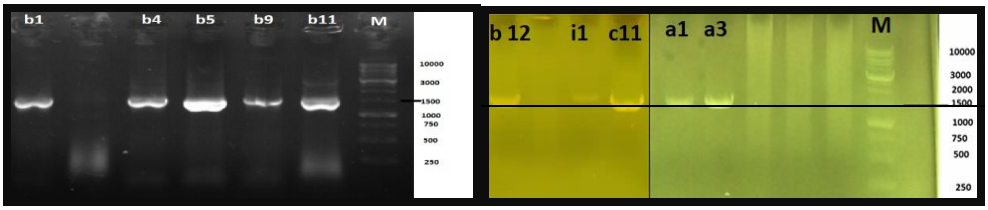

Fig 1 Agarose gel electrophoresis analysis of 16S rRNA gene of lactic acid bacteria isolated from ewe's yogurts. b1: *L. bulgaricus* (H1), b4: *L. bulgaricus* (H2), b5: *L. bulgaricus* (H3), b9: *L. bulgaricus* (H7), b11: *L. bulgaricus* (H9), b12: *L. bulgaricus* (H10), i1: *S. thermophilus* (Reference), c11*: S. thermophilus* (D10), a1: *S. thermophilus* (H1), a3: *S. thermophilus* (H2).M: marker 1000bp.

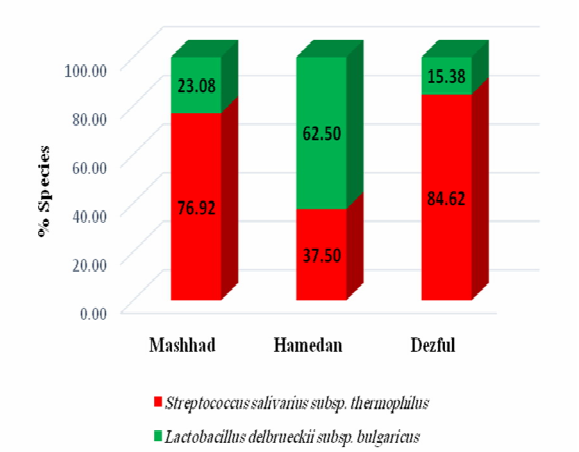

Fig 2 Distribution of lactic acid bacteria from ewe's yogurts

روی فلور میکروبی ماست‌های محلی ایران مطالعات متعددی صورت گرفته است. در این زمینه بنیادی و همکاران [۲۰] *لاکتوباسیلوس دلبروکی* و *لاکتوباسیلوسپلانتاروم* را فلور غالب ماست‌های سنتی روستاهای استان آذربایجان‌شرقی گزارش کردند. همچنین ظفر مختاریان و همکاران [۲۱] گونه‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس بوچنری* و*لاکتوباسیلوس رامنوزوس* را در ماست و شیر گوسفندی روستاهای ارومیه گزارش کردند. براساس مطالعات انجام شده در دنیا جنس لاکتوباسیلوس (۸۶/۹۶٪) بیش‌ترین سهم را در بین جدایه‌های لاکتیکی محصولات لبنینشان داده است [۲۲].

در مطالعه ما نیز فلور لاکتیکی غالب ماست همدان از جنس لاکتوباسیلوس بود. البته باید توجه داشت که فلور لاکتیکی محصولات لبنی محلی بسته به نوع محصول، روش تولید، مواد افزودنی و شرایطآب و هوایی متفاوت است.

۳-۲- قابلیت تولید اسید و کاهش pH

براساس یافته‌های گذشته، یک گونه میکروبی مناسب به عنوان کشت آغازگر بایستی به مدت ٦ ساعت pH=٥ در دمای ۳۰°C ایجاد کند و بعد از ۳ ساعت تخمیر اختلاف pHبرابر ۰/٤ (ΔpH=۰/٤ U) در همان دما حاصل کند[۱۰]. اما براساس نتایج ما هیچکدام از جدایه‌های لاکتوباسیلی قادر به ۰/٤U =ΔpHنبودند. و در این بین تنها جدایه‌های H2 و H9لاکتوباسیلی از نمونه ماست همدان نسبت به بقیه جدایه‌ها، pHرا سریع‌تر کاهش داد (شکل ۳). در آزمون تکمیلی قدرت کاهش pH بعد از ٦ ساعت نیز تنها گونه‌های لاکتوباسیلی جدا شده از ماست همدان موفق عمل کردند. نقش اصلی *لاکتوباسیلوس دلبروکی* در تولید ماست و تولید اسید لاکتیک بارها در تحقیقات گذشته ثابت شده و یک امتیاز در امر تولید ماست محسوب می‌شود.

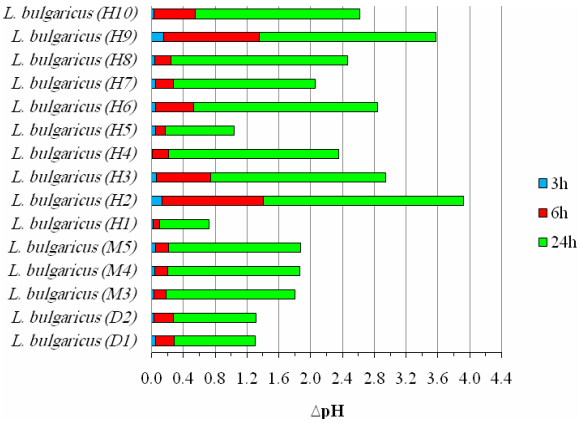

Fig 3 pH changes by Lactobacillus isolates during 24 H. M: Mashhad, H: Hamedan, D: Dezful.

توانایی باکتری‌های اسید لاکتیک در کاهش سریع pH در طی ۲٤ ساعات اولیه جهت تولید محصولات تخمیری نظیر پنیر اهمیت دارد زیرا علاوه بر ممانعت از رشد باکتری‌های بیماری‌زا باعث کوآگولاسیون سریع کازئین شیر نیز می‌شود[۲۳]. توانایی گونه-های لاکتوباسیلی جدا شده از محصولات تخمیری غرب کشور نیز قبلا توسط مطالعه [۱۹] بر روی ماست گوسفندی منطقه الوند ثابت شده بود. میزان قابلیت کاهشpHبعد از ٦ ساعتو ΔpH بعد از ۳ ساعت توسط جدایه‌های استرپتوکوکوسی از نمونه‌های ماست گوسفندی نشان داد (شکل ٤) که تنها جدایه-های ماست دزفول به جز D9درΔpH=۰/٤Uتوانایی داشتند.در آزمون تکمیلی سنجش قدرت کاهش pH بعد از ٦ ساعت، جدایه‌های استرپتوکوکوسی H1و H2 ماست همدان و تمام جدایه‌های استرپتوکوکوسی ماست دزفول بخصوص D3و D11موفق عمل کردند. در تکمیل ارزیابی توانایی جدایه‌ها در تولید اسید و کاهش pH، تغییرات اسیدیته برحسب میلی‌گرم اسیدلاکتیک در میلی‌لیتر طی تخمیر ماست نیز اندازه‌گیری شد. همچنین نتایجنشان داد که در بین جدایه‌های *لاکتوباسیلوسی*، تمام جدایه‌های ماست همدان به جز جدایه‌های H1 وH5 نسبت به ماست‌های مشهد و دزفول دارای شیب سریع‌تری در

تولید اسید لاکتیک در ساعات اولیه بودند و در بین جدایه‌های *استرپتوکوکوسی*، جدایه‌های ماست دزفول نسبت به جدایه‌های ماست‌های مشهد و همدان توانایی بیشتری را در تولید اسید لاکتیک در ساعات اولیه نشان دادند.

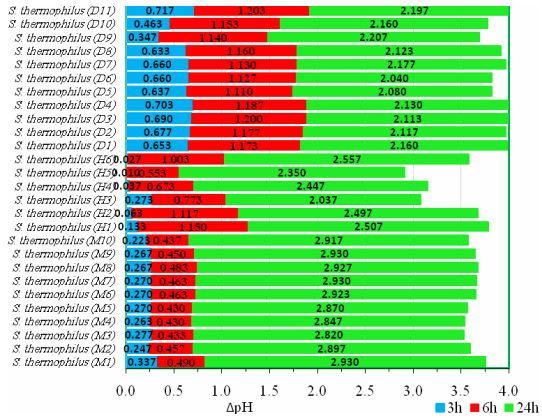

Fig 4 pH changes by Streptococcus isolates during 24 H. M: Mashhad, H: Hamedan, D: Dezful.

در مطالعه ما اکثر جدایه‌های لاکتوباسیلوسی در مقایسه با جدایه‌های استرپتوکوکوسی قابلیت ضعیفی در تولید اسید لاکتیک نشان دادند. بیل و همکاران [۲٤] در مطالعه خود نشان دادند که *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* قادربه تولید(g/l) ۳۳/۵۳ اسید لاکتیک و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* قادربه تولید(g/l) ۲۸/۲۲ اسید لاکتیک بود. ال-سودا نیز در تحقیق خود نشان داد که ۱۰٪ لاکتوباسیلوس‌های جدا شده از پنیر تولید کننده قوی و ٦٦٪ آن‌ها تولید کننده ضعیف اسید لاکتیک هستند [۲۵]. اومافووبه گزارش کرد که هیچ‌کدام از جدایه‌های لاکتوباسیلوس مورد مطالعه‌اش قادر به ایجاد ΔpH به میزان ۰/٤ واحد بعد از ۳ ساعت گرمخانه‌گذاری نبودند[۲٦].

نتایج آنالیز واریانس یک طرفه برای جدایه‌های استرپتوکوکوسی نشان داد که میانگین تغییرات pH بعد از ۳ ساعت گرمخانه‌گذاری بینابین جدایه‌ها از ماست سه منطقه یکسان نبود و میانگین‌ها دارای تفاوت معنی‌داری (P-value< 0.05) بودند و آزمون LSD نشان داد که هر سه نمونه با یکدیگر از نظر این تغییرات pH دارای تفاوت معنی‌داری هستند (شکل ۵).

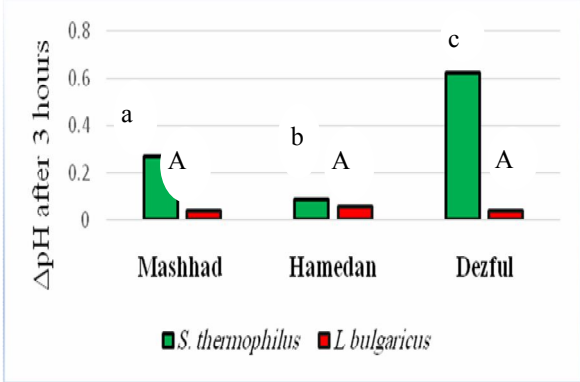

Fig 5 pH changes byof Lactic acid bacteria isolates from 3 different regionsfor 3 hours. Columns having common letters are not significantly different (P <0.05), capital letter for Lactobacillus and small letter for Streptococcus.

بر اساس نتایج ما جدایه‌های استرپتوکوکوسی H2 وH1و لاکتوباسیلوسی H2 وH9از ماست همدان و اکثر جدایه‌های استرپتوکوکوسیاز ماست گوسفندی دزفول به عنوان جدایه‌هایی با قدرت بالای تولید اسید پیشنهاد می‌شوند.

۳-۳- ارزیابی تولید دی استیل، فعالیت‌های اوره-آزی، لیپولیتیکی و پروتئولیتیکی

براساس نتایج، تمام جدایه‌های لاکتیکی از ماست سه منطقه مورد مطالعه دارای فعالیت‌های لیپولیتیکی و پروتئولیتیکی بوده و فاقد فعالیت اوره‌آزی هستند. وجود هاله اطراف کلنی در محیط کشت دارای شیر خشک، نشانه فعالیت پروتئولیتیکی جدایه‌ها و وجود هاله اطراف کلنی در محیط کشت مربوطه به دلیل ترسیب نمک کلسیم اسیدهای چرب آزاد هیدرولیز شده نشانه فعالیت لیپولیتیکی جدایه‌ها است.براساس گزارش پیراینو و همکاران [۲۷]، باکتری‌های اسید لاکتیک با توانایی بالا درتولید اسید لاکتیک قادر به فعالیت بالای پروتئولیتیکی نیستند. همچنین اومافووبه و همکاران [۲٦] تنها ۱۸٪ و آکورو و همکاران [۲۸] تنها ٤٤٪ از جدای‌های لاکتیکی مورد مطالعه خود را با فعالیت لیپولیتیکی گزارش کردند. درمقایسه با مطالعات صورت گرفته، جدایه‌های لاکتیکی ماست‌های گوسفندی مناطق مورد مطالعه ما قادر بودند علاوه بر تولید اسید لاکتیک دارای فعالیت‌های پروتئازی و لیپازی باشند.

اما جدایه‌های لاکتیکی مورد مطالعه ما اوره‌آز منفی بودند در حالیکه داشتن فعالیت اوره‌آزی می‌تواند برای جدایه‌های لاکتیکی ماست یک امتیاز محسوب شود. زیرا یاماچی و همکاران [۲۹] گزارش کردند که فقدان فعالیت اوره‌آزی توسط جدایه‌ها باعث مهار شدت تخمیر و در نتیجه کاهش تولید اسید لاکتیک حاصله از فعالیت *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* می‌شود. نتایج ارزیابی قدرت تولید دی استیل توسط جدایه‌ها نشان دادکه در بین جدایه‌های لاکتوباسیلوسی،جدایه-های H1, H2, H3, H9و H10 از ماست همدان و در بین گونه‌های استرپتوکوکوسیتنها جدایه‌های H1, H2و H4دارای سطح خوبی از فعالیت بودند.مشابه نتایج ما، بشکووا و همکاران [۳۰] گزارش کردند که *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* نقش مهمی در تولید ترکیبات مولد طعم نظیر استالدئید، دی‌استیل، کربونیل و اسیدهای چرب فرار در ماست دارد. نتایج آزمون تجزیه و تحلیل واریانس دوطرفه جهت بررسی اثر گونه لاکتیکی و منطقه نمونه-برداری بر تولید دی استیل (شکل ٦) نشان می‌دهد که تنها منطقه جغرافیایی بر تولید دی استیل اثر معنی‌داری (P-value< 0.05) دارد و آزمون LSDجهت مقایسه میانگین‌ها نشان داد که شهر همدان باعث این تفاوت معنی‌دار بوده است.

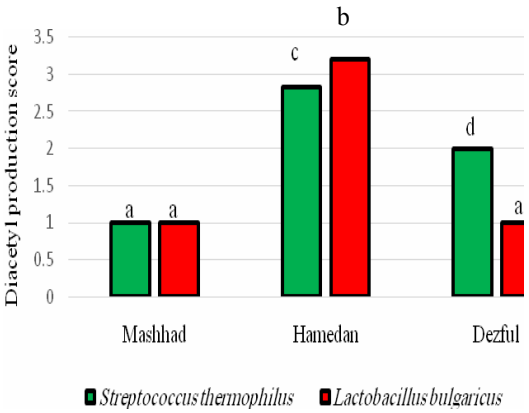

Fig 6 diacetyl production score of Lactic acid bacteria isolates from 3 different regions. Columns having common letters are not significantly different (P<0.05).

۳-٤- تولید ماست توسط جدایه‌های لاکتیکی منتخب

براساس نتایج آزمون‌های ارزیابی خواص تکنولوژیکی، جدایه‌های لاکتیکی حاصل از ماست گوسفندی همدان به عنوان جدایه‌های منتخب جهت تولید ماست مطابق جدول ۱ استفاده شدند.

Table 1 yogurts produced by selected isolates. H: Hamedan

Yogurt code	Streptococcus thermophilus	*Lactobacillus bulgaricus*
A	*S. thermophilus* (H1)	*L. bulgaricus* (H1)
B	*S. thermophilus* (H2)	*L. bulgaricus* (H1)
C	*S. thermophilus* (H1)	*L. bulgaricus* (H2)
D	*S. thermophilus* (H2)	*L. bulgaricus* (H2)
E	*S. thermophilus* (H1)	*L. bulgaricus* (H3)
F	*S. thermophilus* (H2)	*L. bulgaricus* (H3)
G	*S. thermophilus* (H1)	*L. bulgaricus* (H7)
H	*S. thermophilus* (H2)	*L. bulgaricus* (H7)
I	*S. thermophilus* (H1)	*L. bulgaricus* (H10)
J	*S. thermophilus* (H2)	*L. bulgaricus* (H10)
K	*S. thermophilus* (H1)	*L. bulgaricus* (H9)
L	*S. thermophilus* (H2)	*L. bulgaricus* (H9)
M	Industrial starter culture	Industrial starter culture

۳-۵- بررسی ویژگی‌های حسی وآب اندازی ماست‌های تولیدی توسط جدایه‌های منتخب

براساس نتایج مقایسه خواص حسی در شکل ۷، ماست حاصل از آغازگر صنعتی M بالاترین نمره را به دست آورد و در بین نمونه‌های ماست تولیدی توسط جدایه‌ها، تنها E, J و I دارای نمره نزدیک به ماست M بودند. این ماست‌ها مطابق با جدول ۱ توسط *S. L. bulgaricus* (H3), *L. bulgaricus* (H10),

thermophilus (H1) و *S. thermophilus* (H2)تولید شده بودند. از آنجایی‌که دی استیل از ترکیبات موثر در تولید عطر و طعم (یکی از پارامترهای مهم خواص حسی) است، این سویه‌ها براساس نتایج ارزیابی تولید دی استیل نیز توانایی خوبی نشان داده بودند. چنگ [۳۱] نشان داد که در ماست هر دو گونه *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* در تولید استالدئید نقش مهمی ایفاء می‌کنند و تولید دی استیل با قدرت تولید اسید لاکتیک متناسب است.

براساس نتایج ما نیز سویه‌های منتخب از لحاظ هم تولید اسید لاکتیک و هم تولید دی استیلتوانایی بالاییداشتند.

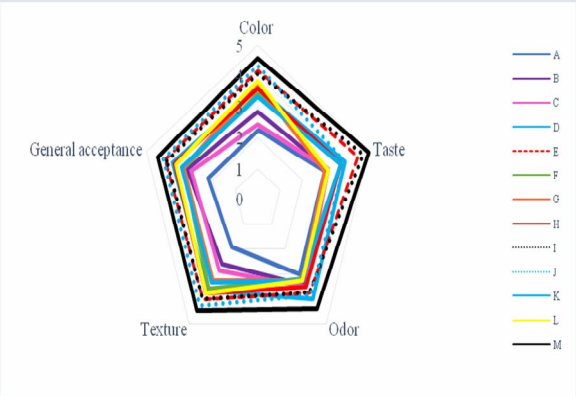

Fig 7 Comparison of organoleptic properties of yogurts produced by selected isolates.

یکی از معایب ماست،آب اندازی یا همان ظهور سرم در سطح است که ناشی ازجمع شدن شبکه پروتئینی و کاهش قدرت اتصال پروتئین‌های آب پنیر است[۳۲]. براساس مقایسه درصد میزان آب‌اندازی ماست‌های تولیدی (شکل ۸) به ترتیب ماست صنعتی M (۵۶/۶۶٪)، ماست‌های F و A (حدود ۶۰٪) نسبت به سایر ماست‌ها دارای کمترین درصد آب‌اندازی بودند. براساس جدول۱ ماست F توسط *S. thermophilus* (H2) و *L. bulgaricus* (H3) و ماست A توسط *S.thermophilus* (H1)و *L. bulgaricus* (H1) تولید گردیده بود. که مطابق نتایج گذشته جدایه‌های *L. bulgaricus* (H1, H3)دارای کمترین قابلیت تولید اسید لاکتیک در بین سویه‌های لاکتوباسیلی منتخب بودند. از طرف دیگر، میزان آب‌اندازی ماست‌های C و D بیشترین مقدار (۷۰٪) بود که هر دوبه وسیله *L. bulgaricus* (H1) و به ترتیب به وسیله *S. thermophilus* (H2) و *S. thermophilus* (H2)تولیدشده بودند.که براساس نتایج این سویه‌ها در تولید اسید لاکتیک، که باعث افزایش آب‌اندازی ماست می‌شود، توانایی بالایی داشته‌اند. براساس گزارش فاگان و همکاران [۳۳]، با افزایش میزان اسیدیته در ماست، میزان آب اندازی نیز بیشتر می‌شود.

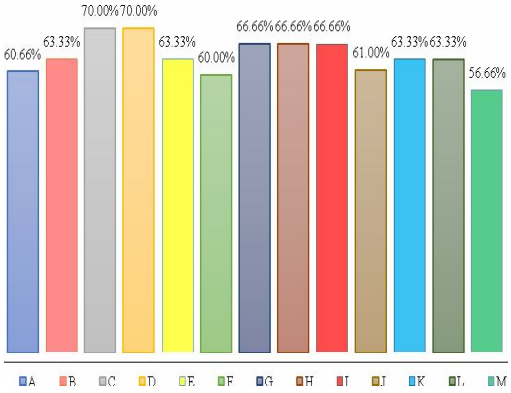

Fig 8 Comparison of syneresis of yogurts produced by selected isolates.

۳-۶- سنجش سفتی بافت ماست توسط دستگاه بافت سنج

از آنجایی‌که ماست دارای جریان کاملاً رقیق شونده بوده و وابسته به تغییراتpH می‌باشد، کاهشpH تا ۴/۶ در زمان انعقاد شیر باید آهسته انجام شود که در این صورت ماست دارای ساختاری پایدار بوده و فرصت به دام انداختن آب در شبکه ژل وجود دارد. چنانچه pH ماست بیشتر و یا کمتر از pHآستانه بحرانی یعنی ۴/۶ تا۵/۲ شود، ساختار ژل ناپایدار شده و با خروج آب از ساختار ژل آب اندازی تشدید می‌شود [۳۴]. در بررسی بافت ماست توسط دستگاه بافت‌سنج، رفتار خارجی بافت ماست با اعمال نیرو به لایه‌های ماست و نیروی اولیه برای شکستن شبکه ژلی ارزیابی گردید [۳۵]. در این ارزیابی در بین ماست‌های حاصل از جدایه‌های منتخب، ضعیف‌ترین بافت مربوط به ماست نمونه D با pH برابر ۴/۵۱ و بهترین بافت مربوط به ماست F با pH حدود ۴،۶ بود زیرا در اثر اعمال نیرو، شکست اولیه آن کم و بافت نسبتا پایدار بود و همچنین دچار به هم ریختگی در ساختارش نشد.

۳-۷- سنجش سفتی ماست توسط دستگاه ویسکومتر

جهت ارزیابی سفتی بافت ماست‌های تولیدی توسط دستگاه ویسکومتر از اسپیندل مناسب (sc4-21) با گشتاور(۹۰-۱۰ ٪) استفاده شد. اندازه‌گیری مقدار ویسکوزیته در مدت ٦٠ ثانیه و طی بازه‌های ۱۰ ثانیه‌ای انجام شد و ویسکوزیته ماست با گذشت زمان همزدن کاسته شد. بافتی مطلوباست که منحنی تغییرات ویسکوزیته طی زمان همزدن فاقد شکستگی بوده و با شیب ملایمی به عدد پایانی برسد و در طی زمان همزدن تغییرات کمتری در ویسکوزیته آن حاصل شود. نتایج بررسی ویسکوزیته ماست‌های حاصل از جدایه‌های منتخب و آغازگر صنعتی توسط ویسکومتر در شکل۹ ارائه می‌گردد. نتایج نشان داد که تمام نمونه‌های ماست مورد بررسی دارای رفتار تیکسوتروپی می‌باشند و نمونه‌های ماست صنعتی (M) و سپس ماست F کمترین تغییرات ویسکوزیته را در طی زمان همزدنحاصل کردند وشیب کاهش ویسکوزیته آن‌ها بسیار ملایم بود. نمونه ماست D دارای بیشترین تغییرات در طی زمان همزدنبود و شیب کاهش ویسکوزیته آن بسیار تند بود و به دلیل بافت ناپایدار دارای شکستگی در منحنی تغییرات ویسکوزیته بود.

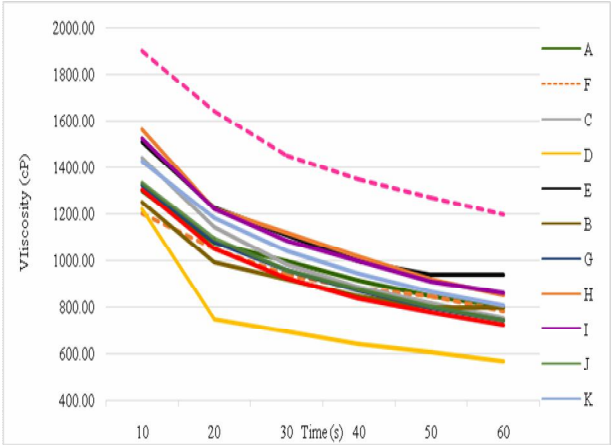

Fig 9 Comparison of viscosity changes of yogurts produced by selected isolates during stirring.

یکی از عوامل موثر بر سفتی بافت ماست، رسیدن pH کازئین به نقطه ایزوالکتریک در بازه ٤/٦ تا ٥/٢ است که باعث لختگی کازئین و حبس شدن آب و مواد معدنی در ساختار ژلی ماست می‌شود [٣٦].

با توجه به نتایج اندازه‌گیری آب اندازی ماست، کمترین آب اندازی به ترتیب مربوط به ماست‌های M، F و A و بالاترین آب اندازی به ترتیب مربوط به ماست‌های D، C و H بود. از طرف دیگر براساس نتایج pH نهایی ماست‌های تولیدی و ویسکوزیته آن‌هاثابت شد که بالاترین آب اندازی و ضعیف‌ترین بافت در نمونه‌هایی با pH پایین رخ می‌دهد و بالعکس. بنابراین بین میزان pH با آب اندازی و استحکام بافت ماست ارتباط مستقیم وجود دارد.

٤- نتیجه‌گیری

وجود تفاوت در خواص تکنولوژیکی جدایه‌های لاکتیکی از ماست‌های گوسفندی مناطق مختلف به دلیل اختلاف در محتوای ژنوم فلور میکروبی آن‌ها می‌باشد. زیرا فراورده‌های تخمیری هر منطقه دارای سویه‌های میکروبی بومی مختص آن ناحیه جغرافیایی می‌باشند که از نظر پتانسیل فناورانه می‌توانند منحصر ومتنوع باشند. در سه منطقه جغرافیایی مورد مطالعه ما شامل مشهد، همدان و دزفول که از آب و هوای متفاوتی برخوردار بودنداین تفاوت‌ها تا حدودی مشاهده شد. براساس نتایج ما و سایر مطالعات مشابه قبلی روی ماست‌های بومی غرب ایران وجود سویه‌های خود اتولیز استرپتوکوکوس ثابت می‌شود. در نتیجه‌گیری کلی بر اساس نتایج آزمون‌های انجام شده جدایه‌های *S. thermophilus* (H1, و *L. bulgaricus* (H3 (H2به عنوان سویه‌هایی با خواص تکنولوژیکی بالا جهت صنایع تخمیری پیشنهاد می‌گردند.

٥- منابع

[1] Rahimi, A., Talebi, E., Hasani, Z., and Tofighi, K. 2017.Yogurtand its role in human health." International Conference on Agricultural Sciences, Medicinal Plants and Traditional Medicine.

[2] Christie, W.W., 1983. The composition and structure of milk lipids. Developments in dairy chemistry. *2*, pp.1-35.

[3] Ghani, Sh., and Joyandeh, H. 2015. "Lipase enzyme and its application in dairy industry". 1st Conference on Agronomy and Plant

Breeding, Medicinal Plants, Livestock, Food Science and Technology, Seed Science and Technology.

[4] Crow, V.L., Coolbear, T., Gopal, P.K., Martley, F.G., McKay, L.L. and Riepe, H., 1995. The role of autolysis of lactic acid bacteria in the ripening of cheese. International Dairy Journal, *5*(8), pp.855-875.

[5] Institute of Standards and Industrial Research of Iran, 2020, Milk and its products, Sampling Guide, No. 326.

[6] Benson, H.J., 1967. Microbiological applications; a laboratory manual in general microbiology.

[7] Harrigan, W.F., 1998. Laboratory methods in food microbiology. Gulf professional publishing.

[8] Ruiz-Barba, J.L., Maldonado-Barragán, A. and Jiménez Díaz, R., 2005. Small-scale total DNA extraction from bacteria and yeast for PCR applications.

[9] Bulut, Ç., 2003. Isolation and molecular characterization of lactic acid bacteria from cheese (Master's thesis, İzmir Institute of Technology).

[10] Durlu‐Ozkaya, F., Xanthopoulos, V., Tunail, N. and Litopoulou‐Tzanetaki, E., 2001. Technologically important properties of lactic acid bacteria isolates from Beyaz cheese made from raw ewes' milk. Journal of Applied Microbiology, 91(5), pp.861-870.

[11] Hassaïne, O., Zadi-Karam, H. and Karam, N.E., 2007. Technologically important properties of lactic acid bacteria isolated from raw milk of three breeds of Algerian dromedary (Camelus dromedarius). African Journal of Biotechnology, 6(14).

[12] Bettache, G., Fatma, A., Miloud, H. and Mebrouk, K., 2012. Isolation and identification of lactic acid bacteria from Dhan, a traditional butter and their major technological traits. World Applied Sciences Journal, 17(4), pp.480-488.

[13] Franciosi, E., Settanni, L., Cavazza, A. and Poznanski, E., 2009. Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. International dairy journal, 19(1), pp.3-11.

[14] Nourizadeh, E., Shokoohi, B., Ghasemigarmi, K., and Latifinavid, S., 2006. "Studying the effect of cytopathic of urease enzyme on cell culture of hela". Physician Scholar. 63.

[15] Pourahmad, R., and Fadaiee, Rezvan., 2007. ″Milkprocessing: improving the quality of dairy products″.MarzeDanesh. Pars Pidora Publishing Company.

[16] AmiriAqdaei, S. S., Alami, M., and Rezaiee, R., 2010. "Theeffectofpsylliumseedhydrocolloidsonphysicochemicalandsensorypropertiesoflow-fatyogurt". Iranian FoodScienceandTechnologyResearch journal. 3.201.

[17] Izadi, Z., Nasirpour, A., Garoosi, G.A. and Tamjidi, F., 2015. Rheological and physical properties of yogurt enriched with phytosterol during storage. Journal of food science and technology, *52*(8), pp.5341-5346.

[18] Çelik, E.S., 2007. Determination of aroma compounds and exopolysaccharides formation by lactic acid bacteria isolated from traditional yogurts (Master's thesis, Izmir Institute of Technology).

[19] Davati, N., 2018. Isolation and Identification of Indigenous Lactic Acid Bacteria from Traditional Yogurt Produced from Ewe's Milk from Alvand Nomads Region and Evaluation of Their Acidifying Potential, Journal of food science and technology (Iran). 74 (15), pp. 213-222.

[20] Bonyadim, M. R., MojarradKhangahs, S., Qanbarov, Kh.Q, Gojezadehm, DaliliOskuee, R., 2012. Determination the number of Lactic Acid Bacteria and Yeasts in the combination of traditional yoghurts of villages of East-Azerbaijan- province, Medical Laboratory Journal, 5 (2).

[21] Zafar mokhtarian, E., Rezazadeh Bari, M., Amiri, S., 2018. Isolation and molecular identification of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria from sheep milk and yogurt**.** Journal of food science and technology (Iran). 78 (15).

[22] Badis, A., Guetarni, D., Boudjema, B.M., Henni, D.E. and Kihal, M., 2004. Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. Food Microbiology, 21(5), pp.579-588.

[23] Farkye, N.Y., 2000. Microbiology of cheese

making and maturation. Encyclopedia of food microbiology, 1, pp.381-387.

[24] Béal, C., Spinnler, H.E. and Corrieu, G., 1994. Comparison of growth, acidification and productivity of pure and mixed cultures of Streptococcus salivarius subsp. thermophilus 404 and Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus 398. Applied microbiology and biotechnology, 41(1), pp.95-98.

[25] El Soda, M., Ahmed, N., Omran, N., Osman, G. and Morsi, A., 2003. Isolation, identification and selection of lactic acid bacteria cultures for cheesemaking. Emirates Journal of Food and Agriculture, pp.51-71.

[26] Omafuvbe, B.O. and Enyioha, L.C., 2011. Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from selected commercial Nigerian bottled yoghurt. African Journal of Food Science, *5*(6), pp.340-348.

[27] Piraino, P., Zotta, T., Ricciardi, A., McSweeney, P.L. and Parente, E., 2008. Acid production, proteolysis, autolytic and inhibitory properties of lactic acid bacteria isolated from pasta filata cheeses: A multivariate screening study. International Dairy Journal, 18(1), pp.81-92.

[28] Ukwuru, M.U. and Ibeneme, C.I., 2014. Biotechnological Properties of Microorganisms Isolated from Traditional Fermented Foods. Focusing on Modern Food Industry, 3, p.3.

[29] Yamauchi, R., Maguin, E., Horiuchi, H., Hosokawa, M. and Sasaki, Y., 2019. The critical role of urease in yogurt fermentation with various combinations of Streptococcus thermophilus and Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus. Journal of dairy science, 102(2), pp.1033-1043.

[30] Beshkova, D., Simova, E., Frengova, G. and Simov, Z., 1998. Production of flavour compounds by yogurt starter cultures. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 20(3), pp.180-186.

[31] Cheng, H., 2010. Volatile flavor compounds in yogurt: a review. Critical reviews in food science and nutrition, 50(10).

[32] Lucey, J.A., 2004. Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties. International Journal of Dairy Technology, *57*(2‐3), pp.77-84.

[33] Fagan, C.C., O'Callaghan, D.J., Mateo, M.J. and Dejmek, P., 2017. The syneresis of rennet-coagulated curd. In Cheese (pp. 145-177). Academic Press.

[34] De Vuyst, L., Zamfir, M., Mozzi, F., Adriany, T., Marshall, V.M., Degeest, B. and Vaningelgem, F., 2003. Exopolysaccharide-producing Streptococcus thermophilus strains as functional starter cultures in the production of fermented milks. International Dairy Journal, 13(8), pp.707-717.

[35] Shihata, A. and Shah, N.P., 2002. Influence of addition of proteolytic strains of Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus to commercial ABT starter cultures on texture of yoghurt, exopolysaccharide production and survival of bacteria. International Dairy Journal, *12*(9), pp.765-772.

[36] Karami, K., Shahrokhi, S, 2017. Comparison between Physico-Chemical, Microbiological and Rheological Properties of Yoghurt Containing *Lb. rhamnosus* and *Lb. paracasei* with Conventional Yoghurt Samples during the Shelf Life. Journal of Applied Microbiology in food industry, 2 (4).

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of textural and organoleptic properties of yogurts produced using lactic acid bacteria isolated from ewe's yogurts from Mashhad, Hamedan and Dezful

Zaman, M. [1], Davati, N. [2] *, Karami, M. [3]

1. MSc Student, Department of Food Science and Technology, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
2. Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Bu-Ali Sina University,

ABSTRACT

Eve' yogurt is one of the nutritive dairy products in Iran. The aim of this study was molecular identification of lactic acid bacteria isolated of ewe yogurts from 3 different regions of Iran (Mashhad, Dezful, and Hamedan)and assessment of their technological properties. A total of 47 isolates were molecularly identified by PCR of 16S rDNA gene and sequencing. Isolates were evaluated for technological properties including Lactic acid and diacetyl production, lipolytic, urease, and proteolytic activities.The statistical analysis of data using SPSS software indicated that diacetyl production and pH changes by bacterial isolates for 24 hours were significantly ($P<0.05$) different among yogurts from Dezful, Hamedan and Mashhad. The technological properties of isolates demonstrated thatStreptococcussalivariussubsp. thermophilus (H1, H2) and Lactobacillus delbrueckiisubsp. bulgaricus (H1, H2, H3, H7, H9, H10) of ewe's yogurt from Hamedan have high technological properties. Also, based on the analysisresults of the organoleptic properties and texture stiffness of yogurts produced by selected isolates,S.salivarius(H2)andL. delbrueckii(H3) suggested as a suitable starter culture.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2021/ 10/ 07
Accepted 2022/ 02/ 05

Keywords:

Lactic acid bacteria,
Texture,
Lipolytic,
Organoleptic,
Proteolytic.

DOI: **10.52547/fsct.19.122.171**

DOR: **20.1001.1.20088787.1401.19.122.21.4**

*Corresponding Author E-Mail:
n.davati@basu.ac.ir