مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله:www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

ارزیابی و مقایسه تاثیر *بیفیدوباکتربیفیدوم* و *انتروکوکوس فاسیوم* به صورت سویه تک و ترکیبی بر ترکیبات موثر بر عطر و طعم پنیر فراپالایش

عطیه حبیبی[۱]، علیرضا شهاب لواسانی[۲*]، سید امیرمحمد مرتضویان فارسانی[۳]، سید ابراهیم حسینی[٤] ، حامد زارعی[٥]

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

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

۳- گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

٤- گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

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

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰ /۰۵/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۳۰

کلمات کلیدی:

پنیر پروبیوتیک فراپالایش،

زنده مانی،

آروما،

ارزیابی حسی.

DOI: 10.52547/fsct.18.119.349

* مسئول مکاتبات:

shahabam20@yahoo.com

چکیده

پنیر به واسطه داشتن ماده خشک، چربی و pH بالاتر به عنوان یک حامل غذایی بالقوه تحویل میکروارگانیسم های پروبیوتیک به دستگاه گوارش انسان است. با توجه به تأکید سازمان های بهداشتی بر ترویج مصرف محصولات لبنی سلامت بخش و تمایل مصرف کنندگان به مصرف غذاهای سالم تر در این تحقیق امکانسنجی تولید پنیر فراپالایش پروبیوتیک حاوی سویه های پروبیوتیک بیفیدوباکتربیفیدوم، انتروکوکوس فاسیوم به صورت تک و یا ترکیبی مورد مطالعه قرار گرفت. ویژگی های زنده مانی سویه های پروبیوتیک log cfu/g؛ ترکیبات موثر در آروما شامل (استالدئید، دی استیل) و ارزیابی حسی شامل امتیازهای (عطر و بو و طعم و مزه) در طی دوره رسیدن ۶۰ روزه مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای مورد استفاده در این تحقیق شامل پنیر فراپالایش معمولی به عنوان تیمار شاهد، پنیر فراپالایش پروبیوتیک حاوی *بیفیدوباکتر بیفیدوم* ، پنیر فراپالایش پروبیوتیک حاوی *انتروکوکوس فاسیوم* و پنیر فراپالایش پروبیوتیک حاوی ترکیبی از سویه های *بیفیدوباکتر بیفیدوم* و *انتروکوکوس فاسیوم* می باشند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد لگاریتم جمعیت باکتری های پروبیوتیک در طی دوره نگهداری ۶۰ روزه کاهش نشان داد با این حال در انتهای دوره نگهداری تمامی تیمارها بیش از 10^6 cfu/g با کتری پروبیوتیک داشتند. مقدار استالدئید تمامی تیمار با گذشت زمان افزایش یافت. مقدار دی استیل فقط در تیمار A (شاهد) در طی دوره نگهداری ۶۰ روزه افزایش یافت و در مورد سایر تیمارها روند کاهشی مشاهده شد. امتیاز حسی بو و طعم و مزه تمامی تیمارها در طی دوره نگهداری شصت روزه افزایش یافت. در مجموع با توجه به ویژگی های زنده مانی،آروما و ارزیابی حسی تیمار D در مقایسه با سایر تیمارها از ویژگی های مطلوبتری برخوردار بود.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-27]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.29.9]

[DOI: 10.52547/fsct.18.119.349]

۱- مقدمه

امروزه عمده ترین محصولی که از شیر به دست می آید پنیر است که در بیش از هزار نوع مختلف در دنیا تولید میشود. از بین انواع پنیر، پنیر فتا جایگاه خاصی را در ایران داشته و تولید صنعتی و مداوم آن با استفاده از فرآیند فراپالایش روز به روز در حال گسترش می باشد. در فرآیند فراپالایش، ابتدا شیر با استفاده از سیستم های غشایی تغلیظ شده و سپس شیر غلیظ شده که ناتراوه[1] نامیده میشود،تحت تأثیر آنزیم قرار گرفته و منعقد می گردد[۱].پروبیوتیکها مکملهای غذایی و میکروبهای زندهای هستند که اثرات سلامتی بخش خود را با بهبود و ایجاد تعادل در فلور میکروبی روده به جای میگذارند پروبیوتیکها بهویژه بیفیدوباکتریهادارای تاثیرات سلامتی بخش متعددی مانند رفع مشکل عدم تحمل لاکتوز، ممانعت از فعالیت باکتریهای پاتوژن و ویروسها ،کاهش سطح کلسترول ، اثرات ضد توموری،فعالسازی و تنظیم سیستم ایمنی و تولید ویتامین دارند[۲].پنیر به واسطه داشتن ماده خشک و چربی و pH بالاتر نسبت به فرآورده های شبه ماست قادر است در انتقال پروبیوتیک های زنده نقش موثرتری ایفا کند.در ایران تقریبا ٪۷۵ از کل تولید شیر سالیانه به تولید پنیرهای مختلف می رسد. آمار بیانگر تولید بیش از ۷۰۰۰۰-۶۵۰۰۰ تن پنیر فراپالایش شده فتا در سال است[۲].تاکنون تعداد جنس ها و گونه های مختلفی از لاکتوباسیلوس ها و بیفیدوباکتری ها به صورت تجارتی به عنوان پروبیوتیک به کار گرفته شده اند[۲].انتروکوکوس ها گروه بزرگی از باکتری های اسید لاکتیک هستند که در صنایع لبنیات و دیگر موادغذایی تخمیری به وفور یافت می شوند .انتروکوکوس ها معمولا هوموفرمانتاتیو، گرم مثبت، بدون اسپور، کاتالاز منفی، اکسیداز منفی، بی هوازی اختیاری به صورت تکی ، جفتی و یا زنجیره ای هستند .رشد مطلوب آنها در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد است . بیشتر گونه ها در محدوده دمایی ۴۵-۱۰ درجه سانتی گراد نیز رشد کرده و می توانند در ۶/۵ درصد NaCl، pH= ۹/۶و در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه زنده باقی بمانند .انتروکوکوس ها بیش از ۲۰ گونه هستند، که شایع ترین آن ها انتروکوکوس فاسیوم[2] ، انتروکوکوس فکالیس و به میزان کمتر انتروکوکوس دورانس می باشد . آنهاتوسط آلودگیهای محیطی و یا روده ای در مواد غذایی خام (شیر و گوشت) رشد کرده و به دلیل توانایی تحمل شرایط سخت محیطی مانند درجه حرارت و نمک بالاقادر به تکثیر در طول تخمیر مواد غذایی می باشند[۳]. از ویژگیهای قابل توجه این باکتری ها می توان به پروتئولیز، لیپولیز و تجزیه سیترات در ایجاد عطر و طعم مطلوب فرآورده های لبنی به خصوص پنیر اشاره کرد. فعالیت پروتئولیتیک برای رشد باکتری های اسید لاکتیک در شیر ضروری است . باکتریهای اسید لاکتیک سیستم پیچیده ای از آنزیم های پروتئاز و پپتیداز دارند تا از کازئین شیر به عنوان منبعی از اسید آمینه و نیتروژن استفاده کنند که میزان فعالیت های پروتئاز و پپتیداز در انتروکوکوسها پایین بوده و فعالترین آنها انتروکوکوس فکالیس می باشد[۳].

با توجه به اهمیت تاثیر سویه انتروکوکوس فاسیوم بر ایجاد عطر و طعم مطلوب در فراورده های لبنی، هدف از این تحقیق ارزیابی و مقایسه تاثیر بیفیدوباکتربیفیدوم و انتروکوکوس فاسیوم به صورت سویه تک و ترکیبی بر ترکیبات موثر بر عطر و طعم پنیر فراپالایش می باشد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱-تولید پنیر فراپالایش پروبیوتیک

شیر با ٪۳/۵ چربی بعد از عبور از پیش سردکن، کلاریفایر، دستگاه باکتوفیوژ و دستگاه خلا وارد دستگاه پاستوریزاتور شده و در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه پاستوریزه گردید.توسط دستگاه اولترافیلتراسیون و با استفاده از صافی غشایی لوله ای، آب و قسمتی از لاکتوز شیر پاستوریزه گرفته شد و سپس ترکیبات فوق را در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد و فشار ۷۰ بار هموژنیزه و در دمای ۷۸ درجه سانتی‌گراد مجدداً پاستوریزه شد. سپس تا دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد برای مایه زنی سرد گردید. تلقیح آغازگر به صورت DVS (2% w/v)[3]

1. Retentate

2 *Enterococcus faecium*
3. Direct Vat Set

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.29.9]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.349]

شامل ترکیب میانه‌دوست (*Lactococcus cremoris* *Lactobacillus lactic*) و گرمادوست (*Streptococcus thermophilus* و *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*) به نسبت ۷:۱ مورد استفاده قرار گرفت و رنت به فاز ریتنتیت اضافه شد. سپس سریعا" به میزان ٤٥٠ گرم از فاز ماندگار در لیوان های مخصوص پر و هم‌زمان به آن استارتر *انتروکوکوس فاسیوم* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* مطابق فرمولاسیون ارائه شده به هر لیوان اضافه و پس از عبور از تونل انعقاد، لخته تشکیل شد.سپس با افزودن ۲٪ نمک گرانول بر روی پارچمنت[1] درب بندی صورت گرفت. پنیرهای تولیدی به مدت ٢٤ ساعت در گرمخانه با دمای ۲۹ – ۳۱ درجه سانتی‌گراد و سپس در سردخانه با دمای ٤ درجه سانتیگراد نگهداری گردید. باید متذکر شد نمونه کنترل (بدون سویه های پروبیوتیک) نیز تولید شدند. کلیه نمونه‌ها در این پژوهش با سه تکرار تولید شدند. پنیر های خروجی از سردخانه نمونه های روز اول بودند که پس نمونه‌های تولیدی به مدت ٦٠ روز در سردخانه با دمای ۸ الی ۱۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در طی مدت زمان نگهداری در فواصل زمانی۱، ۱۵، ۳۰، ٤٥ و ٦٠ روز از نمونه‌های پنیر نمونه برداری و آزمایشات لازم بر روی آن‌ها انجام گرفت.

۲-۲- جستجو و شمارش سویه های پروبیوتیک *بیفیدوباکتربیفیدوم و انتروکوکوس فاسیوم*

برای شمارش باکتری پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*، بعد از تهیه سری رقتها توسط آب پپتون ۰/۱ درصد، در محیط RCA[2] که فقط اجازه رشد بیفیدوباکتریوم را میدهد، به روش پور پلیت کشت داده شد و گرمخانه گذاری، تحت شرایط بی هوازی (جار بی هوازی حاوی گاز پک) در دمای ۳۷ °C به مدت ۷۲ ساعت انجام شد [٤].

سوسپانسیون اولیه از نمونه در یک رقیق کننده مناسب با ظرفیت بافری مناسب با استفاده از یک همگن کننده مناسب تهیه می شود. رقت های اعشاری بعدی از سوسپانسیون اولیه، بلافاصله قبل از اینکه سوسپانسیون ته نشین شود، تهیه شدند. حجم مناسبی از رقت های انتخاب شده در پلیت های پیش ریخته(بایل اسکولین آزاید آگار) تلقیح شده و با استفاده از یک میله ال مانند مناسب پخش شده و پلیت ها به مدت زمان ٢٤ ساعت در دمای ۱±۳۷ درجه سلسیوس در شرایط هوازی گرمخانه گذاری می شوند.کلنی های احتمالی آنتروکوکوس ها (آنتروکوکوس فاسیوم)شمارش شده و تعداد واحدهای تشکیل دهنده کلنی به ازای هر گرم یا کیلوگرم محاسبه می گردد[۵]. ارزیابی زنده مانی سویه های پروبیوتیک در طی روزهای ۱، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ٤٠، ٥٠ و ٦٠ از دوره نگهداری انجام شد.

۲-۳-اندازه گیری ترکیبات موثر در آروما

به منظور استخراج ترکیبات موثر بر آرومای پنیر، از روش Condurso و همکاران (2008) با پاره ای از تغییرات جهت بهینه سازی آن استفاده شد. بر این اساس، ٦ گرم از هر یک از نمونه های پنیر به صورت مکعب کوچک (هر ضلع ۳ سانتی متر) بریده شده و در داخل ویال ٤٠ میلی لیتری قرار گرفت و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا با فضای بالای خود به تعادل برسد. سپس فیبر DVB/CAR/PDMS (دی وینیل بنزن/کربوکسن/پلی دی متیل سیلوکسان) به مدت ۳۰۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد در معرض فضای بالای نمونه قرار گرفت (زمان استخراج). استفاده از این زمان استخراج برای حداکثر رهایش و جذب استرها بر فیبر ضروری است. سپس فیبر برای مدت ۵ دقیقه وارد محل تزریق دستگاه کروماتوگرافی گازی با دمای ۲۵۰ درجه سانتی گراد شد تا ترکیباتی جذب شده واجذب شده و وارد ستون DB-wax موئینه (30m ×0.250 mm× 0.5 µm) شدند. گاز حامل هلیوم خالص با سرعت جریانی ۱/۲ میلی لیتر در دقیقه انتخاب گردید. دستگاه مجهز به شناساگر انتخاب جرم بود که با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، ترکیبات را از ۲۰ تا ۵۰۰ m/z شناسایی نمود. اندازه گیری مساحت زیر پیک ترکیبات آروما با استفاده از نرم افزار Chemstation انجام گرفت. دمای اولیه گرمخانه دستگاه ٤٥ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه بوده و سپس تا ۲۵۰ درجه سانتی گراد با سرعت ۵ درجه سانتی گراد در دقیقه دمای آن افزایش یافت و در همین دما به مدت ۵ دقیقه نگه‌داری شد [٦].

1. Parchment
2. Reinforced Clostridial Agar

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.29.9]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.349]

۲-٤-ارزیابی حسی

به منظور ارزیابی حسی، از آزمون ارزیابی حسی هدونیک ۵ نقطه ای استفاده شد. ۱۰ ارزیاب به طور تصادفی از گروه های سنی مختلف که دارای سطح تحصیلات مختلف بوده و شامل هر دو جنس مرد و زن بودند، انتخاب شدند. سپس پرسشنامه مربوطه در اختیار آن ها قرار داده شد. نمونه های پنیر در یک تکرار از لحاظ عطر و طعم، شکل ظاهری، رنگ، بافت و ارزیابی کلی بررسی گردیدند و به هر یک از این ویژگی ها از ۱ تا ۵ امتیاز داده شد، به طوری که امتیاز ۱ مربوط به نمونه بسیار بد و امتیاز ۵ مربوط به نمونه بسیار خوب بود و سپس نتایج حاصل تجزیه و تحلیل شدند[۷].

۳- نتایج و بحث

۳-۱-ارزیابی زنده مانی باکتری های پروبیوتیک

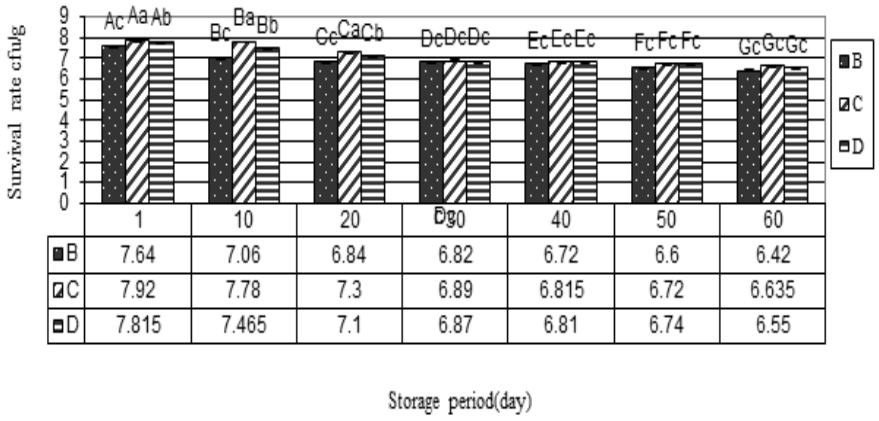
اثر تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار × زمان بر میزان لگاریتم جمعیت باکتری های پروبیوتیک کاملا معنی دار $p<0.01$ می باشد.

Table 1 Analysis of variance of survival rate of probiotic bacteria

Sig.	F	SS	df	Source of variation (S.O.V.)
0.000 **	1186.030	0.280	2	Treatment
0.000 **	5092.347	1.200	6	Time
0.000 ****	118.978	0.028	12	Treatment×Time
		0.000	21	Error

a. R Squared = 0.999

روند تغییرات زنده مانی باکتری های پروبیوتیک با گذشت زمان در شکل ۱ ، نشان داده شده است.



	1	10	20	30	40	50	60
B	7.64	7.06	6.84	6.82	6.72	6.6	6.42
C	7.92	7.78	7.3	6.89	6.815	6.72	6.635
D	7.815	7.465	7.1	6.87	6.81	6.74	6.55

Fig 1 Changes in survival rate of probiotic strain in Iranian probiotic UF cheese during 60 days of storage period

لگاریتم جمعیت باکتری های پروبیوتیک در طی دوره نگهداری ۶۰ روزه کاهش نشان داد با این حال در انتهای دوره نگهداری تمامی تیمارها بیش از 10^6 cfu/g باکتری پروبیوتیک داشتند.به منظور تاثیر باکتری های پروبیوتیک بر سلامت انسان، این باکتری ها باید به تعداد لازم مصرف در محصول وجود داشته باشند لذا تعداد باکتری های زنده طی دوره نگهداری مورد بررسی قرار گرفت. با مشاهده روند کاهش باکتری ها مشخص شد که میکروارگانیسم های پروبیوتیک توانسته اند تعداد خود را در سطح مطلوب حفظ کنند بنابراین پنیر را می توان به عنوان حامل مناسب باکتری های پروبیوتیک به رژیم غذایی معرفی نمود.همان طور که مشاهده می شود ترکیب سویه های پروبیوتیک با یکدیگر اثر معنی دار $p<0.01$ در جمعیت هریک به تنهایی ندارد برای مثال دراثر مخلوط شدن باکتری *انتروکوکوس فاسیوم* با *بیفیدوباکتربوم بیفیدوم* میزان قابلیت زیستی در تیمار *انتروکوکوس*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.29.9]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.349]

فاسیوم یا بیفیدوباکتربوم بیفیدوم با تیمار مخلوط *بیفیدوباکتربوم بیفیدوم* و *انتروکوکوس فاسیوم* یکسان آماری است.این واقعیت نشان می دهد که مخلوط شدن پروبیوتیک ها اثر پادیار زیستی (آنتاگونیسم) برهریک از آنها نداشته است وضعیت گفته شده در طول دوره نگهداری به صورت یکسان باقی می ماند .طی دوره نگهداری جمعیت پروبیوتیک ها به طور معنی داری $p<0.01$ کاهش می یابد مشاهده می شود که از روز ۰ تا روز ۱۵ ام جمعیت *بیفیدوباکتربوم بیفیدوم* حدود یک لگاریتم یا ده برابر کاهش یافته این کاهش از روز۱۵ تا ٦۰ شیب ملایم به خود گرفته است بنابراین می توان نتیجه گرفت که از روز ۰ تا روز ۱۵ ام بدلیل شوک وارد شده به سلول باکتری برای سازگاری با محیط بیشترین افت میکربی رخ می دهد پس از سازگار شدن نسبی بقای باکتری تا انتهای دوره نگهداری بسیار بیشتر است. این یافته با نتایج بدست آمده توسط Dinakar و Mistry در سال ۱۹۹٤همسو می باشد این محققان دریافتند *بیفیدوباکتر بیفیدوم* پس از سازگار شدن نسبی با شرایط محیط و افت اولیه جمعیت باکتریایی ، قابلیت زنده مانی را تا پایان مدت نگهداری تا جمعیت قابل قبول حفظ می نماید[۸].

در خصوص باکتری *انتروکوکوس فاسیوم* برخلاف باکتری *بیفیدوباکتربوم بیفیدوم* افت ناگهانی از روز ۰ تا روز ۱۵ رخ نمی دهد و کاهش قابلیت زیستی بصورت مستمر و غیر پله ای ادامه می یابد. با این وجود افت نهایی آن در روز ٦۰ به طور معنی دار $p<0.01$ بیش از *بیفیدوباکتربوم بیفیدوم* است طوری که در این روز درصد افت جمعیت باکتری *بیفیدوباکتربوم بیفیدوم* ۹۳/٦ و *درصد افت جمعیت باکتری انتروکوکوس فاسیوم* ۹۵/۱ است. بنابراین بنظر می رسد باکتری *بیفیدوباکتربوم بیفیدوم* پس از افت ناگهانی اولیه از روز ۰ تا روز ۱۵سازگاری بیشتر یافته و مقاومت بیشتری برای بقا نشان می دهد، اگر مبنای پروبیوتیک بودن پنیر حداقل 10^7 cfu/g سلول زنده باشد، این شرط در خصوص باکتری *بیفیدوباکتربوم بیفیدوم* تا پیش از روز ۱۵ نگهداری خاتمه می یابد حال انکه در خصوص باکتری *انتروکوکوس فاسیوم* تا پیش از روز ۳۰ نگهداری خاتمه می یابد.بنابراین ماندگاری محصول در شرایطی که از باکتری *انتروکوکوس فاسیوم* استفاده می شود نزدیک به ۱۵ روز بیشتر است اما در صورتی که مبنای پروبیوتیک بودن حداقل 10^6 سلول زنده باشد هر دو باکتری تا پایان روز ٦۰ ام پروبیوتیک به شمار می آید. از انجایی که این حد در استاندارد کشورهای مختلف متفاوت است ، در تولید صنعتی محصول باید مورد توجه قرار گیرد.نتایج حاصل از آنالیز نشان داد که اثرات تیمار، زمان نگهداری بر زنده مانی هر دو باکتری معنی دار $p<0.05$ بوده است. از طرفی pH، ریز ساختار، میزان اسیدیته و Eh مناسب همگی از عوامل حفظ قابلیت زنده مانی باکتری های پروبیوتیک در پنیر فراپالایش محسوب می شوند. *انتروکوکوس فاسیوم* در مقایسه با *بیفیدوباکتر بیفیدوم* از مقاومت و سازش پذیری بالاتری نسبت به تنش های موجود در محیط برخوردار است.

Gobbetti و همکاران در سال ۱۹۹۸ عنوان داشتند که زنده مانی پروبیوتیک ها در نمونه های دارای غلظت بالای ٤ درصد نمک با اختلال مواجه شده و جمعیت باکتری های پروبیوتیک روند کاهشی داشته است[۹].

Dinakar و Mistry در سال ۱۹۹٤ نشان دادند که پنیر چدار توانست گونه های *بیفیدوباکتر بیفیدوم* را تا پایان مدت نگهداری تا جمعیت قابل قبول حفظ نماید که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت[۸].

۲-۳-ارزیابی تغییرات استالدئید بر حسب میکروگرم بر گرم

اثر تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار × زمان بر میزان استالدئید بر حسب میکروگرم بر گرم کاملا معنی دار $p<0.01$ می باشد.

Table 2 Analysis of variance of acetaldehyde content (µg/g) in Iranian probiotic UF cheese

Sig.	F	SS	df	Source of variation (S.O.V.)
0.000 **	3006.644	2.180	3	Treatment
0.000 **	15897.966	11.526	1	Time
0.003 **	2333.483	1.692	3	Treatment×Time
		0.001	8	Error

a. R Squared = 1.000

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.29.9]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.349]

روند تغییرات استالدئید بر حسب میکروگرم بر گرم با گذشت زمان در شکل ۲، نشان داده شده است.

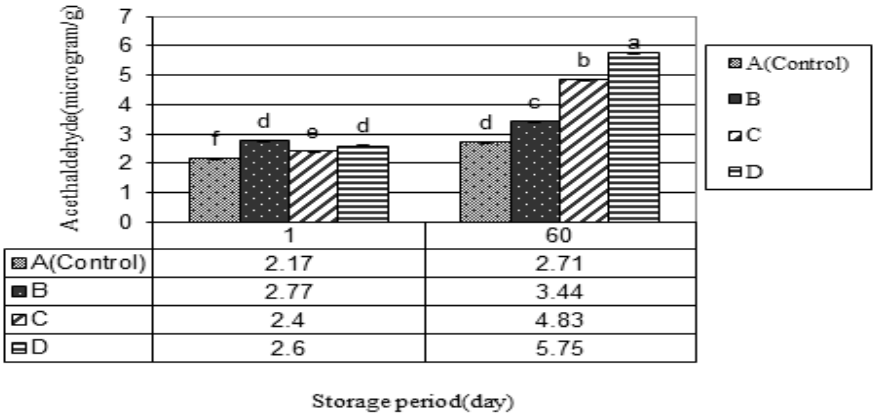


Fig 2 Changes in acetaldehyde content (µg/g) in Iranian probiotic UF cheese during 60 days of storage period

مطابق شکل ۲، مقدار استالدئید تمامی تیمار با گذشت زمان افزایش یافت با این حال نرخ افزایش استالدئید بر حسب میکروگرم بر گرم در تیمار D پنیر UF حاوی *بیفیدوباکتر بیفیدوم* و *انتروکوکوس فاسیوم* شدید تر بود.آلدئیدهای زنجیر خطی ممکن است حاصل از بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب آزاد غیر اشباع یا حاصل از آمینو اسیدها به وسیله تجزیه استرکر باشند و آلدئیدهای زنجیر دار احتمالا از تجزیه آمینواسیدها هم از طریق آنزیمی و هم غیرآنزیمی منشا می گیرند. آلدئیدها ترکیبات موقتی در پنیرها هستند زیرا آنها به سرعت به الکل های نوع اول احیاء می شوند و یا به اسیدهای متناظر خود اکسید می گردند[۱۰].

آنها به وسیله طعم علف سبز یا طعم رایحه گیاهی مشخص می گردند و در صورتی که غلظت آنها بیش از حد معین باشد بسیار نامطلوب می باشند[۱۱]. ترکیب آلدئیدی مورد بررسی در این تحقیق استالدئید می باشد. استالدئید مسئول عطر و طعم میوه ای نافذ و تیز در پنیر فتای فراپالایش می باشد. استالدئید به وسیله متابولیسم لاکتوز یا به وسیله اکسیداسیون اتانول تولید می شود[۱۲]. حتی به وسیله تجزیه ترئونین نیز تولید می شود. آلدئیدهای دارای شاخه جانبی نظیر ۲- متیل بوتانال و ۳- متیل بوتانال حاصل از متابولیسم لوسین و ایزولوسین تولید می شود. علت مقدار کم آلدئیدها، حضور ردوکتازهای حاصل از میکروفلورای پنیر می باشد [۱۳]. سرعت افزایش تولید استالدئید بر حسب میکروگرم بر گرم در تیمار D پنیر UF حاوی *بیفیدوباکتر بیفیدوم* و *انتروکوکوس فاسیوم* به علت فعالیت متابولیکی بیشتر در مقایسه با سایر تیمارها شدید تر بود.

۳-۳-ارزیابی تغییرات دی استیل بر حسب میکروگرم بر گرم

اثر تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار × زمان بر میزان دی استیل بر حسب میکروگرم بر گرم کاملا معنی دار $p<0.01$ می باشد.

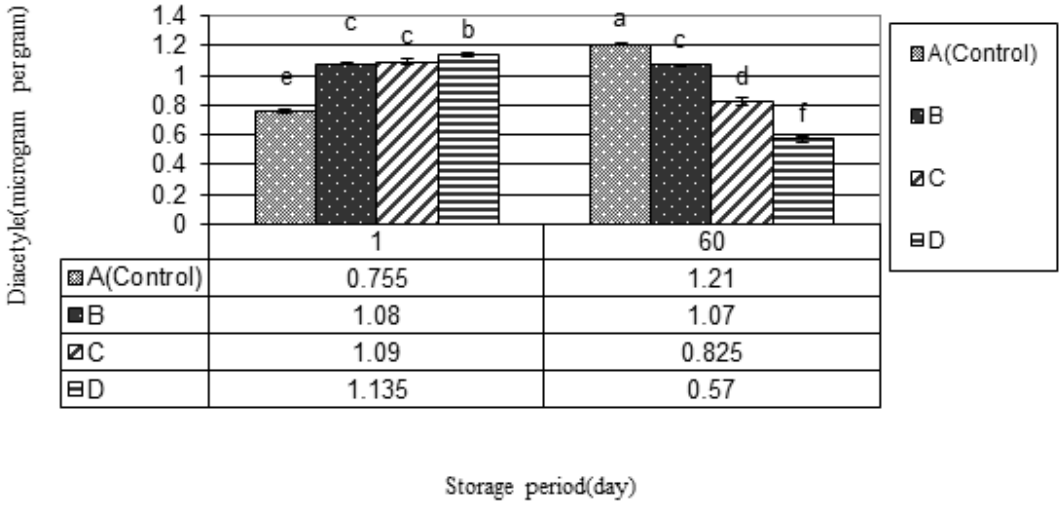
Table 3 Analysis of variance of acetaldehyde content (µg/g) in Iranian probiotic UF cheese

Sig.	F	SS	df	Source of variation (S.O.V.)
0.000 **	61.559	0.033	3	Treatment
0.000 **	68.149	0.037	1	Time
0.000 **	343.000	0.187	3	Treatment×Time
		0.001	8	Error

a. R Squared = 0.994

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.29.9]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.349]

روند تغییرات دی استیل بر حسب میکروگرم بر گرم با گذشت زمان در شکل ۳، نشان داده شده است.



	1	60
A(Control)	0.755	1.21
B	1.08	1.07
C	1.09	0.825
D	1.135	0.57

Fig 3 Changes in diacetyl content (µg/g) in Iranian probiotic UF cheese during 60 days of storage period

مقدار دی استیل فقط در تیمار A (شاهد) در طی دوره نگهداری ۶۰ روزه افزایش یافت و در مورد سایر تیمارها روند کاهشی مشاهده شد.

دی استیل و استوئین جزء دسته ترکیبات کتونی هستند. کتون ها بخش مهمی از پروفایل ترکیبات فرارپنیر فتای فراپالایش را تشکیل می دهند. اصولا کتون ها شامل متیل کتون از C_3 تا C_{15} (۲-پنتانون، هپتانون و ۲- نونانون از انواع شایع متیل کتون ها)دی استیل و استوئین هستند[۱۴]. اکثر کتون ها به عطر و بوی کره ای، میوه ای، گلی و بوی کهنگی مرتبط می شوند.متیل کتون ها از لیپیدهای آسیلی از طریق تجزیه میکروبی به وسیله مکانیسم β-اکسیداسیون مشتق می گردند[۱۲]. پروپانون می تواند از اسید بوتانوئیک مشتق شود با این حال احتمالا در غدد پستانی تشکیل می شود سپس به شیر انتقال داده می شود[۱۵]. به عبارت دیگر، دی استیل به عنوان نتیجه حاصل از متابولیسم لاکتوز و سیترات توسط لاکتوکوکسی ها تولید می شود و همچنین دی استیل می تواند از اسید آسپارتیک نیز تولید شود[۱۶]. احیاء دی استیل باعث تشکیل استوئین و احیاء بیشتر استوئین باعث تشکیل ۲ و ۳ بوتان دی ال و سپس بوتانون و در نهایت بوتانل می گردد. بنابراین احیاء دی استیل به استوئین سبب کاهش مقدار دی استیل در تیمارها به استثنای تیمار شاهد گردید. تیمار شاهد به دلیل فاقد سویه های پروبیوتیک بودن موجب گردید فرایند احیاء دی استیل به استوئین در طی مدت زمان نگهداری صورت نپذیرد و در نتیجه غلظت دی استیل در طی مدت ماندگاری افزایش یافت.

۳-۴-امتیاز حسی عطر و بو

از نظر امتیاز حسی بو میان تیمارهای مختلف، اختلاف معنی داری $p>0.05$ مشاهده نشد با این حال تاثیر زمان بر امتیاز حسی عطر و بو کاملا معنی دار $p<0.01$ بود.

Table 4 Analysis of variance of odour sensory scores in Iranian probiotic UF cheese

Sig.	F	SS	df	Source of variation (S.O.V.)
0.312 ^{ns}	1.218	0.307	3	Treatment
0.000 **	45.159	11.391	1	Time
0.759 ^{ns}	0.392	0.099	3	Treatment×Time
		0.252	56	Error

a. R Squared = 0.472

تغییرات امتیاز حسی عطر و بو در شکل ٤، نشان داده شده است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.29.9]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.349]

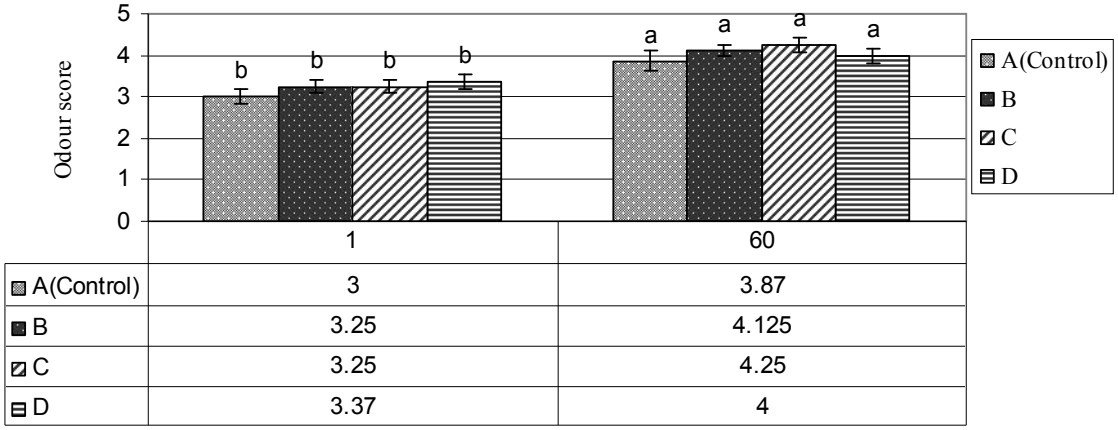


Fig 4 Changes in odour sensory scores in Iranian probiotic UF cheese during 60 days of storage period

با توجه به سرعت متفاوت فرایند لیپولیز و تولید ترکیبات موثر بر عطر و بو تغییرات شدت عطر و بو با گذشت زمان در تیمارهای مختلف مشاهده شد. شدت و ضعف تولید ترکیبات موثر در عطر و بو در تیمارهای مختلف متفاوت می باشد با این حال از نظر ارزیابان حسی تیمار C دارای اپتیمم غلظت ترکیبات موثر در عطر و بو می باشد و از مطلوبیت پذیرش بیشتری برخوردار بود. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج سایر محققان که بیان داشتند امتیاز حسی پنیرهای اصلاح شده آنزیمی لیقوان با گذشت زمان کاهش یافته است مطابقت نداشت [۱۷].

۳-۵-امتیاز حسی طعم و مزه

از نظر امتیاز حسی طعم و مزه میان تیمارهای مختلف، اختلاف معنی داری $p>0.05$ مشاهده نشد با این حال تاثیر زمان بر امتیاز حسی طعم و مزه کاملا معنی دار $p<0.01$ بود.

Table 5 Analysis of variance of flavor sensory scores in Iranian probiotic UF cheese

Sig.	F	SS	df	Source of variation (S.O.V.)
0.801 ns	0.333	0.167	3	Treatment
0.006 **	8.000	4.000	1	Time
0.801 ns	0.333	0.167	3	Treatment×Time
		0.500	56	Error

a. R Squared = 0.152

روند تغییرات امتیاز حسی طعم و مزه در شکل ۵، نشان داده شده است.

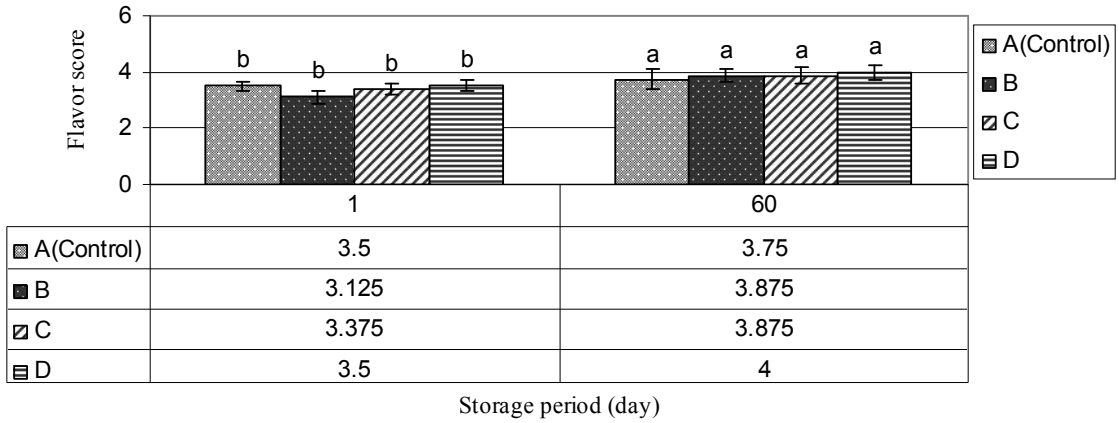


Fig 5 Changes in flavor sensory scores in Iranian probiotic UF cheese during 60 days of storage period

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.29.9]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.349]

امتیاز حسی طعم و مزه در طی دوره نگهداری شصت روزه افزایش یافت. کمترین امتیاز حسی طعم و مزه مربوط به تیمار B (پنیر UF حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*) در روز اول از مدت زمان نگهداری و بیشترین امتیاز حسی طعم و مزه مربوط به تیمار D (پنیر UF حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و انتروکوکوس فاسیوم*) در روز شصت ام از دوره نگهداری می باشد. طعم ومزه شاخص ارزیابی مهم توسط مصرف کننده و شاید مهم ترین پارامتر ارزیابی محسوب می شود. ارزیابان حسی طعم و مزه پنیرهای حاوی *بیفیدوباکتر بیفیدوم و انتروکوکوس فاسیوم* را بیشتر پسندیدند. نمونه پنیر شاهد فاقد سویه های پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و انتروکوکوس فاسیوم* دارای طعم ضعیفی بودند این پنیر ها عمدتاً به دلیل رطوبت بیشتر سهم کمتری را در طعم کلی داشتند. لاکتوباسیلوس ها و برخی از سویه های پروبیوتیک در صنعت برای اصلاح بو، طعم و بافت محصولات تخمیری به کار می روند. سویه های پروتئولیتیک پروبیوتیک از جمله *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* می توانند در ایجاد طعم و مزه در طول رسیدن پنیر از طریق متابولیسم کربوهیدرات ها، پروتئولیز و مقدار کمی لیپولیز مؤثر باشند. این آنزیم ها کازئین را هیدرولیز کرده و پپتید های بزرگ و متوسط تولید می کنند. این پپتید ها ممکن است بعداً توسط آنزیم های پروتئولیتیک حاصل از میکرو فلور باکتری های استارتر، باکتری های غیر اسیدلاکتیک و پروبیوتیک های افزوده شده به پپتید های کوچک و اسیدآمینه آزاد تجزیه گردد که مهم ترین عامل ایجاد طعم پنیر هستند[۱۸]. نتایج تحقیق حاضر با نتایج بدست آمده توسط مهدوی پور و همکاران در سال ۱۳۹۷ مطابقت داشت این محققان دریافتند سویه های پروبیوتیک بر ویژگی های طعم پنیر تاثیر مثبتی دارند. با پیشرفت پروتئولیز، ترکیباتی با وزن مولکولی کم شامل پپتید ها و اسیدهای آمینه آزاد ایجاد می شوند که این ترکیبات نقش مهمی را در عطر و طعم پنیر ایفا می کنند[۱۹]. عطر و طعم و بافت شاخص پنیرها، تحت تاثیر نوع شیر مورد استفاده (گاو، میش و بز)، واکنش های بیوشیمیایی پیچیده در طول رسیدن که در اثر آنزیم های طبیعی موجود در شیر، نوع مایه پنیر مورد استفاده، میکروارگانیسم های طبیعی موجود و استارتر، پروتئولیز، لیپولیز و گلیکولیز به وقوع می پیوندد، می باشد [۲۰]. با این وجود پروتئولیز، بیشترین نقش را در ایجاد عطر و طعم در پنیر ایفا می کند که از طریق آزاد کردن پپتیدها و اسیدهای آمینه آزاد که ترکیبات عطر و طعم داری مانند آمین ها، اسیدها، تیول ها و تیواسترها تولید می کنند، می باشد[۲۱]. به این ترتیب که کازئین های موجود در دلمه به وسیله عمل مایه پنیر و پلاسمین طبیعی شیر به پپتیدهای بزرگ و متوسط در طول تولید و رسیدن پنیر تبدیل می شوند. تجزیه بیشتر به وسیله پپتیدازهای باکتری های اسید لاکتیک آغازگر صورت می گیرد که در نتیجه پپتید های کوچک و اسید های آمینه آزاد تولید می شوند. به نظر می رسد که عطر و طعم پنیر تا حد زیادی مربوط به ترکیبات ازته محلول به ویژه اسید های آمینه و پپتید های کوچک می باشد. برخی از پپتید های کوچک و اسید های آمینه، مسوول ایجاد طعم تلخ در پنیر رسیده می باشد.

٤-نتیجه گیری کلی

با توجه به تأکید سازمان های بهداشتی بر ترویج مصرف محصولات لبنی سلامت بخش و تمایل مصرف کنندگان به مصرف غذاهای سالم تر، در این تحقیق امکان سنجی تولید پنیر سفید فراپالایش پروبیوتیک تهیه شده با استفاده از سویه های تک *بیفیدولاکتربیفیدوم* و *انتروکوکوس فاسیوم* و یا به صورت ترکیبی مورد بررسی قرار گرفت. لگاریتم جمعیت باکتری های پروبیوتیک در طی دوره نگهداری ٦٠ روزه کاهش نشان داد با این حال در انتهای دوره نگهداری تمامی تیمارها بیش از 10^6 cfu/g با کتری پروبیوتیک داشتند. درصد نیتروژن محلول در آب تمامی تیمارها به استثنای تیمار C پنیر UF حاوی *انتروکوکوس فاسیوم* با گذشت زمان افزایش نشان داد. مقدار استالدئید تمامی تیمار با گذشت زمان افزایش یافت. مقدار دی استیل فقط در تیمار A (شاهد) در طی دوره نگهداری ٦٠ روزه افرایش یافت و در مورد سایر تیمارها روند کاهشی مشاهده شد. امتیاز حسی عطر و بو تمامی تیمارها در طی دوره نگهداری شصت روزه افزایش یافت. امتیاز حسی طعم و مزه در طی دوره نگهداری شصت روزه افزایش یافت و در مجموع با توجه به ویژگی های زنده مانی،آروما و ارزیابی حسی تیمار D در مقایسه با سایر تیمارها به طور نسبی از ویژگی های مطلوبتری برخوردار بود.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.29.9]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.349]

۵- منابع

[1] Qods Rohani, M., Motazavi, S. A. and Mazaheri Tehrani, M. 2010. The study of effect of storage period on physico-chemical and sensory properties UF feta cheese produced from mixture of cow' s milk and soy milk.Iranian Food Science and Technology Research Journal. 6(3):149-157. (In Farsi)

[2] Nezami, M. A., Ehsani, M., Khosravi-Darani, K., Sohrabvandi, S. and Ahmadi, N. 2015. The study of possibility of the production and storage of Probiotic UF-Cheese with Lactobacillus acidophillus and starter of Feta cheese. Journal of Innovation in Food Science and Technology. 7(3): 27-34. (In Farsi)

[3] Ezadimehr, Z., Yavarmanesh, M., Habibi, M. B. and Edalatian, M. 2018. The study of technological and antimicrobial properties of nonpathogenic *Entrococcus faecium spp. Faecium* isolated from Lighvan cheese. Journal of Food Science and Technology. 15(81): 479-492. (In Farsi)

[4] Anonymous, 2011. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Milk products-Enumeration of presumptive Bifidobacterial-colonycount teqnique at 37 ºC, National Standard No. 13772, First Edition. (In Farsi)

[5] Anonymous, 2014. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Microbiology animal feeding stuffs- Isolation and enumeration of Enterococcus (*E. faecium*) spp, National Standard No. 18090, First Edition. (In Farsi)

[6] Condurso, C., Verzera, A., Romeo, V., Ziino, M. and Conte, F. 2008. Solidphase microextraction and gas chromatography mass spectrometry analysis of dairy product volatiles for the determination of shelf life. International Dairy Journal. 18: 819–825.

[7] Solhi, P., Sadeghi Mahoonak, A. R., Hesari, J., Ghorbani, M. and Alami, M. (2014). The effect of microbial lipase and protease enzyme in acceleration of development of flavor and aroma of Iranian UF Feta cheese. Journal of Food Research. 24(2): 201-213. (In Farsi)

[8] Dinakar, P. and Mistry, V.V. 1994. Growth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in Cheddar cheese. Journal of Dairy Science. 77: 2854–2864.

[9] Gobbetti, M., Corsetti, A. and Rossi, J. 1998. The sourdough microflora. Interaction between lactic acid bacteria and yeasts: metabolism of carbohydrates. Journal of Applied Microbiology Biotechnology. 41: 456–460.

[10] Carbonell, M., Nunez, M. and Fernandez-Garcia, E. 2002. Evolution of the volatile components of ewe raw milk La Serena cheese during ripening. Correlation with flavour characteristics. Lait. 82: 683–698.

[11] Qian, M., Nelson, C. and Bloomer, S. 2002. Evaluation of fat-derived aroma compounds in Blue cheese by dynamic headspace GC/olfactometry-MS. Journal of the American Oil Chemist's Society. 79: 663-667.

[12] McSweeney, P.L.H. and Sousa M.J. 2000. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheese during ripening. Lait. 80: 293–324.

[13] Mallia, S., Ferńandez-Garcia, E. and Bosset, J.O. 2005. Comparison of purge and trap and solid phase microextraction techniques for studying the volatile aroma compounds of three European PDO hard cheeses**.** International Dairy Journal. 15: 741–758.

[14] Benech, R. O., Kheadr, E. E., Laridi, R, Lacroix, C. and Fliss, I. 2002.Inhibition of Listeria innocuain Cheddar cheese by addition of nisin Z in liposomes or by in situ production in mixed culture.Applied Environmental Microbiology. 68:3683–3690.

[15] Garde, S., Ávila, M., Medina, M. and Nuñez, M. 2005. Influence of bacteriocin-producing lactic culture on the volatile compounds, odour and aroma of Hispánico cheese. International Dairy Journal. 15(10): 1034-1043.

[16] Kieronczyk, A., Skeie, S., Langsrud, T., Le Bars, D. and Yvon, M. 2004. The nature of aroma compounds produced in a cheese model by glutamate dehydrogenase positive Lactobacillus INF15D depends on its relative aminotransferase activities towards the different amino acids. International Dairy Journal. 14:227–235.

[17] Hoseini, M., Habibi Najafi, M.B. and Mohebbi, M. 2013. Assessment of physico-chemical and sensory properties of imitation

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.29.9]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.349]

cheese containing whey protein concentrate and enzyme-modified Lighvan cheese. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology8(2): 91-102. (In Farsi)

[18] 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. (In Farsi)

[19] Mahdavipour, M., Roufegarinezhad, L. and Alizadeh, A. 2018. The effect of different concentration of salt on physicochemical and sensory properties of probiotic white cheese prepared by the UF method. Journal of Food Science and Technology. 15(83) 203-215.

[20] Attaie. R. 2005. Effects of aging on rheological and proteolytic properties of goat milk Jack Cheese produced according to cow milk procedures. Small Ruminant Research. 57: 19-29.

[21] Bernardo, P., Inmaculada, F. and Jose M. 2004. Effect of ripening time and type of rennet (farm hous rennet from kid or commercial calf) on proteolysis during the ripening of leon cow milk cheese. Journal of Food Chemistry. 85: 389-398.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-27]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.29.9]

[DOI: 10.52547/fsct.18.119.349]

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation and comparison of the effect of *Bacidobacterium bifidum* and *Enterococcus faecium* as single strain and mixed cultures on aroma compounds of UF cheese

Habibi, A.[1], Shahab Lavasani, A.[2*], Mortazavin Farsani, A.M.[3], Hoseini, S. E.[4], Zarei, H.[5]

1. Ph.D student, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Varamin - Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
2. Innovative Technologies in Functional Food Production Research Center, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
3. Department of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
4. Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
5. Department of Physiology, Tehran Medical Science, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

ARTICIE INFO

Article History:

Received 2020/ 08/ 07
Accepted 2021/ 09/ 21

Keywords:

Probiotic UF cheese,
Survival,
Aroma,
Sensory evaluation.

DOI: 10.52547/fsct.18.119.349

*Corresponding Author E-Mail:
shahabam20@yahoo.com

ABSTRACT

Cheese is a potential food carrier of probiotic microorganisms to the human gastrointestinal tract due to its dry matter, fat and higher pH. Due to the emphasis of health organizations on promoting the consumption of healthy dairy products and consumers' desire to eat healthier foods, in this study, the feasibility of producing probiotic UF cheese containing probiotic strains of Bifidobacter bifidum, Enterococcus fascium was studied singly or in combination. Survival characteristics of probiotic strains log cfu / g; Effective compounds in aroma including (acetaldehyde, diacetyl) and sensory evaluation including scores (odour and flavor) were evaluated during the 60-day ripening period.The treatments used in this study included treatments A: ordinary UF cheese as a control treatment, B: probiotic UF cheese containing Bifidobacterium bifidum, C: probiotic UF cheese containing Enterococcus faecium and D: Probiotic UF cheese containing a combination of Bifidobacterium bifidum and Enterococcus faecium.The results of this study showed that the rate of survival of probiotic bacterial population decreased during the 60-day storage period. However, at the end of the storage period, all treatments had more than 10^6 cfu/ g with probiotic bacteria. The amount of acetaldehyde in the whole treatment increased during 60 days of storage period. The amount of diacetyl increased only in treatment A (control) during the 60-days of storage period and a decreasing trend was observed in other treatments. The sensory score for odour of all treatments increased during the 60-days of storage period. Sensory score for flavor increased during 60-days of storage period. In general, according to the survival, aroma and sensory evaluation characteristics, treatment D had relatively better characteristics compared to other treatments.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-27]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.119.29.9]
[DOI: 10.52547/fsct.18.119.349]