14(1) 479-486, Spring 2022

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

The study of different somatic cell counts levels on lipolysis process of white brine cheese

Hamed Zarei [1*], Alir Reza Shahab Lavasani [2]

[1] *Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*
[2] *Department of Food Science and Industry, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran*

Key Words
White brine cheese
Mastitis
Somatic cells
Free fatty acids
Lipolysis
Sensory evaluation

Abstract

Introduction: Somatic cell contains plasmin enzyme which hydrolyses milk protein; Therefore, a large amount of milk is removed during cheese making and the cheese production efficiency is reduced. So, the aim of this study was to estimate the changes of ripening with the attention to lipolysis process by monitoring the releasing of free fatty acids during ripening period.

Materials & Methods: Three levels of somatic cell count in milk were classified as follows: Treatment 1: low somatic cell count in milk (0.7×10^5) cell/ml as control sample. Treatment 2: medium somatic cell counts in milk (4.5×10^5) cell/ml Treatment 3: high somatic cell counts in milk (1.2×10^6) cell/ml. The profile of free fatty acids was obtained by GC method.

Results: All free fatty acid including short chain free fatty acid (SCFFA) and long chain free fatty acids (LCFFA) increased during 65 days of ripening period. Oleic and palmitic fatty acids were predominant on the fifth day of the ripening period. However, treatment 3 on days 35 and 65 of the ripening period of white brine cheeses had the highest amount of oleic and palmitic acids.

Conclusion: According to the results, treatment 1 was introduced as the best treatment.

* Corresponding Author's email: zarei1361@yahoo.com
Received: 26 November 2020; Reviewed: 27 December 2020; Revised: 26 February 2021; Accepted: 4 April 2021
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.265440.2440

مقاله پژوهشی

بررسی تاثیرسطوح مختلف سلول‌های سوماتیک بر فرایند لیپولیز پنیر سفید آب نمکی

حامد زارعی[1]، علیرضا شهاب‌لواسانی[2]*

[1] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

[2] گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

کلمات کلیدی

پنیر سفید آب نمکی
ورم پستان
سلول سوماتیک
لیپولیز
اسیدهای چرب آزاد

چکیده

مقدمه: شیرهای ورم پستانی به‌دلیل داشتن سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک بر کیفیت و ماندگاری محصولات شیری تاثیر مهمی می‌گذارد. در این پژوهش تاثیرات سلول‌های سوماتیک بر فرایند لیپولیز پنیر سفید آب نمکی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: ابتدا شیر خام گاو دارای سه سطح از سلول‌های سوماتیک کم ($۰/۷ \times ۱۰^{۳}$)، متوسط ($٤/٥ \times ۱۰^{۳}$) و زیاد ($۱/۲ \times ۱۰^{٦}$) تهیه شد سپس نمونه‌های پنیر با سطوح مختلف سلول سوماتیک طی روزهای مشخص از دوره رسیدن ٥، ۳٥ و ٦٥ مورد ارزیابی اسیدهای چرب آزاد قرار گرفتند.

نتایج: میزان اسیدهای چرب آزاد کل با زمان رابطه مستقیم و با تعداد سلول‌های سوماتیک رابطه مستقیمی وجود نداشت. در میان اسیدهای چرب کوتاه زنجیره اسیدبوتیریک و اسیدکاپریلیک با گذشت زمان افزایش پیدا کرد. در میان اسیدهای چرب زنجیره‌بلند تیمار شاهد و تیمار با سلول سوماتیک متوسط ابتدا اسید اولئیک ($C_{18:1}$) سپس اسید پالمیتیک ($C_{16:0}$) غالب بوده و اسیدهای چرب فرار در تیمارها در طی دوره رسیدن افزایش نشان دادند.

بحث و نتیجه‌گیری: میزان سلول سوماتیک بر سطح اسیدهای چرب آزاد تاثیرات متفاوتی داشت و با گذشت زمان اسیدهای چرب آزاد کل افزایش یافت.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: zarei1361@yahoo.com

تاریخ دریافت: ٦ آذر ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۷ دی ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۸ اسفند ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش ۱۵ فروردین ۱۴۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.265440.2440

مقدمه

مهم‌ترین و شایع‌ترین بیماری که گله گاوهای شیری در سراسر دنیا بدان مبتلا می‌شوند، ورم پستان (Mastitis) است. این بیماری ویژگی‌های شیر و فراورده‌های آن را تا حد زیادی تحت تاثیر قرار می‌دهد. مهم‌ترین تغییراتی که در ترکیب شیر مبتلایان به ورم پستان ایجاد می‌شود عبارت است از تغییر رنگ، وجود لخته و پیدایش تعداد زیادی لوکوسیت (گلبول سفید). تعداد سلول‌های سوماتیک، یکی از شاخص‌های مهم ارزیابی کیفیت و سلامت شیر است و به‌منظور قیمت گذاری شیر خام از آن استفاده می‌شود. تمام شیرهای دوشیده شده دارای تعدادی سلول سوماتیک هستند. این سلول‌ها از نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها و ماکروفاژها تشکیل شده‌اند (۱). عفونت باکتریایی در گاو، صدمه‌دیدگی بافت‌ها یا سایر عواملی که منجر به التهاب یا تورم پستان می‌گردد، سبب افزایش انتقال گلبول‌های سفید خون به غدد پستانی و در نتیجه بالا رفتن تعداد سلول‌های سوماتیک در شیر می‌شوند، با افزایش تعداد این سلول‌ها در شیر، کیفیت فراوری و راندمان تولید بعضی محصولات لبنی، به‌دلیل افزایش تغییرات در ترکیبات شیر، کاهش می‌یابد، به‌طوری که کاهش لاکتوز، چربی و کازئین موجود در شیر و در نتیجه پروتئولیز و لیپولیز حاصل از آنزیم‌های سلول‌های سوماتیک سبب کاهش راندمان و سایر ویژگی‌های مورد نظر در تولید بعضی از فراورده‌های شیری نظیر پنیر گردیده است (۱). متوسط هزینه سالانه ورم پستان ایجاد شده به‌وسیله استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*)، استرپتوکوکوس آگالاکتیه (*Streptococcus agalactiae*)، اشریشیا کلی (*Esherichia coli*) و استرپتوکوکوس یوبریس (*Streptococcus uberis*)، ۴/۸۹۶ یورو در یک گله ۱۰۰ راسی گاو شیری می‌باشد(۲). با در نظر گرفتن کنترل کیفیت، افزایش تعداد سلول‌های سوماتیک در شیر شاخص اصلی شناسایی و تشخیص بیماری‌های ورم پستان می‌باشد (۳). پاسخ ایمنی میزبان نسبت به پاتوژن‌ها بسته به نوع گونه بیماری‌زا متفاوت می‌باشد. در حقیقت پاتوژن‌های مختلف می‌توانند نشانه‌های گوناگونی را ایجاد کنند که این نشانه‌ها به انواع مختلف بیماری ورم پستان مرتبط می‌باشد. افزایش تعداد سلول‌های سوماتیک شیر به‌طور معمول با کاهش بهره شیر در ارتباط است (۴). کاهش در بهره شیر گاو حداقل یک هفته قبل از تشخیص بیماری ورم پستان، گزارش شد (۵). در گاو، افت بهره شیر با توجه به گونه بیماری‌زا متغیر می‌باشد. گونه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، آرکانوباکتریوم پیوژنس (*Arcanobacterium pyogenes*)، اشریشیاکلی و کلبسیلا باعث بیش‌ترین مقدار افت شیر شده‌اند. افت شیر تا ۷۰ روز پس از تشخیص استرپتوکوکوس، کلبسیلا و آرکانو باکتریوم پیوژنس ادامه دارد (۶). از آن‌جایی که با فرایندهای حرارتی که امروزه مورد استفاده قرار می‌گیرد نمی‌توان آنزیم‌های تولیدشده در اثر این بیماری را غیرفعال نمود، لذا در اثر حضور و فعالیت آن در شیر خام کیفیت و ماندگاری فراورده‌های شیری را تحت تاثیر قرار می‌دهد. این آنزیم‌ها از طریق هیدرولیز کازئین، تاثیر به‌سزایی در افت بهره پنیرسازی می‌شود. هم‌چنین بیماری ورم پستان مشکلات نهان دیگری ازجمله کاهش ارزش تغذیه‌ای، حضور بقایای آنتی‌بیوتیکی، افزایش بار میکروبی را به‌دنبال دارد. هم‌چنین خسارات اقتصادی فراوانی نیز برای تولیدکنندگان شیر شامل کاهش تولید، افزایش شیر دور ریز، هزینه‌های مربوط به جایگزینی دام، دارو و درمان و خدمات پزشکی به‌دنبال دارد. کاهش در غلظت چربی شیر در بیماری ورم پستان به دلیل کاهش ظرفیت ترشحی و تولید غدد پستانی قابل انتظار است (۷). از آن‌جایی که فرآورده‌های لبنی در زمره پرمصرف‌ترین محصولات حاوی جایگزین‌های چربی قرار دارند (۸)، افزایش در میزان اسیدهای چرب آزاد در شیر گاو ورم پستانی مشاهده شده است که این ممکن است به‌دلیل تغییر غشاء گلبول چربی شیر به‌وسیله لیپاز لوکوسیت و یا به‌وسیله پلاسمین از طریق هیدرولیز لیپوپروتئین‌ها باشد که هر دو عامل باعث افزایش شدت لیپولیز می‌گردند. با این وجود، نتایج با در نظر گرفتن فعالیت لیپاز لیپوپروتئینی در شیر ورم پستانی نیز در تناقض است. بسیاری از محققان بر این باورند که فعالیت لیپاز لیپو پروتئینی در بیماری ورم پستان نیز افزایش می‌یابد (۹). درحالی‌که برخی از محققان گزارش داده‌اند که فعالیت لیپاز لیپوپروتئینی کاهش می‌یابد(۱۰). هم‌چنین برخی از محققان نیز گزارش داده‌اند که تفاوت معنی‌داری در فعالیت لیپاز لیپوپروتئینی مشاهده نشده است (۱۱). نتایج تحقیقات محققین نشان می‌دهد که رابطه معنی‌داری بین افزایش سلول‌های سوماتیک با افزایش لیپولیز در شیر و تبدیل شدن گلبول‌های چربی به اسیدهای چرب آزاد و در نتیجه ایجاد بوی بد و کاهش ماندگاری در فراورده های شیری وجود دارد. در ایران پنیر سفید آب نمکی جز اصلی رژیم غذایی می‌باشد که سرانه مصرف آن ۵/۴ کیلوگرم برای هر فرد در سال است و یکی از منابع مهم غنی از کلسیم و پروتئین به‌شمار می‌رود. لذا بررسی تاثیرات سلول‌های سوماتیک بر لیپولیز و ماندگاری و ویژگی‌های حسی پنیرهای تولید شده مهم می‌باشد. با توجه به شرایط اقلیمی و منطقه‌ای، ایران دارای سرانه تولید شیر و فراورده‌های لبنی و سرانه مصرف آن در سطح کشور پایین‌تر از استانداردهای بین‌المللی است، با بررسی عواملی که سبب کاهش یافتن دور ریز شیر و یا بررسی استفاده از شیرهای ورم پستانی و در فراورده‌هایی مانند پنیر که منبع پروتئینی غنی و ارزان‌تری نسبت به گوشت می‌باشد، باعث جلوگیری از خسارت‌های اقتصادی قابل توجه به بخش صنعت دامداری و تولیدات می‌گردد. تاثیر فرایند لیپولیز در

رسیدن پنیرهای آب نمکی بسیار حائز اهمیت است در برخی از تحقیقات به جهت کوتاه‌تر نمودن دوره رسیدن فرایند لیپولیز را با کمک آنزیم لیپاز تسریع می‌نمایند. تحقیقات نشان داد افزودن آنزیم لیپاز تا سطح ۲ درصد باعث افزایش غلظت اسیدهای چرب آزاد شد (۱۲). در تحقیق حاضر نیز تاثیر سلول‌های سوماتیک بر ترکیب اسیدهای چرب آزاد مورد مطالعه قرار گرفت. با توجه به نقش مهم آنزیم پلاسمین در فرآیند رسیدن پنیر و کمیت بالای این آنزیم در شیرهای ماستیتیس بررسی ویژگی‌های رسیدن پنیر ضروری است.از این‌رو سعی می‌شود ویژگی‌های تاثیرگذار برفرآیند آنزیماتیک رسیدن ازجمله تاثیر آنزیم‌ها بر ترکیب اسید چرب آزاد بررسی شود. از آن جایی‌که سابقه انجام این تحقیق به‌نوعی درکشور بی‌نظیر است کاملاً جدید بوده و می‌تواند به صنعت در راستای تولید پنیرهایی با کیفیت رسیدن بالا خصوصاً با استفاده از شیرهای ماستیتیس که دور ریز بالایی دارند کمک شایانی بنماید. بنابراین هدف از تحقیق حاضر بررسی تاثیر سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک بر فرایند لیپولیز پنیر سفید آب نمکی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: سه تیمار شیر خام گاوی با میزان سلول‌های سوماتیک کم ($۰/۷\times۱۰^{۵}$)، متوسط ($۴/۵\times۱۰^{۵}$) و زیاد ($۱/۲\times۱۰^{۶}$) از یک دامداری در منطقه فشافویه شهرستان ری در استان تهران تهیه شد. برای هر تیمار ۱۰ کیلوگرم شیر حاصل از دام‌های ورم پستانی درنظر گرفته شدکه در ظرف‌های استریل دربدار جمع‌آوری و تحت شرایط نگه‌داری به‌صورت خنک به‌وسیله نقلیه یخچال‌دار به آزمایشگاه تحقیق و توسعه شرکت پگاه تهران منتقل شد. در حین جمع‌آوری نمونه‌ها تلاش گردید تا از بروز و ایجاد هر گونه آلودگی میکروبی در نمونه‌ها جلوگیری شود (۱۳).

اندازه‌گیری آزمایشات شیمیایی: اندازه‌گیری آزمایشات شامل اندازه‌گیری درصد چربی، درصد پروتئین، درصد اسیدیته، pH، درصد ماده خشک بدون چربی مطابق استاندارد ملی ایران (۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷) صورت گرفت.

تعداد سلول‌های سوماتیک: برای شمارش سلول‌های سوماتیک شیر خام از دستگاه سوماتیک سل کانتر طبق استاندارد استفاده شد (۱۸). بدین منظور ابتدا شیر توسط بن ماری به دمای ۳۷-۳۶ درجه سانتی‌گراد رسیده سپس کارتیه‌ها با محلول آبی رنگ دای و محلول دیگری به‌نام دای‌لنت که باعث رنگ‌آمیزی DNA هسته سلول می‌شود، مخلوط می‌گردند و باعث می‌شود هسته‌ها در هنگام عبور از شکاف باریک دستگاه با تابیدن نور به‌صورت درخشان درآمده و قابلیت شناسایی را داشته باشد و به این ترتیب نور درخشان توسط دستگاه الکتریکی شناسایی شده و در هر میلی‌لیتر شمارش می‌شود. مقدار نمونه برای انجام این آزمایش برای هر کارتیه ۳۰ میلی‌لیتر می‌باشد و درکم‌تر از ۵ دقیقه نیز نتیجه به‌دست حاصل شد.برای انجام این تحقیق از سوماتیک سل کانتر Memmert آلمان استفاده شد.

تولید پنیر سفید آب نمکی در سطح آزمایشگاهی: ابتدا سه کارتیه مختلف دارای سه سطح مختلف سلول سوماتیک (بالا، متوسط و پایین) به‌میزان ده کیلو به آزمایشگاه انتقال یافت. شیرخام توسط بن ماری به دمای ۳۶ درجه سانتی‌گراد رسید و طی گذشت زمان بعد از رسیدن به pH=۶/۳ رنت با رقت ۱به ۲۵ (یعنی ۱ گرم رنت به‌ازای ۲۵ گرم شیر) افزوده شد. پس از یک ساعت نگه‌داری در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد لخته تشکیل شد سپس جهت آبگیری بریده شد. پس از آبگیری به قطعات مناسب برش داده شد و به‌مدت ۶ ساعت در آب‌نمک ۲۲٪ سپس تا پایان دوره ماندگاری در آب‌نمک ۱۲٪ قرار و در سردخانه ۴-۳ درجه سانتی‌گراد انتقال یافت.

اندازه‌گیری اسیدچرب آزاد در پنیرهای تولیدی از شیرهای حاوی سلول‌های سوماتیک: استخراج چربی‌ها در پنیر و اسیدهای چرب آزاد ایزوله شده به‌وسیله دستگاه GC مطابق روش De Jong و Bading، انجام شد(۵۰). آماده‌سازی نمونه به‌شرح ذیل می‌باشد: ابتدا ۵ گرم از پنیر با سولفات سدیم انیدرید Na_2SO_4 مخلوط شد سپس ۸ میلی‌لیتر از H_2SO_4 با غلظت ۲/۵ مولار و ۱ میلی‌لیتر از محلول استاندارد $C_{13:0}$ و $C_{17:0}$ ($0.5\ mg\ ml^{-1}$) از هر کدام) به آن اضافه شد. این مخلوط سه بار و هر بار با افزودن ۳ میلی‌گرم دی‌اتیل‌اتر/ هپتان به نسبت یک به یک (حجمی/حجمی) هم‌زده شد تا اسیدهای چرب آزاد نمونه استخراج گردد. بعد از هر استخراج محلول به‌دست آمده توسط سانتریفوژ (Beckman centrifuge, Model TJ-6 , USA) با دور PRM ۲۰۰۰ به‌مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق به دو بخش رویی و ته‌نشست تفکیک شد و حلال رویی به لوله در پیچدار شامل سولفات سدیم انهیدر Na_2SO_4 انتقال یافت. محلول استخراج شده به‌وسیله دی‌اتیل‌اتر/هپتان برای جداسازی لیپیدهای خنثی و اسیدهای چرب آزاد به پیش‌ستون MEGA BOND ELUT NH_2 با ظرفیت ۲/۵ میلی‌لیتر انتقال یافت که پیش‌ستون با ۱۰ میلی‌لیتر هپتان نرمال از قبل فعال شده بود. لیپیدهای خنثی به‌وسیله ستون حاوی ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم /۲-پروپانول به نسبت ۲ به ۱ حجمی/حجمی خارج شد و اسیدهای چرب آزاد به‌وسیله ۱۰ میلی‌لیتر دی اتیل اتر که حاوی ۲ درصد اسیدفورمیک بود خارج شد سپس اسیدهای چرب آزاد در لوله درب پیچدار جمع‌آوری شد. ۰/۱ میکرولیتر از این محلول برای اندازه‌گیری اسید چرب آزاد به دستگاه GC تزریق شد.کروماتوگرافی

گازی مدل Star 3400 (Varian, Harbor city ,CA, USA) که شامل تزریق‌کننده سرستونی، آشکارساز یونی-شعله‌ای (FID) می‌باشد. تزریق سرستونی سرد مستقیم در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲ دقیقه انجام شد. دمای تزریق‌گاه از ۶۰ به ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌ازای ۱۰ درجه در هر دقیقه افزایش یافت سپس در دمای ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۵ دقیقه نگه‌داشته شد. دمای تزریق‌گاه و آشکارساز به‌ترتیب ۲۰۰ و ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود. گاز حامل نیتروژن با خلوص ۹۹/۹٪ بود. فشار فضای بالای نمونه psig ۱۵ بود. میزان اسیدهای چرب آزاد به‌دست آمده از هر نمونه در دستگاه کروماتوگرافی تجزیه و تحلیل شد. برای هر نمونه در روزهای ۵، ۳۵ و ۶۵ به‌دست آمد حد تشخیص (LOD) و حد تعیین مقدار (LOQ) برای اسیدهای چرب مختلف به‌ترتیب ۰/۰۰۲ میکروگرم بر گرم و ۰/۰۵ میکروگرم بر گرم محاسبه شد.

آنالیز آماری: آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی می‌باشد. جهت تشخیص معنی‌دار ($P<0/05$) یا عدم معنی‌دار بودن ($P>0/05$) تیمارها از تجزیه واریانس دو طرفه استفاده شد برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج

بررسی اسیدهای چرب زنجیره کوتاه ($C_{4:0}$- $C_{6:0}$- $C_{8:0}$): مقادیر اسیدهای چرب کوتاه زنجیره در تیمارهای مختلف و در روزهای مشخص ۵، ۳۵ و ۶۵ اندازه‌گیری شد و به‌شرح جدول ۱ می‌باشد. مقدار اسیدبوتیریک ($C_{4:0}$) برحسب میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم تیمارهای مختلف در طی دوره رسیدن ۶۵ روزه از ۱/۱۵ تا ۳/۶۱ تغییر یافت. مقدار این اسید در تیمار ۲ در روز ۳۵ و ۶۵ و تیمار ۳ در روز ۵ به تیمار شاهد نزدیک‌تر بود. به‌طورکلی مقدار اسیدبوتیریک در ۳ تیمار با گذشت زمان تا روز ۶۵ افزایش پیدا کرد. مقدار اسید کاپروئیک ($C_{6:0}$) برحسب میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم تیمارهای مختلف در طی دوره رسیدن ۶۵ روزه از ۰/۹۲ تا ۴/۲۳ تغییر یافت. تیمار ۲ در روز ۵ و ۳۵ و تیمار ۳ در روز ۶۵ به نمونه شاهد نزدیک‌تر بود. طورکلی مقدار اسید کاپروئیک در سه نمونه با گذشت زمان تا روز ۳۵ افزایش پیدا کرد سپس در نمونه پنیر با سلول سوماتیک بالا از روز ۳۵ تا ۶۵ این میزان مقداری کاهش داشت. مقدار اسیدکاپریلیک ($C_{8:0}$) برحسب میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم تیمارهای مختلف در طی دوره رسیدن ۶۵ روزه از ۰/۹۱ تا ۸/۳۹ تغییر یافت. از نظر مقدار اسیدکاپریلیک تیمار ۳ در تمام روزها نسبت به تیمار شاهد نزدیک‌تر بود. به‌طورکلی مقدار اسید کاپریلیک در هر سه تیمار با گذشت زمان تا روز ۶۵ افزایش پیدا کرد.

مقایسه کلی اسیدهای چرب زنجیره بلند: مقادیر اسیدهای چرب بلند زنجیره در تیمارهای مختلف و در روزهای مشخص ۵، ۳۵ و ۶۵ اندازه‌گیری شد و به‌شرح جدول ۲ می‌باشد. مقدار پالمیتیک اسید ($C_{16:0}$) برحسب میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم تیمارهای مختلف در طی دوره رسیدن ۶۵ روزه از ۲۴/۰۷ تا ۲۹/۳۹ تغییر یافت. هم‌چنین میزان اسید پالمیتیک در تیمار ۳ در روز ۳۵ و ۶۵ و در تیمار ۲ در روز ۵ به تیمار شاهد نزدیک‌تر بود. به‌طورکلی مقدار اسیدپالمیتیک تا روز ۳۵ در تیمار ۱ و ۲ افزایش یافت ولی در تیمار ۳ کاهش یافت. از روز ۳۵ تا ۶۵ در نمونه شاهد مقدار اسیدپالمیتیک کاهش ولی در نمونه ۲ و ۳ افزایش یافت. مقدار اسیدپالمیتولئیک ($C_{16:1}$) برحسب میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم تیمارهای مختلف در طی دوره رسیدن ۶۵ روزه از ۱/۱۴ تا ۱/۵۲ تغییر یافت. هم‌چنین مقدار این اسید در تیمار ۲ در روزهای ۵ و ۳۵ و در تیمار ۳ در روز ۶۵ به تیمار شاهد نزدیک‌تر بود. به‌طورکلی مقدار اسیدپالمیتولئیک در سه نمونه با گذشت زمان تا روز ۳۵ کاهش پیدا کرد. از روز ۳۵ تا ۶۵ تنها در نمونه پنیر با سلول سوماتیک زیاد اندکی افزایش و در نمونه‌های دیگر هم‌چنان کاهش داشت. مقدار اسید استئاریک ($C_{18:0}$) برحسب میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم تیمارهای مختلف در طی دوره رسیدن ۶۵ روزه از ۴/۹۶ تا ۹/۲۰ تغییر یافت. هم‌چنین میزان این اسید در تیمار ۳ در روز ۳۵و ۶۵ و در تیمار ۲ در روز ۵ به تیمار شاهد نزدیک‌تر بود. به‌طورکلی مقدار اسیداستئاریک تا روز ۳۵ تنها تیمار ۲ افزایش پیدا کرد و در دو تیمار دیگر این میزان کاهش یافت. سپس از روز ۳۵ تا ۶۵ هر سه تیمار میزان اسیداستئاریک مجدداً افزایش پیدا کرد. مقدار اسیداولئیک ($C_{18:1}$) برحسب میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم تیمارهای مختلف در طی دوره رسیدن ۶۵ روزه از ۱۱/۴۹ تا ۳۲/۶۹ تغییر یافت. هم‌چنین میزان اسیداولئیک تیمار ۳ در مقایسه با سایر تیمارها به تیمار شاهد نزدیک‌تر بود. به طورکلی مقدار اسیداولئیک در تمام تیمارها تا روز ۳۵ به‌شدت کاهش پیدا کرد. سپس از روز ۳۵ تا ۶۵ به‌میزان اندکی افزایش یافت. مقدار اسید لینولئیک ($C_{18:2}$) برحسب میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم تیمارهای مختلف در طی دوره رسیدن ۶۵ روزه از ۰/۸۹ تا ۲/۷۹ تغییر یافت. هم‌چنین میزان اسیدلینولئیک در تیمار ۲ در تمام روزها به تیمار شاهد نزدیک‌تر بود. در نمونه پنیر با تعداد سلول سوماتیک متوسط میزان اسیدلینولئیک تا روز ۳۵ زیاد و از روز ۳۵ تا ۶۵ کاهش یافت. در پنیر با تعداد سلول سوماتیک کم و نیز با تعداد سلول سوماتیک بالا این میزان تا روز ۳۵ کاهش سپس از ۳۵ تا ۶۵ افزایش یافت.

بررسی اسیدچرب آزاد کل: مقدار اسیدچرب آزاد کلی برحسب میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم تیمارهای مختلف در طی دوره رسیدن ۶۵ روزه ۸۴/۷۰ تا ۹۶/۱۹ تغییر یافت. هم‌چنین میزان اسیدچرب آزاد کل در

تیمار ۲ در روز ۱۵ام از دوره رسیدن و تیمار ۳ در روز ۳۵ و ۶۵ به تیمار شاهد نزدیک‌تر بود. به‌طورکلی میزان اسیدچرب آزاد کل هر سه تیمار با گذشت زمان در دوره ۶۵ روزه به صورت مداوم افزایش پیدا کرده است (جدول ۳).

جدول ۱: مقادیر اسیدهای چرب زنجیر کوتاه پنیرهای * حاوی سطوح مختلف سلول سوماتیک میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم**

روز	تیمار	اسیدهای چرب آزاد زنجیر کوتاه mg/100g		
		$C_{4:0}$ (اسید بوتیریک)	$C_{6:0}$ (اسید کاپروئیک)	$C_{8:0}$ (اسید کاپریلیک)
۵	T1	۲/۰۳ ±۰/۰۲ a	۱/۷ ±۰/۰۲a	۱/۴۶ ±۰/۰۲a
	T2	۱/۱۵ ±۰/۰۲ b	۰/۹۲ ±۰/۰۶b	۰/۹۱ ±۰/۰۳b
	T3	۲/۶۶ ±۰/۰۲ c	۲/۵۲ ±۰/۰۳c	۱/۸۷ ±۰/۰۲c
۳۵	T1	۲/۵ ±۰/۰۲ d	۲/۶۲ ±۰/۰۲d	۳/۹ ±۰/۰۲d
	T2	۱/۵ ±۰/۰۱ e	۱/۵ ±۰/۰۲e	۳/۲ ±۰/۰۲e
	T3	۳/۴۷ ±۰/۰۲f	۴/۲ ±۰/۰۳f	۴/۴۲ ±۰/۰۳f
۶۵	T1	۲/۵۷ ±۰/۰۲ g	۲/۶۷ ±۰/۰۲g	۸/۹۳ ±۰/۰۲g
	T2	۱/۶۷ ±۰/۰۲ h	۱/۵۷ ±۰/۰۲h	۲/۳۰ ±۰/۰۳h
	T3	۳/۶۱ ±۰/۰۲ i	۳/۶۳ ±۰/۰۳i	۴/۵۷ ±۰/۰۲i

*: داده‌ها با توان حرفی مختلف دارای اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) می‌باشند. **: مقدار میانگین± استاندارد خطا است.

جدول ۲: مقادیر اسیدهای چرب زنجیر بلند میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم پنیرهای *حاوی سطوح مختلف سلول سوماتیک**

روز	تیمار	اسیدهای چرب آزاد بلند زنجیر mg/100g				
		$C_{16:0}$ (اسید پالمیتیک)	$C_{16:1}$ (اسید پالمیتولئیک)	$C_{18:0}$ (اسید استئاریک)	$C_{18:1}$ (اسید اولئیک)	$C_{18:2}$ (اسید لینولئیک)
۵	T1	۲۴/۰۷ ±۰/۰۲a	۱/۵۲ ±۰/۰۳ab	۷/۰۵ ±۰/۰۴a	۲۶/۳۹ ±۰/۰۳a	۲/۱۷ ±۰/۰۱a
	T2	۲۴/۴۰ ±۰/۰۲b	۱/۴۹ ±۰/۰۲a	۸/۵۶ ±۰/۰۵b	۳۲/۶۹ ±۰/۰۲b	۱/۶۰ ±۰/۰۱b
	T3	۲۷/۱۵ ±۰/۰۳c	۱/۴۷ ±۰/۰۲c	۵/۷۸ ±۰/۰۳c	۲۲/۳۷ ±۰/۰۲c	۱/۵۸ ±۰/۰۲c
۳۵	T1	۲۴/۸۳ ±۰/۰۳d	۱/۴۳ ±۰/۰۲de	۶/۰۵ ±۰/۰۵d	۱۴/۰۰ ±۰/۰۴d	۱/۲۶ ±۰/۰۲d
	T2	۲۹/۳۰ ±۰/۰۳e	۱/۴۲ ±۰/۰۳d	۸/۹۰ ±۰/۰۴e	۲۰/۱۰ ±۰/۰۳e	۲/۷۹ ±۰/۰۱e
	T3	۲۵/۴۸ ±۰/۰۲f	۱/۱۵ ±۰/۰۲f	۴/۹۶ ±۰/۰۳f	۱۱/۴۹ ±۰/۰۲f	۰/۸۹ ±۰/۰۲f
۶۵	T1	۲۴/۱۲ ±۰/۰۳g	۱/۲۵ ±۰/۰۲gh	۶/۱۸ ±۰/۰۳g	۱۴/۳۲ ±۰/۰۳g	۱/۳۵ ±۰/۰۲g
	T2	۲۹/۳۹ ±۰/۰۲h	۱/۳۳ ±۰/۰۲g	۹/۲۰ ±۰/۰۳h	۲۰/۳۱ ±۰/۰۳h	۱/۱۸ ±۰/۰۱h
	T3	۲۶/۴۵ ±۰/۰۲i	۱/۲۰ ±۰/۰۲i	۵/۱۵ ±۰/۰۳i	۱۱/۹۲ ±۰/۰۲i	۱/۱۵ ±۰/۰۲i

*: داده‌ها با توان حرفی مختلف دارای اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) می‌باشند. **: مقدار میانگین± استاندارد خطا است.

جدول ۳: تغییرات اسیدچرب آزاد کل پنیرهای حاوی سطوح مختلف سلول سوماتیک در طی دوره رسیدن برحسب میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم

روز	تیمار	اسیدهای چرب آزاد کل
۵	T1	۸۵/۷۸ ±۰/۳b
	T2	۸۶/۸۴ ±۰/۳c
	T3	۸۴/۷۰ ±۰/۲a
۳۵	T1	۹۰/۵۸ ±۰/۳f
	T2	۹۱/۰۷ ±۰/۱d
	T3	۹۰/۲۵ ±۰/۲e
۶۵	T1	۹۶/۱۹ ±۰/۲i
	T2	۹۱/۸۷ ±۰/۱g
	T3	۹۲/۹۰ ±۰/۱h

*: داده‌ها با توان حرفی مختلف دارای اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) می‌باشند. **: مقدار میانگین± استاندارد خطا است.

بحث

بررسی اسیدهای چرب زنجیره کوتاه ($C_{4:0}$- $C_{6:0}$- $C_{8:0}$):
این پژوهش نشان داد که در میان اسیدهای چرب کوتاه زنجیره ($C_{4:0}$-$C_{6:0}$-$C_{8:0}$)، اسید بوتیریک ($C_{4:0}$) و کاپریلیک ($C_{8:0}$) با گذشت زمان افزایش پیدا کردند. اگرچه اسیدکاپروئیک ($C_{6:0}$) در نمونه پنیر با سلول سوماتیک بالا تا روز ۳۵ افزایش سپس تا روز ۶۵ کاهش پیدا کرد. در تحقیقاتی مشابه نیز میزان اسیدهای چرب آزاد با گذشت زمان افزایش پیدا کرد (۱۲). علت کاهش اسید کاپروئیک ($C_{6:0}$) در این پژوهش می‌تواند ناشی از تجزیه اسیدچرب زنجیره کوتاه و تبدیل آن به ترکیبات عطری و طعمی مانند گاما و دلتالاکتون، الکل‌ها، متیل کتون‌ها و... از روز ۳۵ تا ۶۵ از دوره رسیدن باشد. افزایش فعالیت لیپولیتیکی در دوره رسیدن به افزایش محتوی اسیدهای چرب کوتاه زنجیره ارتباط مستقیم داشت. یکی از دلایل افزایش اسیدچرب کوتاه

زنجیره باکتری‌های اسیدلاکتیک غیرآغازگر (NSLAB :Non Starter Lactic Acid Bacteria) می‌تواند باشد که استرازهایی تولید می‌کند که به‌طور اختصاصی در آزادسازی اسیدهای چرب کوتاه زنجیره دخالت دارد (۲۰). میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیره تمام نمونه‌های تولید شده با شیر با سلول سوماتیک متوسط از نمونه شاهد کم‌تر بود ولی این میزان در نمونه با سلول سوماتیک بالا نسبت به تیمار شاهد بیش‌تر بود. افزایش اسیدهای چرب کوتاه زنجیره رابطه مستقیمی با گسترش عطر و طعم در پنیر دارد که آن را به لیپاز لیپوپروتئینی (LPL: Lipoprotein lipase و یا لیپاز میکروبی ناشی از شیر غیر پاستوریزه که ناشی از فلور میکروبی شیر مورد استفاده در این نوع پنیر می‌باشد نسبت می‌دهند که این آنزیم جایگاه sn-1 و sn-3 تری گلیسریدها را شکسته و اسید چرب آزاد تولید می‌کند (۱۲). لیپولیز زمانی رخ می‌دهد که غشای مولکول شکسته شده و چربی در معرض آنزیم لیپاز قرار گیرد. اسیدبوتیریک یکی از مهم‌ترین اسیدهای چرب زنجیر کوتاه می‌باشد که وجود آن به‌عنوان یکی از موثرترین ترکیبات تولید طعم در پنیر حائز اهمیت است (۲۱). Azzara و Dimick طی مطالعاتی دریافتند که ماکروفاژهایی که در شیرهای ورم پستانی وجود دارد حاوی آنزیم‌های لیپولیتیکی است که به گلبول‌های چربی می‌چسبد و آن‌را تخریب می‌کند که در نتیجه باعث کاهش چربی به‌وسیله لیپاز لیپوپروتئینی می‌گردد (۹).

مقایسه کلی اسیدهای چرب زنجیره بلند: میزان اسید پالمتیک و اولیئک و سپس میریستیک در نمونه‌ها غالب بود . علت زیاد بودن علت زیاد بودن میزان اسیدچرب اسیدپالمیتیک اسید ($C_{16:0}$) سپس اسیداستئاریک ($C_{18:0}$) و در گروه اسیدهای چرب غیراشباع سپس اسید اولئیک ($C_{18:1}$) می‌تواند تمایل آنزیم‌های میکروبی و غیرمیکروبی به شکستن جایگاه sn-1 و sn-3 تری‌گلیسریدها را نشان دهد. این دو اسید چرب به‌دلیل بلند زنجیره بودن به‌میزان بسیار ناچیزی در طی دوره رسیدن پنیر به ترکیبات عطری و طعمی مانند گاما و دلتالاکتون، الکل‌ها و متیل‌کتون‌ها تجزیه شده‌اند و اسیدچرب غالب در پنیر گردیدند. به‌نظر می‌رسد که اسیدهای چرب بلند زنجیره به‌خاطر آستانه حسی بالای آن‌ها، نقش کمی در عطر و طعم پنیر دارد (۲۲). نتایج به‌دست آمده از میزان اسیدهای چرب آزاد بلند زنجیره مشابه نتایج Chen و همکاران بود که روی پنیر نیمه سخت تهیه شده از شیر بز تحقیق شده بود (۲۳). Mitchell و همکاران، با بررسی روی اسیدهای چرب در طی دوره رسیدن پنیر پارمیزان-رگیانو، استرازهای باکتریایی و آنزیم‌های لیپولیتیکی لاکتوباسیل‌های مزوفیل که استارتر نیستند را عامل تجمع اسیدچرب آزاد بلندزنجیره در طول دوره رسیدن پنیر پارمیزان-رگیانو گزارش کردند. هم‌چنین به‌دلیل این که این پنیر نیز از شیر خام به دست می‌آید نقش لیپاز لیپوپروتیئنی در میزان غلظت اسیدچرب آزاد بلندزنجیره حائز اهمیت می‌باشد (۲۴). Khaleghkhah و همکاران، افزایش سلول‌های سوماتیک در شیر خام را، با وجود این‌که بر روی مقدار تمامی اسیدهای چرب تاثیر یکسانی ندارد، به معنی افزایش معنی‌دار در میزان اسیدهای چرب اشباع میریستیک و پالمتیک دانست که در ایجاد بیماری‌های قلبی عروقی نقش مهمی دارد (۱). در این تحقیق برخلاف پیش‌فرض‌های موجود و طبق نتایج این تحقیق افزایش سلول‌های سوماتیک به‌صورت جزبه‌جز هر یک از باعث افزایش اسیدهای چرب اشباع در پنیر نمی‌شود که نتیجه این آزمایش با نتایج به‌دست آمده Khaleghkhah و همکاران، روی شیر انجام شد (۱)، مطابقت داشت. وی آسیب به غدد پستانی در نتیجه اختلال در مکانیسم دنوو (Denovo) و هم‌چنین نحوه تغذیه را عامل تغییر میزان برخی از اسیدهای چرب آزاد دانست و به‌عبارت دیگر سنتز هریک از اسیدهای چرب بر اساس مکانیسم دنوو در شکمبه صورت می‌گیرد، جراحت یا عفونت پستان دام بر روند تحولات شکمبه تاثیر مستقیم نداشت (۱).

بررسی اسیدچرب آزاد کل: به‌طور کلی لیپولیز در پنیر براساس اندازه‌گیری تغییرات غلظت اسیدچرب آزاد در طی دوره رسیدن (که دلالت بر لیپولیز دارد) می‌باشد. مطالعات نشان داده است که عوامل ایجاد لیپولیز در پنیر عبارتند از آنزیم‌های چربی‌شکن که به‌طور طبیعی در شیر وجود دارد (لیپاز شیر)، رنت (پری گاستریگ استراز) و فلور میکروبی می‌باشد. Beresford و همکاران، لیپاز/استراز آزاد شده توسط لاکتوباسیل‌های مزوفیل که استارتر نیستند را عامل اصلی تجمع اسیدهای چرب آزاد در طول رسیدن پنیر پارمیزان-رگیانو (Parmigiano-Reggiano) اعلام کردند (۲۵). Coppola و همکاران، با مطالعاتی روی این پنیر به این نتیجه رسیدند که در ماه اول از دوره رسیدن پنیر پارمیزان-رگیانو باکتری‌های استارتر ترموفیلی اسیدلاکتیکی (Thermophilic starter LAB) (*لاکتوباسیلوس هلوتیکوس*، *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه *لاکتیس*، *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه *بولگاریکوس*) غالب هستند. سپس این باکتری‌ها از ماه اول تا پایان دوره رسیدن تغییر یافته و لاکتوباسیل‌های مزوفیل که استارتر نیستند (*لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* زیرگونه *پاراکازئی*، *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* زیرگونه *تلورانس*، *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*) میکروب‌های غالب در طی رسیدن پنیر پارمیزان-رگیانو در طی دوره رسیدن می‌گردند (۲۶). افزایش سلول‌های سوماتیک به‌طور معنی‌داری روی میزان اسید چرب آزاد کل این پنیر تاثیر گذاشت و به‌صورت مستمر این میزان با گذشت زمان در طی ۶۵ روز افزایش پیدا کرد و نتایج به‌دست آمده با مطالعات Alizadeh و همکاران، که زمان را به‌عنوان فاکتور اصلی در تغییرات غلظت اسیدچرب آزاد بیان نمود (۲۷) و نیز سایر محققان که رابطه لیپولیز و زمان رسیدن را یک رابطه قوی و مثبت خطی اعلام نمودند مطابقت داشت (۲۷، ۲۸، ۲۹).Bauman و Lock غلظت بالاتری

از اسیدهای چرب آزاد کوتاه زنجیره و اسیدهای چرب اشباع نشده رادر شیرگاو ورم پستانی نسبت به شیر با سلول سوماتیک پایین گزارش کردند (۳۰). این در حالی است که Chen و همکاران، تاثیر میزان سلول‌های سوماتیک بر محتوی اسیدچرب آزاد پنیر تولیدشده از شیر بز پاستوریزه را منفی اعلام کردند (۲۳) و نیز در تحقیقی مشابه Jaeggi و همکاران، که روی پنیرهای سخت گوسفندی که شیر آن بر اساس میزان سلول‌های سوماتیک دسته‌بندی شده بودند اعلام کرد که میزان سلول سوماتیک به تنهایی در لیپولیز پنیر موثر نیست بلکه تغییرعوامل دیگر در شیر نیز بر شدت لیپولیز موثر است (۳۱). اما طی تحقیقات جدید انجام شده که سلول‌های سوماتیک بعد از فرایند پاستوریزاسیون اضافه شد یعنی این‌که در این‌جا آنزیم‌های موجود در سلول‌های سوماتیک تحت تاثیر فرایند حرارتی قرار نمی‌گیرند، مشخص شد که لیپولیز به‌طور مشخصی به‌میزان سلول‌های سوماتیک بستگی دارد. میزان اسیدهای چرب آزاد کل رابطه مستقیم با زمان رسیدن پنیر سفید آب نمکی داشت. با این‌حال ارتباط معنی‌داری بین تعداد سلول‌های سوماتیک با میزان اسیدهای چرب آزاد وجود نداشت (P>۰/۰۵). به‌عبارتی سلول‌های سوماتیک تاثیر متفاوتی در میزان هر اسیدچرب آزاد در پنیر داشت. اما گذشت زمان فاکتور اصلی در افزایش فعالیت‌های لیپولیتیکی و افزایش میزان اسیدهای چرب آزاد بود. هم‌چنین رابطه معکوسی بین افزایش سلول سوماتیک و گذشت زمان با کیفیت حسی (عطر و طعم و بافت) پنیر سفید آب نمکی مشاهده شد.

منابع

1. **Khaleghkhah, E., Ezzatpanah, H., Mashhadi Akbar Boujar, M., Guiviyanrad, M.H., Seif Hashemi, S. and Motamed, R., 2013.** The effect of different somatic cell levels saturated free fatty acids of raw milk. J. Sci. Res. Animal Sci. 12: 63-79.
2. **Halasa, T., Nielen, M., Huirne, R.B.M. and Hogeveen, H., 2009.** Stochastic bio-economic model of bovine intramammary infection. J. Livestock Sci. 124: 295-305.
3. **Viguier, C., Arora, S., Gilmartin, N., Welbeck, K. and O'Kennedy, R., 2009.** Mastitis detection: current trends and future perspectives. J. Trends Biotechnol. 27: 486-493.
4. **Barlowska, J., Litwinczuk, Z., Wolanciuk, A. and Brodziak, A., 2009.** Relationship of somatic cell count to daily yield and technological usefulness of milk from different breeds of cows. Polish J. Vet. Sci. 12: 75-79.
5. **Hagnestam, C., Emanuelson, U. and Berglund, B., 2007.** Yield losses associated with clinical mastitis occurring in different weeks of lactation. J. Dairy Sci. 90: 2260-2270.
6. **Grohn, Y.T., Wilson, D.J., Gonzalez, R.N., Hertl, J.A., Schulte, H., Bennett, G. and Schukken, Y.H., 2004.** Effect of pathogen-specific clinical mastitis on milk yield in dairy cows. J. Dairy Sci. 87: 3358-3374.
7. **Raynal-Ljutovac, K., Pirisi, A., De Cremoux, R. and Gonzalo, C., 2007.** Somatic cells of goat and sheep milk: analytical, sanitary, productive and technological aspects. J. Small Ruminant Res. 68: 126-144.
8. **Farajzadeh, J., Shahab Lavasani, A. and Eshaghi, M., 2020.** The production of low fat confectionary cream by using Milk Protein Concentration. Journal of Animal Environment. 12(1): 435-442. (In Persian)
9. **Azzara, C.D. and Dimick, P.S., 1985.** Lipoprotein lipase activity of milk from cows with prolonged subclinical mastitis. J. Dairy Sci. 68: 3171-3175.
10. **Fitz-Gerald, C.H., Deeth, H.C. and Kitchen, B.J., 1981.** The relationship between the levels of free fatty acids, lipoprotein lipase, carboxylesterase, N-acetyl-beta D-glucosaminidase, somatic cell counts and other mastitis indices in bovine milk. J. Dairy Res. 48: 253-265.
11. **Salih, A.M. and Anderson, M., 1979.** Observations on the influence of high cell count on lipolysis in bovine milk. J. Dairy Res. 46: 453-462.
12. **Shahab Lavasani, A.R. and Sherbaf, F., 2013.** The Effect of Lipase Enzyme Addition on the Lipolysis of Iranian White Brine Cheese. J. School Res. Liber. 4: 105-108.
13. **ISIRI, Standard 326. 2008.** Milk and its products. Sampling guide. (In Persian)
14. **ISIRI, Standard 639. 1970.** Determining the amount of total nitrogen in milk. Kajdal method. (In Persian)
15. **ISIRI, Standard 2852. 2007.** Milk and its products. Determination of acidity and pH test method. (In Persian)
16. **ISIRI, Standard 637. 2007.** Determining milk solids. (In Persian)
17. **ISIRI, Standard 384. 2010.** Milk fat measurement. (In Persian)
18. **AOAC. 2002.** Official methods of analysis of the AOAC, 15th ed. (Ed. S. Williams). Arlington, USA: Association of Official Analytical Chemists.
19. **De Jong, C. and Badings. H.T., 1990.** Determination of free fatty acids in milk and cheese. Procedures for extraction, clean up and capillary gas chromatographic analysis. J. High-Resol. Chr. 13: 94-98.
20. **Shakeel, U.R., Banks, J.M., Brechany, E.Y., Muir, D.D., McSweeney, P.L.H. and Fox, P.F., 2000.** Influence of ripening temperature on the volatiles profile and flavour of Cheddar cheese made from raw or pasteurized milk. Int. Dairy J. 10: 55-65.
21. **Saeedi, M., Shahab Lavasani, A. and Movahed, S., 2019.** Effect of different levels of somatic cell count of cow ,s milk and lipase enzyme addition on free fatty acid composition and sensory properties of White brined cheese. Journal of Animal Environment. 11(1): 331-342. (In Persian)
22. **Molimard, P. and Spinnler, H.E., 1996.** Review: Compounds Involved in the Flavor of Surface Mold Ripened Cheeses: Origins and Properties. J. Dairy Sci. 2: 169-184.
23. **Chen, S.X., Wang, J.Z., Van Kessel, J.S., Ren, F.Z. and Zeng, S.S., 2010.** Effect of somatic cell count in goat milk on yield, sensory quality, and fatty acid profile of semisoft cheese. J. Dairy Sci. 93: 1345-1354.
24. **Mitchell, G.E., Fedrick, J.A. and Rogers, S.A., 1986.** The relationship between somatic cell counts composition and manufacturing properties of bulk milk. 2. Cheddar cheese from farm bulk milk. Aust. J. Dairy Technol. 41: 12-14.

25. **Beresford, T.P., Fitzsimons, N.A., Brennan, N.L. and Cogan, T.M., 2001.** Recent advances in cheese microbiology. Int. Dairy J. 11: 259-274.

26. **Coppola, R., Nanni, M., Iorizzo, M., Sorrentino, A., Sorrentino, E. and Chiavari, C., 2000.** Microbiological characteristics of Parmigiano-Reggiano cheese during the cheesemaking and the first months of the ripening. Lait. 80: 479-490.

27. **Alizadeh, M., Hamedi, M. and Khosroshahi, A., 2006.** Modeling of proteolysis and lipolysis in Iranian white brine cheese. J. Food Chem. 97: 294-301.

28. **Chávarri, F., Bustamante, M., Santisteban, A., Virto, M., Barrón, L.J.R. and de Renobales, M., 1999.** Changes in Free Fatty Acids During Ripening of Idiazabal Cheese Manufactured at Different Times of the Year. J. Dairy Sci. 82: 885-890.

29. **Virto, M., Chávarri, F., Bustamante, M.A., Barron, L.J.R., Aramburu, M., Vicente, M.S., Pérez Elortondo, F.J., Albisu, M. and de Renobales, M., 2003.** Lamb rennet paste in ovine cheese manufacture. Lipolysis and flavor. Int. Dairy J. 13: 391-399.

30. **Bauman, D.E. and Lock, A.L., 2006.** Conjugated Linoleic Acid: Biosynthesis and Nutritional Significance. In: Fox, P.F. and McSweeney, P.L.H., Advanced Dairy Chemistry. Lipids, 3rd edition. New York. Springer. 2: 93-124.

31. **Jaeggi, J.J., Govindasamy-lucey, S., Berger, Y.M. and Johnson, M.E., 2003.** Hard ewes milk manufactured from milk of three different groups of somatic cell counts. Journal of Dairy Science. 86: 3082-3089.