

## Effect of microfiltration and bacteriophage processes and storage temperature on microbial, chemical, tissue and organoleptic properties of Iranian enzymatic cheese

Mohammadi, S.M.<sup>1</sup>, Aminlari, M.<sup>2\*</sup>, Shekarforoush, S.S.<sup>3</sup>, Hosseinzadeh, S.<sup>3</sup>

1. PhD graduate of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
2. Professor, Department of Biochemistry and Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
3. Professor, Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

\*Corresponding Author: aminlari@shirazu.ac.ir

(Received: 2019/9/8 Accepted: 2019/12/3)

### Abstract

The flavor and quality of the Iranian enzymatic cheese are influenced by different factors during its production and storage. The present study was aimed to investigate the effects of various processing conditions, such as pasteurization, retentate treatment, microfiltration (MF), double bactofugation (DBF) and ultrafiltration on the microbial, chemical and textural analysis of the Iranian enzymatic cheese. Our results revealed a significant reduction of the mesophilic bacterial counts ( $p < 0.05$ ), in all the applied methods of processing. A considerable increase in the numbers of yeasts and molds was observed up to the 21<sup>st</sup> days of storage ( $p < 0.05$ ). No obvious changes were observed in the spore counts in 4 °C storage condition, except for the treatment that double bactofugation was excluded. Moreover, the levels of proteins and NPN remained stable. Level of lactose was reduced during the shelving which was associated with the increased acidity due to the lactose fermentation. In general, the rigidity of samples was gradually increased up to the end of storage ( $p < 0.05$ ). The current study revealed that concomitant use of different technologies (Hardles' method) improved the overall acceptance of the cheese and increased its shelf life, the qualities which enhances at 4 °C storage condition.

**Conflict of interest:** None declared.

**Key words:** Iranian enzymatic cheese, Microfiltration, double Bactofugation, ultrafiltration, shelf life

DOI: 10.30495/JFH.0621.669328

«مقاله پژوهشی»

## بررسی اثر فرآیندهای میکروفیلتراسیون و باکتوفوگاسیون دوتایی و دمای نگهداری بر ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی، بافتی و حسی پنیر آنزیمی ایرانی

سید مسعود محمدی<sup>۱</sup>، محمود امین لاری<sup>۲\*</sup>، سید شهرام شکر فروش<sup>۳</sup>، سعید حسین زاده<sup>۳</sup>

۱. دانش‌آموخته دکتری تخصصی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، فارس، ایران

۲. استاد گروه بیوشیمی و بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۳. استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

\* نویسنده مسئول مکاتبات: aminlari@shirazu.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۸/۶/۱۷ پذیرش نهایی: ۹۸/۹/۱۲)

### چکیده

عوامل مختلفی موجب تغییرات طعمی و کیفی پنیر آنزیمی می‌شود. در این مطالعه از فرآیندهای مختلف شامل پاستوریزاسیون شیر خام و رنتیت، میکروفیلتراسیون (MF)، باکتوفوگاسیون دوتایی (DBF)، الترافیلتراسیون (UF). در غالب ۴ تیمار جهت ارزیابی کیفی، میکروبی، شیمیایی، بافتی و حسی پنیر آنزیمی ایرانی به منظور بهبود کیفیت و بررسی ماندگاری محصول انجام شد. نتایج نشان داد که در تیمارهایی که از DBF و MF استفاده شده بود، تعداد باکتری‌های مزوفیل کمتر بود ( $p < 0/05$ ). در تمامی تیمارها با افزایش زمان از روز اول تا روز ۲۱ تعداد کپک و مخمر افزایش داشت ( $p < 0/05$ ). همچنین در مورد میزان اسپور، اختلاف معنی‌داری در دمای ۴ درجه سلسیوس وجود نداشت و در تیمارهایی که فرآیند باکتوفوگاسیون دوتایی انجام نشده بود میزان اسپور در این دما افزایش یافت. بعلاوه در طول مدت ماندگاری، اختلافی در میزان پروتئین و NPN وجود نداشت. میزان لاکتوز نمونه‌ها در طول نگهداری کاهش یافت. با توجه به ارتباط اسیدلاکتیک و اسیدیته ناشی از تخمیر لاکتوز و میزان لاکتوز نمونه‌ها، نتایج افزایش اسیدیته (کاهش pH) میزان مصرف لاکتوز را تأیید نمود. همچنین آزمون سختی نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری نداشت اما با گذشت زمان از روز ۱ تا ۲۱، سختی بافت نمونه‌های پنیر افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). این مطالعه نشان داد که استفاده از تکنولوژی سالم‌سازی باکتوفوگاسیون دوتایی، موجب بهبود کیفیت محصول نسبت به میکروفیلتراسیون شد. در نهایت استفاده هم‌زمان از چند فرآیند (تکنولوژی Hurdle)، در افزایش کیفیت و ماندگاری پنیر از طریق کنترل پارامترهای میکروبی و شیمیایی مؤثر بود و در آزمون حسی نیز بالاترین نمره ارزشیابی را نسبت به سایر تیمارها دریافت کرد.

**واژه‌های کلیدی:** پنیر آنزیمی ایرانی، میکروفیلتراسیون، باکتوفوگاسیون دوتایی، اولترافیلتراسیون، ماندگاری

## مقدمه

مصرف‌کنندگان از لحاظ سلامتی، بازار غذاهای فراسودمند افزایش پیدا کرده است. از جمله کاربردهای دیگر پنیر آنزیمی، استفاده در محصولات مختلف نظیر سس‌های سالاد، پنیرهای تقلیدی، سوپ‌ها، اسنک‌ها، غذاهای کنسروی، محصولات تخمیری و غیره می‌باشد (Fox et al., 2017).

یکی از مواردی که باعث کاهش کیفیت پنیر می‌شود، ایجاد طعم تلخ در آن است. عوامل مختلفی در طعم تلخ پنیر نقش دارند. استفاده بیش از حد رنت و یا فعالیت زیاد رنت از مهم‌ترین عوامل تلخی در پنیر است. هم‌چنین نوع رنت، دما، pH، نوع آنزیم منعقد کننده، مقدار چربی، مقدار و نوع نمک موجود در پنیر، وجود ناخالصی در نمک طعام مصرفی همچون منیزیم، شیر مورد استفاده برای ساخت پنیر در صورتی که حاوی مقادیر زیاد پروتئین‌های تولید شده به وسیله باکتری‌های سرما گرا باشد و نیز وزن مولکولی آمینواسیدها (۱۰۰ تا ۶۰۰۰ دالتون) از عوامل تلخ شدن پنیر می‌باشند (Karatas et al., 2016; Kilcawley, 2017). در پنیرهایی که بدون آغازگر هستند و از طریق لخته آنزیمی تهیه می‌شوند، مانند پنیر آنزیمی ایرانی (شهری)، عوامل مؤثر در تلخی عبارتند از کیفیت شیر اولیه (نظیر نگهداری بیش از حد شیر خام قبل از فرایند پاستوریزاسیون و پس از آن)، دمای نگهداری پنیر تولیدی، میزان و نوع رنت و اسیدیته نهایی محصول می‌باشد (Lemieux and Simard, 1992). در طی پروسه تولید و نگهداری این پنیر، به دلیل pH مساعد و عدم رقابت بین میکروفلور پنیر و آغازگر مصرفی، دستخوش تغییرات کیفی می‌شود.

استفاده از روش‌هایی نظیر میکروفیلتراسیون و باکتوفوگاسیون شیر، با جدا کردن باکتری‌های شیر خام،

پنیر و فرآورده‌های شیر تخمیری از مهم‌ترین محصولات تولیدی از شیر به حساب می‌آیند. میزان مصرف سالانه پنیر در جهان بسیار زیاد می‌باشد که به صورت گسترده و در اشکال مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. پنیر آنزیمی از جمله پنیرهای موجود در بازار ایران است که تحت فرآیند تولید آنزیم رنت قرار گرفته و به صورت سنتی تولید می‌گردد اما در سالیان اخیر این نوع پنیر با توجه به ذائقه و درخواست مشتری به صورت صنعتی نیز تولید می‌شود. اساس کار تولید صنعتی با استفاده از فرآیند دریافت و انتخاب شیر و پاستوریزاسیون و تغلیظ با استفاده از فرآیند اولترافیلتراسیون و در فرآیند بعدی آنزیم رنت افزوده شده و سپس بدون استفاده از باکتری‌های آغازگر وارد بسته‌بندی لیوان شده و نمک زنی انجام می‌گردد (استاندارد ملی ۶۶۲۹-۲۰۱۵). اساس فناوری تولید پنیر آنزیمی، استفاده از آنزیم‌های منعقد کننده رنت می‌باشد که علاوه بر انعقاد شیر و تولید لخته، در شرایط بهینه نگهداری، سبب ایجاد طعم و آرومای مطلوب می‌شوند و اساساً با پنیر آنزیمی اصلاح شده (Enzyme Modified Cheese) متفاوت می‌باشند. در تولید پنیرهای آنزیمی اصلاح شده با استفاده از آنزیم‌های مختلف پروتئاز و لیپاز موجب ایجاد عطر و طعم قوی در پنیر می‌شوند که این مورد می‌تواند به عنوان طعم‌دهنده در سایر پنیرهای پروسس استفاده شود (Kilcawley et al., 2000). در فرآیند تولید پنیر آنزیمی اصلاح شده ممکن است هم‌زمان ترکیبات مفید تغذیه‌ای دیگری از قبیل پپتیدهای زیست فعال تولید شوند که از حیث فیزیولوژیکی حائز اهمیت بوده و با افزایش آگاهی

به کاهش استفاده از تیمار حرارتی کمک کرده و نیز باعث پایداری شیر در دماهای پایین‌تر می‌شود (Holm *et al.*, 1984; Walkling-Ribeiro *et al.*, 2011; Karatas *et al.*, 2016). میکروفیلتراسیون از تکنیک‌های غشایی تحت فشار است که برای جداسازی ذرات، میکروارگانیسم‌ها یا مولکول‌ها از مایعات به کار می‌رود. از نظر تکنولوژی، MF بین اولترافیلتراسیون و فیلترهای معمولی قرار می‌گیرد. در MF، غشاهایی با منافذ ۰/۱ تا ۱۰ میکرومتر به کار گرفته می‌شود (Solanki and Rizvi, 2001). باکتوفوگاسیون یکی از روش‌های جایگزین پاستوریزاسیون به حساب می‌آید. حدود ۹۸-۹۹ درصد از سلول‌های سوماتیک و باکتری و همچنین اسپورهای باکتری را می‌توان با سانتریفیوژ کردن در نیروهای گرانشی بالا در باکتوفوگاسیون حذف کرد (Fox *et al.*, 2004).

در این پژوهش با استفاده از فرآیندهای مختلف پاستوریزاسیون شیر خام و رتنتیت، میکروفیلتراسیون، باکتوفوگاسیون دوتایی، ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی، بافتی و حسی پنیر آنزیمی ایرانی در دو دمای نگهداری (۴-۶ و ۸-۱۰ درجه سانتی‌گراد) در مدت ماندگاری ۲۱ روزه مورد ارزیابی قرار گرفت. هدف از این تحقیق برون‌یابی فرآیند بهینه سالم‌سازی و فرآوری قبل از تولید پنیر و بررسی اثر دمای نگهداری و کنترل زنجیره سرما در زمان توزیع و نگهداری در قفسه‌های فروشگاه‌ها بود.

به‌صورت متوالی و با دور ۴۵۰۰ در دقیقه و ظرفیت ۱۰۰۰۰ میکروفیلتراسیون (GEA, Germany) با ظرفیت ۱۰۰۰۰ کیلوگرم شیر در ساعت و از جنس کامپاند تیتانیوم و سرامیک با سایز حداکثر ۱/۴ میکرومتر، باکتوفوگاسیون، توسط دو دستگاه باکتوفیوژ (Westfalia, Germany) به‌صورت متوالی و با دور ۴۵۰۰ در دقیقه و ظرفیت

## مواد و روش‌ها

### - مواد اولیه

شیر مورد استفاده در این تحقیق از گاوداری مجتمع پروتئینی پگاه با شمارش کلی باکتریایی کمتر از

سلسیوس در تونل انعقاد دستگاه و نمک‌زنی خشک (۲ درصد) توسط دستگاه بسته‌بندی (Primodan, Denmark) و در نهایت سردخانه گذاری در سردخانه ۴-۶ درجه سلسیوس تا زمان رسیدن به دمای مورد نظر انجام شد. آنزیم‌زنی به روش تهیه محلول آنزیم (اضافه کردن ۳۵ گرم آنزیم به ۵۰ لیتر آب و اضافه نمودن ۹ میلی لیتر از این محلول در هر لیوان نمونه، توسط دستگاه بسته‌بندی) با آنزیم Chy-max (Christian Hansen, Denmark) به میزان ۰/۰۰۰۰۲ گرم به ازای هر گرم رتنتیت انجام گرفت.

۱۰۰۰۰ کیلوگرم شیر در ساعت (باکتوفوگاسیون دوتایی)، الترافیلتراسیون، توسط دستگاه الترافیلتراسیون (APV, Denmark) با سایز مبران حداکثر ۰/۰۱ میکرومتر در دمای ۴۵ تا ۵۰ درجه سلسیوس و ظرفیت ۱۰۰۰۰ کیلوگرم شیر در ساعت و پاستوریزاسیون رتنتیت (APV, Denmark) در دمای ۷۲ تا ۷۵ درجه سلسیوس و به مدت ۱۵ ثانیه انجام گرفت. سپس مراحل آنزیم‌زنی، بسته‌بندی با استفاده از دستگاه بسته‌بندی (Primodan, Denmark)، در لیوان پنیری از جنس پلی پروپیلن، انعقاد به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه

جدول (۱) - تیمارهای مورداستفاده در آزمایش

تیمار	فرآیندها			
	پاستوریزاسیون رتنتیت	ترافیلتراسیون	باکتوفوگاسیون دوتایی	میکروفیلتراسیون
C	+	+	-	-
MF	+	+	-	+
DBF	+	+	+	-
MF+DBF	+	+	+	+

پاستوریزاسیون شیر خام، باکتوفوگاسیون، الترافیلتراسیون و پاستوریزاسیون رتنتیت نیز انجام گرفت.

#### - آزمون‌های شیمیایی

میزان چربی نمونه‌های پنیر با استفاده از روش ژریر (AOAC, 2002) و میزان نمک آن‌ها بر اساس روش ولهارد (Volhard) (AOAC, 2000) در روز تولید (روز اول) اندازه‌گیری شدند. میزان لاکتوز نمونه‌ها در روزهای ۱، ۱۴ و ۲۱ نیز طبق استاندارد ملی ایران اندازه‌گیری شد (ISIRI, 2450/2008). اندازه‌گیری اسیدیته نمونه‌های پنیر بر اساس استاندارد ملی ایران در روزهای ۱، ۱۴ و ۲۱ صورت گرفت (ISIRI, 2852/2006). میزان pH نیز با دستگاه pH متر

#### - نمونه برداری

نمونه‌های تولیدی در دو دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس به مدت ۲۱ روز سردخانه گذاری شدند و در روزهای ۱، ۱۴ و ۲۱ در سه تکرار مورد آزمایش‌های میکروبی، شیمیایی، بافتی و حسی قرار گرفتند.

#### - آزمون‌های میکروبی

آزمایش‌های میکروبی شامل: شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل هوازی (TC) (ISIRI, 5271/2000)، شمارش کلی فرم‌ها (ISIRI, 11166/2008)، شمارش کپک و مخمر (ISIRI, 10154/2007)، شمارش اسپورها (ISIRI, 13807/2009) بود. به علاوه آزمایش‌های فوق روی شیر خام و محصول پس از هر یک از فرآیندهای

نفر داور که بیشترین امتیاز ارزیابی چشایی را داشتند استفاده شد. ارزیابی از نظر بافت، طعم و بو در دوره ماندگاری پنیر در روزهای ۱، ۱۴ و ۲۱ صورت گرفت. جدول امتیازی برحسب روش مقایسه‌ای هدونیک ۵ نقطه‌ای انجام شد به طوری که به ترتیب امتیاز ۱ (غیرقابل مصرف) و ۵ (عالی) در نظر گرفته شد.

#### - آنالیز آماری

این طرح با استفاده از آزمایشات فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد و آزمون مقایسه میانگین‌ها به روش One-way Anova و آنالیز متعاقب دانکن در سطح معنی داری ( $p < 0.05$ ) انجام گرفت. تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام گرفت.

#### یافته‌ها

##### - آزمون‌های میکروبی

شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل هوازی (TC) در هر دو دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس برای نمونه‌های تیمار قابل مشاهده در جدول (۲)، در روزهای ۱، ۱۴ و ۲۱ انجام شد. در تمام تیمارها (به جز تیمار MF+DBF در دمای ۸ درجه سلسیوس)، با افزایش زمان از روز ۱ تا ۲۱، TC به طور معنی داری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). در تیمار MF+DBF در دمای ۸ درجه سلسیوس، TC در روز ۱ و ۱۴، اختلاف معنی داری نداشت ( $p > 0.05$ ) (جدول ۲).

همچنین در هر دو دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس، TC نمونه‌ها در بین تیمارهای مختلف در هر روز، اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

(Sanxin, China) در روزهای ۱، ۱۴ و ۲۱ اندازه‌گیری شد (Ardö and Polychroniadou, 1999). مقدار پروتئین نمونه‌ها نیز با روش کلدال (Kjeldahl) در روزهای ۱، ۱۴ و ۲۱ اندازه‌گیری شد (ISIR, 9188-1/2015). در نهایت مقدار نیتروژن برحسب درصد محاسبه گردید. برای تعیین پروتئین نیز مقدار نیتروژن در فاکتور ۶/۳۸ ضرب شد (ISIR, 9188-2/2001). ازت غیر پروتئینی با استفاده از رسوب با تری کلرواستیک اسید و روش کلدال در روزهای ۱، ۱۴ و ۲۱ اندازه‌گیری شد (ISIR, 9188-4/2001).

##### - آزمایش بافت سنجی

بافت نمونه‌های پنیر با استفاده از دستگاه بافت‌سنج (Bruckfield CT3, US) ارزیابی شد. برای آزمون TPA (Texture Profile Analysis) از پروب استوانه‌ای TA10 استفاده شد. نمونه‌های پنیر در ظروف مستطیلی شکل بسته‌بندی شدند. طول و عرض و ارتفاع هر نمونه  $35 \times 35 \times 35$  میلی‌متر بود. نمونه‌ها پس از خروج از یخچال در دستگاه قرار گرفتند و با سرعت نفوذ به نمونه‌ها، ۱ میلی‌متر بر ثانیه و میزان نفوذ پروب در نمونه، ۱۷/۵ میلی‌متر در نظر گرفته شد. هر آزمون حداقل در سه تکرار انجام شد و پارامترهای مختلف سختی (hardness)، حالت صمغی (gumminess)، پیوستگی (cohesiveness) و قابلیت ارتجاعی (springiness) به دست آمد (Jooyandeh et al., 2015).

##### - آزمون ویژگی‌های حسی

آزمون ویژگی‌های حسی طبق استاندارد ملی ایران انجام شد (ISIRI, 4691/1999). در این آزمون از ۳۰

جدول (۲) - شمارش کلی باکتری برحسب CFU/g Log در دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس طی نگهداری

تیمار	دمای ۴ °C			دمای ۸ °C		
	روز ۱	روز ۱۴	روز ۲۱	روز ۱	روز ۱۴	روز ۲۱
C	۳/۴۶±۰/۰۲ <sup>Aa</sup>	۴/۶۰±۰/۶۲ <sup>Ba</sup>	۵/۳±۰/۰ <sup>Ca</sup>	۳/۴۷±۰/۶۲ <sup>Aa</sup>	۴/۹۹±۰/۰ <sup>Ba</sup>	۵/۶۹±۰/۰۱ <sup>Ca</sup>
MF	۳/۰±۳۹/۰۲ <sup>Ab</sup>	۴/۵۴±۰/۶۳ <sup>Ba</sup>	۵/۲±۰/۰ <sup>Ba</sup>	۳/۴۰±۰/۶۳ <sup>Aa</sup>	۴/۹۰±۰/۰۳۳ <sup>Bb</sup>	۵/۶±۰/۰۰۲ <sup>Cb</sup>
DBF	۳/۳۳±۰/۰۱ <sup>Ac</sup>	۴/۵۰±۰/۶۴ <sup>Ba</sup>	۵/۰۷±۰/۰۰ <sup>Cc</sup>	۳/۳۳±۰/۶۳ <sup>Aa</sup>	۴/۸۴±۰/۰۱ <sup>Bc</sup>	۵/۵۴±۰/۰۰ <sup>Cc</sup>
MF+DBF	۳/۳۲±۰/۰۰ <sup>Ac</sup>	۴/۴۸±۰/۶۴ <sup>Ba</sup>	۴/۹۹±۰/۰ <sup>Cd</sup>	۳/۳۲±۰/۶۴ <sup>Aa</sup>	۴/۷۹±۰/۰۲ <sup>Bd</sup>	۵/۴۸±۰/۰۰ <sup>Cd</sup>

A, B, C: حروف لاتین بزرگ نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در هر ردیف هستند.

a, b, c, d: حروف لاتین کوچک نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در هر ستون هستند.

با مقایسه TC در تیمارهای مختلف در روز ۱، مشاهده شد که بین دو دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس، اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت. در حالی که در روز ۱۴ و نیز ۲۱، تعداد باکتری‌های مزوفیل در دمای ۸ درجه سلسیوس در تمام تیمارها بیشتر از ۴ درجه سلسیوس بود ( $p < 0/05$ ).

در مورد شمارش کپک‌ها نیز در دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس، در تمام تیمارها تعداد کپک‌ها با گذشت زمان افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). نتایج در جدول (۴) قابل مشاهده است. بعلاوه در هر تیمار، تفاوتی در تعداد کپک‌های شمارش شده بین دو دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس در روزهای مورد مطالعه وجود نداشت.

شمارش کلی فرم‌ها - با توجه به نتایج، هیچ‌گونه کلی‌فرمی از تمام تیمارها جداسازی نشد.

شمارش کپک و مخمر - در تمام تیمارها با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس، تعداد مخمرها افزایش

جدول (۳) - شمارش مخمر (CFU/g) تیمارهای مختلف نمونه پنیر در دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس طی نگهداری

تیمار	دمای ۴ °C			دمای ۸ °C		
	روز ۱	روز ۱۴	روز ۲۱	روز ۱	روز ۱۴	روز ۲۱
C	۱۴±۳/۶ <sup>Aa</sup>	۵۶/۶±۶/۷ <sup>Ba</sup>	۷۳/۳±۵/۷ <sup>Cab</sup>	۶/۶±۵/۷ <sup>Aa</sup>	۵۳/۳±۱۱/۵ <sup>Ba</sup>	۷۶/۶±۵/۷ <sup>Ca</sup>
MF	۸/۳±۲/۹ <sup>Aab</sup>	۴۶/۶±۵/۷ <sup>Ba</sup>	۷۰±۱۰ <sup>Cab</sup>	۵±۴ <sup>Aa</sup>	۵۰±۱۰ <sup>Ba</sup>	۷۶/۶±۱۱/۵ <sup>Ca</sup>
DBF	۵±۴ <sup>Ab</sup>	۵۶/۶±۵/۷ <sup>Ba</sup>	۷۶/۶±۱۱/۵ <sup>Cab</sup>	۱۰±۰ <sup>Aa</sup>	۴۶/۷±۵/۷ <sup>Ba</sup>	۸۳/۳±۵/۷ <sup>Ca</sup>
MF+DBF	۵±۴ <sup>Ab</sup>	۵۳/۳±۵/۷ <sup>BA</sup>	۷۶/۶±۵/۸ <sup>Cab</sup>	۱۰±۰ <sup>Aa</sup>	۶۰±۱۰ <sup>Ba</sup>	۸۰±۱۰ <sup>Ca</sup>

A, B, C: حروف لاتین بزرگ نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در هر ردیف هستند.

a, b, c, d: حروف لاتین کوچک نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در هر ستون هستند.

جدول (۴) - شمارش کپک (CFU/g) تیمارهای مختلف نمونه پنیر در دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس طی نگهداری

تیمار	دمای ۴ °C			دمای ۸ °C		
	روز ۱	روز ۱۴	روز ۲۱	روز ۱	روز ۱۴	روز ۲۱
C	۳۰۳/۳±۷/۸ <sup>Aa</sup>	۳۲۱/۶±۱۰/۴ <sup>ABa</sup>	۳۴۱±۱۰/۴ <sup>BA</sup>	۲۱۳/۳±۱۵/۳ <sup>Aa</sup>	۳۲۶/۷±۱۵/۳ <sup>Ba</sup>	۳۵۶/۶±۳۰/۵ <sup>Ba</sup>
MF	۲۹۶/۶±۵/۷ <sup>Aa</sup>	۳۱۰/۳±۱۰ <sup>Aa</sup>	۳۵۰±۱۰ <sup>Ba</sup>	۳۰۰±۱۰ <sup>Ab</sup>	۳۴۳/۳±۲۸/۸ <sup>Bb</sup>	۳۶۳/۳±۵/۷ <sup>Ba</sup>
DBF	۲۶۰±۱۰ <sup>Ab</sup>	۲۷۶/۶±۱۱/۵ <sup>Ab</sup>	۳۲۶/۶±۱۱/۵ <sup>Ab</sup>	۲۷۶/۷±۱۸/۸ <sup>Ac</sup>	۲۷۶/۷±۳۷/۸ <sup>Ac</sup>	۳۰۰±۱۷/۳ <sup>Ab</sup>
MF+DBF	۲۲۵±۵ <sup>Ac</sup>	۲۴۰±۵ <sup>Ac</sup>	۳۱۶/۶±۵ <sup>Ab</sup>	۲۵۰±۱۵/۸ <sup>Ac</sup>	۲۶۰/۳±۲۰/۸ <sup>Ac</sup>	۳۱۳/۳±۴۱/۶ <sup>Ab</sup>

A, B, C: حروف لاتین بزرگ نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار در هر ردیف هستند.

a, b, c, d: حروف لاتین کوچک نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار در هر ستون هستند.

جدول (۵) - شمارش اسپور (spore/g) تیمارهای مختلف نمونه پنیر در دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس طی نگهداری

تیمار	دمای ۴ °C			دمای ۸ °C		
	روز ۱	روز ۱۴	روز ۲۱	روز ۱	روز ۱۴	روز ۲۱
C	۱۰±۳/۶ <sup>Aa</sup>	۳۳/۳±۱۵/۲ <sup>Aab</sup>	۵۶/۶±۱۱/۵ <sup>Ba</sup>	۶/۶±۵/۷ <sup>Aa</sup>	۳۶/۶±۵/۷ <sup>Ba</sup>	۶۶/۶±۱۱/۵ <sup>Ca</sup>
MF	۲۰±۰/۰ <sup>Aa</sup>	۵۰±۰/۰ <sup>Ba</sup>	۵۶/۶±۵/۷ <sup>Ca</sup>	۱۰±۱۰ <sup>Aa</sup>	۳۶/۶±۱۱/۵ <sup>Ba</sup>	۶۰±۱۰ <sup>Ca</sup>
DBF	۱۰±۰/۰ <sup>Aa</sup>	۳۶/۷±۵/۷ <sup>Ba</sup>	۷۰±۰/۰ <sup>Ca</sup>	۶/۶±۵/۷ <sup>Aa</sup>	۳۶/۶±۱۱/۵ <sup>Ba</sup>	۶۳/۳±۵/۷ <sup>Ca</sup>
MF+DBF	۱۳/۳±۵/۳ <sup>Aa</sup>	۵۰±۱۰ <sup>ABa</sup>	۷۰±۲۶/۴ <sup>Ba</sup>	۱۳/۳±۵/۷ <sup>Aa</sup>	۵۳/۳±۵/۷ <sup>Ba</sup>	۶۶/۶±۱۱/۵ <sup>Ba</sup>

A, B, C: حروف لاتین بزرگ نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار در هر ردیف هستند.

a, b, c, d: حروف لاتین کوچک نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار در هر ستون هستند.

#### - شمارش اسپورها

تعداد اسپورها طی نگهداری در ۴ درجه در تیمارها به جز تیمار MF، ثابت ماند (جدول ۵). تعداد اسپورها در دمای ۸ درجه سلسیوس در تیمارهای C و MF باگذشت زمان افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). هم چنین در تیمار C در روزهای ۱ و ۲۱، تعداد اسپورها در دمای ۴ درجه سلسیوس بیشتر از ۸ درجه سلسیوس بود ( $p < 0/05$ ).

#### - آزمون‌های شیمیایی

##### - اندازه گیری چربی

مقدار چربی نمونه‌های پنیر در تیمارهای مختلف در روز تولید (روز اول) در هر دو دمای ۴ و ۸ درجه

سلسیوس به طور میانگین ۱۶/۵ درصد برآورد شد که تفاوتی بین آن‌ها مشاهده نشد.

##### - اندازه گیری نمک

مقدار نمک اندازه گیری شده در تیمارهای مختلف پنیر در حد ۲ درصد تعیین شد که میزان نمک تیمارهای مختلف طی نگهداری نمونه‌ها در هر دو دمای مورد بررسی ثابت بود.

##### - اندازه گیری پروتئین

درصد پروتئین نمونه‌ها با گذشت زمان نگهداری در هر دو دما، در تمام تیمارها ثابت بود. هم چنین مقدار پروتئین هر تیمار در روزهای مورد آزمایش، بین دو دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول ۶).



جدول (۶) - میزان پروتئین (درصد) در تیمارهای مختلف نمونه پنیر در دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس طی نگهداری

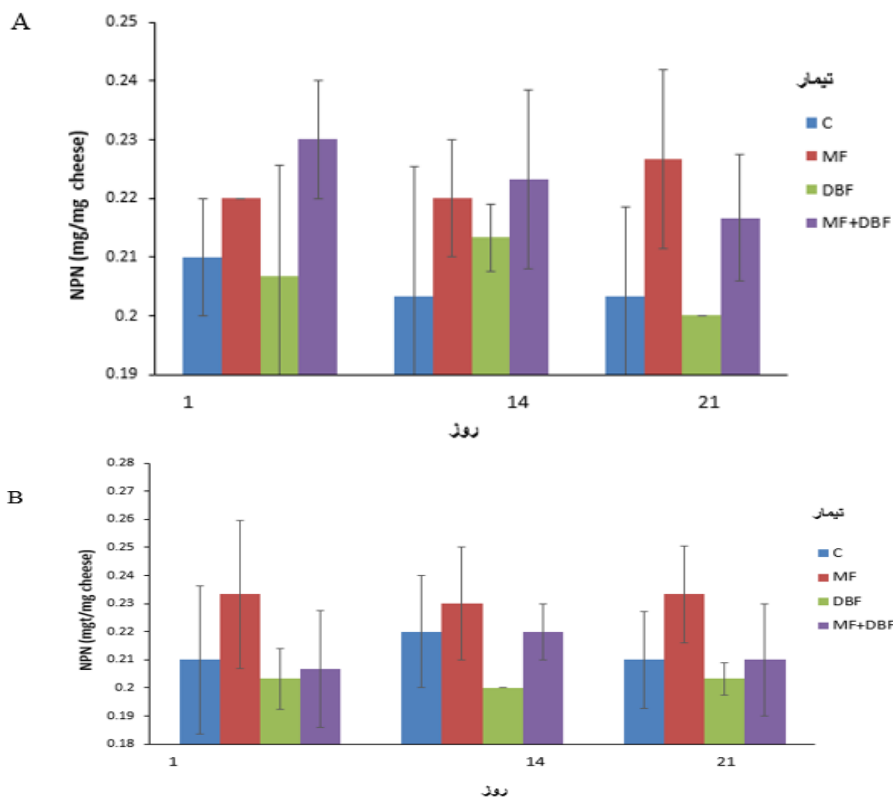
تیمار	دمای ۴ °C			دمای ۸ °C		
	روز ۱	روز ۱۴	روز ۲۱	روز ۱	روز ۱۴	روز ۲۱
C	۱۲/۲۳±۰/۰۹ <sup>Aa</sup>	۱۲/۱۸±۰/۰۳ <sup>Aa</sup>	۱۲/۱۹±۰/۰۱ <sup>Aa</sup>	۱۲/۲۲±۰/۰۸ <sup>Aa</sup>	۱۲/۳۱±۰/۰۲ <sup>Aa</sup>	۱۲/۱۶±۰/۰۱ <sup>Aa</sup>
MF	۱۲/۲۵±۰/۱۱ <sup>Aa</sup>	۱۲/۲۸±۰/۰۷ <sup>Aa</sup>	۱۲/۲۵±۰/۰۳ <sup>Aa</sup>	۱۲/۱۵±۰/۰۱ <sup>Aa</sup>	۱۲/۲۷±۰/۰۴ <sup>Aa</sup>	۱۲/۲۹±۰/۰۲ <sup>Aa</sup>
DBF	۱۲/۱۲±۰/۰۷ <sup>Aa</sup>	۱۲/۲۵±۰/۰۲ <sup>Aa</sup>	۱۲/۲۳±۰/۰۱ <sup>Aa</sup>	۱۲/۳۲±۰/۰۲ <sup>Aa</sup>	۱۲/۳۱±۰/۰۳ <sup>Aa</sup>	۱۲/۲۹±۰/۰۲ <sup>Aa</sup>
MF+DBF	۱۲/۱۴±۰/۰۵ <sup>Aa</sup>	۱۲/۲۲±۰/۰۲ <sup>Aa</sup>	۱۲/۱۹±۰/۰۷ <sup>Aa</sup>	۱۲/۱۶±۰/۰۴ <sup>Aa</sup>	۱۲/۲۳±۰/۰۵ <sup>Aa</sup>	۱۲/۱۵±۰/۰۵ <sup>Aa</sup>

A, B, C: حروف لاتین بزرگ نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در هر ردیف هستند.  
a, b, c, d: حروف لاتین کوچک نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در هر ستون هستند.

### اندازه‌گیری مقدار ازت غیر پروتئینی (NPN)

با مقایسه مقدار NPN در بین تیمارهای مختلف، در روزهای متفاوت مشخص شد که تفاوتی بین این مقدار در بین دماهای مورد آزمایش وجود نداشت.

میزان NPN نمونه‌ها در هر تیمار با گذشت زمان در هر دو دمای مورد بررسی تفاوت معنی‌داری نداشت ( $p > 0/05$ ). هم‌چنین بین تیمارهای مختلف در هر روز، تفاوتی مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ) (نمودار ۱).

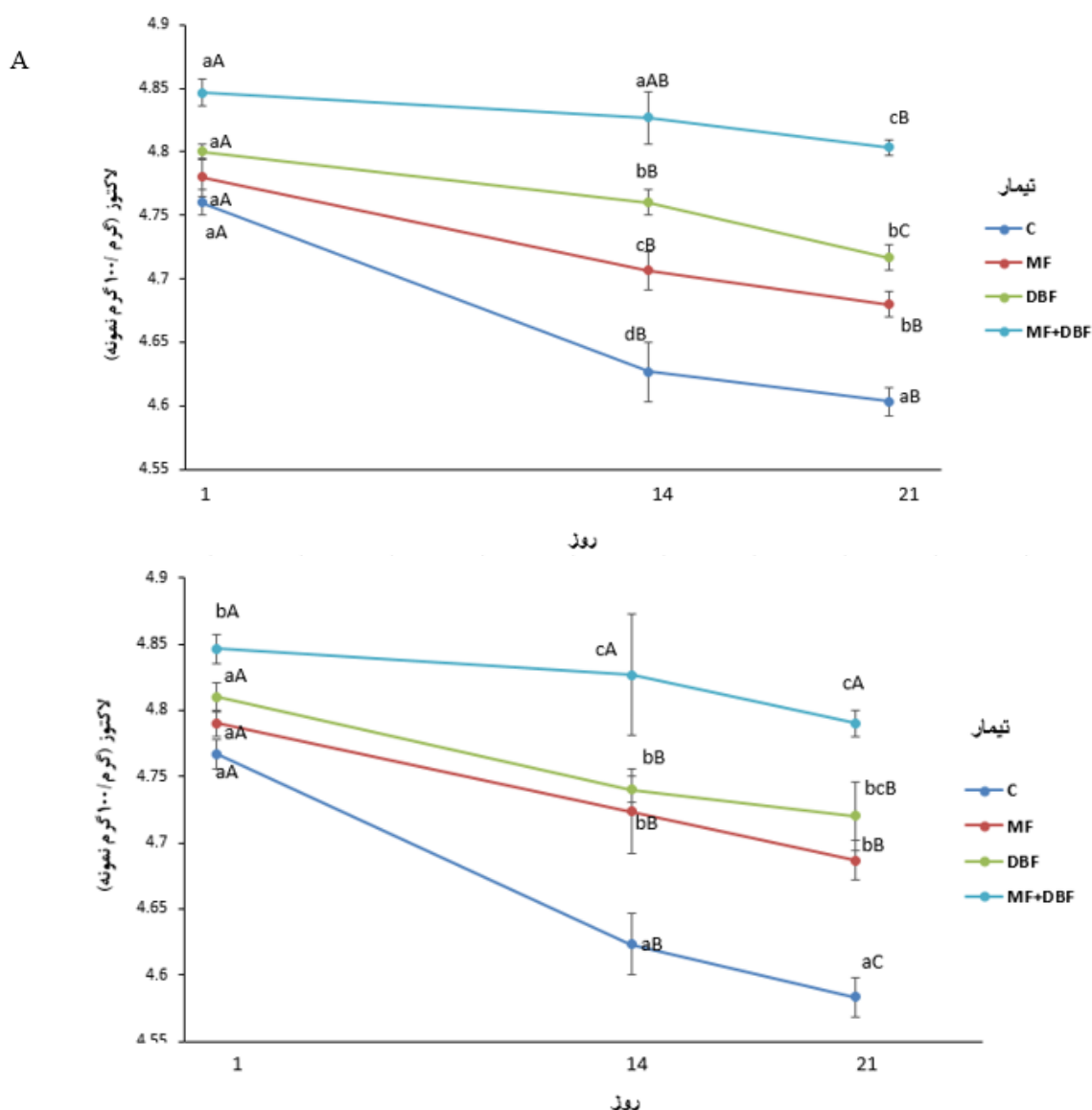


نمودار (۱) - میزان NPN (میلی‌گرم/میلی‌گرم پنیر) در دمای ۴ (A) و ۸ (B) درجه سلسیوس در بین تیمارهای مختلف طی نگهداری

## - اندازه‌گیری لاکتوز

مربوط به تیمار C (۴/۷۲) بود ( $p < 0/05$ ). به طوری که بیشترین و کمترین میزان لاکتوز در روزهای ۱، ۱۴ و ۲۱، به ترتیب در تیمار MF+DBF و C دیده شد ( $p < 0/05$ ). بعلاوه، به طور کلی مقدار لاکتوز نمونه‌ها در روز ۱ بیشتر از روزهای ۱۴ و ۲۱ بود ( $p < 0/05$ ).

مقدار لاکتوز در دو دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس و در روزهای ۱، ۱۴ و ۲۱ اندازه‌گیری شد (نمودار ۲). به طور کلی، بیشترین میزان لاکتوز در دمای ۴ درجه سلسیوس نیز مربوط به تیمار ۴ (۴/۸۵) و کمترین آن



A, B, C: حروف لاتین بزرگ متفاوت نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در هر تیمار هستند.

a, b, c: حروف لاتین کوچک نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در هر روز هستند.

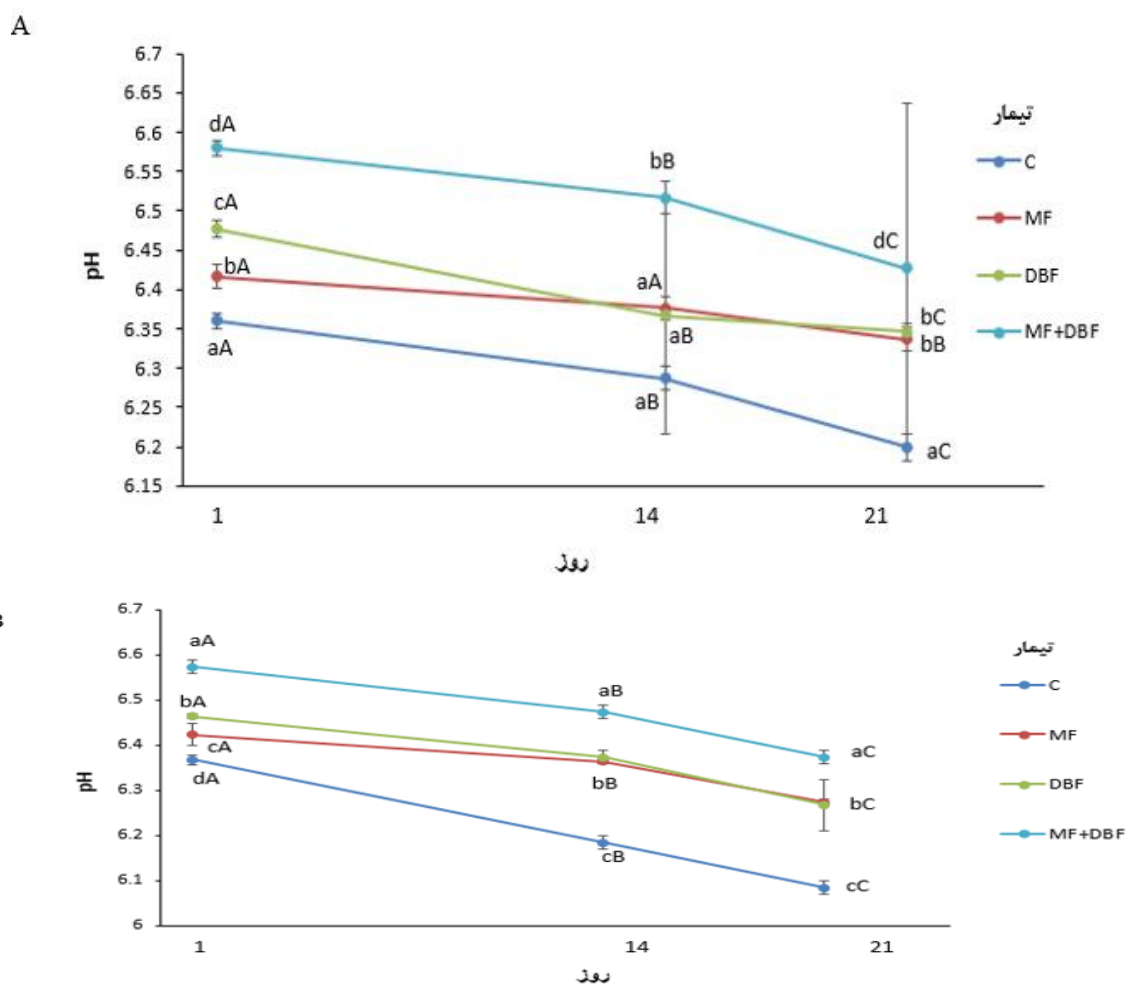
نمودار (۲) - میزان لاکتوز (گرم در صد گرم پنیر) در دمای ۴ (A) و ۸ (B) درجه سلسیوس در بین تیمارهای مختلف طی نگهداری

شد. در هر دو دما، در روزهای ۱، ۱۴ و ۲۱، بیشترین pH مربوط به تیمارهای MF+DBF و کمترین pH نیز مربوط به تیمار C بود ( $p < 0/05$ ) (نمودار ۳). باگذشت زمان از روز ۱ به ۲۱، در تمام تیمارها مقدار pH به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ( $p < 0/05$ ).

پس از مقایسه مقدار لاکتوز در بین تیمارهای مختلف، در روز ۱، ۱۴ و ۲۱، مشخص شد که این مقدار در بین دو دمای مورد مطالعه، معنی‌دار نیست ( $p > 0/05$ ).

#### اندازه‌گیری pH

میزان pH در تیمارهای مختلف در دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس طی نگهداری به مدت ۲۱ روز اندازه‌گیری



A, B, C: حروف لاتین بزرگ متفاوت نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در هر تیمار هستند.

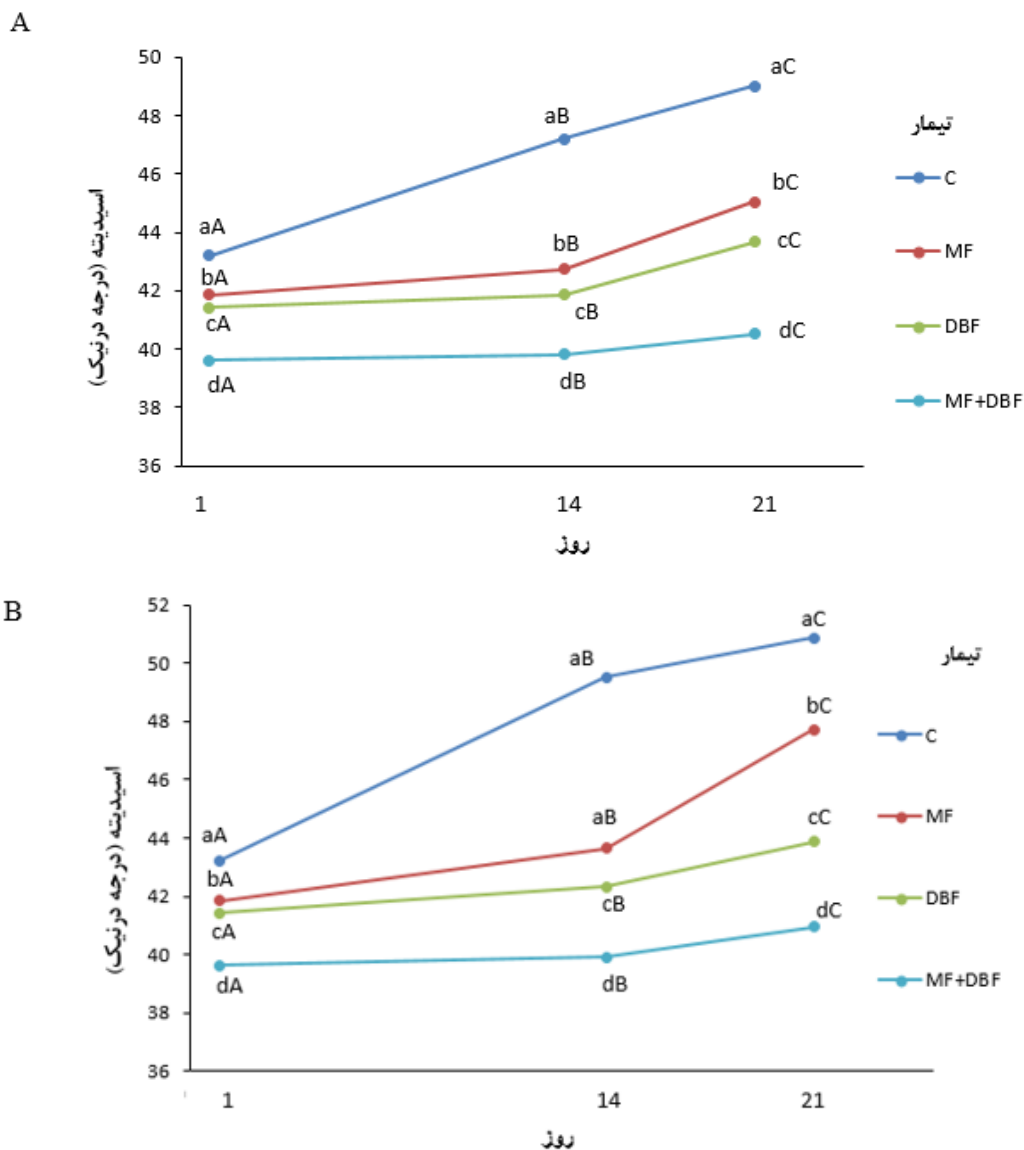
a, b, c: حروف لاتین کوچک نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در هر روز هستند.

نمودار (۳) - میزان pH در تیمارهای مختلف در دمای ۴ (A) و ۸ درجه سلسیوس (B) طی نگهداری

اندازه‌گیری اسیدیته

در هر دو دما، در تمام روزها کمترین اسیدیته مربوط به تیمار MF+DBF و بیشترین اسیدیته مربوط به تیمار C است ( $p < 0/05$ ). هم‌چنین در هر دو دما، باگذشت زمان از روز ۱ به ۲۱، در تمام تیمارها میزان اسیدیته روند افزایشی ( $p < 0/05$ ) داشت (نمودار ۴).

با مقایسه دو دما در روزهای ۱ و ۱۴ در بین تیمارهای مختلف، اختلاف آماری معنی‌داری از نظر pH بین دو دما در هر تیمار مشاهده نشد ( $p < 0/05$ ). در صورتی‌که در روز ۱۴ در تیمارهای C و MF+DBF و در روز ۲۱ در تمام تیمارها مقدار pH در دو دمای مورد مطالعه، اختلاف داشت ( $p < 0/05$ ).



A, B, C: حروف لاتین بزرگ متفاوت نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در هر تیمار هستند.

a, b, c: حروف لاتین کوچک نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در هر روز هستند.

نمودار ۴- میزان اسیدیته در تیمارهای مختلف در دمای ۴ (A) و ۸ درجه سلسیوس (B) طی نگهداری

با مقایسه میزان اسیدیته در تیمارهای مختلف در روز ۱، مشاهده شد که بین دو دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس، اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت ( $p > 0/05$ ). در حالی که در روز ۱۴، مقدار اسیدیته در دمای ۸ درجه سلسیوس در تیمار C، بیشتر از ۴ درجه سلسیوس بود ( $p < 0/05$ ). در روز ۲۱ نیز، مقدار اسیدیته در تیمارهای MF و C در دمای ۸ درجه سلسیوس به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ( $p < 0/05$ ).

– آزمایش بافت سنجی –  
 – ارزیابی سختی –  
 میزان سختی بافتی تیمارهای مختلف ارزیابی شد. به‌طور کلی در تمام تیمارها در هر دو دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس، باگذشت زمان از روز ۱ تا روز ۲۱، سختی بافت نمونه‌های پنیر به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0/05$ ) با توجه به جدول (۷)، در دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس، تیمارهای مختلف باهم اختلاف معنی‌داری نداشتند.

جدول (۷) – تغییرات مؤلفه سختی بافت (g) در تیمارهای مختلف نمونه پنیر طی نگهداری

تیمار	دمای ۴ °C			دمای ۸ °C		
	روز ۱	روز ۱۴	روز ۲۱	روز ۱	روز ۱۴	روز ۲۱
C	۳۰۷/۷۵±۱۲/۰۷ <sup>Aa</sup>	۴۰۰/۳۸±۶۵/۶۹ <sup>Ba</sup>	۴۹۳/۵±۱۷/۶۷ <sup>Cb</sup>	۲۸۱/۸±۱۰/۶ <sup>Aa</sup>	۴۱۷/۱±۳۴/۱ <sup>Ba</sup>	۴۹۳/۵±۱۲/۶ <sup>Ca</sup>
MF	۲۹۰/۲۵±۱۳/۳ <sup>Aa</sup>	۴۱۵/۲۵±۲۸/۳۹ <sup>Ba</sup>	۵۰۴/۱۷±۱۰/۸۷ <sup>Cb</sup>	۲۷۰/۲±۳۱/۵ <sup>Aa</sup>	۴۰۸/۲±۴۲/۹ <sup>Ba</sup>	۵۱۰/۳۸±۸۶/۷ <sup>Ca</sup>
DBF	۲۹۵/۶۲±۸/۳ <sup>Aa</sup>	۳۷۸/۵±۱۴/۵ <sup>Ba</sup>	۴۹۹ ±۵/۵۷ <sup>Cb</sup>	۲۹۲/۵±۴۷/۲ <sup>Aa</sup>	۳۸۸/۱±۵۳ <sup>Ba</sup>	۴۹۱/۵±۳۰/۸ <sup>Ca</sup>
MF+DBF	۳۰۷/۸۸±۲۷/۵ <sup>Aa</sup>	۳۸۶/۶۲±۲۳/۵ <sup>Ba</sup>	۵۱۶/۸۸±۳۳/۷۸ <sup>Cb</sup>	۳۰۶/۷۵±۳۵/۲ <sup>Aa</sup>	۳۶۴/۲±۹/۹ <sup>Ba</sup>	۴۹۹/۲۵±۲۷/۷ <sup>Ca</sup>

A, B, C: حروف لاتین بزرگ نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در هر ردیف هستند.

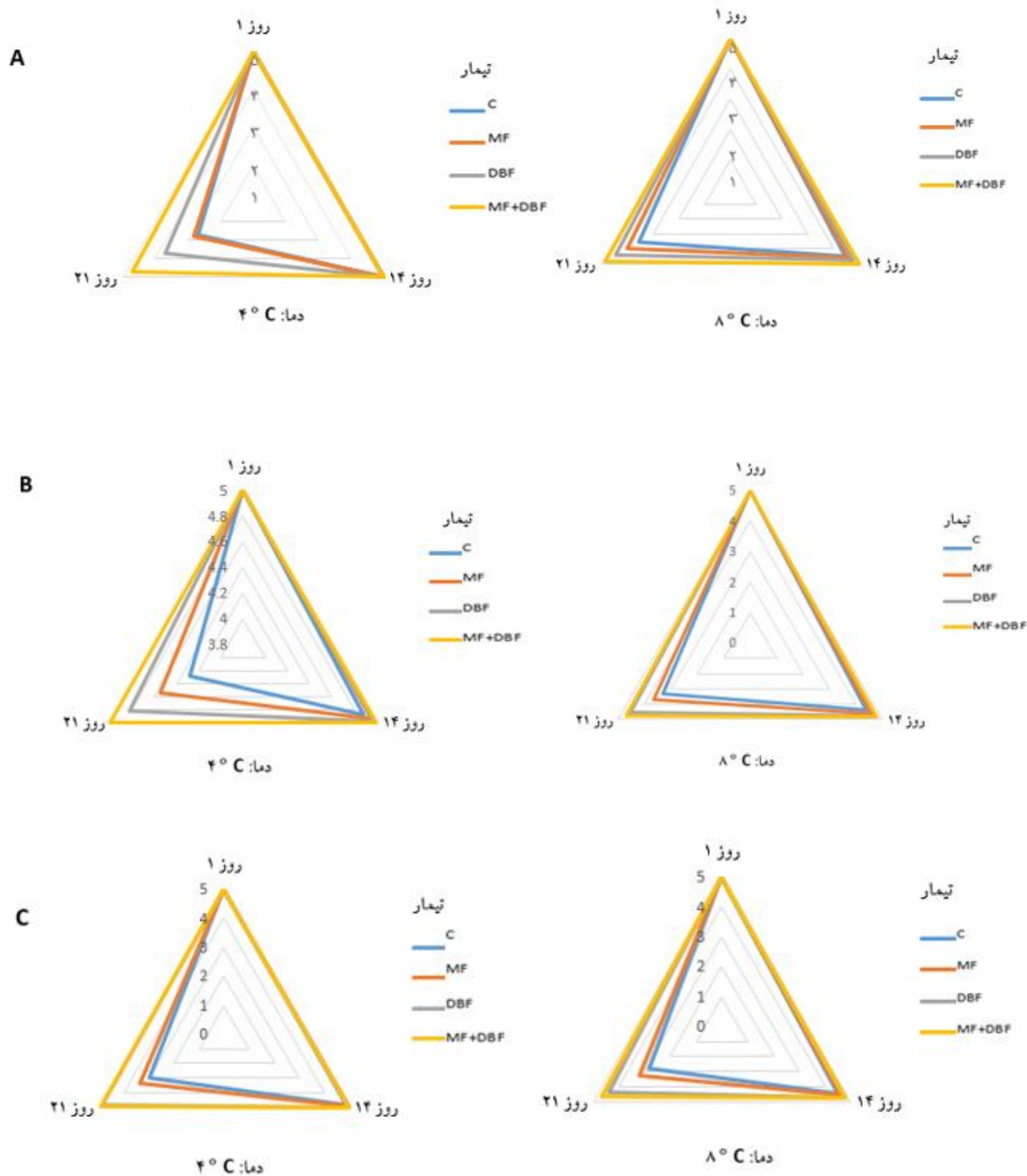
a, b, c, d: حروف لاتین کوچک نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در هر ستون هستند.

در روز ۲۱ و در هر دو دمای مورد بررسی، از نظر مؤلفه‌های بافت، بو و طعم، نمره ارزشیابی بالاتری را نسبت به سایر تیمارها دریافت کرد ( $p < 0/05$ ); در حالی که در روزهای ۱ و ۱۴ اختلاف معنی‌داری بین مؤلفه‌ها مشاهده نشد.

هم‌چنین با مقایسه میانگین سختی بافت تمام تیمارها در دو دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس، مشاهده شد که در روزهای ۱۴ و ۲۱، بین میانگین سختی بافتی تیمارها اختلاف معنی‌داری در دو دمای مورد آزمایش وجود نداشت ( $p > 0/05$ ).

#### – آزمون ویژگی‌های حسی

نتایج آزمون حسی در نمودار (۵)، قابل مشاهده است. با مقایسه چهار تیمار مشاهده شد که تیمار MF+DBF



نمودار (۵)- آزمون‌های حسی نمونه‌های پنیر در طول مدت نگهداری در دماهای ۴ و ۸ درجه سلسیوس؛ نمودارهای A: بافت، B: بو و C: طعم نمونه‌های پنیر می‌باشد.

## بحث و نتیجه‌گیری

پنیر آنزیمی یکی از انواع پنیر می‌باشد که از طریق لخته آنزیمی تهیه شده و فاقد کشت آغازگر می‌باشد. لذا در طی پروسه تولید و نگهداری، عوامل مختلفی موجب تغییرات طعمی و کیفیتی آن می‌شود. این عوامل عبارتند از دمای نگهداری پنیر تولیدی، pH مساعد و عدم رقابت بین میکروفلورای پنیر و آغازگر، حضور پتیدازهای آزاد شده از لیز شدن پروتئین‌ها، آنزیم‌های با منشأ باکتری‌های غیر آغازگر، پروتئینازها و پتیدازهای ناشی از میکروارگانیزم‌های ثانویه (Fox, 1981). استفاده از روش‌های مختلف حرارتی و غیرحرارتی بر روی شیر خام می‌تواند در کیفیت پنیر آنزیمی مؤثر باشد. در این مطالعه فرآیندهای میکروفیلتراسیون و باکتوفوگاسیون دوتایی به‌صورت تنها و نیز توأم به همراه فرآیند پاستوریزاسیون رتنتیت بر روی شیر خام انجام شد. بر اساس نتایج، مقدار TC در تیمارهای DBF و MF+DBF، به‌طور معنی‌داری کمتر از تیمار C (شاهد: UF و پاستوریزاسیون شیر و رتنتیت) بود ( $p < 0/05$ ). همچنین در تیمار C باکتری‌های مزوفیل در دمای ۴ درجه سلسیوس رشد کمتری نسبت به دمای ۸ درجه سلسیوس داشتند ( $p < 0/05$ )؛ بنابراین با توجه به استفاده از تکنولوژی hurdle (سیستم‌های BF و MF و نیز دمای پایین) در این تیمارها، TC آن‌ها کاهش یافت. هرچند در طی نگهداری نمونه‌ها، تعداد باکتری‌ها پس از ۲۱ روز افزایش یافت؛ در تیمار MF+DBF کمترین TC محاسبه شد ( $p < 0/05$ ). هم‌چنین تعداد کپک و مخمر نیز با افزایش زمان نگهداری در تمام تیمارها افزایش یافت ( $p < 0/05$ ) و تفاوتی با نمونه شاهد نداشت ( $p > 0/05$ ). کمترین تعداد اسپور نیز در تیمارهای DBF و

MF+DBF مشاهده شد ( $p < 0/05$ ). یکی از کاربردهای میکروفیلتراسیون و باکتوفوگاسیون در کارخانه‌های لبنی جداسازی باکتری‌ها و اسپورها است. استفاده از روش MF به‌جای روش‌های معمول و سنتی حرارت دهی مثل پاستوریزاسیون باعث کاهش تغییرات در خواص شیمیایی شیر مثل واسرشتی پروتئین می‌شود. به‌کارگیری غشاهای میکروفیلتراسیون در فراوری شیر منجر به بهبود کیفیت میکروبی و ویژگی‌های حسی شیر، امکان استفاده از سرعت‌های بالای جریان، افزایش بهره‌وری، کاهش هزینه عملیات و کیفیت بالاتر در مقایسه با روش‌های متداول گرمایی می‌شود (Heino *et al.*, 2010). در طراحی باکتوفوگاسیون نیز باکتری‌ها و اسپورها که دانسیته بالاتری از شیر پس چرخ دارند به سمت خارج رانده می‌شوند (Fox *et al.*, 2017). باید توجه شود که گرچه در برخی از مطالعات استفاده از MF در مقایسه با BF کارایی بالاتری داشت (Holm *et al.*, 1984, Kasayi *et al.*, 2011)، در این مطالعه، از دو دستگاه باکتوفیوژ (به‌صورت متوالی) برای شیر خام استفاده شد؛ که از این‌رو کمترین TC و اسپور در تیمارهای DBF و MF+DBF مشاهده شد. در مطالعه‌ای از دو روش جداسازی باکتری از شیر خام استفاده کردند و مشاهده نمودند که باکتوفوگاسیون قادر به حذف ۹۹ درصد از باکتری‌های شیر خام است و برای تولید محصولات لبنی باکیفیت بالا در صنعت مناسب است (Kasayi *et al.*, 2011). در پژوهشی دیگر گزارش شد که میکروفیلتراسیون شیر خام با غشای دارای قطر منافذ ۰/۸ میکرومتر قادر به افزایش زمان نگهداری شیر تا ۳۰

تیمارهای مختلف تفاوت معنی داری نداشت. بنابراین استفاده از فرآیندهای مختلف سالم سازی جهت افزایش ماندگاری پنیر آنزیمی به روش hurdle، تعداد باکتری های مزوفیل که باکیفیت مستقیم محصول در ارتباط است، کاهش یافت. همچنین مشاهده شده که با استفاده از روش سالم سازی باکتوفوگاسیون دوتایی، حتی در صورت نگهداری پنیر در دمای ۸-۱۰ درجه (دمای متوسط نگهداری در فروشگاهها)، کیفیت میکروبی محصول و سپس زمان نگهداری آن افزایش می یابد. نتایج ارزیابی ارگانولپتیک نیز در روزهای ۱، ۱۴ و ۲۱ و در دو دمای ۶-۴ و ۱۰-۸ درجه انجام شد و نتایج اختلاف معنی داری در تیمارها در مورد بافت، طعم و بو تنها در روز ۲۱ پس از تولید وجود داشت. باید توجه شود که استفاده از این روش های سالم سازی غیرحرارتی بر روی پنیر آنزیمی با توجه به عدم استفاده از باکتری های آغازگر، به دنبال سالم سازی حرارتی به روش پاستوریزاسیون مؤثر خواهد بود؛ چرا که درصد بالایی از میکرواورگانیسیم های پاتوژن و غیرپاتوژن در فرایند پاستوریزاسیون از بین خواهند رفت.

### سپاسگزاری

این مطالعه در قالب پایان نامه دکتری تخصصی و با استفاده از امکانات آزمایشگاه مجتمع پروتئینی پگاه و نیز بخش بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی شیراز انجام شد.

روز و کاهش در شمارش میکرواورگانیسیم ها در محدوده ۵ سیکل لگاریتمی بود (Pinto et al., 2014).

در این مطالعه تغییرات معنی داری در میزان پروتئین در تیمارهای مختلف در طی نگهداری مشاهده نشد. در این نوع پنیر به دلیل عدم وجود باکتری های آغازگر و عدم تولید اسیدلاکتیک، ساختار پنیری محکمی تشکیل نشده و در واقع آب انداختگی وجود ندارد و در نتیجه پروتئینی خارج نمی گردد. عمدتاً هیدرولیز پروتئین های پنیر ناشی از آنزیم رنین و آغازگرها می باشد که در این نوع پنیر به دلیل عدم استفاده از باکتری های آغازگر هیدرولیز کمتری در ساختار پروتئین ها خواهیم داشت.

همچنین با توجه به اینکه رشد باکتری ها در تیمار ۴ کمتر از نمونه شاهد بوده است، تخمیر لاکتوز کمتر و اسیدلاکتیک کمتری در تیمار ۴ نسبت به شاهد اندازه گیری شد. به دنبال آن نیز میزان pH در تیمار ۴ بیشترین و میزان اسیدیته نیز کمترین، نسبت به سایر تیمارها بود ( $p < 0/05$ ). میزان افت pH در تیمارها در پایان زمان نگهداری نمونه ها در دمای ۴ درجه سلسیوس کمتر از ۸ درجه سلسیوس بود. با توجه به اینکه افزایش دما به رشد باکتری ها کمک می کند، در نهایت با تخمیر بیشتر لاکتوز در دمای ۸ درجه سلسیوس، میزان pH بیشتر کاهش یافت ( $p < 0/05$ ). با توجه به مطالعات قبل نیز، استفاده از فرایند سانتریفیوژ و حرارت در شیر خام باعث جلوگیری از کاهش pH و افزایش لاکتات شده است (Lamichhane et al., 2018).

میزان سختی نمونه های پنیر به دلیل اتصالات عرضی بیشتر بین کاپاکازئین و فسفات کلسیم و نیز کاهش pH، با افزایش زمان نگهداری تیمارها، افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). سایر مؤلفه های مربوط به آنالیز بافتی بین



## تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی را اعلام  
نکرده‌اند.

## منابع

- AOAC. (2000). Official Methods of Analysis, AOAC International, Chloride (Total) in Cheese, Volhard Method AOAC Official Method 935.43. 17<sup>th</sup> Edithion.
- AOAC. (2002). Official Methods of Analysis, AOAC International 2000.18, Fat Content of Raw and Pasteurized Whole Milk. 2, 27-28.
- ARDö, Y. and Polychroniadou, A. (1999). Laboratory manual for chemical analysis of cheese: improvement of the quality of the production of raw milk cheeses. (1<sup>st</sup> Edition), Publications Office, pp. 45-51.
- Fox, P. (1981). Exogenous proteinases in dairy technology. In Proteinases and their Inhibitors, (1<sup>st</sup> Edition), Elsevier, pp. 245-267.
- Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M. and Mcsweeney, P.L. (2017). Fundamentals of cheese science, (2<sup>nd</sup> Edition), Springer New York, pp. 27-69.
- Fox, P.F., Mcsweeney, P.L., Cogan, T.M. and Guinee, T.P. (2004). Cheese: chemistry, physics and microbiology: general aspects, (3<sup>rd</sup> Edition), Elsevier, pp. 550-600.
- Heino, A., Uusi-Rauva, J. and Outinen, M. (2010). Pre-treatment methods of Edam cheese milk. Effect on cheese yield and quality. LWT-Food Science and Technology, 43(4): 640-646.
- Holm, S., Malmbg, R. and Svensson, K. 1984. Method and plant for producing milk with a low bacterial content, European Patent, No. 0.194 286.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI), (1970). Determination of fat in cheese and melted cheese. ISIRI No. 760. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI), (1977). Determination of chlorine in cheese. ISIRI No. 1809. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI), (1999). General method for sensory evaluation of dairy products. 1st edition, ISIRI No. 4691. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI), (2001). Milk- Determination of nitrogen Content- Determination of non Protein- nitrogen content. 1<sup>st</sup> Edition, ISIRI No. 9188-4. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI), (2002). Cheese and processed cheese. Determination of dry matter. 1st edition, ISIRI No. 1753. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI), (2006). Milk and Milk products- determination of titrable acidity and pH value test method. 1<sup>st</sup> Edition, ISIRI No. 2852. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (ISIRI), (2008). Ice cream -Specifications and test methods. 5<sup>th</sup>. revision, ISIRI No. 2450. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (ISIRI), (2009). Dried milk, Enumeration of the specially thermoresistant spores of thermophilic bacteria 1<sup>st</sup> Edition. ISIRI No. 13807. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI), (2015). Milk and milk products, Determination of nitrogen content, Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation. 1<sup>st</sup> revision, ISIRI No. 9188-1. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI), (2016). Raw milk: specifications and method of analysis. ISIRI No. 164. [In Persian]

- Jooyandeh, H., Mahmoodi, R. and Samavati, V. (2015). Effect of cold enzymatic treatment of milk by transglutaminase on textural properties of yogurt. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 13(1):91-99.
- Karatas, S., Tekin, Z.H. and Kiran, N, E. (2016). Reasons of bitterness in ultrafiltrated white cheese. *IJISSET*, 2(9): 39-44.
- Kasayi, S., Delshad, R., Maadi, H. and Haghi, M. (2011). Bactofugation of Liquid Milks; a Mechanical procedure to reduce bacteria in dairy product. In *The First International Congress of Medical Bacteriology*, Tabriz University of Medical Sciences.
- Kilcawley, K., Wilkinson, M. and Fox, P. (2000). A survey of the composition and proteolytic indices of commercial enzyme-modified Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 10(3): 181-190.
- Kilcawley, K.N. (2017). *Fundamentals of cheese science, Cheese flavour.*, Springer, pp.443-447.
- Lamichhane, P., Kelly, A.L. and Sheehan, J.J. (2018). Effect of milk centrifugation and incorporation of high-heat-treated centrifugate on the composition, texture, and ripening characteristics of Maasdam cheese. *Journal of Dairy Science*, 101(7): 5724-5737.
- Lemieux, L. and Simard, R. (1992). Bitter flavour in dairy products. II. A review of bitter peptides from caseins: their formation, isolation and identification, structure masking and inhibition. *Dairy Science and Technology*, 72(4): 335-385.
- Pinto, M.S., Pires, A.C., Sant'ana, H.M., Soares, N.F. and Craalho, A.F. (2014). Influence of multilayer packaging and microfiltration process on milk shelf life. *Food Packaging and Shelf Life* 1(2): 151-159.
- Solanki, G. and Rizvi, S. (2001). Physico-chemical properties of skim milk retentates from microfiltration. *Journal of Dairy Science*, 84(11): 2381-2391.
- Walkling-Ribeiro, M., Rodriguez-González, O., Jayaram, S. and Griffiths, M. (2011). Microbial inactivation and shelf life comparison of 'cold'hurdle processing with pulsed electric fields and microfiltration, and conventional thermal pasteurisation in skim milk. *International Journal of Food Microbiology*, 144(3): 379-386.