www.journals.rifst.ac.ir
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال 1398، جلد 8، شماره 2، صفحات 150-137
DOI: 10.22101/JRIFST.2019.07.22.823

JRIFST
مقالهٔ کامل پژوهشی

مدل‌سازی و بهینه‌یابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی، حسی و قابلیت زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در پنیر فراپالودهٔ سین‌بیوتیک حاوی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی، محلول پودر آب‌پنیر و اینولین

فرشته ترابی[1]، حسین جوینده[2*]، محمد نوشاد[3]، حسن برزگر[2]

1- دانش‌آموختهٔ کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
2- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
* نویسندهٔ مسئول (hosjooy@asnrukh.ac.ir)
۳- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

چکیده

تقاضای روزافزون مصرف‌کنندگان برای غذاهای سالم، انگیزهٔ بالایی در پیشرفت محصولات غذایی جدید در سرتاسر جهان ایجاد نموده است. محصولات عملگرا به‌ویژه فراورده‌های سین‌بیوتیک، ازجملهٔ این محصولات هستند. در این تحقیق، تأثیر غلظت آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی (0-1 واحد به‌ازای هرگرم پروتئین شیر)، محلول 34 درصد پودر آب‌پنیر املاح‌گیری‌شده (0-16 درصد) و اینولین (0-2 درصد) بر خواص فیزیکوشیمیایی، حسی و میکروبی پنیر سفید فراپالودهٔ سین‌بیوتیک با استفاده از روش سطح پاسخ بررسی گردید. جهت تولید پنیر، از باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* LA5 به‌عنوان باکتری پروبیوتیک و از اینولین و محلول پودر آب‌پنیر دمینراله به‌عنوان مواد پری‌بیوتیک استفاده گردید. نتایج نشان داد که تیمار آنزیمی ترانس‌گلوتامیناز سبب افزایش معنی‌دار رطوبت پنیر گردید ($P<0/05$) اما تأثیری بر اسیدیته و سایر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی نمونه‌ها نداشت. با افزایش جایگزینی محلول پودر آب‌پنیر با ناتراوه، مقادیر چربی و پروتئین ($P<0/01$) و تمامی ویژگی‌های حسی پنیر کاهش معنی‌داری ($P<0/05$) یافت اما اسیدیته تغییر چندانی نکرد. همچنین با افزایش اینولین، پارامترهای اسیدیته، رنگ و ظاهر، عطروطعم ($P<0/05$) افزایش و رطوبت ($P<0/01$) کاهش یافت. با افزایش اینولین ($P>0/05$) و محلول پودر آب‌پنیر ($P<0/05$)، تعداد پروبیوتیک‌ها افزایش یافت درحالی‌که افزایش غلظت آنزیم اثر معکوسی داشت و سبب کاهش ($P<0/05$) آن شد. نتایج بهینه‌سازی نشان داد که با به‌کارگیری مقدار 0/43 واحد آنزیم به‌ازای هر گرم پروتئین، 8/24 درصد محلول پودر آب‌پنیر دمینراله و 0/71 درصد اینولین می‌توان پنیر سفید فراپالودهٔ سین‌بیوتیک با ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی مناسب تولید نمود. در این شرایط، نمونهٔ بهینه از پذیرش کلی قابل‌قبول (7/76) و شمارش بالای باکتری‌های پروبیوتیک (6/96 لگاریتم واحد کلنی در گرم) برخوردار بود.

تاریخ دریافت: 1397/04/08
تاریخ پذیرش: 1397/08/10

واژه‌های کلیدی
آنزیم ترانس‌گلوتامیناز
اینولین
پنیر سین‌بیوتیک
روش سطح پاسخ
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

مقدمه

اصطلاح غذاهای عملگرا برای اولین‌بار از اوایل سال 1980 در ژاپن مطرح گشت. نکاتی نظیر رابطهٔ رژیم غذایی و جلوگیری از ابتلا به بیماری‌های سخت و مزمن سبب شد

که از آن زمان تاکنون مواد غذایی عملگرا به سرعت گسترش یابند (Rivera-Espinoza & Gallardo-Navarro, 2010). فراورده‌های غذایی پروبیوتیک 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 پروبیوتیک (Granato, Branco, Nazzaro, Cruz, & Faria, 2010) هستند. پروبیوتیک‌ها با فعالیت زیستی خود که عمدتاً ازطریق 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 پروبیوتیک‌ها در حین تولید غذا و یا نتیجهٔ رشد و فعالیت سویه‌های خاصی از پروبیوتیک‌ها در محیط روده باشند؛ این خصوصیات مفید به‌طور مستقیم ناشی از برهم‌کنش سلول‌های زنده با میزبان و به‌طور غیرمستقیم ناشی از تأثیرات بیولوژیک پروبیوتیک‌ها ازطریق تولید متابولیت‌ها در حین فرایند تخمیر است (Tripathi & Giri, 2014). تحقیق‌ها نشان می‌دهد که اینولین از خواص پری‌بیوتیکی و بیفیدوژنتیکی[1] برخوردار است که منجرشده از آن به‌عنوان یک مادهٔ فراسودمند نامبرده شود (Rao, 2001). مصرف رژیم‌های غذایی حاوی اینولین در بلندمدت، سبب افزایش تراکم استخوان‌ها و درنتیجه کاهش ریسک پوکی‌استخوان‌ها می‌شود (Maki *et al.*, 2002). آب‌پنیر حاوی حدود 50 درصد از کل مواد مغذی موجود در شیر بوده و به سبب دارابودن پروتئین‌هایی با بالاترین کیفیت بیولوژیکی، دارای ارزش تغذیه‌ای بسیار بالایی است (Jovanović, Barać, & Maćej, 2005). آب‌پنیر به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، عامل ضدفشارخون، ضدسرطان، کاهش چربی خون، ضدویروس 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/بیفیدوژنیک عمل می‌کنند شامل ایمونوگلوبولین[2]، لاکتوفرین[3] و گلیکوماکروپپتید[4] می‌باشند (Alimoradi, Hojaji, Jooyandeh, Moghadam, & Moludi, 2016; Geiser, 2003). لاکتوفرین یکی از اصلی‌ترین ترکیبات آب‌پنیر است که به‌عنوان پری‌بیوتیک عمل می‌کند و همچنین باعث جذب آهن به پروتئین می‌شود (Geiser, 2003).

آنزیم ترانس‌گلوتامیناز یک آسیل ترانسفراز است که می‌تواند واکنش‌هایی مانند ایجاد اتصالات عرضی، انتقال آسیل و دآمیداسیون[5] 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 تحت‌تأثیر قراردادن مراحل اولیه و ثانویهٔ انعقاد در پنیر می‌شود (Bönisch, Tolkach, & Kulozik, 2006). براین‌اساس، 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 منجربه 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 de Moraes (2010) بیان کردند افزودن اینولین و باکتری‌های پروبیوتیک 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 (1396a؛1396b) 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 جیرسرایی، پوراحمد و فدایی نوغانی (1395)، تأثیر به‌کارگیری اینولین و لاکتولوز به‌عنوان ترکیبات پری‌بیوتیک در تولید پنیر سین‌بیوتیک فراپالوده، افزایش قابل‌توجهی تعداد باکتری‌های پروبیوتیک و کیفیت حسی بالاتر محصول

[1] Bifidogenic
[2] Immunoglobulin
[3] Lactoferrin
[4] Glycomacropeptide
[5] Deamination

سین‌بیوتیک را نسبت به نمونهٔ شاهد (پنیر غیرپروبیوتیک) گزارش نمودند. بنابراین، باتوجه‌به اینکه تاکنون مطالعه‌ای درزمینهٔ بررسی تأثیر به‌کارگیری هم‌زمان پودر آب‌پنیر، اینولین و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی پنیر سین‌بیوتیک انجام نگرفته است، مطالعهٔ حاضر با هدف بررسی تأثیر این عوامل بر کیفیت پنیر فراپالودهٔ سین‌بیوتیک با کمک نرم‌افزار Design Expert (نسخهٔ 10) انجام گردید.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده

تولید کلیهٔ نمونه‌های پنیر فراپالایش در کارخانه لبنی پگاه خوزستان انجام گرفت. جهت تهیهٔ پنیر از شیر تازهٔ کامل با کیفیت بالا استفاده گردید. آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی (EC 13، 2، 3، 2) 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*[1] و *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیرگونهٔ *لاکتیس*[2] و آغازگر پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*[3] LA5 از نوع DVS (شرکت Chr. Hansen، ساخت دانمارک) مورد استفاده قرار گرفتند. پودر آب‌پنیر با املاح کاهش‌یافته/دمینرال (DWP[4]) دارای 18/4 درصد پروتئین، 68/3 درصد لاکتوز، 6/2 درصد خاکستر و 0/6 درصد چربی (شرکت سهامی صنایع شیر ایران) و اینولین زنجیره‌بلند با توانایی حرارتی بالا (Beneo، Orafti HPX، ساخت آلمان) استفاده شد.

تولید نمونه‌های پنیر

جهت تولید تمامی نمونه‌های پنیر فراپالوده، از ناتراوهٔ تولیدی کارخانه (حاوی 0/28±34 درصد مادهٔ خشک، 0/18±12 درصد پروتئین و 0/15±15/15 درصد چربی) استفاده شد. برای تهیهٔ محلول آب‌پنیر، پودر آب‌پنیر دمینرالیه تا حصول مادهٔ خشک 34 درصد با آب‌مقطر مخلوط و به مدت 1 ساعت با همزن در دور پایین همگن شد. پس از اعمال فرایند حرارتی (85 درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت 5 دقیقه)، جهت هیدراته‌شدن بهتر پروتئین یا جذب مناسب آب توسط پروتئین، محلول آماده‌شده به مدت یک شب در یخچال نگهداری گردید (Sayadi, Madadlou, & Khosrowshahi, 2013)؛ در ادامه محلول پودر آب‌پنیر دمینرالیه در سطوح مختلف صفر تا 16 درصد (حجمی/حجمی) جایگزین ناتراوه یا رتنتیت[5] گردید. پس از افزودن اینولین در سطوح صفر تا 2 درصد، مخلوط در فشار 70 بار با استفاده از دستگاه هموژنایزر (Ronghemachinary، مدل JHG-Q60-P60، ساخت چین) هموژن و در دمای 75 درجهٔ سانتی‌گراد به مدت 15 ثانیه پاستوریزه شد. در ادامه استارتر پنیر و پروبیوتیک (هرکدام 0/05 گرم به‌ازای هر کیلوگرم ناتراوه) با مقدار کمی آب استریل با دمای 30 درجهٔ سانتی‌گراد حل و به ناتراوه اضافه شد. تیمار آنزیمی ترانس‌گلوتامیناز در سطوح صفر تا 1 درصد (به‌ازای هر کیلوگرم ناتراوه) هم‌زمان با افزودن رنین (0/03 گرم بر کیلوگرم ناتراوه) انجام گرفت. پس از قرارگرفتن ناتراوه در ظروف پنیر 200 گرمی، بسته‌ها وارد تونل انعقاد با دمای 30-31 درجهٔ سانتی‌گراد شدند و پس از خروج از تونل و انعقاد پنیر، مقدار 2 درصد نمک طعام (وزنی/وزنی) به آن افزوده شد. سپس روی سطح پنیر کاغذ مقاوم به چربی پارچمنت[6] گذاشته شد و درب‌بندی با فویل آلومینیوم انجام پذیرفت. در پایان بسته‌های پنیر وارد گرم‌خانه با دمای 27-25 درجهٔ سانتی‌گراد شدند و پس از 24-18 ساعت که pH نمونه‌ها به زیر 4/8 رسید، به سردخانه با دمای 5 درجهٔ سانتی‌گراد منتقل شدند. تمامی آزمون‌های پنیر پس از 2 ماه نگهداری نمونه‌ها در یخچال انجام شد.

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

تمامی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی شیر و پنیر با استفاده از روش استاندارد AOAC (2000) اندازه‌گیری شدند. محتوای مادهٔ خشک شیر و پنیر به‌وسیلهٔ آون تحت‌خلأ و تا رسیدن به وزن ثابت محاسبه گردید. چربی به‌روش ژربر پروتئین توسط روش کلدال (حاصلضرب مقدار نیتروژن اندازه‌گیری‌شده در فاکتور 6/38) تعیین شد.

آزمون حسی

ویژگی‌های حسی نظیر رنگ و ظاهر، عطروطعم، بافت و قوام و پذیرش کلی توسط 10 نفر ارزیاب مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها ازطریق یک آزمون هدونیک 9 نقطه‌ای با یکدیگر مقایسه شدند. قبل از ارزیابی، نمونه‌ها به مدت 30 دقیقه از

[1] *Lactococcus Lactis Ssp. Cremoris*
[2] *Lactococcus Lactis Ssp. Lactis*
[3] *Lactobacillus Acidophilus*
[4] Demineralized Whey Powder
[5] Retentate
[6] Parchment

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، 25 گرم پنیر به 225 میلی‌لیتر آب‌پپتونه (Acumedia Manufacturers، ساخت آمریکا) جهت تهیهٔ رقت 0/1 درصد (حجمی/وزنی) افزوده شد و رقت‌های لازم از آن تهیه گردید. برای کشت *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* از محیط‌کشت MRS آگار (Merck، ساخت آلمان) و 0/15 درصد نمک صفرا (Merck، ساخت آلمان) استفاده شد. کشت به روش پورپلیت انجام شد و پلیت‌ها در دمای 37 درجهٔ سانتی‌گراد برای مدت 72 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 5 تکرار در نقطهٔ مرکزی طرح، جهت یافتن اثر متغیرهای مستقل (X_1، غلظت آنزیم ترانس‌گلوتامیناز؛ X_2، میزان جایگزینی با محلول 34 درصد آب‌پنیر دمینرالیه و X_3، غلظت اینولین) بر برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، حسی و میکروبی پنیر فراپالودهٔ سین‌بیوتیک مورد استفاده قرار گرفت. داده‌های به‌دست‌آمده در این طرح با استفاده از نرم‌افزار Design Expert نسخهٔ 10 مدل‌سازی شد و منحنی‌های سه‌بُعدی سطح پاسخ جهت بررسی رابطهٔ میان پاسخ‌ها و متغیرهای مستقل رسم شد. سطوح متغیرها به‌صورت واقعی و کدشده در جدول (1) ارائه شده است. با کاربرد آنالیز رگرسیون، شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده در قالب یک چندجمله‌ای درجه‌دوم طبق رابطهٔ (1) مدل‌سازی شدند و معنی‌داری ضرایب مدل با استفاده از آنالیز واریانس برای هر پاسخ تعیین شد.

رابطهٔ (1)

$$Y= \beta_0+ \beta_1X_1+ \beta_2X_2+ \beta_3X_3+ \beta_{11}X_1^2+ \beta_{22}X_2^2+ \beta_{33}X_3^2+ \beta_{12}X_1X_2+ \beta_{13}X_1X_3+ \beta_{23}X_2X_3$$

در رابطهٔ (1)، y پاسخ‌های مختلف و β_0 ضرایب ثابت مدل‌هاست. (β_1، β_2 و β_3)، (β_{11}، β_{22} و β_{33}) و (β_{12}، β_{13} و β_{23}) به‌ترتیب نشان‌دهندهٔ اثر خطی، درجه‌دوم و برهم‌کنش مدل پیشنهادی به‌وسیلهٔ آنالیز چندگانهٔ رگرسیون می‌باشد.

جدول 1- سطوح و کدهای هریک از متغیرهای مستقل در طراحی سطح پاسخ

متغیر مستقل	نماد ریاضی	کد و سطح مربوطه		
		پایین (-1)	میانی (0)	بالا (+1)
غلظت آنزیم ترانس‌گلوتامیناز	X_1	0	0/5	1
میزان جایگزینی ناتراوه با محلول آب‌پنیر	X_2	0	8	16
غلظت اینولین	X_3	0	1	2

نتایج و بحث

خصوصیات فیزیکوشیمیایی

اسیدیته

همان‌طورکه در جدول (2) مشاهده می‌شود، در میان اثرات اصلی، درجه‌دوم و متقابل متغیرهای موردآزمایش، تنها اثرات خطی و درجه‌دوم اینولین بر اسیدیتهٔ نمونه‌ها معنی‌دار گردید. نتایج نشان داد افزودن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز یا افزایش جایگزینی ناتراوه با محلول پودر آب‌پنیر تأثیر معنی‌داری بر اسیدیتهٔ نمونه‌های پنیر ندارد اما افزودن اینولین سبب افزایش قابل‌توجه اسیدیته می‌گردد ($P<0/05$). در مطابقت با نتایج این تحقیق، Farnsworth، Li، Hendricks و Guo (2006)، تفاوت معنی‌داری بین اسیدیتهٔ نمونهٔ تیمارشده با آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و نمونهٔ شاهد مشاهده نکردند. همانند نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش، Cardarelli، Buriti، Castro و Saad (2008) با افزودن اینولین، افزایش اسیدیته را در پنیر سوئیسی گزارش نمودند. به‌نظر 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). باتوجه‌به نتایج آنالیز واریانس، مدل نهایی توضیح‌دهندهٔ تغییرات اسیدیته براساس اجزای فرمولاسیون (رابطهٔ 2) تعیین شد.

رابطهٔ (2)

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

در رابطهٔ (2)، Y اسیدیته و X_3 غلظت پودر اینولین می‌باشد.

جدول 2 - مقادیر معنی‌داری (شاخص *P*) خواص فیزیکوشیمیایی پنیر سفید ایرانی فراپالودهٔ سین‌بیوتیک

منابع متغیر	اسیدیته	رطوبت	پروتئین	چربی
مدل	0/0277*	0/0016**	0/0125*	0/0047**
رگرسیون خطی				
X_1	0/0582 ns	0/0069**	0/1329ns	0/8399ns
X_2	0/0503 ns	0/5491ns	0/0038**	0/0009***
X_3	0/0427*	0/0284*	0/5315ns	0/2558ns
برهم‌کنش				
X_1X_2	0/0688ns	0/7900ns	0/0085**	0/2795ns
X_1X_3	0/4347ns	0/3403ns	0/8025ns	0/7691ns
X_2X_3	0/2589ns	0/9581ns	1/0000ns	0/7757ns
درجه‌دوم				
X_1^2	0/3977ns	0/5349ns	0/3219ns	0/0054**
X_2^2	0/3977ns	0/4321ns	0/0052**	0/0093**
X_3^2	0/0087**	0/2516ns	0/0268*	0/0011**
عدم برازش	0/106ns	0/0816ns	0/112ns	0/137ns
R^2	0/92	0/89	0/96	0/98
R^2-adjust	0/88	0/81	0/93	0/93
ضریب پراکندگی	4/58	1/54	3/27	5/21

X1، X2 و X3 به‌ترتیب نشان‌دهندهٔ متغیرهای مستقل غلظت‌های آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، محلول پودر آب‌پنیر و اینولین می‌باشند.
*، ** و ns، به‌ترتیب معنی‌داری در سطح 5 درصد، 1 درصد و عدم تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد.

رطوبت

نتایج آنالیز واریانس بررسی ویژگی رطوبت نمونه‌های پنیر نشان داد که اثرات خطی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز ($P<0/05$) و نیز اینولین ($P<0/01$) بر رطوبت نمونه‌های پنیر معنی‌دار شدند. براساس نتایج به‌دست‌آمده، افزودن آنزیم سبب افزایش رطوبت نمونه‌ها گردید. آنزیم ترانس‌گلوتامیناز با ایجاد اتصالات عرضی کووالانسی، شبکهٔ کازئینی را پایدار می‌کند و با افزایش نگهداری آب‌پنیر در درون دلمه، میزان آب‌اندازی آن را کاهش می‌دهد. همچنین با ایجاد پیوندهای ایزوپپتیدی حجم آزاد درون ماتریکس پروتئینی را افزایش می‌دهد که منجربه نگهداری آب‌پنیر می‌شود (Pierro *et al.*, 2010). Jaros، Partschefeld، Henle و Rohm (2006) بیان کردند آنزیم ترانس‌گلوتامیناز با پلیمریزاسیون پروتئین‌های شیر موجب افزایش ظرفیت نگهداری آب می‌شود. در پژوهشی دیگر Kuraishi، Yamazaki و Susa (2001) بیان داشتند که تیمار آنزیمی ترانس‌گلوتامیناز شیر می‌تواند سبب افزایش ظرفیت نگهداری آب در دلمه و جلوگیری از سینرزیس یا آب‌اندازی دلمه شود.

همچنین افزودن اینولین سبب کاهش رطوبت پنیر گردید. در تطابق با نتایج این تحقیق، Alves و همکاران (2013) بیان کردند که با افزایش اینولین در نمونه‌های پنیر خامه‌ای سین‌بیوتیک، رطوبت پنیر کاهش یافت. این محققین دلیل کاهش رطوبت پنیر را به افزایش محتوای مادهٔ خشک کل در اثر استفاده از ترکیبات پری‌بیوتیکی نسبت دادند. نتایج مشابهی توسط Akalın، Tokuşoğlu، Gönç و Aycan (2007) و Guggisberg، Cuthbert-Steven، Piccinali، Bütikofer و Eberhard (2009) در ماست غنی‌شده با اینولین گزارش شده است.

در مجموع، نمونهٔ فاقد اینولین و حاوی 1 درصد آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بیشترین میزان رطوبت را دارا بود. رابطهٔ (3)، مدل نهایی به‌دست‌آمده برای توضیح تغییرات رطوبت پنیر سین‌بیوتیک براساس اجزای فرمولاسیون را نشان می‌دهد.

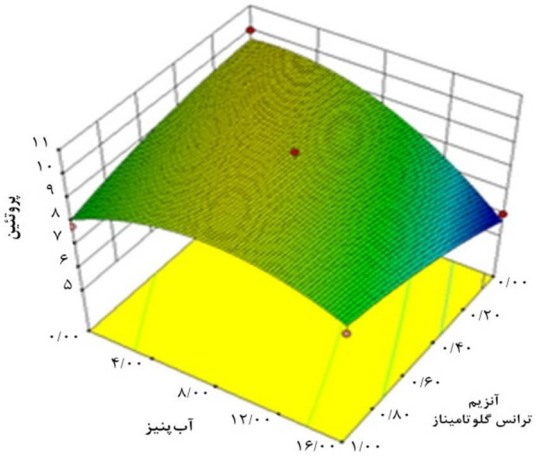
رابطهٔ (3)

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

در رابطهٔ (3)، Y رطوبت، X_1 آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و X_3 اینولین می‌باشند.

پروتئین

نتایج بررسی ویژگی پروتئین نشان داد که اثر خطی محلول پودر آب‌پنیر ($P<0/01$)، اثر متقابل آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و محلول پودر آب‌پنیر ($P<0/01$) و نیز اثرات درجه‌دوم آب‌پنیر ($P<0/01$) و اینولین ($P<0/05$) معنی‌دار شدند. نتایج نشان داد که در سطوح بالای جایگزینی با محلول آب‌پنیر دمینرالیه، مقدار پروتئین دلمه کاهش معنی‌داری یافت (جدول 2 و شکل 1).



شکل 1- نمودار رویه سه‌بُعدی برهم‌کنش سطوح مختلف آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و محلول پودر آب‌پنیر بر پروتئین پنیر فراپالودهٔ سین‌بیوتیک

در این میان، مقدار پروتئین نمونه‌های پنیر با افزایش مقادیر آنزیم و اینولین نیز کاهش یافت، اما این تغییرات معنی‌دار نگردید ($P>0/05$). همان‌طورکه در شکل (1) مشاهده می‌شود، در مقادیر پایین محلول پودر آب‌پنیر (0 درصد)، با افزایش آنزیم ترانس‌گلوتامیناز مقدار پروتئین کاهش می‌یابد که دلیل آن احتمالاً بالاتربودن آب دلمه یا به‌عبارتی کاهش سینرزیس در دلمه می‌باشد. در واقع آنزیم ترانس‌گلوتامیناز با ایجاد اتصالات عرضی بین پروتئین‌های شیر یک شبکهٔ پایدار پروتئینی ایجاد می‌کند و با حفظ مقدار بیشتری از رطوبت، سهم پروتئین در دلمه را کاهش می‌دهد (دانش و همکاران، 1396b). منطبق با این نتایج، Kaminarides (2015) و Madureira، Pintado، Gomes، Pintado و Malcata (2011) و گزارش نمودند که با افزودن ترکیبات آب‌پنیر (به‌صورت تغلیظ‌شده یا شیرین) به فرمولاسیون پنیر، مقدار پروتئین محصول کاهش می‌یابد. علت کاهش مقدار پروتئین پنیر درنتیجهٔ افزایش جایگزینی محلول حاوی پودر آب‌پنیر دمینرالیه با ناتراوه می‌تواند به‌دلیل پایین‌تربودن مقدار پروتئین به‌ویژه کازئین در محلول آب‌پنیر در مقایسه با ناتراوه و همچنین نقش کمتر آن در تشکیل شبکهٔ کازئینی پنیر باشد. مطابق مطالعه‌ها Jooyandeh و Minhas (2009)، افزایش درصد جایگزینی پروتئین آب‌پنیر تخمیری تغلیظ شده (FWPC[1]) چه قبل از تشکیل لخته و چه بعد از تشکیل لخته منجربه‌کاهش 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 شبکهٔ پروتئینی ایفا کنند. مقدار بالاتر پروتئین در سرم جداشده از نمونه‌های تولیدشدهٔ پنیر حاوی مقادیر بالای جایگزینی محلول آب‌پنیر با ناتراوه در این تحقیق می‌تواند مؤید این موضوع باشد. در تأیید این نتایج، Dybing و Smith (1998) نیز نشان دادند که افزودن محلول‌های تیمارشدهٔ پروتئین‌های آب‌پنیر سبب کاهش مقدار بازیافت پروتئین می‌شود. مدل نهایی به‌دست‌آمده برای پروتئین در رابطهٔ (4) نشان داده شده است.

رابطهٔ (4)

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

در رابطهٔ (4)، Y پروتئین، X_1 آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، X_2 میزان جایگزینی با محلول پودر آب‌پنیر دمینرال و X_3 اینولین می‌باشند.

[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. درهرحال اثر متقابل معنی‌داری میان سه متغیر موردآزمایش 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 دمینرالە مقدار چربی پنیر به شکل معنی‌داری کاهش یافت. منطبق با این نتایج Madureira و همکاران (2011) 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 پایین‌تربودن میزان چربی محلول حاوی پودر آب‌پنیر در مقایسه با ناتراوه و نیز به‌دلیل عدم تشکیل شبکهٔ سه‌بُعدی مناسب کازئین در دلمهٔ پنیر باشد (Jooyandeh, 2009). در تأیید این موضوع مشاهده شد که سرم جداشده از نمونه‌های پنیر حاوی مقادیر بالای جایگزینی محلول پودر آب‌پنیر با ناتراوه از مقدار چربی بالاتری برخوردار بودند. رابطهٔ ریاضی بین چربی و اجزای فرمولاسیون به‌صورت رابطهٔ (5) تعیین شد.

رابطهٔ (5)

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

در رابطهٔ (5)، Y چربی، X_1 آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، X_2 میزان جایگزینی با محلول پودر آب‌پنیر دمینرال و X_3 اینولین می‌باشند.

ارزیابی حسی

رنگ و ظاهر

آنالیز واریانس نتایج بررسی ویژگی رنگ نشان داد که اثر خطی محلول پودر آب‌پنیر دمینرال 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 به‌طوری که بیشترین میزان امتیاز رنگ به صفر درصد آب‌پنیر و 2 درصد اینولین اختصاص یافت. مدل نهایی به‌دست‌آمده برای رنگ و ظاهر در رابطهٔ (6) نشان داده شده است.

رابطهٔ (6)

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

در رابطهٔ (6)، Y رنگ و ظاهر، X_2 میزان جایگزینی با محلول پودر آب‌پنیر دمینرال و X_3 اینولین می‌باشند.

عطروطعم

عطروطعم از مهم‌ترین ویژگی‌های محصول در بازارپسندی آن می‌باشد. مهم‌ترین ترکیبات ایجادکنندهٔ عطروطعم پنیرها اسیدهای‌آمینهٔ 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. به‌طورکلی، با افزایش مقدار محلول پودر آب‌پنیر و اینولین کیفیت عطروطعم نمونه‌های پنیر کاهش یافت. در تطابق با نتایج این تحقیق، Kaminarides (2015) و Pinto، Rathour، Prajapati، Jana و Solanky (2007) کاهش عطروطعم را در پنیر پروسس حاوی آب‌پنیر گزارش کردند. برخلاف این نتایج، Staffolo، Bertola، Martino و Bevilacqua (2004) بهبود طعم را در نمونه‌های ماست حاوی اینولین گزارش نمودند. مدل نهایی به‌دست‌آمده برای عطروطعم در رابطهٔ (7) نشان داده شده است.

رابطهٔ (7)

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

در رابطهٔ (7)، Y عطروطعم، X_2 میزان جایگزینی با محلول پودر آب‌پنیر دمینرال و X_3 اینولین می‌باشند.

جدول 3 - مقادیر معنی‌داری (شاخص *P*) خواص حسی و میکروبی پنیر سفید ایرانی فراپالودهٔ سین‌بیوتیک

منابع متغیر	رنگ و ظاهر	عطروطعم	بافت و قوام	پذیرش کلی	*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*
مدل	0/0461*	0/0275*	0/0416*	0/0223*	0/0451*
رگرسیون خطی					
X_1	0/9462ns	0/2225ns	0/0248*	0/7721ns	0/0262*
X_2	0/0254*	0/0361*	0/0431*	0/0237*	0/0459*
X_3	0/0318*	0/0283*	0/9600 ns	0/8845ns	0/3118ns
برهمکنش					
X_1X_2	0/8425ns	0/7236ns	0/7900ns	0/4267ns	0/9225ns
X_1X_3	0/6521ns	0/9027ns	0/3403ns	0/2512ns	0/5621ns
X_2X_3	0/7824ns	0/9431ns	0/1859ns	0/8374ns	0/8824ns
درجه دوم					
X_1^2	0/6981ns	0/9220 ns	0/9435ns	0/9213ns	0/9681ns
X_2^2	0/7512ns	0/036*	0/1234ns	0/3929ns	0/8512ns
X_3^2	0/5358ns	0/9990ns	0/6157ns	0/0810*	0/3558ns
عدم برازش	0/364	0/074	0/0618	0/11ns	0/274
R^2	0/92	0/92	0/91	0/90	0/95
R^2-adjust	0/89	0/88	0/87	0/86	0/91
ضریب پراکندگی	5/58	9/84	5/54	7/45	6/58

X1، X2 و X3 به‌ترتیب نشان‌دهندهٔ متغیرهای مستقل غلظت‌های آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، محلول پودر آب‌پنیر و اینولین می‌باشند.

*، ** و ns، به‌ترتیب معنی‌داری در سطح 5 درصد، 1 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 آب‌پنیر دمینرال و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز (P<0/05) معنی‌دار شد و اثرات درجه‌دوم و متقابل معنی‌دار نگردید. براساس نتایج به‌دست‌آمده، با افزایش غلظت آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و همچنین محلول پودر آب‌پنیر، امتیاز بافت و قوام به‌طور معنی‌داری کاهش یافت؛ به‌طوری‌که کمترین امتیاز بافت و قوام مربوط به نمونهٔ حاوی 1 درصد آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی و 16 درصد جایگزینی با محلول حاوی پودر آب‌پنیر دمینرال بود. نتایج این تحقیق نشان داد هرچند استفاده از آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی سبب افزایش رطوبت پنیر گردید، در سطوح بالا و نزدیک به غلظت 1 درصد باعث سفت‌ترشدن بافت پنیر شد. علت افزایش سفتی پنیر باوجود افزایش رطوبت نمونه‌ها احتمالاً به‌دلیل افزایش اتصالات بیش از حد درون و برون مولکولی شبکهٔ کازئینی است (Imm, Lian, & Lee, 2000). رابطهٔ ریاضی بین بافت و قوام و اجزای فرمولاسیون به‌صورت رابطهٔ (8) تعیین شد.

رابطهٔ (8)

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

در رابطهٔ (8)، Y بافت و قوام، X_1 آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و X_2 میزان جایگزینی با محلول پودر آب‌پنیر دمینرال می‌باشند.

پذیرش کلی

آنالیز واریانس نتایج بررسی پذیرش کلی نشان داد که اثر خطی محلول پودر آب‌پنیر و اثر درجه‌دوم اینولین (P<0/05) معنی‌دار شد. با افزایش جایگزینی محلول 34 درصد آب‌پنیر با ناتراوه، امتیاز پذیرش کلی نمونه‌های پنیر کاهش یافت و این کاهش در مقادیر بالای اینولین مشهودتر بود. این نتایج، باتوجه‌به اثر معنی‌دار و منفی آب‌پنیر بر رنگ، عطروطعم و بافت قابل توجیه است. رابطهٔ ریاضی بین پذیرش کلی و اجزای فرمولاسیون به‌صورت رابطهٔ (9) تعیین شد.

رابطهٔ (9)

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

در رابطهٔ (9)، Y پذیرش کلی، X_2 میزان جایگزینی با محلول پودر آب‌پنیر دمینرال و X_3 اینولین می‌باشند.

شمارش باکتری‌های پروبیوتیک

نتایج تجزیهٔ واریانس بررسی ویژگی شمارش پروبیوتیکی نشان داد که اثر خطی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و محلول پودر آب‌پنیر معنی‌دار شد ($P<0/05$) اما اثر خطی اینولین و تمامی اثرات متقابل و درجه‌دوم متغیرها معنی‌دار نبودند. با افزایش غلظت آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، میزان زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به شکل معنی‌داری کاهش یافت. در تأیید نتایج این تحقیق، بسیاری از محققین به کاهش فعالیت باکتری‌های آغازگر یا باکتری‌های پروبیوتیک در حضور آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی در محصولات لبنی نظیر پنیر (Dmytrów, Jasinska, & Dmytrów, 2010)، ماست (Neve, Lorenzen, Mautner, Schlimme, & Heller, 2001) و کفیر (Temiz & Dağyıldız, 2017) اشاره نموده‌اند. برخلاف نتایج این تحقیق، Farnsworth و همکاران (2006) و Pavunc و همکاران (2011) تفاوت معنی‌داری بین زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک نمونهٔ تیمارشده با آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و نمونهٔ شاهد مشاهده نکردند. افزایش تعداد باکتری‌های پروبیوتیک درنتیجهٔ افزودن محلول پودر آب‌پنیر نیز بیانگر اثر مثبت ترکیبات آب‌پنیر بر رشد باکتری‌های پروبیوتیک بود (Lorenzen, Neve, Mautner, & Schlimme, 2002). در تأیید این نتایج، Antunes، Antunes و Cardello (2004) و Kailasapathy و Supriadi (1998) به اثر پری‌بیوتیکی ترکیبات آب‌پنیر اشاره نموده‌اند.

باوجود اثر منفی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بر زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، نتایج این تحقیق بیانگر تعداد قابل‌توجه و قابل‌قبول باکتری‌های پروبیوتیک (بیش از 10^6 لگاریتم واحد کلنی در گرم، مطابق با استاندارد کدکس (Codex Alimentarius Commission, 2003) در نمونهٔ بهینهٔ پنیر فراپالوده بود. در مطابقت با نتایج این پژوهش، Radošević، Tonković، Gregurek، Kos و Šušković (2007) نیز با بررسی زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در پنیر تازه حاوی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بیان کردند که تعداد سلول‌ها بعد از 10 روز نگهداری در دمای 10 درجهٔ سانتی‌گراد بالاتر از حداقل مقدار موردنیاز برای محصولات پروبیوتیک (5×10^6 لگاریتم واحد کلنی در گرم) بوده است. مدل نهایی به‌دست‌آمده برای آزمون میکروبی در رابطهٔ (10) نشان داده شده است.

رابطهٔ (10)

$$Y = +7.36454 - 1.22713X$$

بهینه‌یابی

شرایط عملیاتی بهینه برای فرمولاسیون پنیر فراپالودهٔ سین‌بیوتیک با استفاده از متغیرهای مستقل غلظت آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، غلظت محلول پودر آب‌پنیر و غلظت اینولین بر پارامترهای مورد اندازه‌گیری با استفاده از تکنیک بهینه‌یابی عددی نرم‌افزار Design Expert انجام شد. برای‌این‌منظور مقدار پروتئین، چربی و پذیرش کلی در بیشینه و مقدار رطوبت و اسیدیته در کمینه و همچنین متغیرهای مستقل در محدودهٔ موردمطالعه انتخاب شدند. براساس نتایج به‌دست‌آمده، نمونهٔ بهینه با استفاده از مقادیر 0/43 واحد آنزیم به‌ازای هر گرم پروتئین، 8/24 درصد محلول پودر آب‌پنیر دمینرال و 0/71 درصد اینولین تعیین گردید. برای اعتبارسنجی مدل، آزمایش‌ها تحت شرایط بهینه انجام شد که نتایج آن در جدول (4) ارائه شده است. نتایج حاصل از آزمایش‌های تجربی، بیانگر نزدیکی آنها با نتایج حاصل از پیش‌بینی مدل و نشان‌دهندهٔ کارایی بالای مدل در پیش‌بینی نتایج پژوهش است.

جدول 4 مقایسهٔ نتایج حاصل از آزمایش و نتایج پیش‌بینی‌شده نمونهٔ بهینهٔ پنیر فراپالوده

	پروتئین (درصد)	چربی (درصد)	رطوبت (درصد)	اسیدیته (°D*)	*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*	پذیرش کلی
نتایج پیش‌بینی	10/21	14/10	66/29	92/55	6/96	7/76
نتایج آزمایشی	10/00±0/46	14/43 ±0/33	66/86±0/72	93/60±2/34	7/12 ±0/19	8/20±0/79

* اسیدیته برحسب درجهٔ دورنیک

نتیجه‌گیری

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 دمینراله با ناتراوه تأثیر معنی‌داری نداشت. افزایش جایگزینی محلول پودر آب‌پنیر تا مقادیر 8 درصد، امتیاز عطروطعم را افزایش داد اما در مقادیر بالاتر جایگزینی به‌دلیل کاهش قابل‌توجه چربی و پروتئین پنیر، عطروطعم و درنتیجه پذیرش کلی محصول کاهش یافت. همچنین، با افزایش اینولین امتیاز عطروطعم 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 0/43 واحد آنزیم ترانس‌گلوتامیناز به‌ازای هر گرم پروتئین، 8/24 درصد جایگزینی محلول پودر آب‌پنیر دمینراله و 0/71 درصد اینولین، می‌توان محصولی سین‌بیوتیک با خواص تغذیه‌ای بالا و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی قابل‌قبول تولید کرد. در این شرایط رطوبت 66/29 درصد، پروتئین 10/21 درصد، چربی 14/10 درصد، اسیدیته 92/55 درجهٔ دورنیک، پذیرش کلی 7/76 و شمارش *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* 6/96 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 2 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.

منابع

جیرسرایی، ب.، پوراحمد، ر. و فدایی نوغانی، و. (1395). اثر اینولین و لاکتولوز بر زنده مانی لاکتوباسیلوس کازئی و ویژگی های فیزیکوشیمیایی و حسی پنیر فتای فراپالایش پروبیوتیک. *علوم غذایی و تغذیه*، 14(1 (پیاپی 53))، 35-46 .

دانش، ع.، جوینده، ح. و گودرزی، م. (1396a). بهبود ویژگی های رئولوژیکی پنیر سفید ایرانی کم چرب فراپالوده از طریق تلفیق پروتئین های تغلیظ شده آب پنیر و تیمار آنزیمی ترانس گلوتامیناز. *مجله علوم و صنایع غذایی*، 14(67)، 285-298 .

دانش، ع.، جوینده، ح. و گودرزی، م. (1396b). تاثیر تیمار ترانس گلوتامیناز بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی، رئولوژیکی و ارگانولپتیکی پنیر فراپالوده کم چرب تلفیق شده با پروتئین های آب پنیر طی دوره انبارمانی. *علوم غذایی و تغذیه*، 14(4 (پیاپی 56))، 25-36 .

Akalın, A., Tokuşoğlu, Ö., Gönç, S., & Aycan, Ş. (2007). Occurrence of conjugated linoleic acid in probiotic yoghurts 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 Sandard 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

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

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

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

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 Torabi[1], Hossein Jooyandeh[2*], Mohammad Noshad[3], Hassan Barzegar[2]

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 symbiotic 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 symbiotic 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