

مدل سازی و بهینه یابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی، حسی و قابلیت زندهمانی باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در پنیر فرایالوده سین بیوتیک حاوی آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی، محلول پودر آب پنیر و اینولین

فرشته ترابی^۱، حسین جوینده^{۲*}، محمد نوشاد^۳، حسن برزگر^۲

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

* نویسنده مسئول (hosjooy@asnrukh.ac.ir)

۳- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۱۰

چکیده

تقاضای روزافزون مصرف کنندگان برای غذاهای سالم، انگیزه بالایی در پیشرفت محصولات غذایی جدید در سرتاسر جهان ایجاد نموده است. محصولات عملگرا به ویژه فرآورده های سین بیوتیک، از جمله این محصولات هستند. در این تحقیق، تأثیر غلظت آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی (۰-۱ واحد به ازای هر گرم پروتئین شیر)، محلول ۳۴ درصد پودر آب پنیر املاح گیری شده (۰-۱۶ درصد) و اینولین (۰-۲ درصد) بر خواص فیزیکوشیمیایی، حسی و میکروبی پنیر سفید فرایالوده سین بیوتیک با استفاده از روش سطح پاسخ بررسی گردید. جهت تولید پنیر، از باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس LA5 به عنوان باکتری پروبیوتیک و از اینولین و محلول پودر آب پنیر دمنیراله به عنوان مواد پری بیوتیک استفاده گردید. نتایج نشان داد که تیمار آنزیمی ترانس گلوتامیناز سبب افزایش معنی دار رطوبت پنیر گردید ($P < 0.05$) اما تأثیری بر اسیدیته و سایر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی نمونه ها نداشت. با افزایش جایگزینی محلول پودر آب پنیر با ناتراوه، مقادیر چربی و پروتئین ($P < 0.01$) و تمامی ویژگی های حسی پنیر کاهش معنی داری ($P < 0.05$) یافت اما اسیدیته تغییر چندانی نکرد. همچنین با افزایش اینولین، پارامترهای اسیدیته، رنگ و ظاهر، عطر و طعم ($P < 0.05$) افزایش و رطوبت ($P < 0.01$) کاهش یافت. با افزایش اینولین ($P > 0.05$) و محلول پودر آب پنیر ($P < 0.05$)، تعداد پروبیوتیک ها افزایش یافت در حالی که افزایش غلظت آنزیم اثر معکوسی داشت و سبب کاهش ($P < 0.05$) آن شد. نتایج بهینه سازی نشان داد که با به کارگیری مقدار ۰/۴۳ واحد آنزیم به ازای هر گرم پروتئین، ۸/۲۴ درصد محلول پودر آب پنیر دمنیراله و ۰/۷۱ درصد اینولین می توان پنیر سفید فرایالوده سین بیوتیک با ویژگی های فیزیکوشیمیایی و حسی مناسب تولید نمود. در این شرایط، نمونه بهینه از پذیرش کلی قابل قبول (۷/۷۶) و شمارش بالای باکتری های پروبیوتیک (۶/۹۶ لگاریتم واحد کلنی در گرم) برخوردار بود.

واژه های کلیدی

آنزیم ترانس گلوتامیناز

اینولین

پنیر سین بیوتیک

روش سطح پاسخ

لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس

در ژاپن مطرح گشت. نکاتی نظیر رابطه رژیم غذایی و

جلوگیری از ابتلا به بیماری های سخت و مزمن سبب شد

مقدمه

اصطلاح غذاهای عملگرا برای اولین بار از اوایل سال ۱۹۸۰

Alimoradi, Hojaji, Jooyandeh, Moghadam, &)
 (Moludi, 2016; Geiser, 2003). لاکتوفیرین یکی از
 اصلی‌ترین ترکیبات آب‌پنیر است که به‌عنوان پری‌بیوتیک
 عمل می‌کند و همچنین باعث جذب آهن به پروتئین می‌شود
 (Geiser, 2003).

آنزیم ترانس‌گلوتامیناز یک آسپیل ترانس‌فراز است که
 می‌تواند واکنش‌هایی مانند ایجاد اتصالات عرضی، انتقال
 آسپیل و دامیداسیون^۵ را کاتالیز یا تسریع کند. اتصالات
 عرضی بین اسیدآمینه‌های گلوتامین و لیزین موجب تغییر در
 ویژگی‌های رئولوژیکی دلمه و روند انعقاد دلمه، جلوگیری از
 درهم‌آمیختگی گلبول‌های چربی، باقی‌ماندن مقدار بیشتری
 از پروتئین‌های آب‌پنیر در دلمه و تحت تأثیر قراردادن مراحل
 اولیه و ثانویه انعقاد در پنیر می‌شود (Bönisch, Tolkach, &
 Kulozik, 2006). براین اساس، به‌وسیلهٔ تیمار آنزیمی می‌توان
 بافت پنیر حاصله از تلفیق کنسانترهٔ پروتئینی آب‌پنیر را
 اصلاح نمود (Özer, Hayaloglu, Yaman, Gürsoy, &
 Şener, 2013). در حقیقت آنزیم ترانس‌گلوتامیناز با
 درهم‌تنیدن پروتئین‌های شیر منجر به اصلاحاتی در
 ویژگی‌های کارکردی پروتئین‌ها و تشکیل فراورده‌هایی با
 ویژگی‌های حسی و رئولوژیکی بهتر می‌شود (Ozer,
 Kirmaci, Oztekin, Hayaloglu, & Atamer, 2007).
 تاکنون تحقیق‌های مختلفی درمورد تولید محصولات لبنی
 سین‌بیوتیک با استفاده از ترکیبات پری‌بیوتیک به‌ویژه
 اینولین انجام پذیرفته است. به‌عنوان مثال Araújo, de
 Carvalho, Leandro, Furtado, و Moraes (۲۰۱۰) بیان
 کردند افزودن اینولین و باکتری‌های پری‌بیوتیک تأثیری بر
 ساختار فیزیکوشیمیایی پنیر کاتیج ندارد. همچنین، تأثیر
 به‌کارگیری آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و پروتئین‌های آب‌پنیر بر
 ویژگی‌های کیفی پنیر سفید ایرانی توسط دانش، جوینده و
 گودرزی (۱۳۹۶b؛ ۱۳۹۶a) بررسی گردید و نتایج این
 محققین بیانگر قابلیت استفاده از پروتئین‌های آب‌پنیر
 به‌عنوان جایگزین چربی در پنیر و نقش مثبت آنزیم
 ترانس‌گلوتامیناز در بهبود بافت محصول بوده است. همچنین
 جیرسرای، پوراحمد و فدایی نوغانی (۱۳۹۵)، تأثیر
 به‌کارگیری اینولین و لاکتولوز به‌عنوان ترکیبات پری‌بیوتیک
 در تولید پنیر سین‌بیوتیک فرآبالوده، افزایش قابل‌توجهی
 تعداد باکتری‌های پری‌بیوتیک و کیفیت حسی بالاتر محصول

که از آن زمان تاکنون مواد غذایی عملگرا به سرعت گسترش
 یابند (Rivera-Espinoza & Gallardo-Navarro, 2010).
 فراورده‌های غذایی پری‌بیوتیک در گروه غذاهای عملگرا قرار
 می‌گیرند و بخش عمده‌ای از آن را به خود اختصاص
 می‌دهند. در بسیاری از مطالعه‌ها نشان داده شده است که
 محصولات لبنی تخمیری بهترین مادهٔ غذایی جهت تولید
 محصولات پری‌بیوتیک (Granato, Branco, Nazzaro, Cruz,
 & Faria, 2010) هستند. پری‌بیوتیک‌ها با فعالیت زیستی خود
 که عمدتاً از طریق حفظ و بهبود توازن فلور میکروبی میان
 میکروارگانیسم‌های سودمند و زیان‌بخش می‌باشد، موجب
 اثرات سلامتی‌بخش برای میزبان خود هستند (Butel, 2014).
 این فرضیه وجود دارد که این سودمندی ممکن است نتیجهٔ
 رشد و فعالیت پری‌بیوتیک‌ها در حین تولید غذا و یا نتیجهٔ
 رشد و فعالیت سوبه‌های خاصی از پری‌بیوتیک‌ها در محیط
 روده باشند؛ این خصوصیات مفید به‌طور مستقیم ناشی از
 برهم‌کنش سلول‌های زنده با میزبان و به‌طور غیرمستقیم
 ناشی از تأثیرات بیولوژیک پری‌بیوتیک‌ها از طریق تولید
 متابولیت‌ها در حین فرایند تخمیر است (Tripathi & Giri,
 2014). تحقیق‌ها نشان می‌دهد که اینولین از خواص
 پری‌بیوتیکی و بیفیدوژنتیکی^۱ برخوردار است که منجر شده از
 آن به‌عنوان یک مادهٔ فراسودمند نامبرده شود (Rao, 2001).
 مصرف رژیم‌های غذایی حاوی اینولین در بلندمدت، سبب
 افزایش تراکم استخوان‌ها و در نتیجه کاهش ریسک
 پوکی‌استخوان‌ها می‌شود (Maki et al., 2002). آب‌پنیر
 حاوی حدود ۵۰ درصد از کل مواد مغذی موجود در شیر
 بوده و به سبب دارا بودن پروتئین‌هایی با بالاترین کیفیت
 بیولوژیکی، دارای ارزش تغذیه‌ای بسیار بالایی است
 (Jovanović, Barać, & Maćej, 2005). آب‌پنیر به‌عنوان
 آنتی‌اکسیدان، عامل ضد فشارخون، ضد سرطان، کاهش چربی
 خون، ضد ویروس و باکتری عمل می‌کند. مصرف آب‌پنیر
 باعث کاهش کلسترول و سرم خون گردیده و سبب افزایش
 جذب عناصر فلزی مانند منیزیم، آهن، کبالت و روی شده و
 در فرایند جذب کلسیم به‌وسیلهٔ ویتامین تأثیر مطلوبی دارد
 (Poppitt et al., 2011). همچنین پروتئین‌های آب‌پنیر
 به‌خاطر ارزش پری‌بیوتیکی و خواص بیفیدوژنتیکی که دارند
 به‌کاربرده می‌شوند. ترکیبات آب‌پنیر که به‌عنوان
 پری‌بیوتیک/بیفیدوژنتیک عمل می‌کنند شامل
 ایمونوگلوبولین^۲، لاکتوفیرین^۳ و گلیکوماکروپپتید^۴ می‌باشند

³ Lactoferrin

⁴ Glycomacropptide

⁵ Deamination

¹ Bifidogenic

² Immunoglobulin

پروتئین، محلول آماده‌شده به مدت یک شب در یخچال نگهداری گردید (Sayadi, Madadlou, & Khosrowshahi, 2013)؛ در ادامه محلول پودر آب‌پنیر دمینرال در سطوح مختلف صفر تا ۱۶ درصد (حجمی/حجمی) جایگزین ناتراوه یا رتنیت^۵ گردید. پس از افزودن اینولین در سطوح صفر تا ۲ درصد، مخلوط در فشار ۷۰ بار با استفاده از دستگاه هموژنایزر (Ronghemachinery, مدل JHG-Q60-P60, ساخت چین) هموژن و در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه پاستوریزه شد. در ادامه استارتر پنیر و پروبیوتیک (هرکدام ۰/۰۵ گرم به‌ازای هر کیلوگرم ناتراوه) با مقدار کمی آب استریل با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد حل و به ناتراوه اضافه شد. تیمار آنزیمی ترانس‌گلوتامیناز در سطوح صفر تا ۱ درصد (به‌ازای هر کیلوگرم ناتراوه) هم‌زمان با افزودن رنین (۰/۰۳ گرم بر کیلوگرم ناتراوه) انجام گرفت. پس از قرارگرفتن ناتراوه در ظروف پنیر ۲۰۰ گرمی، بسته‌ها وارد تونل انعقاد با دمای ۳۰-۳۱ درجه سانتی‌گراد شدند و پس از خروج از تونل و انعقاد پنیر، مقدار ۲ درصد نمک طعام (وزنی/وزنی) به آن افزوده شد. سپس روی سطح پنیر کاغذ مقاوم به چربی پارچمنت^۶ گذاشته شد و درب‌بندی با فویل آلومینیوم انجام پذیرفت. در پایان بسته‌های پنیر وارد گرم‌خانه با دمای ۲۷-۲۵ درجه سانتی‌گراد شدند و پس از ۱۸-۲۴ ساعت که pH نمونه‌ها به زیر ۴/۸ رسید، به سردخانه با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. تمامی آزمون‌های پنیر پس از ۲ ماه نگهداری نمونه‌ها در یخچال انجام شد.

ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی

تمامی ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی شیر و پنیر با استفاده از روش استاندارد AOAC (۲۰۰۰) اندازه‌گیری شدند. محتوای ماده خشک شیر و پنیر به‌وسیله آون تحت‌خلأ و تا رسیدن به وزن ثابت محاسبه گردید. چربی به‌روش ژبر پروتئین توسط روش کلدال (حاصلضرب مقدار نیتروژن اندازه‌گیری‌شده در فاکتور ۶/۳۸) تعیین شد.

آزمون حسی

ویژگی‌های حسی نظیر رنگ و ظاهر، عطر و طعم، بافت و قوام و پذیرش کلی توسط ۱۰ نفر ارزیاب مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها از طریق یک آزمون هدونیک ۹ نقطه‌ای با یکدیگر مقایسه شدند. قبل از ارزیابی، نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه از

سین‌بیوتیک را نسبت به نمونه شاهد (پنیر غیرپروبیوتیک) گزارش نمودند. بنابراین، با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای در زمینه بررسی تأثیر به‌کارگیری هم‌زمان پودر آب‌پنیر، اینولین و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بر ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی و حسی پنیر سین‌بیوتیک انجام نگرفته است، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر این عوامل بر کیفیت پنیر فرآلوده سین‌بیوتیک با کمک نرم‌افزار Design Expert (نسخه ۱۰) انجام گردید.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده

تولید کلیه نمونه‌های پنیر فرآیلایش در کارخانه لبنی پگاه خوزستان انجام گرفت. جهت تهیه پنیر از شیر تازه کامل با کیفیت بالا استفاده گردید. آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی (۲، ۳، ۲، ۱۳ EC) از شرکت BDF Natural Ingredients (ساخت اسپانیا) خریداری شد. مایه‌پنیر یا رنت با نام تجاری Chy Max، آغازگر مصرفی R-704 حاوی گونه‌های لاکتوکوکوس لاکتیس زیرگونه کرموریس^۱ و لاکتوکوکوس لاکتیس زیرگونه لاکتیس^۲ و آغازگر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس^۳ LA5 از نوع DVS (شرکت Chr. Hansen، ساخت دانمارک) مورد استفاده قرار گرفتند. پودر آب‌پنیر با املاح کاهش‌یافته/دمینرال (DWP) دارای ۱۸/۴ درصد پروتئین، ۶۸/۳ درصد لاکتوز، ۶/۲ درصد خاکستر و ۰/۶ درصد چربی (شرکت سهامی صنایع شیر ایران) و اینولین زنجیره‌بلند با توانایی حرارتی بالا (Beneo, Orafiti HPX، ساخت آلمان) استفاده شد.

تولید نمونه‌های پنیر

جهت تولید تمامی نمونه‌های پنیر فرآیلوده، از ناتراوه تولیدی کارخانه (حاوی ۳۴±۰/۲۸ درصد ماده خشک، ۱۲±۰/۱۸ درصد پروتئین و ۱۵±۰/۱۵ درصد چربی) استفاده شد. برای تهیه محلول آب‌پنیر، پودر آب‌پنیر دمینرال تا حصول ماده خشک ۳۴ درصد با آب مقطر مخلوط و به مدت ۱ ساعت با هم‌زن در دور پایین همگن شد. پس از اعمال فرایند حرارتی (۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه)، جهت هیدراته‌شدن بهتر پروتئین یا جذب مناسب آب توسط

^۱ *Lactococcus Lactis Ssp. Cremoris*

^۲ *Lactococcus Lactis Ssp. Lactis*

^۳ *Lactobacillus Acidophilus*

^۴ Demineralized Whey Powder

^۵ Retentate

^۶ Parchment

جدول ۱- سطوح و کدهای هریک از متغیرهای مستقل در طراحی سطح پاسخ

متغیر مستقل	نماد ریاضی	کد و سطح مربوطه		
		پایین (-۱)	میانی (۰)	بالا (+۱)
غلظت آنزیم ترانس گلوتامیناز	X_1	۰	۰/۵	۱
میزان جایگزینی ناتراوه با محلول آب پنیر	X_2	۰	۸	۱۶
غلظت اینولین	X_3	۰	۱	۲

نتایج و بحث

خصوصیات فیزیکوشیمیایی

اسیدیته

همان‌طور که در جدول (۲) مشاهده می‌شود، در میان اثرات اصلی، درجه دوم و متقابل متغیرهای مورد آزمایش، تنها اثرات خطی و درجه دوم اینولین بر اسیدیته نمونه‌ها معنی‌دار گردید. نتایج نشان داد افزودن آنزیم ترانس گلوتامیناز یا افزایش جایگزینی ناتراوه با محلول پودر آب پنیر تأثیر معنی‌داری بر اسیدیته نمونه‌های پنیر ندارد اما افزودن اینولین سبب افزایش قابل توجه اسیدیته می‌گردد ($P < 0.05$). در مطابقت با نتایج این تحقیق، Li, Farnsworth, Hendricks و Guo (۲۰۰۶)، تفاوت معنی‌داری بین اسیدیته نمونه تیمار شده با آنزیم ترانس گلوتامیناز و نمونه شاهد مشاهده نکردند. همانند نتایج به دست آمده در این پژوهش، Cardarelli, Buriti, Castro و Saad (۲۰۰۸) با افزودن اینولین، افزایش اسیدیته را در پنیر سوئیسی گزارش نمودند. به نظر می‌رسد افزودن اینولین، فعالیت متابولیکی استارترها را تحریک کرده و موجب افزایش اسیدیته می‌شود. در تحقیق دیگری افزودن اینولین به ماست پروبیوتیک موجب افزایش تولید اسیدلاکتیک، کاهش زمان تخمیر و افزایش میزان اسیدسازی شد (Donkor, Nilmini, Stolic, Vasiljevic, & Shah, 2007). باتوجه به نتایج آنالیز واریانس، مدل نهایی توضیح‌دهنده تغییرات اسیدیته براساس اجزای فرمولاسیون (رابطه ۲) تعیین شد.

رابطه (۲)

$$Y = 76.29 + 26.97X_3 - 9.21X_3^2$$

در رابطه (۲)، Y اسیدیته و X_3 غلظت پودر اینولین می‌باشد.

یخچال خارج و در دمای محیط نگهداری شدند تا بدین‌روش دمای تمامی نمونه‌ها در حین ارزیابی یکسان بوده و تأثیری بر نتایج حسی نگذارد (Katsiari, Voutsinas, Kondyli, & Alichanidis, 2002).

شمارش باکتری‌های پروبیوتیک

جهت ارزیابی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک، ۲۵ گرم پنیر به ۲۲۵ میلی‌لیتر آب پپتونه (Acumedia Manufacturers, ساخت آمریکا) جهت تهیه رقت ۰/۱ درصد (حجمی/وزنی) افزوده شد و رقت‌های لازم از آن تهیه گردید. برای کشت لاکتوباسیلوس/سیدوفیلوس از محیط کشت MRS آگار (Merck, ساخت آلمان) و ۰/۱۵ درصد نمک صفر (Merck, ساخت آلمان) استفاده شد. کشت به روش پورپلیت انجام شد و پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۷۲ ساعت در شرایط هوازی انکوبه‌گذاری گردید (Mortazavian, Ehsani, Sohrabvandi, & Reinheimer, 2007).

طرح آزمون و آنالیز آماری

در این پژوهش طرح باکس‌بنکن با سه متغیر مستقل و ۵ تکرار در نقطه مرکزی طرح، جهت یافتن اثر متغیرهای مستقل (X_1 ، غلظت آنزیم ترانس گلوتامیناز؛ X_2 ، میزان جایگزینی با محلول ۳۴ درصد آب پنیر دمیتراله و X_3 ، غلظت اینولین) بر برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، حسی و میکروبی پنیر فرآپالوده سین‌بیوتیک مورد استفاده قرار گرفت. داده‌های به دست آمده در این طرح با استفاده از نرم‌افزار Design Expert نسخه ۱۰ مدل‌سازی شد و منحنی‌های سه‌بعدی سطح پاسخ جهت بررسی رابطه میان پاسخ‌ها و متغیرهای مستقل رسم شد. سطوح متغیرها به صورت واقعی و گذشته در جدول (۱) ارائه شده است. با کاربرد آنالیز رگرسیون، شاخص‌های اندازه‌گیری شده در قالب یک چندجمله‌ای درجه دوم طبق رابطه (۱) مدل‌سازی شدند و معنی‌داری ضرایب مدل با استفاده از آنالیز واریانس برای هر پاسخ تعیین شد.

رابطه (۱)

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$$

در رابطه (۱)، Y پاسخ‌های مختلف و β_0 ضرایب ثابت مدل هاست. $(\beta_3, \beta_2, \beta_1)$ ، $(\beta_{33}, \beta_{22}, \beta_{11})$ و $(\beta_{23}, \beta_{13}, \beta_{12})$ به ترتیب نشان‌دهنده اثر خطی، درجه دوم و برهم‌کنش مدل پیشنهادی به وسیله آنالیز چندگانه رگرسیون می‌باشد.

جدول ۲ - مقادیر معنی داری (شاخص P) خواص فیزیکیوشیمیایی پنیر سفید ایرانی فرابالوده سین بیوتیک

منابع متغیر	اسیدیته	رطوبت	پروتئین	چربی
مدل	۰/۰۲۷۷*	۰/۰۰۱۶**	۰/۰۱۲۵*	۰/۰۰۴۷**
رگرسیون خطی				
X ₁	۰/۰۵۸۲ ^{ns}	۰/۰۰۶۹**	۰/۱۳۲۹ ^{ns}	۰/۸۳۹۹ ^{ns}
X ₂	۰/۰۵۰۳ ^{ns}	۰/۵۴۹۱ ^{ns}	۰/۰۰۳۸**	۰/۰۰۰۹***
X ₃	۰/۰۴۲۷*	۰/۰۲۸۴*	۰/۵۳۱۵ ^{ns}	۰/۲۵۵۸ ^{ns}
برهم کنش				
X ₁ X ₂	۰/۰۶۸۸ ^{ns}	۰/۷۹۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۸۵**	۰/۲۷۹۵ ^{ns}
X ₁ X ₃	۰/۴۳۴۷ ^{ns}	۰/۳۴۰۳ ^{ns}	۰/۸۰۲۵ ^{ns}	۰/۷۶۹۱ ^{ns}
X ₂ X ₃	۰/۲۵۸۹ ^{ns}	۰/۹۵۸۱ ^{ns}	۱/۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۷۷۵۷ ^{ns}
درجه دوم				
X ₁ ²	۰/۳۹۷۷ ^{ns}	۰/۵۳۴۹ ^{ns}	۰/۳۲۱۹ ^{ns}	۰/۰۰۵۴**
X ₂ ²	۰/۳۹۷۷ ^{ns}	۰/۴۳۲۱ ^{ns}	۰/۰۰۵۲**	۰/۰۰۹۳**
X ₃ ²	۰/۰۰۸۷**	۰/۲۵۱۶ ^{ns}	۰/۰۲۶۸*	۰/۰۰۱۱**
عدم برازش	۰/۱۰۶ ^{ns}	۰/۰۸۱۶ ^{ns}	۰/۱۱۲ ^{ns}	۰/۱۳۷ ^{ns}
R ²	۰/۹۲	۰/۸۹	۰/۹۶	۰/۹۸
R ² -adjust	۰/۸۸	۰/۸۱	۰/۹۳	۰/۹۳
ضریب پراکندگی	۴/۵۸	۱/۵۴	۳/۲۷	۵/۲۱

X1, X2 و X3 به ترتیب نشان دهنده متغیرهای مستقل غلظت های آنزیم ترانس گلوتامیناز، محلول پودر آب پنیر و اینولین می باشند. *, ** و ns، به ترتیب معنی داری در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و عدم تفاوت معنی داری را نشان می دهد.

رطوبت

نتایج آنالیز واریانس بررسی ویژگی رطوبت نمونه های پنیر نشان داد که اثرات خطی آنزیم ترانس گلوتامیناز ($P < 0.05$) و نیز اینولین ($P < 0.01$) بر رطوبت نمونه های پنیر معنی دار شدند. براساس نتایج به دست آمده، افزودن آنزیم سبب افزایش رطوبت نمونه ها گردید. آنزیم ترانس گلوتامیناز با ایجاد اتصالات عرضی کووالانسی، شبکه کازئینی را پایدار می کند و با افزایش نگهداری آب پنیر در درون دلمه، میزان آب اندازی آن را کاهش می دهد. همچنین با ایجاد پیوندهای ایزوپپتیدی حجم آزاد درون ماتریکس پروتئینی را افزایش می دهد که منجر به نگهداری آب پنیر می شود (Pierro et al., 2010). Jaros, Henle, Partschefeld و Rohm (۲۰۰۶) بیان کردند آنزیم ترانس گلوتامیناز با پلیمریزاسیون پروتئین های شیر موجب افزایش ظرفیت نگهداری آب می شود. در پژوهشی دیگر Yamazaki, Kuraishi و Susa (۲۰۰۱) بیان داشتند که تیمار آنزیمی ترانس گلوتامیناز شیر

می تواند سبب افزایش ظرفیت نگهداری آب در دلمه و جلوگیری از سینرزیس یا آب اندازی دلمه شود.

همچنین افزودن اینولین سبب کاهش رطوبت پنیر گردید. در تطابق با نتایج این تحقیق، Alves و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که با افزایش اینولین در نمونه های پنیر خامه ای سین بیوتیک، رطوبت پنیر کاهش یافت. این محققین دلیل کاهش رطوبت پنیر را به افزایش محتوای ماده خشک کل در اثر استفاده از ترکیبات پری بیوتیکی نسبت دادند. نتایج مشابهی توسط Akalin, Tokuşoğlu, Gönç و Aycan (۲۰۰۷) و Guggisberg, Cuthbert-Steven, Piccinali و Eberhard و Bütikofer (۲۰۰۹) در ماست غنی شده با اینولین گزارش شده است.

در مجموع، نمونه فاقد اینولین و حاوی ۱ درصد آنزیم ترانس گلوتامیناز بیشترین میزان رطوبت را دارا بود. رابطه (۳)، مدل نهایی به دست آمده برای توضیح تغییرات رطوبت پنیر سین بیوتیک براساس اجزای فرمولاسیون را نشان می دهد.

رابطه (۳)

$$Y=65.23+1.53X_1+0.33X_3$$

در رابطه (۳)، X_1 آنزیم ترانس گلوتامیناز و X_3 اینولین می‌باشند.

پروتئین

نتایج بررسی ویژگی پروتئین نشان داد که اثر خطی محلول پودر آب‌پنیر ($P < 0.01$)، اثر متقابل آنزیم ترانس گلوتامیناز و محلول پودر آب‌پنیر ($P < 0.01$) و نیز اثرات درجه دوم آب‌پنیر ($P < 0.01$) و اینولین ($P < 0.05$) معنی‌دار شدند. نتایج نشان داد که در سطوح بالای جایگزینی با محلول آب‌پنیر دمینراله، مقدار پروتئین دلمه کاهش معنی‌داری یافت (جدول ۲ و شکل ۱).

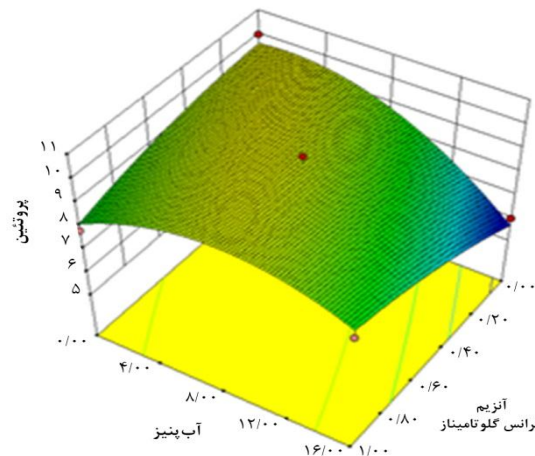
منطبق با این نتایج، Kaminarides (۲۰۱۵) و Malcata و Pintado، Gomes، Pintado، Madureira (۲۰۱۱) و گزارش نمودند که با افزودن ترکیبات آب‌پنیر (به صورت تغلیظ شده یا شیرین) به فرمولاسیون پنیر، مقدار پروتئین محصول کاهش می‌یابد. علت کاهش مقدار پروتئین پنیر در نتیجه افزایش جایگزینی محلول حاوی پودر آب‌پنیر دمینراله با ناتراوه می‌تواند به دلیل پایین‌تر بودن مقدار پروتئین به‌ویژه کازئین در محلول آب‌پنیر در مقایسه با ناتراوه و همچنین نقش کمتر آن در تشکیل شبکه کازئینی پنیر باشد. مطابق مطالعه‌ها Jooyandeh و Minhas (۲۰۰۹)، افزایش درصد جایگزینی پروتئین آب‌پنیر تخمیری تغلیظ شده (FWPC)^۱ چه قبل از تشکیل لخته و چه بعد از تشکیل لخته منجر به کاهش مقادیر بازیافت پروتئین می‌شود. علت کاهش بازیافت پروتئین در پنیرهای سفید ایرانی هم‌گام با افزایش میزان FWPC می‌تواند به مقدار کمتر کازئین در نمونه‌های پنیر حاوی FWPC مربوط باشد. اگرچه FWPC دارای مقدار پروتئین بیشتری از شیر بود، کاهش متوالی بازیافت پروتئین در نمونه‌های حاوی FWPC ثابت کرد پروتئین‌های موجود در FWPC نمی‌توانند دقیقاً همان نقش کازئین را در تشکیل شبکه پروتئینی ایفا کنند. مقدار بالاتر پروتئین در سرم جداسازی از نمونه‌های تولید شده پنیر حاوی مقادیر بالای جایگزینی محلول آب‌پنیر با ناتراوه در این تحقیق می‌تواند مؤید این موضوع باشد. در تأیید این نتایج، Dybing و Smith (۱۹۹۸) نیز نشان دادند که افزودن محلول‌های تیمار شده پروتئین‌های آب‌پنیر سبب کاهش مقدار بازیافت پروتئین می‌شود. مدل نهایی به دست آمده برای پروتئین در رابطه (۴) نشان داده شده است.

رابطه (۴)

$$Y = 10.29 + 0.065X_2 + 0.26X_1X_2 - 0.019X_2^2 + 0.82X_3^2$$

در رابطه (۴)، Y پروتئین، X_1 آنزیم ترانس گلوتامیناز، X_2 میزان جایگزینی با محلول پودر آب‌پنیر دمینراله و X_3 اینولین می‌باشند.

شکل ۱- نمودار رویه سه‌بعدی برهم‌کنش سطوح مختلف آنزیم ترانس گلوتامیناز و محلول پودر آب‌پنیر بر پروتئین پنیر فرآپالوده سین بیوتیک



شکل ۱- نمودار رویه سه‌بعدی برهم‌کنش سطوح مختلف آنزیم ترانس گلوتامیناز و محلول پودر آب‌پنیر بر پروتئین پنیر فرآپالوده سین بیوتیک

در این میان، مقدار پروتئین نمونه‌های پنیر با افزایش مقادیر آنزیم و اینولین نیز کاهش یافت، اما این تغییرات معنی‌دار نگردید ($P > 0.05$). همان‌طور که در شکل (۱) مشاهده می‌شود، در مقادیر پایین محلول پودر آب‌پنیر (۰ درصد)، با افزایش آنزیم ترانس گلوتامیناز مقدار پروتئین کاهش می‌یابد که دلیل آن احتمالاً بالاتر بودن آب دلمه یا به عبارتی کاهش سینرزیس در دلمه می‌باشد. در واقع آنزیم ترانس گلوتامیناز با ایجاد اتصالات عرضی بین پروتئین‌های شیر یک شبکه پایدار پروتئینی ایجاد می‌کند و با حفظ مقدار بیشتری از رطوبت، سهم پروتئین در دلمه را کاهش می‌دهد (دانش و همکاران،

¹ Fermented whey Protein Concentrate

چربی

آنالیز واریانس نتایج بررسی ویژگی چربی نشان داد که اثر خطی محلول پودر آب‌پنیر ($P < 0/01$) و نیز اثرات درجه‌دوم هر سه متغیر آنزیم، آب‌پنیر و اینولین ($P < 0/01$) معنی‌دار شدند. در هر حال اثر متقابل معنی‌داری میان سه متغیر مورد آزمایش مشاهده نگردید ($P > 0/05$). همانند پروتئین، با افزایش مقادیر هر سه متغیر، مقدار چربی نمونه‌ها کاهش یافت اما فقط با افزایش محلول پودر آب‌پنیر دمیتراله مقدار چربی پنیر به شکل معنی‌داری کاهش یافت. منطبق با این نتایج Madureira و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی ویژگی‌های پنیر پروبیوتیک حاوی آب‌پنیر شیرین، کاهش چربی را در نمونه‌های حاوی آب‌پنیر گزارش کردند. کاهش مقدار چربی در نمونه‌های حاوی محلول پودر آب‌پنیر می‌تواند به علت پایین‌تر بودن میزان چربی محلول حاوی پودر آب‌پنیر در مقایسه با ناتراوه و نیز به دلیل عدم تشکیل شبکه‌سه‌بعدی مناسب کازئین در دلمه پنیر باشد (Jooyandeh, 2009). در تأیید این موضوع مشاهده شد که سرم جدا شده از نمونه‌های پنیر حاوی مقادیر بالای جایگزینی محلول پودر آب‌پنیر با ناتراوه از مقدار چربی بالاتری برخوردار بودند. رابطه ریاضی بین چربی و اجزای فرمولاسیون به صورت رابطه (۵) تعیین شد.

رابطه (۵)

$$Y=13.83-0.49 X_2+5.35 X_1^2+0.018 X_2^2+1.92 X_3^2$$

در رابطه (۵)، Y چربی، X_1 آنزیم ترانس گلوتامیناز، X_2 میزان جایگزینی با محلول پودر آب‌پنیر دمیتراله و X_3 اینولین می‌باشند.

ارزیابی حسی**رنگ و ظاهر**

آنالیز واریانس نتایج بررسی ویژگی رنگ نشان داد که اثر خطی محلول پودر آب‌پنیر دمیتراله و اینولین ($P < 0/05$) معنی‌دار شد. نتایج نشان داد که با افزایش مقدار محلول پودر آب‌پنیر، کیفیت رنگ نمونه‌های پنیر

کاهش یافت اما با افزایش مقدار اینولین، امتیاز رنگ افزایش یافت به طوری که بیشترین میزان امتیاز رنگ به صفر درصد آب‌پنیر و ۲ درصد اینولین اختصاص یافت. مدل نهایی به دست آمده برای رنگ و ظاهر در رابطه (۶) نشان داده شده است.

رابطه (۶)

$$Y=1.83-0.39 X_2+1.12 X_3$$

در رابطه (۶)، Y رنگ و ظاهر، X_2 میزان جایگزینی با محلول پودر آب‌پنیر دمیتراله و X_3 اینولین می‌باشند.

عطروطعم

عطروطعم از مهم‌ترین ویژگی‌های محصول در بازار پسندی آن می‌باشد. مهم‌ترین ترکیبات ایجادکننده عطروطعم پنیرها اسیدهای آمینه آزاد و اسیدهای چرب آزاد حاصل از فرایند پروتئولیز و لیپولیز می‌باشند (Buriti, Cardarelli, Filisetti, & Saad, 2007). آنالیز واریانس نتایج بررسی ویژگی طعم نشان داد که همانند رنگ و ظاهر پنیر، اثر خطی آب‌پنیر و اینولین معنی‌دار شد ($P < 0/05$). همچنین، اثر درجه‌دوم آب‌پنیر نیز معنی‌دار گردید. به طور کلی، با افزایش مقدار محلول پودر آب‌پنیر و اینولین کیفیت عطروطعم نمونه‌های پنیر کاهش یافت. در تطابق با نتایج این تحقیق، Kaminarides (۲۰۱۵) و Prajapati, Rathour, Pinto و Jana و Solanky (۲۰۰۷) کاهش عطروطعم را در پنیر پروسس حاوی آب‌پنیر گزارش کردند. برخلاف این نتایج، Bertola, Staffolo, Martino و Bevilacqua (۲۰۰۴) بهبود طعم را در نمونه‌های ماست حاوی اینولین گزارش نمودند. مدل نهایی به دست آمده برای عطروطعم در رابطه (۷) نشان داده شده است.

رابطه (۷)

$$Y=24.13+0.76 X_2-0.38 X_2^2+2.14 X_3$$

در رابطه (۷)، Y عطروطعم، X_2 میزان جایگزینی با محلول پودر آب‌پنیر دمیتراله و X_3 اینولین می‌باشند.

جدول ۳ - مقادیر معنی‌داری (شاخص P) خواص حسی و میکروبی پنیر سفید ایرانی فرابالوده سین بیوتیک

منابع متغیر	رنگ و ظاهر	عطروطمع	بافت و قوام	پذیرش کلی	لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس
مدل	۰/۰۴۶۱*	۰/۰۲۷۵*	۰/۰۴۱۶*	۰/۰۲۲۳*	۰/۰۴۵۱*
رگرسیون خطی					
X_1	۰/۹۴۶۶ ^{ns}	۰/۲۲۲۵ ^{ns}	۰/۰۲۴۸*	۰/۷۷۲۱ ^{ns}	۰/۰۲۶۲*
X_2	۰/۰۲۵۴*	۰/۰۳۶۱*	۰/۰۴۳۱*	۰/۰۲۳۷*	۰/۰۴۵۹*
X_3	۰/۰۳۱۸*	۰/۰۲۸۳*	۰/۰۹۶۰ ^{ns}	۰/۸۸۴۵ ^{ns}	۰/۳۱۱۸ ^{ns}
برهمکنش					
X_1X_2	۰/۸۴۲۵ ^{ns}	۰/۷۲۳۶ ^{ns}	۰/۷۹۰۰ ^{ns}	۰/۴۲۶۷ ^{ns}	۰/۹۲۲۵ ^{ns}
X_1X_3	۰/۶۵۲۱ ^{ns}	۰/۹۰۲۷ ^{ns}	۰/۳۴۰۳ ^{ns}	۰/۲۵۱۲ ^{ns}	۰/۵۶۲۱ ^{ns}
X_2X_3	۰/۷۸۲۴ ^{ns}	۰/۹۴۳۱ ^{ns}	۰/۱۸۵۹ ^{ns}	۰/۸۳۷۴ ^{ns}	۰/۸۸۲۴ ^{ns}
درجه دوم					
X_1^2	۰/۶۹۸۱ ^{ns}	۰/۹۲۲۰ ^{ns}	۰/۹۴۳۵ ^{ns}	۰/۹۲۱۳ ^{ns}	۰/۹۶۸۱ ^{ns}
X_2^2	۰/۷۵۱۲ ^{ns}	۰/۰۳۶*	۰/۱۲۳۴ ^{ns}	۰/۳۹۲۹ ^{ns}	۰/۸۵۱۲ ^{ns}
X_3^2	۰/۵۳۵۸ ^{ns}	۰/۹۹۹۰ ^{ns}	۰/۶۱۵۷ ^{ns}	۰/۰۸۱۰*	۰/۳۵۵۸ ^{ns}
عدم برازش	۰/۳۶۴	۰/۰۷۴	۰/۰۶۱۸	۰/۱۱ ^{ns}	۰/۲۷۴
R^2	۰/۹۲	۰/۹۲	۰/۹۱	۰/۹۰	۰/۹۵
R^2 -adjust	۰/۸۹	۰/۸۸	۰/۸۷	۰/۸۶	۰/۹۱
ضریب پراکندگی	۵/۵۸	۹/۸۴	۵/۵۴	۷/۴۵	۶/۵۸

X_1 ، X_2 و X_3 به ترتیب نشان‌دهنده متغیرهای مستقل غلظت‌های آنزیم ترانس گلوتامیناز، محلول پودر آب پنیر و اینولین می‌باشند.

ns، * و **، به ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد.

بافت و قوام

آنالیز واریانس نتایج بررسی ویژگی بافت و قوام نشان داد که فقط اثر خطی جایگزینی محلول پودر آب پنیر دمیترال و آنزیم ترانس گلوتامیناز ($P < 0.05$) معنی‌دار شد و اثرات درجه دوم و متقابل معنی‌دار نگردید. براساس نتایج به‌دست‌آمده، با افزایش غلظت آنزیم ترانس گلوتامیناز و همچنین محلول پودر آب پنیر، امتیاز بافت و قوام به‌طور معنی‌داری کاهش یافت؛ به‌طوری‌که کمترین امتیاز بافت و قوام مربوط به نمونه حاوی ۱ درصد آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی و ۱۶ درصد جایگزینی با محلول حاوی پودر آب پنیر دمیترال بود. نتایج این تحقیق نشان داد هرچند استفاده از آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی سبب افزایش رطوبت پنیر گردید، در سطوح بالا و نزدیک به غلظت ۱ درصد باعث سفت‌تر شدن بافت پنیر شد. علت افزایش سفتی پنیر باوجود افزایش رطوبت نمونه‌ها احتمالاً به‌دلیل افزایش اتصالات بیش از حد درون و برون مولکولی شبکه کاربونی است (Imm, Lian, & Lee, 2000). رابطه ریاضی بین بافت و قوام و اجزای فرمولاسیون به‌صورت رابطه (۸) تعیین شد.

رابطه (۸)

$$Y = 15.83 - 0.69 X_2 - 0.45 X_1$$

در رابطه (۸)، Y بافت و قوام، X_1 آنزیم ترانس گلوتامیناز و X_2 میزان جایگزینی با محلول پودر آب پنیر دمیترال می‌باشند.

پذیرش کلی

آنالیز واریانس نتایج بررسی پذیرش کلی نشان داد که اثر خطی محلول پودر آب پنیر و اثر درجه دوم اینولین ($P < 0.05$) معنی‌دار شد. با افزایش جایگزینی محلول ۳۴ درصد آب پنیر با ناتراوه، امتیاز پذیرش کلی نمونه‌های پنیر کاهش یافت و این کاهش در مقادیر بالای اینولین مشهودتر بود. این نتایج، با توجه به اثر معنی‌دار و منفی آب پنیر بر رنگ، عطروطمع و بافت قابل توجیه است. رابطه ریاضی بین پذیرش کلی و اجزای فرمولاسیون به‌صورت رابطه (۹) تعیین شد.

رابطه (۹)

$$Y = 8.65 - 0.035 X_2 - 0.65 X_3^2$$

مطابق با استاندارد کدکس (Codex Alimentarius Commission, 2003) در نمونه بهینه پنیر فرآپالوده بود. در مطابقت با نتایج این پژوهش، Radošević, Tonković, Gregurek, Kos و Šušković (۲۰۰۷) نیز با بررسی زنده مانگی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در پنیر تازه حاوی آنزیم ترانس گلوتامیناز بیان کردند که تعداد سلول ها بعد از ۱۰ روز نگهداری در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد بالاتر از حداقل مقدار مورد نیاز برای محصولات پروبیوتیک (5×10^6 لگاریتم واحد کلنی در گرم) بوده است. مدل نهایی به دست آمده برای آزمون میکروبی در رابطه (۱۰) نشان داده شده است.

رابطه (۱۰)

$$Y = +7.36454 - 1.22713X$$

بهینه یابی

شرایط عملیاتی بهینه برای فرمولاسیون پنیر فرآپالوده سین بیوتیک با استفاده از متغیرهای مستقل غلظت آنزیم ترانس گلوتامیناز، غلظت محلول پودر آب پنیر و غلظت اینولین بر پارامترهای مورد اندازه گیری با استفاده از تکنیک بهینه یابی عددی نرم افزار Design Expert انجام شد. برای این منظور مقدار پروتئین، چربی و پذیرش کلی در بیشینه و مقدار رطوبت و اسیدیته در کمینه و همچنین متغیرهای مستقل در محدوده مورد مطالعه انتخاب شدند. براساس نتایج به دست آمده، نمونه بهینه با استفاده از مقادیر ۰/۴۳ واحد آنزیم به ازای هر گرم پروتئین، ۸/۲۴ درصد محلول پودر آب پنیر دمیترال و ۰/۷۱ درصد اینولین تعیین گردید. برای اعتبارسنجی مدل، آزمایش ها تحت شرایط بهینه انجام شد که نتایج آن در جدول (۴) ارائه شده است. نتایج حاصل از آزمایش های تجربی، بیانگر نزدیکی آنها با نتایج حاصل از پیش بینی مدل و نشان دهنده کارایی بالای مدل در پیش بینی نتایج پژوهش است.

در رابطه (۹)، Y پذیرش کلی، X_2 میزان جایگزینی با محلول پودر آب پنیر دمیترال و X_3 اینولین می باشد.

شمارش باکتری های پروبیوتیک

نتایج تجزیه واریانس بررسی ویژگی شمارش پروبیوتیکی نشان داد که اثر خطی آنزیم ترانس گلوتامیناز و محلول پودر آب پنیر معنی دار شد ($P < 0.05$) اما اثر خطی اینولین و تمامی اثرات متقابل و درجه دوم متغیرها معنی دار نبودند. با افزایش غلظت آنزیم ترانس گلوتامیناز، میزان زنده مانگی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس به شکل معنی داری کاهش یافت. در تأیید نتایج این تحقیق، بسیاری از محققین به کاهش فعالیت باکتری های آغازگر یا باکتری های پروبیوتیک در حضور آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی در محصولات لبنی نظیر پنیر (Dmytrów, Jasinska, & Dmytrów, 2010), Mاست (Neve, Lorenzen, Mautner, Schlimme, & Heller, 2001) و کفیر (Temiz & Dağyıldız, 2017) اشاره نموده اند. برخلاف نتایج این تحقیق، Farnsworth و همکاران (۲۰۰۶) و Pavunc و همکاران (۲۰۱۱) تفاوت معنی داری بین زنده مانگی باکتری های پروبیوتیک نمونه تیمار شده با آنزیم ترانس گلوتامیناز و نمونه شاهد مشاهده نکردند. افزایش تعداد باکتری های پروبیوتیک در نتیجه افزودن محلول پودر آب پنیر نیز بیانگر اثر مثبت ترکیبات آب پنیر بر رشد باکتری های پروبیوتیک بود (Lorenzen, 2002, Neve, Mautner, & Schlimme). در تأیید این نتایج، Antunes, Antunes و Cardello (۲۰۰۴) و Supriadi و Kailasapathy (۱۹۹۸) به اثر پری بیوتیکی ترکیبات آب پنیر اشاره نموده اند.

با وجود اثر منفی آنزیم ترانس گلوتامیناز بر زنده مانگی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس، نتایج این تحقیق بیانگر تعداد قابل توجه و قابل قبول باکتری های پروبیوتیک (بیش از 10^6 لگاریتم واحد کلنی در گرم،

جدول ۴ مقایسه نتایج حاصل از آزمایش و نتایج پیش بینی شده نمونه بهینه پنیر فرآپالوده

پذیرش کلی	لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس	اسیدیته ($^{\circ}D^*$)	رطوبت (درصد)	چربی (درصد)	پروتئین (درصد)	نتایج پیش بینی
۷/۷۶	۶/۹۶	۹۲/۵۵	۶۶/۲۹	۱۴/۱۰	۱۰/۲۱	نتایج آزمایشی
$8/20 \pm 0/79$	$7/12 \pm 0/19$	$93/60 \pm 2/34$	$66/86 \pm 0/72$	$14/43 \pm 0/33$	$10/00 \pm 0/46$	

* اسیدیته بر حسب درجه دورنیک

نتیجه‌گیری

جایگزینی محلول پودر آب‌پنیر دمنراله و ۰/۷۱ درصد اینولین، می‌توان محصولی سین‌بیوتیک با خواص تغذیه‌ای بالا و ویژگی‌های فیزیوشیمیایی و حسی قابل قبول تولید کرد. در این شرایط رطوبت ۶۶/۲۹ درصد، پروتئین ۱۰/۲۱ درصد، چربی ۱۴/۱۰ درصد، اسیدیته ۹۲/۵۵ درجهٔ دورنیک، پذیرش کلی ۷/۷۶ و شمارش لاکتوباسیلوس /اسیدوفیلوس ۶/۹۶ لگاریتم واحد کلنی در گرم بود. شایان ذکر است اگرچه تیمار آنزیمی ترانس‌گلوتامیناز سبب کاهش تعداد پروبیوتیک لاکتوباسیلوس /اسیدوفیلوس شد، اما تعداد این باکتری در نمونهٔ پنیر بهینه‌شده پس از ۲ ماه نگهداری محصول در یخچال بیش از 10^6 لگاریتم واحد کلنی در گرم تعیین گردید.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شده است و بدین‌وسیله نویسندگان مراتب قدردانی خود را اعلام می‌دارند. همچنین از مسئولین محترم کارخانه پگاه خوزستان به‌ویژه آقای مهندس فرهنگ مدیریت واحد تحقیق و توسعه کارخانه به جهت تولید نمونه‌های پنیر قدردانی می‌گردد.

تحقیق حاضر در ادامهٔ تحقیق‌های سال‌های اخیر و با هدف ارزیابی نوعی محصول سین‌بیوتیک، با به‌کارگیری روش سطح پاسخ و تلفیق میزان بهینه‌ای از ترکیبات پری‌بیوتیک اینولین، محلول پودر آب‌پنیر و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز طراحی و انجام گرفت. نتایج حاصل نشان داد که اینولین با افزایش مادهٔ خشک، رطوبت پنیر سین‌بیوتیک را کاهش می‌دهد درحالی‌که آنزیم ترانس‌گلوتامیناز با ایجاد اتصالات عرضی کووالانسی موجب افزایش ظرفیت نگهداری آب‌پنیر می‌شود. با افزایش اینولین اسیدیتهٔ نمونه‌های پنیر افزایش یافت اما تیمار آنزیمی ترانس‌گلوتامیناز و جایگزینی محلول پودر آب‌پنیر دمنراله با ناتراوه تأثیر معنی‌داری نداشت. افزایش جایگزینی محلول پودر آب‌پنیر تا مقادیر ۸ درصد، امتیاز عطر و طعم را افزایش داد اما در مقادیر بالاتر جایگزینی به دلیل کاهش قابل توجه چربی و پروتئین پنیر، عطر و طعم و در نتیجه پذیرش کلی محصول کاهش یافت. همچنین، با افزایش اینولین امتیاز عطر و طعم افزایش یافت. باتوجه‌به نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش، مشخص گردید که با استفاده از روش سطح پاسخ و به‌کارگیری مقادیر بهینهٔ سه متغیر مورد بررسی شامل ۰/۴۳ واحد آنزیم ترانس‌گلوتامیناز به‌زای هر گرم پروتئین، ۸/۲۴ درصد

منابع

- جیرسرای، ب.، پوراحمد، ر. و فدایی نوغانی، و. (۱۳۹۵). اثر اینولین و لاکتولوز بر زنده مانی لاکتوباسیلوس کازئی و ویژگی‌های فیزیوشیمیایی و حسی پنیر فتای فراپالایش پروبیوتیک. *علوم غذایی و تغذیه*، ۱۴(۱) (پیاپی ۵۳)، ۳۵-۴۶.
- دانش، ع.، جوینده، ح. و گودرزی، م. (۱۳۹۶a). بهبود ویژگی‌های رئولوژیکی پنیر سفید ایرانی کم چرب فراپالوده از طریق تلفیق پروتئین‌های تغلیظ شده آب پنیر و تیمار آنزیمی ترانس‌گلوتامیناز. *مجله علوم و صنایع غذایی*، ۱۴(۶۷)، ۲۸۵-۲۹۸.
- دانش، ع.، جوینده، ح. و گودرزی، م. (۱۳۹۶b). تأثیر تیمار ترانس‌گلوتامیناز بر ویژگی‌های فیزیوشیمیایی، رئولوژیکی و ارگانولپتیکی پنیر فراپالوده کم چرب تلفیق شده با پروتئین‌های آب پنیر طی دوره انبارمانی. *علوم غذایی و تغذیه*، ۱۴(۴) (پیاپی ۵۶)، ۲۵-۳۶.
- Akalın, A., Tokuşoğlu, Ö., Gönç, S., & Aycan, Ş. (2007). Occurrence of conjugated linoleic acid in probiotic yogurts supplemented with fructooligosaccharide. *International Dairy Journal*, 17(9), 1089-1095.
- Alimoradi, F., Hojaji, E., Jooyandeh, H., Moghadam, S. A. H. Z., & Moludi, J. (2016). Whey Proteins: Healthbenefits And Food Applications. *Journal of International Research in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 9(2), 63-73.
- Alves, L. L., Richards, N. S., Mattanna, P., Andrade, D. F., S Rezer, A. P., Milani, L. I., . . . Faria, J. A. (2013). Cream cheese as a symbiotic food carrier using B ifidobacterium animalis B b-12 and L actobacillus acidophilus L a-5 and inulin. *International Journal of Dairy Technology*, 66(1), 63-69.

- Antunes, A., Antunes, A., & Cardello, H. (2004). Chemical, physical, microstructural and sensory properties of set fat-free yogurts stabilized with whey protein concentrate. *Milchwissenschaft*, 59(3-4), 161-165.
- AOAC. (2000). Official Methods of Analysis. 17th ed *Association of official analytical chemists*. Gaithersburg, Maryland, USA.
- Araújo, E. A., de Carvalho, A. F., Leandro, E. S., Furtado, M. M., & de Moraes, C. A. (2010). Development of a symbiotic cottage cheese added with *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20 and inulin. *Journal of Functional Foods*, 2(1), 85-89. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jff.2009.12.002>
- Bönisch, M. P., Tolkach, A., & Kulozik, U. (2006). Inactivation of an indigenous transglutaminase inhibitor in milk serum by means of UHT-treatment and membrane separation techniques. *International Dairy Journal*, 16(6), 669-678. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.08.014>
- Buriti, F. C., Cardarelli, H. R., Filisetti, T. M., & Saad, S. M. (2007). Synbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. *Food chemistry*, 104(4), 1605-1610. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.001>
- Butel, M.-J. (2014). Probiotics, gut microbiota and health. *Médecine et maladies infectieuses*, 44(1), 1-8. doi:<https://doi.org/10.1016/j.medmal.2013.10.002>
- Cardarelli, H. R., Buriti, F. C. A., Castro, I. A., & Saad, S. M. I. (2008). Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially synbiotic petit-suisse cheese. *LWT - Food Science and Technology*, 41(6), 1037-1046. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.07.001>
- Codex Alimentarius Commission. (2003). Codex standard for fermented milks. [Codex Standard No. 243-2003]. Retrieved from http://www.fao.org/input/download/standards/400/CXS_243e.pdf
- Danesh, E., Jooyandeh, H., & Goudarzi, M. (2017a). Improving the rheological properties of low-fat Iranian UF-Feta cheese by incorporation of whey protein concentrate and enzymatic treatment of transglutaminase. *Iranian Journal Food Science Technology*, 14(67), 285-298. (in Persian).
- Danesh, E., Jooyandeh, H., & Goudarzi, M. (2017b). The influence of transglutaminase treatment on physicochemical, rheological and organoleptical attributes of low-fat ultrafiltered cheese incorporated with whey proteins during shelf life *Journal of Food Technology and Nutrition*, 14(4), 25-36. (in Persian).
- Dmytrów, I., Jasinska, M., & Dmytrów, K. (2010). Effect of microbiological transglutaminase on selected physicochemical properties of tvarog. *Italian Journal of Food Science*, 22(4), 449-460.
- Donkor, O. N., Nilmini, S., Stolic, P., Vasiljevic, T., & Shah, N. (2007). Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, 17(6), 657-665. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.08.006>
- Dybing, S., & Smith, D. (1998). The ability of phosphates or κ -carrageenan to coagulate whey proteins and the possible uses of such coagula in cheese manufacture. *Journal of dairy science*, 81(2), 309-317. doi:[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75579-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75579-1)
- Farnsworth, J., Li, J., Hendricks, G., & Guo, M. (2006). Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. *Small Ruminant Research*, 65(1-2), 113-121. doi:<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.05.036>
- Geiser, M. (2003). The wonders of whey protein. *NSCA's Performance Training Journal*, 2(5), 13-15.
- Granato, D., Branco, G. F., Nazzaro, F., Cruz, A. G., & Faria, J. A. (2010). Functional foods and nondairy probiotic food development: trends, concepts, and products. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9(3), 292-302. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00110.x>
- Guggisberg, D., Cuthbert-Steven, J., Piccinali, P., Bütikofer, U., & Eberhard, P. (2009). Rheological, microstructural and sensory characterization of low-fat and whole milk set yoghurt as influenced by inulin addition. *International Dairy Journal*, 19(2), 107-115. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.07.009>
- Imm, J., Lian, P., & Lee, C. (2000). Gelation and water binding properties of transglutaminase-treated skim milk powder. *Journal of Food Science*, 65(2), 200-205. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb15979.x>

- Jaros, D., Partschefeld, C., Henle, T., & Rohm, H. (2006). Transglutaminase in dairy products: chemistry, physics, applications. *Journal of texture studies*, 37(2), 113-155. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2006.00042.x>
- Jirsaraei, B., Pourahmad, R., & Fadaei, N. V. (2017). The Effect of Inulin and Lactulose on survival of *Lactobacillus casei* and physicochemical and sensory characteristics of probiotic Ultrafiltrated Feta Cheese. *Journal of Food Technology and Nutrition*, 14(1), 35-46. (in Persian).
- Jooyandeh, H. (2009). Effect of fermented whey protein concentrate on texture of Iranian white cheese. *Journal of texture studies*, 40(5), 497-510. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2009.00194.x>
- Jooyandeh, H., & Minhas, K. S. (2009). Effect of addition of fermented whey protein concentrate on cheese yield and fat and protein recoveries of Feta cheese. *Journal of Food Science and Technology (Mysore)*, 46(3), 221-224.
- Jovanović, S., Barać, M., & Maćej, O. (2005). Whey proteins-properties and possibility of application. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 55(3), 215-233.
- Kailasapathy, K., & Supriadi, D. (1998). Effect of partially replacing skim milk powder with whey protein concentrate on the sensory qualities of lactose hydrolysed acidophilus yogurt. *Milchwissenschaft*, 53(7), 385-389.
- Kaminarides, S. (2015). A modified form of Myzithra cheese produced by substituting the fresh cheese whey by dried whey protein concentrate and ovine milk and cream. *Small Ruminant Research*, 131, 118-122. doi:<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.07.020>
- Katsiari, M., Voutsinas, L., Kondyli, E., & Alichanidis, E. (2002). Flavour enhancement of low-fat Feta-type cheese using a commercial adjunct culture. *Food chemistry*, 79(2), 193-198. doi:[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00131-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00131-0)
- Kuraishi, C., Yamazaki, K., & Susa, Y. (2001). Transglutaminase: its utilization in the food industry. *Food Reviews International*, 17(2), 221-246. doi:<https://doi.org/10.1081/FRI-100001258>
- Lorenzen, P. C., Neve, H., Mautner, A., & Schlimme, E. (2002). Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on functional properties of set-style yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 55(3), 152-157. doi:<https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2002.00065.x>
- Madureira, A. R., Pintado, A. I., Gomes, A. M., Pintado, M. E., & Malcata, F. X. (2011). Rheological, textural and microstructural features of probiotic whey cheeses. *LWT-Food Science and Technology*, 44(1), 75-81. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.06.030>
- Maki, K. C., Dicklin, M. R., Cyrowski, M., Umporowicz, D. M., Nagata, Y., Moon, G., . . . Davidson, M. H. (2002). Improved calcium absorption from a newly formulated beverage compared with a calcium carbonate tablet. *Nutrition Research*, 22(10), 1163-1176. doi:[https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(02\)00418-9](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(02)00418-9)
- Mortazavian, A., Ehsani, M., Sohrabvandi, S., & Reinheimer, J. (2007). MRS-bile agar: its suitability for the enumeration of mixed probiotic cultures in cultured dairy products. *Milchwissenschaft*, 62(3), 270-272.
- Neve, H., Lorenzen, P. C., Mautner, A., Schlimme, E., & Heller, K. (2001). Effects of transglutaminase treatment on the production of set skim milk yoghurt: microbiological aspects. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 53(4), 347-361.
- Özer, B., Hayaloglu, A. A., Yaman, H., Gürsoy, A., & Şener, L. (2013). Simultaneous use of transglutaminase and rennet in white-brined cheese production. *International Dairy Journal*, 33(2), 129-134. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.02.001>
- Ozer, B., Kirmaci, H. A., Oztekin, S., Hayaloglu, A., & Atamer, M. (2007). Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yogurt production. *International Dairy Journal*, 17(3), 199-207. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.02.007>
- Pavunc, A. L., Beganović, J., Kos, B., Buneta, A., Beluhan, S., & Šušković, J. (2011). Influence of microencapsulation and transglutaminase on viability of probiotic strain *Lactobacillus helveticus* M92 and consistency of set yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 64(2), 254-261. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00647.x>

- Pierro, P. D., Mariniello, L., Sorrentino, A., Giosafatto, C. V. L., Chianese, L., & Porta, R. (2010). Transglutaminase-induced chemical and rheological properties of cheese. *Food Biotechnology*, 24(2), 107-120. doi:<https://doi.org/10.1080/08905431003784465>
- Pinto, S., Rathour, A., Prajapati, J., Jana, A., & Solanky, M. (2007). Utilization of whey protein concentrate in processed cheese spread. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 6(5), 398-401.
- Poppitt, S. D., Proctor, J., McGill, A.-T., Wiessing, K. R., Falk, S., Xin, L., . . . Hall, R. S. (2011). Low-dose whey protein-enriched water beverages alter satiety in a study of overweight women. *Appetite*, 56(2), 456-464. doi:<https://doi.org/10.1016/j.appet.2011.01.015>
- Radošević, V., Tonković, K., Gregurek, L., Kos, B., & Šušković, J. (2007). Production of fresh probiotic cheese with addition of transglutaminase. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 57(1), 15-29.
- Rao, V. A. (2001). The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels. *Nutrition Research*, 21(6), 843-848. doi:[https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(01\)00284-6](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(01)00284-6)
- Rivera-Espinoza, Y., & Gallardo-Navarro, Y. (2010). Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 27(1), 1-11. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.06.008>
- Sayadi, A., Madadlou, A., & Khosrowshahi, A. (2013). Enzymatic cross-linking of whey proteins in low fat Iranian white cheese. *International Dairy Journal*, 29(2), 88-92. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2012.10.006>
- Staffolo, M. D., Bertola, N., Martino, M., & Bevilacqua, y. A. (2004). Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt. *International Dairy Journal*, 14(3), 263-268. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.08.004>
- Temiz, H., & Dağyıldız, K. (2017). Effects of Microbial Transglutaminase on Physicochemical, Microbial and Sensorial Properties of Kefir Produced by Using Mixture Cow's and Soymilk. *Korean journal for food science of animal resources*, 37(4), 606-616. doi:<https://doi.org/10.5851/kosfa.2017.37.4.606>
- Tripathi, M. K., & Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9, 225-241. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.030>

Modeling and Optimization of Physicochemical and Organoleptical Properties and *Lactobacillus acidophilus* Viability in Ultrafiltrated Synbiotic Cheese, Containing Microbial Transglutaminase Enzyme, Whey and Inulin

Fereshteh Torabi¹, Hossein Jooyandeh^{2*}, Mohammad Noshad³, Hassan Barzegar²

1- M.Sc., Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

2- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

* Corresponding author (hosjooy@asnrukh.ac.ir)

3- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

Abstract

The growing demand of consumers for healthy foods has created a great incentive for the advancement of new food products around the world. Functional foods, particularly synbiotic products, are one of these products. In this research, the effects of microbial transglutaminase enzyme (MTG, 0-1 units per gram of milk protein), demineralized whey powder (DWP) solution containing 34% DWP (0-16%) and inulin (0-2%) on the physicochemical, sensorial and microbial properties of Iranian white ultrafiltrated synbiotic cheese was investigated using the response surface method (RSM). For cheese production, *Lactobacillus acidophilus* LA5 was used as probiotic and inulin and DWP solution were used as prebiotics. The results showed that by increasing of MTG concentration, moisture content of cheeses increased significantly ($P<0.05$), but acidity and other physicochemical properties and sensory attributes did not change noticeably. By increasing DWP substitution with ultrafiltrate, fat and protein values ($P<0.01$) and all the sensory attributes ($P<0.05$) significantly decreased but acidity did not change remarkably. Furthermore, with increasing inulin, acidity, color and appearance, odor and flavor ($P<0.05$) increased and moisture content ($P<0.01$) decreased significantly. By increasing of MTG concentration, the number of probiotic bacteria reduced significantly but addition of DWP solution ($P<0.05$) and inulin ($P>0.05$) had adverse effect and enhanced it. The optimization results showed that by using 0.43 U/g protein of MTG, 8.24% DWP solution and 0.71% of inulin, an Iranian white synbiotic ultrafiltrated cheese with appropriate physicochemical and sensory properties could be produced. The optimized cheese had adequate total acceptability (7.76 score) and high probiotic count (6.96 logcfu/g).

Keywords: Inulin, *Lactobacillus acidophilus*, RSM, Synbiotic cheese, Transglutaminase enzyme