بررسی تاثیر سطوح مختلف شمارش سلول‌های سوماتیک شیر گاو و آنزیم لیپاز بر ترکیب اسیدهای چرب آزاد و ویژگی‌های حسی پنیر سفید آب نمکی

حامد زارعی[1*] ،علیرضا شهاب لواسانی[2]

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲. مرکز تحقیقات فناوری های نوین تولید غذای سالم، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

* **نویسنده مسئول:** *zarei1361@yahoo.com*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۰۵

چکیده

بیماری ورم پستان نوعی عفونت غدد پستانی ناشی از باکتری‌های عفونت زا می‌باشد. تعداد سلول‌های سوماتیک، یکی از شاخص‌های مهم ارزیابی کیفیت و سلامت شیر است. بنابراین هدف از این تحقیق ارزیابی تاثیر سه سطح سلول سوماتیک در شیر خام و نیز آنزیم لیپاز بر اسیدهای چرب ازاد پنیر سفید آب نمکی و خصوصیات حسی (طعم و بافت) آن در طی یک دوره نگهداری ۷۰روزه می‌باشد. سه سطح سلول سوماتیک (بالا- متوسط- پایین) و یک سطح آنزیم لیپاز (۲ درصد) و سه زمان مشخص از دوره رسیدن پنیر (۵، ۳۵و ۷۰ روز) در نظر گرفته شد. در ابتدا سه گروه از گاوهای شیری انتخاب شد تا شیر با سطح سلول سوماتیک پایین (۱۰۰۰۰۰ cell/ml>) و متوسط (۴۵۰۰۰۰cell/ml>) و بالا (۱۰۰۰۰۰۰cell/ml>) در شش وت برای ساخت پنیر استفاده شود. به سه وت ۲ درصد آنزیم لیپاز افزوده شد در حالی‌که سه وت دیگر فاقد آنزیم لیپاز افزودنی بود. آزمایش به صورت طرح کاملا تصادفی شامل ۶ تیمار در ۳ تکرار در سه زمان مشخص از دوره رسیدن انجام شد. اغلب اسیدهای چرب آزاد تا روز ۳۵ از دوره رسیدن افزایش و سپس تا انتهای دوره رسیدن کاهش نشان داد. ارزیابی حسی تیمارها از نظر عطر و طعم و بافت نشان داد که امتیاز حسی عطر و طعم و بافت تیمارها در طی دوره رسیدن ۷۰ روزه کاهش یافت. بر طبق نتایج حاصله تیمار T_1 (شاهد) به عنوان تیمار برتر بالاترین مقبولیت حسی را داشت و افزایش تعداد سلول‌های سوماتیک در شیر علاوه بر افت راندمان سبب کاهش کیفیت حسی محصول نهایی نیز گردید.

کلید واژه‌ها: شمارش سلول‌های سوماتیک، پنیر سفید آب نمکی، اسیدهای چرب آزاد، خصوصیات حسی ، لیپولیز.

مقدمه

پنیر سفید آب نمکی یکی از محصولات بسیار مهم در دنیا به شمار می رود و در رژیم غذایی ازجایگاه مهمی برخوردار است و مصرف سالانه هر فرد در حدود ۵/۴ کیلوگرم می‌باشد (Shahab Lavasani et al., 2012). درصنعت سطح دوره رسیدن پنیرهای آب نمکی ۹۰-۴۵ روز است با این حال تمام هدف و تلاشهای مجامع علمی دنیا این است که این زمان را به دلایل اقتصادی کوتاه تر نمایند. پنیر سفید آب نمکی مثل دیگر پنیرهایی که رسیده هستند نیاز به دوره رسیدن دارد تا ویژگی‌های حسی آنها مطلوب‌تر شود. در شرایط آب و هوای گرم، نگهداری پنیر در آب نمک به منظور جلوگیری از آلودگی های میکروبی ضروری است. در واقع ویژگی‌های خاص پنیر آب نمکی در شرایط آب نمک گذاری بهبود میابد. ویژگی‌های شیمیایی، فیزیکی و حسی این نوع پنیر به وسیله فرآوری کردن و شرایط محیطی کنترل می‌شود (Alizadeh et al., 2006). رسیدن پنیر یکسری واکنش بیوشیمیایی است و تجزیه ترکیبات شیر توسط آنزیم ها و طی واکنش های گلیکولیز، لیپولیز و پروتئولیز صورت می گیرد. میکروارگانیسم‌های زیادی در پنیر وجود دارد که در طی رسیدن، مقدار و محصولات تولیدی حاصل از آنها تغییر می‌کند . لیپولیز تری گلیسیریدهای شیر در طی رسیدن یکی از مهمترین تغییرات بیوشیمیایی است که بر ویژگی‌های حسی پنیر تاثیر دارد. عامل مهم لیپولیز، آنزیم‌های لیپولیتیک موجود در شیر و آنزیم های باقیمانده از میکروارگانیسم هایی است که در اثر پاستوریزاسیون غیر فعال شده‌اند.

www.SID.ir

Archive of SID

این آنزیم‌ها با تاثیر بر تری گلیسیرید های شیر موجب آزادسازی اسیدهای چرب آزاد می‌گردد. که این اسیدهای چرب آزاد نقش مهمی در توسعه طعم و ویژگی‌های ارگانولپتیکی محصول نهایی دارد (Alizadeh et al., 2006). بیماری ورم پستان یکی از شایع ترین عفونت های غدد پستانی است که تحت تاثیر این بیماری سلول های سوماتیک در شیر افزایش می‌یابد. هنگامی که دام به بیماری ورم پستان مبتلا می‌گردد بازده شیر کاهش یافته و ترکیبات شیرتغییر می کند. شیری که دارای سلولهای سوماتیک بالاتر است دارای غلظت بالاتری از آنزیم های آندوژن از جمله پروتئاز می‌باشد و متعاقباً فعالیت های آنزیمی نیز افزایش می‌یابد. این تغییرات کیفیت محصول نهایی را تحت تأثیر قرار می دهد و با این تغییرات سود و منافع دامداری و صنایع لبنی کاهش می‌یابد. همچنین در شیر حاوی سلول‌های سوماتیک بالا، زمان انعقاد شیر افزایش یافته و مقدار پروتئین به دلیل نفوذپذیری عروق خونی نسبت به پروتئین های سرمی افزایش می-یابد و مقدار چربی کاهش می‌یابد و رطوبت پنیر نیز افزایش یافته و بالطبع بازده پنیر سازی کاهش می‌یابد (Mazal et al., 2002). با توجه به مشکلات رسیدن طولانی مدت پنیرهای سفید آب نمکی که سبب تحمیل هزینه‌های اضافی از جمله نگهداری در سردخانه می شود و از طرفی به دلیل رسیدن به یک ویژگی مطبوع و دلپذیر در کوتاه مدت نیازمند بهره گیری از روش‌های شدت بخشیدن به فرایند رسیدن پنیرهای سفید آب نمکی هستیم. روش‌های تسریع رسانیدن پنیر بسیار متعدد هستند و هر کدام نیز دارای مزایا و محدودیت های مخصوص به خود می‌باشند. از جمله افزایش دما، افزودن آنزیم لیپاز و پروتئاز، استفاده از کشت‌های کمکی و غیره. یکی از مطلوب‌ترین روش‌ها که تاثیر مهمی بر ویژگی‌های ارگانولپتیکی پنیرهای سفید آب نمکی دارد استفاده از آنزیم لیپاز میکروبی می‌باشد که بالطبع با افزودن آن به شیر پنیرسازی می‌توان درکوتاه مدت به ویژگی‌های ممتاز ارگانولپتیکی عامه پسند پنیرهای سفید آب نمکی دست یافت. این آنزیم با هیدرولیز تری گلیسریدهای موجود در پنیر و تبدیل آن به اسیدهای چرب آزاد و گلیسرول و در نهایت تغییر و تبدیل اسیدهای چرب آزاد به سایر ترکیبات موثر در طعم در ایجاد طعم خاص پنیر نقش مهمی را ایفا می کند که البته با توجه به این‌که شیر مورد استفاده در تولید پنیرهای سفید آب نمکی شیر خام می‌باشد حاوی درصدی از آنزیم های لیپاز ناشی از فلور طبیعی شیر می‌باشد که با بالا بردن غلظت آن می‌توان تا حدی واکنش‌های رسیدن پنیر خصوصاً لیپولیز را تشدید کرد. با توجه به اینکه تاکنون به رغم گستردگی تولید و مصرف پنیر تحقیقات همه جانبه‌ای در خصوص بررسی تأثیر سلول‌های سوماتیک و آنزیم لیپاز بر فر ایند لیپولیز صورت نگرفته است بنابراین هدف از این تحقیق بررسی ترکیب اسیدهای چرب آزاد در پنیرهای تولید شده دارای سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک و آنزیم لیپاز می باشد .

روش کار

مواد لازم جهت تولید پنیر سفید آب نمکی

شیر

از بین گاوهای شیری یک دامداری تعداد ۲۰ راس گاو هلشتاین در اواسط دوره شیر دهی انتخاب شدند و در طی ده روز تزریق آنتی‌بیوتیک نداشتند و از نظر سن، شرایط تغذیه ای و تعداد زایمان دارای شرایط یکسان بودند. شیر هر کارتیه به طور جداگانه نمونه برداری شد و پس از تعیین شمار سلول‌های سوماتیک به وسیله دستگاه فوسوماتیک (فوس- دانمارک) کارتیه ها در سه سطح طبقه بندی شدند و سه نوع شیر با تعداد سلول-های سوماتیک پایین (<۱۰۰۰۰۰cell/ml) و تعداد سلول سوماتیک متوسط (<۴۵۰۰۰۰cell/ml) و تعداد سلول سوماتیک بالا (>۱۰۰۰۰۰۰cell/ml) به تاریخ

www.SID.ir

روز از دامداری صنعتی مورد تایید شبکه دامپزشکی و سازمان غذا و دارو انتخاب و تهیه شد.

از نظر کیفی شیر حاوی کمتر از (<۱۰۰۰۰۰cell/ml) سلول سوماتیک مطلوب شناخته می‌شود.

جدول ۱- مشخصات شیر مصرفی جهت تولید پنیر سفید آب نمکی

نوع شیر	اسیدیته g/100g	درصد چربی	درصد پروتئین	درصد ماده خشک
شیر با تعداد سلول سوماتیک پایین	۰/۱۳۹	۳/۵۷	۳/۱۳	۱۲/۰۶
شیر با تعداد سلول سوماتیک متوسط	۰/۱۴۸	۳/۳۸	۳/۴۵	۱۲/۳۶
شیر با تعداد سلول سوماتیک بالا	۰/۱۳۹	۳/۹۶	۳/۳۵	۱۲/۷۹

مایه پنیر ، لیپاز و نمک

قرص مایه پنیر انزیمکس تولید شرکت آنزیم های صنعتی ایران (مواد اولیه از اروپا) وآنزیم لیپاز از شرکت SIGMA آمریکا و از کپک آسپرژیلوس نایجر[1] است همچنین از نمک تصفیه شده با نام تجاری پوسان محصول شرکت پارس نمک کاوه ایران استفاده شد.

روش تولید پنیر سفید آب نمکی

شیر مورد استفاده در تولید پنیر را ابتدا صاف نموده و سپس مطابق با شکل ۱ پنیر سفید آب نمکی حاوی آنزیم لیپاز از شیر حاوی سطوح مختلف سلولهای سوماتیک تهیه شد.

فلوچارت تولید پنیر سفید آب نمکی با افزودن آنزیم لیپاز (Shahab Lavasani et al., 2012):

۱) شیر گاوحاوی سطوح بالا، متوسط و پایین سلول سوماتیک.

۲) گرم کردن تا دمای ۳۶ درجه سانتی‌گراد.

۳) افزودن آنزیم لیپاز در غلظت ۰/۲ درصد.

۴) اضافه کردن رنت به میزان ۲/۵ گرم به ازای ۱۰۰ لیتر شیر.

۵) انعقاد بعد از ۴۵ دقیقه .

۶) برش لخته.

۷) ریختن روی پارچه و گره زدن.

۸) قرار دادن وزنه ولخته به نسبت مساوی.

۹) تکمیل آبگیری.

۱۰) بریدن لخته در ابعاد ۱۰×۱۰×۷ سانتیمتر مکعب.

۱۱) نگهداری در آب نمک ۲۲ درصد به مدت ۶ ساعت.

۱۲) نگهداری در آب نمک ۱۲ درصد به مدت ۷۰ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد.

بررسی ترکیب اسید های چرب آزاد نمونه های مختلف پنیر

برای آماده‌سازی نمونه‌های پنیر موجود در فالکون‌های ۵۰ میلی لیتری استریل پایه دار، جهت اندازه‌گیری اسیدچرب ابتدا به میزان ۲/۵ گرم از پنیر به همراه ۳ گرم سولفات سدیم و ۰/۳ میلی لیتر اسید سولفوریک ۲/۵ مولار در بشر مخلوط کرده و پس از آن ۱۰ میلی-لیتر محلول دی اتیل اتر شامل ۲ درصد اسید فرمیک برای تخلیه کامل اسیدهای چرب و نیز هپتان اضافه کرده و به همراه ۰/۱ میلی لیتر استاندار داخلی $C_{17:00}$ و $C_{13:00}$ (۰/۵ ml/ml) را به طور کامل مخلوط کرده تا آب اضافی پنیر خارج شود. سپس مخلوط را در سانتریفوژ با دور ۲۰۰۰rpm/۵ min گذاشته تا صاف شده و پس از آن در پیش ستون Sample Q Agilant، استرالیا که با هپتان نرمال مرطوب شده بود

1. *Aspergillus niger*

www.SID.ir

Archive of SID

ریخته و استخراج چربی صورت گرفت. پنیرها را توسط ۱ گرم سولفات سدیم آبگیری کرده و اسیدهای چرب خنثی از ستون با ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم/ پروپانول (v/v,2:1) شستشو داده و استخراج اسید چرب آزاد را توسط ۳ میلی لیتر دی اتیل اتر/ هپتان (v/v,1:1) سه بار انجام داده و اسیدهای چرب را از $C_{4:00}$ تا C_{20} از پنیر استخراج و در مرحله استخراج برای متلاشی نمودن غشای گلبول چربی از دی اتیل اتر استفاده نموده و با استفاده از کلروفرم- متانول به نسبت ۷۰:۳۰ اسیدهای چرب را استخراج و بدون تغلیظ یا با استفاده از دمای بالا در فاز کلروفرم متیله نمود. تمامی مراحل استخراج را در دمای پایین انجام داده تا از فراریت اسیدهای چرب آزاد فرار خصوصاً اسید بوتیریک جلوگیری نموده و پروفایل اسید چرب را به وسیله گاز کروماتوگرافی تعیین شد (Shahab Lavasani et al., 2012).

دستگاه گازکروماتوگرافی

دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل Varian star 3400 ساخت شرکت واریان (کالیفرنیا، آمریکا) مجهز به ستون موئینه سیلیکا ذوب شده به نام Bp-21 (میکرومتر۱× میلیمتر۰/۵۳× متر۳۰) پوشش داده شده با فاز اسید چرب آزاد OV -351 (پلی گلیکول- نیترو فتالیک متصل شده) می‌باشد. پارامترهای بکار گرفته در کروماتوگرافی گازی در جدول۲ آمده است.

جدول۲- پارامترهای استفاده شده برای دستگاه کروماتوگرافی گازی در تجزیه اسیدهای چرب آزاد در تیمارها

نوع ستون	Capillary BP-21 (CGE, Australia)
دمای ستون	دمای اولیه: ۱۲۵ درجه سانتی‌گراد نرخ افزایش دما: ۶ درجه سانتی‌گراد دمای پایانی : ۲۲۵ درجه سانتی‌گراد مدت زمان ماندن ستون در دمای پایانی: ۲۰min
دمای تزریقگاه	۲۳۵ درجه سانتی‌گراد
دمای آشکارساز	۲۵۰ درجه سانتی‌گراد
گاز حامل	نیتروژن با خلوص ۹۹/۹ درصد
شدت جریان گاز حامل	۸/۸ml/min
شدت جریان هوای ورودی به آشکارساز	۳۰۰ml/min
شدت جریان گاز هیدروژن به آشکارساز	۳۰ml/min
فشار سر ستون	Psig۱۵
نوع تزریق گاه	On-column
نوع آشکارساز	FID

برنامه دمایی ستون در ابتدا دمای۶۰ درجه سانتی‌گراد با توقف ۲ دقیقه در این دما سپس افزایش دما تا ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۰ درجه در هر دقیقه به مدت۲۰ دقیقه استفاده کرده و دمای اتاقک تزریق۲۰۰ درجه سانتی‌گراد و دمای دتکتور ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد و از گاز هیدروژن به عنوان گازحامل با سرعت جریان۸/۸ میلی لیتر در دقیقه فشار Psig۱۵ استفاده شد.

ارزیابی حسی

برای ارزیابی حسی پنیر، ۱۰ نفر ارزیاب حسی آموزش دیده با قابلیت و مهارت برای انجام آزمون حسی انتخاب شدند. همچنین مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۳۲۶ نمونه برداری انجام شد (سازمان ملی استاندارد، ۱۳۸۷). ارزیابی حسی مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۴۶۹۱ با استفاده روش نمره دهی (۰تا۵) انجام و اتاق آزمون طوری انتخاب شد که دیوارها و سقف روشن

www.SID.ir

و مات، دمای اتاق ثابت و عاری از هر گونه بوی خارجی باشد سنجش ویژگی‌های حسی بر اساس مقیاس هدونیک ۵ نقطه ای انجام شد (سازمان ملی استاندارد، ۱۳۷۸).

روش تحلیل داده ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد.

جهت تشخیص معنی دار ($p<0.05$) یا عدم معنی دار بودن تیمارها ($p>0.05$) از تجزیه واریانس دو طرفه استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. رسم نمودارها با نرم افزار Excel 2010 Office انجام شد. تیمارهای مورد بررسی در جدول۳، آورده شده است.

جدول ۳- معرفی تیمارها

نوع تیمار	مشخصات
T_1 (شاهد)	پنیر حاوی سطوح پایین سلول سوماتیک
T_2	پنیر حاوی سطوح متوسط سلول سوماتیک
T_3	پنیرحاوی سطوح بالا سلول سوماتیک
T_4	پنیرحاوی سطوح پایین سلول سوماتیک و افزودن آنزیم لیپاز با غلظت۰/۲ درصد
T_5	پنیر حاوی سطوح متوسط سلول سوماتیک و افزودن آنزیم لیپاز با غلظت۰/۲ درصد
T_6	پنیر حاوی سطوح بالا سلول سوماتیک و افزودن آنزیم لیپاز با غلظت۰/۲ درصد

نتایج

ترکیب اسیدهای چرب آزاد پنیرهای تهیه شده از سطوح مختلف سلول سوماتیک برحسب میلی گرم در صد گرم نمونه در طی دوره ماندگاری هفتاد روزه به ترتیب در جداول ۴ و ۵ آورده شده است.

جدول۴- اسیدهای چرب آزاد زنجیر کوتاه (میلی گرم در صد گرم) در نمونه های پنیر سفید آب نمکی† تهیه شده از سطوح مختلف سلول سوماتیک با و بدون افزودن آنزیم لیپاز‡

روز	تیمار	$C_{4:0}$***	$C_{6:0}$	$C_{8:0}$
۵	T_1(Control)	۲۹۴/۰±۱۲/۸۹^{m}	۲۲۶/۰±۰۷/۴۵^{q}	۱۴۳/۰±۶۶/۵۴^{q}
	T_2	۱۶۷/۰±۱۲/۳۹^{o}	۱۶۲/۰±۰۳/۱۸^{r}	۹۲/۰±۰۹/۴۴^{t}
	T_3	۳۶۹/۰±۲۷۵/۸۲^{n}	۲۷۱/۰±۶۸/۵۱^{p}	۱۵۸/۰±۵۰/۴۲^{rs}
	T_4	۳۸۶/۰±۵۷/۹۳^{q}	۲۷۶/۰±۷۵/۵۷^{n}	۱۷۵/۰±۷۷/۳۸^{p}
	T_5	۳۵۱/۰±۹۳/۰۵^{r}	۲۷۷/۰±۰۸/۴۴^{o}	۱۸۲/۰±۹۴/۱۶^{o}
	T_6	۳۴۳/۱±۸۰/۰۱^{p}	۲۸۲/۰±۴۶/۵۴^{m}	۱۹۶/۰±۶۷/۴۳^{n}
۳۵	T_1(Control)	۳۹۲/۲±۳۳/۰۱^{g}	۲۷۶/۰±۵۹/۵۱^{e}	۱۷۴/۰±۶۵/۵۵^{d}
	T_2	۲۱۸/۰±۰۸/۱۳۵^{i}	۱۸۶/۰±۸۵/۹۲^{f}	۱۳۰/۰±۹۸/۸۲^{f}
	T_3	۲۹۷/۰±۶۴/۶^{h}	۲۳۷/۰±۹۴/۳۱^{d}	۱۵۰/۰±۸۱/۳۹^{de}
	T_4	۴۰۲/۰±۳۴/۵۶^{k}	۲۹۰/۰±۶۹/۵۳^{b}	۱۸۱/۰±۶۰/۴۱^{c}
	T_5	۳۳۲/۰±۸۵/۳۵^{l}	۲۸۲/۰±۷۳/۷۷^{c}	۲۱۰/۰±۶۸/۵۴^{b}
	T_6	۳۸۰/۱±۷۲^{j}	۳۱۷/۰±۳۲/۲۱^{a}	۲۱۳/۰±۹۰/۲۲^{a}
۷۰	T_1(Control)	۳۰۴/۲±۵۰^{a}	۲۰۸/۰±۸۰/۰۵^{k}	۱۴۵/۰±۶/۶^{j}
	T_2	۱۸۴/۱±۳۷/۰۲^{c}	۱۲۷/۰±۹۰/۵۲^{l}	۹۲/۰±۱۹/۵۲^{m}

www.SID.ir

Archive of SID

T_3	۳۳۷/۰±۰۷/۵۲^{b}	۲۴۹/۰±۵۶/۶۵^{j}	۱۵۲/۰±۶۶/۲۷^{kl}
T_4	۴۷۹/۰±۱۵/۹۵^{e}	۳۳۸/۰±۹۸/۵۴^{h}	۲۰۶/۰±۶۳/۲۳^{i}
T_5	۳۷۹/۰±۹۷/۱۲^{f}	۳۲۰/۰±۱۹/۹۱^{i}	۱۸۶/۰±۸۹/۱۱^{h}
T_6	۰±۳۹۱/۲۲^{d}	۳۱۸/۰±۴۳/۱۱^{g}	۱۹۱/۰±۸۰/۲۹^{g}

T_1†: پنیر آب نمکی با سوماتیک پایین بدون آنزیم لیپاز (شاهد) T_2: پنیر آب نمکی با سوماتیک متوسط بدون آنزیم لیپاز

T_3: پنیر آب نمکی با سوماتیک بالا بدون آنزیم لیپازT_4: پنیر آب نمکی با سوماتیک پایین با ۲٪ آنزیم لیپازT_5: پنیر آب نمکی با سوماتیک متوسط با ۲٪آنزیم لیپازT_6: پنیر آب نمکی با سوماتیک بالا با ۲٪ آنزیم لیپاز

‡داده ها در هر ستون با توان حرفی متفاوت دارای اختلاف معنی دار$P<0.05$ می باشد

*** انحراف معیار± مقدار میانگین

جدول ۵- اسیدهای چرب آزاد زنجیربلند (میلی گرم در صد گرم)در نمونه های پنیر سفید آب نمکی† تهیه شده از سطوح مختلف سلول سوماتیک با و بدون افزودن آنزیم لیپاز‡

روز	تیمار	$C_{14:1}$***	$C_{16:1}$	$C_{18:1}$	$C_{18:2}$	$C_{18:3}$
۵	T_1(Control)	۳۶۲/۰±۷۲/۰۳^{b}	۶۹۱/۰±۴۳/۰۲^{b}	۱۹۷۶/۰±۰۱/۰۳^{q}	۵۰۸/۲۵۰±۳۹/۰۲^{ab}	۱۴/۰±۵۸/۰۲^{c}
	T_2	۳۸۸/۰±۰۸/۰۳۵^{a}	۷۵۲/۰±۷۳/۰۳^{a}	۱۵۷۰/۰±۷۴/۰۱^{r}	۲۵۵/۰±۴۷/۰۲^{ef}	۴۴/۰±۸۷/۰۲۵^{a}
	T_3	۹۸/۰±۵۳/۰۳^{f}	۱۷۵/۰±۱۴/۰۴^{f}	۲۹۵۴/۰±۸۹/۰۱^{p}	۲۶۲/۰±۶۸/۰۲^{a}	۲۸/۰±۰۱/۰۴۵^{b}
	T_4	۲۳۰/۰±۳۲/۱۸^{d}	۱۹۶/۰±۵۶/۰۱^{c}	۲۴۲۲/۰±۱۱/۰۴^{n}	۳۹۳/۰±۱۲/۰۲^{abc}	۱۲/۰±۴۶/۰۲۵^{de}
	T_5	۱۸۷/۰±۷۴/۰۲^{c}	۱۹۶/۰±۳۲/۰۲^{d}	۲۴۷۶/۰±۱۹/۰۱^{m}	۲۱۲/۰±۴۳/۰۱^{abcd}	۱۸/۰±۵۵/۰۲^{f}
	T_6	۱۳۵/۰±۴۳/۰۵^{e}	۱۶۷/۰±۶۹/۰۲^{e}	۲۴۵۷/۰±۹۳/۰۱^{o}	۲۳۷/۰±۲۳/۰۱^{e}	۱۲/۰±۴۴/۰۲۵^{d}
۳۵	T_1(Control)	۱۲۳/۰±۸۲/۰۶^{h}	۲۲۵/۰±۷۹/۰۳^{n}	۲۷۴۴/۰±۵/۰۲^{e}	۳۲۶/۰±۴۴/۰۴^{ab}	۱۷/۰±۷۰/۰۲^{i}
	T_2	۱۱۵/۰±۰۸/۰۵^{g}	۱۵۴/۰±۴۱/۰۳^{m}	۱۹۷۵/۰±۶۵/۰۳^{f}	۲۷۷/۰±۵۰/۰۲^{ef}	۱۱/۰±۱۲/۰۲۵^{g}
	T_3	۱۲۲/۰±۶۵/۰۳^{l}	۱۶۵/۰±۶۲/۰۴^{r}	۲۴۴۵/۰±۸۷/۰۳^{d}	۳۹۹/۰±۴۴/۰۲^{a}	۱۸/۰±۹۷/۰۱۵^{h}
	T_4	۱۱۶/۰±۸۹/۰۳^{j}	۲۲۳/۰±۲۴/۰۳^{o}	۲۷۵۶/۰±۰۲/۰۳^{b}	۳۴۹/۰±۲۸/۰۲^{abc}	۱۸/۰±۴۱/۰۳۵^{jk}
	T_5	۱۶۸/۰±۹۴/۰۳^{i}	۲۱۹/۰±۴۷/۰۲^{p}	۲۶۱۷/۰±۴۷/۰۳^{a}	۳۱۳/۰±۹۰/۰۲^{abcd}	۱۴/۰±۶۶/۰۳۵^{l}
	T_6	۱۳۸/۰±۸۶/۰۴^{k}	۱۹۱/۰±۹۲/۰۲^{q}	۲۶۴۰/۰±۳۷/۰۳^{c}	۲۹۲/۰±۶۴/۰۲^{e}	۱۷/۰±۷۱/۰۲^{j}
۷۰	T_1(Control)	۱۰۶/۰±۴۹/۲۴^{n}	۲۰۳/۰±۸۲/۰۷^{h}	۲۴۶۲/۰±۵۲/۰۲^{k}	۳۱۸/۰±۷۷/۰۲^{ab}	۲۰/۰±۲۰/۲^{o}
	T_2	۹۹/۰±۴۴/۰۴^{m}	۶۰۷/۰±۹۷/۰۲^{g}	۱۶۷۵/۰±۲۷/۰۳^{l}	۲۸۲/۰±۷۷/۰۲^{ef}	۱۰/۰±۶۶/۰۴۵^{m}
	T_3	۱۱۴/۰±۳۲/۰۲^{r}	۱۶۷/۰±۶۶/۰۲^{l}	۲۱۷۳/۰±۰۱/۰۴^{j}	۵۰۴/۰±۲۱/۰۲۵^{a}	۱۵/۰±۲۶/۰۲^{n}
	T_4	۱۱۶/۰±۶۸/۰۲^{p}	۲۲۱/۰±۸۱/۰۲^{i}	۲۶۷۳/۰±۰۰/۰۳^{h}	۳۳۸/۰±۴۷/۰۲۵^{abc}	۱۲/۰±۸۵/۰۳^{pq}
	T_5	۱۷۰/۰±۳۹/۰۲^{o}	۲۱۴/۰±۵۶/۰۲^{j}	۲۷۶۱/۰±۲۸/۰۲^{g}	۳۱۹/۰±۳۰/۰۱^{abcd}	۱/۰±۲۸/۰۲^{r}
	T_6	۱۳۸/۰±۵۱/۰۵^{q}	۱۹۹/۰±۳۰/۰۲^{k}	۲۵۷۲/۰±۴۹/۰۲^{i}	۲۹۳/۰±۷۶/۰۲^{e}	۱۷/۳±۳۴/۱۱^{p}

T_1†: پنیر آب نمکی با سوماتیک پایین بدون آنزیم لیپاز (شاهد) T_2: پنیر آب نمکی با سوماتیک متوسط بدون آنزیم لیپاز

T_3: پنیر آب نمکی با سوماتیک بالا بدون آنزیم لیپازT_4: پنیر آب نمکی با سوماتیک پایین با ۲٪ آنزیم لیپازT_5: پنیر آب نمکی با سوماتیک متوسط با ۲٪آنزیم لیپازT_6: پنیر آب نمکی با سوماتیک بالا با ۲٪ آنزیم لیپاز

‡داده ها در هر ستون با توان حرفی متفاوت دارای اختلاف معنی دار$P<0.05$ می باشد

*** انحراف معیار± مقدار میانگین

www.SID.ir

تغییرات اسید بوتیریک ($C_{4:0}$)

اثر زمان و اثر تیمار و اثر متقابل تیمار × زمان بر روی میزان اسید بوتیریک معنی دار $p<۰/۰۱$ گزارش شد. مقدار اسید بوتیریک در روز پنجم از دوره رسیدن در بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمار T_4 و برابر $\frac{mg}{100gr}$ ۳۸۶/۵۷ و در کم‌ترین میزان معادل $\frac{mg}{100gr}$ ۱۶۷/۱۲ مربوط به تیمار T_2 گزارش شد که مقدار اسید بوتیریک تیمار T_6 به تیمار شاهد نزدیک‌تر بود .مقدار اسید بوتیریک تیمار T_1 , T_2 ابتدا تا پایان روز ۳۵ افزایش و سپس تا پایان دوره رسیدن یعنی روز ۷۰ کاهش یافت و مقدار اسید بوتیریک تیمار T_3 از روز ۵ تا ۳۵ کاهش و سپس تا تا روز ۷۰ افزایش یافت و مقدار اسید بوتیریک تیمار T_4 , T_6 ار روز ۵ تا پایان دوره رسیدن افزایش یافت ولی تیمار T_5 ابتدا از روز ۵ تا روز ۳۵ از دوره نگهداری کاهش و سپس تا روز ۷۰ افزایش یافت (جدول ۴).

تغییرات اسید کاپروئیک ($C_{6:0}$)

اثر زمان و اثر تیمار و اثر متقابل تیمار× زمان بر روی میزان اسید کاپروئیک معنی دار $p<۰/۰۱$ گزارش شد. مقدار اسید کاپروئیک در روز پنجم از دوره رسیدن در بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمار T_6 و برابر $\frac{mg}{100gr}$ ۲۸۲/۴۶ و در کم‌ترین میزان معادل $\frac{mg}{100gr}$ ۱۶۲/۰۳ مربوط به تیمار T_2 گزارش شد که مقدار اسید کاپروئیک تیمار T_3 به تیمار شاهد نزدیک‌تر بود (جدول ۴).

تغییرات اسید کاپریلیک ($C_{8:0}$)

اثر زمان و اثر تیمار و اثر متقابل تیمار × زمان بر روی میزان اسیدکاپریلیک معنی دار $p<۰/۰۱$ گزارش شد. مقدار اسید کاپریلیک در روز پنجم از دوره رسیدن در بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمار T_6 و برابر $\frac{mg}{100gr}$ ۱۹۶/۶۷ و در کم‌ترین میزان معادل $\frac{mg}{100gr}$ ۹۲/۰۹ مربوط به تیمار T_2 گزارش شد که مقدار اسید کاپریلیک تیمار T_3 به تیمار شاهد نزدیکتر بود (جدول ۴).

تغییرات اسید میریستولئین ($C_{14:1}$)

اثر زمان و اثر تیمار و اثر متقابل تیمار × زمان بر روی میزان اسید میریستولئین معنی دار $p<۰/۰۱$ گزارش شد. مقدار اسید میریستولئین در روز پنجم از دوره رسیدن در بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمار T_2 و برابر $\frac{mg}{100gr}$ ۳۸۸/۰۸ و در کم‌ترین میزان معادل $\frac{mg}{100gr}$ ۹۸/۵۳ مربوط به تیمار T_3 گزارش شد که مقدار اسید میریستولئین تیمار T_2 به تیمار شاهد نزدیک‌تر بود (جدول ۵).

تغییرات اسید پالمیتولئیک ($C_{16:1}$)

اثر زمان و اثر تیمار و اثر متقابل تیمار×زمان بر میزان اسید پالمیتولئیک معنی دار $p<۰/۰۱$ گزارش شد. مقدار اسیدپالمیتولئیک در روز پنجم از دوره رسیدن در بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمار T_2 و برابر $\frac{mg}{100gr}$ ۷۵۲/۷۳ و در کم‌ترین میزان معادل $\frac{mg}{100gr}$ ۱۶۷/۶۹ مربوط به تیمار T_6 گزارش شد که مقدار اسید پالمیتولئیک تیمار T_2 به تیمار شاهد نزدیک‌تر بود (جدول ۵).

تغییرات اسید اولئیک ($C_{18:1}$)

اثر زمان و اثر تیمار و اثر متقابل تیمار × زمان بر روی میزان اسید اولئیک معنی دار $p<۰/۰۱$ گزارش شد. مقدار اسیداولئیک در روز پنجم از دوره رسیدن در بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمار T_3 و برابر $\frac{mg}{100gr}$ ۲۹۵۴/۸۹ و در کم‌ترین میزان معادل $\frac{mg}{100gr}$ ۱۵۷۰/۷۴ مربوط به تیمار T_2 گزارش شد که مقدار اسید اولئک تیمار T_2 به تیمار شاهد نزدیک‌تر بود (جدول ۵).

تغییرات اسید لینولئیک ($C_{18:2}$)

اثر زمان و اثر تیمار و اثر متقابل تیمار × زمان بر رویمیزان اسیدلینولئیک معنی دار $p>۰/۰۵$ گزارش

www.SID.ir

Archive of SID

شد. مقدار اسید لینولئیک در روز پنجم از دوره رسیدن در بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمار T_1 برابر $\frac{mg}{100gr}$۵۰۸/۳۹ و در کم‌ترین میزان معادل $\frac{mg}{100gr}$۲۱۲/۴۳ مربوط به تیمار T_5 گزارش شد که مقدار اسید لینولئیک تیمار T_4 به تیمار شاهد نزدیک‌تر بود (جدول ۵).

تغییرات اسید لینولنیک ($C_{18:3}$)

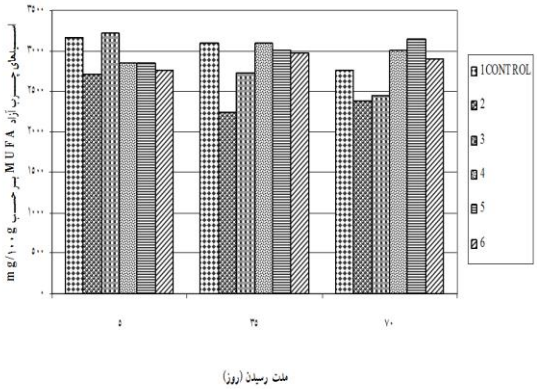
اثر زمان و اثر تیمار و اثر متقابل تیمار × زمان بر رویمیزان اسیدلینولنیک معنی دار $p<$ ۰/۰۱ گزارش شد. مقدار اسید لینولنیک در روز پنجم از دوره رسیدن در بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمار T_2 و برابر $\frac{mg}{100gr}$ ۴۴/۸۷ و در کم‌ترین میزان معادل $\frac{mg}{100gr}$۱۲/۴۴ مربوط به تیمار T_6 گزارش شد که مقدار اسید لینولنیک تیمار T_4به تیمار شاهد نزدیکتر بود (جدول ۵).

تغییرات اسید چرب تک غیر اشباعی (MUFA)[1]

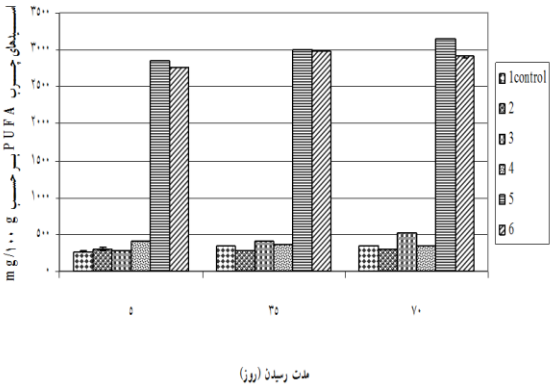
اثر زمان و اثر تیمار معنی دار $p>$۰/۰۵ نمی‌باشد و اثر متقابل تیمار× زمان معنی‌دار $p<$۰/۰۱ گزارش شد. مطابق نمودار ۱ مقدار اسیدهای چرب تک غیراشباعی در روز پنجم از دوره رسیدن در بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمار T_3 و در کم‌ترین میزان مربوط به تیمار T_2 است. در روز ۳۵ از دوره رسیدن کمترین و بیشترین مقدار اسیدهای چرب تک غیر اشباعی مربوط به تیمار T_2و T_1 است ودر پایان دوره رسیدن یعنی روز ۷۰ کمترین و بیشترین مقدار اسیدهای چرب تک غیر اشباعی مربوط به تیمار T_2, T_5 است.

تغییرات اسید چرب چند غیر اشباعی (PUFA)[2]

اثر زمان و اثر تیمار و اثر متقابل تیمار × زمان معنی دار $p<$۰/۰۱ گزارش شد.با توجه به نمودار ۲ مقدار اسیدهای چرب چند غیراشباعی در روز پنجم از دوره رسیدن در بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمار T_4 و در کم‌ترین میزان مربوط به تیمار T_1 است. در روز ۳۵ از دوره رسیدن کم‌ترین و بیش‌ترین مقدار اسیدهای چرب چند غیر اشباعی مربوط به تیمار T_1و T_5 است و در پایان دوره رسیدن یعنی روز ۷۰ کم‌ترین و بیش‌ترین مقدار اسیدهای چرب تک غیر اشباعی مربوط به تیمار T_2, T_5 است.



نمودار ۱- تغییرات اسیدهای چرب آزاد تک غیر اشباعی یا MUFA



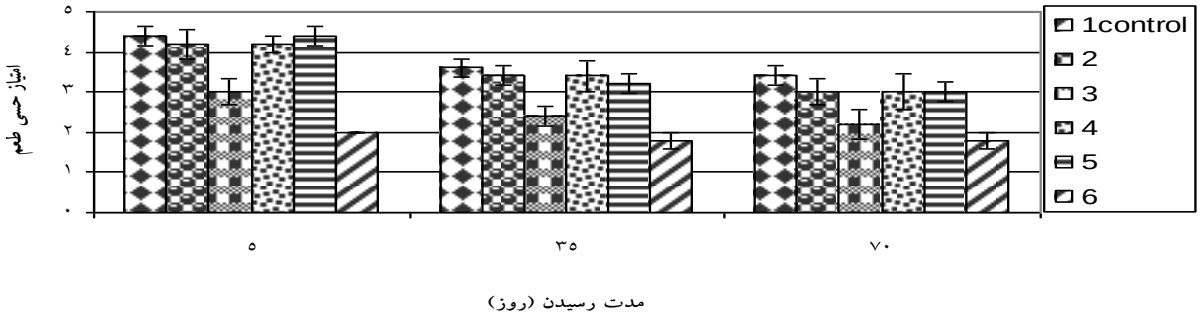
نمودار ۲- تغییرات اسیدهای چرب چند غیر اشباعی یا PUFA

امتیاز حسی طعم

اثر تیمار و اثر زمان معنی دار $p<$۰/۰۱ می‌باشد و اثر متقابل تیمار × زمان معنی دار $p>$۰/۰۵ نمی‌باشد. با توجه به نمودار ۳، امتیاز حسی طعم در تمام دوره رسیدن در بیش‌ترین میزان مربوط به تیمار T_1 و در کم‌ترین میزان مربوط به تیمار T_6 بود و در طی دوره نگهداری ۷۰ روزه میزان امتیاز طعم تمامی تیمارها کاهش یافت و نزدیکترین امتیاز طعم به تیمار شاهد T_2 می‌باشد.

1. MUFA :Mono Unsaturated Free Fatty Acids
2. PUFA:Poly Unsaturated Free Fatty Acids

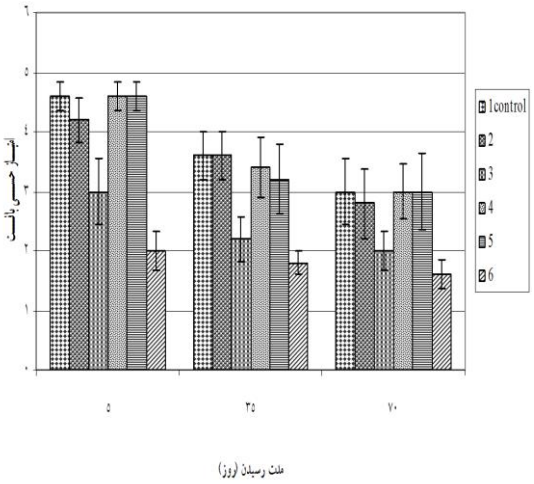
www.SID.ir



نمودار۳- تغییرات امتیاز حسی طعم

امتیاز حسی بافت

اثر تیمار و اثر زمان معنی دار $p<۰/۰۱$ می‌باشد و اثر متقابل تیمار × زمان معنی دار $p>۰/۰۵$ نمی‌باشد. با توجه به نمودار ۴، امتیاز حسی بافت در تمام دوره رسیدن در کم‌ترین میزان مربوط به تیمار T_6 بود و در بیش‌ترین میزان در روز ۵ از دوره رسیدن مربوط به تیمار T_1,T_4,T_5 بود و در روز ۳۵ بیش‌ترین میزان مربوط به تیمار T_1,T_2 بود و در روز ۷۰ بیش‌ترین میزان مربوط به تیمار T_1,T_4,T_5 بود و امتیاز بافت تمامی تیمارها در طی دوره نگهداری ۷۰ روزه روند کاهشی داشته است و نزدیک‌ترین تیمار به تیمار شاهد تیمار T_2 می‌باشد.



نمودار ۴- تغییرات امتیاز حسی بافت

بحث

اسید بوتیریک یکی از مهمترین اسیدهای چرب زنجیر کوتاه می‌باشد که وجود آن بعنوان یکی از موثرترین ترکیبات تولید طعم در پنیر حائز اهمیت است (Shahab Lavasani, 2018). در طی دوره نگهداری مقدار آن تا حدودی افزایش پیدا کرد و در تیمارهای مختلف غلظت آن در نوسان بود ولی در تیمارهای حاوی سلول های سوماتیک بالا بدلیل رطوبت بیش‌تر لیپولیز تری گلیسیریدها با شدت بیش‌تری صورت گرفت. در حقیقت استفاده از شیر حاوی سلول‌های سوماتیک به خواص انعقاد شیر آسیب می‌رساند و سبب افزایش مقدار رطوبت در اکثر پنیرهای حاصل از شیر گاو و ایجاد بد طعمی در آن‌ها می‌گردد. زمان انعقاد رنتی در شیر های حاوی سلول‌های سوماتیک بالا طولانی‌تر است در نتیجه میزان سفتی لخته کاهش یافته و بهره و کیفیت پنیر نیز افت می کند. همبستگی مثبتی میان pH و خواص انعقاد شیر وجود دارد، در شیرهای حاوی سلول‌های سوماتیک بالا افزایش pH مشاهده شده است و افزایش pH می‌تواند سبب اشکالاتی در انعقاد شیر شود (Le Marechal et al., 2011). علاوه بر این فعالیت لیپولیتیک افزایش یافته در شیرهای با سلول های سوماتیک بیش‌تر ممکن است سبب لیپولیز شدیدتری شود. عموما اسیدهای چرب آزاد دارای غلظت بیش‌تری در نمونه‌های حاوی سلول-های سوماتیک بالا می‌باشد. در پنیرهای آب نمکی وجود نمک دارای یک تاثیر بازدارنده بر روی فعالیت لیپاز می‌باشد؛ بنابراین در اوایل دوره رسیدن تا پایان روز ۳۵ ام از کل دوره به دلیل اینکه غلظت موجود در

www.SID.ir

Archive of SID

لخته به مقدار ماکزیمم خود هنوز نرسیده است فعالیت لیپولیتیک با سرعت بیش‌تری انجام می‌شود ولی از پایان روز ۳۵ ام تا پایان دوره رسیدن از یکسو تاثیر غلظت نمک و از سوی دیگر عامل تغییر و تبدیل اسید های چرب خصوصا اسیدهای چرب زنجیر کوتاه به ترکیبات موثر در طعم، غلظت این اسید های چرب کاهش پیدا کرد. نتایج این تحقیق با نتایج Jaeggi و همکاران (۲۰۰۳) که بیان داشتند میزان اسید بوتیریک به طور معنا داری در تمام پنیرهای تهیه شده از شیر حاوی سلول‌های سوماتیک بالاتر، بیش‌تر از پنیرهای تهیه شده از شیر حاوی سلول‌های سوماتیک متوسط و پایین بود، مطابقت داشت (Jaeggi et al., 2003).

اسیدهای چرب اصلی مشاهده شده در طی دوره رسیدن اسید بوتیریک در میان اسید های چرب آزاد زنجیر کوتاه و اسید اولئیک ($C_{18:1}$) در میان اسیدهای چرب غیر اشباع زنجیر بلند می‌باشد. فراوانترین اسیدهای چرب آزاد در همه تیمارها با توجه به سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک و دوره رسیدن اسید اولئیک ($C_{18:1}$) می‌باشد. اگرچه مقدار اسیدهای چرب زنجیر کوتاه در مقایسه با سایر اسید های چرب کمتر مشاهده شد ولی آن‌ها بیش‌تر از اسیدهای چرب زنجیر بلند در طعم پنیر شرکت می کنند. مقدار رطوبت بالای پنیرهای تهیه شده از شیر با تعداد سلول‌های سوماتیک بالا ممکن است باعث شود که لیپولیز تری گلیسیریدها در این نوع پنیر ها شدیدتر باشد و اسیدهای چرب آزاد بیشتری را تولید کنند. علاوه براین فعالیت لیپولیتیک افزایش یافته در شیرهای با بیش‌ترین مقدار سلول‌های سوماتیک ممکن است باعث لیپولیز شدیتری شود. بطور کلی در پنیرهای تهیه شده از شیر حاوی سلول-های سوماتیک بیشتر، اسید های چرب آزاد فرار بیش-تری وجود داشت. با این حال تفاوت میان اسیدهای چرب آزاد فرار در طی دوره نگهداری ۷۰ روزه معنی دار گزارش شد. برخی از اسیدهای چرب آزاد فرار نظیر اسید کاپروئیک ($C_{6:0}$)، در پنیرهای تهیه شده از شیر حاوی سلول‌های سوماتیک بالا به طور معنی داری ($p<۰/۰۵$) بیش‌تر بود. اسیدهای چرب بوتیریک و کاپریلیک در پنیرهای تهیه شده از شیرحاوی سلول-های سوماتیک بالاتر در تمام دوره های رسیدن مشخص، با گذشت زمان به طور معناداری افزایش یافت. با افزایش سطوح سلول‌های سوماتیک در تهیه پنیرهای سفید آب نمکی مقدار اسید بوتیریک به طور معنا داری ($p<۰/۰۵$) افزایش یافت. در پنیرهای سفید آب نمکی لیپولیز به فعالیت میکروفلورای طبیعی شیر و لیپازهای لیپوپروتئینی موجود در شیر نسبت داده می-شود. تشکیل اسیدهای چرب آزاد زنجیره کوتاه بیش‌تر به عمل اختصاصی لیپازهای لیپوپروتئینی طبیعی و لیپازهای میکروفلورای طبیعی شیر خام روی اسیدهای چرب آزاد قرار گرفته در موقعیت ۱و ۳ زنجیره تری گلیسیرید و اسیدهای چرب آزاد زنجیرکوتاهی که غالبا در موقعیت ۳ زنجیره تری گلیسیرید استریفیه شده اند نسبت داده می‌شود. خالق خواه و همکاران (۱۳۹۲) در مورد اثر سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک بر اسید های زنجیر کوتاه بیان داشتند که مکانیسم دنوو مسیر اصلی سنتز اسیدهای چرب ۴ تا ۱۴ کربنه بوده که خود از مسیرهای پیچیده ای تشکیل شده است. از طرف دیگر پیش از انتقال پیش سازهای این اسیدهای چرب (استات،بتا هیدروکسی بوتیرات) به غدد شیری، کبد بعنوان مهم‌ترین ارگان موثر در تبادلات سنتز مواد نقش مهمی را ایفا می کنند.

Barlowska و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که اسیدهای چرب در شیر گاو با سطوح بالای سلول سوماتیک افزایش نشان داده است. یکی از دلایل وجود اسیدهای چرب بلند زنجیره تمایل آنزیم‌های میکروبی و غیر میکروبی به شکستن جایگاه Sn-1وSn-3 تری گلیسیریدها است (Barlowska et al., 2008). در تحقیقی Chen و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که میزان اسیدهای چرب بلند زنجیره در نمونه پنیرهای حاوی سلول‌های سوماتیک با گذشت زمان افزایش

www.SID.ir

یافت (Chen et al., 2010). Alizadeh و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که مدت زمان رسانیدن، مهم‌ترین عامل افزایش اسیدهای چرب در پنیر سفید آب نمکی بود (Alizadeh et al., 2006). با افزایش زمان رسانیدن و میزان آنزیم افزوده شده تا پایان دوره نگهداری ۳۵ روزه میزان درصد اسید کاپروئیک اغلب تیمارها به استثنای تیمار T_2 افزایش یافت وسپس تا پایان دوره نگهداری ۷۰روزه میزان درصد اسید کاپروئیک تمامی تیمارها به استثنای تیمار T_1 و T_2 افزایش یافت. علت کاهش اسید کاپروئیک، تبدیل این اسید چرب کوتاه زنجیر به ترکیبات موثر در طعم و علت افزایش آن تاثیر انتخابی آنزیم لیپازهای طبیعی شیر و آنزیم لیپاز افزوده شده می‌باشد. درواقع با افزایش زمان رسانیدن و انزیم لیپاز افزوده شده میزان درصد اسید کاپروئیک افزایش نشان داد با این حال، درمورد پنیر فتای صنعتی رسیده مقادیر اسید کاپروئیک کمتری گزارش شده است (Kandarakis et al., 2001). درمورد اسید کاپریلیک نیز رفتار زمان و غلظت آنزیم به همین شکل بود. درمورد پنیر فتای صنعتی، مقدار خیلی کمی برای این اسید گزارش شده است (۳۹-۳۷ درصد از کل اسیدهای چرب) (Kondyli et al., 2002). نشان داده شد که با افزودن آنزیم لیپاز ومدت زمان رسانیدن، میزان اسیدهای چرب فرار نسبت به اسیدهای چرب متوسط زنجیر و بلند زنجیر به نحو چشمگیری افزایش می یابد و دلیل ان اختصاصی بودن این آنزیم برای موقعیت Sn-3 تری گلیسیریدهای چربی بیش‌تر است (Yilmaz et al., 2004). با افزایش زمان رساندیدن، به خاطر آستانه حسی بالا، اسیدهای چرب زنجیر بلند ($C_{12:0}$ و بالاتر از آن) نقش خیلی کمی در طعم پنیر دارند (Molimard et al., 1996) نتایج نشان داد که اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (اساسا $C_{4:0}$ و $C_{6:0}$) متغیرترین اسیدهای چرب طی اولین روزهای رسانیدن بوده و به میزان زیادی تحت تاثیر آنزیم افزوده شده قرار گرفتند. طی ۳۵ روز اول رسانیدن پنیر، مقدار زیادی از این اسیدها تجزیه شدند و عطر و بوی آن‌ها کاملا مشهود بود. افزودن آنزیم باعث آزاد شدن سریع‌تر آن‌ها و مصرف سریع‌تر توسط باکتری‌های اسید لاکتیک می شود. در تحقیقی مشابه، نشان داده شد با افزودن آنزیم پرگاستریک لیپاز به پنیر سفید آب نمکی، میزان اسیدهای چرب آزاد فرار و میزان کلی اسیدهای چرب آزاد به نحو چشمگیری افزایش یافت (Akin et al., 2003). تخریب اسید میریستولئین دلیل کاهش مقدار آن می‌باشد که نتیجه فعالیت لیپاز و مدت زمان رسانیدن است. افزایش اسید پالمیتولئین در نمونه‌های حاوی سلول‌های سوماتیک بالا بدلیل فعالیت آنزیمی بیش‌تر و کاهش آن در تیمارهای فاقد لیپاز بدلیل تخریب این اسید می‌باشد. اسید اولئیک $C_{18:1}$ غالب اسیدهای چرب غیر اشباع را به خود اختصاص می‌دهد که در تیمار T_2 تا پایان دوره رسیدن در کم‌ترین حد و تا پایان روز ۳۵ ام به استثنای تیمار T_3 تمامی تیمارها روند افزایشی از نظر اسید اولئیک از خود نشان داده اند و تا پایان دوره رسیدن فقط تیمار T_5 افزایش ناچیزی از نظر اسید اولئیک از خود نشان داد و در سایر تیمارها اسید اولئیک روند کاهشی را ازخود نشان داد که علت افزایش اسید اولئیک افزایش زمان رسانیدن، تاثیر غلظت آنزیم و خصوصا فعالیت لیپولیتیکی شدیدتر در نمونه های حاوی سلول‌های سوماتیک بالا می‌باشد و علت کاهش تخریب و تجزیه آن به سایر ترکیبات موثر در طعم می‌باشد. از نظر اسید لینولئیک $C_{18:2}$ به طور مشخص تا پایان دوره رسیدن تیمار T_2 روند کاهشی نشان داد ولی تیمار T_3 روند افزایشی نشان داد و در اوایل دوره رسیدن تا پایان روز ۳۵ ام تیمار T_1وT_4 روند کاهشی داشتند ولی سایر تیمارها روند افزایشی از خود نشان دادند وتا پایان روز ۷۰ ام از دوره رسیدن تمامی تیمارها به استثنای T_1و T_4 روند افزایشی نشان دادند که کاهش اسید لینولئیک خصوصا با دو پیوند دوگانه تاثیر غلظت آنزیم و تجزیه آن‌ها در طی دوره

www.SID.ir

Archive of SID

رسیدن می‌باشد و علت افزایش اسید لینولئیک نیز زمان رسیدن، غلظت آنزیم و فعالیت لیپولیتیکی بیش‌تر در تیمارهای حاوی سلول‌های سوماتیک بالا می‌باشد.

مقدار اسید لینولنیک $C_{18:3}$ در تیمار T_2 در تمام روزهای مشخص از دوره رسیدن کاهش وتیمار T_3 تا روز سی و پنجم در بیش‌ترین مقدار و سپس تا پایان روز هفتادم از دوره رسیدن به حداقل ممکن کاهش یافت در طی روزهای نگهداری تا روز سی و پنجم به غیر از تیمارهای T_3 و T_5 مقدار اسید لینولنیک سایر تیمارها روند افزایشی نشان داد و از روز سی و پنجم تا پایان روز هفتادم همه تیمارها روند کاهشی داشتند که علت افزایش اسیدلینولنیک تاثیر آنزیم لیپاز و مدت زمان رسانیدن و علت کاهش آن تجزیه و تبدیل و تخریب اسید لینولنیک در طی دور ه رسیدن می باشد.

مقدار اسید آراشیدونیک $C_{20:4}$ در تیمار T_2 در روز پنجم و هفتادم و در تیمار T_3 در روز سی و پنجم در کم‌ترین میزان گزارش شد مقدار اسید لینولنیک در روز پنجم در تیمار T_3 و در روز سی و پنجم در تیمار T_4 و در روز هفتادم در تیمار T_6 در ماکزیمم مقدار گزارش شد و تا روز هفتادم به استثنای تیمار T_4 بقیه تیمارها از نظر مقدار اسید لینولنیک روند کاهشی نشان دادند که تاثیر آنزیم لیپاز و زمان رسانیدن بر افزایش اسید آراشیدونیک علت افزایش آن می‌باشد و علت کاهش آن نیز تاثیر آنزیم های چربی شکن و تبدیل به ترکیبات آروما در اواخر دوره رسیدن می باشد. از نظر مقدار اسیدهای چرب تک غیر اشباعی تا روز سی و پنجم از دوره رسیدن تیمار T_2 کم‌ترین میزان را نشان داد و تا آخرین روز نگهداری به استثنای تیمار T_2 سایر تیمارها روند افزایشی نشان دادند که علت افزایش اسیدهای چرب تک غیر اشباعی حضور سلول های سوماتیک، فعالیت لیپولیتیکی شدید خصوصا اثر هم افزایی آن‌ها با آنزیم لیپاز افزوده شده در پروسه ساخت پنیر و علت کاهش آن خروج اسیدهای چرب از داخل لخته به آب پنیر و همچنین فعالیت لیپولیتیکی در اواخر دوره رسیدن و تجزیه اسیدهای چرب آزاد شده می‌باشد. از نظر اسیدهای چرب چند غیر اشباعی تا روز سی و پنجم از دوره رسیدن کلیه تیمارها روند افزایشی نشان دادند البته تیمار T_2و T_4 کمی کاهش نشان دادند و تا پایان روز هفتادم از دوره رسیدن فقط تیمار T_3 و T_5 افزایش نشان دادند و تیمار T_1 تقریبا ثابت و T_2 کمی کاهش نشان داد و تیمارهای با سطح سلول‌های سوماتیک بالاتر از جمله T_4و T_6روند کاهشی نشان دادند که علت این کاهش فعالیت بیش‌تر سلول‌های سوماتیک به طور هم افزا با آنزیم لیپاز و تجزیه اسیدهای چرب چند غیر اشباعی می‌باشد و علت افزایش فعالیت لیپولیتیکی آنزیم‌های چربی شکن و تولید اسیدهای چرب چند غیر اشباعی از تری گلیسیریدها می‌باشد. از نظر ارزیابی حسی دو عامل موثر طعم و بافت مورد بررسی قرار گرفت، در شیر حاصل از دام ورم پستانی به علت حضور غلظت‌های بالایی از یون های سدیم وکلر نسبت به شیر دام‌های سالم پس مزه شوری محسوس‌تر است بدین جهت تیمارهای حاوی نسبت بالایی از سلول‌های سوماتیک از نظر ارزیابی حسی طعم پایین‌ترین امتیاز را به خود اختصاص دادند و هنگامی که زمان رسانیدن افزایش یافت، عطر و طعم و طعم تندی نیز افزایش یافت که غلظت بالای $C_{4:0}$، $C_{6:0}$ و $C_{8:0}$ مسئول ایجاد طعم تندی در پنیر است (Akin et al., 2003).

Georgala و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که عامل ایجاد تندی در پنیر فتای سنتی اسید بوتیریک است (Georgala et al., 2005). با تخریب اسیدهای چرب کوتاه زنجیر طی رسانیدن ترکیبات عطری و طعمی آزاد می‌شوند تقریبا در تمام دوره های مشخص رسیدن تیمار T_1با کم‌ترین میزان سلول سوماتیک و بدون آنزیم لیپاز دارای بیش‌ترین امتیاز حسی طعم و تیمار T_6 با بیش‌ترین سطح سلول سوماتیک و آنزیم لیپاز دارای کم‌ترین امتیاز طعم بود و در طی دوره رسانیدن به دلیل افزایش طعم تندی امتیاز حسی طعم کلیه

www.SID.ir

تیمارها کاهش یافت البته افزودن آنزیم لیپاز به دلیل هیدرولیز چربی پنیر در طی دوره رسانیدن و ایجاد طعم تند خصوصا در مورد نمونه‌های با سلول سوماتیک بیش‌تر بر روی طعم پنیر حاصله تاثیر منفی داشت. هم‌چنین در تیمارهای حاوی سلول سوماتیک بالاتر به دلیل فعالیت پروتئولیتیکی شدید تر اندکی طعم تلخی نیز ایجاد شد. از نظر بافت نیز تیمارهای با سلول سوماتیک کم‌تر و فاقد آنزیم لیپاز در تمام دوره رسیدن هفتاد روزه بیش‌ترین امتیاز را به خود اختصاص دادند ولی تیمار T_6 با سلول‌های سوماتیک بالا و آنزیم لیپاز پایین‌ترین امتیاز بافت را داشت و به طور کلی با پیشرفت دوره رسیدن امتیاز بافت کلیه تیمارها کاهش نشان داد با این حال هم از نظر امتیاز طعم و هم از نظر امتیاز بافت تیمار T_1 به عنوان بهترین تیمار معرفی شد. با توجه به اینکه شیرهای ماستیتیس میزان کازئین و چربی کم‌تر و پروتئین‌های با منشا غدد پستانی از جمله بتالاکتوگلوبولین و آلفا لاکتالبومین کم‌تری نسبت به شیر دام های سالم داشتند بنابراین بافت پنیرهای حاصل از شیر ماستیتیس خصوصا ناشی از شیرهای با درصد سلول‌های سوماتیک بیش‌تر به علت رطوبت بیش‌تر نرم‌تر و از کیفیت نامطلوب تری برخوردار بود.

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی، با توجه به آزمایش‌های انجام شده، نتایج زیر به عنوان نتایج اصلی این تحقیق قابل ارائه است:

نتایج تاثیر مدت زمان رسانیدن و غلظت آنزیم لیپاز افزوده شده بر پروفیل اسیدهای چرب و نرخ تخریب آن‌ها نشان داد که مدت زمان رسانیدن نسبت به غلظت آنزیم تاثیر بیش‌تری بر نرخ تخریب و پروفیل اسیدهای چرب مخصوصا اسیدهای چرب کوتاه زنجیر داشته است. بنابراین بیش‌ترین تاثیر آنزیم لیپاز بر اسیدهای چرب کوتاه زنجیر بوده است.

به این دلیل که لیپاز تجاری فقط می‌تواند به گلبول-های آسیب دیده حمله کند برای لیپولیز مطلوب در پنیر وجود استرازهای باکتریایی نیز ضروری است.

افزایش مدت زمان رسانیدن و وجود آنزیم لیپاز بدلیل تجزیه بیش‌تر تری گلیسیریدها و ایجاد طعم تندی بر ویژگی های حسی پنیر سفید آب نمکی تاثیر منفی داشت.

عطر و طعم پنیر بدلیل پس مزه شوری حاصل از شیرهای ورم پستانی در تیمارهای حاوی سلول های سوماتیک بیش‌تر همراه با آنزیم بیشتر کم‌ترین امتیاز حسی طعم را بخود اختصاص داد.

بافت پنیر در تیمارهای حاوی سلول‌های سوماتیک بیش‌تر بدلیل کاهش میزان کازئین و چربی و پروتئین-های محلول بتا لاکتو گلوبولین و آلفا لاکتالبومین نسبت به تیمارهای با سلول‌های سوماتیک کم‌تر دارای رطوبت بیش‌تر ،بافت نرم تر و فاقد انسجام مطلوب بود و کم‌ترین امتیاز حسی بافت را به خود اختصاص داد.

افزودن آنزیم لیپاز بعنوان یک عامل تسریع کننده رسانیدن سبب می‌شود که پنیرهای تولیدی در مدت زمان کوتاهی حدودا تا یکماه قابلیت مصرف با کیفیت مطلوب را داشته باشند ولی پس از آن از ویژگی‌های کیفی پنیر تولیدی کاسته می‌شود بنابراین با توجه به زمان طولانی رسانیدن پنیرهای سفید آب نمکی و ظهور ویژگی های مطلوب در پنیر سفید آب نمکی افزودن آنزیم لیپاز میتواند باعث تسریع و بهبود فرایند رسیدن گردند.

در میان تیمارهای مورد آزمایش با توجه به نتایج حاصل از پروفیل اسیدهای چرب آزاد و ارزیابی حسی تیمار T_1 با کم‌ترین میزان سلول سوماتیک و بدون آنزیم لیپاز تا پایان دوره رسیدن ۷۰روزه بعنوان مطلوب-ترین تیمار معرفی شد و نزدیک‌ترین تیمار به تیمار شاهد (T_1)، تیمار T_2 با سلول سوماتیک متوسط می-باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

۱. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۷۸).اصول کلی ارزیابی شیر و فراورده های آن با روش نمره دهی مطابق با استاندارد ملی ایران شماره۴۶۹۱.

۲. خالق خواه، الناز.، عزت پناه، حمید.، مشهدی اکبر بوجار، مسعود.، گیویان راد، محمد هادی.، سیف هاشمی، سعیده و معتمد، روزبه.(۱۳۹۲). تاثیر سطوح مختلف سلولهای سوماتیک بر اسیدهای چرب اشباع شیر خام. مجله دانش و پژوهش علوم دامی. شماره ۱۲، صفحه ۷۹-۶۳.

3. Akin N., Aydemir S., Kocak C. and Yildiz M. A. 2003. Changes of free fatty acid contents and sensory properties of white pickled cheese during ripening. J Food Chem. 80: 77-83.

4. Alizadeh M, Hamedi M and Khosroshahi A. 2006. Modeling of proteolysis and lipolysis in Iranian white brine cheese. J Food chem. 97: 294-301.

5. Barlowska J., Grodzicki T., Topylu B and Wolanczuk A. 2008. Production season influence on the fatty acids profile of milk of the different cow s breeds. Materially konferencyjne LXXIIIZjazdu PTZ.

6. Chen S. X., Wang J. Z., Van kessel J. S., Ren F. Z and Zeng S. S. 2010. Effect of somatic cell count in goat milk on yield, sensory quality and fatty acid profile of semi soft cheese. J Dairy Sci. 93: 1345-1354.

7. Georgala A. K., Kandarakis I. G., Kaminarides S. E and Anifantakis E. M. 1999. Volatile free fatty acid content of Feta and white brined cheeses. Aust. J Dairy Technol. 54: 5-8.

8. Jaeggi J. J., Govindasamy-Lucey S., Berger Y. M., Johnson M. E., Mckusick B. C., Thomas D. L and Wendorff W. L. 2003. Hard Ewe s milk cheese manufactured from milk of three different groups of somatic cell counts. J Dairy Sci. 86: 3082-3089.

9. Kandarakis I., Moatsou G., Georgala A. I. K., Kaminarides S and Anifantakis, E. 2001. Effect of draining temperature on the biochemical characteristics of Feta cheese. J Food Chem. 72: 369-378.

10. Kondyli E., Katsiari M. C., Massouras T and Voutsinas L. P. 2002. Free fatty acids and volatile compound of low- fat Feta- type cheese made with a commercial adjunct culture. J Food Chem. 79: 199-205.

11. Le Marechal C., Thiery R., Vautor E and Le Loir Y. 2011. Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products- a review. J Dairy Sci and Technol. 91: 247-282.

12. Mazal G., Vianna P. C. B., Santos, M. V and Gigante, M. L. 2007. Effect of somatic cell count on Prato cheese composition. J Dairy Sci. 90: 630-636.

13. Molimard P and Spinnler H. E. 1996. Review: Compounds involved in the flavor of surface mould-ripened cheeses: origins and properties. J Dairy Sci. 79: 169-184.

14. Shahab Lavasani A. R., Ehsani M. R., Mirdamadi S and Mousavi S. M. 2012. Study of proteolysis and lipolysis of probiotic Lighvan cheese. Int J Agrisci. 2(4): 341-352.

15. Shahab Lavasani A. R. 2018. Biochemical Changes of Iranian Probiotic Lighvan Cheese. Czech J of Food Sci. 36: 1-7.

16. Yilmaz G., Ayar A and Akin N. 2004. The effect of microbial lipase on the lipolysis during the ripening of Tulum cheese. J Food Eng. 22: 205-2.

www.SID.ir

Effect of different levels of somatic cell count of cow milk and lipase enzyme on free fatty acids composition and sensory properties of White brined cheese

Zarei H[1*], Shahab Lavasani A[2]

1. Department of Physiology, Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2. Innovative Technologies in Functional Food Production Research Center, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

[*]**Corresponding Author:** *zarei1361@yahoo.com*

Received: 26 May 2019 Accepted: 27 August 2019

Abstract

Mastitis is defined as an inflammation of the mammary gland usually resulting from a bacterial infection. The number of somatic cell is the one of the important indices of quality and healthy evaluations of milk. The objective of this research was to evaluate the effect of 3 levels of somatic cell counts in raw milk and lipase enzyme addition on free fatty acids and sensory properties of white brined cheese during 70 days of ripening period. Three levels of SCC and one level of lipase enzyme addition (2%) and 3 levels of storage time (5, 35 and 70 days) were selected. Initially, 3 groups of dairy cows were selected to obtain low (<100000 cells/mL), medium (<450000 cells/mL) and high (>1000000 cells/mL) SCC in milks that were used to manufacture 6 vats of cheese: 3 vats with added 2% lipase enzyme and 3 vats with not added lipase enzyme. Experimental design was carried out by using Completely Randomized Design (CRD). Six treatments at 3 replications during 5, 35 and 70 days of ripening period were selected. Free fatty acids profile showed that oleic acid had the highest content of free fatty acids among others. The content of free fatty acids of all treatments often increased until 35 days of ripening period and then decreased at the end of ripening period. Sensory properties showed that flavor and texture scores of all treatments decreased during 70 days of ripening period. According to obtained results, (T_1) as a control sample) was the best treatment among others. The raise of somatic cells can be decreased yield of cheese making and also sensory qualities of final products.

Keywords: Somatic cell counts, white brined cheese, free fatty acids, Sensory properties, Lipolysis.

www.SID.ir