تأثیر سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک بر میزان اسیدی شدن شیر ماست‌سازی در دوره گرم خانه‌گذاری

نسیم آذری [a]، حمید عزت پناه [b*]، مهدی امین افشار [c]

[a] دانش آموخته کارشناسی ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

[b] استادیار گروه تخصصی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

[c] استادیار گروه تخصصی علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۲/۱۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۱۲/۲۰

چکیده

مقدمه: بیماری ورم پستان و افزایش سطح سلول‌های سوماتیک آن سال‌هاست که به عنوان خطری جدی برای سلامت دام، کیفیت شیر و فرآورده های شیری مورد توجه قرار گرفته است. هدف این پژوهش بررسی تأثیر بیماری ورم پستان بر روند تخمیر شیر ماست‌سازی مایه خورده در زمان گرم‌خانه‌گذاری می‌باشد.

مواد و روش‌ها: از شیر ماست‌سازی در سه سطح سلول‌های سوماتیک؛ پایین (کم‌تر از ۲۰۰۰۰۰)، متوسط (۸۰۰۰۰۰ – ۲۰۰۰۰۰) و بالا (بیش از ۸۰۰۰۰۰ سلول در هر میلی لیتر) استفاده شد و میزان نیتروژن غیر پروتئینی در نمونه شیر خام و اسیدیته قابل تیتر و pH شیر مایه خورده در طول گرم‌خانه‌گذاری ماست قالبی تولید شده، پایش گردید.

یافته‌ها: با افزایش سطح سلول‌های سوماتیک، میزان نیتروژن غیر پروتئینی در نمونه شیر خام به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد و از سوی دیگر زمان گرم‌خانه‌گذاری طولانی‌تری برای رسیدن به اسیدیته قابل تیتر و pH هدف در پایان دوره گرم‌خانه‌گذاری مورد نیاز است ($p<0.05$). احتمالاً افزایش سطح سلول های سوماتیک و فعالیت پروتئولیتیک بیشتر در این نمونه‌ها منجر به تولید ترکیبات نیتروژنی غیر پروتئینی بیشتر شده که عاملی برای تحریک رشد استرپتوکوکوس ترموفیلوس به شمار می‌آید، از سوی دیگر می‌توان افزایش غلظت کلر، سیترات و ایمونوگلوبولین ها و کاهش مقدار پتاسیم، کلسیم، فسفر، کازئین و لاکتوز را در بروز این پدیده در نمونه‌های حاوی سلول‌های سوماتیک متوسط و زیاد موثر دانست.

نتیجه‌گیری: با افزایش سطح سلول‌های سوماتیک، زمان تخمیر و رسیدن به میزان اسیدیته لازم برای داشتن بافت مطلوب افزایش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: *اسیدیته قابل تیتر، سلول‌های سوماتیک، گرم‌خانه‌گذاری، نیتروژن غیر پروتئینی*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: hamidezzatpanah@yahoo.com

jftn.srbiau.ac.ir

مقدمه

بیماری ورم پستان بر اساس تعریف فدراسیون بین‌المللی شیر به عنوان هر گونه واکنش التهابی غدد پستانی تعریف می‌شود. این بیماری به دو شکل بالینی[1] و تحت بالینی[2] وجود دارد. بیماری بالینی از نشانه‌های آشکاری در دام مانند قرمزی و تورم پستان‌ها، احساس درد در هنگام دوشش، ایجاد لخته‌های خونی، دمای بالای شیر، دلمه شدن شیر و یا ظاهر غیر طبیعی برخوردار است. شیر خام حاصل از دام مبتلا به ورم پستان تحت بالینی ظاهراً طبیعی به نظر می‌آید و تنها به وسیله روش های آزمایشگاهی، به ویژه شمارش سلول‌های سوماتیک، قابل تشخیص است؛ در حالی که امکان شناسایی شیر دوشیده شده از دام مبتلا به ورم پستان بالینی به مراتب آسان تر است (Urech *et al*., 1999; Verdi & Barbano, 1991; Welenberg *et al*., 2002) خسارات سالانه و جهانی این بیماری حدود ۳۵ میلیارد دلار برآورد شده است که علت اصلی آن کاهش میزان تولید شیر قلمداد شده است. ورم پستان بالینی ۳۴ درصد و نوع تحت بالینی ۶۶ درصد از این خسارت را موجب می‌شود (Fernandes *et al*., 2004; Klei *et al*., 1998).

ماست از پرطرفدارترین محصولات تخمیری شیر در دنیا محسوب می‌شود که منشاء آن را کشورهای بالکان و شرق مدیترانه دانسته‌اند. در طول تهیه ماست و در اثر اسیدی شدن محیط، میسل های کازئین دست خوش تغییراتی می‌شوند که عمده‌ترین این تغییرات عبارتند از:

کاهش بار منفی میسل های کازئینی در pH=۴/۶

باقی ماندن ممانعت فضائی[3] ماکروپپتید.

تجمع ذرات کازئین با نزدیک شدن pH به ایزوالکتریک آن‌ها.

حلالیت هر چه بیشتر فسفات کلسیم کلوئیدی با پیشرفت اسیدی شدن و خارج شدن مولکول‌های کازئین از میسل در pH حدود ۵

افزایش انعطاف‌پذیری ذرات کازئین با از دست رفتن فسفات کلسیم کلوئیدی.

نو آرایی مولکول‌ها / ذرات کازئینی قبل، در هنگام ایجاد ژل و پس از آن.

تغییر پتانسیل زتا[4] در میسل‌های کازئینی.

تغییر اندک در ابعاد میسل ها (Barry & Donnelly, 1981; Rosenthal, 1991).

ساختار بنیادی در تمام انواع ماست شبکه پروتئینی است. در طی تلقیح و قبل از کاهش pH، قوام ماست ثابت بوده و پس از شروع کاهش pH، گرانروی هم متناسب با کاهش آن افزایش می‌یابد. از هنگامی که pH به ۵ می‌رسد تا زمانی که نهایتا ژل به صورت شبکه تور مانندی می‌گیرد، گرانروی ثابت می‌ماند. فاز آبی تأثیر بسیار مهمی بر ویژگی‌های لخته حاصله دارد، به گونه‌ای که آب به طور مستقیم به مولکول کازئین متصل می‌شود و در فضای روزنه‌ای بین میسل‌ها محصور می گردد. آب باقی‌مانده که به صورت سرم آزاد وجود دارد، به وسیله شبکه فوق محصور می‌شود. در اثر آسیب فیزیکی به این شبکه این بخش از آب جدا شده و اصطلاحاً ماست آب می اندازد (Tamime & Kalab, 1983;Harwalkar & Robinson, 2007).

بررسی‌های انجام شده حاکی از آن است که مطالعات انگشت شماری در سطح جهان در ارتباط با اثر بیماری ورم پستان بر ویژگی‌های ماست و البته شیر مایه خورده در دوره گرم‌خانه‌گذاری وجود دارد. تمامی این مطالعات در ارتباط با ماست هم زده[5] بوده و گزارشاتی در ارتباط با ماست قالبی[6] تا امروز وجود ندارد، به گونه‌ای که برخی پژوهشگران به این واقعیت اشاره نموده‌اند که تا سال ۲۰۰۳ میلادی، گزارشات اندکی در خصوص رابطه شمار سلول‌های سوماتیک و ویژگی‌های ماست در دسترس بوده و همچنین وجود تناقض در نتایج این مطالعات کم شمار، مشهود است (Le Rouxi *et al*., 2003).

با توجه به افزایش مقدار نیتروژن غیر پروتئینی و pH و کاهش اسیدیته قابل تیتر شیر خام با افزایش سطح سلول‌های سوماتیک و احتمال بروز آثار نامطلوب در ماست حاصل از شیر دام‌های مبتلا به بیماری ورم پستان تحت بالینی (Hurley *et al*., 2000;Le Rouxi *et al*., 2003)، در این پژوهش تأثیر سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک و مقدار نیتروژن غیر پروتئینی

1- Clinical
2-Sub-clinical
3- Steric repulsion
4- Zeta potential
5- Stirred yoghurt
6- Set yoghurt

ifn.srbiau.ac.ir

شیر خام بر روند تحولات pH و اسیدیته قابل تیتراسیون شیر مایه خورده در دوره گرم‌خانه گذاری مورد بررسی قرار گرفت).

مواد و روش‌ها

برای شمارش سلول‌های سوماتیک از دستگاه فوسوماتیک ۵۰۰۰ ساخت کشور دانمارک و برای تعیین pH از pH متر مدل Inolab pH 720 ساخت کشور آلمان استفاده شد. به منظور تهیه مایه ماست، مایه میکروبی آغازگر DVS سری ۲۸۰- Yo-Flex YC ۵۰ واحدی، تهیه شده از شرکت کریستین هانسن[1]، حاوی لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس به نسبت ۱:۱ و برای آماده سازی آن، شیر استریلیزه یک لیتری با سری ساخت، تاریخ و ساعت تولید یکسان، پس از اطمینان از سطح پایین سلول‌های سوماتیک آن (حدود ۳۰۰۰ سلول در هر میلی لیتر از شیر)، استفاده شد. تمامی ترکیبات شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش از شرکت مرک[2] آلمان تهیه شدند.

- روش نمونه گیری، انتقال و آماده سازی نمونه‌ها

شیر مورد استفاده در این پژوهش به صورت روزانه از دوشش صبح یک دامداری واقع در کیلومتر ۵ جاده قدیم کرج- قزوین تهیه شد. تعداد ۳۰ رأس گاو هلشتاین خالص با سن حدود ۶-۴ سال، در اواسط دوره شیردهی با شکم زایش‌های تقریباً برابر و جیره غذایی مشابه و بدون تزریق آنتی بیوتیک در هفت روز قبل از نمونه گیری، انتخاب شده و شیر هر کارتیه از پستان گاو به طور جداگانه بر اساس روش ISO 707 نمونه‌گیری شد (ISO, 1997). نمونه‌ها سریعاً در دمای ۱±۴ درجه سانتی‌گراد به مؤسسه اصلاح نژاد دام در مشکین‌دشت کرج انتقال یافتند و شمار سلول‌های سوماتیک آن‌ها تعیین گردید. سپس کارتیه‌ها در سه سطح طبقه‌بندی شدند: سطح پایین شامل کارتیه‌هایی با سلول‌های سوماتیک کم تر از ۲۰۰/۰۰۰، سطح متوسط کارتیه‌هایی با ۲۰۰/۰۰۰ تا ۸۰۰/۰۰۰ و سطح بالا کارتیه های دارای بیش از ۸۰۰/۰۰۰ سلول در هر میلی لیتر شیر. پس از هر بار نمونه گیری، آن‌ها به طور جداگانه در ظروف استریل درب دار شیشه‌ای یک لیتری جمع‌آوری گردیده و در دمای ۱± ۴ درجه سانتی‌گراد سریعاً به آزمایشگاه منتقل شدند.

ارزیابی نیتروژن غیر پروتئینی در نمونه‌های شیر خام مطابق با روش AOAC شماره ۹۹۱/۲۱ در هر سطح از سلول‌های سوماتیک با سه تکرار انجام شد (AOAC, 2002).

تهیه ماست قالبی با استفاده از مایه ماست DVS، بدین صورت انجام گردید که نمونه‌های شیر ماست‌سازی به منظور جداسازی مواد خارجی پس از صاف شدن، در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه عمل آوری شدند. پس از آن دمای آن ها به ۴۲ تا ۴۳ درجه سانتی گراد کاهش یافت (Urech *et al*., 1999;Verdi & Barbano, 1991) و مطابق با دستورالعمل شرکت تولیدکننده مایه میکروبی آغازگر به ازای هر لیتر شیر، مقدار ۴ میلی لیتر مایه ماست آماده شده به نمونه‌ها اضافه گردید. سپس نمونه‌ها در ظروف پلی اتیلنی درب دار پاکیزه ۱۰۰ میلی‌لیتری پر شده و پس از درب بندی در گرم خانه با دمای ۱±۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت نگهداری شدند. (Tamime & Robinson, 1999;Tamime & Robinson, 2007). در این دوره زمانی هر ۳۰ دقیقه مقدار pH و اسیدیته قابل تیتر در شش نمونه از شیر مایه خورده تهیه شده در هر سطح از سلول‌های سوماتیک تعیین شدند و آزمایشات مذکور برای نمونه‌های مربوط به هر سطح از سلول های سوماتیک سه بار تکرار شد. پس از تعیین معادلات خط رگرسیون تغییرات pH و اسیدیته نمونه‌های شیر مایه خورده در دوره گرم خانه گذاری، زمان گرم‌خانه‌گذاری برای رسیدن به pH و اسیدیته مطلوب مطابق با معیارهای اعلام شده در مراجع علمی معتبر تعیین گردیدند (AOAC, 2002).

- روش‌های آماری

برای انجام آنالیزهای آماری از نرم افزارهای Excel، Minitab و SAS استفاده گردید. ابتدا آزمون نرمال بودن داده‌ها با استفاده از روش اندرسون- دارلینگ[3] انجام شد. پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، آنالیز تجزیه واریانس با روش بلوک کامل تصادفی انجام گردید. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش مقایسه میانگین چند دامنه ای دانکن[4] انجام گردید. در صورت نرمال نبودن داده‌ها

1- Christian Hansen
2- Merck
3- Anderson-Darling
4- Duncan

jfn.srbiau.ac.ir

ابتدا نرمال کردن آن‌ها با استفاده از یکی از روش‌های تبدیل زاویه‌ای؛ تبدیل لگاریتمی و یا باکس کاکس[1] انجام شد و سپس آنالیز تجزیه واریانس مطابق روش‌های مذکور انجام گردید.

یافته‌ها

- میزان نیتروژن غیر پروتئینی در نمونه‌های شیر خام

در نمودار ۱ مقدار میانگین نیتروژن غیر پروتئینی در نمونه‌های شیر خام حاوی سطوح پایین؛ متوسط و بالای سلول‌های سوماتیک نشان داده شده است.

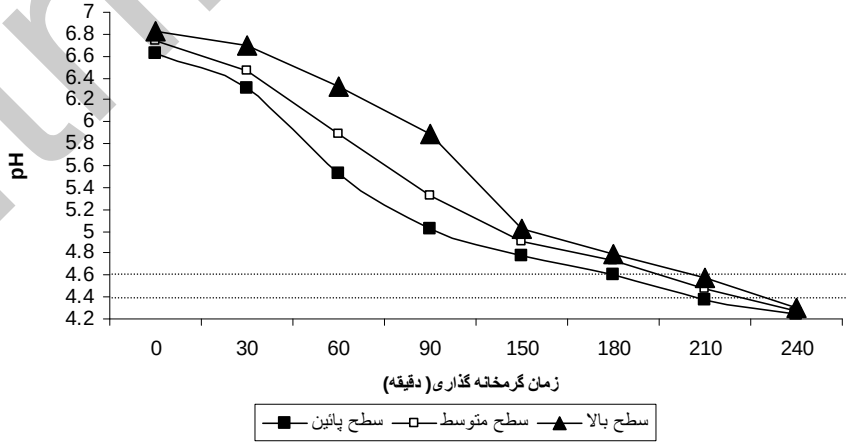
تفاوت در میزان نیتروژن غیر پروتئینی در بین سطوح پایین؛ متوسط و بالا از سلول‌های سوماتیک در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار بود.

همان گونه که مشاهده می‌شود مقدار نیتروژن غیر پروتئینی در نمونه‌های حاوی شمار بالای سلول‌های سوماتیک، بالاترین بوده و بعد از آن سطح متوسط قرار می‌گیرد و نمونه با سطح پایین سلول‌های سوماتیک کم‌ترین میزان نیتروژن غیر پروتئینی را دارا می‌باشد.

- روند تغییرات pH شیر مایه خورده در دوره گرم‌خانه‌گذاری

روند تحولات pH نمونه‌های شیر مایه خورده با سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک در زمان گرم‌خانه‌گذاری و زمان کاهش pH به حدود ۴/۶ و ۴/۴ که در مراجع مختلف به عنوان حدود قابل قبول ذکر شده در نمودار ۲ نشان داده شده است (Chandan, 2006; Ralph, 1998).

نمودار ۱- میانگین مقدار نیتروژن غیر پروتئینی نمونه‌های شیر خام (بر حسب گرم درصد) با سطوح مختلف



نمودار ۳- روند تغییرات pH نمونه‌های شیر مایه خورده با سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک در زمان گرم‌خانه‌گذاری و زمان رسیدن به pH ٤/٦ و ٤/٤

1- Box Cox

jftn.srbiau.ac.ir

بر اساس آنالیزهای آماری انجام شده معادلات خط رگرسیون رابطه بین زمان گرم‌خانه گذاری و میزان pH در نمونه‌های حاوی سطوح مختلف از سلول‌های سوماتیک به صورت زیر به دست آمد:

- نمونه مربوط به سطح پایین

pH ×(۹۴/۲۹)–۶۰۸/۹= زمان گرم‌خانه‌گذاری (دقیقه)

R-Sq(adj). =٪۹۰/۱

α<۰/۰۱

- نمونه مربوط به سطح متوسط

pH×(۹۴/۲۳) –۶۲۵/۴ =زمان گرم‌خانه‌گذاری (دقیقه)

R-Sq(adj).=٪۹۵/۱

α<۰/۰۱

- نمونه مربوط به سطح بالا

pH ×(۸۵/۸۸) –۵۹۵/۷ =زمان گرم‌خانه‌گذاری (دقیقه)

R-Sq(adj).=٪۹۸/۶

α<۰/۰۱

بررسی این معادلات نشان می‌دهد که روند کاهش میزان pH نمونه‌های سطح بالا در طول زمان گرم‌خانه‌گذاری ملایم‌تر از نمونه‌های دیگر و کاهش آن در نمونه سطح پایین سریع‌تر از دیگر نمونه‌ها روی می‌دهد و بررسی‌های آماری مشخص کرد که تفاوت معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ در بین نمونه‌های مایه خورده با سطوح مختلف از سلول‌های سوماتیک از نظر pH در زمان‌های ۳۰،۶۰،۹۰،۱۵۰ و ۱۸۰ دقیقه پس از شروع گرم‌خانه‌گذاری وجود دارد (نمودار ۲).

- روند تغییرات اسیدیته شیر مایه خورده در طول زمان گرم‌خانه‌گذاری

روند تغییرات اسیدیته قابل تیتر در نمونه‌های شیر مایه خورده با سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک در زمان گرم‌خانه‌گذاری و زمان افزایش اسیدیته به ۰/۶، ۰/۸ و ۰/۹ درصد اسید لاکتیک که در اغلب منابع علمی آمده‌اند، در نمودار ۳ نشان داده شده است (Chandan , 2006;Fox & Mcsweeney, 1998).

بررسی‌های آماری مشخص کرد که تفاوت معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ در بین نمونه‌های مایه خورده با سطوح مختلف از سلول‌های سوماتیک از نظر اسیدیته در زمان‌های ۳۰،۶۰،۹۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ دقیقه پس از شروع گرم‌خانه گذاری وجود دارد (نمودار۴).

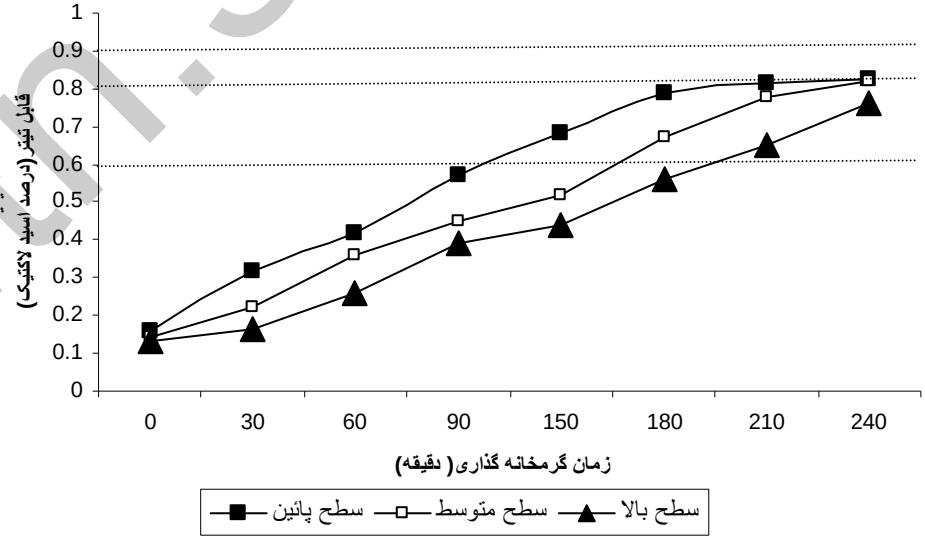
تجزیه و تحلیل‌های آماری انجام شده بر نتایج معادلات خط رگرسیون رابطه بین زمان گرم‌خانه‌گذاری و میزان اسیدیته قابل تیتر در نمونه‌های حاوی سطوح مختلف از سلول های سوماتیک را به صورت زیر حاصل نمود:

- نمونه مربوط به سطح پایین

اسیدیته × (۳۴۱/۴)+(۲۹/ ۷۵–)=زمان گرم‌خانه‌گذاری (دقیقه)

R-Sq(adj).=٪۹۳/۸

α<۰/۰۱



نمودار ۳- روند تغییرات میزان اسیدیته قابل تیتر (بر حسب درصد اسید لاکتیک) نمونه‌های شیر مایه خورده با سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک در زمان گرم‌خانه‌گذاری و زمان افزایش اسیدیته تا ۰/٦، ۰/۸ و ۰/۹ درصد اسید لاکتیک

jftn.srbiau.ac.ir

- نمونه مربوط به سطح متوسط

اسیدیته× ۳۴۸+(۵۲/۲۸−)=زمان گرم‌خانه‌گذاری (دقیقه)

R-Sq(adj).=٪۹۷/۸

α<۰/۰۱

- نمونه مربوط به سطح بالا

اسیدیته ×۳۷۹/۶+(۳۴/۳۹−)=زمان گرم‌خانه‌گذاری (دقیقه)

R-Sq(adj).=٪۹۷/۵

α<۰/۰۱

بررسی روند افزایش اسیدیته قابل تیتر در نمونه‌های شیر مایه خورده نشان داد که تغییرات اسیدیته در نمونه سطح بالا کندترین و در سطح پایین از سلول‌های سوماتیک سریع ترین روند افزایشی را دارا است (نمودار ۳).

به منظور تعیین زمان انعقاد بر اساس pH و اسیدیته مطلوب و اعلام شده در مراجع علمی مختلف برای تهیه ماست واجد ساختار و ویژگی‌های قابل قبول (عطر و طعم، قوام، ویسکوزیته، بافت، ساختار و میزان آب اندازی)، منابع علمی بررسی شدند که در جدول‌های۱ و ۲ اطلاعات مربوطه آورده شده است. زمان گرم‌خانه‌گذاری برای کاهش pH به حدود تعیین شده در آن‌ها برای نمونه‌های شیر مایه خورده مورد بررسی در این پژوهش در سطوح پایین، متوسط و بالا بر اساس معادلات خطوط رگرسیون به دست آمده، تعیین و مقایسه شدند. لازم به یادآوری است که در مراجع علمی معتبر pH و اسیدیته قابل تیتر قابل قبول در انتهای دوره گرم‌خانه‌گذاری مشابه نیست. بهر حال نتایج این پژوهش نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ در زمان مورد نیاز برای رسیدن به pH و اسیدیته قابل تیتر بر اساس معیارهای اعلام شده از سوی مراجع علمی معتبر در بین نمونه‌های مربوط به سطوح مختلف از سلول‌های سوماتیک وجود دارد و بر اساس این معیارها سطح سلول‌های سوماتیک شیر اولیه بر مدت زمان گرم‌خانه‌گذاری تأثیر معنی داری دارد (جدول‌های ۱ و ۲).

جدول ۱- مدت گرم‌خانه‌گذاری (بر حسب دقیقه) برای رسیدن به pHتعیین شده در برخی مراجع علمی در نمونه‌های شیر مایه خورده با سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک

pH	شماره مرجع	سطح پایین	سطح متوسط	سطح بالا
۴/۸	Beal & Skokanova , 1999	۱۵۶	۱۷۳	۱۸۴
۴/۷۸	Tamime & Robinson, 2007	۱۵۸	۱۷۵	۱۸۵
۴/۶۵	Fox & Mcsweeney, 1998	۱۷۰	۱۸۷	۱۹۶
۴/۶۴	Hammer & Babel, 1957	۱۷۱	۱۸۹	۱۹۶
۴/۶	Fernandes *et al*., 2007	۱۷۵	۱۹۲	۲۰۱
۴/۵	Fox & Mcsweeney, 1998	۱۸۶	۲۰۱	۲۰۹
۴/۴	Ralph, 1998	۱۹۴	۲۱۱	۲۱۸

جدول ۲- زمان گرم‌خانه‌گذاری (بر حسب دقیقه) برای رسیدن به اسیدیته قابل تیتر (بر حسب درصد اسید لاکتیک) تعیین شده در برخی مراجع علمی در نمونه‌های شیر مایه خورده با سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک

اسیدیته	شماره مرجع	سطح پایین	سطح متوسط	سطح بالا
۰/۶۳	Tamime & Robinson, 2007	۱۴۰	۱۶۷	۲۰۰
۰/۸۵	Fox & Mcsweeney, 1998	۲۱۵	۲۴۳	۲۸۳
۰/۸۸	Hammer & Babel , 1957	۲۲۵	۲۵۴	۲۹۵
۰/۹	Fox & Mcsweeney, 1998	۲۳۲	۲۶۱	۳۰۲

jftn.srbiau.ac.ir

بحث

تمیم و رابینسون در سال‌های ۱۹۹۹ و ۲۰۰۷ به کاهش محسوس فعالیت مایه‌های میکروبی آغازگر (۳۵٪) در نمونه‌های شیر مایه خورده هم‌زمان با بالا رفتن شمار سلول‌های سوماتیک اشاره نموده‌اند و به منظور غیر فعال کردن این سلول‌ها اعمال فرآیند حرارتی در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه را پیشنهاد نموده‌اند. که در این پژوهش نیز از این ترکیب دما – زمان استفاده شد، بر این اساس نمی‌توان تغییرات pH و اسیدیته قابل تیتر شیر مایه خورده با سطوح مختلف سلول های سوماتیک را به تأثیر مستقیم این سلول‌ها بر باکتری‌های آغازگر مورد استفاده نسبت داد (Tamime & Robinson, 1999 ; 2007).

یکی از مهم‌ترین پروتئازهای موجود در شیر آنزیم پلاسمین است که با افزایش شمار سلول‌های سوماتیک در شیر مقدار و فعالیت آن به صورت قابل توجهی افزایش می‌یابد. پلاسمین باعث تجزیه کازئین شیر می‌شود همچنین برخی از پژوهش‌های صورت گرفته نشان می‌دهند که فعالیت پلاسمین در شیر باعث کاهش زمان انعقاد رنتی، سختی کم‌تر در لخته، کاهش بهره پنیر و ایجاد پدیده ژله‌ای شدن در شیرهای استریلیزه و گسترش بدطعمی و تلخی در شیر و از هم پاشیدگی محصولات تهیه شده بر پایه کازئین در طول زمان نگهداری می شود (Fernandes *et al*., 2007). از طرف دیگر الاستاز؛ کاتپسین‌های C,B,D,G و آنزیم‌های مرتبط با پلی مورفونوکلئورها که در اثر عفونت غدد پستانی افرایش می‌یابند پروتئین‌های موجود در شیر به خصوص کازئین‌ها را به عنوان سوبسترای اصلی مورد حمله قرار می‌دهند. در نتیجه فعالیت این آنزیم‌ها در شیر از میزان پروتئین‌ها کاسته شده و بر مقادیر ترکیباتی همچون پروتئوز پپتون ها افزوده می‌شود که در نهایت منجر به افزایش میزان نیتروژن غیر پروتئینی در شیر و ماست قالبی حاصل از دام مبتلا به ورم پستان می‌گردد. از سوی دیگر بررسی منابع علمی نشان می‌دهد انرژی فعال‌سازی[1] برای غیر فعال شدن پلاسمین در دمای حدود ۱۳۸–۱۱۰ درجه سانتی‌گراد برای شمار پایین سلول های سوماتیک، پایین‌تر از انرژی لازم در این دما در ارتباط با شمار بالا سلول‌های سوماتیک می‌باشد که به نظر می‌رسد در فرایند حرارتی اعمال شده تولید ماست (۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه) این آنزیم همچنان فعال بوده و به فعالیت پروتئازی خود ادامه می‌دهد (Tamime & Robinson, 2007 ; 1999).

به دلیل عدم وجود گزارشی مبنی بر تأثیر سلول‌های سوماتیک در ماست بر روند رشد و تکثیر *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، به ناچار پژوهش های دیگری در خصوص فرآورده تهیه شده به وسیله *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و تأثیر سطوح سلول‌های سوماتیک بر روند رشد و تکثیر این میکروارگانیسم‌ها، با نتایج این پژوهش مقایسه گردید. مطابق با نتایج به دست آمده در سایر قسمت‌های این پژوهش که در قالب مقاله و یا خلاصه مقاله در کنگره‌های مختلف ارائه شده است، افزایش سطح سلول‌های سوماتیک منجر به افزایش معنی‌داری در میزان نیتروژن غیر پروتئینی در شیر ماست‌سازی می‌گردد که نتیجه آن تولید نمونه ماستی با ویژگی‌های ساختاری و رئولوژیکی ضعیف است و در نمونه‌های دارای سطح بالا و متوسط سلول‌های سوماتیک ساختار ماست به دست آمده شل‌تر و آبکی‌تر و لخته حاصل ضعیف‌تر بود و میزان آب اندازی در آن‌ها بیشتر و گرانروی آن‌ها کم‌تر از نمونه‌های تهیه شده از سطح پایین سلول های سوماتیک است. تمام این نتایج نشان از افزایش پروتئولیز کازئین‌ها به عنوان یکی از فاکتورهای مهم ساختاری ماست و در نتیجه افزایش میزان نیتروژن غیر پروتئینی و بروز تغییرات یونی در نمونه های سطوح بالا و متوسط است که نتیجه آن موجب زمان گرم‌خانه‌گذاری طولانی‌تر و اختلال در روند کاهش pH و افزایش اسیدیته قابل تیتر در دوره گرم‌خانه گذاری نمونه های مذکور است (Azari *et al*., 2009).

ارزیابی حسی نمونه‌های ماست که پیش از این گزارش شده است، نشان می‌دهد کم‌ترین امتیاز به نمونه حاوی بالاترین سطح از سلول‌های سوماتیک اختصاص دارد به گونه‌ای که عطر و طعم ناخواسته ناشی از فعالیت پروتئازها، افزایش سطح نیتروژن غیر

1- Energy activation

jft.srbiau.ac.ir

پروتئینی و بر هم خوردن تعادل *لاکتوباسیلوس* و *استرپتوکوکوس*ها محسوس بود به ویژه طعم تلخی ناشی از پروتئولیز و تولید پپتون‌های تلخ و شوری ناشی از افزایش یون‌های سدیم و کلر نیز در این نمونه‌ها تشخیص داده شد (آذری و همکاران، ۱۳۸۸ ;Azari *et al.*, 2008).

مشابه یافته‌های دیگر پژوهش‌ها به نظر می‌رسد در این تحقیق افزایش مقدار ترکیبات ازت دار غیر پروتئینی همراه با افزایش سطح سلول های سوماتیک (نمودار۱)، رشد *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* بیش از حد معمول تحریک شده در حالی که احتمالاً رشد و تکثیر *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* افزایش غیر معمولی نیافته است که نتیجه حاصل از آن ملایم‌تر کردن روند کاهش pH و آهسته کردن شدت افزایش اسیدیته قابل تیتر در شیر مایه خورده در دوره نگهداری است (Welenberg *et al.*, 2002, Politis, 1998).

همچنین در اثر افزایش شمار سلول های سوماتیک در شیر، ماده خشک بدون چربی شیر دچار تغییر اندکی می‌شود، ولی میزان چربی شیر، کازئین و لاکتوز به طور مشخصی تغییر می‌نماید. اگر چه در مورد تغییر کمیت چربی شیر نتیجه قاطعی ارائه نشده است، اما کاهش کازئین و لاکتوز به اثبات رسیده است، به‌طوری‌که با کاهش مقدار کازئین، میزان کلسیم شیر نیز کاهش می‌یابد. در عین حال مقدار پروتئین‌های سرمی (به ویژه ایمونوگلوبولین‌ها، سرم آلبومین خونی و لاکتوفرین) افزایش می‌یابد و در اثر ورود ترکیبات خون به شیر به خصوص ایمونوگلوبولین‌ها که غنی از اسیدآمینه لیزین با ماهیت قلیایی می‌باشند؛ محیط یونی شیر تغییر کرده و به این ترتیب سدیم و کلر در شیر زیاد شده و پتاسیم کاهش می‌یابد که یکی از نتایج آن بر هم خوردن تعادل مواد معدنی است. با کاهش مقدار فسفر و افزایش غلظت سیترات در شیر خام به عنوان ماده مورد استفاده برای تهیه شیر مایه خورده می‌توان انتظار داشت ضمن افزایش pH و کاهش اسیدیته قابل تیتر در شیر خام این تحولات موجب بروز تغییراتی در فاکتورهای یاد شده در شیر مایه خورده شوند، مثلاً در صورتی‌که pH اولیه شیر خام افزایش یابد، امکان دارد که کاهش pH در طول گرم‌خانه‌گذاری شیر مایه خورده تا رسیدن به pH برابر ۴/۶ زمان طولانی‌تری در قیاس با شیر مایه خورده گرم‌خانه‌گذاری شده حاصل از نمونه شیر خام با pH پایین تر نیاز داشته باشد (Fox & Kelly, 2006; Hampton & Rolph, 1969). به هر حال مشابه یافته برخی پژوهشگران، این احتمال داده شد که کاهش میزان لاکتوز و تبدیل آن به اسید لاکتیک از طریق تخمیر آن در دوره گرم خانه گذاری در نمونه‌های سطح بالا از سلول‌های سوماتیک به طور مشخصی از سایر نمونه‌ها به خصوص نمونه دارای شمار سلول‌های سوماتیک پایین کم‌تر بوده و روند کندتری داشته باشد (Welenberg *et al.*, 2002, Politis, 1998).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان دادند که میزان نیتروژن غیر پروتئینی و زمان گرم‌خانه‌گذاری برای تولید نمونه ماست قالبی با ویژگی‌های نسبتاً قابل قبول به ترتیب در هنگام استفاده از نمونه‌های شیر ماست‌سازی با سطوح سلول‌های سوماتیک پایین، متوسط و بالا افزایش می‌یابد.

به نظر می‌رسد در هنگام گرم خانه گذاری نمونه‌های شیر مایه خورده با سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک و به علت آن‌که در دوره زمانی انتهایی گرم‌خانه‌گذاری، تفاوت اسیدیته قابل تیتر در نمونه‌ها به مراتب مشخص‌تر از اختلاف pH در آن‌ها است و تمیز دادن این فاکتور به وضوح بیشتری ممکن است، نتیجه‌گیری می‌شود که بهتر است از اسیدیته قابل تیتر به این منظور استفاده شود. می‌توان تصور کرد که به دلیل آن‌که تغییرات pH تحت تأثیر تغییر ظرفیت بافری شیر قرار می گیرد، پایش این فاکتور در نمونه‌ها از کارآمدی کم تری نسبت به اسیدیته قابل تیتر برخوردار باشد.

با توجه به افزایش زمان گرم‌خانه گذاری تا رسیدن به pH و اسیدیته قابل تیتر مناسب در نمونه‌های دارای سطح متوسط و به ویژه سطح بالا از سلول‌های سوماتیک و نیز اثرات سوء افزایش زمان گرم‌خانه‌گذاری بر ساختار، بافت، ویژگی های حسی، ویژگی‌های رئولوژیک و به خصوص میزان

jftn.srbiau.ac.ir

آب اندازی ماست لازم است که به کنترل سلول‌های سوماتیک در شیر خام و عدم اختلاط انواع آن از نظر سطح سلول‌های سوماتیک و درجه بندی آن ها در دامداری و سایر مراحل پس از آن و انتخاب شیر ماست‌سازی حاوی سطح پایین از سلول های سوماتیک (کم‌تر از ۲۰۰۰۰۰ سلول در هر میلی لیتر از شیر) برای ورود به خط تولید ماست اهمیت خاصی مبذول گردد.

منابع

آذری، ن، عزت پناه، ح. و امین افشار، م. (۱۳۸۸). تعیین ماندگاری ماست قالبی تهیه شده از شیر خام کامل با سطوح مختلف سلول‌های پیکری بر اساس ویژگی‌های ارگانولپتیک، مجله علوم غذایی و تغذیه، شماره ۳ (پیاپی ۲۳)، صفحات ۱۲ تا ۱۹.

Azari, N., Ezzatpanah, H., Aminafshar, M., Dabirian, Sh. & Amjadi Golpaygani, F. (2008). The effect of somatic cell counts in syneresis and sensory evaluation of set yoghurt. Fil IDF world dairy summit, Mexico city, Mexico, 11-14 November.

Azari, N., Ezzatpanah, H. & Aminafshar, M. (2009). Effect of somatic cell count in raw milk and storage time on set style yoghurt physical properties. IDF world dairy summit, Berlin, Germany.

AOAC. (2002). Official methods of analysis of the AOAC, 15th ed. (Ed. S. Williams). Arlington, USA: Association of Official Analytical Chemists.

Barry, J. G. & Donnelly, W. J. (1981). Casein compositional studies. II. The effect of secretory disturbance on casein composition in freshly drawn aged bovine milks. Journal of Dairy Research, 48, 437–446.

Beal, C. & Skokanova, J. (1999). Combined effects of culture conditions and storage time on acidification and viscosity of stirred yogurt. Journal of Dairy Science, 82, 673–681.

Chandan, R. C. (2006). Manufacturing yogurt and fermented milks. Blackwell publishing, 61, 214.

Fernandes, A. M., Oliveira, C. A. F. & Tavolaro, P. (2004). Relationship between somatic cell counts and composition of milk from individual Holstein cows. International Dairy Journal, 17, 163-166.

Fernandes, A. M., Oliveira, C. A. & Lima F. C. G. (2007). Effects of somatic cell counts in milk on physical chemical characteristics of yoghurt. International Dairy Journal, 71, 111-115.

Fox, P. F. & Mcsweeney, P. L. H. (1998). Dairy chemistry and biochemistry, 33-35.

Fox, P. F. & Kelly, A. L. (2006). Indigenous enzymes in milk: Overview historical aspects—Part 2. International Dairy Journal, 16, 517–532.

Hammer, B. W. & Babel, F. J. (1957). Dairy bacteriology. 4th edition. Prideaux press, 69.

Hampton, O. & Rolph, H. E. (1969). Influence of mastitis on properties of milk. II. Acid production curd firmness. American Dairy Science Association, 52.

Harwalkar, V. R. & Kalab, M. (1983). Susceptibility of yoghurt to syneresis. Comparison of centrifugation drainage methods. Milchwissenschaft, 38, 517-522.

Hurley, M. J., Larsen, L. B., Kelly, A. L. & McSweeney, P. L. H. (2000). The milk acid proteinase cathepsin D: a review. International Dairy Journal, 10 , 673-681.

ISO. (1997). Milk and milk products - Guidance on sampling. International Standard Organization Geneva ISO 707.

Klei, L., Yun, J., Sapru, A., Lynch, J., Barbano, D., Sears, P. & Galton, D. (1998). Effects of milk somatic cell count on cottage cheese yield quality. Journal of Dairy Science, 81, 1205-1213.

Le Roux, Y., Laurent, F. & Moussaoui, F. (2003). Polymorphonuclear proteolytic activity milk composition change. Vet. Research, 34 ,629–645.

Politis, I. (1988). Effects of somatic cell counts milk composition on the coagulating properties of milk. Journal of Dairy Science, 71, 1740.

Ralph, E. (1998). The technology of dairy products. (second edition),114-132.

Rosenthal, I. (1991). Milk and dairy products, properties and processing. Balaban publishers, 32,40

Tamime, A. Y. & Robinson, R. K. (1999).Yoghurt Science Technology. Wood head Publishing Ltd and CRC Press LLC, 405.

Tamime, A. Y. & Robinson, R. K. (2007).Yoghurt Science Technology. Wood head Publishing Ltd and CRC Press LLC, 490-491.

Urech, E., Puhan, Z. & Schallibaum, M. (1999). Changes in milk protein fraction as affected by subclinical mastitis. Journal of Dairy Science, 82, 2402-2411.

Verdi, R. J. & Barbano, D. M. (1991). Properties of proteases from milk somatic cells blood leukocytes. Journal of Dairy Science, 74, 2077-2081.

Welenberg, G. J., Van der poel, W. H. M. & Van Oirschot, J. T. (2002).Viral infections bovine mastitis: a review. Veterinary Microbiology, 88, 27-45.

ifrn.srbiau.ac.ir

Food Technology & Nutrition / Spring 2011 / Vol. 8 / No. 2

The Effect of Different Somatic Cell Count Levels on the Rate of Acidification in Yoghurt Milk During Incubation Period

N. Azari[a], H. Ezzatpanah[b*], M. Aminafshar [c]

[a] M.Sc. of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[b] Assistant Professor of Food Science and Technology Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[c] Assistant Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 2 May 2009 Accepted: 11 March 2010

Abstract

Introduction: Mastitis and elevated somatic cell count are considered as factors that affect the quality of milk and milk products. The purpose of present study was to investigate the effect of mastitis on the rate of fermentation in inoculated yoghurt milk during incubation time.

Materials and Methods: Yoghurt milk with three different levels of somatic cell count (<200000 (Low), 200000 to 800000 (Medium) and >800000 cells/ml (High)) was used to produce set style yoghurt. The non protein nitrogen in raw milk, titratable acidity and pH of inoculated yoghurt milk were monitored during incubation period.

Results: The results revealed that with increasing somatic cell count, the amount of non protein nitrogen increases and longer incubation time is required to reach the target pH or titratable acidity at the end of incubation period ($p<0.05$). It was suggested that by elevating somatic cell count, the concentrations of chloride, sodium, citrate and immunoglobulin increase while the concentrations of potassium, calcium, phosphorus, casein and lactose decrease which might cause alteration of buffering capacity, pH and titratable acidity of yoghurt milk. Beside higher proteolytic activity in mastitic milk that results in higher non-protein nitrogen content in medium and high somatic cell samples can stimulate the growth of Streptococcus thermophilus.

Conclusion: It has been concluded that at high level of somatic cell in yoghurt milk, longer fermentation is required to achieve the desired acidity and structure in final yoghurt.

Keywords: *Incubation, Non Protein Nitrogen, pH, Somatic Cell Count and Titratable Acidity.*

**Corresponding Author:* hamidezzatpanah@yahoo.com

علوم غذایی و تغذیه / بهار ۱۳۹۰ / سال هشتم/شماره ۲

jfn.srbiau.ac.ir