**Food ResearchJournal**

Online ISSN: 2676-5691 Print ISSN: 2008-515X
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir

# Investigating the chemical and microbial characteristics of Kermanshahi ghee and Azerbaijan yellow ghee during the storage period

**Rahele Nezhad Razmjoui Akhgar** ✉*[1] **and Amir Reza Shaviklo**[2]

[1]Assistant Professor, Department of Animal Science Research, West Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Urmia, Iran
[2]Associate Professor, Animal Science Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
✉Corresponding author: razmjooi@yahoo.com; r.razmjou@areeo.ac.ir

ARTICLE INFO

Article type:
Research Article

Article history:
Received: March 05, 2024
Accepted: August 04, 2024
Published: October 25, 2024

Keywords:
Ghee, Peroxide value, Fatty Acids profile, Microbiological quality

ABSTRACT

**Background:** Ghee holds a unique position among dairy products because of its exceptional nutritional benefits, as well as its rich flavor and aroma.
**Aims:** The aim of this research was to evaluate the chemical, microbial, and fatty acid composition of Azerbaijani and Kermanshahi ghee samples.
**Methods:** Ghee samples were prepared in local workshops using cow's milk from traditional livestock farms of Urmia and Kermanshah. The microbial characteristics and fatty acid composition of the samples were assessed post-production, along with their peroxide value, acid value, and acidity over a six-month storage period at room temperature (25 °C).
**Results:** The acidity, acid value, and peroxide value of both ghee samples showed a significant increase over a six-month storage period at room temperature ($p<0.05$). By the end of the sixth month, the peroxide value for Azerbaijaniani yellow ghee rose from 0 to 0.39 meqO2/kg, while Kermanshahi ghee increased to 0.38 meqO2/kg. The analysis of fatty acids revealed that palmitic acid, myristic acid, and stearic acid were the most prevalent saturated fatty acids, while oleic acid was the primary unsaturated fatty acid present in both ghee samples. The total microbial count in the Azerbaijani yellow ghee sample was 0.76 log CFU/g, while the Kermanshahi ghee sample had a count of 1.32 log CFU/g.The examination of ghee samples for coliforms, coagulase-positive *Staphylococcus aureus*, and molds and yeasts showed that these microorganisms were not present, confirming that the ghee samples were not contaminated with these microorganisms.
**Conclusion:** The findings of this study showed that while free fatty acid levels rose, the oxidative stability of ghee samples diminished during storage at 25 °C, with Azerbaijani yellow ghee exhibiting a more pronounced effect.

CC BY NC



OPEN ACCESS

## Extended Abstract

**Introduction:** Ghee, also known as animal oil or milk oil, is a tasty and nutritious dairy product made by heating butter to remove water through evaporation and separating non-fat solids through sedimentation (Nekera *et al*. 2023). It is usually made from cow's milk, buffalo's milk, or a combination of the two (Kapadiya Dhartiben 2017). As defined by Codex, ghee is produced exclusively from the milk fat, cream, or butter of various animal species using processes that almost completely remove water and non-fat solids (Codex 2018). Ghee is a complex of triacylglycerol lipids, along with a small quantity of free fatty acids, phospholipids, sterols, hydrocarbons, carbonyl compounds, fat-soluble vitamins (A, D, E, and K), carotenoid pigments, moisture and trace elements such as copper and iron. Ghee typically consists of 99-99.5% fat with a moisture content of less than 0.5% (Kapadiya Dhartiben 2017). Due to its low moisture content, ghee has a longer shelf life compared to other dairy products (Aditya and Divya 2018). Additionally, ghee is considered nutritionally superior to other oils because it contains medium-chain fatty acids that are absorbed by the liver and used for energy. Ghee exclusively contains butyric acid, which gives it a unique taste and aids in digestion. Saturated fatty acids are the main component of fatty acids in ghee. Furthermore, it also contains high levels of monounsaturated and polyunsaturated fatty acids, which offer numerous biological benefits (Kumar *et al*. 2015). Improper packaging and storage can lead to ghee spoiling due to exposure to bacteria, yeasts, molds, and oxygen (Antony *et al*. 2018). Due to oxidative rancidity, the main qualitative parameters such as color, taste, aroma, and nutritional value of the ghee change and make it unusable (Gandhi *et al*. 2013). Kermanshahi ghee and Azerbaijani ghee, known as yellow oil, are commonly used animal oils in Kermanshah and West Azerbaijan provinces. These types of ghees are traditionally made from cow's milk in small local workshops. Given the widespread use and nutritional significance of these ghees in consumers' diets, this study was carried out to assesschanges in their chemical properties, microbial properties, and fatty acid composition over a 6-month storage period.

**Material and methods:** The raw cow's milk was obtained from traditional farms in Urmia and Kermanshah, and ghee samples were then produced in three replicates in local workshops. Initially, the raw milk underwent heat treatment at a temperature of 85 °C for 10 minutes in order to pasteurize it. Subsequently, the milk was cooled down to 44 °C and then inoculated with a 3% starter culture. The inoculated milk was placed in an incubator for 4 hours at the specified temperature. Once the pH dropped to 4.6, yogurt was made. The yogurt was then left at room temperature for 2 days to allow for increased lactic acid production. Afterward, the yogurt was processed in a butter-making machine, completing the butter-making process in 15-20 minutes. Finally, a two-phase liquid consisting of butter and buttermilk was produced. The upper liquid, which was butter, was separated manually from the lower liquid, known as buttermilk. In order to make ghee, the separated butter was heated at a temperature of 100-120 ˚C for a few minutes. At this stage, the moisture evaporated and brown non-fatty solids were deposited. Ultimately, the oil was filtered and the ghee samples were then transferred into containers and stored at room temperature (25 °C) for 6 months. In order to assess the shelf life of ghee samples, the acidity, acid, and peroxide values were measured over 6 months at 25°C. Additionally, the microbial properties and fatty acid composition of the ghee samples were analyzed post-production. The study utilized a split plot experimental design within randomised complete blocks (RCBD). All trials were conducted in triplicate. Statistical analysis was carried out using one-way ANOVA, with significant differences between means identified through Duncan's multiple range tests at a significance level of $p < 0.05$.

**Results and discussion:** The data analysis results indicated a significant increase ($p<0.05$) in acidity and acid value of both ghee samples during 6 months of storage at room temperature. These values were also significantly higher ($p<0.05$) compared to the initial values on the first day. The acidity levels of Azerbaijani yellow ghee rose from 0.73% to 1.88%, while Kermanshahi ghee experienced an increase from 0.19% to 0.73%. The acid value of Azerbaijani yellow ghee showed a significant increase ($p<0.05$) from 1.46 mg KOH/g on the first day to 3.54 mg KOH/g after six months, while acid value of Kermanshahi ghee grew from 0.37 mg KOH/g to 1.45 mg KOH/g over the same period. ($p<0.05$). Over a 6-month storage period, the Kermanshahi ghee exhibited significantly lower acidity and acid value compared to the Azerbaijan yellow ghee ($p<0.05$). The Azerbaijani yellow ghee remained within the acceptable acidity limit for the first three months but exceeded the limit in the six$^{th}$ month. On the other hand, the Kermanshahi ghee maintained an acceptable acidity level throughout the six-month storage period. The variation in acidity and acid value between Azerbaijani and Kermanshahi ghee samples may be due to unique characteristics in the milk of the animals studied and the specific composition of their diets. The peroxide value of both ghee samples showed a significant increase after 6 months of storage at 25 ˚C ($p<0.05$). No significant difference was found in the peroxide value of the two ghee samples after 6 months. Researchers have attributed the increase in peroxide value of ghee during storage to the oxidation of fatty acids, which can be caused by factors such as packaging in light-permeable containers, loose lids on containers, and improper storage and transportationmethods (Sulieman *et al*. 2017). The oxidation rate of fatty acids is likely to be influenced by their structural variations, such as differences in chain length, degree of unsaturation, and the positioning of double bonds. Additionally, the presence of a high concentration of free fatty acids in the oil increases its susceptibility to oxidation (FAO/WHO, 1993). In present study, the rise in peroxide values in the ghee samples is likely a result of the passage of time. The fatty acid profile analysis revealed that both ghee samples were predominantly composed of saturated fatty acids, with palmitic acid, myristic acid, and stearic acid being the major fatty acids present. The saturated fatty acid content in Azerbaijani yellow ghee was 67.93%, while in Kermanshahi ghee it was 64.98%. On the other hand, the total content of monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in Azerbaijani yellow ghee was 32.07%, whereas in Kermanshahi ghee it was 35.02%. This indicates that the Kermanshahi ghee had a higher proportion of unsaturated fatty acids. Oleic acid has been identified as the primary unsaturated fatty acid in both ghee samples, with no significant difference in its concentration observed between the two samples. The content of lauric acid (C12:0) was found to be significantly ($p<0.05$) higher in Kermanshahi ghee compared to Azerbaijani yellow ghee, whereas the content of pentadecanoic acid (C15:0) was significantly higher in Azerbaijani yellow ghee ($p<0.05$). The levels of linoleic acid in Azerbaijani and Kermanshahi ghee were found to be 1.95% and 2.77%, respectively. Kermanshahi ghee exhibited a significantly higher linoleic acid concentration than Azerbaijani ghee. ($p<0.05$). Variations in fatty acid profiles of ghee samples may be due to differences in the animals' diet or microbial ecosystem (Khiaosa-ard *et al*. 2015). There was no significant difference found in the conjugated linoleic acid content between Azerbaijani yellow ghee and Kermanshahi ghee. Based on the findings of the microbial analysis, it was observed that the total count of microorganisms in Azerbaijani yellow ghee (0.76 $\log_{10}$ CFU/g) was significantly lower compared to Kermanshahi ghee (1.32 $\log_{10}$ CFU/g) ($p<0.05$). Furthermore, the investigation and enumeration of coliforms, coagulase-positive *staphylococcus aureus*, mold, and yeasts in the

ghee samples revealed no contamination with these microorganisms. This could be attributed to the low moisture and high fat content of the ghee, which inhibit the growth of such microorganisms. The microbial characteristics of the samples analysed in this study met the standards set by the Iranian national standard for butter.

**Conclusion:** Based on the findings of this study, there was a significant difference

between the two ghee samples in certain chemical properties such as fatty acids content, acid value, and peroxide value. The oxidative stability of both ghee samples declined over time during storage at room temperature. Overall, the ghee samples had higher levels of saturated fatty acids and lower levels of unsaturated fatty acids. The microbial content in the ghee samples was within acceptable limits, with no contamination of coliforms, coagulase-positive *staphylococcus aureus*, mold, or yeasts detected. Further research is recommended toinvestigate the impact of natural and synthetic antioxidants on the shelf life and oxidative stability of animal oils.

**پژوهش‌های صنایع غذایی**
شاپا الکترونیکی: ۲۶۷۶-۵۶۹۱ ، شاپا چاپی ۵۱۵X- ۲۰۰۸
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir

# بررسی ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی روغن حیوانی کرمانشاهی و روغن زرد آذربایجان طی دوره نگهداری

**راحله نژاد رزمجوی اخگر[1*] و امیررضا شویک لو[2]**

[1]استادیار، بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه، ایران

[2]دانشیار، بخش فرآوری محصولات دامی، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

مسئول مکاتبه: razmjooi@yahoo.com; r.razmjou@areeo.ac.ir

مشخصات مقاله

نوع مقاله:
علمی پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱۵
پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۱۴
انتشار: ۱۴۰۳/۷/۲۵

کلید واژگان:
روغن شیر، عدد پراکسید، پروفایل اسیدهای چرب، کیفیت میکروبی

چکیده

**زمینه مطالعاتی:** روغن حیوانی به دلیل ارزش تغذیه‌ای بالا و طعم و رایحه بسیار غنی در میان تمام محصولات شیر جایگاه ویژه‌ای دارد.

**هدف:** هدف از این پژوهش، ارزیابی ویژگی‌های شیمیایی، میکروبی و ترکیب اسیدهای چرب نمونه‌های روغن شیر آذربایجانی و کرمانشاهی بود.

**روش کار:** نمونه‌های روغن حیوانی با استفاده از شیر گاو دامداری‌های سنتی ارومیه و کرمانشاه در کارگاه‌های محلی تولید شدند. خصوصیات میکروبی و ترکیب اسیدهای چرب نمونه‌ها پس از تولید و عدد پراکسید، عدد اسیدی و اسیدیته آنها در طول ٦ ماه نگهداری در دمای محیط (۲۵ °C) مورد ارزیابی قرار گرفت.

**نتایج:** اسیدیته، عدد اسیدی و پراکسید هر دو نمونه روغن در طول ٦ ماه نگهداری در دمای محیط به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد ($p<۰/۰۵$). در ماه ششم دوره نگهداری، عدد پراکسید روغن زرد آذربایجانی و روغن کرمانشاهی به ترتیب از صفر به ۰/۳۹ $meqO_2/kg$ و ۰/۳۸ $meqO_2/kg$ افزایش پیدا کرد. پروفایل اسیدهای چرب نشان داد در هر دو نمونه روغن، پالمیتیک اسید، میریستیک اسید و استئاریک اسید، اسیدهای چرب اشباع غالب و اولئیک اسید، اسید چرب غیراشباع عمده را تشکیل می‌داد. بار کلی میکروبی در نمونه روغن زرد آذربایجان و روغن کرمانشاهی به ترتیب برابر با ۰/۷٦ log CFU/g و ۱/۳۲ log CFU/g بود. نتایج جستجو و شمارش کلی‌فرم‌ها، *استافیلوکوکوس اورئوس* کوگولاز مثبت و کپک و مخمرها در نمونه‌های روغن حاکی از عدم آلودگی نمونه‌های روغن به این میکروارگانیسم‌ها بود.

**نتیجه‌گیری نهایی:** یافته‌های این تحقیق حاکی از افزایش میزان اسیدهای چرب آزاد و کاهش پایداری اکسایشی نمونه‌های روغن حیوانی در طول دوره نگهداری در دمای ۲۵ °C بود و این امر در روغن زرد آذربایجان مشهودتر بود.

**مقدمه**

روغن حیوانی یا روغن شیر یا روغن کره یک محصول لبنی خوش طعم و مغذی است که با حرارت دادن کره برای حذف آب از طریق تبخیر و حذف مواد جامد غیرچرب از طریق رسوب تهیه می‌شود. این فرآیند منجر به طعم و ساختار فیزیکی منحصر به فرد در آن می‌شود (نکرا و همکاران ۲۰۲۳). روغن حیوانی، معمولاً از شیر گاو، گاومیش یا مخلوطی از آنها تهیه می‌شود (کاپادیا دهرتیبن ۲۰۱۷). طبق تعریف کدکس، روغن کره منحصراً از چربی شیر، خامه یا کره گونه‌های مختلف حیوانی با استفاده از فرآیندهایی که تقریباً منجر به حذف کامل آب و مواد غیرچرب می‌شود، تولید می‌گردد (کدکس ۲۰۱۸). از نظر شیمیایی، روغن حیوانی کمپلکسی از لیپیدهای تری‌آسیل‌گلیسرول، همراه با مقدار کمی اسیدهای چرب آزاد، فسفولیپیدها، استرول‌ها، هیدروکربن‌ها، ترکیبات کربونیل، ویتامین‌های محلول در چربی (A، D، E و K)، رنگدانه‌های کارتنوئیدی، رطوبت و عناصر کم‌مقدار مانند مس و آهن می‌باشد. به طور متوسط روغن حیوانی حاوی ۹۹/۵-۹۹٪ چربی و کمتر از ۰/۵٪ رطوبت است (کاپادیا دهرتیبن ۲۰۱۷). روغن حیوانی در مقایسه با سایر محصولات لبنی دارای ماندگاری بالایی است که به مقدار رطوبت پایین آن نسبت داده می‌شود (آدیتیا و دیوای ۲۰۱۸).

به دلیل وجود اسیدهای چرب با زنجیره متوسط که به طور مستقیم توسط کبد جذب شده و برای تأمین انرژی می‌سوزد، روغن حیوانی از نظر تغذیه‌ای به سایر روغن‌ها برتری دارد. روغن حیوانی منحصراً حاوی اسید بوتیریک است که در عطر و طعم متمایز و هضم آسان آن مشارکت می‌کند. اسیدهای چرب اشباع جزء اصلی اسیدهای چرب در روغن حیوانی را تشکیل می‌دهند. همچنین غلظت‌های بالایی از اسیدهای چرب تک‌غیراشباع و اسیدهای چرب چندغیراشباع (PUFA) در روغن حیوانی یافت می‌شوند که دارای فواید بیولوژیکی متعددی هستند (کومار و همکاران ۲۰۱۵).

اگر روغن حیوانی به درستی بسته‌بندی و نگهداری نشود، می‌تواند به دلیل قرار گرفتن در معرض باکتری‌ها، مخمرها، کپک‌ها و اکسیژن فاسد شود (آنتونی و همکاران ۲۰۱۸). قرار گرفتن روغن در معرض اکسیژن محیط می‌تواند باعث فساد اکسیداتیو شود. در اثر فساد اکسیداتیو پارامترهای کیفی اصلی مانند رنگ، طعم، عطر و ارزش غذایی روغن تغییر کرده و آن را غیرقابل‌مصرف می‌کند. اکسیداسیون روغن حیوانی ممکن است باعث سرطان، بیماری‌های قلبی- عروقی و پیری زودرس در مصرف کنندگان شود (گاندی و همکاران ۲۰۱۳).

محققان در مناطق مختلف دنیا، برخی تغییرات شیمیایی و میکروبی روغن حیوانی را در طول نگهداری مورد مطالعه قرار دادند. تحقیقی با هدف تعیین ویژگی‌های شیمیایی نمونه‌های کره و روغن کره تولید شده از این کره‌ها در وان ترکیه انجام شد. نتایج نشان داد تبدیل کره به روغن کره مزایای زیادی را در رابطه با کیفیت محصول از جمله بار میکروبی پایین و مقادیرفعالیت آبی کمتر به همراه داشت که دلیل آن به حذف آب و مواد جامد داخل کره و تولید محصولی با محتوای بالاتر چربی نسبت داده شد که باعث کاهش شدید فعالیت‌های میکروبی و واکنش‌های شیمیایی و آنزیمی گردید (فیندیک و آندیچ ۲۰۱۷). تحقیق دیگری در نامیبیا برای تعیین کیفیت روغن حیوانی گاوی سنتی به منظور بهبود کیفیت آن برای اهداف تجاری انجام شد. نتایج حاکی از بالا بودن محتوای اسیدهای چرب آزاد، عدد پراکسید و محتوای رطوبت بود. همچنین طعم اکسید و تند در نمونه‌ها بارز بود (بیل و کاندجو ۲۰۰۸). در پژوهشی دیگر در کلمبیا، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی روغن شیر گاو و گاومیش مورد بررسی قرار گرفت. محققان این پژوهش، اظهار داشتند، کیفیت فیزیکوشیمیایی و میکروبی روغن گاومیش و گاوی مطابق با استاندارد ملی و بین‌المللی بودند.

همچنین اسیدهای چرب اشباع بیش از ۵۲ درصد از کل محتوای اسیدهای چرب را تشکیل می‌دادند (پناسرنا و رسترپوبتانکور ۲۰۲۰). در تحقیق دیگری در هند، تغییرات فیزیکوشیمیایی روغن شیر گاو و گاومیش در طول ۸ ماه دوره نگهداری در دمای ۳۷ °C مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه نشان داد افزایش اندکی در عدد پراکسید، عدد کونژوگه و محتوای اسیدهای چرب آزاد در نمونه‌های روغن در طول نگهداری در دمای ۳۷ °C مشاهده شد و این افزایش در نمونه‌های روغنی که به آنها آنتی‌اکسیدان بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA) افزوده شده بود، نسبت به نمونه‌های روغن شاهد نسبتاً کمتر بود (گوسواید و همکاران ۲۰۱۷).

روغن کرمانشاهی و روغن آذربایجانی معروف به روغن زرد، ازروغن‌های مصرفی متداول دراستان‌های کرمانشاه و آذربایجان غربی می‌باشند. این روغن‌ها به طورسنتی از شیر گاو در کارگاه‌های محلی تولید می‌شوند. با توجه به محبوبیت و اهمیت تغذیه‌ای این روغن‌ها در رژیم غذایی مصرف‌کنندگان، این پژوهش با هدف ارزیابی برخی ویژگی‌های شیمیایی مرتبط با ماندگاری آنها در طول نگهداری، تعیین ویژگی‌های میکروبی و ترکیب اسیدهای چرب آنها انجام پذیرفت.

## مواد و روش‌ها

### شیر

شیر گاو مورد استفاده در این پژوهش از دامداری‌های سنتی اطراف ارومیه و کرمانشاه تهیه شدند. خصوصیات فیزیکوشیمیایی شیر خام مورد استفاده برای تولید تیمارهای روغن در جدول ۱ ارائه شده است.

**Table 1- Physicochemical characteristics of raw milk used in the production of ghee treatments (Mean± SD)**

| Milk type | pH | Acidity (°D) | Fat (%) | Protein (%) | Solid Non Fat (%) | Density ($Kg/m^3$) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Azerbaijani cow's milk | 6.77±0.04 | 14.00±0.54 | 3.80±0.15 | 3.13±0.06 | 8.48±0.16 | 1.031± 0.002 |
| Kermanshahi cow's milk | 6.81±0.02 | 14.10±0.46 | 4.80±0.26 | 3.50±0.15 | 8.76±0.22 | 1.032±0.003 |

### استارتر

استارتر تجاری ماست، حاوی گونه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه *بولگاریکوس* ساخت شرکت کریستن هانسن دانمارک از شرکت شیر پگاه ارومیه تهیه شد.

### مواد شیمیایی و محیط‌های کشت

کلیه مواد شیمیایی، حلال‌ها و محیط‌های کشت مورد استفاده در این پروژه تحقیقاتی، ساخت شرکت تجاری مرک آلمان بودند.

### مراحل آماده‌سازی و تولید نمونه‌های روغن

شیر خام گاو از دامداری‌های سنتی ارومیه و کرمانشاه تهیه و نمونه‌های روغن در ۳ تکرار در کارگاه‌های محلی تولید شدند. ابتدا به منظور پاستوریزاسیون، شیر خام تحت تیمارحرارتی با دمای ۸۵ °C به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفته و متعاقباً تا دمای ۴۴ °C خنک و با کشت استارتر به میزان ۳٪ تلقیح شد. شیر مایه زده شده به مدت ٤ ساعت در دمای مذکور گرمخانه‌گذاری شد. پس از افت pH تا ٤/٧، ماست آماده شد. ماست تولید شده به مدت ۲ روز جهت افزایش تولید اسید لاکتیک در دمای محیط

نگهداری شد (افت pH تا حدود ٤/١) و سپس وارد دستگاه کره‌گیر شده و به اندازه وزن ماست، آب ولرم بر روی آن افزوده شد. عمل کره‌گیری با استفاده از دستگاه کره‌گیر به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه تکمیل شده و مایع دو فاز حاوی کره و دوغ تشکیل شد. مایع رویی یعنی کره به صورت دستی از مایع زیری (دوغ) جدا شد. برای تهیه روغن حیوانی، کره حاصل به مدت چند دقیقه در دمای حدود ۱۲۰ °C -۱۰۰ حرارت داده شد. در این مرحله، رطوبت تبخیر و مواد جامد غیرچرب قهوه‌ای رنگ، ته‌نشین شدند. در نهایت به منظور جداسازی مواد جامد غیرچرب، روغن استحصالی از صافی عبور داده شد. نمونه‌های روغن تهیه شده در ظروف پلی‌اتیلنی پُر و درب‌بندی شده و در دمای محیط (۲۵ °C) نگهداری شدند. از هر تیمار ۳ نمونه ۲۵۰ گرمی جهت انجام آزمون‌های شیمیایی و ۳ نمونه ۱۰۰ گرمی برای آزمون‌های میکروبی برداشت شد.

### آزمون‌های شیمیایی

جهت بررسی ماندگاری نمونه‌های روغن، عدد اسیدی، اسیدیته و عدد پراکسید نمونه‌ها در طول ٦ ماه نگهداری تعیین شدند. عدد اسیدی و اسیدیته نمونه‌های روغن با استفاده از روش استاندارد ملی ایران به شماره ٤١٧٨ (استاندارد ملی ایران ۱۳۹۰) و عدد پراکسید براساس روش AOCS شماره ۵۳-۸ Cd انجام شد (انجمن شیمیدانان روغن آمریکا ۲۰۱۷).

### آنالیز پروفایل اسیدهای چرب

به منظور آماده‌سازی متیل‌استر اسیدهای چرب، از روش AOCS به شماره ٦٦-٢ Ce استفاده شد (انجمن شیمیدانان روغن آمریکا ۲۰۱۷). تعیین کمّی اسیدهای چرب با استفاده از استاندارد ملی ایران به شماره ٤٠٩١ انجام شد (استاندارد ملی ایران ١٣٧٦).

### آنالیز میکروبی

### شمارش کلی میکروبی

شمارش کلی میکروبی (باکتری‌های مزوفیل هوازی) نمونه‌های روغن، طبق استاندارد ملی ایران به شماره ٨٢٤٨ با استفاده از محیط کشت پلیت‌کانت‌آگار و به روش پورپلیت و گرمخانه‌گذاری به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ °C انجام گرفت (استاندارد ملی ایران ١٣٨٤). جستجو و شمارش کلی‌فرم‌ها در نمونه‌های روغن طبق استاندارد ملی ایران به شماره ٤٣٧ با استفاده ازمحیط کشت لاکتوز بایل بریلیانت گرین براث[1] حاوی لوله دورهام و گرمخانه‌گذاری به مدت ٢٤ الی ٤٨ ساعت در دمای ۳۷ °C انجام گرفت (استاندارد ملی ایران ۱۳۷۵). شناسایی و شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* طبق استاندارد ملی ایران به شماره ١١٩٤ با استفاده از محیط کشت برد پارکرآگار و روش کشت سطحی و گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ °C به مدت ٢٤ ساعت انجام شد (استاندارد ملی ایران ١٣٧٤). شمارش کپک و مخمرها طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۹۹۷ بر روی محیط کشت سابرو دکستروز آگار به صورت کشت سطحی و ۵ روز گرمخانه‌گذاری در دمای ۲۵ °C انجام شد (استاندارد ملی ایران ١٣٧٤).

### تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های حاصل ازآزمایش‌ها، براساس مدل فاکتوریل اسپلیت پلات در زمان باطرح بلوک‌های کامل تصادفی آنالیزشدند. کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار انجام گرفت. به منظور تعیین اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها از آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد. از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۸) جهت آنالیز داده‌ها و از نرم افزار اکسل ۲۰۰۷ جهت ترسیم نمودارها استفاده گردید.

### نتایج و بحث

[1] Lactose bile brilliant green broth

**اسیدیته و عدد اسیدی نمونه‌های روغن**

اسیدیته یا مقدار اسیدهای چرب آزاد روغن، یک پارامتر کیفی برای تعیین هیدرولیز تری‌گلیسرید و مقدار اسیدهای چرب آزاد است. عدد اسیدی شاخص بسیار مهمی برای فساد لیپولیتیک و ایجاد طعم و بوی بد در روغن کره است (محمود و همکاران ٢٠٢١). نتایج نشان داد اسیدیته و عدد اسیدی هر دو نمونه روغن در طول ٦ ماه نگهداری در دمای محیط به طور معنی‌داری ($p<٠/٠٥$) افزایش یافت و مقادیر آنها به طور معنی‌داری ($p<٠/٠٥$) نسبت به روز اول بالاتر بود (شکل‌های ١ و ٢). اسیدیته روغن زرد آذربایجانی از ٠/٧٣ به ١/٨٨٪ و روغن کرمانشاهی از ٠/١٩ به ٠/٧٣٪ افزایش یافت. همچنین، عدد اسیدی روغن زرد آذربایجانی از ١/٤٦ در روز اول به ٣/٥٤ mgKOH/g و روغن کرمانشاهی از ٠/٣٧ به ١/٤٥ mgKOH/g در ماه ششم افزایش یافت. در تمام طول نگهداری یعنی ماه ٠، ٣ و ٦، اسیدیته و عدد اسیدی نمونه روغن کرمانشاهی به طور معنی‌داری پایین‌تر از نمونه روغن زرد آذربایجانی بود ($p<٠/٠٥$). مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ٤١٧٨، حداکثر اسیدیته مجاز در روغن نباید بیشتر از ٠/٨٪ باشد (استاندار ملی ایران ١٣٩٠). در تحقیق حاضر اسیدیته نمونه‌های روغن زرد آذربایجانی تا ماه سوم در حد مجاز بود، ولی در ماه ششم بالاتر از حد استاندارد بود. اسیدیته روغن کرمانشاهی در طول ٦ ماه دوره نگهداری در حد مجاز و قابل‌قبول بود. تفاوت در میزان اسیدیته و عدد اسیدی نمونه‌های روغن آذربایجانی و کرمانشاهی را می‌توان به تفاوت در شیر دام‌های مورد مطالعه و ترکیب جیره غذایی مورد استفاده نسبت داد. همچنین با توجه به اینکه شیردوشی از دام‌ها به صورت دستی انجام گرفته است، میزان آسیب به غشای گلبول‌های چربی در طول شیردوشی و همچنین حمل و نقل و نگهداری در مقدار اسیدهای‌چرب آزاد موجود در شیر مورد استفاده برای تهیه نمونه‌های روغن مؤثر بوده است. با توجه به اینکه میزان اسیدیته و عدد اسیدی در روغن کرمانشاهی پایین‌تر بوده چنین می‌توان استنباط کرد که احتمالاً غشای گلبول‌های چربی شیر مورد استفاده برای تهیه روغن کرمانشاهی در مراحل دوشش و حمل و نقل، کمتر دچار آسیب و پارگی شده و گلبول‌های چربی کمتر در معرض آنزیم لیپاز شیر یا احتمالاً لیپازهای میکروبی قرار گرفته و میزان هیدرولیز چربی کمتر بوده است. به دلیل اینکه قسمت عمده فعالیت لیپاز طی عملیات پاستوریزاسیون شیر از بین می‌رود، لذا آسیب به غشا و در نتیجه در معرض قرار گرفتن چربی برای حمله لیپاز و تولید اسیدهای چرب آزاد احتمالاً قبل از مراحل پاستوریزاسیون شیر و حرارت‌دهی کره اتفاق افتاده است.

در تحقیق پناسرنا و رسترپوبتانکور (٢٠٢٠) بر روی خصوصیات فیزیکوشیمیایی روغن حیوانی، اسیدیته و عدد اسیدی روغن گاوی تازه به ترتیب ٠/١٪ و ٠/٢١ mgNaOH/g گزارش شد. کیرازچی و جاویدپور (٢٠٠٨) در مطالعه خواص شیمیایی و میکروبی نمونه‌های روغن حیوانی تولید شده در شرق آناتولی در ترکیه، گزارش کردند اسیدیته نمونه‌های روغن در طی ٣٠ روز نگهداری در دمای ٥ $^{\circ}C$ افزایش یافت و این افزایش به تولید اسیدهای‌آلی (به عنوان مثال اسید لاکتیک) توسط باکتری‌های اسید لاکتیک نسبت داده شد. فیندیک و آندیچ (٢٠١٧) اسیدیته ١٠ نمونه روغن حیوانی، تهیه شده از فروشگاه‌های استان وان را بین ١/٧– ٠/٠٥٪ گزارش کردند. سلیمان و همکاران (٢٠١٣) در مطالعه ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و حسی ٣ نمونه روغن حیوانی جمع‌آوری‌شده از بازار محلی سودان، مقدار اسیدهای چرب آزاد را بین ٠/٩٧ – ٠/٢٨٪ و عدد اسیدی را ١/٩٤mg KOH/g– ٠/٥٦ گزارش کردند. این محققان اظهار داشتند عدد اسیدی روغن می‌تواند در نتیجه آلودگی در حین تهیه یا جابجایی آن افزایش یابد و لیپاز طبیعی شیر ممکن است چربی را هیدرولیز کرده باشد (سلیمان و همکاران ٢٠١٣). گوسواید و همکاران (٢٠١٧) در بررسی تغییرات فیزیکوشیمیایی روغن کره در طول ٨ ماه نگهداری در دمای ٣٧ $^{\circ}C$، محتوای اسیدهای چرب آزاد روغن تازه گاو را به طور متوسط ٠/٤٢٪ اعلام کردند؛ بعد از ٨ ماه نگهداری در دمای ٣٧ $^{\circ}C$ محتوای اسیدهای چرب آزاد به ٠/٧٢٪ افزایش یافت.

دمای ذخیره‌سازی و مقدار اسیدهای چرب آزاد اولیه که می‌توانند به عنوان کاتالیزور در تشکیل اسیدهای چرب آزاد بیشتر عمل کنند، تأثیر قابل توجهی بر مقدار اسیدیته دارند (آیتون و همکاران ۲۰۱۲).

وجود اسیدهای چرب آزاد در روغن باعث بد طعمی شده و خطر ایجاد اسیدهای چرب آزاد غیراشباع بلند زنجیر را که ممکن است در واکنش‌های اکسیداسیون شرکت کنند، به دنبال دارد (فیندیک و آندیچ ۲۰۱۷).

طبق نتایج کارهای پژوهشی انجام شده توسط محققان مختلف، اسیدیته و عدد اسیدی روغن حیوانی در طی دوره نگهداری در اثر عوامل مختلف از جمله دما، آنزیم لیپاز طبیعی شیر یا لیپازهای میکروبی و ... افزایش می‌یابد. یافته‌های تحقیق حاضر با نتایج این محققان همسو می‌باشد. مقادیر اسیدیته و عدد اسیدی در مطالعات مختلف نشان می دهد که در برخی موارد این مقادیر پایین‌تر یا بالاتر و در برخی موارد در دامنه مقادیر به دست آمده در مطالعه حاضر می باشد. این تفاوت‌ها می‌تواند به عوامل متعددی از جمله ترکیب شیر اولیه مورد استفاده، شرایط تولید، شرایط بهداشتی، دمای نگهداری و ... نسبت داده شود.

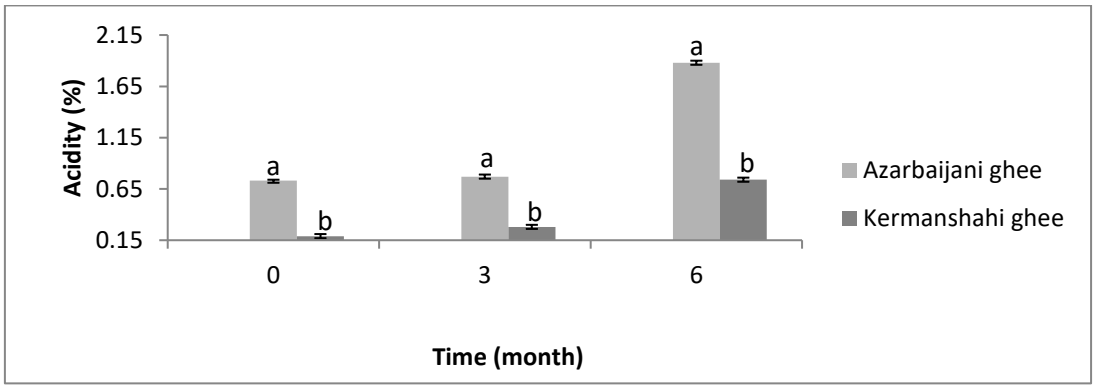


**Figure 1 - Acidity changes of ghee samples during 6 months of storage at 25 ˚C**

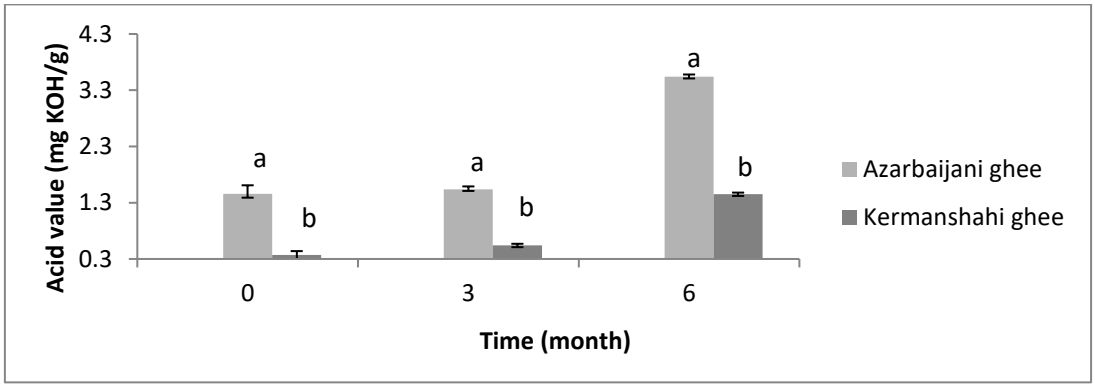


**Figure 2- Changes in acid value of ghee samples during 6 months of storage at 25 °C**

**پراکسید نمونه‌های روغن**

عدد پراکسید شاخصی است که یک ایده کلی در مورد مقدار هیدروپراکسیدهایی که معمولاً در مرحله اولیه اکسیداسیون تشکیل می‌شود، ارائه می‌دهد (فیندیک و آندیچ ۲۰۱۷). عدد پراکسید که به دما، زمان، اکسیژن و نور بستگی دارد، مراحل اولیه اکسیداسیون چربی را اندازه‌گیری می‌کند (محمود و همکاران، ۲۰۲۱). مقادیر بالای عدد پراکسید حاکی از پایداری اکسیداتیو پایین‌تر در نمونه‌های روغن می‌باشد (آقایی و رنجبر ۱۳۹۹). این شاخص در هر دو نمونه روغن در طول ٦ ماه نگهداری در دمای محیط به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد ($p<۰/۰۵$). در هر دو نمونه روغن در روز اول مقدار عدد پراکسید صفر بود. در ماه ششم دوره نگهداری تفاوت معنی‌داری در عدد پراکسید دو نمونه روغن مشاهده نگردید ($p>۰/۰۵$). (شکل ۳).

نتایج مطالعه گوسوایدو همکاران (۲۰۱۷) بر روی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی روغن گاو و گاومیش در طول مدت نگهداری، نشان داد تمام نمونه‌های روغن گاو و گاومیش (با و بدون آنتی‌اکسیدان) در ابتدا دارای عدد پراکسید صفر بودند، با گذشت دوره نگهداری در دمای$^{\circ}C$ ۳۷، عدد پراکسید تدریجاً در همه نمونه‌ها افزایش یافت. پس از ۸ ماه نگهداری، عدد پراکسید نمونه‌های روغن کنترل گاو و گاومیش (بدون آنتی‌اکسیدان) به ترتیب تا ۳/۸۳ و $meqO_2/kg$ ٤/۲۲ افزایش یافت. افزایش عدد پراکسید در نمونه‌های روغن حاوی آنتی‌اکسیدان (BHA) افزوده شده، نسبت به نمونه‌های کنترل فاقد آنتی‌اکسیدان، کمتر بود. نتایج مقادیر پراکسید در تحقیق حاضر با نتایج مطالعه این محققان مطابقت دارد، ولی میزان افزایش این شاخص در گزارش آنها بیشتر بوده است.

کیرازچی و جاویدپور (۲۰۰۸) افزایش عدد پراکسید را در نمونه‌های روغن در طی دوره نگـهداری ۳۰ روزه در دمـای $5^{\circ}C$ گزارش کردند. عدد پراکسید نمونه‌های روغن در روز خریداری بین $meqO_2/kg$ ۱۲/۸٤– ۰/۷۸ و پس از ۳۰ روز نگهداری در دمای $5^{\circ}C$ به $meqO_2/kg$ ۱٦/۰۷– ۰/۸۷ افزایش یافت. فیندیک و آندیچ (۲۰۱۷) نیز در مطالعه تعیین خصوصیات شیمیایی و میکروبی ۱۰ نمونه روغن حیوانی خریداری شده از فروشگاه‌های استان وان، عدد پراکسید را $meqO_2/kg$ ۱۰/۵– ٤/۳ گزارش کردند. مقادیر پراکسید در مطالعه حاضر پایین‌تر از مقادیری است که توسط این محققان گزارش شده است. بر اساس گزارش پناسرنا و رسترپو بتانکور (۲۰۱۹) نمونه‌های روغن حیوانی تازه پس از تولید، هیچ اکسیداسیونی نشان ندادند و مقدار عدد پراکسید در آنها صفر (میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم) بود. نتایج تحقیق حاضر با نتایج این محققان مطابقت دارد. سلیمان و همکاران (۲۰۱۳)، افزایش مقدار پراکسید را به اکسیداسیون اسیدهای چرب در اثر عوامل متعددی مانند دمای بالا، بسته‌بندی در ظروف نفوذ پذیر به نور و شل بودن درب ظروف نگهداری و همچنین نگهداری و حمل و نقل نامناسب نسبت دادند. در مطالعه حاضر افزایش پراکسید نمونه‌های روغن احتمالاً به علت گذشت زمان نگهداری باشد.

تفاوت ساختاری اسیدهای چرب که ازتفاوت در طول زنجیره، درجه غیراشباعیت و محل قرارگیری پیوندهای دوگانه و شکل فضایی ایزومرهای آن ناشی می‌گردد، احتمالاً سرعت اکسیداسیون آن‌ها را تحت تأثیرقرار می‌دهد. همچنین محتوای اسیدهای‌چرب آزاد بالا روغن را مستعد اکسیداسیون می‌کند (سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد/ سازمان بهداشت جهانی۱۹۹۳).

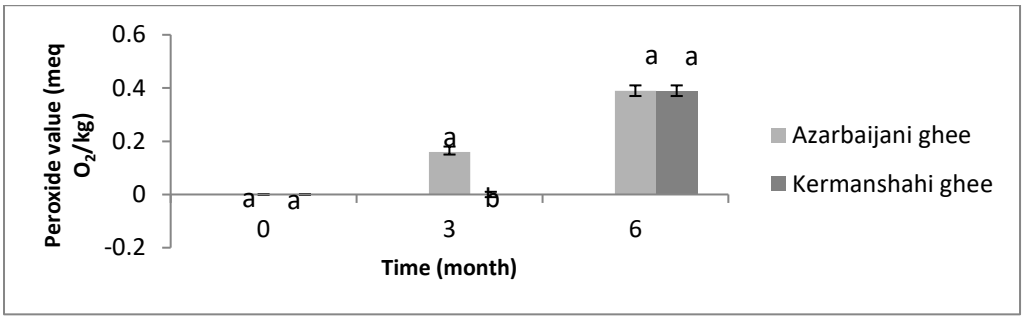


**Figure 3 - Changes in the peroxide value of ghee during 6 months of storage at 25 °C**

**پروفایل اسیدهای چرب نمونه‌های روغن**

پروفایل اسیدهای چرب نمونه‌های روغن در جدول ۲ نشان داده شده است. در هر دو نمونه روغن حیوانی، اسیدهای چرب اشباع، غالب بودند. در بین اسیدهای چرب اشباع، پالمیتیک اسید، میریستیک اسید و استئاریک اسید، اسیدهای چرب عمده را تشکیل می‌دادند. اسیدهای چرب اشباع در روغن زرد آذربایجانی و کرمانشاهی به ترتیب ٦٧/٩٣٪ و ٦٤/٩٨٪ و مجموع کل اسیدهای چرب تک‌غیراشباع و چندغیراشباع در روغن زرد آذربایجانی و کرمانشاهی به ترتیب ۳۲/۰۷ و ۳۵/۰۲٪ بود که حاکی از بالاتر بودن میزان اسیدهای چرب غیراشباع در روغن کرمانشاهی بود. این نتیجه با نتایج کار پژوهشی پناسرنا و رسترپوبتانکور (۲۰۲۰) و آنتونی و همکاران (۲۰۱۸) مطابقت دارد. پناسرنا و رسترپوبتانکور (۲۰۲۰) گزارش کردند اسیدهای چرب پالمیتیک (۲۸–۲٤٪)، استئاریک (۱٤–۹٪)و میریستیک (۱۰–۸٪) سه اسید چرب اشباع اصلی موجود در روغن گاومیش و گاو بودند، چنین گزارشی توسط آنتونی و همکاران (۲۰۱۸) نیز ارائه شد.

مقادیر اسیدهای چرب بوتیریک (C4: 0) و کاپریلیک (C8:0) در هر دو نمونه روغن کرمانشاهی و روغن زرد مشابه بود، ولی میانگین مقادیر کاپروئیک (C6: 0) و کاپریک اسید (C10: 0) به طور معنی‌داری در روغن زرد آذربایجانی بالاتر بود (p< ۰/۰۵). در مطالعه پناسرنا و رسترپو بتانکور (۲۰۲۰) میانگین مقادیر اسید بوتیریک، اسید کاپروئیک، اسید کاپریلیک و اسید کاپریک در روغن گاو به ترتیب ۱/۸۷٪، ۱/٤٤٪، ۰/۹۹٪ و ۲/۵۵٪ گزارش شد. میانگین مقادیر اسیدهای چرب مذکور در تحقیق حاضر، پایین‌تر از میانگین مقادیر این اسیدهای چرب، در مطالعه این پژوهشگران بود.

مقدار لوریک اسید (C12:0) در نمونه روغن کرمانشاهی به طور معنی‌داری بالاتر بود (p<۰/۰۵)، در حالی که مقدار پنتادکانوئیک اسید (C15:0) در روغن زرد آذربایجانی به طور معنی‌داری بیشتر بود (p<۰/۰۵). اختلاف معنی‌داری در مقدار پالمیتیک اسید (C16:0) (اسید چرب اشباع عمده) بین دو نمونه روغن مشاهده نگردید. میانگین مقدار این اسید چرب در گزارش پناسرنا و رسترپو بتانکور (۲۰۲۰) در روغن گاوی ۲٤/۰۳٪ اعلام شد. مقدار این اسید چرب در نمونه‌های روغن مطالعه حاضر بالاتر از مقدار گزارش شده توسط این محققان می‌باشد.

مقدار پالمیتولئیک اسید (C16:1) در روغن کرمانشاهی به طور معنی‌داری بالاتر از نمونه روغن زرد آذربایجانی بود (p< ۰/۰۵). میانگین مقدار این اسید چرب در تحقیق پناسرنا و رسترپو بتانکور (۲۰۲۰) در روغن گاوی ۱/۱۸٪ گزارش شد. در روغن زرد آذربایجانی مقادیر اسیدهای چرب هپتادکانوئیک (C17:0) و استئاریک (C18:0) به طور معنی‌داری بالاتر از روغن کرمانشاهی بود (p< ۰/۰۵).

اولئیک اسید (C18:1) در هر دو نمونه روغن، بیشترین مقدار اسیدهای چرب تک‌غیراشباع را تشکیل می‌داد و نمونه‌های روغن از نظر مقدار این اسید چرب با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشتند (p> ۰/۰۵). بر اساس نتیجه تحقیق پناسرنا و همکاران (۲۰۱۹) نیز، اولئیک اسید، اسید چرب غالب در بین اسیدهای

چرب تک‌غیراشباع در نمونه روغن گاوی بود و مقدار آن در
روغن گاوی ۲۰/۰٤٪ گزارش شد.

**Table 2- Fatty acid profile of ghee samples(Mean± SD)**

| Fatty acids (%) | Azerbaijani ghee | Kermanshahi ghee |
|---|---|---|
| Butyric acid (C4:0) | 1.51±0.07[a] | 1.46±0.06[a] |
| Caproic acid (C6:0) | 0.67±0.08[a] | 0.56±0.05[b] |
| Caprylic acid (C8:0) | 0.03±0.01[a] | 0.03±0.02[a] |
| Capric acid (C10:0) | 2.09±0.05[a] | 1.93±0.06[b] |
| Lauric acid (C12:0) | 3.01±0.04[b] | 4.07±0.01[a] |
| Myristic acid (C14:0) | 12.25±0.03[a] | 12.42±0.01[a] |
| Myristoleic acid (C14:1, *cis*-9) | 1.35±0.03[b] | 1.84±0.04[a] |
| Pentadecanoic acid (C15:0) | 1.66±0.02[a] | 1.49±0.02[b] |
| Palmitic acid (C16:0) | 32.55±0.45[a] | 31.74±0.88[a] |
| Palmitoleic acid (C16:1, *cis*-9) | 2.35±0.45[b] | 2.72±0.04[a] |
| Margaric acid (C17:0) | 1.09±0.01[a] | 0.83±0.02[b] |
| Stearic acid (C18:0) | 12.77±0.32[a] | 10.33±0.06[b] |
| Oleic acid (C18:1, *cis*-9) | 24.72±0.18[a] | 25.79±0.82[a] |
| Linoleic acid (C18:2, *cis*-9,12) | 1.95±0.44[b] | 2.77±0.01[a] |
| Linolenic acid (C18:3, *cis*-6,9,12) | 1.17±0.12[a] | 1.02±0.02[a] |
| Arachidic acid (C20:0) | 0.30±0.01[a] | 0.12±0.02[b] |
| Conjucatedlinoleic acid(C18:*cis*-9, *trans*-11) | 0.98±0.01[a] | 0.88±0.12[a] |
| Saturated fatty acids (SFA) | 67.93 | 64.98 |
| Monounsaturated fatty acids (MUFA) | 27.97 | 30.35 |
| Polyunsaturated fatty acids (PUFA) | 4.10 | 4.67 |

Mean with different superscripts in a row differs significantly ($p<0.05$).

مقادیر اسید لینولئیک در روغن زرد آذربایجانی و کرمانشاهی به ترتیب ۱/۹۵ و ۲/۷۷٪ بود که در روغن کرمانشاهی به طور معنی‌داری بالاتر از نمونه روغن زرد آذربایجانی بود (۰/۰۵ >p). در مطالعه پناسرنا و رسترپو بتانکور(۲۰۲۰)، مقدار اسیدلینولئیک و اسید لینولنیک نمونه روغن گاوی به ترتیب ۱٪/٦٤ و ۰/٦٦٪ گزارش شد. مقادیر اسید آراشیدیک در روغن زرد آذربایجانی به طور معنی‌داری بالاتر از نمونه روغن کرمانشاهی بود (۰/۰۵ >p)، در حالی که میانگین مقادیر اسید لینولئیک کونژوگه در روغن زرد آذربایجان و کرمانشاهی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (۰/۰۵ <p).

تفاوت در رژیم غذایی یا اکوسیستم میکروبی دام‌ها ممکن است بر تفاوت‌های مشاهده شده در پروفایل اسیدهای چرب تأثیر داشته باشد. رژیم غذایی (کیفیت علوفه، کیفیت مراتع، جیره غذایی) تأثیر زیادی بر پروفایل اسیدهای چرب شیر در نشخوارکنندگان دارد (خیاوسارد و همکاران ۲۰۱۵). سازگاری دام‌ها با محیط ناملایم؛ مانند کارایی متابولیک خاص، آب و هوای منطقه، روش‌های پرورش دام (گوا و همکاران ۲۰۱۲) یا تفاوت در ترکیب میکروبی شکمبه (چن و همکاران ۲۰۱۵) نیز ممکن است از عوامل مؤثر در متابولیسم چربی باشد.

**ارزیابی میکروبی تیمارها**

تعداد کل میکروب‌های هوازی به عنوان شاخصی از بهداشت محصول مطرح می‌باشد و برای پیش‌بینی پایداری محصول اهمیت دارد (موکیسا و کیوانوکا ۲۰۱۸). در حال حاضر، استاندارد میکروبی برای روغن حیوانی در ایران و کدکس مواد غذایی وجود ندارد. از این‌رو، خصوصیات میکروبی روغن کره بر اساس کره ارزیابی شد. طبق نتایج آنالیز میکروبی، نمونه‌های روغن زرد آذربایجانی و روغن گاو کرمانشاهی به ترتیب دارای بار کلی میکروبی log ۰/۷٦CFU/g و ۱/۳۲ log CFU/g بودند و بار کلی میکروبی در روغن زرد آذربایجانی به طور معنی‌داری پایین‌تر از روغن کرمانشاهی بود ($p<۰/۰۵$). همچنین نتایج حاصل از جستجو و شمارش کلی‌فرم‌ها، *استافیلوکوکوس اورئوس* کوگولاز مثبت و کپک و مخمرها در نمونه‌های روغن، حاکی از عدم آلودگی نمونه‌های روغن به این میکروارگانیسم‌ها بود. عدم آلودگی به این میکروارگانیسم‌ها می‌تواند به محتوای رطوبتی پایین و محتوای چربی بالا برای مهار رشد این میکروارگانیسم‌ها مرتبط باشد. علاوه بر این، شرایط بسته‌بندی و عملیات حرارتی در طول ساخت ممکن است به عدم وجود میکروارگانیسم‌ها کمک کند (نکرا و همکاران، ۲۰۲۳).

نمونه‌های مورد مطالعه در این پژوهش از نظر میکروبی با استاندارد ملی کره مطابقت داشتند. در استاندارد ملی ایران به شماره ۲٤۰٦، حد مجاز کلیفرم، CFU/g ۱۰>، *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز (+)، منفی و کپک و مخمر، $CFU/g ۱۰^{۲}>$ تعیین شده است (استاندارد ملی ایران ۱۳۹۵). نتایج مطالعه فیندیک و آندیچ (۲۰۱۷)، بر روی ۱۰ نمونه روغن حیوانی نشان داد که هیچ یک از نمونه‌های روغن کره دارای سطوح قابل تشخیص میکروارگانیسم‌های کلیفرم نبودند. شمارش کپک و مخمر در نمونه‌های روغن log FU/g ۱/۵-۱و تعداد باکتری‌های لیپولیتیک در محدوده log CFU/g٦/۵-۱/۲، شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک در محیط MRS، log CFU/g ۳/۱-۲/۰ و شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک در محیط M17، log CFU/g ۳/۰-۱/۹ گزارش شد. این محققان بیان کردند که برخی از میکروارگانیسم‌ها احتمالاً با وجود اعمال فرآیند حرارتی هنوز زنده می‌مانند؛ واقعیتی که می‌توان آن را به ویژگی محافظت‌کنندگی چربی‌ها و مقدار فعالیت آبی کمی که هنوز در روغن حیوانی وجود دارد، نسبت داد (فیندیک و آندیچ ۲۰۱۷).

پناسرنا و رسترپوبتانکور (۲۰۲۰) تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی (CFU/g)، تعداد کل کلیفرم (MPN/g)، تعداد کلیفرم‌های مدفوعی (MPN/g) و *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت در روغن حیوانی گاوی را به ترتیب ۱۰>، ۳/٦، ۳> و ۱۰۰> (CFU/g) گزارش کردند. بنا به اظهار محققان، عملیات حرارتی مورد استفاده در تولید روغن حیوانی، اغلب باکتری‌ها را از بین می‌برد و محتوای رطوبت بسیار کم آن، اجازه رشد به بیشتر میکروارگانیسم‌ها را نمی‌دهد (کیرازچی و جاویدپور ۲۰۰۸).

**نتیجه‌گیری**

طبق نتایج به دست آمده از این تحقیق، از نظر برخی از خصوصیات شیمیایی از جمله درصد اسیدهای چرب، عدد اسیدی و عدد پراکسید، اختلاف معنی‌داری بین دو تیمار روغن مشاهده گردید. با گذشت مدت زمان نگهداری در دمای محیط، پایداری اکسیداتیو در هر دو نمونه روغن کاهش یافت. به طور کلی نمونه‌های روغن، حاوی مقادیر بالاتری از اسیدهای چرب اشباع و مقادیر پایین‌تری از اسیدهای چرب غیراشباع بودند. مقادیر اسیدهای چرب غیراشباع در روغن کرمانشاهی بالاتر بود. بار میکروبی نمونه‌های روغن مورد مطالعه در حد قابل قبول بود و آلودگی به کلی‌فرم‌ها، *استافیلوکوکوس اورئوس* کوگولاز مثبت و کپک و مخمرها مشاهده نشد. پیشنهاد می‌شود اثر استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتتیک در ماندگاری و پایداری اکسیداتیو روغن‌های حیوانی مورد مطالعه قرار گیرد.

## References

آقایی ا و رنجبر م ۱۳۹۹، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره‌های گیاه شاه اسپرغم و تاثیر آنها در ثبات اکسیداتیو روغن آفتابگردان. پژوهش‌های صنایع غذایی، ۳۰ (٤)، ۱۹۸-۱۸۱.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی، ١٣٧٤. روش جستجو و شمارش قارچ‌ها (کپک‌ها و مخمرها) به شمارش پرگنه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، استاندارد ملی ایران، شماره ۹۹۷.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی، ١٣٨٤. کره، شیرهای تخمیری و پنیر تازه شمارش میکروارگانیسم‌های آلوده کننده - روش شمارش کلی در ۳۰ درجه سلسیوس - روش آزمون میکروبیولوژی، استاندارد ملی ایران، شماره ٨٢٤٨.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی، ۱۳۹۰. روغن ها و چربی‌های گیاهی و حیوانی – اندازه‌گیری عدد اسیدی و اسیدیته- روش آزمون (تجدید نظر اول)، استاندارد ملی ایران، شماره ٤١٧٨.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ١٣٧٦. تجزیه متیل استر اسیدهای چرب به روش گاز کروماتوگرافی، استاندارد ملی ایران، شماره ٤٠٩١.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی، ١٣٧٤. روش شناسایی و شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز (+) در مواد غذایی، استاندارد ملی ایران، شماره ١١٩٤.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی، ۱۳۷۵. روش جستجو و شمارش کلی فرم‌ها در مواد غذایی (تجدید نظر سوم)، استاندارد ملی ایران، شماره ٤٣٧.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی، ۱۳۹۵. میکروبیولوژی شیر و فرآورده‌های آن – ویژگی‌ها و روش‌های آزمون (تجدید نظر سوم)، استاندارد ملی ایران، شماره ٢٤٠٦.

Aditya N, and Divya MP, 2018. A Study on incorporation of natural antioxidants for the shelf life extension of ghee. International Journal of Engineering Research and Applications 8(1): 10-16.

Antony B, Sharma S, Mehta BM, Ratnam K and Aparnathi KD, 2018. Study of Fourier transform near infrared (FT-NIR) spectra of ghee (anhydrous milk fat). International Journal of Dairy Technology 71(2): 484-490.

AOCS, 2017. AOCS official method Cd 8-53: Peroxide value acetic Acid-chloroform method. In: Firestone D, editor. Off. Methods Recomm. Pract. AOCS. 7th ed., Urbana,Il: AOCS Press.

AOCS, 2017. AOCS Official Method Ce 2-66: Preparation of Methyl Esters of Fatty Acids. In: Firestone D (ed) Official Methods and Recommended Practices of the AOCS, 7th ed. AOAC International: Urbana, Il.

Ayton J, Mailer RJ and Graham K, 2012. The effect of storage conditions on extra virgin olive oil quality. RIRDC.

Bille PG and MJ Kandjou, 2008. Chemical and Sensory quality of Omaze Uozongombe (ghee), butter oil made by smallholder Herero farmers in Namibia. African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development 8(1): 17-27.

Chen YB, Lan DL, Tang C, Yang XN, Li J, 2015. Effect of DNA extraction methods on the apparent structure of yak rumen microbial communities as revealed by 16S rDNA sequencing. Polish Journal of Microbiology 64: 29–36.

Codex Alimentarius, 2018. Milk and milk products (2nd ed.). Codex Standard for Milk fat Products Stan 280-1973.

FAO/WHO, 1993. Composition and selected uses of fats and oils in food. In: Report of the joint FAO/WHO expert consultation on fats and oils in human nutrition, Rome, Italy.

Fındık O and Andiç S, 2017. Some chemical and microbiological properties of the butter and the butter oil produced from the same raw material. LWT 86: 233-239.

Gandhi K, Arora S, Pawar N and Kumar A, 2013. Effect of Vidarikand (extracts) on oxidative stability of ghee: A comparative study. Research and Reviews: Journal of Dairy Science and Technology 2(1): 1-10.

Gosewade, S., Gandhi, K., Ranvir, S., Kumar, A. and Lal, D. 2017. A study on the physico-chemical changes occurring in ghee (butter oil) during storage. Indian Journal of Dairy Science, 70 (1): 81-88.

Guo XS, Zhang Y, Zhou JW, Long RJ, Xin GS, Qi B, Ding LM and Wang HC, 2012. Nitrogen metabolism and recycling in yaks (Bos grunniens) offered a forage–concentrate diet differing in N concentration. Animal Production Science 52: 287–296.

Kapadiya Dhartiben B, 2017. Comparison of physicochemical, nutritional and sensory aspects of ghee obtained from different species. International Journal of Trend in Scientific Research and Development 1(6): 1231-1236.

Khiaosa-ard R, Kreuzer M, Leiber F, 2015. Apparent recovery of C18 polyunsaturated fatty acids from feed in cow milk: a meta-analysis of the importance of dietary fatty acids and feeding regimens in diets without fat supplementation. Journal of Dairy Science 98: 6399–6414.

Kirazci A, and Javidipour I, 2008. Some chemical and microbiological properties of ghee produced in Eastern Anatolia. International Journal of Dairy Technology 61(3): 300-306.

Kumar A, Upadhyay N, Padghan PV, Gandhi K, Lal D and Sharma V. 2015. Detection of vegetable oil and animal depot fat adulteration in anhydrous milk fat (ghee) using fatty acid composition. MOJ Food Processing and Technology 1(3): 13-20.

Mahmoud SF, Kebary, KM, Hussein SA, Badawi, RM and Saleh DI, 2021. Improving the Oxidative Stability of Anhydrous Milk Fat by Adding Natural Antioxidant. Journal of AOAC International 104 (6): 1661-1666.

Mukisa IM and Kiwanuka BJ, 2018. Traditional processing, composition, microbial quality and sensory characteristics of Eshabwe (ghee sauce). International Journal of Dairy Technology 71(1): 149-157.

Nekera KD, Tola YB, Gemechu AT and Kuyu C G, 2023. Chemical, microbial, and sensory characteristics of traditional cow ghee as affected by modified atmospheric packaging. LWT 190: 115558.

Peña-Serna C, Gómez-Ramirez B and Zapata-López N, 2019. Nutritional aspects of ghee based on lipid composition. Pakistan Journal of Nutrition 18: 1107-1114.

Peña-Serna C and Restrepo-Betancur L, 2020. Chemical, physicochemical, microbiological and sensory characterization of cow and buffalo ghee. Food Science and Technology 40: 444-450.

Sulieman AME, Mohammed MB and Ali AO, 2013. Physicochemical and sensory properties of traditionally and laboratory made ghee (Samin) of the Sudan. International Journal of Food Science and Nutrition Engineering 3(1): 7-11.