مطالعه تاثیر رنت میکروبی، نوترکیب و حیوانی روی برخی خصوصیات کمی و کیفی پنیر سفید ایرانی

شیرین فروزان[1]*، اصغر خسروشاهی اصل[2]، اقدس تسلیمی[3]، اشکان مددلو[4]، مرتضی مشایخ[3]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
2- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
3- عضو هیئت علمی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
4- دانشجوی دوره دکتری فناوری تبدیل مواد غذایی، دانشکده بیوسیستم کشاورزی، دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: 88/3/6 **تاریخ پذیرش:**88/2/22)

چکیده

در این تحقیق رنتهای نوترکیب، میکروبی و حیوانی، در تولید پنیر سفید ایرانی استفاده گردیده و پنیرهای تولیدی از نظر ویژگیهای شیمیایی، شاخص نرخ پروتئولیز، خصوصیات بافتی و برخی ویژگیهای حسی در طول دوره رسیدن مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفتند. نتایج بدست آمده نشان داد که درصد ماده خشک، نمک و *pH* هر سه نوع پنیر با یکدیگر اختلاف معنی دار داشتند ($P<0/05$). پنیرهای تولید شده با رنت حیوانی و میکروبی به ترتیب دارای بیشترین و کمترین راندمان بودند. نتایج ارزیابی نرخ پروتئولیز حاکی از آن بود که هرسه تیمار از نظر شاخص مزبور با یکدیگر اختلاف معنی دار داشته ($P<0/05$) و این میزان در پنیر تولید شده با رنت میکروبی به طور معنی داری بیشتر از دو نوع دیگر بود. بیشترین و کمترین سفتی در پایان دوره رسیدن به ترتیب متعلق به پنیرهای تولید شده با رنت حیوانی و میکروبی بود. نتایج بررسی آرایش شبکه پروتئینی پنیر نیز نشان داد که با افزایش دوره رسیدن، ماتریکس پروتئینی کاهش یافته و بیشترین و کمترین کاهش به ترتیب مربوط به پنیرهای تولید شده با رنت میکروبی و حیوانی بود. از نظر ارزیابی حسی، بیشترین امتیاز مربوط به نمونه شاهد و کمترین مربوط به پنیر تهیه شده با رنت میکروبی بود. با توجه به یافته های این بررسی، پنیر تولید شده با رنت میکروبی نسبت به رنت حیوانی و نوترکیب از کیفیت پایین تری برخوردار بود و به دلیل کمبود رنت حیوانی، نحوه عمل رنت میکروبی و کیفیت پنیر حاصل از آن، به نظر می رسد که رنت نوترکیب بتواند به عنوان جایگزین مناسب در تولید پنیر مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژه گان: رنت حیوانی، رنت نوترکیب، رنت میکروبی، خصوصیات فیزیکوشیمیایی، پنیر سفید ایرانی

1- مقدمه

پنیر از جمله مواد غذایی است که پروتئین آن مرغوب بوده و از نظر دارا بودن اسید های آمینه ضروری بسیار غنی می باشد [1و 2]. در ایران تولید پنیر به روش سنتی از گذشته معمول بوده است. پنیر سفید ایرانی نوعی پنیر سفید آب نمکی مشابه پنیر سفید ترکیه و پنیر فتا است. گرچه با پنیر فتا از نظر روش تولید کمی متفاوت است. این نوع پنیر از شیر گاو، بدون نمک زنی خشک[5] لخته بدست می آید و دوره رسیدن آن 90-40 روز در آب نمک می باشد [5و 4و 3] امروزه انواع مختلف مایه پنیر اعم از حیوانی، میکروبی و به ندرت گیاهی در تولید پنیر سفید ایرانی مورد

*مسئول مکاتبات: Sh_Forouzan2005@yahoo.com

1. Dry salting

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-10]

استفاده قرار می گیرند. مایه پنیری که به طور سنتی در اکثر نقاط جهان برای انعقاد شیر استفاده می شود، منشا حیوانی دارد که عمدتاً از شیردان گوساله شیرخوار استخراج می شود. اجزای فعال مایه پنیر حیوانی شامل کیموزین وپپسین می باشد که کیموزین جزء اصلی را تشکیل داده و یک اندوپپتیداز است. عواملی همچون کاهش تولید، متغیر بودن کیفیت و بالا بودن قیمت مایه پنیر حیوانی، باعث شد تولیدکنندگان پنیر از مایه پنیر های دیگری به عنوان جایگزین مایه پنیر حیوانی استفاده کنند. این مایه پنیرها شامل گونه های میکروبی، گیاهی و نوعی مایه پنیر که از طریق مهندسی ژنتیک تولید می شود و تقریباً مشابه مایه پنیر حیوانی است، می باشد[6].

بیشتر مایه پنیرهای گیاهی از گیاه *Cynara cardunculus* از تیره *Compositae* به دست می آیند و پروتئیناز استخراجی، سینارین نامیده می شود. منابع میکروبی به دو دسته باکتریایی و قارچی تقسیم می شوند. در بین منابع باکتریایی، جنس باسیلوس اهمیت بیشتری دارد و در بین قارچ ها *Mucor miehei*، *Mucor pusillus*، *Parasitica Endothia* و *Byssochlamys Fulva* جلب توجه کردند که در این میان پروتئاز حاصل از *Mucor miehei* مناسب ترین جایگزین قارچی برای مایه پنیر حیوانی معرفی شده است. پروتئازهای میکروبی دارای چندین مزیت از جمله تولید در مقیاس نامحدود، دوره رشد کوتاه مدت تا تولید آنزیم، کم هزینه بودن فرایندهای تولید مایه پنیر میکروبی و در نتیجه پایین بودن هزینه تولید آن ها می باشد [7 و 8]. مایه پنیر نوترکیب که از طریق مهندسی ژنتیک ساخته می شود، در واقع کیموزین تولید شده از تخمیر *Aspergillus niger var.Awamori* می باشد[3]. هدف از این تحقیق، مطالعه تاثیر نوع مایه پنیر بر خصوصیات شیمیایی، رئولوژی، ریز ساختار وحسی پنیر سفید ایرانی می باشد.

2- مواد و روشها

2-1- روش تهیه پنیر

برای مطالعه تاثیر انواع مختلف مایه پنیر، دو تیمار همراه با یک شاهد به صورت زیر در سه تکرار تهیه شد: پنیر سفید ایرانی تهیه شده توسط سه نوع رنت حیوانی (شاهد)، نوترکیب و میکروبی. نمونه های پنیر با استفاده از 7 کیلوگرم شیر استاندارد شده برای هر تیمار و نمونه شاهد تولید گردید. آغازگرمصرفی مایه کشت شرکت لبنی کریستین هانسن دانمارک بود. *FRC-65* حاوی گونه های لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه کرموریس[2]، لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه لاکتیک[3]، استرپتوکوکوس ترموفیلوس[4] و لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس[5] بود. به عنوان انعقادگر، رنت حیوانی با نام تجاری کاگلیفیسیو کلریسی[6] ساخت شرکت کاداراگو[7] ایتالیا محتوی 50% کیموزین و 50% پپسین، به مقدار 0/245 گرم به ازای هر کیلوگرم شیر، مایه پنیر قارچی رنی لسه[8]، تولید شده بوسیله *Mucor.miehei* ساخت شرکت گیست براکادوس[9] کشور هلند، به مقدار 0/052 گرم به ازای هر کیلوگرم شیر و کیموزین به دست آمده از تخمیر آسپرژیلوس نیجر واریته آواموری (رنت استاندارد*Chy-max*، شرکت لبنی هانسن، دانمارک) به مقدار 0/031 گرم به ازای هر کیلوگرم شیر مورد استفاده قرار گرفتند. رنت های مصرفی در30 برابر آب رقیق و به هر وت 7 کیلوگرمی شیر افزوده شدند.

پنیرها مطابق روش *Madadlou et al.,* 2006 و *Khosrowshahi et al., 2006* تهیه شده و پس از تهیه در دمای 8-5 درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

2-2- آزمایش های شیمیایی

ویژگیهای شیمیایی پنیرها شامل pH مطابق استاندارد شماره 2852، رطوبت 1753، نمک 1809 و پروتئین 2344، در هفته های اول، چهارم و هشتم دوره رسیدن اندازه گیری شدند.

سرعت پروتئولیز در تیمارهای مختلف پنیر در طی رسیدن، با اندازه گیری مقدار تیروزین- تریپتوفان آزاد مطابق روش *et Khosrowshahi al.,2006* در محلول 12% TCA اندازه گیری شد.

2. Lactococcus lactis subsp.cremoris
3. Lactococcus lactis subsp.lactic
4. Streptococcus thermophilus
5. Lactobacillus
6. Caglificio clerici
7. Cadarago
8. Rennilese
9. Gist Bracadus

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-10]

2-3-اندازه گیری سفتی بافت پنیر های تولید شده

فشرش تک محوری، ساده ترین آزمایش بنیادین است. تنش در نقطه گسیختگی با سفتی پنیر ارتباط مستقیم دارد[9]. این آزمایش با استفاده از دستگاه آزمایش مجهز به وزنه فشارنده 500 نیوتنی مطابق روش *Madadlou et al.,2006* انجام گرفت.

2-4- ریز ساختار

از میکروسکوپ الکترونی نگارنده پوششی[10] به منظور تهیه عکس های با بزرگ نمایی پایین حدود 500 تا 1500 برای بررسی آرایش شبکه بافت پنیر استفاده شد. نمونه های پنیر برای ریز نمایی الکترونی اسکنی با استفاده از روش *Drake (1996)* با اصلاحاتی آماده شدند. قطعات پنیر با کاردی برنده به مکعب هایی به طورتقریبی 5 تا 6میلی متر مکعب بریده شده و در گلوترآلدهید 2/5 درصد به مدت 3 ساعت غوطه ور شدند تا تثبیت گردند. مکعب ها 6 بار با آب مقطر شستشو داده شده و با استفاده از سری درجه بندی شده (40،55،70،85،90و96%) محلول اتانول به مدت 30 دقیقه برای هر درجه، آب زدایی شدند. سپس نمونه ها 3 بار (هر بار10 دقیقه) در کلروفرم چربی زدایی شده و نمونه های چربی زدایی شده سرد گردیدند و تا زمانی که در ازت مایع به تکه هایی به طول تقریبی 1 میلی متری انجماد شکنی[11] بشوند با اتانول پوشانده شده و در یخچال نگهداری شدند. تکه های پنیر، به کمک چسب نقره بر روی پایه های آلومینیومی[12] نصب گردیده، در دستگاه پوشش دهنده- پاشنده[13] تا نقطه بحرانی خشک شده و به مدت 6 دقیقه با طلا پوشش داده شدند. نمونه ها در یک ریز نمای الکترونی اسکنی با کاربری در 15 کیلو ولت در چهار بزرگ نمایی500،800،1000و1500 عکس برداری شدند. عکس برداری ریز نمایی نمونه های پنیر درهفته های اول، چهارم و هشتم دوره رسیدن انجام گرفت.

2-5- اندازه گیری راندمان پنیر سازی

بازده پنیر سازی از تقسیم کردن وزن پنیر پیش از آب نمک گذاری به وزن شیر مصرف شده، محاسبه گردید.

10. Scanning Electron Microscopy
11. Freeze- fracturing
12. Aluminium stubs
13. Sputter- coater

2-6- بررسی خصوصیات ارگانولپتیکی پنیرهای تولیدی

برای ارزیابی حسی از 70 نفر از کارشناسان، کارکنان و دانشجویان گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، خواسته شد تا با آزمون نمونه های پنیر تولیدی که به طور تصادفی رمزگذاری شماره ای شده بودند، نظر خود را در مورد رنگ، عطر و طعم و بافت پنیر های مورد نظر با درج رتبه ای بین 1 تا 5 در فرم مربوطه بیان کنند. نتایج این فرم ها پس از جمع آوری جهت آنالیز آماری ناپارامتری به روش کروسکال والیس استفاده گردید. تمامی پنیرهای تولیدی از نقطه نظر رنگ، عطر و طعم، بافت و پذیرش کلی بر اساس مقیاس هدونیک 5 درجه ای (یک= نامطلوب ترین و پنج= مطلوب ترین) مورد ارزیابی قرار گرفتند. قطعات پنیر به تکه هایی با اندازه استاندارد برای گاز زدن (1/3×1×1سانتی متر) بریده شده [12] و در داخل ظرف های پلاستیکی غیر قابل نفوذ به هوا که با اعداد سه رقمی تصادفی رمز گذاری شده بودند، قرار داده شد تا پیش از ارزیابی، به مدت دو ساعت در دمای اتاق به تعادل برسند. ارزیابی حسی تیمارها در هفته هشتم دوره رسیدن صورت گرفت.

2-7- تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایشات شیمیایی و فیزیکی در سه تکرار انجام گرفت و نتایج ارائه شده میانگین سه تکرار می باشد. به منظور ارزیابی داده ها از نرم افزار *SPSS* استفاده شد، به این ترتیب که برای تعیین وجود اختلاف معنی دار بین داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه[14] و برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون توکی[15] استفاده شد. برای آنالیز داده های حاصل از ارزیابی حسی، آزمون کروسکال والیس[16] مورد استفاده قرار گرفت.

3- نتایج و بحث

3-1 ویژگی های شیمیایی

ویژگی های شیمیایی شیر مصرفی مورد استفاده در پنیر سازی بدین صورت بود:

14. One way Anova
15. Tukey Test
16. Kruskal- Wallis Test

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-10]

رطوبت: 0/31 ±88/9 درصد پروتئین: 0/01 ±3/2 درصد چربی: 0/01 ± 3/9 درصد pH: 6/58 ± 0/01

3-2- بررسی تغییرات فیزیکی و شیمیایی پنیرها در طول دوره رسیدن

3-2-1- نتایج حاصل از آزمون pH

در مورد هر سه نوع پنیر، pH به طور منظم تاپایان دوره رسیدن کاهش یافت (p<0/01) (جدول 1). کاهش pH پنیر در طی دوره رسیدن ناشی از تکمیل نسبی تخمیر لاکتوز، تولید اسیدهای آمینه و اسید های چرب می باشد [13]. با توجه به این که مایه پنیر میکروبی دارای فعالیت پروتئولیتیکی غیر اختصاصی بالا می باشد و شدت پروتئولیز در مورد آن نسبت به مایه پنیر حیوانی و کیموزین نوترکیب بیشتر می باشد، تفاوت مشاهده شده در کاهش pH را می توان به تولید بیشتر امینواسید توسط این مایه پنیر نسبت [14و15]. بیشترین فعالیت پروتئولیتیک غیر اختصاصی مایه پنیرها به ترتیب در مایه پنیر میکروبی، مایه پنیر نوترکیب و کمترین در مایه پنیر حیوانی می باشد[16]. نتایج این مطالعه نشان دادکه در هفته اول pH پنیرتهیه شده با استفاده از مایه پنیرنوترکیب و میکروبی با یکدیگر اختلاف معنی دار نداشتند، در هفته چهارم pH پنیر تولید شده با استفاده از مایه پنیر حیوانی و نوترکیب با یکدیگر اختلاف معنی دار نداشتند ولی با میکروبی اختلاف معنی دار داشتند و در هفته هشتم دوره رسیدن هر سه نوع پنیر از نظر pH با یکدیگر اختلاف معنی دار داشتند (p<0/05). نتایج این تحقیق، یافته های علیزاده (1379) و*Irigoyen* و همکاران (2002) را تایید کرد.

3-2-2- نتایج حاصل از آزمون ماده خشک

مطابق یافته های این پژوهش درصد ماده خشک پنیر تولید شده با استفاده از مایه پنیر حیوانی در طول دوره رسیدن افزایش (p<0/01) [18] و مقدار آن در پنیر های تولید شده با مایه پنیر نوترکیب و مایه پنیر میکروبی در طول دوره رسیدن مرتباً کاهش یافت (p<0/01) (جدول 1). در هفته اول بیشترین درصد ماده خشک، مربوط به پنیر تهیه شده با استفاده از مایه پنیر میکروبی و کمترین درصد ماده خشک مربوط به پنیر تولید شده با استفاده از مایه پنیر حیوانی بود. در حالی که در هفته های چهارم و هشتم بیشترین درصد ماده خشک مربوط به پنیر تولیدی با استفاده از مایه پنیر حیوانی و کمترین درصد ماده خشک مربوط به پنیر تولیدی با استفاده از مایه پنیر میکروبی بود. یکی از عوامل موثر در تغییرات ماده خشک، آبگیری پروتئین ها می باشد. هر چه گروه های قطبی در یک ماتریکس پروتئینی بیشترا باشد، میزان آبگیری بیشتر خواهد بود و در نتیجه میزان ماده خشک پایین می آید [13]. با توجه به اینکه پروتئولیز با آزاد ساختن گروه های قطبی مثل گروه های آمین و کربوکسیل اسید های آمینه و پپتید ها باعث افزایش قابلیت حل شدن و جذب آب پروتئین ها می شود، لذا هر چه شدت پروتئولیز بالا باشد، به علت جذب آب بیشتر، درصدماده خشک پنیرکاهش می یابد[19]. در پنیر های تولید شده با استفاده از مایه پنیر نوترکیب و مایه پنیر میکروبی، در اوایل دوره رسیدن نسبت فعالیت منعقد کنندگی به پروتئولیتیکی بیشتر بوده و لذا منجر به افزایش ماده خشک گردیده است، زیرا هر چه قدرت منعقد کنندگی بیشتر باشد، آبدهی و سینرسیس بیشتر بوده و دلمه سفت تر شده و ماده خشک افزایش می یابد[13و19]. با گذشت مدت زمان رسیدن، در این دو نوع پنیر، ماده خشک شروع به کاهش نموده است که علت آن افزایش فعالیت پروتئولیتیکی مایه پنیر نسبت به فعالیت منعقد کنندگی آن می باشد. این امر باعث تخریب شبکه پروتئینی در اثر پروتئولیز بیش از حد و در نتیجه افزایش میزان آبگیری، ایجاد ترکیبات محلول و مولکولهای کوچک و انتشار این مواد از داخل پنیر به درون آب نمک و کاهش مواد معدنی گردیده است. روند افزایشی ماده خشک در مورد پنیر های تولید شده با استفاده از مایه پنیر حیوانی را می توان به بالا بودن نسبت فعالیت منعقد کنندگی به فعالیت پروتئولیتیکی آن نسبت داد که باعث می شود در طی زمان رسیدن، انعقاد تکمیل شده و در اثر سینرسیس و آبدهی شبکه پروتئینی متراکم تر و در نتیجه ماده خشک بیشتر حاصل آید [19]. نتایج این مطالعه نشان داد که در هفته اول، چهارم و هشتم دوره رسیدن هر سه نوع مایه پنیر از نظر ماده خشک با یکدیگر اختلاف معنی دار داشتند (p<0/05). نتایج حاصل از اندازه گیری ماده خشک در نمونه های پنیر با تحقیقات و*Irigoyen* و همکاران *(2002)* و*Brunner* و همکاران (1981) مطابقت دارد.

3-2-3- نتایج حاصل از آزمون نمک

وقتی پنیر در آب نمک قرار می گیرد، مولکول های NaCl به صورت یون های Na^+ و Cl^- به دلیل وجود اختلاف فشار اسمزی بین رطوبت پنیر و آب نمک، وارد پنیر شده و در نتیجه میزان نمک در هرسه نوع پنیر تا پایان دوره رسیدن افزایش می یابد (p<0/01) [5]. علت بالا بودن میزان نمک جذب شده در پنیر های تولید شده با مایه پنیر میکروبی نسبت به پنیر تولید شده با مایه پنیر حیوانی و نوترکیب را می توان به تخریب شبکه

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-10]

پروتئینی در اثر پروتئولیز بیش از حد توسط این مایه پنیر و از بین رفتن نقش ممانعت کنندگی آن در برابر ورود NaCl نسبت داد[19] (جدول 1). نتایج این مطالعه نشان داد که در هفته اول، چهارم و هشتم دوره رسیدن هر سه نوع پنیر از نظر میزان نمک با یکدیگر اختلاف معنی دار داشتند ($p<0/05$). نتایج حاصل از اندازه گیری میزان نمک در نمونه های پنیر با تحقیقات *Moatsou* و همکاران (2004) مطابقت دارد.

3-2-4- نتایج حاصل از آزمون تیروزین- تریپتوفان آزاد

در مورد هر سه نوع پنیر مقدار تیروزین- تریپتوفان آزاد که نشان دهنده سرعت پروتئولیز است، در طول دوره رسیدن افزایش

جدول 1 تاثیر نوع رنت و مدت زمان نگهداری روی برخی ویژگیهای پنیر آب نمکی

نوع رنت	حیوانی			نوترکیب			میکروبی		
هفته	1	4	8	1	4	8	1	4	8
pH	5/12 a	4/78 a	4/68 a	4/73 b	4/61 a	4/31 b	4/56 b	4/2 b	3/96 c
ماده خشک (%)	41/33 a	42/73 a	43/27 a	42/36 b	42/01 b	41/46 b	43/2 c	40/95 c	39/98 c
نسبت نمک به رطوبت	4/16 a	5/37 a	6/56 a	5/99 b	6/65 b	7/53 b	6/82 c	7/38 c	8/55 c
نسبت تیروزین- تریپتوفان آزاد به پروتئین	0/13 a	0/15 a	0/32 a	0/29 b	0/39 b	0/51 b	0/41 c	0/48 c	0/71 c
چربی در ماده خشک (%)	56/5 a	47/43 a	42/88 a	54/93 b	45/16 b	41/79 b	54/83 b	44/06 b	41/16 c
سفتی بافت (Kpa)	43/25 a	50/99 a	52/63 a	47/05 b	43/8 b	42/93 b	49/99 c	40/16 c	38/06 c
راندمان (%)	14/09 a	-	-	13/47 b	-	-	13/07 c	-	-

میانگین هایی که با حروف مختلف نشان داده شده اند، با آزمون توکی در سطح $\alpha=0/05$ با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند.

یافت ($p<0/01$) (جدول 1)[13،14،15،18 و20] ولی سرعت افزایش در پنیر تهیه شده با مایه پنیر میکروبی بیشتر از دو نوع دیگر بود. بالا بودن این مقدار را می توان به بالا بودن فعالیت پروتئولیتیکی غیر اختصاصی این مایه پنیر نسبت داد[7و21]. نتایج این مطالعه نشان داد که در هفته اول، چهارم و هشتم دوره رسیدن هر سه نوع پنیر از نظر میزان این شاخص با یکدیگر اختلاف معنی دار داشتند ($p<0/05$). نتایج این تحقیق با یافته های *Madadlou* و همکاران (*2006*) و *Khosrowshahi* و همکاران (2006) مطابقت دارد.

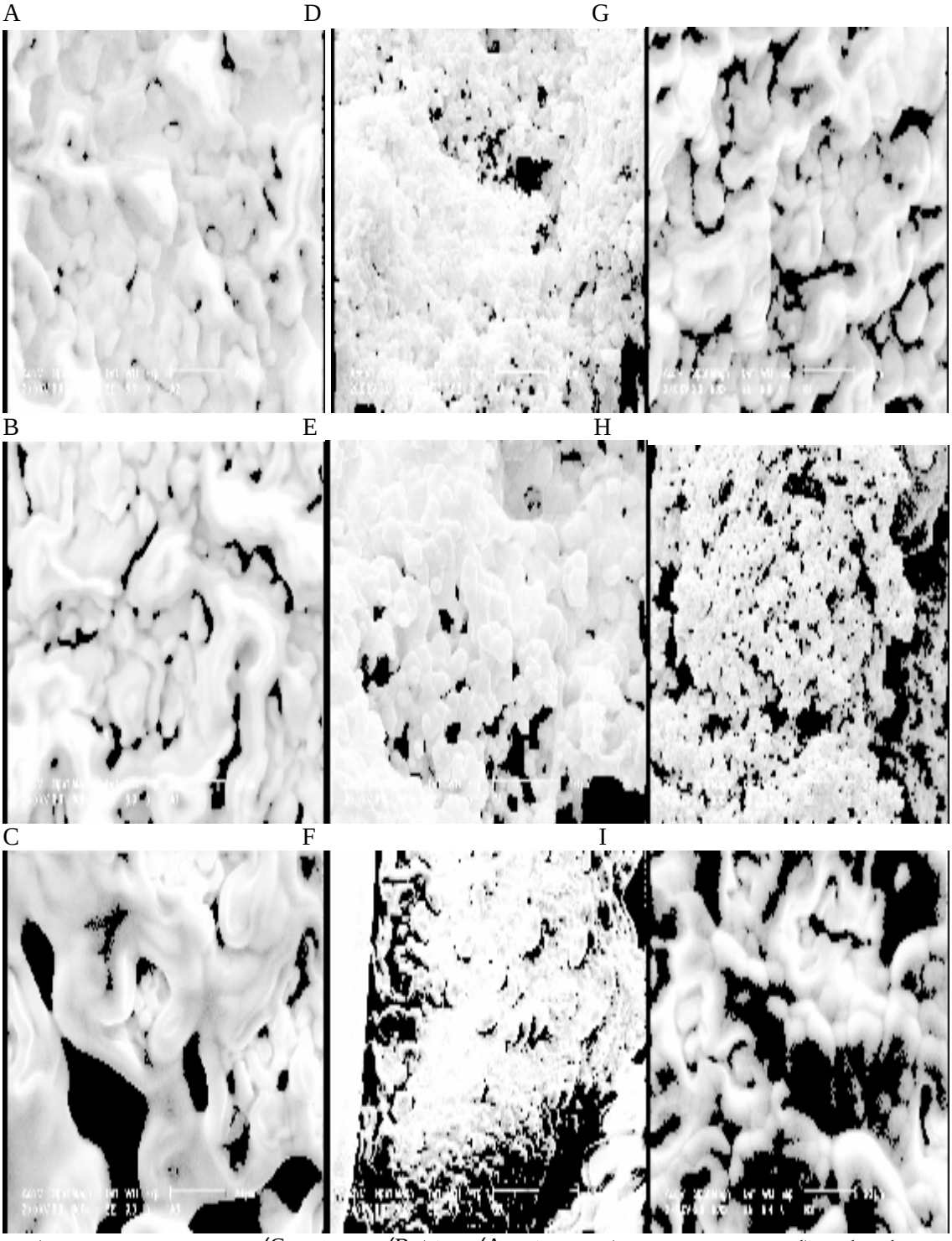
3-2-5- نتایج حاصل از آزمون میزان چربی پنیرها

در مورد هر سه نوع پنیر، درصد چربی در طول دوره رسیدن کاهش یافت، ولی میزان این کاهش در پنیر تهیه شده از رنت میکروبی بیشتر بود. کاهش درصد چربی در ابتدا بیشتر بود ولی با گذشت زمان به دلیل اثر مهارکننده اسیدهای چرب آزاد تولید شده و نمک بر فعالیت لیپاز، میزان این افت کمتر شد، به طوری که بین هفته های چهارم و هشتم اختلاف معنی داری در درصد چربی، در بین تمام نمونه های پنیر مشاهده نشد.

کاهش درصد چربی در طی دوره رسیدن ناشی از لیپولیز و تولید اسیدهای چرب می باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که در هفته اول و چهارم دوره رسیدن، چربی پنیر تهیه شده با استفاده از مایه پنیر نوترکیب و میکروبی با یکدیگر اختلاف معنی دار نداشتند ولی اختلاف آن ها با پنیر تولید شده توسط رنت حیوانی، معنی دار بود و در هفته هشتم دوره رسیدن هر سه نوع پنیر از نظر درصد چربی با یکدیگر اختلاف معنی دار داشتند ($p<0/05$). دلیل کاهش بیشتر درصد چربی در پنیر تهیه شده با رنت میکروبی، بالا بودن فعالیت پروتئولیتیک نسبت به فعالیت انعقادی و افت بیشتر چربی می باشد. نتیجه این تحقیق با یافته

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-10]

های *Barbano* و همکاران (*1992*) و *Azarnia* و همکاران (1997) مطابقت دارد.



شکل1 تصاویر میکروسکوپ الکترونی: پنیر تهیه شده توسط رنت حیوانی، A) هفته اول B) هفته چهارم و C) هفته هشتم، پنیر تهیه شده توسط رنت نوترکیب، D) هفته اول E) هفته چهارم و F) هفته هشتم، پنیر تهیه شده توسط رنت میکروبی، G) هفته اول H) هفته چهارم و I) هفته هشتم (بزرگ نمایی 800)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-10]

3-2-5- نتایج حاصل از آزمون سفتی پنیرها

سفتی بافت با مقدار ماده خشک متناسب است [22]. با گذشت مدت زمان رسیدن، سفتی بافت پنیر تهیه شده با استفاده ازمایه پنیر حیوانی افزایش ($p<0/01$) و سفتی بافت دو نوع پنیر دیگر کاهش یافت ($p<0/01$) (جدول 1) (به دلیل تغییرات ذکر شده در ماده خشک پنیرها). نتایج این مطالعه نشان داد که در هفته های اول، چهارم و هشتم دوره رسیدن هر سه نوع پنیر از نظر سفتی بافت با یکدیگر اختلاف معنی دار داشتند ($p<0/05$). نتایج این تحقیق با یافته های Yun و همکاران در سال 1993 مطابقت می کند. وی در تحقیقاتش به این نتیجه رسید که پنیر تهیه شده با رنت میکروبی به دلیل فعالیت پروتئولیتیک بیشتر، بافت نرم تری دارد. رنت میکروبی α_s و β کازئین را هیدرولیز می کند در حالی که رنت حیوانی فقط α_s کازئین را مورد حمله قرار می دهد.

3-2-6- نتایج حاصل از راندمان پنیرها

مهمترین ترکیبات شیر که نقش عمده ای در راندمان آن ایفا می کنند، رطوبت، چربی، پروتئین و نمک هستند. علت پایین بودن راندمان در مورد پنیر تولید شده با رنت میکروبی را می توان به فعالیت پروتئولیتیک شدید آن و تولید ترکیبات ازته محلول و خروج این ترکیبات به همراه آب پنیر نسبت داد [23]. نتایج این مطالعه نشان داد که هر سه نوع پنیر از نظر راندمان با یکدیگر اختلاف معنی دار داشتند ($p<0/01$). نتایج این تحقیق با یافته های Barbano و همکاران (1992) مطابقت دارد.

3-2-7-نتایج حاصل از ریز ساختار پنیرها

هرسه نوع پنیر دارای ساختار ویژه ای بوده که نشان دهنده تغییرات بیوشیمیایی در حین رسیدن و همچنین تاثیر انواع مختلف رنت می باشد. تفاوت موجود بین نمونه های پنیر در این تحقیق را می توان در عکس های گرفته شده با میکروسکوپ الکترونی اسکنی در شکل1 مشاهده کرد. در آنالیز ریز نمایی الکترونی، نواحی تیره و روشن زیادی مشاهده می شود. نواحی تیره دارای دانسیته الکترونی بالا بوده و نواحی روشن دانسیته الکترونی پایینی دارند. این تفاوت بر اساس باند شدن اتم های فلزی سنگین نظیر طلا به وسیله پروتئین می باشد. فراکسیون پروتئینی فلزات سنگین را جذب کرده و در نتیجه در این نواحی پخش بیشتر الکترون رخ می دهد، و از این رو باعث تیره تر مشاهده شدن این نواحی می شود. از این رو دانسیته الکترونی بیشتر در پنیر نشان دهنده حضور فراکسیون پروتئینی بیشتر در هر واحد از حجم شبکه پروتئین می باشد[3].

در مورد هر سه نوع پنیر در طول دوره رسیدن، سطح پوشیده شده توسط ماتریکس پروتئینی به دلیل پروتئولیز، کاهش یافت. در مورد پنیر تهیه شده با مایه پنیر میکروبی به دلیل پروتئولیز بیشتر، میزان این کاهش بیشتر از دو نوع دیگر بود (مناطق سفید در عکس ها در طول دوره رسیدن و نیز با افزایش خاصیت پروتئولیتیک رنت، کاهش یافته وعکس ها تیره تر شدند). هیدرولیز شبکه پروتئینی پنیر و تولید پپتیدهای کوچک و اسیدهای آمینه آزاد و ورود آنها به آب نمک، باعث تغییراتی در ریز ساختار می شود [3و4].

3-3- نتایج حاصل از ارزیابی حسی پنیرها

برای مقایسه عطر و طعم پنیر های حاصل از تیمارهای مختلف، ارزیابی حسی انجام گرفت. جهت تجزیه و تحلیل رتبه های حاصل از آن، از آزمون غیرپارامتری کروسکال والیس استفاده شد. مطابق نتایج این آزمون در سطح احتمال 1% تفاوت معنی داری بین پنیر های تولید شده با استفاده از مایه پنیر حیوانی و کیموزین نوترکیب با پنیر تولید شده توسط مایه پنیر میکروبی وجود داشت. ولی بین پنیر تولید شده توسط مایه پنیر حیوانی با پنیر تولیدی به وسیله مایه پنیر نوترکیب، این اختلاف معنی دار نبود. همچنین پنیر تولید شده با استفاده از مایه پنیر حیوانی، بیشترین رتبه و پنیر تولید شده با استفاده از مایه پنیر میکروبی کمترین رتبه را به خود اختصاص داد (جدول 2).

جدول2 تاثیر نوع رنت مورد استفاده در تهیه پنیر آب نمکی روی برخی ویژگیهای حسی آن

ویژگی حسی / نوع رنت	رنگ	عطر و طعم	بافت	پذیرش کلی
حیوانی	3/75[a]	4/5[a]	4/25[a]	4/5[a]
نوترکیب	4/63[b]	4/13[b]	3/38[b]	4/13[a]
میکروبی	4/62[c]	2/5[c]	3/67[c]	3/13[b]

میانگین هایی که با حروف مختلف نشان داده شده اند، با آزمون کروسکال والیس در سطح $\alpha=0/01$ با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-10]

با پیشرفت پروتئولیز، ترکیباتی با وزن مولکولی کم شامل پپتید ها و اسیدهای آمینه آزاد ایجاد می شوند که این ترکیبات نقش مهمی را در عطر و طعم پنیر ایفا می کنند. عطر و طعم و بافت شاخص پنیرها، تحت تاثیر نوع شیر مورد استفاده (گاو، میش و بز)، واکنش های بیوشیمیایی پیچیده در طول رسیدن که در اثر آنزیم های طبیعی موجود در شیر، نوع مایه پنیر مورد استفاده، میکروارگانیسم های طبیعی موجود و استارتر، پروتئولیز، لیپولیز و گلیکولیز به وقوع می پیوندد، می باشد [24]. با این وجود پروتئولیز، بیشترین نقش را در ایجاد عطر و طعم در پنیر ایفا می کند که از طریق آزاد کردن پپتیدها و اسیدهای آمینه آزاد که ترکیبات عطر و طعم داری مانند آمین ها، اسیدها، تیول ها و تیواسترها تولید می کنند، می باشد[14]. به این ترتیب که کازئین های موجود در دلمه به وسیله عمل مایه پنیر و پلاسمین طبیعی شیر به پپتیدهای بزرگ و متوسط در طول تولید و رسیدن پنیر تبدیل می شوند. تجزیه بیشتر به وسیله پپتیدازهای باکتری های اسید لاکتیک آغازگر صورت می گیرد که در نتیجه پپتید های کوچک و اسید های آمینه آزاد تولید می شوند. به نظر می رسد که عطر و طعم پنیر تا حد زیادی مربوط به ترکیبات ازته محلول به ویژه اسید های آمینه و پپتید های کوچک می باشد. برخی از پپتید های کوچک و اسید های آمینه، مسوول ایجاد طعم تلخ در پنیر رسیده می باشد. با توجه به این که میزان تولید پپتید های کوچک و اسید های آمینه در مورد پنیر تولید شده با استفاده از مایه پنیر میکروبی به علت شدید بودن پروتئولیز بالا بود، به طور مختصری در این نوع پنیر طعم تلخ احساس می شد و بنابر این کمترین امتیاز را به خود اختصاص داد[14].

4- نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که مایه پنیر میکروبی تولید شده به وسیله کپک *Mucor.miehei* نسبت به مایه پنیر حیوانی و کیموزین نوترکیب، کیفیت پایین تری داشت. نتایج آزمایش های پروتئولیز، ریز ساختار و ارزیابی حسی نمایان گر خاصیت پروتئولیتیک بیشتر و غیر اختصاصی تر این مایه پنیر بود که این خاصیت در پایین آوردن راندمان پنیر سازی و خصوصیات حسی پنیر دارای نقش اساسی و مهم می باشد. همچنین به علت کمبود رنین گاوی به دلیل کاهش کشتار گوساله های جوان و نیز به علت ممنوعیت شرعی استفاده از منابع دیگر رنین، کیموزین نوترکیب می تواند جایگزین نسبتاً مناسبی برای رنین گاوی باشد. این مایه پنیر دارای امتیازاتی مانند خالص بودن، اختصاصی عمل نمودن و داشتن فعالیت پروتئولیتیکی مناسب می باشد. در این تحقیق، پنیر تولید شده با استفاده از کیموزین نوترکیب بعد از مایه پنیر حیوانی بالاترین امتیاز را از نظر خصوصیات ارگانولپتیکی کسب نمود که فاکتور بسیار مهمی در بازاریابی این محصول می باشد. زیرا معمولاً مصرف کننده بر اساس ارزیابی حسی ماده غذایی را انتخاب می نماید. همچنین کیفیت بالای پنیر تولیدی به وسیله مایه پنیر حیوانی، ضرورت تحقیق برای یافتن منابع دیگر حیوانی را ایجاب می نماید.

5- تشکر

از تمام اعضاء و پرسنل گروه صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، بخش SEM دانشکده فنی دانشگاه تربیت مدرس و موسسه تحقیقات فنی- مهندسی کرج که در انجام آزمایشات ما را یاری کرده اند، کمال تشکر را داریم.

6- منابع

[1] Chen, H.C and , R. R.1986. Evaluation of Thiol Activated proteases from clam Viscera as a Rennet substitute for cheese making. J. of food science vol 51, No.3, pp.815-821

[2] Green. M. L.(1977). Review of the progress of Dairy science: Milk coagulants. Dairy Research vol. 44, 159-188

[3] Madadlou. A., Khosroshahi. A., and Mousavi. S.M. (2006). Microstructure and rheological properties of Iranian white cheese coagulated at various temperatures. J. Dairy Sci. 89:2359-2366

[4] Khosrowshahi. A., Madadlou. A., and Mousavi. M. E. (2006). Monitoring the chemical and textural changes during ripening of Iranian white cheese made with different concentrations of starter. J. Dairy Sci. 89: 3318-3325

[5] Azarnia. S., Ehsani. M.R., and Mirhadi. S. A. (1997). Evaluation of the physico-chemical

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-10]

characteristics of the curd during the ripening of Iranian brine cheese. International Dairy J. 7: 473-478

[6] Yun. J. J., Kiely. L. J., and Kindstedt. P. S.(1993). Mozzarella cheese: Impact of Coagulant type on functional properties. J. Dairy Sci. 76: 3657-3663

[7] Rogelj. I., Perko. B.,and Francky. V.(2001). Recombinant lamb chymosin as an alternative coagulating enzyme in cheese production. J. Dairy Sci. 84: 1020-1026

8- Paul. S. K., Yun. J. J., and Barbano. D. M. (1995). Mozzarella cheese: Impact of coagulant concentration on chemical composition, proteolysis and functional properties. J. Dairy Sci. 78: 2591-2597

[9] Peters. I. I. (1956). Cheddar cheese made from pasteurized milk homogenized at various pressures. J. Dairy Sci : 1083-1083

[10] Iran National Standard, 2344, 1372, Cheese Properties.

[11] Drake., M. A. W. Herret, T. D. Boylston, and B. G. Swanson.(1996). Lecithin improves texture of reduced fat cheeses. J. Food Sci. 61: 639-642.

[12] Madadlou, A., Khosrowshahi. A, and Mousavi. M. E. (2005). Rheology, microstructure,
functionality of low-fat Irannian white cheese made with different concentration of rennet. J. Dairy Sci. 88: 3052-3062.

[13] Irigoyen. A., Izco. J. M., and Ibenz. F. C. (2002). Influence of calf or lamb rennet on the physicochemical, proteolytic, and sensory characteristics of an ewes- milk cheese. International Dairy J.12: 27-34

[14] Bernardo. P., Inmaculada. F., and Jose. M. (2004). Effect of ripening time and type of rennet (farmhouse rennet from kid or commercial calf) on proteolysis during the ripening of Leon cow milk cheese. Food Chemistry. 85: 389-398

[15] Moatsou. G., Moschopoulou. E., and Georgala. A.(2004). Effect of artisanal liquid rennet from kids and lambs abomasa on the characteristics of Feta cheese. Food Chemistry. 88: 517-525

[16] Fox. P. F.(1998). Cheese: chemistry, physic and microbiology. Volume.1

[17] Alizadeh, M. (1379). Comparison of Mucor miehei Rennet with Animal and Commercial Rennets. Master teezez. Tehran University. 108 pages.

[18] Irigoyen. A., Izco. J. M., and Ibenz. F. C. (2001). Influence of rennet milk-clotting activity on the proteolytic and sensory characteristics of an ovine cheese. Food Chemistry. 72: 137-144

[19] Brunner. J. R.(1981). Cow milk proteins: Twenty five years of progress . J. Dairy Sci. 64: 1038-1050

[20] Fernandez- Salgareo. J., and Sanjuan. E. (1999). Influence of vegetable and animal rennet on proteolysis during ripening in ewes milk cheese. Food Chemistry. 64:177-183

[21] Manuel. N. P., Gaya. A.M., and Marin. M. A. R.(1992). Effects of recombinant chymosin on ewes milk coagulation and Manchego cheese characteristics. J. Dairy. Res. 59: 81-87

[22] Picon. A. P. Medina. M. G., and Nunez. M. (1995). The effect of liposome-Encapsulated Bacillus subtillis neutral proteinase on Manchego cheese ripening. J. Dairy Sci. 78: 1238-1247

[23] Barbano. D. M., and Rasmussen. R. R. (1992). Cheese yield performance of fermentation-produced chymosin and other milk coagulants. J. Dairy Sci. 75: 1-12

[24] Attaie. R. (2005). Effects of aging on rheological and proteolytic properties of goat milk Jack Cheese produced according to cow milk procedures. Small Ruminant Research. 57: 19-29

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-10]

Study of the effects of microbial, recombinant and animal rennets on some of the qualitative and quantitative properties of iranian white cheese

Foruzan, S. [1*], Khosroshahi asl, A. [2], Taslimi, A. [3], Madadadloo, A. [4], Mashayekh, M. [3]

1- M. Sc. Student in Food Science and Technologies, Food Science and Technologies Faculty, Shahid Beheshti Medical Science University
2- Food Science and Technologies Teacher, Agricultural Faculty, Urmia University
3- Food Science and Technologies Teacher, Food Science and Technologies Faculty, Shahid Beheshti Medical Science University
4- Food Materials Conversion Technology Ph.D. Student, Agricultural Biosystem Faculty, Tehran University

In this research, microbial, recombinant and animal rennet were used in the production of Iranian white cheese. The produced cheeses were compared regarding the yields of product, the rates of the proteolysis index, chemical, textural and some sensory properties during ripening period. The results indicated that there were significant differences in total solid content, salt and pH values of cheese samples ($P< 0.05$). The highest and lowest yields of cheeses were obtained with animal and microbial rennet, respectively. The proteolysis rates were significantly different with three produced cheese samples ($P< 0.05$). It was significantly higher with microbial cheese than with other samples. The hardness of cheeses produced using animal and microbial rennet were respectively maximal and minimal at the end of the ripening period. The observations of protein network arrangement also showed that the protein content of matrix has been decreased during the repining period. The maximal and minimal decrements were belonged to the cheeses produced by microbial and animal rennet, respectively. The highest and lowest sensory scores were obtained with control sample (animal rennet-based cheese) and microbial rennet-based cheese. According to this research, the cheese produced by microbial rennet showed lower quality compared to the animal and recombinant rennet. In general, because of the low availability of animal rennet and low quality of the cheese produced by microbial rennet, it seems that the recombinant rennet can be used as a proper substitute in cheese production industry.

Key words: animal rennet, recombinant rennet, microbial rennet, physicochemical characteristics, Iranian White cheese

[*] Coressponding author E-mail address: Sh_Forouzan2005@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-10]