

تأثیر غلظت‌های مختلف نمک بر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و حسی پنیر سفید پروبیوتیک تهیه شده به روش فرا پالایش

مهدیه مهدوی پور^۱، لیلا روفه گری نژاد^{۲*}، آیناز علیزاده^۲

۱- مدرس گروه علوم و صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی موسسه آموزش عالی غیر دولتی دانشوران تبریز، ایران

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۷/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۲۱)

چکیده

کاهش محتوای نمک در تولید پنیر چالشی مهم برای صنعت شیر می‌باشد. با توجه به تقاضای مصرف‌کنندگان برای تولید مواد غذایی فراسودمند و سلامت بخش، در این تحقیق امکان‌سنجی کاهش محتوای نمک در تولید پنیر سفید پروبیوتیک تهیه‌شده به روش فرا پالایش مورد مطالعه قرار گرفت. به این منظور با استفاده از روش آماری سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی پنیر سفید با سطوح متفاوت نمک (۲، ۳ و ۴ درصد) و دو نوع سویه پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس) تهیه و طی مدت نگهداری ۶۰ روز مورد ارزیابی قرار گرفت. مدل‌های برازش شده جهت پیشگویی متغیرهای پاسخ انتخاب‌شده شامل خصوصیات شیمیایی، ویژگی‌های حسی، زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک و خصوصیات مکانیکی بافت ضریب تبیین بالایی را نشان داد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تغییر غلظت نمک اثر معنی‌داری بر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی، پارامترهای بافتی و پذیرش کلی داشت ($P < 0.05$)، درحالی‌که بر قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک بی‌تأثیر بود. طبق نتایج به‌دست‌آمده با افزایش غلظت نمک در فرمولاسیون پنیر فرا پالایش آب اندازی، ماده خشک و هم‌چنین سختی بافت نمونه‌ها افزایش یافت و میزان اسیدیته و پیوستگی بافت پنیر روند کاهشی داشت. قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک تحت تأثیر مدت زمان نگهداری بوده به طوری که تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در پنیر پروبیوتیک کم‌نمک و انتهای دوره نگهداری بیشتر از سویه بیفیدوباکتریوم لاکتیس-سویه بود. با کاهش محتوای نمک، امتیاز پایین‌تری به پنیرهای پروبیوتیک داده شد. شرایط بهینه برای تهیه پنیر پروبیوتیک کم‌نمک توسط باکتری بیفیدوباکتریوم لاکتیس و لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس به ترتیب ۲/۶۱ درصد نمک، ۱۸ روز نگهداری و ۲/۴۹ درصد نمک، ۶۰ روز نگهداری حاصل شد.

کلید واژگان: پروبیوتیک، پنیر، غذای فراسودمند، فرا پالایش، نمک

* مسئول مکاتبات: l.roufegari@iaut.ac.ir

۱- مقدمه

در دنیای صنعتی امروز، ارتقاء سطح توقع و انتظارات مصرف‌کنندگان نسبت به خصوصیات تغذیه‌ای و سلامتی بخش مواد غذایی، گرایش به تولید و مصرف غذاهای عملگرا و فراسودمند را افزایش داده است. محصولات پروبیوتیک یکی از متداول‌ترین انواع غذاهای فراسودمند بوده که با واردکردن میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک به مواد غذایی تولید می‌شوند [۱]. باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌عنوان مهم‌ترین نوع میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک بوده و جنس‌های مختلف به‌خصوص لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکتریوم‌ها در تولید فرآورده‌های پروبیوتیک به‌طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۱ و ۲]. پروبیوتیک‌ها ضمن کاهش لاکتوز، کلسترول و فشار خون، قادر به تحریک سیستم ایمنی و تقویت پاسخ ایمنی بوده و به گوارش و جذب مواد معدنی و ویتامین‌ها کمک می‌کنند [۲ و ۳]. اغلب فرآورده‌های پروبیوتیک موجود در بازار را گروه لبنیات تشکیل می‌دهند و در بین فرآورده‌های شیری، پنیر از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است و تولید و مصرف جهانی آن روند صعودی دارد [۴].

پنیر، فرآورده‌ای است متشکل از چربی و پروتئین شیر، به همراه کلسیم و فسفری که با پروتئین شیر، ترکیب شده‌است. ساختار جامد شبکه‌ای و فشرده، pH نسبتاً مناسب و ظرفیت تامپونی بالا منجر به موفقیت‌آمیز بودن نسبی کاربرد میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در تولید پنیر و انجام دامنه‌ی گسترده‌ای از پژوهش‌ها در این خصوص گردیده است [۱ و ۵]. در سال‌های اخیر نظر به مزایای قابل‌توجه فرایند فرا پالایش به‌ویژه راندمان و ارزش تغذیه‌ای بالا، تولید پنیر به روش فرا پالایش افزایش قابل‌ملاحظه‌ای داشته است [۲]. نمک به‌عنوان یک ماده افزودنی با داشتن هزینه‌ی پایین، به علت دارا بودن اثرات مختلف، کاربرد ویژه‌ای در تولید پنیر دارد. این افزودنی ضمن کاهش فعالیت آبی، مانع از جوانه‌زنی اسپور میکروبی شده و ضمن تأثیر در وقوع مکانیسم‌های بیوشیمیایی افزایش عطر و طعم را نیز باعث می‌شود. ولی از طرف دیگر، غلظت بالای یون‌های کلر برای سلامتی خطرناک بوده و موجب بیماری‌های قلبی عروقی می‌شود.

به‌منظور حفظ سلامت مصرف‌کنندگان، استفاده از مواد غذایی کم‌نمک در رژیم‌های غذایی راه‌حل مناسبی برای دستیابی به یک محصول سودمند می‌باشد [۶ و ۷].

یکی از مهم‌ترین چالش‌ها در مورد تولید صنعتی فرآورده‌های پروبیوتیکی، کاهش زیستی میکروارگانیسم‌های مورد بحث در طی دوره تولید و نگهداری می‌باشد. بقای باکتری‌های پروبیوتیک به فاکتورهایی نظیر گونه مورد استفاده، واکنش بین گونه‌های موجود، شرایط کشت، اسیدیته نهایی، مواد جامد شیر، اکسیژن محلول (به ویژه برای جنس بیفیدوباکتریوم)، زمان تخمیر، درجه حرارت نگهداری و درجات مختلف نمک زنی وابسته می‌باشد [۸]. در خصوص تأثیر نمک بر روی ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و حسی پنیر، مطالعات مختلفی صورت گرفته است [۷، ۹ و ۱۰]؛ اما تأثیر غلظت‌های مختلف نمک بر روی پنیر پروبیوتیک تهیه‌شده به روش فرا پالایش مورد بررسی قرار نگرفته است. لذا پژوهش حاضر به بررسی جزئیات این امر پرداخته و تأثیر غلظت‌های مختلف نمک بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک و همچنین خصوصیات فیزیکی شیمیایی و حسی پنیر سفید فرا پالایشی بررسی گردیده است که این امر با توجه به رویکرد جامعه در استفاده از محصولات پروبیوتیکی و کاهش سرانه مصرف نمک می‌تواند مفید و مورد توجه واقع شود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

شیر پاستوریزه مورد استفاده از شرکت شیر پگاه آذربایجان شرقی تهیه شد. مایه پنیر (رنت) از نوع قارچی مربوط به موکور میهی تحت نام تجاری فروماز^۲ متعلق به شرکت DSM استرالیا، استارتر پنیر و سویه‌های پروبیوتیک حاوی کشت خالص لاکتوباسیلوس / اسیدوفیلوس (LAS) و بیفیدوباکتریوم لاکتیس (BB12) از نوع کشت^۳ DVS متعلق به شرکت کریستین هانسن (دانمارک) بود. سایر مواد شیمیایی و محیط کشت‌های مصرفی در این تحقیق، از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

2. Fromase

3. Direct Vat Set

1. Ultrafiltration

۲-۲- روش تهیه پنیر

تولید پنیر با روش صنعتی استفاده شده در کارخانه شیر پاستوریزه پگاه آذربایجان شرقی انجام شد. به این منظور شیر خام با چربی ۳/۵ درصد با روش HTST^۴ پاستوریزه و سپس تحت دمای ۵۰ درجه سلسیوس در سیستم فرا پالایش‌دارای صافی‌های غشایی لوله‌ای با سایز ۲۰ کیلو دالتونتا رسیدن به ماده خشک ۳۴ درصد تغلیظ شد. پس از هموژنیزاسیون (فشار ۵ مگا پاسکال) و پاستوریزاسیون (۷۸ درجه سلسیوس-۶۰ ثانیه)، تلقیح استارتر تجاری پنیر (حاوی نسبت‌های مساوی ترموفیل و مزوفیل) همراه بالاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس (حاوی تقریباً ۱۰^۹ کلنی در گرم) در دمای ۳۵-۳۲ درجه سلسیوس انجام شد. پس از اضافه شدن رنت به رنتیت‌ها و انعقاد، نمکبه میزان ۳،۲ و ۴ درصد اضافه‌در بندی شد و پس از رسیدن به pH ۴/۷ (در گرمخانه‌ای با دمای ۲۸ درجه سلسیوس و به مدت تقریبی ۲۴ ساعت) به سردخانه منتقل و تا زمان آزمایش (۶۰ روز) در سردخانه ۶ درجه سلسیوس نگهداری شدند [۲].

۳-۲- آزمایش‌های انجام یافته

۲-۳-۱- آزمون‌های شیمیایی

ماده خشک پنیر از طریق خشک کردن در آون [۱۱]، میزان چربی پنیر با استفاده از روش ژریر ۱۷۶۰۲ [۱۲]، اسیدیته بر حسب درجه دورنیک [۱۳] اندازه‌گیری شد. در مورد ارزیابی میزان سینرزیس (میزان آب اندازی)، پس از باز کردن درب قوطی‌های پنیر، کل آب موجود به داخل استوانه مدرج ریخته شده و میزان آب بر حسب میلی‌لیتر گزارش شد [۱].

۲-۳-۷- ارزیابی ویژگی‌های بافتی

ارزیابی ویژگی‌های بافتی با استفاده از دستگاه تحلیل‌گر بافت^۵ (TA-XT- انگلستان) و با آزمون پروفایل بافت^۶، انجام شد. پروب مورد استفاده استوانه‌ای با قطر ۳۵ میلی‌متر بوده و سرعت نفوذ پروب ۶۰ میلی‌متر در دقیقه تنظیم شد. نمونه‌های پنیر یک ساعت قبل از آزمایش از یخچال خارج و در دمای محیط قرار گرفتند سپس در قطعات ۳/۵×۵×۵ سانتی‌متری برش داده شد.

نمونه توسط پروب فشارنده تا ۵۰ درصد ارتفاع اولیه فشرده شده و شاخص‌های مختلفی مانند سختی^۷، پیوستگی^۸ و صمغیت^۹ از روی منحنی به دست آمده از دستگاه تعیین شد [۱۴]. آزمون بافت در سه تکرار انجام و میانگین نتایج گزارش شد.

۲-۳-۸- آزمون شمارش میکروبی

شمارش پروبیوتیک‌ها، در محیط کشت MRS آگار همراه با نمک‌های صفراوی^{۱۰} (جهت اختصاصی کردن) انجام گرفت در مورد بیفیدوباکتریوم لاکتیس، محیط با استفاده از گاز پک بی‌هوازی شد [۱۵].

۲-۳-۹- ارزیابی ویژگی‌های حسی

برای بررسی تأثیر میزان نمک و مدت نگهداری بر ویژگی‌های حسی، ارزیابی بر اساس مقبولیت در طعم و بو، رنگ و بافت پنیرها با استفاده از ۳۰ نفر ارزیاب غیر ماهر طبق مقیاس هدونیک پنج نقطه‌ای (۱= غیرقابل قبول، ۲= نسبتاً رضایت بخش، ۳= متوسط، ۴= خوب، ۵= عالی) انجام و نتیجه نهایی به صورت پذیرش کلی گزارش شد [۱۶].

۲-۳-۱۰- تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق از روش سطح پاسخ (RSM^{۱۱}) و از طرح مرکب مرکزی صاف (FCD^{۱۲}) به منظور بررسی اثرات مستقل و متقابل متغیرها استفاده شد. متغیرهای مستقل کمی شامل درصد نمک (X_۱: ۲-۴ درصد) و زمان نگهداری (X_۲: ۶۰-۰ روز) و متغیر کیفی شامل سویه پروبیوتیک مورد استفاده در ۲ سطح (X_۰: لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس) بود. نمایش طراحی آزمون بر اساس طرح گرفته شده از نرم افزار Design Expert صورت گرفت. تعداد نمونه‌های آزمایش ۲۶ عدد بود که در این میان ۵ آزمون تکرار برای هر متغیر کیفی (در مجموع ۱۰ تکرار) در نقطه مرکزی بود که جهت تعیین خطا استفاده شد. داده‌ها توسط نرم افزار مذکور مدل سازی شده و نقطه بهینه تعیین گردید. منحنی‌های سطح پاسخ جهت بررسی رابطه بین پاسخ و متغیرهای مستقل ترسیم گردید.

7. Hardness

8. Cohesiveness

9. Gumminess

10. Bile Salt

11. Response Surface Method

12. Face Centered Design

4. High Temperature Short Time (HTST)

5. Texture Analysis

6. Texture Profile Analysis

۳- بحث و نتایج

۳-۱- تغییرات اسیدیته

طبق نتایج آنالیز واریانس، اثر متغیرهای مستقل مورد بررسی (میزان نمک، زمان نگهداری و نوع میکروارگانیسم) بر تغییرات اسیدیته در سطح اطمینان ۹۵٪ ($P < 0.05$) معنی‌دار بوده و بیشترین اثر مربوط به زمان نگهداری می‌باشد. هم چنین اثرات متقابل نمک و نوع میکروارگانیسم‌های مورد استفاده (X_1X_0) و زمان نگهداری و نوع میکروارگانیسم (X_2X_0) با سطح احتمال ۹۵٪ ($P < 0.05$) بر میزان اسیدیته معنی‌دار بود. بالا بودن ضریب تبیین $R^2 = 0.9603$ و معنی‌دار نبودن عدم برازش مدل حاکی از قدرت بالای مدل در پیش‌بینی تغییرات اسیدیته می‌باشد (جدول ۱). در شکل ۱ اثر مدت زمان نگهداری و غلظت نمک بر میزان اسیدیته نمونه‌های پنیر به ترتیب در باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* نشان داده شده است. نتایج حاکی از آن بود که در پنیرهای حاوی هر دو سویه باکتری مورد نظر شاخص اسیدیته با افزایش غلظت نمک و مدت زمان نگهداری، به ترتیب روند نزولی و صعودی داشته است. هم چنین نتیجه‌گیری شد که پنیرهای حاوی سویه

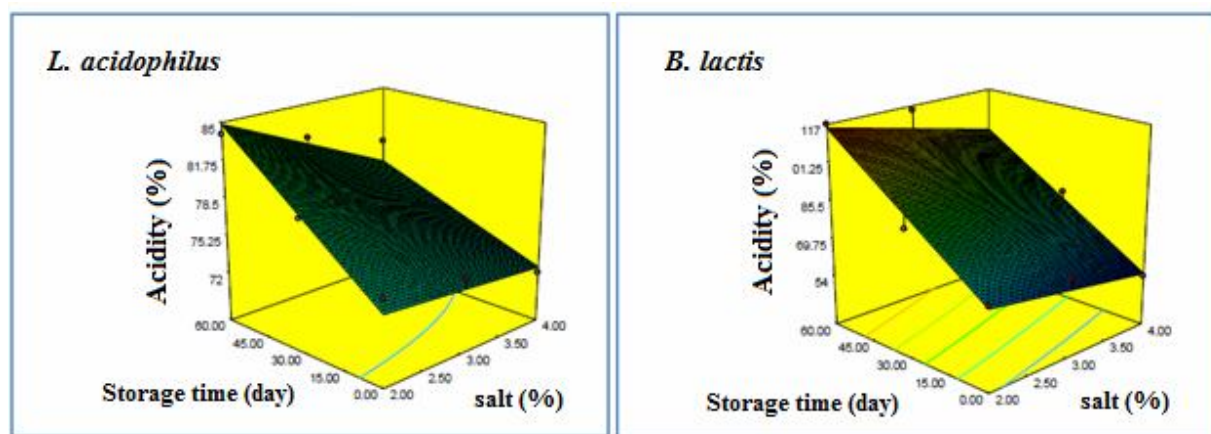


Fig 1 Effect of salt concentration and storage time on acidity of cheeses prepared with different probiotic bacteri

آنالیز واریانس نشان داد که اثر متغیرهای مستقل بر آب اندازی نمونه‌های پنیر در سطح اطمینان ۹۵٪ ($P < 0.05$) معنی‌دار بوده و بیشترین اثر مربوط به نوع میکروارگانیسم (X_0) می‌باشد. نتایج مدل‌سازی نیز نشان داد که ضریب تبیین مدل برابر $R^2 = 0.9913$ بود و عدم برازش مدل نیز معنی‌دار نبود که نشان‌دهنده قدرت

۳-۲- میزان آب اندازی

آب اندازی خود به خودی بدون اعمال نیروی خارجی، در واقع نوعی انقباض ژل است که در نتیجه‌ی بی‌ثباتی شبکه ژلی ایجاد شده و به کاهش توانایی ژل در نگهداری سرم می‌انجامد. نتایج

علت کاهش آب اندازی و افزایش قدرت نگهداری آب در پنیرهای حاوی سویه باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس در مقایسه با لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس را می توان بهرند سریع افزایش اسیدیته طی مدت نگهداری بیان کرد. نتایج به دست آمده در این تحقیق هم سو با گزارش های مستند می باشد به طوری که تأثیر پایین بودن pH در حفظ بیشتر آب در داخل پنیر و افزایش قابلیت نگهداری آب عنوان شده است [۲]. دلیل احتمالی افزایش آب اندازی و کاهش رطوبت در طی دوره رسیدگی در پنیرهای مورد بررسی می تواند به خروج رطوبت در نتیجه پدیده انتشار و انتقال نمک به داخل دلمه مربوط باشد [۱۷].

کافی مدل در پیش بینی میزان آب اندازی می باشد (جدول ۱). در شکل ۲ میزان آب اندازی محصول طی ۶۰ روز نگهداری در پنیرهای تهیه شده با سویه های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس تحت تأثیر غلظت های مختلف نمک نشان داده شده است. منحنی ها حاکی از آن است که با افزایش مقدار نمک و مدت زمان نگهداری در پنیرهایی با هر دو سویه باکتری پروبیوتیک آب اندازی بیشتر شده است به طوری که نمونه های پنیر حاوی سویه بیفیدوباکتریوم لاکتیس با ۲ درصد نمک در روز بعد تولید (انتقال نمونه ها از گرمخانه به سردخانه)، بیشترین میزان قدرت نگهداری آب و پنیرهای حاوی سویه لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس با ۴ درصد نمک در پایان دوره نگهداری (روز ۶۰ ام) بیشترین میزان آب اندازی را داشتند.

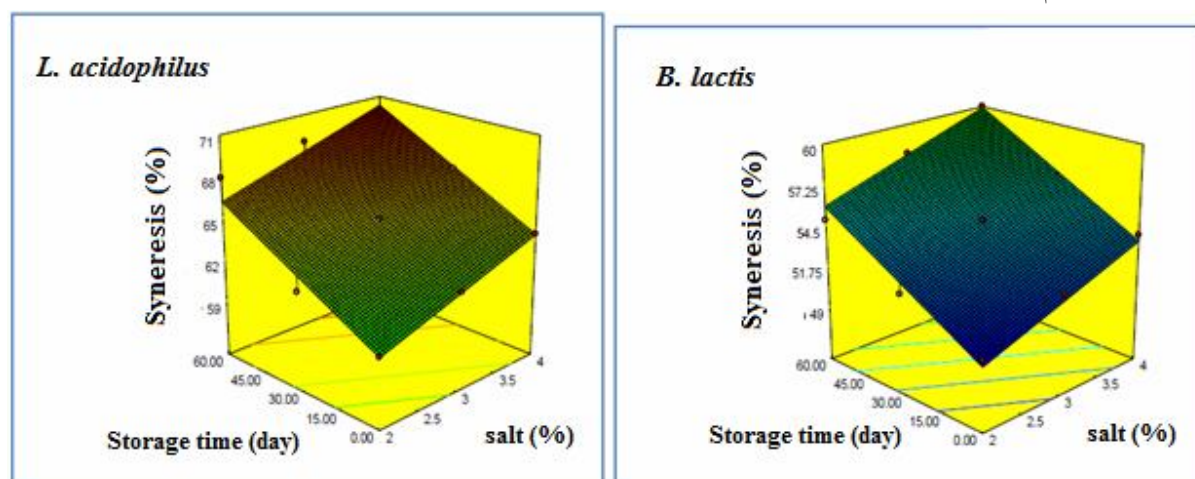


Fig 2 Effect of salt concentration and storage time on syneresis of cheeses prepared with different probiotic bacteria

روزهای اول تا ۶۰ ام را بدیهی دانست زیرا افزایش تدریجی محتوای نمک طی زمان نگهداری و علاوه بر آن خارج شدن آب جهت حفظ فشار اسمزی، باعث افزایش ماده خشک پنیر می گردد [۲۰]. افزایش ماده خشک هم سو با افزایش نمک در تحقیقات متعددی و در خصوص پنیر بیاز [۱۹]، پنیر چدار کم چرب [۲۱]، پنیر هربی [۲۲] و پنیر سفید آب نمکی ایرانی [۱۰] اشاره گردیده است. علاوه بر تأثیر پدیده انتشار در افزایش ماده خشک، می توان انجام پروتولیز را نیز در کاهش ماده خشک تفسیر کرد. بالا بودن گروه های قطبی در شبکه پروتئینی، به افزایش جذب آب و کاهش ماده خشک منتهی می گردد. در طی پروتولیز، با آزاد شدن اسیدهای آمینه و پپتیدها قابلیت حل شدن و جذب آب پروتئین ها

۳-۳- میزان ماده خشک

طبق نتایج آنالیز واریانس تأثیر تمام متغیرهای مستقل مورد بررسی بر ماده خشک ($P < 0.05$) معنی دار بود و بیشترین اثر مربوط به نوع میکروارگانیسم (X_0) می باشد. همان گونه که در شکل ۳ مشاهده می شود با افزایش غلظت نمک و با گذشت زمان نگهداری در پنیرهای حاوی هر دو سویه باکتری مورد استفاده، شاخص میزان ماده خشک روند افزایشی داشته است اما ماده خشک در پنیرهای تهیه شده با لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس بالاتر از بیفیدوباکتریوم لاکتیس بود. در خصوص روند تغییرات ماده خشک در طی نگهداری و در حضور مقادیر مختلف نمک و باکتری های پروبیوتیک، می توان افزایش ماده خشک در طی

اندازی کمتر و رطوبت بالاتر در پنیر تهیه‌شده با بیفیدوباکتریوم لاکتیس مربوط باشد.

افزایش می‌یابد [۲۳]. بالا بودن ماده خشک در پنیر تهیه شده با لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نسبت به بیفیدوباکتریوم لاکتیس در غلظت نمک مشابه و مدت نگهداری یکسان، می‌تواند به آب

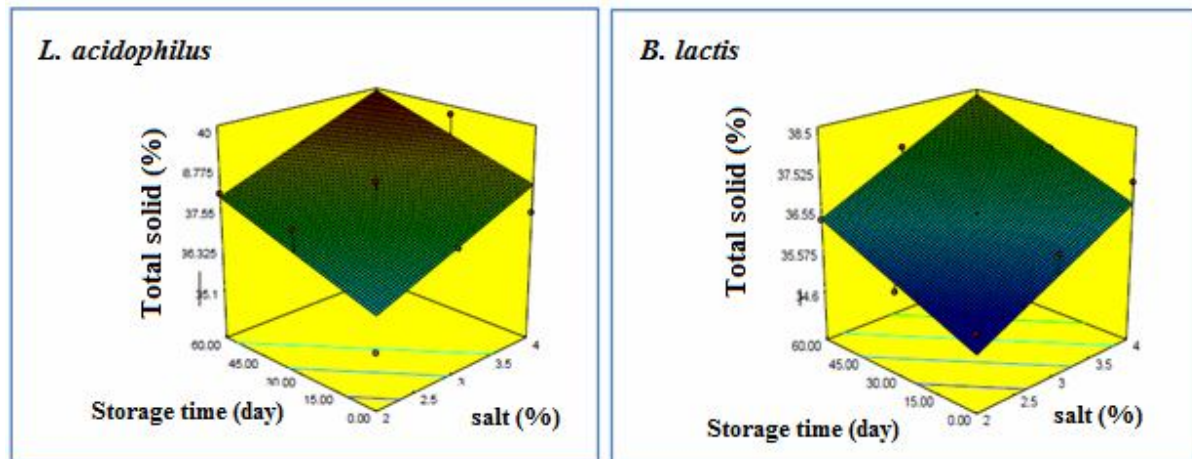


Figure 3. Effect of salt concentration and storage time on dry matter content of cheeses prepared with different probiotic bacteria

پنیر چدار سختی بیشتری از خود نشان داده‌اند [۲۱]. بین بافت پنیر با pH همبستگی مثبتی وجود دارد به‌طوری‌که کاهش pH باعث کاهش نیروی لازم جهت فشردن شدن بافت می‌گردد. با کاهش pH مقدار کلسیم در توده‌های پروتئینی کاهش یافته و با ضعیف شدن شبکه پروتئینی، نیروی لازم جهت فشردن شدن بافت کاهش می‌یابد و بالعکس. ضعیف شدن شبکه پروتئینی باعث می‌شود پروتئین‌های جداشده به سهولت در دسترس آنزیم‌ها قرار گرفته و پروتئولیز تشدید شود [۱۴ و ۲۰]. مطالعات مختلفی روی کاهش سفتی با کاهش pH در پنیر موزارلا [۲۴]، پنیر چدار [۲۵] صورت گرفته است. در pH‌های پایین نیروهای هیدروفوبیک و یونی قوی درون توده‌ای، توده‌های کازئین را در حالت فشرده نگه می‌دارد، درحالی‌که نیروهای بین توده‌ای ضعیف‌تر می‌باشد. در pH‌های بالاتر مولکول‌های کازئین دارای بار منفی خالص هستند و علی‌رغم این که نیروهای هیدروفوبیک هنوز هم وجود دارند، نیروهای یونی به یک عامل دفع‌کننده تبدیل می‌شوند و توده‌های پروتئینی جهت حل کردن بارهای یونی جذب می‌کنند [۲۴].

۳-۴- ارزیابی ویژگی‌های بافت

نتایج آنالیز واریانس حاکی از معنی‌دار بودن اثر متغیرهای میزان نمک، مدت‌زمان نگهداری و نوع میکروارگانیسم بر سختی بافت نمونه‌های پنیر بود و بیشترین اثر مربوط به نوع میکروارگانیسم (X_0) بوده است. معنی‌دار بودن مدل و عدم وجود فقدان تطابق، بالا بودن ضریب تبیین ($R^2 = 0.94336$) بیانگر اعتبار و صحت مدل خطی برازش شده برای پیشگویی سختی بافت می‌باشد (جدول ۱). اثر مدت‌زمان نگهداری و غلظت نمک بر روی سختی بافت در پنیرهای تهیه‌شده با باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس در شکل ۴ و نتایج مدل‌سازی و فاکتورهای برازش شده بر میزان سختی نمونه‌های پنیر در جدول ۱ نشان داده شده است. طبق آنچه در نمودار مشاهده می‌شود، با کاهش محتوای نمک و افزایش مدت نگهداری از سختی بافت پنیرها کاسته می‌شود و پنیرهای تهیه‌شده با بیفیدوباکتریوم لاکتیس سختی کم‌تری در مقایسه با پنیرهای حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس داشتند. ارتباط بین سختی و غلظت نمک را می‌توان به افزایش رطوبت در نتیجه کاهش نمک مربوط دانست به طوری که پنیرهایی با رطوبت نسبتاً کم مانند

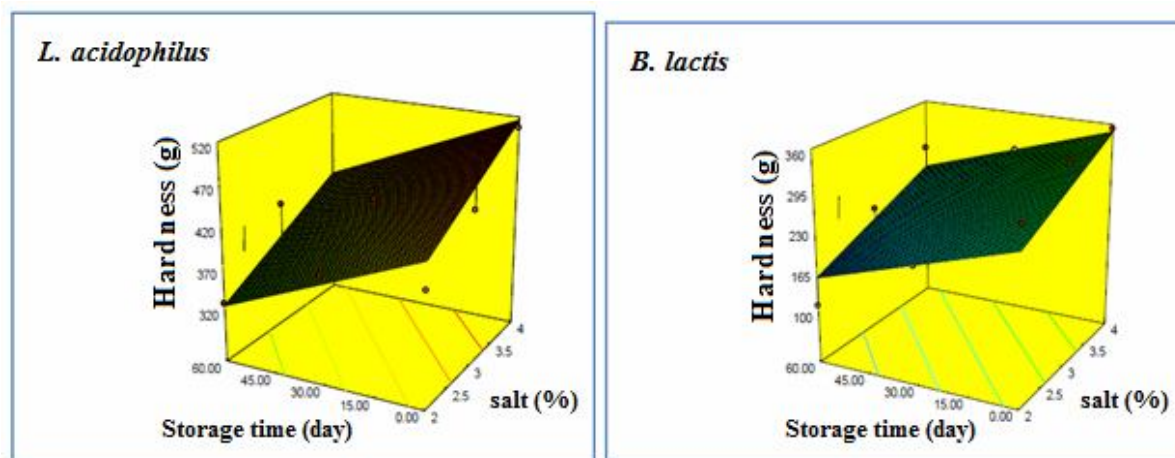


Fig 4 Effect of salt concentration and storage time on hardness of cheeses prepared with different probiotic bacteria

غلظت نمک و افزایش مدت نگهداری، شاخص پیوستگی در پنیرها در حضور هردو سویه باکتری پروبیوتیک افزایش می‌یابد. روند افزایش پیوستگی طی مدت نگهداری در پنیرهایی با سویه حاوی بیفیدوباکتریوم لاکتیس به علت آب اندازی کمتر، بیشتر بود. علت این مسئله می‌تواند ضعف پیوندهای داخلی در ساختار پنیرهایی با رطوبت بالا و بافت نرم باشد که باعث تغییر شکل غیرقابل برگشت پنیر در برابر فشار وارده توسط دستگاه سنجش بافت می‌شود [۲۵].

در خصوص پیوستگی، تمام متغیرهای مستقل بر شاخص پیوستگی تأثیر معنی‌داری ($P < 0.05$) داشته و بیشترین اثر مربوط به زمان نگهداری (X_2) بود. معنی‌دار بودن مدل و غیر معنی‌دار بودن عدم برازش مدل، بالا بودن ضریب تبیین $R^2 = 0.9344$ و کفایت دقت بیانگر اعتبار و صحت مدل درجه دوم برازش شده برای پیشگویی پیوستگی بافت است. پیوستگی تیمارهای تهیه‌شده با باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس تحت تأثیر محتوای نمک و زمان نگهداری در شکل‌ها نشان داده‌شده است. نمودارها حاکی از آن است که با کاهش

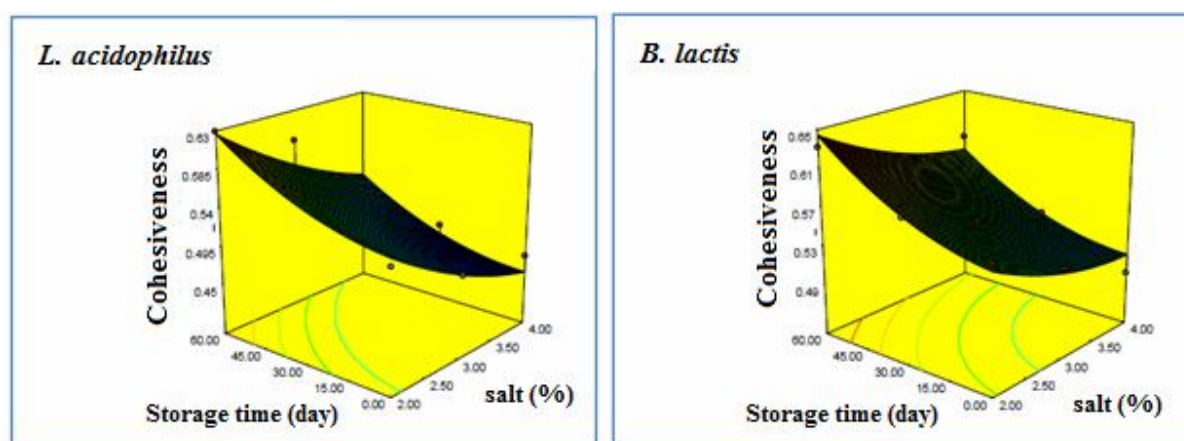


Fig 5 Effect of salt concentration and storage time on cohesiveness of cheeses prepared with different probiotic bacteria

میزان صمغیت بافت نمونه‌های پنیر کاهش یافته است. پنیرهای تهیه شده با سویه پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس صمغیت بیشتری در مقایسه با تیمارهای تهیه شده با بیفیدوباکتریوم لاکتیس داشتند که طبق نتایج خصوصیات فیزیکی شیمیایی این نتیجه حاصل شده بود که میزان ماده خشک در این پنیرها بیشتر می‌باشد. نتایج مدل‌سازی و فاکتورهای تطابق مدل بر میزان صمغیت نمونه‌های پنیر در جدول ۱ نشان داده شده است.

صمغیت مقدار انرژی لازم برای خرد کردن یک ماده غذایی نیمه جامد تا آماده شدن برای بلع بوده و از حاصل ضرب مقادیر سفتی در پیوستگی به دست می‌آید. طبق نتایج آنالیز واریانس اثر غلظت‌های مختلف نمک، مدت‌زمان نگهداری و نوع میکروارگانیسم بر صمغیت بافت معنی‌دار بوده ($P < 0.05$) و نوع میکروارگانیسم (X_0) بیشترین اثر را داشت. منحنی‌های سطح پاسخ نشان‌دهنده این است که با افزایش در طول مدت نگهداری

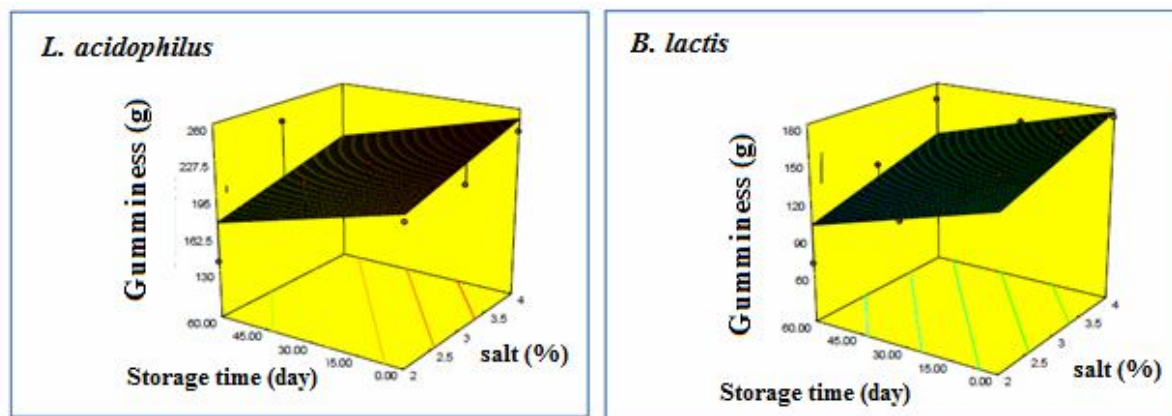


Fig 6 Effect of salt concentration and storage time on gumminess of cheeses prepared with different probiotic bacteria

قرار گرفت. نتایج نشان‌دهنده این بود که افزایش غلظت نمک تا ۴ درصد تأثیری بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک نداشته است و تعداد پروبیوتیک‌ها در طی دوره ۶۰ روزه به طور معنی‌داری، کاهش یافته و در نهایت مقدار باقی‌مانده در میزان قابل قبولی از نظر تعداد پروبیوتیک‌ها در هر گرم قرار داشت (شکل ۷). با مشاهده روند کاهش باکتری‌ها مشخص شد که میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک توانسته‌اند تعداد خود را در سطح مطلوب و مورد نظر حفظ کنند و بنابراین پنیر را می‌توان به عنوان ناقل مناسب پروبیوتیک‌ها به رژیم غذایی معرفی کرد. نتایج حاصل از آنالیز نشان داد که اثرات تیمار، زمان نگهداری و نوع میکروارگانیسم‌ها بر زنده‌مانی هردو باکتری معنی‌دار بوده است همان‌طور که مشخص است روند تغییرات در نمونه‌های دارای باکتری بیفیدوباکتریوم لاکتیس کمتر بوده است و زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس قابل ملاحظه‌تر بوده است. این نتایج با نتایج به دست آمده کسموگلو و همکاران (۲۰۰۹)، برگامینی و همکاران

۳-۵- قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک

طبق نتایج آنالیز واریانس مدت‌زمان نگهداری و نوع میکروارگانیسم اثر معنی‌داری بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک داشتند و بیشترین اثر مربوط به زمان نگهداری (X_2) می‌باشد ولی میزان نمک اثر معنی‌داری بر این پارامتر نداشت ($P > 0.05$). در خصوص اثرات متقابل نیز، تأثیر مدت نگهداری و نوع میکروارگانیسم در سطح احتمال ۹۵٪ معنی‌دار بوده است. نتایج مدل‌سازی و فاکتورهای برازش مدل بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در جدول ۱ نشان داده شده است که حاکی از کفایت مدل برای پیش‌بینی میزان جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک در پنیر می‌باشد.

به منظور تأثیر باکتری‌های پروبیوتیک بر سلامت انسان، این باکتری‌ها باید به تعداد لازم مصرف در محصول وجود داشته باشند لذا تعداد باکتری‌های زنده طی دوره نگهداری مورد بررسی

زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در نمونه‌های دارای غلظت بالای ۴ درصد نمک با اختلال مواجه شده و جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک کاهش می‌یابد که با نتایج ما هم‌خوانی دارد [۲۸]. دیناکار و میستری (۱۹۹۴) نشان دادند که پنیر چدار توانست گونه‌های بیفیدوباکتریوم را تا پایان مدت نگهداری تا جمعیت قابل قبول حفظ نماید [۲۹].

(۲۰۰۶) و احسانی و همکاران (۱۳۹۰) مطابقت دارد [۹، ۲۶ و ۲۷].

بررسی مقالات نشان داد که لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس توانایی سازگار شدن با سایر تنش‌ها را دارد و سازگاری آن در برابر یک تنش می‌تواند مقاومت آن در برابر اکثر تنش‌های غیر مرتبط دیگر را افزایش دهد اما همه تنش‌ها نمی‌توانند این سازگاری را به وجود بیاورند [۲۶]. گویتی و همکاران (۱۹۹۸) عنوان کردند که

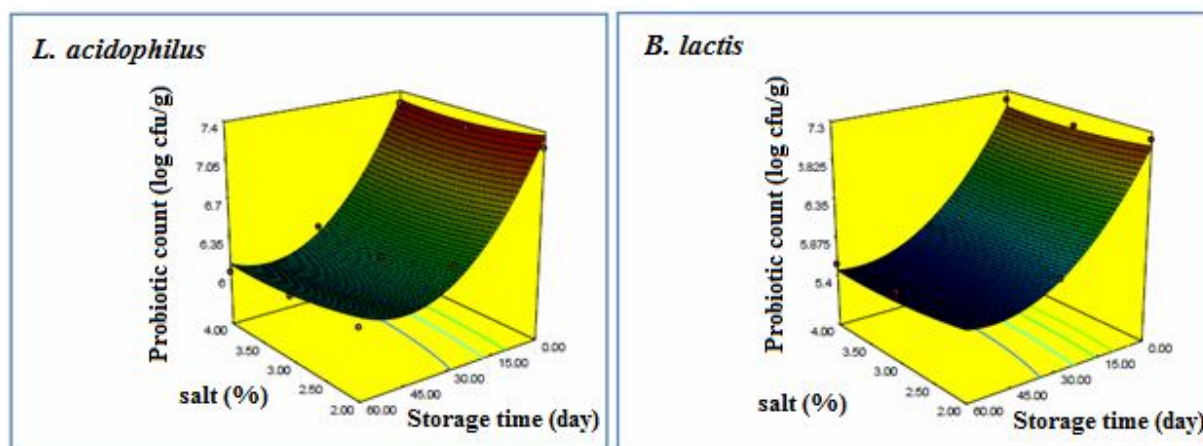


Fig 7 Effect of salt concentration and storage time on probiotic bacteria survive in cheeses prepared with different probiotic bacteria

دادند و براقت بالای این پنیرها را در تمام مراحل زمانی موردبررسی، علت این تمایز ذکر کردند. علاوه بر رنگ، طعم و مزه شاخص ارزیابی مهم توسط مصرف‌کننده و شاید مهم‌ترین پارامتر ارزیابی محسوب می‌شود. ارزیابان حسی طعم و مزه پنیرهای حاوی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس را بیشتر پسندیدند. پنیرهای حاوی سویه پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس دارای بافت و طعم ضعیفی بودند این پنیرها عمدتاً به دلیل رطوبت بیشتر سهم کمتری را در طعم کلی داشتند. لاکتوباسیلوس‌ها در صنعت برای اصلاح بو، طعم و بافت محصولات تخمیری به کار می‌روند [۱]. سویه‌های پروتولیتیک لاکتوباسیلوس‌ها از جمله لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس می‌تواند در ایجاد طعم و مزه در طول رسیدن پنیر از طریق متابولیسم کربوهیدرات‌ها، پروتولیز و مقدار کمی لیپولیز مؤثر باشند. این آنزیم‌ها کازئین را هیدرولیز کرده و پپتیدهای بزرگ و متوسط تولید می‌کنند. این پپتیدها ممکن است بعداً توسط آنزیم‌های پروتولیتیک حاصل از

۳-۶- ارزیابی حسی

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که در بین متغیرها تنها اثر مستقل غلظت نمک بر ویژگی‌های حسی پنیر فرا پالایش تولیدی معنی‌دار بود ($P < 0.05$)، ولی اثر مستقل نوع میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک و مدت زمان نگهداری و همچنین اثرات متقابل این متغیرها بر پذیرش کلی نمونه‌های پنیر معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). با توجه به اینکه ضریب تبیین مدل بالاتر از ۰/۸ و عدم برازش مدل معنی‌دار نمی‌باشد می‌توان گفت که مدل درجه دوم به‌دست‌آمده برای برازش و پیش‌بینی پاسخ موردنظر مناسب می‌باشد (جدول ۱). همان‌گونه که مشاهده می‌شود به‌رغم پایین بودن پذیرش پنیرهای حاوی مقدار کم و زیاد نمک، اما ارزیابان حسی نمرات پایین‌تری به پنیرهای تهیه‌شده با محتوای نمک پایین در مقایسه با بقیه دادند. در خصوص ارزیابی رنگ، ارزیابان حسی امتیاز بیشتری را به پنیرهای حاوی سویه پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس در مقایسه با لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس

اسیدوفیلوس تأثیر مشخصی در پروتئولیز ثانویه داشت [۸]. درخصوص بافت نیز، بیشترین ترجیح معطوف به پنیرهای تهیه‌شده با سویه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و ۳ درصد نمک بود. علت مطلوبیت بافت می‌تواند در نتیجه‌ی پایین بودن رطوبت و بالا بودن ماده خشک در این پنیرها باشد که نتایج مشابهی نیز توسط تاراکسی و همکاران (۲۰۰۴) ذکر شده است [۲۲].

میکرو فلور باکتری‌های استارتر، باکتری‌های غیر اسیدلاکتیکو پروبیوتیک‌های افزوده شده به پپتیدهای کوچک و اسیدآمینه آزاد تجزیه گردد که مهم‌ترین عامل ایجاد طعم پنیر هستند [۲]. تحقیقات توسط برگامینی و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس پاراکازنی در پروتئولیز اولیه مؤثر نبوده‌اند، اما در مراحل بعدی باوجود اثر کم لاکتوباسیلوس پاراکازنی در رسیدگی پنیر، لاکتوباسیلوس

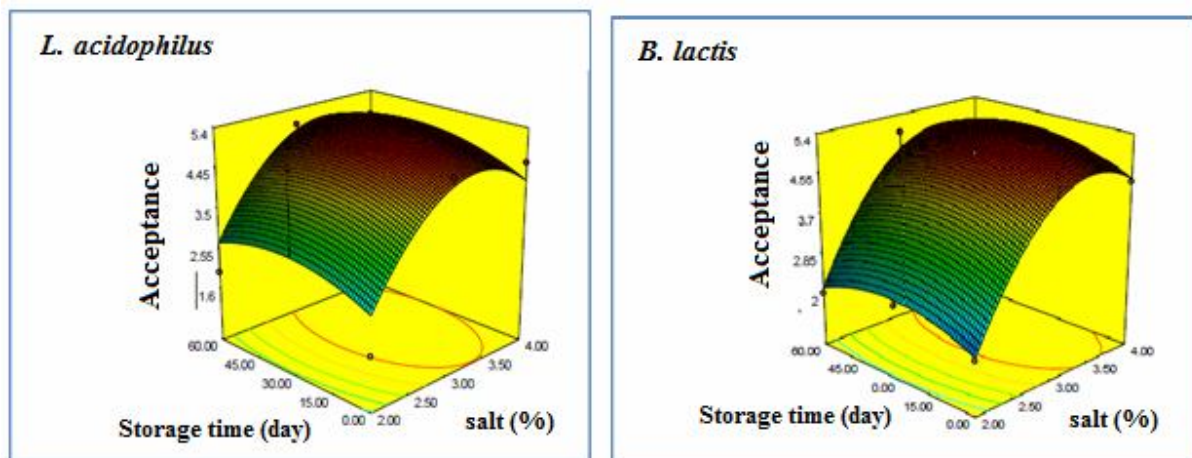


Fig 8 Effect of salt concentration and storage time on overall acceptance of cheeses prepared with different probiotic bacteria

Table 1 Results of response data modeling

adj.R ²	R ²	Prediction model	Properties
0.947	0.960	$Acidity = 80.65 - 4.42x_1 + 13.75x_2 - 3.35x_0 - 1.38x_1x_2 + 2.42x_0x_1 - 9.58x_0x_2$	Acidity
0.990	0.992	$Syneresis = 59.96 + 2x_1 + 3.17x_2 + 5.196x_0$	Syneresis
0.88	0.895	$TS = 37.29 + 1.02x_1 + 0.83x_2 + 0.786x_0$	Total solid
0.935	0.943	$Hardness = 335.72 + 44.41x_1 - 51.64x_2 + 84.19x_0$	Hardness
0.903	0.934	$Cohesiveness = 0.53 - 0.037x_1 + 0.039x_2 - 0.019x_0 - 3.22x_1x_2 - 0.01x_0x_1 - 0.0004x_0x_2 + 0.011x_1^2 + 0.0016x_2^2$	cohesiveness
0.796	0.820	$Gumminess = 176.05 + 17.36x_1 - 21.27x_2 + 36.71x_0$	Gumminess
0.978	0.985	$Survival = 5.98 - 0.049x_1 - 0.68x_1 + 0.22x_0 - 0.025x_1x_2 - 0.023x_0x_1 + 0.1x_0x_2 + 0.052x_1^2 + 0.51x_2^2$	Probiotic survive
0.730	0.816	$Acceptance = 5.11 + 1.05x_1 + 0.077x_0 + 0.025x_1x_2 - 0.18x_0x_1 + 0.033x_0x_2 - 1.27x_1^2 - 0.42x_2^2$	Acceptance

۷-۳- بهینه سازی

در این مطالعه بهینه سازی نهایی متغیرهای کمی (غلظت نمک و مدت نگهداری) در مورد هر دو نوع متغیر کیفی (باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس) جهت دستیابی به شرایط مطلوب (بیشترین مدت نگهداری، میزان زنده ماندن باکتری ها، پذیرش کلی و کمترین میزان نمک و پیوستگی، بدون تأثیر منفی بر ماده خشک، اسیدیته، قابلیت

Table 2 Optimum conditions obtained from the Design Expert software

gumminess	cohesiveness	hardness	acceptance	Probiotic count	Storage time	Salt concentration	Bacteria type
141.22	0.54	255.2	4.2	6.19	17.73	2.61	<i>B. lactis</i>
182.6	0.59	345.7	4.1	6.18	60	2.49	<i>L. acidophilus</i>

۶- منابع

- [1] Ghaemi, H., Hesari, J., & Pourahmad, R. (2012). Production of synbiotic UF Iranian white cheese using *Lactobacillus acidophilus* and inulin. *Electronic Journal of Food Processing & Preservation*. 2(4):19-32.
- [2] Zomorodi, S. H., Razavi-Rohani, M., Khosrowshahi-Asl, A., & Ehsani A. (2009). Surviving of probiotic bacteria *Lactobacillus casei* and its effect on the quality and sensory evaluation of the Iranian white cheese produced by ultrafiltration technique. *Journal of Food Research*. 1(2):1-19.
- [3] Sharma, S. H., Agarwal, N., & Verma, P. (2012). Probiotics: the messengers of health from microbial world. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2:138-143.
- [4] Karimi, R., & Mortazavian, A. M. (2011). Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage. *Journal of Dairy Science & Technology*. 91:283-308.
- [5] Karimi, R., Sohrabvandi, S., & Mortazavian, A. M. (2012). Sensory characteristics of probiotic cheese. *Review in Food Science & Food Safety*. 11:437-451.
- [6] Albarracín, W., Sanchez, I., Grau, R., & Barat, G.M. (2011). Salt in food processing usage and reduction. *International Journal of Food Science & Technology*. 46:1329-1336.
- [7] Katsiari, M.C., Voustsinas, L.P., Alicjanidid, E., & Roussis, L.G. (2000). Lipolysis in reduced sodium Feta cheese made by partial substitution of NaCl by KCl. *International Dairy Journal*. 10:369-373.
- [8] Bergamini, C. V., Hynes, E. R., Quiberoni, A., Suárez, V. B., & Zalazar, C. A. (2005). Probiotic bacteria as adjunct starters: influence

۴- نتیجه گیری کلی

با توجه به تأکید سازمان های بهداشتی بر کاهش میزان مصرف نمک و تمایل مصرف کنندگان به مصرف غذاهای سالم تر، در این تحقیق امکان سنجی کاهش نمک در پنیر سفید پروبیوتیک تهیه شده به روش فراپالایش مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور تأثیر مقادیر مختلف نمک بر ویژگی های کیفی، حسی و زنده ماندن دو سویه باکتری پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس) در طی مدت نگهداری (۶۰ روز) بررسی شد. نتایج نشان داد که امکان تولید پنیر پروبیوتیک با سطح نمک کاهش یافته و با حداقل تأثیر نامطلوب بر ویژگی های کیفی و مقبولیت حسی وجود دارد. امکان کاهش نمک در پنیر تهیه شده با سویه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (۲/۴۹ درصد) در مقایسه با بیفیدوباکتریوم لاکتیس (۲/۶۱ درصد) بیشتر بود علاوه بر این، مدت زمان بهینه نیز برای حفظ جمعیت باکتری های پروبیوتیک و ویژگی های کیفی در این نوع پنیر (۶۰ روز) طولانی تر از پنیر تهیه شده با بیفیدوباکتریوم لاکتیس (۱۸ روز) تعیین شد. با استفاده از مدل های به دست آمده، پیش بینی و اصلاح فرمولاسیون پنیر پروبیوتیک کم نمک امکان پذیر می باشد.

۵- سپاسگزاری

نویسندگان برخود لازم می دانند از تمامی کسانی که در انجام این طرح همکاری نموده اند به ویژه مدیریت و واحد تحقیق و توسعه شرکت شیر پاستوریزه پگاه آذربایجان شرقی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

- on chemical composition and texture of Iranian white cheese. *Journal of Food Engineering*. 81:330-335.
- [19] Guven, M., Yerlikaya, S., & Hayaloglu, A. (2006). Influence of salt concentration on the characteristics of Beyaz cheese, a Turkish white-brined cheese. *INRA. EDP Science*. 86:73-81.
- [20] Prasad, N., & Alvare, V. B. (1999). Effect of salt and chymosin on the physicochemical properties of Feta cheese during ripening. *Journal of Dairy Science*. 82:1061-1067.
- [21] Misuy, V.V., & Kasperson, K.M. (1998). Influence of salt on the quality of reduced fat Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*. 81:1214-1221.
- [22] Tarakci, Z., Sagun, E., Sancak, H., & Durmaz, H. (2004). The Effect of salt concentration on some characteristics in Herby cheese. *Pakistan Journal of Nutrition*. 3:232-236.
- [23] Verdini, R.A., Zorrilla, S.E., & Rubilio, A. C. (2004). Characterization of soft cheese proteolysis by HPLC analysis of its nitrogenous fraction, Effect of ripening time and sampling zone. *Journal of Dairy Scienc*. 14:445-454.
- [24] Jermiah, J. S., & Guinee, T.P. (2004). Effect of pH and calcium level on the biochemical, textural and functional properties of reduced-fat Mozzarella cheese. *International Dairy Journal*. 14:161-172.
- [25] Creamer, L.K., & Olson, N.F. (1982). Rheological evaluation of maturing Cheddar cheese. *Journal of Food Science*. 47:636-646.
- [26] Kasimoglu, A., Goncuoglu, M., & Akgun, S. (2004). Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*. *International Dairy Journal*. 14(12):1067-1073.
- [27] Ehsani, A., Mahmudi, R., Tokmechi, A., & Pajohi, M. R. (2011). Iranian white cheese as a food carrier for probiotic bacteria. *Iranian Journal of Food Science & Technology*. 8(31):77-83.
- [27] Gobbetti, M., Corsetti, A., Smacchi, E., Zocchetti, A., & Deangelis, M. (1998). Production of Crescenza cheese by incorporation of *Bifidobacteria*. *International Dairy Journal*. 81:37-47.
- [27] Dinakar, P., & Mistry, V.V. (1994). Growth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*. 77:2854-2864.
- of the addition methodology on their survival in a semi-hard Argentinean cheese. *International Food Science*. 38:597-604.
- [9] Rulikowska, A., Killale, K.N., Dolan, L.A., Alonso-Gomez, M., Nongonierma, A.B., Hannon, J.A., & Wilkinson, M.G. (2013). The impact of reduced sodium chloride content on Cheddar cheese quality. *International Dairy Journal*. 28:45-55.
- [10] Dorosti, S., Bazmi, A., Ghanbarzadeh, B., & Ayaseh, A. (2010). Effect of partial replacement of NaCl with KCl in cheese-making brine on characteristics of Iranian white cheese. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*. 5(3):67-74.
- [11] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2003). Cheese & processed cheese – determination of total solids, National Standard No. 1753, First Edition.
- [12] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2014). Cheese & processed cheese products -Determination of fat content, National Standard No. 17602, First Edition.
- [13] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2008). Milk & milk products - Determination of titrable acidity and pH, National Standard No. 2852, First Edition.
- [14] Danesh, E., Jooyandeh, H., Samavati, V., & Goudarzi, M. (2017). Effect of enzymatic transglutaminase treatment on textural and sensory properties of low fat UF-feta cheese incorporated with whey proteins using response surface optimization. *Iranian Food Science & Technology Research Journal*. 13(2):282-294.
- [15] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2008). Probiotic yogurt-specifications and test methods, National Standard No. 11325, First Edition.
- [16] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2016). Cheese in brine, specifications & test methods, National Standard No. 2344-1, First Edition.
- [17] Gomes, A. M. P., Vieira, M. M., & Malcata, F. X. (1998). Survival of probiotic microbial strains in a cheese matrix during ripening: simulation of rates of salt diffusion and microorganism survival. *Journal of Food Engineering*. 36:281-301.
- [18] Madadlou, A., Khosrowshahi, A., Ebrahimzadeh-Mousavi, S.M.A., & Farmani, J. (2007). The Influence of brine concentration

The Effect of Different Salt Concentrations on the Physicochemical and Sensory Properties of Probiotic White Cheese Prepared by Ultrafiltration Method

Mahdavi pour, M.¹, Roufegarinejad, L.^{2*}, Alizadeh, A.²

1. Department of Food Science and Technology, University College of Daneshvaran, Tabriz, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

(Received: 2017/11/01 Accepted: 2018/02/10)

Reducing of salt content in cheese production is an important challenge for the dairy industry. Based on consumer demand for functional and healthy food, in this study, the feasibility of salt reduction in ultrafiltered white probiotic cheese was studied. For this purpose, white probiotic cheese was prepared with different levels of salt (2, 3 and 4%) with two probiotic strains (*Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis*) using response surface methodology and central composite design, and evaluated during 60 days storage time. Fitted models showed a high correlation coefficient to predict selected response variables including chemical and sensory characteristics, survival of probiotic bacteria and textural properties in UF-cheese. ANOVA results showed that change in salt concentration had a significant effect on physicochemical characteristics, texture parameters and overall acceptance ($P < 0.05$), while the survival of probiotic bacteria was unaffected. According to the obtained results, by increasing the salt concentration in cheese the syneresis and dry matter, as well as the hardness of the samples increased, while the acidity and cohesiveness were decreased. Viability of probiotic bacteria was affected by storage time, so that the number of *Lactobacillus acidophilus* in low salt probiotic cheese and at the end of storage period was more than *Bifidobacterium lactis*. Lowering the salt content of probiotic cheese led to a lower sensory acceptability. Optimum conditions to produce low salt probiotic cheese through *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus acidophilus* were obtained 2.61% salt (18 days storage) and 2.49% salt (60 days storage), respectively.

Key words: Cheese, Functional Food, Probiotics, Salt, Ultrafiltration

*Corresponding Author E-Mail Address: l.roufegari@iaut.ac.ir