



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

فرمولاسیون پنیر سفید ایرانی غنی شده با پروتئین ماهی قزل آلائی رنگین کمان استخراج شده با هیدرولیز

اسیدی و قلیایی: بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی، بافتی و حسی

حسن نجف زاده^۱، سعید مشکینی^{۲*}، مهسا یوسفی^۳، حامد حسن زاده^{۴*}

۱- کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، موسسه آموزش عالی آفاق، ارومیه، ایران

۲- دانشیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده کشاورزی، موسسه آموزش عالی آفاق، ارومیه، ایران

۳- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، موسسه آموزش عالی آفاق، ارومیه، ایران

۴- استادیار گروه بهداشت و صنایع غذایی، دانشکده پیرامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱/۲۷

کلمات کلیدی:

پنیر سفید ایرانی،

قزل آلائی رنگین کمان،

پروتئین،

غنی سازی.

DOI: 10.22034/FSCT.20.137.88
DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.137.7.7

* مسئول مکاتبات:

s.meshkiniy@yahoo.com,
h.hassanzadeh@ilam.ac.ir

ماهی قزل آلائی رنگین کمان یکی از گونه‌های با ارزش تجاری و جزو ماهی‌های پرورشی و متعلق به آب‌های سرد و شفاف بوده و به لحاظ دارا بودن ترکیبات تغذیه‌ای مطلوب از اهمیت بالایی برخوردار است. بدین منظور برای استخراج پروتئین از ماهی به روش pH-shift از تیمار اسیدی $\text{pH}=3/5$ و تیمار قلیایی $\text{pH}=10/5$ استفاده شد و دو گروه تیمار اسیدی و قلیایی در سطوح ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد به شیر گاو اضافه گردید و سپس ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی مانند درصد رطوبت، pH، اسیدیته، میزان پروتئین، میزان چربی، شمارش میکروبی، خصوصیات بافتی (سختی، پیوستگی، چسبندگی، قابلیت جویدن و صمغیت)، شاخص‌های رنگ و حسی (مانند بو، طعم، بافت، قوام و پذیرش کلی) نمونه‌های پنیر مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که با افزودن درصدهای مختلف پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی، محتوای رطوبتی و اسیدیته، چربی، شاخص قرمزی (a^*) و روشنی (L^*) نمونه‌ها کاهش و پروتئین و pH نمونه‌های پنیر غنی شده به طور معناداری افزایش یافتند ($P \leq 0.05$). همچنین میزان شمارش کلی‌فرم‌ها کمتر از حد مجاز تعریف شده بود و میزان کلی‌فرم‌ها در نمونه‌های غنی شده با پروتئین تیمار اسیدی کمتر از تیمار قلیایی بود. در نمونه‌های پنیر غنی شده با پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی میزان سختی، چسبندگی، پیوستگی، صمغیت و قابلیت جویدن نمونه‌ها به طور معناداری افزایش یافت. همچنین پذیرش کلی در ارزیابی حسی با افزودن سطوح مختلف پروتئین کاهش یافت ولی این کاهش از لحاظ آماری معنادار نبود. پنیر سفید ایرانی یکی از مهم‌ترین و پرمصرف‌ترین فرآورده‌های لبنی شیر است و به منظور غنی سازی و بهبود ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، حسی و بافتی آن از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود که در این بین پروتئین ماهی قزل آلائی رنگین کمان به علت ویژگی‌های تغذیه‌ای مطلوب بیشتر مورد توجه است.

۱- مقدمه

امروزه فرآورده‌های لبنی به عنوان یکی از شاخص‌های توسعه جوامع انسانی عنوان می‌شود و در بین این فرآورده‌ها، پنیر از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است (۱). پنیر مهمترین فرآورده صنعتی شیر است و بر طبق نظر فدراسیون بین‌المللی لبنیات (International Dairy Federation) در سال ۱۹۹۰ بیشترین مقدار شیر تولیدی دنیا، حدود ۳۹ درصد به پنیر تبدیل شد (۲). در بین پنیرهای تولیدی، پنیر سفید ایرانی یکی از مهم‌ترین اقلام عادات غذایی در ایران است و مصرف سرانه آن حدود ۵/۴ کیلوگرم در سال می‌باشد (۳). پنیر سفید ایرانی، پنیری با ساختار متراکم بوده و از شیر گاو، گوسفند و یا مخلوطی از آن‌ها تهیه می‌شود. خصوصیات اصلی طعم آن ترشی و شوری است که به لحاظ خوش طعم بودن از بازار پسندی و مقبولیت زیادی برخوردار است (۴) و حاوی مواد مغذی بسیاری از جمله ویتامین‌هایی مانند C, B₆, B₁₂, A, D, E و K می‌باشد. اضافه کردن پنیر به رژیم غذایی، منجر به تامین مواد معدنی مهمی مانند کلسیم، سدیم، روی، فسفر، پتاسیم و آهن در بدن می‌گردد (۵). خواص سلامت بخشی پنیر شامل محافظت از ابتلا به بیماری‌هایی مانند سرطان، دیابت، پوکی استخوان، خرابی دندان‌ها، ریزش موی سر و چین و چروک پوستی می‌باشد (۶). از طرفی در سال‌های اخیر تحقیقاتی به منظور افزایش ارزش تغذیه‌ای، غنی‌سازی و بهبود خصوصیات فیزیکوشیمیایی و کیفیت بافتی پنیر از منابعی همچون کنسانتره پروتئین سویا (۷)، کنسانتره پروتئین شیر (۸، ۹)، روغن دانه خرفه (۱۰)، روغن آفتابگردان (۱۱)، پروتئین ماهی کپور نقره‌ای (۱۲، ۱۳) و ... استفاده شده است.

امروزه اهمیت آبریان به عنوان یک منبع غذایی بسیار مفید و پروتئین حیوانی با ارزش بر هیچ کس پوشیده نیست به طوری که حدود ۲۰ درصد از پروتئین حیوانی مورد نیاز بشر از این طریق تأمین می‌گردد که جایگاه بسیار رفیعی

محسوب شده و رقابت تنگاتنگی با سایر منابع پروتئین حیوانی دارد (۱۴). در این بین ماهی قزل آلائی رنگین کمان با نام علمی *Oncorhynchus mykiss* یکی از گونه‌های با ارزش تجاری و جزو ماهی‌های پرورشی و متعلق به آب‌های سرد و شفاف بوده و به لحاظ دارا بودن ترکیبات تغذیه‌ای مطلوب از اهمیت بالایی برخوردار است (۱۵). گوشت این ماهی سرشار از پروتئین، ویتامین‌هایی نظیر B, A و D، مواد معدنی همچون کلسیم و فسفر و دارای مقدار کمی آهن، مس و سلنیوم می‌باشد. چربی گوشت این ماهی نیز مفید بوده و از دو نوع اسید چرب غیر اشباع امگا ۳ به نام‌های EPA و DHA تشکیل شده است (۱۶). و به دلیل داشتن اسیدهای آمینه لازم و عوامل محرک رشد اثر مهمی در ترمیم بافت‌ها و سلامتی و شادابی انسان و به طور کلی رشد بدن دارد. از طرفی کمبود پروتئین ماهی سبب عدم تعادل دستگاه عصبی گشته و عقب ماندگی فکری و رنجوری و ضعف جسمانی را در انسان پدید می‌آورد و مقاومت بدن را در برابر بیماری‌های عفونی کاهش می‌دهد (۱۷). در این راستا در طی سال‌های اخیر، تحقیقاتی در زمینه استفاده از پروتئین ماهی به منظور تامین نیاز بدن، غنی‌سازی و بهبود کیفیت مواد غذایی از جمله بستنی (۱۸)، اسنک (۱۹)، ماکارونی (۲۰)، پنیر (۱۲، ۱۳)، سس (۲۱) و ... انجام گرفته است.

در سال‌های اخیر تلاش‌های گسترده‌ای جهت بهبود کیفیت و غنی‌سازی محصولات لبنی انجام گرفته است؛ لذا با توجه به نیاز جامعه به بهبود ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی، هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر پروتئین ماهی قزل آلائی رنگین کمان بر بهبود کیفیت پنیر سفید ایرانی و همچنین تعریف فرمولاسیون نوین جهت تولید پنیری با پروتئین بالا می‌باشد که در آن محصول تولیدی هم از

سطوح ۰/۵، ۱ و ۱/۵٪ مطابق طرح آماری جدول ۱ به ۲/۵، ۵، ۷/۵ گرم در ۵۰۰ سی سی شیر اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه مخلوط گردید. مقدار ۰/۰۴ گرم مایه‌ی کشت آغازگر به شیر اضافه و به مدت ۵۵ دقیقه در دمای 35°C نگهداری شد تا pH به ۶/۲ برسد سپس ۰/۲۵ گرم رنت به شیر افزوده و ۵۰ دقیقه برای تشکیل لخته به آن فرصت داده شد و سپس لخته در قالب‌های مخصوص ریخته و تحت فشار پرس و در آب نمک به مدت ۱۶ ساعت قرار داده شد. پس از گذشت این زمان، لخته‌ها در ظروف پلاستیکی غیرقابل نفوذ به هوا قرار داده و سطح آن‌ها با آب نمک ۱۳٪ پوشانده شدند. بعد از عمل دربندی ظروف، لخته‌ها در دمای 4°C در یخچال نگهداری و بعد از طی دو ماه دوره رسیدن، آزمایش‌ها بر روی نمونه‌های پنیر انجام شد (۲۴).

Table 1. Experimental design of percentage of rainbow trout protein addition in Iranian white cheese samples

Run	rainbow trout protein%
Control	0
F1	0.5% acidic
F2	1% acidic
F3	1.5% acidic
F4	0.5% alkaline
F5	1% alkaline
F6	1.5% alkaline

۲-۲-۳-آزمون‌های شیمیایی

اندازه‌گیری رطوبت، چربی، پروتئین و اسیدیته نمونه‌های پنیر مطابق با روش‌های استاندارد (AACC(2000 و روابط زیر انجام گرفت (۲۵، ۲۶). برای اندازه‌گیری pH

لحاظ تغذیه‌ای و هم از لحاظ خصوصیات حسی و بازارپسندی مورد پسند مصرف کنندگان قرار گیرد.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱-مواد

شیر تازه گاو و ماهی قزل آلا‌ی رنگین کمان 300°C گرمی از بازار محلی ارومیه تهیه گردیدند. اجزای اضافی ماهی‌ها (استخوان، فلس و پوست) جدا و بعد از تمیز کردن، با آب مقطر شستشو و پس از خروج آب اضافه چرخ گردیدند و به صورت تازه مورد آزمون قرار گرفتند.

۲-۲-روش‌ها

۲-۲-۱-استخراج پروتئین از ماهی قزل آلا‌ی رنگین کمان

استخراج پروتئین از عضله ماهی قزل آلا‌ی رنگین کمان به روش pH-shift و از تیمار اسیدی ۳/۵ و تیمار قلیایی ۱۰/۵ استفاده شد که بدین منظور، ابتدا گوشت ماهی چرخ شده با محلول اتانول ۲۰٪ به مدت ۲۴ ساعت مخلوط و چربی آن حذف گردید (۲۲). سپس با ۹ قسمت آب مقطر سرد مخلوط و از اسید استیک و سود ۱ مولار به ترتیب برای تنظیم pH تیمار اسیدی (۳/۵) و قلیایی (۱۰/۵) استفاده و در pH مورد نظر به مدت ۴۸ ساعت توسط مگنت هم زده شد و سپس برای جداسازی قسمت پروتئینی، سوسپانسیون بدست آمده از سانتریفیوژ با دور ۴۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه استفاده گردید و به منظور خالص‌سازی پروتئین استخراجی از تیوب دیالیز 6000°C به مدت ۴۸ ساعت استفاده و سپس توسط دستگاه خشک کن انجمادی خشک و به صورت پودری در آمد و در نهایت پروتئین‌های استخراج شده در کیسه‌های زیپ‌دار در دمای 18°C نگهداری شدند (۲۳).

۲-۲-۲-تهیه پنیر سفید ایرانی

برای تهیه نمونه‌های پنیر، شیر گاو در دمای 35°C گرم و پروتئین استخراج شده از ماهی قزل آلا‌ی رنگین کمان در

نمونه‌ها از دستگاه pH متر دیجیتال (شرکت نیک، آلمان) استفاده گردید (۲۷).

$$\text{معادله (۱)} \quad \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100 = \text{درصد رطوبت}$$

A_1 وزن اولیه نمونه، A_2 وزن ثانویه نمونه است.

$$\text{معادله (۲)} \quad \frac{A_2 - A_1}{W} \times 1000 = \text{درصد چربی}$$

که A_2 وزن بالن و چربی، A_1 وزن اولیه بالن و W وزن اولیه نمونه است.

$$\text{معادله (۳)} \quad \frac{(V - V_1) \times N \times 14 \times F \times 5}{W \times 1000} \times 100 = \text{درصد پروتئین}$$

V حجم اسید مصرفی برای نمونه، V_1 حجم اسید مصرفی برای نمونه شاهد، N نرمالیت اسید کلریدریک مصرفی، F ضریب تبدیل ازت به پروتئین و W وزن نمونه اولیه است.
 معادله (۴) $0.45 \times 100 \times \text{حجم سود مصرفی} = \text{اسیدیته}$

۲-۴-۲-۴- شمارش میکروبی

جهت انجام آزمایش‌های میکروبی، یک گرم از نمونه پنیر در شرایط کاملاً استریل در یک لوله آزمایش کاملاً استریل وزن و ۹ میلی‌لیتر محلول سیترات سدیم ۲٪ به تدریج به نمونه اضافه و با نمونه مخلوط گردید. مخلوط یکنواخت بدست آمده رقت ۰/۱ نمونه است که به عنوان رقت پایه برای تهیه رقت‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفت. سپس برای شمارش باکتری‌های کلی‌فرم از محیط کشت VRBA^۱ و روش کشت صفحه‌ای استفاده گردید. نمونه‌ها در انکوباتور ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند و در نهایت تعداد باکتری‌های کلی‌فرم رشد کرده در هر گرم نمونه با توجه به ضریب رقت و پرگنه‌های شمارش شده محاسبه گردید (۲۵).

۲-۴-۲-۵- رنگ سنجی

رنگ نمونه‌های پنیر با استفاده از روش Papadakis (2002) و عکس برداری با دوربین دیجیتال ۲ مگاپیکسل

(نوع برای ویژن دام، مدل D230-VHD ساخت چین) و برنامه فتوشاپ ۸ تعیین شد. سپس عکس‌ها به نرم افزار فتوشاپ منتقل شدند و از هر نمونه ۵ نقطه به صورت تصادفی انتخاب گردید و میانگین این نقاط به عنوان فاکتورهای رنگ سنجی برای هر نمونه گزارش شد (۲۸).

۲-۶-۲-۲- ارزیابی بافت

ارزیابی بافت پنیر با استفاده از دستگاه بافت سنج (مدل - TA.XTplus، ساخت انگلستان) مورد بررسی قرار گرفت. برای این کار قطعه مکعبی ۱×۱×۱ سانتی‌متر از پنیر جدا گردیده و آزمون آنالیز بافت با استفاده از پروب به قطر ۲۵mm (probe P/25) انجام شد که دوبار با فاصله زمانی ۵ ثانیه و با سرعت ۵ میلی‌متر در ثانیه ۷۵٪ از بافت را فشرده کرد. پارامترهای بافتی گزارش شده شامل سختی، پیوستگی، چسبندگی، قابلیت جویدن و صمغیت بودند (۲۹).

۲-۷-۲-۲- ارزیابی حسی

ارزیابی حسی نمونه‌های پنیر سفید ایرانی مطابق با تست ۵ نقطه‌ای توسط ۱۰ نفر ارزیاب انجام پذیرفت. بدین منظور، نمونه‌ها شماره گذاری شده و از نظر ویژگی‌های حسی مانند بو، طعم، بافت، قوام و پذیرش کلی ارزیابی گردیدند. امتیاز ۵ بیانگر بالاترین کیفیت و امتیاز ۱ نیز بیانگر پایین‌ترین کیفیت برای ویژگی‌های حسی مورد بررسی بوده است.

۲-۸-۲-۲- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش به منظور بهینه‌سازی فرمولاسیون پنیر سفید ایرانی، افزودن پروتئین ماهی قزل آلائی رنگین کمان در سطوح ۰/۵، ۱ و ۱/۵٪ در ۷ تیمار مطابق جدول ۱ براساس طرح کاملاً تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از انجام آزمایشات که در سه تکرار انجام شدند؛ برای آزمون معنی‌داری فاکتور مورد بررسی از روش تجزیه و تحلیل واریانس

(ANOVA^۱) و نرم افزار SPSS (نسخه ۱۶) استفاده شد و برای رسم نمودارها از برنامه Excel استفاده گردید. مقایسات میانگین‌ها نیز از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- آنالیز شیمیایی

با توجه به نتایج آنالیز واریانس (جدول ۲)، با افزودن پروتئین تیمار قلیایی و اسیدی در سطوح مختلف، میزان رطوبت نمونه‌های پنیر به طور معناداری نسبت به نمونه شاهد (۴۵٪) کاهش یافت ($P \leq 0.05$) و کمترین میزان رطوبت (۳۸٪) مربوط به نمونه‌های پنیر غنی شده با پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی ۱/۵٪ بود. دلیل کاهش رطوبت نمونه‌های پنیر را می‌توان افزایش میزان پروتئین در اثر افزودن پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی به نمونه‌های پنیر نسبت داد که منجر به افزایش ماده خشک و کاهش جذب رطوبت نمونه‌ها می‌شود (۱۲). نتایج مشابهی در خصوص کاهش رطوبت با افزودن پروتئین ماهی کپور نقره‌ای (۱۳)، پروتئین سویا (۷) و پروتئین شیر (۹) در نمونه‌های پنیر غنی شده بیان شده است (۱۳). اسیدیته و pH از فاکتورهای مهم در پنیر بوده که تاثیر زیادی روی پایداری و شرایط رشد میکروارگانیسم‌ها، فعالیت آنزیمی و سرعت واکنش‌های بیوشیمیایی در طی رسیدن دارند (۳۱). با توجه به نتایج حاصله (جدول ۲)، با افزایش درصد افزودن تیمار اسیدی در نمونه‌های پنیر، در میزان pH و اسیدیته به ترتیب به طور معناداری کاهش و افزایش مشاهده شد که در تیمار قلیایی این حالت برعکس بود ($P \leq 0.05$) و همچنین میزان pH و اسیدیته نمونه‌ی شاهد با تیمار اسیدی ۰/۵٪ اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). دلیل افزایش اسیدیته و کاهش pH طی دوره نگهداری را می‌توان ناشی از تخمیر لاکتوز و تولید اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب در اثر

پروتئولیز و لیپولیز بیان کرد؛ بنابراین استفاده از تیمار قلیایی منجر به کاهش تولید اسید و جلوگیری از ترش شدن بیش از حد پنیر است که این امر محقق شده است (۳۲). در پژوهشی که توسط رشیدی (۲۰۱۶) انجام شده است، بیان شد که افزودن پودر پروتئین شیر اثر معناداری بر pH و اسیدیته نمونه‌های پنیر نداشت (۳۳). همچنین افزودن پروتئین زغال ماهی به بستنی نیز تاثیر معناداری بر pH و اسیدیته نداشت (۱۸). با توجه به نتایج حاصله (جدول ۲)، با افزودن سطوح مختلف پروتئین تیمار قلیایی و اسیدی، چربی نمونه‌های پنیر به طور معناداری کاهش یافت ($P \leq 0.05$) که کاهش درصد چربی در نمونه‌های غنی شده با تیمار اسیدی به طور نسبی بیشتر از تیمار قلیایی بود و پنیر غنی شده با پروتئین تیمار اسیدی ۱/۵٪ دارای کمترین میزان چربی در بین تمام نمونه‌ها بود؛ از طرفی نمونه‌ی پنیر غنی شده با تیمار قلیایی ۰/۵٪ با نمونه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). علت کاهش چربی در نمونه‌های غنی شده با پروتئین تیمار اسیدی در مقایسه با تیمار قلیایی را می‌توان در روش تهیه پروتئین استخراجی و حذف چربی‌ها در مرحله نخست بیان کرد و از طرفی شکسته شدن چربی‌ها و انحلال بیشتر آن در آب می‌تواند دلیلی بر کاهش جداسازی چربی‌ها با استفاده از تیمار قلیایی در مقایسه با تیمار اسیدی باشد (۳۴). نتایج مشابهی در خصوص کاهش چربی با افزودن پروتئین شیر در پنیر بیان شده است (۹). ولی با افزودن پروتئین ماهی کپور نقره‌ای میزان چربی نمونه‌های پنیر افزایش یافت که علت آن را افزودن مواد اولیه مختلف در فرمولاسیون بیان کردند (۱۲) و (۱۳). از طرفی افزودن پروتئین زغال ماهی بر بستنی تاثیر معناداری نداشت (۱۸). با توجه به نتایج حاصله با افزایش درصد پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی، میزان پروتئین نمونه‌های پنیر غنی شده به طور معناداری افزایش یافت ($P \leq 0.05$). افزودن پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی به شیر منجر به افزایش پروتئین شیر شد که علت آن را می‌توان

1- Analysis of variance

آبگیری و سینرزیس با شدت بیشتر رخ می‌دهد (۳۵). نتایج مشابهی در خصوص افزایش پروتئین در پنیر با افزایش پودر پروتئین شیر (۳۳)، کنسانتره پروتئین سویا (۷) و ماهی کپور نقره‌ای (۱۳) بیان شده است.

تغییر در نسبت بین کازئین و نمک‌های محلول شیر بیان کرد که باعث تجمع سریع‌تر میسل‌های پاراکازئین و تشکیل شبکه ژلی با دانه‌های درشت‌تر می‌شود و در نتیجه پنیر تولیدی دارای خلل و فرج بیشتری است و پس از برش،

Table 2. Chemical analysis of cheese samples enriched with rainbow trout protein

Sample	Moisture (%)	pH	Acidity (% lactic acid)	Fat (%)	Protein (%)
Control	45.02±20.02 ^a	4.02±0.041 ^c	0.81±0.03 ^b	35.00±0.08 ^c	14.40±0.02 ^d
F1	43.21±0.14 ^b	4.01±0.01 ^c	0.80±0.03 ^b	37.003±1.15 ^{bc}	17.49±0.22 ^c
F2	40.33±0.33 ^d	3.91±0.02 ^d	0.85±0.05 ^a	38.08±0.08 ^b	18.50±0.29 ^b
F3	38.50±0.28 ^e	3.90±0.026 ^d	0.83±0.03 ^a	40.02±1.17 ^a	22.60±0.04 ^a
F4	43.50±0.17 ^b	4.71±0.01 ^b	0.75±0.03 ^d	36.49±0.58 ^{bc}	17.30±0.15 ^c
F5	42.15±0.44 ^c	4.71±0.05 ^b	0.76±0.1 ^d	39.06±1.21 ^{ab}	18.65±0.13 ^b
F6	38.00±0.01 ^e	4.79±0.06 ^a	0.78±0.03 ^c	40.55±0.05 ^a	22.52±0.06 ^a

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد می‌باشند.

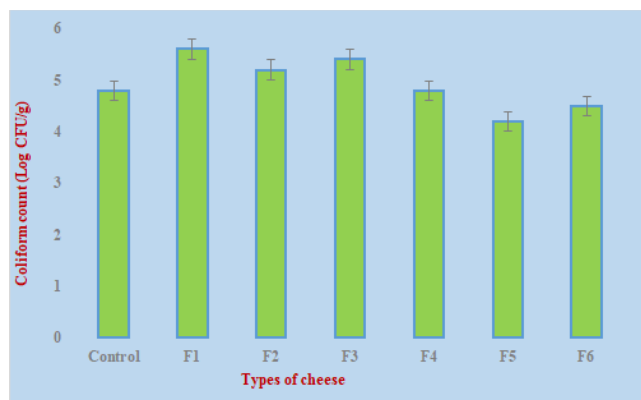


Fig 1. Coliform count (Log CFU/g) of cheese samples enriched with rainbow trout protein

۲-۳- آنالیز شمارش کلی‌فرم‌ها

با توجه به نتایج آنالیز واریانس (شکل ۱)، افزودن پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی در سطوح مختلف اثر معناداری بر شمارش کلی‌فرم‌های نمونه‌های پنیر داشت ($P \leq 0.05$) و میزان کلی‌فرم‌ها کمتر از حد مجاز تعریف شده (بیشینه 10 cfu/g) بودند که این امر عدم آلودگی نمونه‌های پنیر غنی شده را نسبت به باکتری‌های کلی‌فرم نشان می‌دهد؛ از طرفی بیشترین تعداد کلی‌فرم در نمونه‌های پنیر غنی شده با پروتئین تیمار قلیایی مشاهده گردید. به نظر می‌رسد افزودن پروتئین تیمار اسیدی به نمونه‌ها باعث تجزیه شدن و از بین بردن کلی‌فرم بیشتری نسبت به تیمار قلیایی می‌شود (۱۸). نتایج مشابهی درخصوص کاهش شمارش کلی‌فرم‌ها در بستنی غنی شده با پروتئین زغال ماهی (۱۸) و نمونه‌های پنیر غنی شده با ماهی کپور نقره‌ای گزارش شده است (۱۲).

۳-۳- رنگ سنجی

رنگ ماده غذایی به عنوان یکی از مهم‌ترین پارامترهای ظاهری در درک کیفیت محصول نزد مصرف‌کننده می‌باشد. با توجه به نتایج آنالیز واریانس (شکل ۲)، با افزایش درصد افزودن پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی، L^* یا روشنی نمونه‌ها نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت که به علت تجزیه رنگیزه‌هایی مانند هموگلوبین، نمونه‌های پنیر تهیه شده با تیمار اسیدی دارای رنگ روشن‌تری نسبت به نمونه-

شمار می‌رود. با توجه به نتایج حاصله، با افزایش پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی در نمونه‌های پنیر میزان سختی^۱، چسبندگی^۲، پیوستگی^۳، صمغیت^۴ و قابلیت جویدن^۵ نمونه‌ها به طور معناداری افزایش یافت ($P \leq 0.05$) (شکل ۳). بیشترین میزان سختی در پنیر با تیمار اسیدی ۱/۵٪ مشاهده شد. با افزایش پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی در شیر، میزان چربی و مقدار رطوبت پنیر طی دوره‌ی نگهداری در آب نمک کاهش می‌یابد که به عنوان عامل موثر در افزایش سفتی بافت می‌توان بیان کرد (۳۷). پیوستگی به عنوان مقاومت داخلی ساختار ماده غذایی، چسبندگی بین اجزای داخلی ماده را مشخص می‌کند (۳۸). پیوستگی نمونه‌های پنیر غنی شده با افزایش پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی افزایش یافت و بیشترین پیوستگی در تیمار اسیدی و قلیایی ۱/۵٪ مشاهده شد. افزایش پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی منجر به افزایش استحکام پیوندهای داخلی ذرات دلمه شده و نمونه در برابر فشارهای وارده به آسانی تغییر شکل نمی‌دهد و در نتیجه پیوستگی افزایش می‌یابد (۳۹). با توجه به نتایج حاصله، چسبندگی بافت نمونه‌های پنیر غنی شده با پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی به طور معناداری افزایش یافت ($P \leq 0.05$). بیشترین میزان چسبندگی در پنیر غنی شده با پروتئین ماهی قلیایی ۱ و ۱/۵٪ مشاهده شد. با افزایش مقدار پروتئین، ساختار پروتئینی دلمه قوی‌تر شده و توانایی آن برای برگشت به حالت اولیه پس از برداشتن فشار بیشتر می‌شود (۴۰). صمغیت و قابلیت جویدن پارامترهایی بر پایه سختی هستند و معمولاً رفتار مشابهی با آن دارند و قابلیت جویدن انرژی لازم برای جویدن و صمغیت مقاومت ماده در برابر جویدن را نشان می‌دهد (۳۸). با توجه به نتایج آنالیز، با افزایش افزودن پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی، صمغیت و قابلیت جویدن نمونه‌های

های حاوی پروتئین تیمار قلیایی می‌باشند (۳۶). بالاترین و کمترین شاخص L^* به ترتیب در نمونه حاوی پروتئین تیمار قلیایی و اسیدی ۱/۵٪ و پروتئین تیمار اسیدی ۱٪ مشاهده شد. افزودن پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی در سطوح مختلف اثر معناداری بر شاخص قرمزی (a^*) و زردی (b^*) نمونه‌ها نداشت ($P > 0.05$). نمونه شاهد بالاترین شاخص a^* را نشان داد و بالاترین و کمترین شاخص b^* به ترتیب در نمونه شاهد و پنیر غنی شده با پروتئین تیمار قلیایی ۱/۵٪ مشاهده شد. نتایج مشابهی در مورد کاهش روشنی رنگ پنیر در اثر افزودن پروتئین شیر به پنیر (۳۳) و پروتئین ماهی کپور به ماکارونی (۲۰) گزارش شده است.

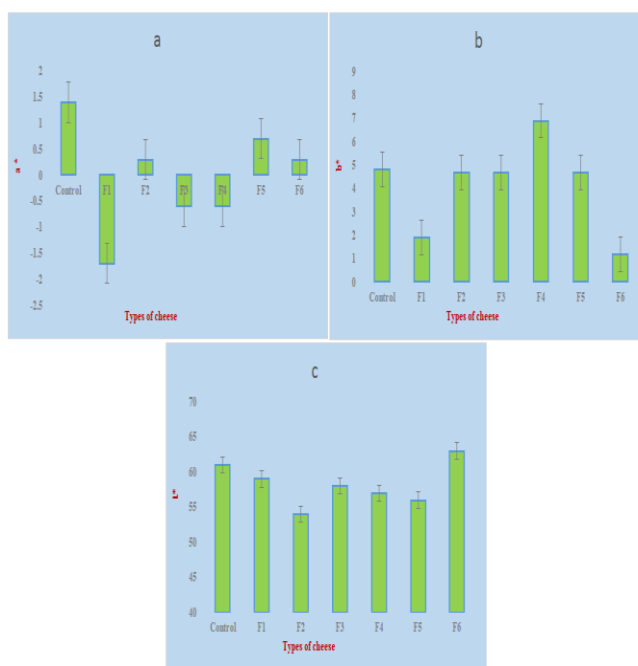


Fig 2. Evaluation of color indices a^* (a), b^* (b) and L^* (c) in cheese samples enriched with rainbow trout protein

۳-۴- آنالیز بافت

از آنجاییکه بافت پنیر در پذیرش محصول توسط مصرف کننده بسیار تاثیرگذار است، ویژگی مهمی از نظر کیفیت به

1-Hardness
2-Adhesiveness
3-Cohesiveness
4-Gumminess
5-Chewiness

زغال ماهی به بستنی منجر به کاهش پیوستگی نرمی بافت گردید (۱۸).

پنیر غنی شده به طور معناداری افزایش یافت ($P \leq 0.05$). از طرفی بیشترین صمغیت در نمونه‌های پنیر غنی شده با پروتئین ماهی اسیدی ۱ و ۱/۵٪ مشاهده گردید و نمونه‌های پنیر غنی شده با پروتئین ماهی اسیدی بیشترین افزایش را در قابلیت جویدن داشتند. با افزایش مقدار پروتئین، شبکه پروتئینی تشکیل دهنده دلمه متراکم‌تر شده و حرکت نسبی دو فاز پروتئین و چربی نسبت به همدیگر کمتر و سخت‌تر می‌شود و در نتیجه میزان چسبندگی افزایش و در نتیجه میزان صمغیت و قابلیت جویدن نیز افزایش می‌یابد (۴۱). نتایج مشابهی درخصوص آنالیز بافتی با افزودن پروتئین شیر به نمونه‌های پنیر (۹، ۳۳) بیان شده است و افزودن پروتئین

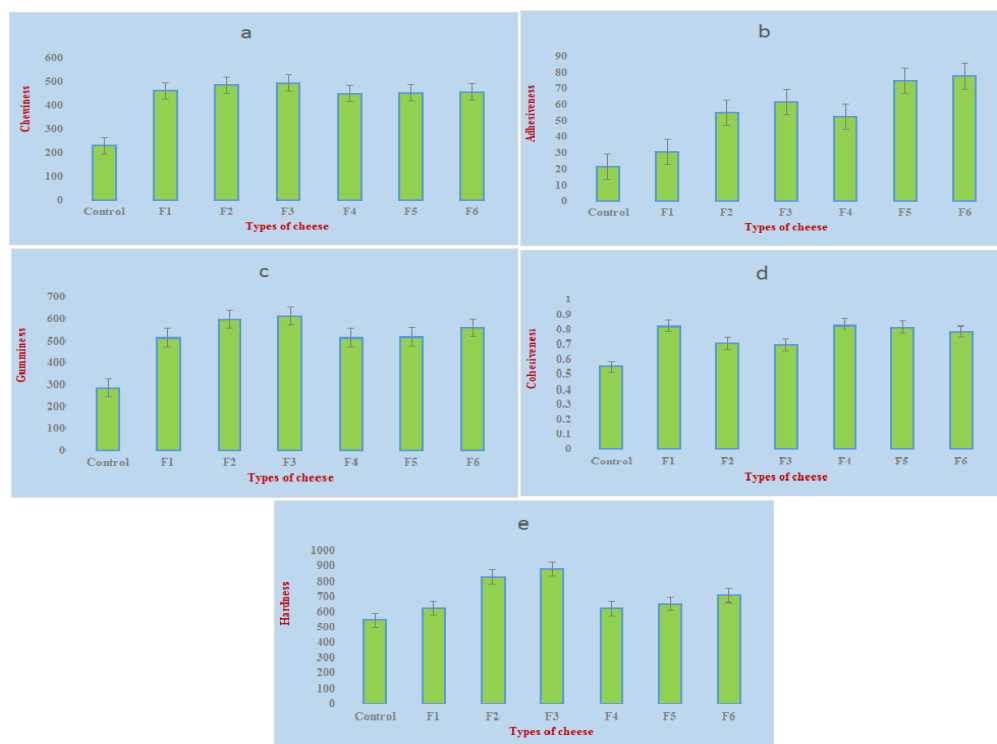


Fig 3. Texture analysis of cheese samples enriched with rainbow trout protein (a: Chewiness, b: Adhesiveness, c: Gumminess, d: Cohesiveness, e: Hardness)

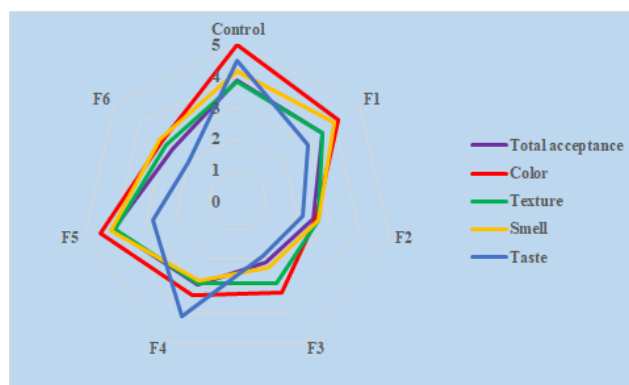
واریانس (شکل ۴)، نشان دهنده عدم معناداری مدل پیش بینی کننده برای تمام پارامترها بود ($P > 0.05$). از طرفی با افزودن پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی در سطوح مختلف، امتیاز نمونه‌ها از لحاظ قابلیت پذیرش و ویژگی‌های حسی کاهش یافت. رنگ تیره حاصله در پنیرها در نتیجه افزودن

۳-۵- آنالیز حسی

در این مطالعه، ارزیابی حسی پنیر با پنج شاخص بافت، طعم، بو، رنگ و پذیرش کلی انجام گرفت. نتایج آنالیز

آلای رنگین کمان به علت ویژگی‌های تغذیه‌ای مطلوب بیشتر مورد توجه است؛ بنابراین در این پژوهش اثر پروتئین ماهی قزل آلائی رنگین کمان در سطوح ۰/۵، ۱، ۱/۵٪ به صورت تیمار اسیدی و قلیایی بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، بافتی و حسی پنیر سفید ایرانی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که با افزودن درصدهای مختلف پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی، محتوای رطوبتی و اسیدیته، چربی، شاخص قرمزی (a^*) و روشنی (L^*) نمونه‌ها کاهش و پروتئین و pH نمونه‌های پنیر غنی شده به طور معناداری افزایش یافتند ($P \leq 0.05$). همچنین میزان شمارش کلی‌فرم‌ها کمتر از حد مجاز تعریف شده بود که در نمونه‌های غنی شده با پروتئین تیمار اسیدی میزان کلی‌فرم‌ها کمتر از تیمار قلیایی بود. با افزایش میزان پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی در نمونه‌های پنیر غنی شده میزان سختی، چسبندگی، پیوستگی، صمغیت و قابلیت جویدن نمونه‌ها به طور معناداری افزایش یافت ($P \leq 0.05$). همچنین پذیرش کلی در ارزیابی حسی با افزودن سطوح مختلف پروتئین کاهش یافت ولی این کاهش از لحاظ آماری معنادار نبود ($P > 0.05$) و بیشترین امتیاز در پذیرش کلی به نمونه پنیر غنی شده با تیمار قلیایی ۱٪ توسط ارزیابان تعلق گرفت. به طور کلی نتایج حاصله نشان داد که نمونه حاوی ۰/۵٪ پروتئین تیمار قلیایی و اسیدی کیفیت بهتری نسبت به سایر نمونه‌ها داشته و استفاده از آن می‌تواند به عنوان یک عامل بهبود دهنده مناسب برای افزایش ارزش تغذیه‌ای پنیر سفید ایرانی معرفی کرد.

پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی از نظر ارزیاب‌ها مطلوب نبود. همچنین با افزایش سطح پروتئین در فرمولاسیون پنیر، امتیاز پذیرش طعم و بافت کاهش یافت. در نهایت از لحاظ پذیرش کلی، با افزایش جایگزینی پروتئین تیمار اسیدی و قلیایی امتیاز پذیرش کلی کاهش یافت ولی با این حال بالاترین امتیاز در پذیرش کلی به نمونه پنیر غنی شده با تیمار قلیایی ۱٪ با میانگین امتیاز ۴/۰۸ توسط ارزیابان تعلق گرفت. نتایج مشابهی درخصوص کاهش پذیرش کلی با افزودن پروتئین زغال ماهی در بستنی (۱۸) بیان شده است و همچنین افزودن کنسانتره پروتئین ماهی کپور نقره‌ای به ماکارونی در سطح ۰/۵٪ از نظر ارزیابان مطلوب بود (۲۰).



شکل ۴. نمودار عنکبوت برای ارزیابی تجزیه و تحلیل حسی ۱- در نمونه‌های پنیر غنی شده با پروتئین قزل آلائی رنگین کمان
2- Fig 4. Spider plot for evaluation of sensory analysis in cheese samples enriched with rainbow trout protein

۴- نتیجه گیری کلی

پنیر سفید ایرانی یکی از مهم‌ترین و پرمصرف‌ترین فرآورده‌های لبنی شیر است و به منظور غنی سازی و بهبود ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، حسی و بافتی آن از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود که در این بین پروتئین ماهی قزل

۵- منابع

- [1] Alizadeh, M., Hamed, M and Khosroshahi, A. 2006. Modeling of proteolysis and lipolysis in Iranian white brine cheese. *Food Chemistry*, 97: 294-301.
- [2] Hesari, J., Ehsani M. R., Khosroshahi A and Ghaemi, N. 2004. Effect of psychrotrophic bacteria and somatic cell count on proteolysis and sensory properties of UF white cheese. *Journal of Iranian Food Science and Technology Research*, 1(2): 43-54.
- [3] Madadlou, A., Khosrowshahi, A and Mousavi, M. E. 2005. Rheology, microstructure and functionality of low-fat Iranian White cheese made with different concentrations of rennet. *Journal of Dairy Science*, 88: 3052-3062.
- [4] Erdem, Y. K. 2005. Effect of ultrafiltration, fat reduction and salting on textural properties of white brined cheese. *Journal of Food Engineering*, 71: 366-372.
- [5] Buriti, F.C.A., Cardarelli, H.R and Saad, S.M.I. 2007. Synbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin & *Lactobacillus paracasei* in coculture with *Streptococcus thermophilus*. *Food Chemistry*, 104: 1605-1610.
- [6] Fathi-Achachlouei, B., Hesari, J., Azadmard-Damirchi, S., Peighambari, S.H and Esmaili, M. 2013. Manufacture of functional cheese using olive and canola oils. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 8(1): 92-81.
- [7] Rinaldoni, A. Palatnik, D. Zartizky, N and Compderros, M. 2013. Soft cheese-like product development enriched with soy protein concentrate. *Food science and Technology*, 1-9
- [8] Francolino, S. Locci, F. Ghiglietti, R. Iezzi, R and Mucchetti, G. 2010. Use of milk protein concentrate to standardize milk composition in Italian citric Mozzarella cheese making. *Food Science and Technology*, 43:310-314 .
- [9] Shakeel-Ur-Rehman, Farkye NY, Considine T, Schaffner A and Drake MA, 2003. Effect of standardization of whole milk with dry milk protein concentrate on the yield and ripening of reduced-fat Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science* 86:1608-1615.
- [10] Keyvani, M and Bolandi, M. 2018. Physicochemical and organoleptic properties of Lighvan cheese fortified with *Protulaca oleracea* seed oil. *Journal of Chemical Health Risks*, 5(1):
- [11] Taghvaie, Z., Taslimi, A and Mazloumi, M. 2006. Study of the Low Cholesterol White Cheese Production With Sunflower Oil. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 13(1): 1-11.
- [12] Safari, R and Yaghobzadeh, Z. 2015. Evaluation of the nutritional value of fish cheese produced from silver carp fish (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 11(4): 485-495
- [13] Safari, R. 2009. Production of fish cheeses from silver carp by acid coagulation. *Iranian Fisheries Research Organization*, 1-58
- [14] Ajdari, M. 2011. Making ice cream from silver carp protein concentrate. PhD Thesis. 10 pages.
- [15] Bergh, Q., iras, J.C., Segner, H., Wahli, T and Kapoor, B.G. 2008. Bacterial diseases of fish. In: *Fish Diseases*. E (eds). Science publisher. New Hampshire, USA. p. 255.
- [16] Skibsted, L.H. 2012. Carotenoids in Antioxidant Networks. Colorants or Radical Scavengers". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(10): 2409-2417.
- [17] Yalcin, H. 2017. Supplemental Fish Oil and Its Impact on N- 3 Fatty Acids in Eggs. *Poultry Science*, 373-381.
- [18] Shaviklo, G. R; Thorkelsson, G; Sveinsdottir, K and Rafipour, F. 2011. Chemical properties and sensory quality of ice cream fortified with fish protein. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(7): 1199-1204.
- [19] Shaviklo, G. R; Thorkelsson, G; Arason, S; Kristinnsson, H. G and Sveinsdottir, K. 2010. The influence of additives and drying methods on quality attributes of fish protein powder made from saithe (*Pollachius virens*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(12): 2133-2143.
- [20] Kamali, S., Khanipour, A.A., Zareh Ghashty, Gh and Noghani, F. 2018. The Effect of Enrichment noodle Produced by Industrial Method with Fish Protein Concentrate. (*Hypophthalmichthys molitrix*) on Taste. *Advanced Aquaculture Sciences Journal*, 1(3): 109-116.
- [21] Beddows C.G., Ardeshtir, A.G. 1992. The production of soluble fish protein solution for use sauce manufacture. *Journal of Food Technology*, 14: 603.
- [22] Mizuta, S., Hwang, J and Yoshinaka, R. 2002. Molecular species of collagen from wing muscle of skate (*Raja kenoi*). *Food Chemistry*, 76:53-58.
- [23] Natseba, A., Lwalinda, I., Kakura, E., Muyanja, C.K and Muyonga J.H. 2005. Effect of pre-freezing icing duration on quality changes in frozen Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Research International*, 38(4): 469-474.
- [24] Bahrami, B., Alizadeh, M. and Hassanzadeh, H., 2017. Kinetic Analysis of Antioxidant Changes in Domestic Cheese with Haven Extract Made in Clay Jugs during the Proteolysis Progress. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 12(2), pp.87-95.

- [25] Bahrami, Bashir, Alizadeh Khaled Abad, Mohammad, Hasanzadeh Ochtapeh and Hamed, 2019. The effect of Havan extract on the kinetics of changes in nitrogen factors during storage in salt water and the ripening stage in traditional jar cheese. *Iran Journal of Food Sciences and Industries*, 15(85), pp.279-289
- [26] Hassanzadeh, O.H., Alizadeh, K.M. and Rezazadbari, M., 2013. Determination of the optimal condition of fungal rennet clotting activity by response surface methodology, 23(1), pp. 1-13.
- [27] Hassanzadeh, H., Alizadeh, M. and Bari, M.R., 2016. Kinetic Modeling and Optimization of Milk Coagulation Affected by Several Prevalent Cheesemaking Factors and Essence Addition. *International Journal of Food Engineering*, 12(5), pp.421-428.
- [28] Papadakis, T. 2000. Flaxseed in breadmaking: Effects on sensory quality, aging, and composition of bakery products *Journal of Food Science*, 71: pp. 343-351.
- [29] Lu, T.M., Lee, C.C., Mau, J.L., and Lin, S.D. 2010. Quality and antioxidant property of green tea sponge cake. *Food Chemistry*, 119(3): 1090-1095.
- [30] Shahidi, F., Khalilian, S., Mohebbi, M and Fathi, M. 2011. Apple Pastille Formulation and Evaluation of Different Formula Based on Sensory Properties and Water Activity. *Iranian Food Science and Technology*, 7(2): 129-136.
- [31] Ardo, Y., and H.E. Pettersson, 2002. Accelerated cheese ripening with heat treated cells of *Lactobacillus helveticus* and a commercial proteolytic enzyme. *Journal of Dairy Research*. 55(2): 239-245.
- [32] Dervisoglu, M., and F. Yazici, F. 2001. Ripening changes of Kulek cheese in wooden and plastic containers. *Journal of Food Engineering*, 48(3): pp.243-249. 32] Rashidi, H. 2016. Application of MPC and *Lactobacillus paracasei* in the manufacturing of low-fat Lactic cheese and determination of chemical, sensory and physical characteristics. *Journal of Food Industry Research*, 26(3): 469-479.
- [33] Rashidi, H. 2016. Application of MPC and *Lactobacillus paracasei* in the manufacturing of low-fat Lactic cheese and determination of chemical, sensory and physical characteristics. *Journal of Food Industry Research*, 26(3): 469-479.
- [34] Kristinsson, H and Liang, Y. 2006. Effect of pH_shift processing and surimi processing on Atlantic croaker (*Micropogonias undulates*) muscle proteins. *Journal of Food Science*, 71:304-312.
- [35] Broome, M.C., Tan, S.E., Alexander, M.A and Manser, B. 1998. Low-concentration-ratio ultrafiltration for Cheddar cheese manufacture. *Australian Journal of Dairy Technology*, 53:5-10.
- [36] Hultin, H.O., Kristinsson, H.G., Lanier, T.C and Park, J.W. 2005. Process for recovery of functional proteins by pH shifts. In: (Parck J. ed), *surimi and surimi Sea Food*, Boca Raton: Taylor and Francis Group, 107-139.
- [37] Caro L, Soto S, Franco MJ, Meza-Nieto M, Alfaro-Rodriguez RH, and Mateo J, 2011. Composition, yield and functionality of reduced-fat Oaxaca cheese: effect of using skim milk or a dry milk protein concentrate. *Journal of Dairy Science*, 94:580-588.
- [38] Mohtarami, F; (2018). " Effect of Carrot Pomace Powder and Dushab (Traditional Grape Juice Concentrate) on the Physical and Sensory Properties of Cakes: A Combined Mixtures Design Approach". *Current Nutrition & Food Science*, 14: pp. 1-11.
- [39] Cooke, D.R., Khosroshahi, A and Mcsweeney, P.L.H. 2013. Effect of gum tragacanth on the rheological and functional properties of full-fat and half-fat cheddar cheese. *Dairy Science and Technology*, 93(1):45-62.
- [40] Zisu, B and Shah, NP. 2005. Textural and functional changes in low-fat Mozzarella cheese in relation to proteolysis and microstructure as influenced by the use of fat replacers, pre-acidification and EPS starter. *International Dairy Journal*, 15: 957-972.
- [41] Rudan MA, Barbano DM, Yun JJ and Kindstedt PS, 1999. Effect of fat reduction on chemical composition, proteolysis, functionality and yield of Mozzarella cheese. *Journal of dairy science*, 82: 661-672.



Formulation of Iranian white cheese enriched with rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) protein extracted by acid and alkaline hydrolysis: investigation of physicochemical, microbial, textural and sensory characteristics

Hassan Najafzadeh¹, Saeed Meshkini^{*2}, Mehsa Yousefi³, Hamed Hassanzadeh^{4*}

1- Master of Science and Food Industry, Faculty of Agriculture, Afaq Institute of Higher Education, Urmia, Iran

2- Associate Professor, Department of Food Health and Quality Control, Faculty of Agriculture, Afaq Institute of Higher Education, Urmia, Iran

3- Assistant Professor, Department of Food Science and Industry, Faculty of Agriculture, Afaq Institute of Higher Education, Urmia, Iran

4- Assistant Professor, Department of Health and Food Industry, Faculty of Paraveterinary Medicine, Ilam University, Ilam, Iran

ABSTRACT

ARTICLE INFO

Rainbow salmon is one of the species with commercial value and is one of the farmed fish belonging to cold and clear waters, and it is of great importance in terms of having optimal nutritional compounds. For this purpose, to extract protein from fish by pH-shift method, (pH = 3.5) acid treatment and (pH = 10.5) alkaline treatment were used, and two groups of acid and alkaline treatments were at the levels of 0.5%, 1% and 1.5%. It was added to cow's milk and then physicochemical characteristics such as moisture percentage, pH, acidity, protein content, fat content, microbial count, textural properties (hardness, cohesiveness, stickiness, chewability and gumminess), color and sensory indicators (such as smell, taste, texture, consistency and overall acceptance) of the cheese samples were evaluated. The results showed that by adding different percentages of acid and alkaline treatment protein, moisture content and acidity, fat, redness index (a^*) and lightness (L^*) of the samples decreased and protein and pH of the cheese samples enriched significantly increased ($P \leq 0.05$). Also, the count of coliforms was less than the defined limit, and the total amount of forms in samples enriched with acid treatment was lower than alkaline treatment. In the samples of cheese enriched with acid and alkaline treatment protein, the degree of hardness, stickiness, cohesiveness, gumminess and chewability of the samples increased significantly. Iranian white cheese is one of the most important and widely consumed milk dairy products, and in order to enrich and improve its physicochemical, sensory and textural characteristics, various methods are used. Among the proteins of rainbow salmon, it is more interesting due to its favorable nutritional characteristics.

Article History:

Received: 2023/5/2

Accepted: 2023/4/16

Keywords:

Iranian White Cheese,
Rainbow Trout,
Protein,
Enrichment

DOI: 10.22034/FSCT.20.137.88

DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.137.7.7

*Corresponding Author E-Mail:
s.meshkinij@yahoo.com ;
h.hassanzadeh@ilam.ac.ir