

(مقاله پژوهشی)

شناسایی پروفایل میکروبی پنیر شهری پگاه گلپایگان و بهینه سازی روند کاهش طعم تلخ آن از طریق افزودن ترکیبات پری بیوتیک

فاطمه داوری^۱، نفیسه سادات نقوی^{۱*}، هاشم نیری^۲

۱- گروه میکروبیولوژی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

۲- گروه بیوشیمی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۰۱

چکیده

در تحقیق حاضر هدف، شناسایی پروفایل میکروبی پنیر شهری پگاه گلپایگان و کاهش طعم تلخ آن از طریق افزودن ترکیبات پری بیوتیک آب پنیر و مالتودکسترین بوده است. میکروارگانیزم‌ها به روش‌های ماکروسکوپی، میکروسکوپی، آزمون‌های بیوشیمیایی و مولکولی شناسایی شدند. از ترکیبات پری بیوتیک آب پنیر و مالتودکسترین به منظور کاهش طعم تلخ پنیر استفاده شد و بهینه‌سازی تولید پنیر به روش CCD با نرم افزار RSM انجام شد. ارزیابی حسی توسط گروه پانلیست و ارزیابی پروتئولیز با اندازه‌گیری ازت محلول به ازت کل و ازت غیر پروتئینی به ازت کل انجام شد. براساس نتایج حاصل، سه جدایه باکتریایی، یک جدایه قارچی و یک جدایه مخمیری در پنیر شهری شناسایی شدند. نتایج آزمون سطح پاسخ در ارزیابی پروتئولیز نشان داد با افزایش مالتودکسترین و آب پنیر مقدار پروتئولیز افزایش یافت و در ارزیابی حسی با افزایش مالتودکسترین و آب پنیر مقدار ارزیابی حسی کاهش یافت. تأثیر مالتودکسترین و آب پنیر بر ارزیابی پروتئولیز و ارزیابی حسی معنادار بود. مقادیر بهینه به دست آمده برای مالتودکسترین و آب پنیر به ترتیب ۰/۸۹۴ و ۱/۶۶۸ بود. در ارزیابی حسی دو تیمار بیشترین امتیاز را از پانلیست‌ها دریافت کردند. مقدار مالتودکسترین و آب پنیر در دو تیمار به ترتیب (۰/۵ درصد و ۱/۷۵ درصد) و (۱/۷۵ درصد و ۰/۵ درصد) بود. هر دو تیمار در ارزیابی پروتئولیز، کاهش ۲۲ درصدی پروتئولیز نسبت به نمونه شاهد را نشان دادند. تأثیر زمان رسیدن پنیر و تعداد میکروارگانیزم‌ها بر روی کاهش پروتئولیز و طعم تلخ معنادار بود. نتایج نشان داد که ترکیبات پری بیوتیک می‌توانند بر کاهش پروتئولیز و طعم تلخ پنیر مؤثر باشند.

واژه های کلیدی: پنیر شهری، طعم تلخ، پروفایل میکروبی، پری بیوتیک، ارزیابی حسی.

*مسئول مکاتبات: nafiseh_naghavy@yahoo.com

۱- مقدمه

شیر و فرآورده‌های لبنی امروزه نقش اساسی در رژیم غذایی انسان دارند (۱۲). یکی از این محصولات لبنی، پنیر می‌باشد. پنیر یک اصطلاح جهانی برای یک گروه از محصولات لبنی تخمیر شده در اشکال مختلف، بافت‌ها و طعم‌های گوناگون می‌باشد که از طریق انعقاد پروتئین کازئین شیر تولید می‌شود. نوع شیر و نوع پردازش آن و روند رسیدن پنیر باعث تولید پنیر با ترکیبات مغذی مختلف، ظاهر، عطر، طعم و بافت گوناگون می‌شود (۲۴). تولید پنیر به دو روش سنتی و صنعتی انجام می‌شود. در تولید سنتی پنیر، از شیر خام بدون اضافه کردن کشت‌های استارتر استفاده می‌شود. فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک که به طور معمول در شیر وجود دارند باعث ایجاد بافت، عطر، طعم و مزه خاص این محصولات لبنی می‌شوند. در پنیرهایی که با استفاده از کشت‌های آغازگر تولید می‌شوند روند تخمیر نسبت به تخمیر میکروبی طبیعی شیر سریع‌تر است. پنیر شهری پگاه گلپایگان دارای طعم پنیر سنتی است و با بهره‌گیری از تکنولوژی فرالایش با نمک کمتر تهیه شده است. این پنیر بدون استارتر و تنها با استفاده از رنت قارچی تهیه می‌شود و دارای بافتی نرم، عطر و طعمی مطابق با ذائقه مصرف‌کننده ایرانی است. یکی از مشکلات موجود در محصول پنیر ایجاد طعم تلخ است. این مشکل در پنیر شهری به دلیل استفاده نکردن از استارتر با وضوح بیشتری مشاهده می‌شود. طعم تلخ در محصولات لبنی به ویژه پنیر تأثیر زیادی در عدم پذیرش این محصول دارد (۳۴). تلخی نتیجه پروتئولیز است. هیدرولیز پروتئین توسط آنزیم‌های پروتئولیتیک منجر به تشکیل پپتیدهایی می‌شود که معمولاً با طعم تلخ مرتبط هستند و توسط گیرنده‌های چشایی قابل تشخیص و برای مصرف نامناسب هستند (۲۷). شناسایی پروفایل میکروبی پنیر با توجه به نقش میکروارگانیسم‌ها در تحولات فیزیکیوشیمیایی و آروماتیک پنیر برای تولید پنیر بهتر ضروری می‌باشد. جوامع میکروبی پنیر از باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌ها تشکیل شده است. ارتباط بین این جوامع میکروبی در ایجاد خصوصیات حسی پنیر نقش دارند (۳۲). حصاری و همکاران (۱۳۸۴) در یک تحقیق، با بررسی تأثیر

باکتری‌های سرمادوست بر پروتئولیز و ویژگی‌های حسی پنیر سفید فرالایشی به این نتیجه رسیدند که با افزایش باکتری‌های سرمادوست، ازت محلول در $\text{pH}=4/6$ افزایش می‌یابد. بنابراین، افزایش باکتری‌های سرمادوست تأثیر معنی‌داری بر افزایش پروتئولیز دارد. در ارزیابی حسی، نمونه‌های پنیری که تعداد بالای باکتری‌های سرمادوست داشتند به علت پروتئولیز زیاد، از نظر عطر و طعم در سطح کمتری قرار داشتند (۳). امروزه پری بیوتیک‌ها در صنایع غذایی اهمیت زیادی یافته‌اند. پری بیوتیک‌ها کربوهیدرات‌های غیر قابل هضم در مواد غذایی می‌باشند که به عنوان عناصر غذایی در تولید بسیاری از محصولات از جمله محصولات لبنی استفاده می‌شوند (۱۹). پری بیوتیک‌ها با افزایش رطوبت و کاهش اسیدیته و تأثیر مستقیم بر روی ویژگی‌های حسی پنیر باعث بهبود ویژگی حسی محصولات تولید شده لبنی می‌شوند (۱۱). ماچوکا و همکاران (۲۰۱۵) با ارزیابی بهبود حسی پنیر ساخته شده با مواد پری بیوتیک اینولین و الیگوفروکتوز به این نتیجه رسیدند که پنیرهای حاوی مواد پری بیوتیک نسبت به نمونه‌های کنترل از نظر ارزیابی حسی، رضایت مصرف‌کنندگان را موجب شدند و علاقه مصرف‌کنندگان برای مصرف این نوع پنیر بسیار بیشتر از پنیر شاهد بوده است (۲۶). در پژوهشی دیگر نظری و همکاران (۱۳۹۵) با بررسی تأثیر مالتودکسترین حاصل از نشاسته ذرت بر ویژگی‌های شیمیایی حسی پنیر سفید فرالایشی کم چرب به این نتیجه رسیدند که مالتودکسترین بر زمان رسیدن پنیر، چربی، و ویژگی‌های حسی و پروتئولیز تأثیر معنی‌داری دارد. با استفاده از مالتودکسترین به منظور جبران کاهش چربی، مقبولیت پنیر تیمار شده از لحاظ ویژگی‌های فیزیکیوشیمیایی و ویژگی‌های حسی نسبت به پنیر مرجع افزایش یافت و به علت کاهش پروتئولیز، طعم تلخ در پنیر گزارش نشد (۷). امروزه عطر و طعم در تولید محصولات تخمیری لبنی بسیار مورد توجه است و از این رو تلاش برای تولید محصولات لبنی با پذیرش زیاد از طرف مصرف‌کننده حائز اهمیت است. بنابراین خصوصیات ارگانولپتیک اهمیت بیشتری پیدا کرده است و در حقیقت این ویژگی‌هاست که سبب افزایش تقاضای

۲-۲- روش

۲-۲-۱- آماده سازی نمونه‌های پنیر

مقدار ۵ گرم نمونه تحت شرایط استریل به ۴۵ میلی‌لیتر محلول سرم فیزیولوژی ۹ درصد اضافه شد و به مدت ۱ دقیقه هموزن گردید. محلول رویی به عنوان رقت 10^{-1} برای تهیه رقت‌ها بعدی مورد استفاده قرار گرفت و رقت‌های 10^{-2} تا 10^{-5} با اضافه کردن ۱ میلی‌متر از رقت قبلی به لوله حاوی ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل تهیه گردید (۲).

۲-۲-۲- جداسازی و خالص سازی

از هر رقت توسط سمپلر به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر با دو تکرار بر سطح محیط‌های کشت MRS آگار، M17 آگار، PCA و PDA تلقیح گردید و به صورت سطحی کشت داده شد (۱۴). پلیت‌ها در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد به منظور رشد باکتری‌های سرمادوست (۴)، ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای رشد باکتری‌های مزوفیل و ۴۵ درجه سانتی‌گراد به منظور رشد باکتری‌های گرمادوست در حضور ۵ درصد دی‌اکسید کربن به مدت ۷۲ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شدند (۲۸). پس از پایان گرم‌خانه‌گذاری و ظاهر شدن پرگنه‌ها، شمارش آن‌ها و بررسی ویژگی‌های ظاهری جدایه‌های باکتریایی انجام شد و به منظور خالص‌سازی باکتری‌ها ابتدا پلیت‌های حاوی ۲۵ تا ۲۵۰ کلنی شمارش شدند و سپس از پلیت‌های دارای بالاترین رقت پرگنه‌های متفاوت از نظر مورفولوژیکی آن‌ها بر روی دو محیط MRS آگار و M17 آگار انتخاب شدند و به صورت جداگانه روی پلیت‌های حاوی محیط MRS آگار و M17 آگار منتقل شدند و هریک سه بار کشت خطی داده شدند و در جدایه‌ها در محیط‌های مایع حاوی ۱۵ درصد گلیسرول در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد ساخت شرکت ژال تجهیز ایران تا زمان شناسایی نگه‌داری شدند (۱۴، ۳۲). جهت جداسازی قارچ‌ها و مخمرها از محیط کشت PDA و دمای انکوباسیون ۳۰ درجه سانتی‌گراد و به منظور شناسایی آن‌ها از روش اسلاید کالچر استفاده شد (۶، ۳۶).

مصرف‌کنندگان می‌شود (۳۸). هدف از این تحقیق جداسازی و شناسایی پروفایل میکروبی شامل قارچ‌ها، مخمرها و باکتری‌های موجود در پنیر شهری پگاه گلپایگان و تعیین اثر افزودن پری‌بیوتیک‌های مالتودکسترین و پودر آب پنیر (آب پنیر یک محصول جانبی از تولید پنیر است که حاوی مقدار کمی لاکتوز، مواد معدنی، پروتئین‌های ارزشمند و اسید آمینه‌های ضروری می‌باشد). در کاهش تلخی پنیر شهری پگاه گلپایگان بر اساس سنجش ویژگی ارگانولپتیک طعم تلخ و شاخص پروتئولیز بوده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

نمونه‌های پنیر شهری از خط تولید صنعتی پنیر شهری کارخانه پگاه گلپایگان تهیه شد. مراحل تولید پنیر شهری پگاه گلپایگان به ترتیب شامل: مرحله دریافت و ذخیره شیر خام، مرحله استاندارد کردن شیر، هموزنیزاسیون، پاستوریزاسیون، مرحله مایه زنی، مرحله عملیات لخته، نمک زنی و مرحله بسته بندی در لیوان‌های مخصوص و سردخانه‌گذاری است. از پنیر تهیه شده در روزهای پنجم، دهم، پانزدهم و بیستم پس از تولید در شرایط آسپتیک (با شرایط استریل و در ظروف مخصوص با رعایت دمای یخچالی در کمترین زمان) نمونه‌گیری شد. مالتودکسترین از شرکت سیگما کانا‌دا و آب پنیر از شرکت پگاه گلپایگان تهیه گردید. محیط کشت M17 آگار^۱ به منظور کشت اختصاصی لاکتوکوکوس (۹)، محیط کشت اختصاصی MRS آگار^۲ برای جداسازی و خالص‌سازی سایر باکتری‌های اسید لاکتیک (۲۲)، محیط کشت PCA^۳ برای جداسازی و شمارش کل باکتری‌ها (۳) و محیط کشت PDA^۴ برای شناسایی و شمارش مخمر و کپک استفاده شد (۴۳). کلیه محیط‌های کشت ساخت شرکت مرک^۵ آلمان با درجه خلوص آزمایشگاهی بود.

- 1 -M17 Agar
- 2 -MRS Agar
- 3 -Plate Count Agar
- 4 -Potato Dextrose Agar
- 5-Merk

۲-۳-۲-۳- آزمون‌های بیوشیمیایی

به منظور شناسایی جنس باکتری‌های جداسازی شده از آزمون‌های بیوشیمیایی استفاده شد (۷). پرکنه‌های جداسازی شده سپس از رنگ‌آمیزی گرم و بررسی قابلیت تشکیل اسپور، فعالیت کاتالاز، از نظر فعالیت اکسیداز، توانایی تولید گاز دی‌اکسیدکربن از گلوکز در محیط‌های مایع MRS و M17 حاوی لوله دورهام، بررسی حرکت، تولید اندول و H_2S در محیط SIM و تست سیترات در محیط سیمون سیترات آگار مورد آزمایش قرار گرفتند (۲۹).

۲-۲-۴- آنالیز توالی ژن 16SrRNA

به منظور شناسایی گونه باکتری‌های جداسازی و خالص سازی شده از روش مولکولی استفاده شد. DNA باکتری با استفاده از کیت استخراج DNA با کد DN8115C شرکت سیناژن، طبق دستور کیت استخراج گردید و با روش الکتروفورز براساس ایجاد باند ضخیم نزدیک چاهک تعیین کیفیت شد. پرایمرهای یونیورسال (جامع و عمومی) RW01 (AACTGGAGGAAGGTGGGGAT) و DG74 (AGGAGGTGATCCAACCGCA) برای شناسایی باکتری‌های جداسازی شده براساس تکثیر قطعه ۳۷۰ جفت بازی در ناحیه کد کننده 16SrRNA مورد استفاده قرار گرفت (۱۳، ۱۸). مخلوط PCR از شرکت Amplicon دانمارک تهیه شد و واکنش در دستگاه ترموسایکلر Eppendorf آلمان انجام گردید. برنامه دمایی و زمانی مورد استفاده برای تکثیر شامل یک مرحله دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، ۶ تکرار شامل مراحل ۹۴ درجه سانتی‌گراد (یک دقیقه)، ۵۸ درجه سانتی‌گراد (۵۰ ثانیه) و ۷۲ درجه سانتی‌گراد (یک دقیقه) و در نهایت ۳۵ تکرار شامل مراحل ۹۴ درجه سانتی‌گراد (یک دقیقه)، ۵۶/۵ درجه سانتی‌گراد (یک دقیقه) و ۷۲ درجه سانتی‌گراد (یک دقیقه) بود. جهت تکمیل واکنش از یک مرحله اضافی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه استفاده شد (۸). برای مشاهده نتایج محصول واکنش PCR پس از بارگذاری واکنش‌های PCR در ژل آگاروز یک درصد وزنی حجمی، الکتروفورز با ولتاژ ۹۰ ولت و زمان ۳۵ دقیقه صورت

گرفت. محصولات PCR و پرایمرهای RW01 و DG74 برای توالی‌یابی به شرکت بایونیر کره جنوبی ارسال شد و نتایج توالی‌یابی در پایگاه NCBI با توالی‌های موجود مورد مقایسه قرار گرفت. جدایه‌هایی با ۹۹ درصد مشابهت در توالی شان به عنوان همان گونه شناسایی شدند.

۲-۲-۵- ارزیابی حسی

برای ارزیابی حسی از ۲۰ نفر پانلیست آموزش دیده خواسته شد (ابتدا دهان خود را بشویید سپس آب دهان خود را تخلیه کنید. از نمونه پنیر در نظر گرفته شده میل کنید. به مدت ۱۰ تا ۲۰ ثانیه در دهانتان نگه دارید و گزینه مورد نظر خود را انتخاب کنید) تا با آزمون قطعات پنیر که در اندازه‌های استاندارد و در داخل ظرف‌های مناسب (با اعداد تصادفی رمزگذاری شده بودند) قرار داده شده بودند نظر خود را در مورد ویژگی ظاهری از لحاظ رنگ و ساختار ظاهری، عطر و طعم تلخ و بافت و پذیرش کلی پنیر ارائه کنند. به این منظور فرمی بر اساس مقیاس هِدونیک پنج درجه‌ای در مورد طعم تلخ پنیر (۱- به شدت تلخ، ۲- خیلی تلخ، ۳- مشخصاً تلخ، ۴- کمی تلخ، ۵- بدون تلخی) و در مورد سایر ویژگی‌های حسی (۱- خیلی بد، ۲- بد، ۳- متوسط، ۴- خوب، ۵- عالی) طراحی گردید (۳) و ارزیابی حسی تیمارها در روز پنجم، روز دهم، روز پانزدهم و روز بیستم صورت گرفت.

۲-۲-۶- ارزیابی پروتئولیز

جهت ارزیابی پروتئولیز اولیه و ثانویه به ترتیب از اندازه‌گیری ازت محلول در $pH=4/6$ به ازت کل و اندازه‌گیری ازت محلول در تری‌کلرواستیک اسید ۱۲٪ به ازت کل استفاده گردید (۷).

۲-۲-۶-۱- اندازه‌گیری ازت محلول در $pH=4/6$

جهت این آزمایش طبق روش اصلاح‌شده کوچورو و فاکس اقدام گردید (۲۳). ابتدا نمونه‌های ۳۰ گرمی پنیر پس از افزودن ۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر همگن شد. pH نمونه‌ها با استفاده از محلول اسید کلریدریک ۲ نرمال و هیدروکسید سدیم ۲ نرمال در $pH=4/6$ تنظیم شد؛ سپس

۲-۲-۷- بهینه سازی شرایط تولید پنیر با آزمون‌های**طراحی شده با برنامه RSM**

در این پژوهش طراحی آزمایش به روش CCD^۱ با نرم افزار RSM انجام شد. دو فاکتور مالتودکسترین و پودر آب پنیر به عنوان ترکیبات پری بیوتیک به منظور برطرف کردن طعم تلخ پنیر شهری در نظر گرفته شد. با توجه به مطالعات قبلی در استفاده از پری بیوتیک‌ها در بهینه‌سازی خواص ارگانولپتیک پنیر حدود آزمون‌ها تعیین گردید. حداقل مقدار ۰/۵ درصد و حداکثر مقدار ۳ درصد، برای اضافه کردن پری بیوتیک‌ها در نظر گرفته شد (۱۱). براساس این مقادیر به منظور بهینه‌سازی شرایط تولید پنیر و کاهش طعم تلخ آن و بهبود خواص ارگانولپتیک پنیر شهری گلپایگان طراحی آزمایش به روش CCD با نرم افزار RSM برای بهینه‌سازی انجام شد. مدل‌های آماری به دست آمده برای پروتئولیز اولیه، پروتئولیز ثانویه و ارزیابی حسی در ادامه نشان داده شد.

نمونه‌ها ۳۰ دقیقه در محیط قرار داده شدند و پس از آن دوباره pH نمونه‌ها در ۴/۶ تنظیم شد و در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند و سپس سانتریفوژ گردیدند (g ۴۰۰۰). سپس نمونه‌ها با استفاده از کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف و محلول بالای جهت اندازه‌گیری ازت محلول با روش کج‌لدال مورد استفاده قرار گرفت (۲۳).

۲-۲-۶- اندازه‌گیری ازت محلول در تری کلرواستیک**اسید ۱۲ درصد**

به ۲۰ میلی‌لیتر از محلول صاف شده که در قسمت اندازه‌گیری ازت محلول در pH=۴/۶ به دست آمد، ۵ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۱۲ درصد اضافه گردید و سپس نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط قرار گرفت و پس از سانتریفوژ (g ۵۰۰۰) به مدت ۱۰ دقیقه، محلول رویی صاف و مقدار ازت غیر پروتئینی به روش کج‌لدال اندازه‌گیری شد. به منظور اندازه‌گیری ازت کل نیز از نمونه پنیر از روش کج‌لدال استفاده شد (۲۳).

جدول ۱- آزمایشات طراحی شده با روش CCD با نرم افزار RSM

شماره آزمایش	مالتودکسترین	پودر آب پنیر
۱	۰/۸۶	۰/۸۶
۲	۲/۶	۰/۸۶
۳	۰/۸۶	۲/۶
۴	۲/۶	۲/۶
۵	۰/۵	۱/۷۵
۶	۳	۱/۷۵
۷	۱/۷۵	۰/۵
۸	۱/۷۵	۳
۹	۱/۷۵	۱/۷۵
۱۰	۱/۷۵	۱/۷۵
۱۱	۱/۷۵	۱/۷۵
۱۲	۱/۷۵	۱/۷۵
۱۳	۱/۷۵	۱/۷۵

۲-۲-۸- تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق تیمارهای بررسی شده در طول زمان دوره رسیدن پنیر مورد آزمون قرار گرفته اند و به مقایسه میانگین ها پرداخته شد و نتایج بر اساس طرح پایه کاملا تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS:19 انجام شد. مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام گرفت.

۳- نتایج و بحث

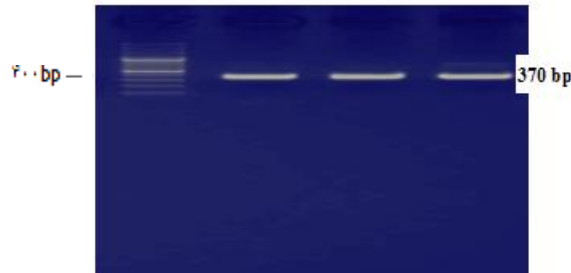
۳-۱- اثر پروفایل میکروبی پنیر شهری پگاه گلپایگان در ایجاد طعم تلخ

جدول ۲- نتایج آزمون های بیوشیمیایی جدایه های باکتریایی

جدایه	کاتالاز	اکسیداز	حرکت	سیترات	اندول	H ₂ S	تولید گاز
A	+	-	-	-	-	-	-
B	+	+	-	+	-	-	-
C	+	-	+	-	-	-	-

منظور شناسایی باکتری در سطح گونه از روش های مولکولی استفاده شد. شکل (۱) باند ۳۷۰ جفت بازی حاصل از تکثیر قطعه ژن کدکننده SrRNA ۱۶ را نشان می دهد.

پروفایل میکروبی شامل باکتری های سایکرو باکتر الیمنتاریوس، باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس بود. با کمک آزمون های بیوشیمیایی شناسایی فلور میکروبی تا شناسایی جنس باکتری امکان پذیر بود و به



شکل ۱- تکثیر قطعه ۳۷۰ جفت بازی حاصل از تکثیر قطعه ژن کدکننده *SrRNA* ۱۶. چاهک ۱، ۲ و ۳ باند حاصل از تکثیر ژن در سه باکتری جداسازی شده.

معایی نظیر ایجاد بدطعمی و طعم تلخ در اثر وجود باسیلوس سرئوس در فرآورده‌های شیری مشاهده می‌شود (۳۰). یکی دیگر از باکتری‌های شناسایی شده در پنیر شهری پگاه گلپایگان سایکروباکتر الیمنتاریوس می‌باشد. این باکتری جزء باکتری‌های سرماگرا است. پروتئاز حاصل از باکتری‌های سرماگرا باعث رهاشدن پلاسمین و پلاسمینوژن از میسل کازئین و افزایش ازت محلول می‌گردد که بر روی کیفیت محصولات لبنی تأثیر می‌گذارد. با افزایش باکتری‌های سرماگرا، میزان ازت محلول در $pH=4/6$ به ازت کل و ازت غیرپروتئینی به ازت کل افزایش می‌یابد و در نتیجه طعم تلخ پنیر افزایش می‌یابد آنزیم‌های پروتئولیتیک حاصل از باکتری‌های سرماگرا در شیر باعث ایجاد مشکلاتی در فرآورده‌های لبنی می‌شود که از میان آن‌ها می‌توان به طعم و بوی نامطلوب، تضعیف ساختمان و ساختار دلمه در هنگام تشکیل پنیر و کاهش بازده اشاره نمود (۵). باکتری‌های سرماگرا عموماً به دلیل ماهیت حساس به حرارتشان در طی پاستوریزاسیون از بین می‌روند. با این حال باکتری‌های سرماگرایی که در محصولات لبنی از جمله پنیر وجود دارند، آنزیم‌های پروتئیناز بسیار مقاوم به حرارت تولید می‌کنند که ممکن است بر روی پروتئولیز پنیر طی رسیدن اثر بگذارند (۳۹). در مطالعه‌ای دیگر تشدید پروتئولیز در پنیر چدار و کاتیج تهیه شده از شیر تلقیح شده با سودوموناس (باکتری سرماگرا) گزارش شد (۱۵). نتایج حاصل از شمارش کلی باکتری‌ها بر روی باکتری‌های سرماگرا، مزوفیل و ترموفیل بیان‌گر این مسئله است که با افزایش تعداد باکتری‌های سرماگرا در پنیر شهری پگاه

هم‌چنین پس از بررسی‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی به روش اسلاید کالچر فارچ کلادوسپوریوم و گونه‌ای از مخمر نیز در پنیر شهری پگاه گلپایگان شناسایی شد. نتایج حاصل از شناسایی پروفایل میکروبی پنیر شهری پگاه گلپایگان نشان داد که استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس یکی از باکتری‌های موجود در این پنیر می‌باشد. استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس یکی از پاتوژن‌هایی است که در شیرهایی که از گاوهای مبتلا به ورم پستان دوشیده شده‌اند وجود دارد. اگر دوره رسیدن پنیر زیاد باشد (مثلاً یک‌سال) این میکروارگانیسم‌ها طی دوره رسیدن پنیر کاهش خواهند یافت. نتایج حاصل از مطالعه آقازاده مشگی (۱۳۸۶) نشان داد که با توجه به مدت رسیدن پنیر باکتری‌های بیماری‌زا در هیچ یک از نمونه‌هایی که بیش از یک‌سال دوره رسیدن را طی کرده بودند یافت نشد (۱). با توجه به این که پنیر شهری پگاه گلپایگان جزء پنیرهای تازه محسوب می‌شود، با دوره رسیدگی کوتاه پنیر که ۲۰ روز می‌باشد باکتری‌های بیماری‌زا در پنیر کاهش نمی‌یابد. یکی دیگر از باکتری‌های شناسایی شده در پنیر شهری پگاه گلپایگان باسیلوس سرئوس می‌باشد که از جمله آلودگی‌های میکروبی نامطلوب در پروسه تولید پنیر است و می‌تواند شرایط پاستوریزاسیون را تحمل کنند (۲۰). این باکتری علاوه بر بیماری‌زا بودن با داشتن فعالیت پروتئولیتیک و لیپولیتیک یکی از عوامل ایجاد فساد در مواد غذایی به شمار می‌رود. به دلیل وجود برخی از انواع سرماگرایی این باکتری که قادر به رشد در دمای ۴ تا ۶ درجه سانتی‌گراد هستند، امکان فساد محصول در نگهداری در دمای یخچال نیز وجود دارد.

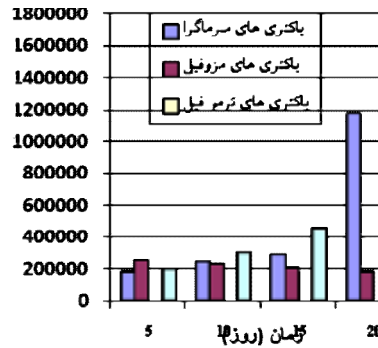
قارچ‌ها و مخمرها در محصولات لبنی ناشی از آن است که آن‌ها در محدوده وسیع از درجه حرارت و pH رشد می‌کنند و باعث از بین رفتن کیفیت محصول می‌شوند، بنابراین شناسایی و شمارش آن‌ها به عنوان شاخص کیفیت بهداشتی محصول و کیفیت ذخیره‌سازی همیشه مورد توجه بوده است. مخمرها نقش‌های متنوعی در تأثیرگذاری بر کیفیت و ایمنی محصولات لبنی دارند. برخی از مخمرها در ایجاد تغییر عطر و طعم پنیر مؤثرند (۲۱). در پنیر شهری پگاه گلپایگان شمارش قارچ‌ها و مخمرها بیان‌گر این مسئله بود که با افزایش دوره رسیدن پنیر تعداد آن‌ها افزایش می‌یابد. بنابراین می‌توان احتمال داد که با افزایش تعداد قارچ‌ها و مخمرها در پنیر شهری پگاه گلپایگان طعم تلخ پنیر افزایش می‌یابد در نتیجه به این که میانگین تعداد قارچ‌ها و مخمرها با افزایش زمان به طور معناداری افزایش یافته‌است ($P < 0/05$) که با نتایج آقازاده مشگی (۱۳۸۶) مطابقت داشت (۱). شکل (۲) تأثیر زمان بر رشد میکروارگانیسم‌ها در پنیر شهری پگاه گلپایگان را نشان می‌دهد. اثر زمان (روز) بر تعداد باکتری‌های سرمادوست، باکتری‌های مزوفیل و باکتری‌های ترموفیل (در محیط PCA)، قارچ‌ها و مخمرهای موجود در پنیر شهری پگاه گلپایگان در جدول (۳) نشان داده شده است (باکتری ترموفیل جداسازی نشد). همچنین در آنالیز آماری صورت گرفته فرضیه نابرابری تعداد توسط آزمون T معنادار بود یعنی با افزایش زمان تعداد باکتری‌ها، قارچ‌ها و مخمرها تغییر می‌کنند.

گلپایگان طعم تلخ پنیر به طور معناداری افزایش می‌یابد ($P < 0/05$) که با نتایج به دست آمده توسط حصاری و همکاران (۱۳۸۴) در مورد تأثیر تعداد باکتری‌های سرماگرا بر ویژگی‌های حسی پنیر سفید فرابالایشی مطابقت داشت (۳). با توجه به این که در پنیر شهری پگاه گلپایگان از کشت‌های استارت‌تری استفاده نمی‌شود در نتیجه نمی‌توان با تغییر سویه‌های استارت‌تری و یا استفاده از سویه‌های دیگر مشکل تلخی پنیر را برطرف نمود. نتایج حاصل از شمارش کلی باکتری‌ها در پنیر شهری پگاه گلپایگان نشان داد که میزان باکتری‌های مزوفیل در مدت رسیدن پنیر زمان به طور معناداری کاهش یافت ($P < 0/05$) که با نتایج تحقیق انر و همکاران (۲۰۰۶) بر روی پنیر سفید ترکی مطابقت داشت که در آن تعداد باکتری‌های مزوفیل در روز اول بیش‌ترین مقدار را داشته است و در روز آخر دوره رسیدن پنیر به تدریج کاهش یافته است (۳۳). نتایج حاصل از شناسایی قارچ‌ها و مخمرها در پنیر شهری پگاه گلپایگان نشان داد که این پنیر آلوده به قارچ کلادوسپوریوم می‌باشد. در مطالعه‌ای لوند و همکاران (۱۹۹۵) گونه‌های متعددی از قارچ‌های رشته‌ای مانند کلادوسپوریوم را از شیرهای گاو، بز و گوسفند شناسایی کردند (۲۸). قارچ‌ها باعث ایجاد گاز در پنیر شده و ایجاد نقص در عطر و طعم پنیر می‌کنند و می‌توانند مایکوتوکسین تولید کنند که این موضوع ناشی از فعالیت پروتئولیتیک آن‌ها می‌باشد (۳۱). هم‌چنین گونه‌ای از مخمر در پنیر شهری پگاه گلپایگان شناسایی شد. حضور

جدول ۳- بررسی تعداد باکتری‌های سرمادوست، باکتری‌های مزوفیل، قارچ‌ها و مخمرهای موجود در پنیر شهری پگاه گلپایگان

توسط آزمون T

درجه آزادی	میانگین (cfu/ml)	انحراف معیار	انحراف استاندارد	آزمون T	زمان (روز)	متغیر	تعداد باکتری‌ها
۳	۱۸۰۰۰۰	۴۷۵۶۸۶/۵۲۱۴	۲۳۷۸۴۳/۲۶۰۸	۱/۹۸	پنیر روز پنجم	باکتری‌های سرماگرا	۲۴۰۰۰۰
	۲۸۷۰۰۰						
	۱۱۸۳۰۰۰						
	۲۵۲۰۰۰						
۳	۲۵۲۰۰۰	۲۸۶۱۶/۷۲۰۰۵	۱۴۳۰۸/۳۶۰۰۳	۱۵/۱۴۸	پنیر روز پنجم	باکتری‌های مزوفیل	۲۲۵۰۰۰
	۲۰۵۰۰۰						
	۱۸۵۰۰۰						
	۱۹۴۰۰۰						
۳	۱۹۴۰۰۰	۶۵۰۱۶۵/۸۷۶۳	۲۲۵۰۸۲/۹۳۸۱	۱/۹۶۱	پنیر روز پنجم	قارچ‌ها و مخمرها	۳۰۶۰۰۰
	۴۵۰۰۰۰						
	۱۶۰۰۰۰۰						



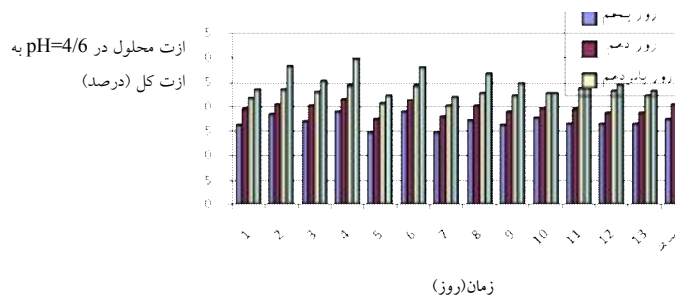
شکل ۲- اثر زمان (روز) بر تعداد (Cfu/ml) باکتری‌های سرمادوست، باکتری‌های مزوفیل و باکتری‌های ترموفیل، قارچ‌ها و مخمرهای موجود در پنیر شهری پگاه گلپایگان

۲-۳- ارزیابی طعم تلخ پنیر

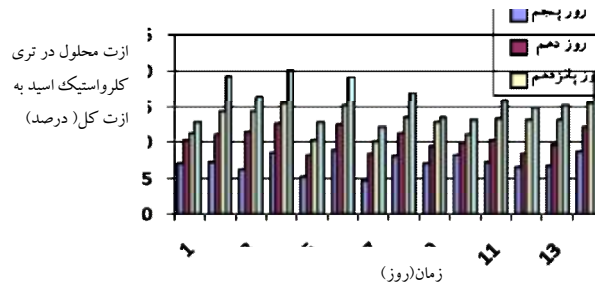
۳-۱-۲- ارزیابی پروتئولیز

روند کلی تغییرات ازت محلول در $pH=4/6$ به ازت کل و ازت غیر پروتئینی به ازت کل در پنیر شهری پگاه گلپایگان و تیمارهای طراحی شده به روش CCD با نرم افزار RSM از روز پنجم تا روز بیستم به صورت صعودی بود. بررسی آماری نشان داد که با افزایش زمان مقادیر تغییرات ازت محلول در $pH=4/6$ به ازت کل و ازت غیر پروتئینی به ازت کل افزایش یافته است و اختلاف معناداری مشاهده شد ($P<0/05$). هم چنین در بررسی دانکن^۱ نابرابری میانگین‌ها به طور کامل مشهود بود که با نتایج به دست آمده توسط رومیه و همکاران (۲۰۰۲) در بررسی تغییرات ازت محلول در $pH=4/6$ به ازت کل و ازت غیر پروتئینی به ازت کل در مورد پنیر سفید آب نمکی (۳۵) و نتایج ساهان و همکاران

(۲۰۰۷) در بررسی تغییرات ازت محلول در $pH=4/6$ به ازت کل و ازت غیر پروتئینی به ازت کل در مورد پنیر کم چرب کشر^۲ مطابقت داشت (۳۷). با توجه به اینکه پروتئولیز یکی از مهم ترین فرآیندهای بیوشیمیایی است که در طول رسیدن پنیر اتفاق می‌افتد و نقش مهمی در ایجاد عطر و طعم و بافت پنیر دارد (۲۷)، می‌توان نتیجه گرفت که پروتئولیز در ایجاد طعم تلخ پنیر شهری پگاه گلپایگان مؤثر بوده است. با افزایش پروتئولیز طعم تلخ در پنیر پگاه گلپایگان افزایش یافت. استون و نف (۱۹۶۷) با بررسی اثر افزایش ازت محلول و توسعه تلخی در پنیر کوتاچ، به این نتیجه رسیدند که میزان ازت محلول در پنیر تلخ افزایش یافته است و توسعه طعم تلخ با افزایش میزان ازت محلول همراه بوده است که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت داشت (۴۰). شکل (۳) و (۴) اثر زمان بر پروتئولیز اولیه و پروتئولیز ثانویه را نشان می‌دهد.



شکل ۳- اثر زمان بر نسبت ازت محلول در $pH=4/6$ به ازت کل



شکل ۴- اثر زمان (روز) برنسب ارب محبوس در نری کلرواستیک اسید به ازت کل

جدول ۴- نتایج آنالیز ANOVA بر روی میانگین شاخص پروتئولیز اولیه

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آماره F	P-VALUE	معناداری
مدل خطی	۴۸/۹۴	۲	۲۴/۴۷	۱۰/۷۰	۰/۰۰۳۳	معنادار
مالتودکسترین	۳۷/۴۷	۱	۳۷/۴۷	۱۶/۳۹	۰/۰۰۲۳	معنادار
آب پنیر	۱۱/۴۷	۱	۱۱/۴۷	۵/۰۲	۰/۰۴۹۰	معنادار
باقیماندها	۲۲/۸۶	۱۰	۲/۲۹			
Lack of Fit	۲۰/۲۱	۶	۳/۳۷	۵/۱۰	۰/۰۶۸۴	عدم معناداری
همبستگی کل	۷۱/۷۹	۱۲				

* تفاوت معنادار در سطح احتمال ۰/۰۵ را نشان میدهد (P<0.05)

نتایج آنالیز ANOVA بر روی میانگین شاخص پروتئولیز اولیه و ثانویه در جدول (۴) و (۵) نشان داده شده است.

است که با افزایش یک واحد از مالتودکسترین و آب پنیر به ترتیب مقدار پروتئولیز اولیه ۲/۱۶ واحد و ۱/۲۰ واحد افزایش می یابد (۱)

با توجه به جدول (۴) مدل خطی، مدل مناسب برای بررسی پروتئولیز اولیه بود. در این مدل تأثیر مالتودکسترین و آب پنیر بر روی پروتئولیز اولیه معنادار نشان داده شد. مدل خطی تأثیر مالتودکسترین و پودر آب پنیر بر پروتئولیز اولیه در رابطه ریاضی (۱) نشان داده شده است که نشان دهنده این

$$Y = \text{Intercept} + \beta_1 \text{ malto} + \beta_2 \text{ whey}$$

$$Y = ۲۵/۱۵ + ۲/۱۶(\text{malto}) + ۱/۲۰ (\text{whey})$$

جدول ۵- نتایج آنالیز ANOVA بر روی میانگین شاخص پروتئولیز ثانویه

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آماره F	P-VALUE	معناداری
مدل خطی	۶۰/۷۶	۲	۳۰/۳۸	۱۱/۶۴	۰/۰۰۲۴	معنادار
مالتودکسترین	۴۵/۲۰	۱	۴۵/۲۰	۱۷/۳۳	۰/۰۰۱۹	معنادار
آب پنیر	۱۵/۵۵	۱	۱۵/۵۵	۵/۹۶	۰/۰۳۴۷	معنادار
باقیماندها	۲۶/۰۹	۱۰	۲/۶۱			
Lack of Fit	۲۰/۷۲	۶	۳/۴۵	۲/۵۸	۰/۱۸۹۵	عدم معناداری
همبستگی کل	۸۶/۸۵	۱۲				

* تفاوت معنادار در سطح احتمال ۰/۰۵ را نشان میدهد (P<0.05)

بود که با نتایج حاصل در این تحقیق مطابقت داشت. تأثیر تعداد باکتری‌های مزوفیل بر روی نسبت ازت محلول در $pH=4/6$ به ازت کل و ازت غیر پروتئینی به ازت کل معنادار بود ($P<0/05$). به طوری که با کاهش تعداد باکتری‌های مزوفیل میزان ازت محلول در $pH=4/6$ به ازت کل و ازت غیر پروتئینی به ازت کل افزایش یافت که با نتایج شکل و همکاران (۲۰۰۰) در بررسی میزان باکتری‌های مزوفیل طی دوره رسیدن پنیر سفید ترکی مطابقت داشت (۳۸)

۳-۲-۳- تأثیر تعداد مخمرها و قارچ‌های پنیر شهری پگاه گلپایگان و تیمارهای طراحی شده بر پروتئولیز
تأثیر تعداد مخمرها و قارچ‌ها بر روی نسبت ازت محلول در $pH=4/6$ به ازت کل و ازت غیر پروتئینی به ازت کل معنادار بود ($P<0/05$). به طوری که با افزایش تعداد مخمرها و قارچ‌ها میزان ازت محلول در $pH=4/6$ به ازت کل و ازت غیر پروتئینی به ازت کل افزایش یافت که با نتایج تورنادیجو و همکاران (۱۹۹۵) در بررسی پنیر گوسفندی اسپانیایی مطابقت داشت (۴۸).

۳-۳- ارزیابی حسی

نتایج ارزیابی حسی پنیر شهری پگاه گلپایگان از روز پنجم تا روز بیستم با افزایش طعم تلخ همراه بود بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که زمان رسیدن پنیر و اثر متقابل آن بر روی ارزیابی حسی معنادار می‌باشد ($P<0/05$). نتایج آنالیز ANOVA بر روی میانگین ارزیابی حسی در جدول (۶) نشان داده شده است.

با توجه به جدول (۵) مدل خطی، مدل مناسب برای بررسی پروتئولیز ثانویه بود. در این مدل تأثیر مالتودکسترین و آب پنیر بر روی پروتئولیز ثانویه معنادار نشان داده شد. مدل خطی تأثیر مالتودکسترین و پودر آب پنیر بر پروتئولیز ثانویه در رابطه ریاضی (۲) نشان داده شده است که نشان دهنده این است که با افزایش یک واحد از مالتودکسترین و آب پنیر به ترتیب مقدار پروتئولیز ثانویه ۲/۳۸ واحد و ۲/۳۹ واحد افزایش می‌یابد. (۲)

$$Y = \text{Intercept} + \beta_1 \text{ malto} + \beta_2 \text{ whey}$$

$$Y = 15/55 + 2/38 (\text{malto}) + 2/39 (\text{whey})$$

۳-۲-۳- تأثیر تعداد باکتری‌های پنیر شهری پگاه گلپایگان و تیمارهای طراحی شده بر پروتئولیز
تأثیر تعداد باکتری‌های سرماگرا بر روی نسبت ازت محلول در $pH=4/6$ به ازت کل و ازت غیر پروتئینی به ازت کل معنادار بود ($P<0/05$). به طوری که با افزایش تعداد باکتری‌های سرماگرا میزان ازت محلول در $pH=4/6$ به ازت کل و ازت غیر پروتئینی به ازت کل افزایش یافت. عزتی و همکاران (۱۳۹۱) با بررسی تأثیر تعداد باکتری‌های سرماگرا بر روی پنیر سفید سنتی و اولترافیلتراسیون به این نتیجه رسیدند که بین تعداد باکتری‌های سرماگرا و افزایش درصد ازت محلول به ازت کل و ازت غیر پروتئینی به ازت کل در طی دوره رسیدن رابطه معناداری وجود دارد که با نتایج حاصل از این بررسی مطابقت داشت (۵). حصاری و همکاران (۱۳۸۴) تأثیر تعداد باکتری‌های سرماگرا بر پروتئولیز پنیر سفید فرآپالایشی را مورد بررسی قرار دادند (۳) که تأثیر تعداد باکتری‌های سرماگرا بر پروتئولیز پنیر معنادار

جدول ۶- نتایج آنالیز ANOVA بر روی میانگین ارزیابی حسی

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آماره F	P-VALUE	معناداری
مدل درجه دوم	۶۳۱	۵	۱۲۶	۱۵۰۰۸	۰/۰۰۱۳	معنادار
مالتودکسترین	۲۱۲	۱	۲۱۲	۲۵۳۸	۰/۰۰۱۵	معنادار
آب پنیر	۰/۶۴۲۸	۱	۰/۶۴۲۸	۷/۶۸	۰/۰۲۳۶	معنادار
مالتودکسترین* آب پنیر	۱	۱	۱	۱۱/۹۵	۰/۰۱۰۶	معنادار
(مالتودکسترین)۲	۱/۶۳	۱	۱/۶۳	۱۹/۵۱	۰/۰۰۳۱	معنادار
(آب پنیر)۲	۱/۲۴	۱	۱/۲۴	۱۴/۸۰	۰/۰۰۶۳	معنادار
باقیمانده‌ها	۰/۵۸۵۶	۷	۰/۰۸۳۷			
همبستگی کل	۶/۸۹	۱۲				

* تفاوت معنادار در سطح احتمال ۰/۰۵ را نشان می‌دهد ($P<0.05$)

تعداد مخمرها و قارچ‌ها بر ویژگی‌های حسی پنیر گوسفندی اسپانیایی مطابقت داشت (۴۸). براساس نتایج به دست آمده، با افزایش پروتئولیز امتیاز حسی پنیر شهری پگاه گلپایگان کاهش یافت. بنابراین ایجاد طعم تلخ با افزایش پروتئولیز در ارتباط است که با نتایج استون ونف (۱۹۶۷) در بررسی اثر افزایش پروتئولیز و توسعه تلخی در پنیر کوتاچ مطابقت داشت. همچنین با نتایج فالیک و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی پروتئولیز و ارزیابی تلخی در پنیر راگوسانو مطابقت داشت (۱۶).

۳-۴- بهینه‌سازی پنیر شهری پگاه گلپایگان به روش CCD با نرم افزار RSM

در این تحقیق تأثیر دو عامل در پنج سطح بر روی بهینه‌سازی پنیر شهری پگاه گلپایگان و کاهش طعم تلخ آن مورد بررسی قرار گرفت. این دو عامل شامل مالتودکسترین و پودر آب پنیر بود. پس از وارد کردن عامل‌ها و سطوح و تعیین سه سطح پاسخ در برنامه RSM، ۱۳ تیمار توسط نرم‌افزار تعریف شد و براساس آن ۱۳ نمونه پنیر ساخته شد. ارزیابی پروتئولیز اولیه، ارزیابی پروتئولیز ثانویه، ارزیابی حسی و شمارش باکتری‌ها سرماگرا، مزوفیل، ترموفیل، مخمرها و قارچ‌ها به مانند پنیر شاهد انجام شد. بیشترین مقدار درصد ازت محلول در $pH=4/6$ به ازت کل و ازت غیر پروتئینی به ازت کل مربوط به تیمار ۲، ۴، ۶ و ۸ در روز بیستم بود و کمترین مقدار مربوط به تیمار ۵ و ۷ در روز بیستم بود. دلایل بالاتر بودن ازت محلول در $pH=4/6$ به ازت کل و ازت غیر پروتئینی به ازت کل در تیمارهای ۲، ۴، ۶ و ۸ در مقایسه با نمونه شاهد احتمالاً به وجود ترکیبات قندی بیشتر (افزودن مالتودکسترین و پودر آب پنیر) و در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم رنت می‌باشد که این نتایج با یافته‌های ولیکاکیس و همکاران (۲۰۰۴) درباره تأثیر بتا-گلوکان جو در پنیر سفید آب نمکی همخوانی داشت (۴۳). دلیل پایین بودن ازت محلول در $pH=4/6$ به ازت کل و ازت غیر پروتئینی به ازت کل در تیمارهای ۱، ۵ و ۷ نسبت به سایر تیمارها احتمالاً به علت کمتر بودن میزان مالتودکسترین و پودر آب پنیر می‌باشد که این نتایج با

با توجه به جدول (۶) مدل درجه دوم، مدل مناسب برای بررسی ارزیابی حسی بود. در این مدل تأثیر مالتودکسترین، آب پنیر، اثر متقابل آن‌ها و مالتودکسترین و آب پنیر به توان ۲ بر روی ارزیابی حسی معنادار نشان داده شد. مدل خطی تأثیر مالتودکسترین و پودر آب پنیر بر ارزیابی حسی در رابطه ریاضی (۳) نشان داده شده است که نشان دهنده این است که با افزایش یک واحد از مالتودکسترین و آب پنیر به ترتیب مقدار ارزیابی حسی ۰/۵۱۵۲ واحد و ۰/۲۸۳۵ واحد کاهش می‌یابد. (۳)

$$Y = \text{Intercept} + \beta_1 \text{ malto} + \beta_2 \text{ whey} + \beta_3 \text{ malto} * \text{whey} + \beta_4 (\text{malto})^2 + \beta_5 (\text{whey})^2$$

$$Y = 100 - 0.5152 (\text{malto}) - 0.2835 (\text{whey}) + 0.5 (\text{malto} * \text{whey}) - 0.4844 (\text{malto})^2 - 4219.0 / (\text{whey})^2$$

۳-۳-۱- تأثیر تعداد باکتری‌های پنیر شهری پگاه گلپایگان و تیمارهای طراحی شده بر ارزیابی حسی

تعداد باکتری‌های سرماگرا بر روی ارزیابی حسی پنیر از نظر ایجاد طعم تلخ تأثیر داشت. به طوری که با افزایش تعداد باکتری‌های سرماگرا در ارزیابی حسی پنیر، طعم تلخ افزایش یافت که با نتایج حصاری و همکاران (۱۳۸۴) در بررسی تأثیر تعداد باکتری‌های سرماگرا بر ویژگی‌های حسی پنیر سفید فرآپالایشی مطابقت داشت (۳). تعداد باکتری‌های مزوفیل بر روی ارزیابی حسی پنیر از نظر ایجاد طعم تلخ تأثیر داشت. به طوری که با کاهش تعداد باکتری‌های مزوفیل در ارزیابی حسی پنیر، طعم تلخ افزایش یافت و با نتایج شکیل و همکاران (۲۰۰۰) در بررسی میزان باکتری‌های مزوفیل طی دوره رسیدن پنیر سفید ترکی مطابقت داشت (۳۸).

۳-۳-۲- تأثیر تعداد مخمرها و قارچ‌های پنیر شهری پگاه گلپایگان و تیمارهای طراحی شده بر ارزیابی حسی

تعداد مخمرها و قارچ‌ها بر روی ارزیابی حسی پنیر از نظر ایجاد طعم تلخ تأثیر داشت. به طوری که با افزایش تعداد مخمرها و قارچ‌ها در ارزیابی حسی پنیر، طعم تلخ افزایش یافت که با نتایج تورنادیجو و همکاران (۱۹۹۵) در بررسی

افزایش پروتئولیز با افزایش طعم تلخ پنیر همراه بود که این نتایج با تحقیقات نظری و همکاران (۱۳۹۵) در بررسی اثر افزایش پروتئولیز و توسعه تلخی در پنیر کاتیج (۷) و با نتایج فالیک و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی پروتئولیز و ارزیابی تلخی در پنیر راگوسانو مطابقت داشت (۱۶).

۴- نتیجه گیری

در مطالعه حاضر تیمارهای طراحی شده به روش CCD با نرم افزار RSM از نظر ارزیابی پروتئولیز اولیه، ارزیابی پروتئولیز ثانویه و ارزیابی حسی مورد ارزیابی قرار گرفت و براساس مقایسه میانگین‌ها نوع تیمار تأثیر معناداری بر ویژگی‌های حسی پنیر به ویژه طعم تلخ آن داشت. تیمارهای ۵ و ۷ بیش‌ترین امتیاز را از پانلیست‌ها دریافت کردند که دارای کم‌ترین پروتئولیز بودند و مقدار مالتودکسترین و پودر آب پنیر در تیمار ۵ به ترتیب ۰/۵٪ و ۱/۷۵٪ و مقدار مالتودکسترین و پودر آب پنیر در تیمار ۷ به ترتیب ۱/۷۵٪ و ۰/۵٪ و کم‌ترین امتیاز به ترتیب به نمونه‌های ۲، ۴، ۶ و ۸ بود که بیش‌ترین مقدار ترکیبات پری بیوتیک را دار بودند. دلیل امتیازدهی پایین به این تیمارها طبق گزارش پانلیست‌ها وجود طعم تلخ در پنیر به خاطر پروتئولیز بالا می‌باشد. بنابراین ساخت پنیر شهری با اضافه کردن پودر مالتودکسترین و پودر آب پنیر در نسبت مناسب می‌تواند مشکل تلخی ایجاد شده در پنیر شهری پگاه گلپایگان را برطرف نماید علاوه بر آن استفاده از پودرهای پری بیوتیک باعث افزایش ارزش غذایی پنیر شهری پگاه گلپایگان می‌گردد.

۵- منابع

- آقازاده مشگی، م. ۱۳۸۶. بررسی پاره‌ای از خصوصیات میکروبیولوژیکی و شیمیایی پنیر کوزه در آذربایجان غربی. مجله علوم غذایی و تغذیه، جلد ۳، شماره ۴، ۸۷-۸۰.
- اکرمی، م.، نظریان، ف.، اسماعیلی، ا. ۱۳۹۴. جداسازی و شناسایی باکتری‌های پروبیوتیکی تولید کننده اسید لاکتیک از شیر الاغ. فصلنامه علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی لرستان، ۱۷ جلد ۱۷، شماره ۴، ۱۰۸-۹۹.

یافته‌های ولیکاکیس و همکاران (۲۰۰۴) همخوانی داشت. بنابراین نوع تیمار، زمان رسیدن و اثر متقابل آن‌ها بر روی درصد ازت محلول در $pH=4/6$ به ازت کل و ازت غیر پروتئینی به ازت کل معنادار بوده است ($P<0/05$). نتایج ارزیابی حسی تیمارهای تهیه شده بیان‌گر این موضوع است که براساس مقایسه میانگین‌ها، نوع تیمار تأثیر معناداری بر ویژگی‌های حسی پنیر به ویژه ایجاد طعم تلخ و ارزیابی کلی داشت ($P<0/05$). با استفاده از درصد‌های مختلف پری بیوتیک‌های مالتودکسترین و پودر آب پنیر در تیمارهای مختلف ویژگی‌های حسی تیمارها تغییر پیدا کرد و دلیل آن نقش مؤثر پری بیوتیک‌ها در ویژگی‌های حسی می‌باشد که با نتایج به دست آمده توسط ماچوکا و همکاران (۲۰۱۵) در ارزیابی حسی پنیر ساخته شده با ترکیبات پری بیوتیک اینولین و اولیگوفروکتوز (۲۶) و با نتایج گیری در بررسی اثر اینولین بر روی ویژگی‌های حسی پنیر مطابقت داشت (۱۷). در این تحقیق پانلیست‌ها بیش‌ترین امتیاز مربوط به طعم، عطر و بافت را به تیمار ۵ و ۷ دادند. این نتایج با تحقیق انجام شده توسط نظری و همکاران (۱۳۹۵) در بررسی تأثیر مالتودکسترین بر ویژگی‌های حسی پنیر سفید فراپالایشی کم چرب مطابقت داشت (۷). علی‌رغم استفاده از پری بیوتیک‌های مالتودکسترین و پودر آب پنیر در همه تیمارها، ویژگی‌های حسی یکسان نبود. تأثیر متقابل زمان رسیدن پنیر (روزهای پنجم، دهم، پانزدهم و بیستم) و نوع تیمار در کاهش طعم تلخ پنیر معنادار بود ($P<0/05$). ویژگی‌های ظاهری از لحاظ رنگ و بافت توسط پانلیست‌ها بررسی شد که نمونه‌ها دارای اختلاف معناداری نبودند. بهترین تیمار از نظر نداشتن طعم تلخ که بیش‌ترین امتیاز را از پانلیست‌ها گرفت مربوط به تیمار ۵ و ۷ بود. تیمارهایی که کم‌ترین امتیاز را از لحاظ نداشتن طعم تلخ از پانلیست‌ها دریافت کردند تیمارهای ۲، ۴، ۶ و ۸ بود. بیش‌ترین مقدار درصد ازت محلول در $pH=4/6$ به ازت کل و ازت غیر پروتئینی به ازت کل را تیمارهای ۲، ۴، ۶ و ۸ نسبت به تیمارهای دیگر داشتند که احتمالاً به علت بیشتر بودن میزان مالتودکسترین و پودر آب پنیر می‌باشد که این نتایج با یافته‌های نظری و همکاران (۱۳۹۵) همخوانی داشت (۷).

- British Microbiology Research Journal*, 8(5): 585-603.
12. Blažić, M., Pavić, K., Zavadlav, S., Marčac, N. 2017. The impact of traditional cheeses and whey on health. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 9(2): 198-203.
13. Coeuret, V., Dubernet, S., Bernardeau, M., Gueguen, M., Vernoux, J. P. 2003. Isolation, characterisation and identification of lactobacilli focusing mainly on cheeses and other dairy products. *Le Lait*, 83(4): 269-306.
14. Edalati, M. 2011. Identification and characterization of lactic flora of Iranian raw milk cheeses using cultural and molecular methods. Thesis. Ferdowsi University of Mashhad.
15. Fairbairn, D. J., Law, B. A. 1986. Proteinases of psychrotrophic bacteria: their production, properties, effects and control. *Journal of Dairy Research*, 53(1): 139-177.
16. Fallic, V., McSweeney, P., Horne, J., Pediliggieri, C., Hannon, J., Carpino, S., Licitra, G. 2005. Evaluation of bitterness in ragusano cheese. *Journal of Dairy Science*, 88(4): 1288-1300.
17. Giri, A., Kanawjia, S. K., Singh, M. P. 2017. Effect of inulin on physico-chemical, sensory, fatty acid profile and microstructure of processed cheese spread. *Journal of Food Science and Technology*, 54(8): 2443-2451.
18. Greisen, K., Loeffelholz, M., Purohit, A., Leong, D. 1994. PCR primers and probes for the 16SrRNA gene of most species of pathogenic bacteria, including bacteria found in cerebrospinal fluid. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(2): 335-351.
19. Guarner, F., Khan, A. G., Garisch, J., Eliakim, R., Gangl, A., Thomson, A., de Paula, J. A. 2012. World gastroenterology organisation global guidelines: probiotics and prebiotics october 2011. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 46(6): 468-481.
20. Hauerlandová, I., Lorencová, E., Buňka, F., Navrátil, J., Janečková, K., Buňková, L. 2014. The influence of fat and monoacylglycerols on growth of spore-forming bacteria in processed cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 182(1): 37-43.
21. Horwood, J., Stark, W., Hull, R. 1987. A "fermented, yeasty" flavour defect in Cheddar cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 42(1): 25-48.
22. Karatas, S., Tekin, Z H., Kiran, E. 2016. Reasons of bitterness in ultrafiltrated white
۳. حصاری، ج، احسانی، م، خسروشاهی اصل، ا، قائمی، ن. ۱۳۸۴. تاثیر تعداد باکتری های سرماگرا و یاخته های پیکری بر پروتئولیز و ویژگی های حسی پنیر سفید فراپالایشی. *مجله علوم و صنایع غذایی ایران*، جلد ۱، شماره ۲، ۵۴-۴۳.
۴. دژخی، ه، یزدان ستاد، س، ارباب سلیمانی، ن، نجف پور، ر، غیبی حیات، م، فرج تبریزی، ا. ۱۳۹۶. مطالعه تفصیلی و شناسایی مولکولی باکتری های ایجاد کننده طعم تلخ در خامه پاستوریزه. *مجله میکروب شناسی مواد غذایی*، جلد ۴، شماره ۱، ۲۸-۱۱.
۵. شادزی، ش. ۱۳۹۰. *فارچ شناسی پزشکی*. انتشارات جهاد دانشگاهی اصفهان.
۶. عزتی، ر، دزیانی، م، شاکریان، م، میرزایی، ج، بهادری منفرد، ا. ۱۳۹۱. تغییرات راندمان و رسیدگی پنیر سفید سنتی و اولترافیلتراسیون تحت تاثیر باکتری های سرماگرا. *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*، جلد ۷، شماره ۵، ۵۳۰-۵۲۳.
۷. نظری، م، مرتضوی، ع، حصاری، ج، طباطبایی یزدی، ف. ۱۳۹۵. تاثیر مالتودکسترین حاصل از نشاسته ذرت بر ویژگی های شیمیایی، حسی و ریزساختار پنیر سفید فراپالایشی کم چرب. *فناوری های نوین غذایی*، جلد ۳، شماره ۱۱، ۹۷-۸۵.
8. Alegría, Á., Álvarez-Martín, P., Sacristán, N., Fernández, E., Delgado, S., Mayo, B. 2009. Diversity and evolution of the microbial populations during manufacture and ripening of Casin, a traditional Spanish, starter-free cheese made from cow's milk. *International Journal of Food Microbiology*, 136:44-51.
9. Amann, R. I., Ludwig, W., Schleifer, K H. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews*, 59(1): 143-169.
10. Atlas, R M. 2010. *Handbook of microbiological media*, 4th edn, USA: CRC Press, 2040 p
11. Bisar, G. H., El-Saadany, K., Khatlab, A., El-Kholy, W. M. 2015. Implementing maltodextrin, polydextrose and inulin in making a synbiotic fermented dairy product.

- cheese during ripening. *LWT-Food Science and Technology*, 39(5): 449-454.
34. Pegah Golpayegan. 2017. Pegah Golpayegan dairy product. Available from: <http://golpayegan.pegah.ir>.
40. Rahnema, H., Rajabpour, S. 2017. Factors for consumer choice of dairy products in Iran. *Appetite*, 111(1): 46-55.
35. Romeih, E. A., Michaelidou, A., Biliaderis, C. G., Zerfiridis, G. K. 2002. Low-fat white-brined cheese made from bovine milk and two commercial fat mimetics: chemical, physical and sensory attributes. *International Dairy Journal*, 12(6): 525-540.
36. Rosana, Y., Matsuzawa, T., Gono, T., Karuniawati, A. 2014. Modified slide culture method for faster and easier identification of dermatophytes. *Microbiology Indonesia*, 8(3): 7-18.
37. Sahan, N., Yasar, K., Hayaloglu, A. A., Karaca, O. B., Kaya, A. 2008. Influence of fat replacers on chemical composition, proteolysis, texture profiles, meltability and sensory properties of low-fat Kashar cheese. *Journal of Dairy Research*, 75(1): 1-7.
38. Shakeel-Ur Rehman, J. M., Banks, P., McSweeney and P. Fox, 2000. Effect of ripening temperature on the growth of and significance of non starter lactic acid bacteria in cheddar cheese made from raw and pasteurized milk. *International Dairy Journal*. 10:45-53.
39. Soliman, N. S., Aly, S. A. 2011. Occurrence and identification of yeast species isolated from Egyptian karish cheese. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 2(4): 59-64.
40. Swart, G. J., Bastiaanse, C. A., Downes, T. E. 1983. Effect of psychotropic microorganisms on the manufacture and ripening of cheddar cheese. *South African Journal of Dairy Technology*. 15(3): 91-96.
41. Stone, W., Naff, D. 1967. Increases in soluble nitrogen and bitter flavor development in Cottage cheese. *Journal of Dairy Science*, 50(9): 1497-1500.
42. Tornadijo, M., Fresno, J., Bernardo, A., Sarmiento, R. M., Carballo, J. 1995. Microbiological changes throughout the manufacturing and ripening of a Spanish goat's raw milk cheese (Armada variety). *Le Lait*, 75(6): 551-570.
43. Walther, B., Schmid, A., Sieber, R., Wehrmüller, K. 2008. Cheese in nutrition and health. *Dairy Science and Technology*, 88(4-5): 389-405.
- cheese. *Journal of Innovative Studies in Sciences and Engineering Technology*, 39-44.
23. Kuchroo, C., Fox, P. 1982. Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft. Milk Science International*, 242-277.
24. Kwak, H., Ganesan, P., Hong, Y. 2011. Nutritional benefits in cheese, Nova Science Publishers: Hauppauge, NY, 267-287
25. Lund, F., Filtenborg, O., Frisvad, J. 1995. Associated mycoflora of cheese. *Food Microbiology*, 12(1): 173-180.
26. Machuca, L., Rodriguez, Y. E., Guastavino Meneguini, D. E., Bruzzo, M. E., Acuña Ojeda, M. F., Murguía M. C. 2015. Production and sensory evaluation of novel cheeses made with prebiotic substances: Inulin and Oligofructose, 1489-1495.
27. Maehashi, K., Huang, L. 2009. Bitter peptides and bitter taste receptors. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66(10): 1661-1671.
28. Mannu, L., Riu, G., Comunian, R., Fozzi, M. C., Scintu, M. F. 2002. A preliminary study of lactic acid bacteria in whey starter culture and industrial Pecorino Sardo ewes' milk cheese: PCR-identification and evolution during ripening. *International Dairy Journal*, 12(1): 17-26.
29. Mathara, J. M., Schillinger, U., Kutima, P. M., Mbugua, S. K., Holzapfel, W. H. 2004. Isolation, identification and characterisation of the dominant microorganisms of kule naoto: the Maasai traditional fermented milk in Kenya. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3): 269-278.
30. Moradi-Khatonabadi, Z., Maghsoudlou, Y., Ezzatpanah, H., Khomeiri, M., Aminafshar, M. 2014. Occurrence of *Bacillus cereus* in raw milk receiving from UF-Feta cheese plants. *Iranian Journal of Health and Environment*, 6(4): 545-556.
31. Moubasher, A. A., Abdel-Sater, M., Soliman, Z. 2018. Yeasts and filamentous fungi associated with some dairy products in Egypt. *Journal de Mycologie Medicale*, 28(1): 76-86
32. Ogier, J. C., Son, O., Gruss, A., Tailliez, P., Delacroix-Buchet, A. 2002. Identification of the bacterial microflora in dairy products by temporal temperature gradient gel electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(8): 3691-3701.
33. Öner, Z., Karahan, A. G., Aloglu, H. 2006. Changes in the microbiological and chemical characteristics of an artisanal Turkish white

(Original Research Paper)

Identification of Microbial Profile of Pegah Golpayegan Shahri Cheese and Optimization of Its Bitter Taste Reduction Process by Adding Prebiotic Compounds

Fatemeh Davari¹, Nafiseh Sadat Naghavi^{1*}, Hashem Nayyeri²

1- Department of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

2- Department of Biochemistry, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Received: 23/08/2019

Accepted:05/011/2019

Abstract

The aim of this study was to identify the microbial profile of Shahri cheese of Pegah Golpayegan and reduce its bitter taste by adding prebiotic compounds of whey and maltodextrin. Microorganisms were identified by macroscopic, microscopic, biochemical and molecular tests. Prebiotic compounds of whey and maltodextrin were used to reduce bitter taste of cheese. Cheese production was optimized by CCD method using RSM software. Sensory evaluation was performed by panelist and proteolysis assay by measuring soluble nitrogen to total nitrogen and non-protein nitrogen to total nitrogen . Based on the results, three bacterial isolates, one fungal isolate and one yeast isolate were identified in Shahri cheese. The results of response level test in proteolysis assay showed that with increasing maltodextrin and whey the amount of proteolysis increased and in sensory evaluation with increasing maltodextrin and whey decreased the amount of sensory evaluation. The effect of maltodextrin and whey on proteolysis evaluation and sensory evaluation was significant. The optimum values for maltodextrin and whey were 0.894 and 1.668, respectively. In the sensory evaluation, the two treatments received the highest score from the panelists . . The amount of maltodextrin and whey in the two treatments were (0.5% and 1.75%) and (1.75% and 0.5%), respectively. Both treatments showed a 22% reduction in proteolysis compared to the control sample. The effect of cheese ripening time and number of microorganisms on proteolysis and bitter taste were significant. The results showed that prebiotic compounds could be effective in reducing proteolysis and bitter taste of cheese.

Keywords: Shahri Cheese, Bitter Taste, Microbial Profile, Prebiotic, Sensory Evaluation.

*Corresponding Author: nafiseh_naghavy@yahoo.com