تیماردهی شیر خام خنک با CO_2
۲- تأثیر بر روی پروتئولیز، لیپولیز و ویژگیهای حسی شیر خام

آزاده سلیمانی وفا[۱]، جواد حصاری*[۲]، عادل احمدی زنوز[۳]

تاریخ دریافت:۸۶/۷/۲ تاریخ پذیرش:۸۷/۲/۲۵

چکیده

اثرات تیماردهی شیر خام خنک توسط CO_2 بر روی پروتئولیز و لیپولیز شیر مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور ۴ تیمار بر روی شیر خام (شیر خام بدون استفاده از CO_2 (نمونه شاهد) و شیر خام با استفاده از تزریق CO_2 تا مقادیر pH های برابر ۶/۴، ۶/۲ و ۶) اعمال شد. نمونه‌های شیر خام برای مدت ۱۰ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و در روزهای ۱، ۵، ۸ و ۱۰ روند پروتئولیز و لیپولیز مورد ارزیابی قرار گرفت. طرح آماری مورد استفاده در این تحقیق طرح اسپلیت پلات در زمان با طرح پایه بلوکهای کامل تصادفی در سه تکرار (در سه روز مختلف بعنوان بلوک) بود. نتایج حاصل از بررسی واکنش‌های پروتئولیز و لیپولیز بیانگر تأثیر مثبت CO_2 در کاهش آنها در شیر خام سرد شده بود و افزایش در غلظت CO_2 با کاهش بیشتر در پروتئولیز و لیپولیز طی نگهداری همراه بود. ارزیابی حسی نمونه ها بیانگر عدم تأثیر CO_2 بر روی خصوصیات ارگانولپتیکی شیر خام سرد شده بود. در این پژوهش بهترین تیمار انتخاب شده استفاده از CO_2 تا pH = ۶ بود که البته در اکثر موارد اختلاف آن با شیر تیماردهی شده تا pH = ۶/۲ غیر معنی دار بود.

واژه های کلیدی : دی اکسیدکربن، شیر خام، نگهداری، پروتئولیز، لیپولیز

*نویسنده مسئول مکاتبات

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

۳- دانشیارگروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

تولید شیر در شرایط بهداشتی و سرد کردن آن به میزان کافی طی مدت نگهداری از اهمیت بالایی برخوردار است (۶). صنایع شیر به استفاده از دماهای پایین برای حفظ کیفیت شیر خام طی نگهداری و حمل ونقل تکیه دارد (۱۹). در عین حال نگهداری شیر در درجه حرارت پایین باعث تغییر توازن میکروبی به نفع باکتریهای سرماگرا که تحت این شرایط به خوبی رشد و تکثیر می کنند می گردد (۶).

مطالعات قبلی نشان داده است که باکتریهای سرماگرا فلور غالب شیر نگهداری شده در دماهای پایین را تشکیل می دهند (۵، ۱۱ و ۱۴). به علت خاصیت پروتئولیتیکی و لیپولیتیکی اغلب باکتریهای سرماگرا، شیر حتی در صورت نگهداری در دمای نسبتاً پایین به راحتی فاسد می شود (۶). با وجود اینکه سرماگراها در اثر تیمارهای حرارتی متداول شیر از بین می روند امّا این ارگانیسمها قادر به تولید آنزیمهای برون سلولی (پروتئیناز و لیپاز) هستند که به طور کامل توسط تیمارهای حرارتی غیر فعال نمی شوند. این آنزیمها قادر به تجزیه ترکیبات مختلف شیر هستند که روی ماندگاری شیر فرایند شده بوسیله حرارت تأثیر می گذارند وبالطبع روی کیفیت محصولات لبنی مؤثر هستند (۵، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۴). فعالیتهای پروتئولیتیکی و لیپولیتیکی باکتریهای سرماگرا زمانی می توانند قابل ملاحظه و مؤثر باشند که شمارش این باکتریها از $۱۰^{۶}$ تا $۱۰^{۷}$ (cfu/ml) تجاوز کند (۱۰).

خصوصیات حسی شیر از قبیل طعم همانند خواص تغذیه ای آن در بازار پسندی نقش دارند، ایجاد طعم های نامطلوب در نتیجه پروتئولیز و لیپولیز دوره ماندگاری و کیفیت شیر پاستوریزه را کاهش می دهد (۲۳). افزایش شدت پروتئولیز از طریق کاهش میزان پروتئین ها ارزش اقتصادی شیر و راندمان تولید پنیر را کاهش می دهد و با تجمع پپتیدهای کوچک باعث تلخی فرآورده های لبنی می گردد. از نتایج عملکرد پروتئازها، طعم و آرومای نامطبوع در شیر، تشکیل دلمه ناچیز یا عدم تشکیل آن در تولید پنیرو ژله ای شدن شیر UHT می باشد. کاهش نسبت کازئین به پروتئین کل حتی به میزان ۱ تا ۲٪ می تواند اثرات اقتصادی مهمی داشته باشد، به طوریکه آسیب آنزیمی کازئین مستقیماً در کاهش بازده پنیر منعکس می شود (۱۹). افزایش مقادیر زیادی از اسیدهای چرب آزاد در نتیجه لیپولیز طی مدت زمان بسیار کوتاهی منجر به تندی (رنسیدیتی) شیر می شود. طعم حاصل به سهولت به فرآورده های مختلف شیر، نظیر کره و پنیر منتقل می گردد و آنها را غیر قابل قبول می سازد (۶ و ۱۰).

با توجه به اینکه انواع تقلّبات به منظور سرپوش نهادن بر کیفیت نا مناسب بهداشتی شیر در کشور رایج است، لزوم استفاده از روشهای سالم و مجاز جهت حفظ کیفیت شیر بیش از پیش احساس می شود. از آنجائیکه در کشور ما نگهداری شیر در دامداریها و ارسال آن به مراکز صنعتی از معضلات اساسی صنایع شیر می باشد، بر این اساس مطالعات زیادی در راستای جستجوی روش مناسب برای کنترل و مهار باکتریهای سرماگرا صورت گرفته است (۳). در سالهای اخیر استفاده از سرما به همراه $CO_۲$ نتایج مثبتی را در نگهداری شیر و جلوگیری از رشد باکتریهای سرماگرا و نتیجتاً حفظ کیفیت شیر از خود نشان داده است (۱۹، ۲۰، ۲۱ و ۲۲). لذا بررسی تأثیر $CO_۲$ در شیر خام سرد شده بر روی ویژگی های کیفی شیر هدف اصلی این پروژه را تشکیل می دهد.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روشها

۲-۱- مواد اولیه

جهت انجام این تحقیق شیر خام تازه دوشیده شده که بلافاصله تا دمای ۴ درجه سانتی گراد سرد شده بود از واحد گاوداری ایستگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز در ۳ روز مختلف و هر بار به میزان تقریباً ۵ کیلوگرم دریافت شد.

۲-۲- روشها

شیر خام دریافت شده در کارگاه لبنیات ایستگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی در ۱۶ بطری پلاستیکی به حجم ۲۵۰ میلی لیتر در شرایط کاملاً بهداشتی با فضای خالی[1] تقریباً ۷ درصد توزیع شد، و با دربهای پلاستیکی مخصوص دربندی گردید، بطوریکه امکان نشت گاز وجود نداشته باشد. سپس در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

جهت انجام آزمایشات لازم در این طرح ۴ تیمار بر روی شیر خام اعمال شد و کلیه آزمایشات با ۳ تکرار انجام گردید. تیمارهای مورد استفاده شامل شیر خام سرد شده بدون استفاده از CO_2 (نمونه شاهد) و شیر خام سرد شده با استفاده از CO_2 تا سطوح pH ۶/۴، ۶/۲ و ۶ بودند. جهت تزریق CO_2 از یک کپسول حاوی CO_2 (نوع خوراکی) ومجهز به رگلاتور جهت کنترل فشار استفاده شده است. با ابزار مناسب استریل شده، تحت شرایط کاملاً بهداشتی تزریق CO_2 داخل بطریها تا pH مورد نظر انجام گرفت و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد و در هر ۲۴ ساعت ضمن اندازه گیری pH، در صورت مشاهده افزایش pH در نمونه های تیمار شده با CO_2 با تزریق مجدد CO_2 pH تا سطح قبلی تنظیم گردید. نمونه ها برای مدّت ۱۰ روز در این دما نگهداری شدند و در روزهای اول (روز دریافت شیر)، ۵، ۸ و ۱۰ مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای هر تیمار ۴ بطری در نظر گرفته شد و در هر روز از ارزیابی یک بطری از هر تیمار جهت انجام کلیه این آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۳- ارزیابی شیمیایی

جهت ارزیابی پروتئولیز نمونه های شیر خام طی نگهداری **از** ازت کل، ازت غیر کازئینی و ازت غیر پروتئینی مطابق روش ماکروکجلدال(۲، ۵ و۱۵) استفاده شد. برای این کار آماده سازی نمونه جهت اندازه گیری ازت محلول در pH=۴/۶ (ازت غیر کازئینی یا NCN[2]) (۱۶) و ازت محلول در تری کلرو استیک اسید (ازت غیر پروتئینی یا NPN[3]) (۴) انجام گرفت. کاهش در نسبت کازئین به پروتئین کل و افزایش در نسبت ازت غیر پروتئینی به ازت کل در شیر طی دوره نگهداری به عنوان شاخصی برای پروتئولیز استفاده شد (۱۹ و ۲۳). همچنین برای بررسی هیدرولیز کازئینها در نمونه های شیر خام از پلی آکریل آمید ژل الکتروفورز در حضور اوره (Urea-PAGE) (۹ و ۲۴) استفاده بعمل آمد.

برای ارزیابی لیپولیز نمونه های شیر خام از اندیس اسیدیته مطابق روش علیزاده (۴) استفاده شد. برای این کار محتوی اسید های چرب آزاد اندازه گیری شدند و مقدار کل اسیدهای چرب با واحد میلی اکی والان در ۱۰۰ گرم چربی محاسبه گردید. افزایش اسیدهای چرب آزاد به عنوان شاخصی برای لیپولیز استفاده شد(۴).

سایر آزمایشات شیمیایی شامل، اندازه گیری pH (۸)، اسیدیته (۸) و ماده خشک (۷) بودند.

[1] : Head Space

[2] : NCN = Non Casein Nitrogen

[3] : NPN = Non Protein Nitrogen

Archive of SID

www.SID.ir

۲-۴- ارزیابی حسی

آزمون مورد استفاده جهت ارزیابی حسی نمونه ها در این طرح، آزمون هدونیک پنج نقطه ای بود. جهت مقایسه و ارزیابی ویژگیهای حسی نمونه شیر شاهد (پس از فرایند حرارتی پاستوریزاسیون) و نمونه های فرایند شده با CO_2 (پس از فرایند حرارتی پاستوریزاسیون و خارج کردن گاز با همزدن ملایم در فشار اتمسفر) نمونه های شیر در روزهای ۱ و ۵ در اختیار هفت عضو پانل ارزیابی حسی (ارزیاب ها تعلیم ندیده بودند اما به خوبی توانایی درک و تفاوت بین حدود دوست داشتن را داشتند) قرار گرفتند (۱).

۲-۵- طرح آماری

برای ارزیابی تأثیر CO_2 و اثر زمانهای مختلف بر روی صفات مورد مطالعه از طرح اسپلیت پلات در زمان با طرح پایه بلوکهای کامل تصادفی[1] در سه تکرار (در سه روز مختلف بعنوان بلوک) استفاده گردید. در این طرح فاکتور اصلی ۴ سطح مختلف CO_2 و فاکتور فرعی شامل ۴ زمان نمونه برداری بود، تأثیر این دو فاکتور به ترتیب تحت اسامی فاکتور A (A_1 به نمونه شاهد، A_2، A_3 و A_4 به ترتیب به نمونه های تیمارشده با CO_2 تا pH های ۶/۴، ۶/۲ و ۶ اطلاق گردید) و فاکتور B (B_1 به روز اول، B_2 به روز پنجم، B_3 به روز هشتم و B_4 به روز دهم اطلاق شد) بر روی پارامترهای مهم کیفی شیر مورد بررسی قرار گرفته است. مقایسه میانگین های مورد نیاز با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. برای تجزیه داده ها و رسم نمودارها از نرم افزارهای کامپیوتری MSTAT-C ، MINITAB و EXCEL استفاده شد.

[1] : Randomized complete block design

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ارزیابی شیمیایی

۳-۱-۱- pH واسیدیته قابل تیتراسیون

تجزیه واریانس pH و اسیدیته نمونه های شیر شاهد و فرایند شده با CO_2 نشان داد که اثر متقابل سطوح مختلف تیمارهای CO_2 و زمان های نمونه برداری تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۱٪ داشت، به عبارت دیگر تأثیر تیمارهای CO_2 بر pH و اسیدیته طی نگهداری متفاوت بوده است (جدول ۱).

کینگ و مابیت (به نقل از منبع شماره‌ی ۱۷) و ما و همکاران(۱۷)در مطالعات خود در مورد استفاده از CO_2 در افزایش ماندگاری شیر دریافتند که با افزودن CO_2 به شیر pH کاهش و اسیدیته افزایش می یابد. این محققّین ارتباط بین غلظت CO_2 و pH شیر را به عنوان معیاری جهت تعیین سطح CO_2 در شیر مطرح نمودند. آمیگو وهمکاران (به نقل از منبع شماره‌ی ۲۰) در بررسی های خود روی تأثیر CO_2 در افزایش ماندگاری شیر با تنظیم pH شیر توسط CO_2 در۶ و ۶/۲ در فاصله های زمانی ۲۴ ساعت گزارش نمودند که به طور قابل توجهی اثر بازدارندگی این گاز با تنظیم مرتب pH بهبود می یابد، در این کار پژوهشی نیز همانطوریکه قبلاً اشاره شده است تنظیم pH در هر ۲۴ ساعت انجام گرفته بود.

Archive of SID

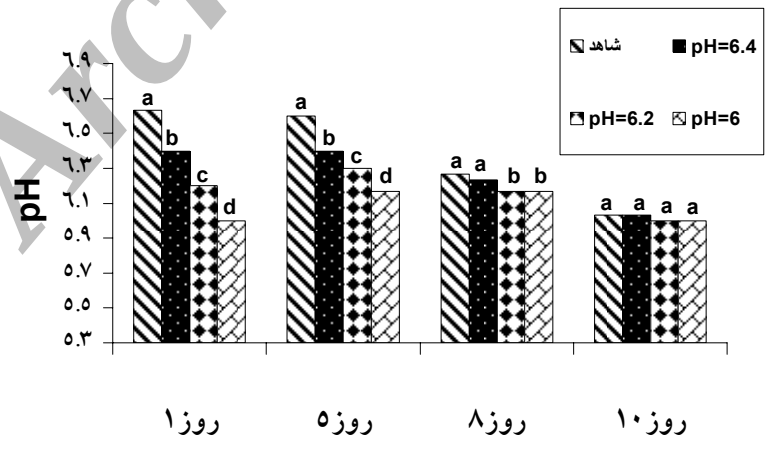
www.SID.ir

جدول ۱- تجزیه واریانس pH، اسیدیته، پروتئولیز و لیپولیز در نمونه شیر شاهد و نمونه های تیمار شده با CO_2

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات شاخص های اندازه گیری شده			
		pH	اسیدیته	٪ (کازئین به پروتئین کل)	٪ (ازت غیر پروتئینی به ازت کل)	لیپولیز
بلوک	۲	۰/۰۰۳ ns	۱/۷۵ ns	۰/۰۰۰۴ ns	۰/۰۱۴ ns	۰/۰۰۳ ns
سطوح CO_2	۳	۰/۲۰۱ **	۵۸/۰۳ ns	۰/۰۰۵ ns	۳/۱۸۱ **	۰/۰۹۴ ns
خطای ۱	۶	۰/۰۰۲	۱/۱۹	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۶	۰/۰۰۱
زمان نمونه برداری	۳	۰/۲۸۳ **	۲۵۶۱/۵۸ **	۰/۰۲۱ **	۱۶/۳۰۳ **	۱/۱۴۹ **
سطوح CO_2 × زمان نمونه برداری	۹	۰/۰۴۳ **	۱۲۳/۸۲ **	۰/۰۰۲ **	۰/۹۵۲ **	۰/۰۲۵ **
بلوک × زمان نمونه برداری	۶	۰/۰۰۳ ns	۱/۷۵ ns	۰/۰۰۰۲ ns	۰/۰۲۹ ns	۰/۰۱ **
خطای ۲	۱۸	۰/۰۰۱	۱/۰۵	۰/۰۰۰۱	۰/۰۲	۰/۰۰۱
C.V. (درصد)		۰/۶۳	۳/۳۴	۰/۷۰	۲/۵۱	۶/۱۷

: معنی دار در سطح احتمال ۱٪** ، غیر معنی دارns:

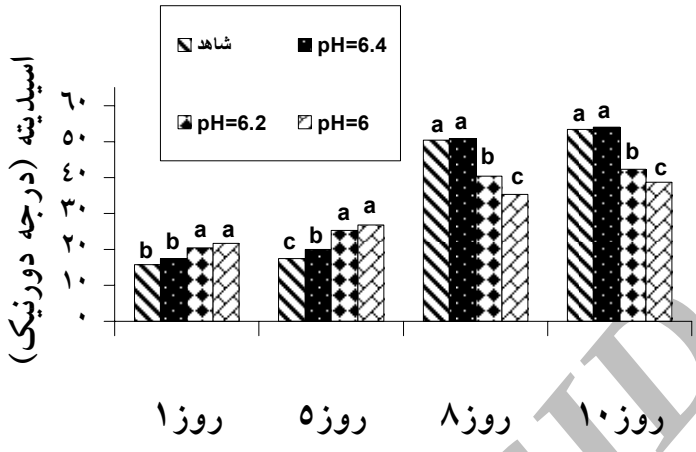
نتایج حاصل از مقایسه میانگین pH و اسیدیته برای مقادیر مختلف CO_2 در شکل های ۱ و ۲ نشان داده شده است. در پنج روز اول نگهداری اختلاف معنی داری بین میانگین pH کلیه تیمارها وجود داشت. در روز ۸، pH نمونه های تیمار شده با CO_2 تا pH برابر ۶ و ۶/۲ اختلاف معنی داری با نمونه شاهد و نمونه تیمار شده با CO_2 تا ۶/۴= pH داشت و در روز ۱۰ اختلاف بین نمونه ها غیر معنی دار بود. شکل ۲ بیانگر اختلاف معنی دار بین اسیدیته نمونه های تیمار شده با CO_2 تا pH برابر ۶ و ۶/۲ با اسیدیته نمونه شیر شاهد و نمونه حاوی CO_2 تا ۶/۴ = pH طی روزهای نگهداری است. در واقع با گذشت زمان به دلیل کنترل رشد باکتریها بواسطه افزودن CO_2 تا pH برابر ۶ و ۶/۲، اسیدیته در سطح پایین باقی می ماند. در حالیکه در نمونه شیرشاهد و نمونه تیمار شده با CO_2 تا ۶/۴ = pH در اثر فعالیت میکروارگانیسم ها و تخمیر لاکتوز، اسیدیته افزایش چشمگیری نشان داده است.



Archive of SID

www.SID.ir

شکل۱- مقایسه میانگین pH برای سطوح A (مقادیر مختلف CO_2) در سطوح مختلف B (زمان های نمونه برداری) در نمونه های شیر آزمایشی



شکل۲- مقایسه میانگین اسیدیته برای سطوح A (مقادیر مختلف CO_2) در سطوح مختلف B (زمان های نمونه برداری) در نمونه های شیر آزمایشی

pH نمونه شاهد و نمونه حاوی CO_2 تا pH = ۶/۴ در ۵ روز اول نگهداری تقریباً ثابت بودند، در حالیکه pH نمونه های تیمار شده با CO_2 تا pH برابر ۶ و ۶/۲ در طی این ۵ روز افزایش یافت. پس از ۱۰ روز نگهداری در دمای $4\ ^{o}C$ pH نمونه شیر شاهد ۰/۶ واحد و نمونه های حاوی CO_2 تا pH برابر ۶/۴ و ۶/۲ به ترتیب در حدود ۰/۴ و ۰/۲ واحد افت کردند در حالیکه pH در نمونه شیر تیمار شده با CO_2 تا pH = ۶ به مقدار اولیه برگشت. در مطالعه ای که توسط رائوس ماددیدو و همکاران (۲۰) انجام شد، اسیدیته و pH در شیر شاهد تا روز سوم نگهداری ثابت ماند و در روز ۴ ام pH کاهش یافت در حالیکه در شیر تیمار شده با CO_2، pH ثابت گزارش گردید. در مطالعات ما و همکاران (۱۸) نیز pH در شیرهای تیمار شده با CO_2 در ۷ روز اول نگهداری افزایش یافت و از روز ۷ تا ۲۱ ثابت ماند و در نمونه شاهد کاهش از خود نشان داد. آنها گزارش کردند که طی نگهداری یک کاهش در حال پیشرفت در غلظت CO_2 در نمونه های تیمار شده با CO_2 مشاهده می شود که میزان آن طی زمان در کلیه تیمارها مشابه است.

با حذف CO_2 در شیرهای تیمار شده با آن، در اثر هم زدن (در فشار اتمسفر)، افزایش در pH و کاهش در اسیدیته نمونه ها مشاهده شد، اما این پارامترها به مقادیر اولیه برنگشتند. رائوس مادییدو و همکاران (۱۸ و ۱۹) نیز به نتایج مشابهی دست یافتند، بطوریکه این محققان گزارش نموده اند با وجود اینکه حذف گاز باعث افزایش در pH و کاهش در اسیدیته نمونه های شیر می گردد اما مقادیر pH و اسیدیته نمونه های تیمار شده با CO_2 بعد از خروج گاز به ترتیب پایین تر و بالاتر از نمونه شاهد باقی می مانند، که آنرا با خارج نشدن کامل CO_2 یا ایجاد تغییرات در تعادل املاح شیر مرتبط دانسته اند.

Archive of SID

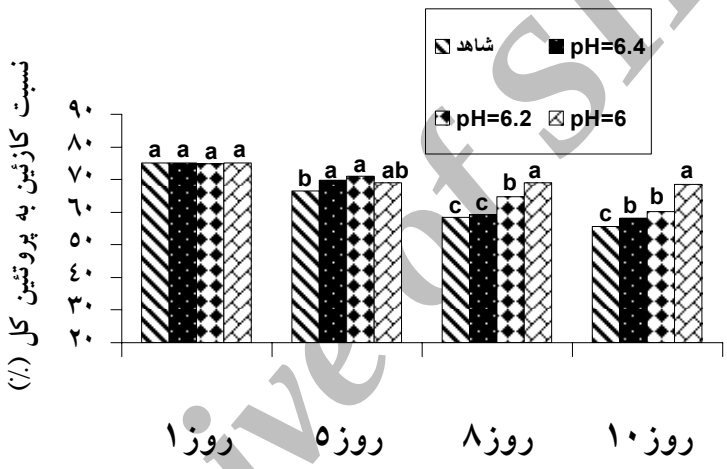
www.SID.ir

۳-۱-۲- پروتئولیز

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس مشخص شد که اثر متقابل بین تیمارهای CO_2 و زمان های نمونه برداری در سطح احتمال ۱درصد معنی دار بود که علت آن را می توان به تأثیر متفاوت تیمارهای CO_2 بر واکنش پروتئولیز در زمانهای مختلف نمونه برداری نسبت داد (جدول ۱).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین پروتئولیز برای مقادیر مختلف CO_2 در شکل های ۳ و ۴ آمده است.

نتایج شکل ۳ نشان می دهد که در روز ۸ نگهداری، بین نمونه شیر شاهد و نمونه تیمار شده با CO_2 تا pH = ۶/۴ با نمونه های تیمار شده با CO_2 تا pH ۶/۲ و ۶ از لحاظ نسبت کازئین به پروتئین کل اختلاف معنی داری وجود داشت. همچنین در روز ۱۰ نگهداری نمونه تیمار شده با CO_2 تا pH = ۶ اختلاف معنی داری با سایر تیمارها داشت. از روز ۵ تا ۱۰ نگهداری، در کلیه تیمارها کاهش قابل توجهی در نسبت کازئین به پروتئین کل اتفاق افتاد، در حالیکه برای نمونه تیمار شده با CO_2 تا pH = ۶ پروتئولیز قابل توجهی مشاهده نگردید.



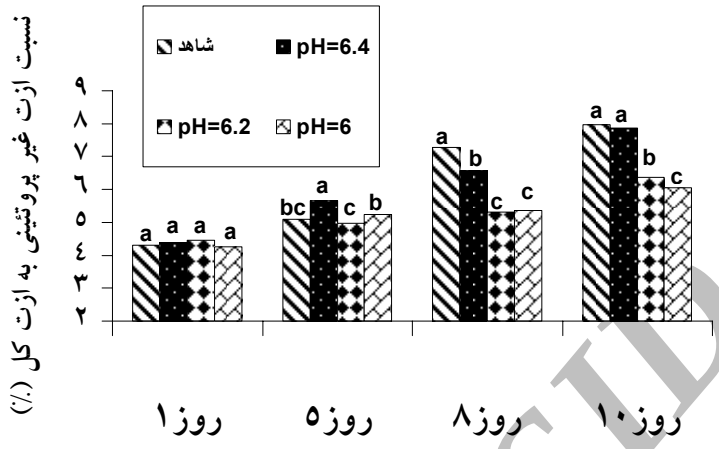
شکل۳- مقایسه میانگین درصد نسبت مقدار کازئین به پروتئین کل برای سطوح A (مقادیر مختلف CO_2) در سطوح مختلف B (زمان های نمونه برداری) در نمونه های شیر آزمایشی

همانطوریکه شکل ۴ نشان می دهد از روز ۵ تا ۱۰ نگهداری، در نمونه شیرشاهد و نمونه فرایند شده با CO_2 تا pH = ۶/۴ افزایش قابل ملاحظه ای در ازت غیر پروتئینی مشاهده شد در حالیکه در نمونه های فرایند شده با CO_2 تا pH های برابر ۶ و ۶/۲ پروتئولیز به مراتب کمتر بود. در روز ۸ نگهداری بین نمونه شیر شاهد و نمونه های تیمار شده با CO_2 از لحاظ نسبت ازت غیر پروتئینی به ازت کل اختلاف معنی داری وجود داشت (شکل۴)، همچنین در روز ۱۰ اختلاف معنی داری بین نمونه شیر شاهد و نمونه تیمار شده با CO_2 تا pH=۶/۴ با نمونه های تیمار شده با CO_2 تا pH های برابر ۶ و ۶/۲ از لحاظ عامل مزبور مشاهده می شود بطوریکه با افزایش غلظت CO_2 نسبت ازت غیر پروتئینی به ازت کل در سطح پایین تری حفظ شد. این نتایج بیانگر تأثیر قابل توجه تیمارهای اخیر در کاهش پروتئولیز در طی

Archive of SID

www.SID.ir

دوره نگهداری است. ما و همکاران (۱۷) در تحقیقاتشان طی ۱۴ روز نگهداری شاهد توسعه طعم های نا مطلوب حاصل از افزایش پروتئولیز در نمونه شیر شاهد بودند در حالیکه پروتئولیز با افزودن ppm ۱۵۰۰ CO_2 به دلیل بازداری از رشد باکتریهای تولید کننده آنزیم های پروتئولیتیک به طور معنی داری کنترل شد.



شکل۴- مقایسه میانگین درصد نسبت مقدار ازت غیر پروتئینی به ازت کل برای سطوح A (مقادیر مختلف CO_2) در سطوح مختلف B (زمان های نمونه برداری) در نمونه های شیر آزمایشی

ما و همکاران (۱۹) در مطالعات خود گزارش کردند که در نمونه شیر شاهد با شمارش یاخته های پیکری پایین نسبت کازئین به پروتئین کل از ۸۲ درصد در روز اول به ۶۶ درصد در روز ۲۱ام کاهش یافت و در شیر حاوی ppm ۱۵۰۰ CO_2 (pH = ۶/۲) پروتئولیز قابل توجهی در طی دوره نگهداری مشاهده نشد و نسبت کازئین به پروتئین کل در ۸۲ درصد حفظ شد. در نمونه شاهد با شمارش یاخته های پیکری بالا نیز پروتئولیز قابل توجهی اتفاق افتاد ، در حالیکه در شیرهای حاوی ppm ۱۵۰۰ CO_2 نسبت کازئین به پروتئین کل به طور معنی داری از ۷۹/۸ در روز اول به ۷۷/۵ درصد در روز ۲۱ کاهش یافت. در نهایت این محققان چنین نتیجه گرفتند که ppm ۱۵۰۰ CO_2 به طور معنی داری پروتئولیز را در هر دوی نمونه های شیر با شمارش یاخته های پیکری بالا و پایین کاهش داده است که احتمالاً به دلیل بازداری از رشد باکتریهای تولید کننده آنزیم های پروتئولیتیک است.

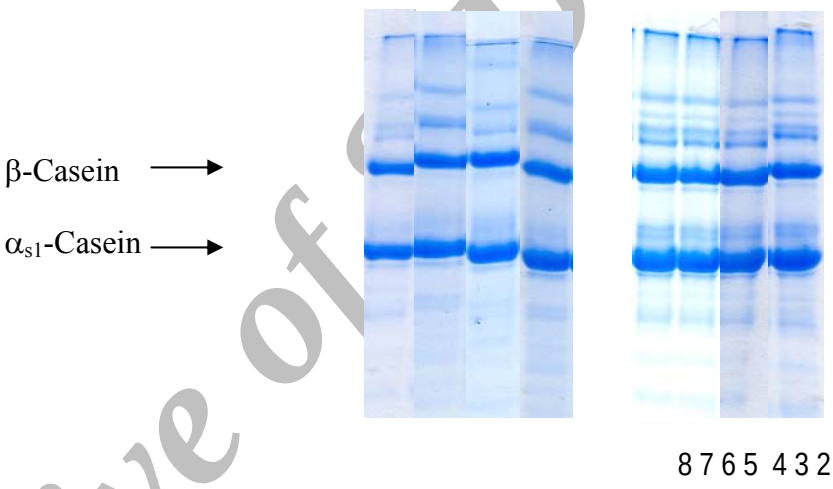
همانطور که در نتایج حاصل از این پژوهش ملاحظه گردید با افزایش غلظت CO_2 پروتئولیز کمتری مشاهده شده است. ولی در نتایج ما و همکاران (۱۹) سطوح پروتئولیز در نمونه های شیر با شمارش یاخته های پیکری متفاوت بالا و پایین با استفاده از سطوح مختلف CO_2 شامل ppm ۵۰۰ (pH = ۶/۵)، ۱۰۰۰ (pH = ۶/۳) و ۱۵۰۰ (pH =۶/۲) مشابه یکدیگر و همگی کمتر از نمونه شاهد گزارش گردیده است، این پژوهشگران از آزمایشات خود چنین نتیجه گرفتند که با افزایش غلظت CO_2 و یا کاهش بیشتر pH پروتئولیز کمتری اتفاق نیافتاده است.

شکل ۵ الکتروفورو گرام نمونه های مختلف شیر را از روز ۸ تا ۱۰ نگهداری نشان می دهد (در روزهای ۱ و ۵ نگهداری اختلافی بین نمونه های مختلف شیرمشاهده نشده

Archive of SID

www.SID.ir

است). الکتروفوروگرام ها نتایج حاصل از آزمایشات مربوط به پروتئولیز را تأیید می کنند. همانطور که در شکل ۵ مشخص شده است، پروتئین های α_{S1} کازئین و β کازئین تحت تاثیر قرار گرفتند و هیدرولیز شدند، که در نتیجه پروتئولیز شدیدتر در نمونه شیر شاهد و نمونه تیمار شده با CO_2 تا pH=۶/۴ (در مقایسه با نمونه های تیمار شده با CO_2 تا pH های برابر ۶ و ۶/۲) در روزهای ۸ و ۱۰ نگهداری، تجزیه وسیع تر این پروتئین ها مشاهده می گردد. رائوس ماددیدو و همکاران (۲۰) در نتایج خود در خصوص نتایج حاصل از الکتروفورز نمونه های شیر خام شاهد و تیمار شده با CO_2 تا pH برابر ۶ و ۶/۲ پس از ۴ روز نگهداری در دمای ۴ °C گزارش دادند که هیچ اختلاف معنی داری بین تیمارها وجود ندارد.



شکل ۵- الکتروفوروگرام نمونه های شیر از روز ۸ تا ۱۰ نگهداری

باند ۱ و ۲ به ترتیب: نمونه شاهد در روزهای ۸ و ۱۰
باند ۳ و ۴ به ترتیب: pH=۶/۴ در روزهای ۸ و ۱۰
باند ۵ و ۶ به ترتیب: pH= ۶/۲ در روزهای ۸ و ۱۰
باند ۷ و ۸ به ترتیب: pH =۶ در روزهای ۸ و ۱۰

۳-۱-۳- لیپولیز

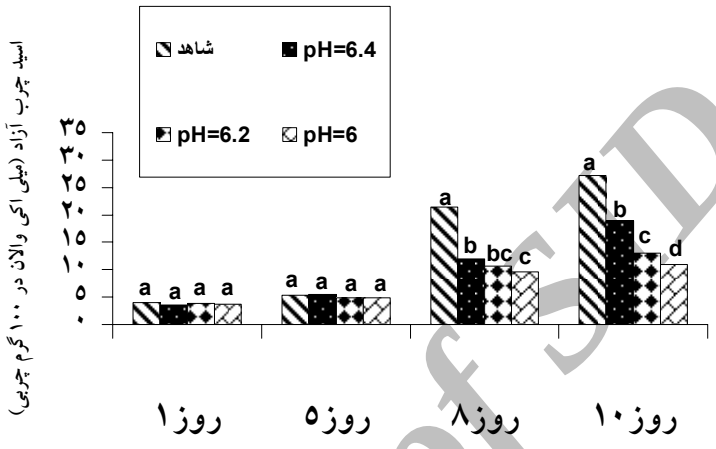
لازم به توضیح است که میانگین مقدار چربی نمونه های شیر خام شاهد و تیمار شده با CO_2 در حدود ۳/۴۱ درصد بود. بنا بر نتایج حاصل از تجزیه واریانس مشخص شد که اثر متقابل تیمارهای CO_2 و زمان های نمونه برداری در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود که بیانگر تأثیر متفاوت تیمارهای CO_2 بر واکنش لیپولیز طی نگهداری است.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین لیپولیز برای مقادیر مختلف CO_2 در شکل ۶ نشان داده شده است. همانطور که از نتایج شکل برمی آید در ۵ روز اول نگهداری اختلاف بین تیمارها غیر معنی دار بود، در روز ۸ نگهداری نمونه های تیمار شده با CO_2 اختلاف معنی داری با نمونه شیر شاهد داشتند و در روز ۱۰ نگهداری اختلاف معنی داری بین کلیه تیمارها مشاهده می شود که این نتایج را می توان به تأثیر قابل ملاحظه CO_2 در کاهش لیپولیز طی دوره نگهداری

Archive of SID

www.SID.ir

نسبت داد که با افزایش غلظت آن سطح اسیدهای چرب آزاد تولید شده پایین تر باقی مانده است. در نتایج ما و همکاران (۱۷) در نمونه شاهد با شمارش یاخته های پیکری بالا و پایین افزایش معنی داری در غلظت اسیدهای چرب آزاد بین روزهای ۱۴ و ۲۱ نگهداری مشاهده شده است، اما با افزودن ppm ۱۵۰۰ CO_2 (pH = ۶/۲) به شیر سطح اسیدهای چرب آزاد طی ۲۱ روز نگهداری پایین باقی ماند. آنها گزارش دادند که افزودن ppm ۱۵۰۰ CO_2 به شیر خام لیپولیز را طی ۲۱ روز نگهداری به تأخیر انداخته است.



شکل۶- مقایسه میانگین لیپولیز برای سطوح A (مقادیر مختلف CO_2) در سطوح مختلف B (زمان های نمونه برداری) در نمونه های شیر آزمایشی

۳-۲- ارزیابی حسی

داده های حاصل از آزمون حسی را به مقیاس های کمی قابل سنجش تبدیل نموده و پس از طبقه بندی داده ها، تجزیه آماری صورت گرفت و نتایج نشان داد که با تزریق CO_2 به شیر خام تغییری در خصوصیات حسی شیر ایجاد نمی شود. رائوس ماداییدو و همکاران (۲۰) در تحقیقات خود تفاوت قابل ملاحظه ای در خصوصیات حسی نمونه های تیمارشده با CO_2 و نمونه شیر شاهد گزارش ندادند و در نهایت چنین نتیجه گرفتند که تیماردهی شیر خام با CO_2 با حداقل اثرات منفی بر روی ویژگیهای حسی و بیوشیمیایی شیر همراه است.

٤- نتیجه گیری

نتایج حاصل از بررسی تأثیر CO_2 بر روی خواص کیفی شیر خام در این کار پژوهشی حاکی از آن است که کاربرد CO_2 تأثیر مثبتی در خواص کیفی شیر خام سرد شده دارد بطوریکه با افزودن CO_2 تا pH های ۶ و ۶/۲ به شیر خام، اسیدیته در سطح پایین تری باقی ماند. نتایج حاصل از بررسی واکنش پروتئولیز بیانگر تأثیر مثبت CO_2 در کاهش واکنش های پروتئولیز شیر خام سرد شده است و افزایش در غلظت آن با کاهش بیشتر در پروتئولیز طی نگهداری همراه بود. همچنین افزودن CO_2 به شیر خام سرد شده منجر به کاهش قابل ملاحظه واکنش های لیپولیز گردید و طی نگهداری بین نمونه شیر شاهد و نمونه های تیمار شده با

Archive of SID

www.SID.ir

CO_2 اختلاف معنی داری مشاهده شد که با افزایش درغلظت CO_2 سطح اسیدهای چرب آزاد تولید شده پایین تر باقی ماند. کاربرد CO_2 در شیر خام سرد شده، خصوصیات حسی و ارگانولپتیکی آن را تحت تأثیر قرار نمی دهد و هیچ تفاوت معنی داری بین خصوصیات حسی نمونه شیر شاهد و نمونه های تیمار شده با CO_2 مشاهده نشد. با توجه به آثار مثبت و مزایایی که استفاده از CO_2 با کاهش واکنش های پروتئولیز و لیپولیز در پی دارد، به عنوان روش مناسبی جهت بهبود کیفیت شیر خام سرد شده قابل توصیه است و امید است با ادامه تحقیقات در راستای کاربرد CO_2 تحت فشار در حجم های وسیع تر و در مقیاسهای صنعتی و پس از تکمیل مطالعات در این زمینه، استفاده از CO_2 روش مناسبی برای صنایع شیر کشورمان باشد.

فهرست منابع

۱. پایان، ر. ۱۳۸۲. مبانی کنترل کیفیت در صنایع غذایی. ویرایش سوم. نشر آییژ.

۲. حسینی، ز. ۱۳۶۹. روشهای متداول در تجزیه مواد غذایی. انتشارات دانشگاه شیراز.

۳. عزتی، ر. ۱۳۸۲. بررسی تأثیرتعداد باکتریهای سرماگرا روی خواص فیزیکی ، شیمیایی و بازده پنیر سفید سنتی و اولترافیلتراسیون. پایان نامه کارشناسی ارشد، گروه صنایع غذایی ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۴. علیزاده، م. ۱۳۷۹. مقایسه مایه پنیر تولید شده از موکور می هی با مایه پنیر حیوانی و مایه پنیر تجاری رنیلاز. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران.

۵. فرخنده، ع. ۱۳۷۱. روشهای آزمایش شیر و فرآورده های آن. جلد دوم. چاپ دوم. انتشارات دانشگاه تهران.

۶. مرتضوی، س.ع، م، قدس روحانی و ح، جوینده. ۱۳۷۵. تکنولوژی شیر و فرآورده های لبنی (ترجمه). چاپ دوم. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

۷. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. ۱۳۷۱. شیر، روش تعیین ماده خشک شیر، استاندارد ملی ایران شماره ۶۳۷.

۸. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. ۱۳۷۳. شیر و فرآورده های آن، روش تعیین اسیدیته کل و pH یا تراکم یونهای H ، استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲.

9. Andrew, A. T. 1983. Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins. Journal of Dairy Research, 50 : 45-55.
10. Anonymous. 1999. CO2 can extend shelf life of dairy foods. http://www. Extraordinary.com/
11. Barbano, D. M., Y, Ma and M.V, Santos. 2006. Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life. Journal of Dairy Science, 89: 15-19.
12. Champagne, C. P., D, St-Gelais and A, de Candolle. 1998. Acidification rates and population ratios of lactic starters in carbonated milk. Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie, 2 : 100-106.
13. Chen, J. H and J. H, Hotchkiss. 1991. Effect of dissolved CO_2 on the growth of psychrotrophic organisms in cottage cheese. Journal of Dairy Science, 74: 2941-2945.
14. De la Fuente, M. 1998. Changes in the mineral balance of milk submitted to technological treatment. Food Science and Technology, 9 : 281-288.
15. IDF. 1964. Determination of the protein content of processed cheeses product. IDF standard 25. Brussels, Belgium : International Dairy Federation.
16. Kuchroo, C. N and P. F, Fox. 1982. Soluble nitrogen in cheddar cheese : Comparison of extraction procedures. Milchwissenschaft, 37 : 331-335.

Archive of SID

www.SID.ir

17. Ma, Y., M, Barbano., J. H, Hotchkiss., S, Murphy and J. M, Lynch. 2001. Impact of CO_2 addition to milk on selected analytical testing method. Journal of Dairy Science, 84 : 1959-1968.
18. Ma, Y and M, Barbano. 2003. Milk pH as a function of CO_2 concentration, temperature, and pressure in a heat exchanger. Journal of Dairy Science, 86 : 3822-3830.
19. Ma, Y., M, Barbano and M, Santost. 2003. Effect of CO_2 addition to raw milk on proteolysis and lipolysis at 4°C. Journal of Dairy Science, 86 : 1616-1631.
20. Raus-Madiedo, P., J. C, Bada-Gancedo., E, Fernandez-Garcia., D, Gonzalez de Llano and C, de los Reyes-Gavilan. 1996. Preservation of the microbiological and biochemical quality of raw milk by CO_2 addition. Journal of Food Protection, 59 : 502-508.
21. Ruas- Madiedo, P., J. C, Bada-Gancedo., L, Alonso and C, de los Reyes-Gavilan. 1998. Afuega'l pitu cheese quality : CO_2 Addition to refrigerated milk in acid- coagulated cheesemaking. International Dairy Journal, 8 : 951-958.
22. Ruas-Madiedo, P., L, Alonso., T, Delgado., J. C, Bada-Gancedo and G. C, de los Reyes-Gavilan. 2002. Manufacture of Spanish hard cheeses from CO_2-treated milk. Food Research International, 35 : 681-690.
23. Santos, M. V., Y, Ma., Z, Caplan and M, Barbano. 2003. Sensory threshold of off-flavors caused by proteolysis and lipolysis in milk. Journal of Dairy Science, 86 : 1601-1607.
24. Shalabi, S. I and P. F, Fox. 1987. Electrophoretic analysis of cheese, comparison of methods. Irish Journal of Food Science and Technology, 11 : 135-151.

Archive of SID

www.SID.ir

Treatment of refrigerated raw milk with Co_2 : Effect on proteolysis, Lipolysis and organoleptic characteristics

Azadeh Soleymani Vafa[1], Javad Hesari[2*], Adel Ahmadi Zenouz[3]

Abstract

The objective of this study was to determine the effect of CO_2 treatment on proteolysis, lipolysis and quality characteristics of refrigerated raw milk. Four treatments of raw milk were selected (controlled milk (milk without any special treatment) and milks treated with CO_2 until pH = 6.4, 6.2, 6). All experiments were triplicate. Samples were stored at 4˚C for 10 days and were analyzed on 1, 5, 8, 10 day for chemical evaluations. Statistical evaluation of the effects of treatments was performed using of split plot experiment with randomized complete block design (RCBD). Statistical analysis, indicated that no significant proteolysis and lipolysis were observed during 10 days of storage using addition of CO_2 to pH = 6, 6.2 $_{and}$ an increase in CO_2 concentration did further reduce proteolysis and lipolysis. The sensory panel did not detect significant difference between CO_2 treated milks and fresh milk. The research revealed that the best treatment was using of CO_2 to pH = 6, although in the most cases there was no significant difference between pH 6.2 and 6.

Key words: Raw milk, Co2, proteolysis, lipolysis, preservation

Archive of SID

* Corresponding Author Email: jhesari@tabrizu.ac.ir

1 - Former Msc student of Department of Food Science and Technology; Faculty of Agriculture; University of Tabriz; Tabriz; Iran.

2 - Assistant Prof. of Department of Food Science and Technology; Faculty of Agriculture; University of Tabriz; Tabriz;Iran.

3 - Associate Prof. of Department of Food Science and Technology; Faculty of Agriculture; University of Tabriz; Tabriz; Iran.

www.SID.ir